

飼育密度、水質および水温が ヒラメの無眼側着色に及ぼす影響

角田 出^{*1}・亀山 貴一^{*2}・仙石 俊治^{*3}・高瀬 清美^{*1}

Effects of Culture Density, Water Quality and Temperature on the Blind Side Pigmentation in the Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*

Izuru KAKUTA^{*1}, Takakazu KAMEYAMA^{*2}, Toshiharu SENGOKU^{*3}, Kiyomi TAKASE^{*1}

^{*1}Department of Bioengineering, Faculty of Science and Engineering,
Ishinomaki Senshu University, Miyagi 986-8580

^{*2}Miyagi Prefectural Fisheries High School, Ishinomaki 986-2113

^{*3}Suncall Corporation, Nagoya 468-0077

Abstract

Effects of culture density, water quality and temperature on the blind side pigmentation in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* (total length : about 160 mm) were investigated. In high culture density (44 individuals per 1 m² bottom area) group, the blind side pigmentation was promoted without increasing the plasma cortisol. Nitrite (5 mg NO₂-N/L) exposure at 20°C showed no effect on the occurrence of color abnormality of blind side, though it increased the coverage of pigmented blind side in the Japanese flounder. In temperature loading group, which fish were held in an outdoor tank and exposed to large diurnal temperature fluctuations (18-26 °C), increases in the coverage of pigmented blind side and plasma cortisol were observed. Nitrite exposure in an outdoor tank promoted markedly the blind side pigmentation. Plasma cortisol was also increased remarkably by the treatment. These results suggest that (1) elevation of plasma α -MSH related deeply to prolonged background adaption in high culture density group, and the increases in plasma ACTH and α -MSH caused by the activation of the hypothalamus-pituitary-interrenal axis in nitrite exposure and in temperature loading groups induce the blind side pigmentation in the Japanese flounder, and (2) the blind side pigmentation is strongly promoted by a combination of deteriorating items and processes.

Key words : flounder, blind side pigmentation, stress, culture density, water quality, temperature

1. 緒論

ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) の増養殖は全国的に行われている。昨今では、養殖技術の進歩に伴って種苗生産量は増大し、国内におけるヒラメの種苗放流数は2,500万尾、養殖ヒラメの年間生産量は7千トンを超えるようになった。一方で、高密度飼育に伴うストレスや環境の悪化によって生じる生体防御機能の低下、スレ（擦れ：接触によって体表に傷がつく）等が原因で、感染症が拡がりやすくなっているほか、黒化や白化と

呼ばれる体色異常が高い頻度で発生し、問題となっている^(1~4)。黒化は、本来白色であるはずの無眼側に黒褐色の着色が生じる現象である⁽¹⁾が、見た目が悪く、市場価値を低下させることから、その防除が強く求められている⁽⁵⁾。

黒化には、変態完了時にすでに発現している浮遊期型と、着底後に徐々に着色してくる着底期型の2つの型が存在し、それぞれの発現要因とメカニズムは異なるとされている⁽¹⁾。黒化の原因と防除法については、多くの研究がなされてきた。例

^{*1}石巻専修大学 理工学部 生物生産工学科（〒986-8580 石巻市南境新水戸1）

^{*2}宮城県水産高等学校（〒986-2113 石巻市宇田川町1）

^{*3}株式会社サンコール（〒468-0077 愛知県名古屋市中白区八事山418）

例えば、浮遊期黒化の発現には、飼餌料中のビタミン A やドコサヘキサエン酸 (DHA)、配合飼料の給餌開始時期、摂餌量、照度、飼育密度などが^(6~8)、着底期型黒化の発現には、飼料中のビタミン D 量や、背地色、潜砂行動の可否等が影響するという報告がある^(9~13)。しかし、黒化発現のメカニズムや、ストレスの影響については、まだ不明な点が多い。そのため、現在行われている対策は、根本的な解決にはつながっていない。

魚類の体色変化には黒色素凝集ホルモン (melanin-concentrating hormone: MCH) や黒色素胞刺激ホルモン (melanophore-stimulating hormone: MSH) の分泌活性が大きく関わっている。MCH は、メラニン顆粒を凝集させることにより体色を明化させる働きをもつ。そのため魚類は白っぽい背景のところに移動すると、MCH が分泌され体色が明化する。Yamanome は、マツカワを用いた実験において、白い水槽を用いて飼育すると、MCH が分泌され、その結果、黒化が抑制されると報告している⁽¹⁴⁾。MSH は、メラニン顆粒を拡散し、体色を暗化させるホルモンであり、MCH と拮抗する働きをもつ。長期間 MSH の分泌が続くと、黒色素胞の新たな分化や、形態的な変化が起こり、体色は暗化したままになる。そのため、ヒラメを長期間黒い水槽で飼育すると、MSH が絶えず分泌されている状態となり、黒化が進行する可能性が高い。

MSH は、環境への適応だけでなく、ストレス負荷によっても分泌される。一般的にストレスが来ると、視床下部—脳下垂体—間腎 (Hypothalamus—Pituitary—Interrenal: HPI 軸) という系を介して、最終的に間腎 (哺乳類の副腎皮質に相当) からコルチゾルやコルチゾンなどのコルチコイドが分泌される。上記の反応系では、脳下垂体前葉から副腎皮質刺激ホルモン (adenocorticotrophic hormone: ACTH) が、中葉からは α -MSH が分泌される。ACTH の一部は、 α -MSH と類似の構造をしているため、メラノコルチン受容体に高い親和性を示す。そのため、ACTH を投与しても体色が暗化する⁽¹⁵⁾。

ヒラメの増養殖場は、高密度飼育による水質悪化や狭い環境、急激な温度変化、潜砂することができないなどの自然とはかけ離れた環境にある。

これらの要因はヒラメにとってストレスとなり得る。それゆえ、増養殖されているヒラメでは、ストレス負荷に伴って分泌される ACTH や α -MSH によって、黒化が引き起こされている可能性が高い⁽¹⁶⁾。そこで、着底期型黒化に及ぼすストレスの影響を調査するために、コルチゾル投与 (HPI 軸反応系のネガティブフィードバックを引き起こし、ACTH および α -MSH の分泌を抑制する) 試験および RU486 投与 (コルチコイドレセプターを阻害する合成ステロイド剤であり、HPI 軸のネガティブフィードバックを抑制し、ACTH および α -MSH の分泌を亢進させる) 試験を行ったところ、試験開始から 2 週間以内に、前者では黒化個体出現率の有意な低下が、後者では黒化個体出現率の有意な上昇が認められた⁽¹⁷⁾。すなわち、ヒラメの着底型黒化の発現にはストレス負荷が関わっている可能性が高いことが示された。

ただし、上記試験では、自然条件下では起こり得ないほどの多量のコルチゾルや RU486 を人為的に (酢酸ヒドロコルチゾンあるいは RU486 を 100 mg/kg 体重量の割合で) 投与している。そのため、増養殖現場で生じるヒラメの着底型黒化が飼育期間中のストレス負荷に起因することを示すには、自然に起こり得るストレス負荷条件下でヒラメを飼育し、黒化個体出現率や体内のコルチゾル濃度等を調べ、日常的なストレス負荷がヒラメの着底型黒化の誘起に関係することを証明しておく必要がある。そこで、本研究では、飼育密度、水質および水温変化がヒラメの着底期型黒化およびストレス応答に及ぼす影響を調査した。

2. 材料および方法

2.1 試験 1 (密度試験)

2.1.1 供試魚

供試魚として、宮城県水産高等学校で種苗生産された、全く黒化の認められない、全長約 200 mm のヒラメ 68 尾を用いた。

2.1.2 飼育条件

1 週間予備飼育したヒラメを、流水式の容量 350 L の水槽に、底面積 1 m²あたり、9 尾 (低密度群: L 群)、22 尾 (中密度群: M 群)、44 尾 (高密度群: H 群) となるように収容した。試験

期間中の平均水温は 23.2 °C であり、給餌は 1 日当たり魚体重の 2 % となるように、市販の餌（科学飼料研究所製 ます類育成用ニッカ 4 EP）を与えた。試験期間は 6 週間とした。

2.1.3 試料採取、黒化の指標・血漿中コルチゾル濃度の測定

ヒラメを試験開始から 6 週間後に取り上げ、ヘパリンリチウム処理した注射器を用いて、心臓から採血を行った。その後、無眼側の写真を撮影した。血液は 800g で 15 分間遠心分離後、血漿分画をコルチゾル測定まで -80 °C で冷凍保存した。

黒化の指標として、黒化個体出現率および黒化面積増加率を用いた。黒化個体出現率は、黒化部が肉眼で確認できるものを黒化個体として求めた。黒化面積率は、無眼側の鰭を除く部分に対する黒化部の面積の割合を、画像処理ソフト Scion Image (SCION 社) を使って求めた。サンプリング時に求めた黒化面積率から、試験開始時に求めた黒化面積率（今回は 0 %）を引いた値を黒化面積増加率とした。

血漿コルチゾル濃度の測定には、コルチゾル EIA キット (OXFORD BIOMEDICAL RESEARCH 社製) を用いた。採血した血液を 800g で 15 分間遠心分離し、血漿分画を得た。得られた血漿 50 μ L にジエチルエーテル（和光社製）500 μ L を加え、30 秒間ヴォルテックスで攪拌した後、上清（ジエチルエーテル分画）を得た。この操作を 2 回繰り返し、回収した上清からジエチルエーテルを揮発させた後、キット付属の抽出バッファー 100 μ L で再溶解し、それをコルチゾル測定用試料とした。

2.2 試験 2（水質および水温変化試験）

2.2.1 供試魚

供試魚として、（株）日清マリンテックより購入し、循環ろ過式の屋外水槽（容量 2,000 L）で 3 週間以上飼育した、全く黒化の認められない、全長約 130 mm のヒラメ 32 尾を用いた。

2.2.2 飼育条件

ヒラメを循環ろ過式の 60 L 水槽にそれぞれ 8 尾ずつ収容し、4 群を設けた：対照（C）群、亜硝酸負荷（N）群、温度変化負荷（T）群、亜硝酸および温度負荷（TN）群。C 群と N 群は屋内に設置した水槽内で、T 群と TN 群は覆いをかけ

て屋内と同程度の照度になるようにして屋外（簡易暗室内）に設置した水槽内で、それぞれ 4 週間の飼育試験を行った。また、N 群および TN 群については、亜硝酸ナトリウム（和光社製）を亜硝酸態窒素 $\text{NO}_2\text{-N}$ 量として 5 mg/L になるように調整（3 日毎に水槽内の半分量の水を入れ替え）した条件下での試験とした。

試験期間中の水温と水面直上の照度は C 群と N 群は 20°C と 0.1~40 lx、T 群と TN 群は 18~26°C と 0.01~45 lx であった。給餌は 1 日当たり魚体重の 2 % となるように、市販の餌（科学飼料研究所製 ます類育成用ニッカ 4 EP）を与えた。

2.2.3 試料採取、黒化の指標・血漿中コルチゾル濃度の測定

ヒラメを試験開始から 4 週間後に取り上げ、試験 1 と同様の方法により、黒化指標および血漿コルチゾル濃度の測定を行った。

2.3. 統計

各実験において得られた測定結果のうち黒化個体出現率については χ^2 検定を、黒化面積増加率については Aspin-Welch の検定を、血漿コルチゾル濃度については Tukey-Kramer の HSD 検定を用いて統計処理を行った。有意水準は 5% とした。

3. 結果

3.1 密度試験

試験開始から 6 週間後における黒化個体出現率は、低密度（L）群で 50 %（6 尾中 3 尾）、中密度（M）群で 33 %（6 尾中 2 尾）、高密度（H）群で 86 %（7 尾中 6 尾）となり、H 群が他群に比べて有意に高くなった。

6 週間の試験期間での黒化面積増加率を Fig. 1 に示す。平均黒化面積増加率は、L 群で 1.4 %、M 群で 4.0 %、H 群で 5.9 % となり、H 群は L 群に対して有意に高い値を示した。

試験開始から 6 週間後におけるヒラメの血漿コルチゾル濃度を Fig. 2 に示す。平均血漿コルチゾル濃度は、L 群で 110 ng/mL、M 群で 7 ng/mL、H 群で 63 ng/mL となった。しかし、個体差が大きく、各試験群間に統計的な有意差は認められなかった。

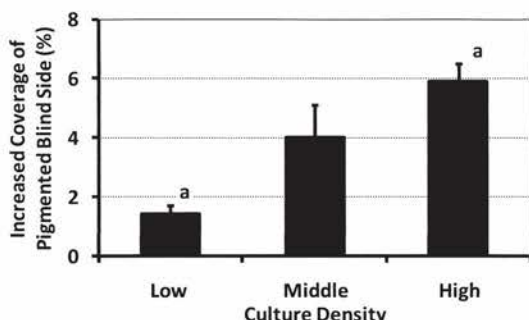


Fig.1 Effect of culture density on increased coverage of pigmented blind side in Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Data are given as mean $\pm$ SE (Low and Middle density groups; $n=6$, High density group; $n=7$). a : The same superscript indicates a significant difference ($p<0.05$).

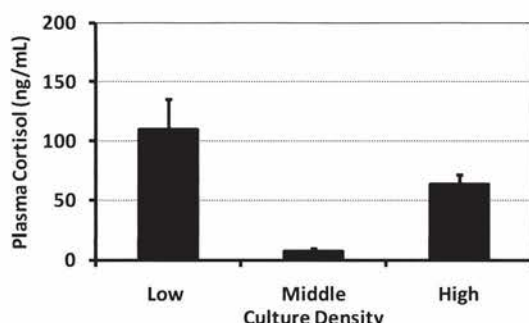


Fig.2 Effect of culture density on plasma cortisol level in Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Data are given as mean $\pm$ SE (Low density group; $n=5$, Middle density group; $n=6$, High density group; $n=7$).

3.2 水質および水温変化試験

試験期間中、亜硝酸および温度負荷 (TN) 群を除き、ヒラメの摂餌行動や遊泳状況に違いは認められなかった。TN 群においては、わずかではあるが遊泳頻度が高くなる傾向にあった。

試験開始から 4 週間後における黒化個体出現率は、対照 (C) 群で 25 % (8 尾中 2 尾)、亜硝酸負荷 (N) 群で 38 % (8 尾中 3 尾)、温度変化負荷 (T) 群で 38 % (8 尾中 3 尾)、TN 群で 88 % (8 尾中 7 尾) となり、C 群に比べて、TN 群で有意に高い値となった。

4 週間の試験期間での黒化面積増加率を Fig. 3 に示す。平均黒化面積増加率は、C 群で 0.7 %、N 群で 2.9 %、T 群で 4.8 %、TN 群 9.3 % とな

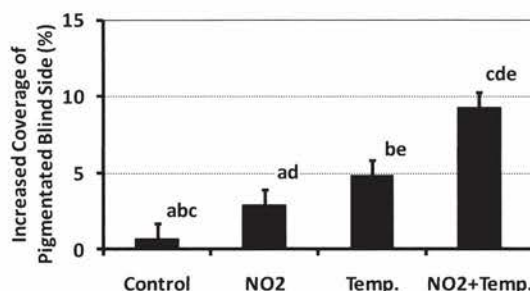


Fig.3 Effects of water quality (nitrite) and temperature on increased coverage of pigmented blind side in Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Data are given as mean $\pm$ SE ($n=8$). a-e : The same superscript indicates a significant difference ($p<0.05$).

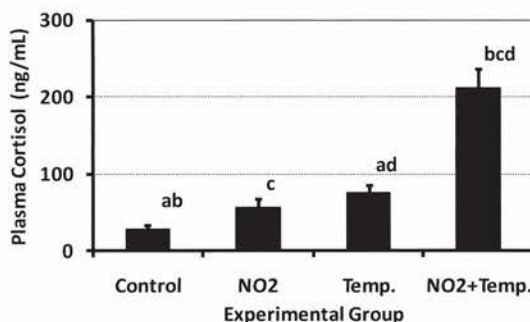


Fig.4 Effects of water quality (nitrite) and temperature on plasma cortisol in Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Data are given as mean $\pm$ SE ($n=5$). a-c : The same superscript indicates a significant difference ($p<0.05$).

り、N 群、T 群および TN 群は C 群に対して有意に高い値を示した。また、TN 群は N 群および T 群に対して有意に高い値となった。

試験開始から 4 週間後におけるヒラメの血漿コルチゾール濃度を Fig. 4 に示す。平均血漿コルチゾール濃度 ($n=5$) は、C 群で 28 ng/mL、N 群で 56 ng/mL、T 群で 76 ng/mL、TN 群で 212 ng/mL となり、T 群および TN 群は C 群に対して有意に高い値となった。また、TN 群は N 群および T 群に対して有意に高い値となった。

4. 考察

ヒラメの増養殖場では、密度の高い状態で飼育がなされているにもかかわらず、飼育密度の違い

が着底期型黒化に及ぼす影響についての報告は極めて少ない。放流サイズである全長 60 mm までの個体についての報告がある程度で⁽¹²⁾、全長 100 mm を越える個体を用いて、飼育密度が黒化に及ぼす影響に関する報告はみあたらない。しかし、養殖時や放流後の影響を考えると、全長 100 mm を超えるサイズの個体を用いた調査は重要である。

本研究では、全長約 200 mm のヒラメを用いて密度試験を行ったところ、高密度群の黒化個体出現率が低密度群や中密度群に対して有意に高かったほか、黒化面積増加率も高密度群は低密度群に対して有意に高くなった。これらの結果は、飼育密度の違いが黒化の程度に影響し、高密度飼育は黒化を促進させる方向に働くことを示す。

一般に高密度飼育は魚にストレス反応を惹起し、同条件下におかれた魚の血漿コルチゾル濃度は高くなる^(4, 18)。ヒラメ着底期型黒化の発現にはストレスが関与していることが強く示唆されている⁽¹⁷⁾。しかしながら、上記試験では、3 群とも血漿コルチゾル濃度は魚類の非ストレス負荷時の範囲内にあり^(4, 17~19, 20)、さらに、飼育密度の異なる 3 群間において当該値に統計的な有意差は認められなかった。

ヒラメの黒化は、飼育水槽に敷砂することやセラミックを内側に吹き付けておく（魚が接触刺激を受けやすい状況をつくる）ことにより、ある程度抑制できることが報告されている⁽¹³⁾。また、マツカワを用いた実験では、異体類の黒化は水槽の色が黒いと促進され、白くと抑制されるという結果が得られている⁽¹⁴⁾。すなわち、高密度飼育では、ヒラメ同士が重なり合っているため、他個体との接触刺激によりストレスが軽減されて黒化が抑制される方向に進む一方で、照度を低く保つという通常の飼育条件下ではヒラメの有眼側は黒褐色になるため、HIP 系の活性化とは無関係に、暗い背地への適応の際に分泌される α -MSH 等の作用によって黒化が進行するという、相反する可能性が示唆される。

現状において、魚を接触刺激の受けやすい状態におくことがどの程度のストレス軽減につながるか、あるいは、魚同士の重なり合いで示された色が黒背地と同様の効果を有するかという問いに対

する明確な答えはない。また、今回提示した血漿コルチゾルは 6 週間の密度試験終了時のみの値であり、飼育期間中を通じてヒラメに過度なストレス負荷が生じていなかったことを示す証拠はない。

しかしながら、同様の密度試験を行ったヒラメ血液中の顆粒球の貪食活性および NTB 還元活性（殺菌能）に飼育密度の違いによる有意差は認められていない：平均全長 120 mm のヒラメを、水槽の底面積 1 m² あたりに 14 尾、35 尾、70 尾となるように収容し、20°C、1 日当たり体重の 2 % 給餌の条件下で 4 週間飼育したところ、顆粒球の貪食活性は 37.3 $\pm$ 1.7 %、42.1 $\pm$ 2.1 %、36.5 $\pm$ 2.4 %、同 NTB 還元活性は 33.4 $\pm$ 1.8 %、36.4 $\pm$ 1.4 %、34.4 $\pm$ 2.3 %（それぞれ、平均値 $\pm$ 標準誤差、n=6）となった（角田、未発表）。長期的なストレス負荷は細胞性の生体防御活性を低下させることが知られている^(21~23)。それゆえ、今回の密度試験と同程度の飼育条件下では、ヒラメが長期的に過度のストレス負荷を受けていたとは考えにくい。

従って、今回の密度試験がヒラメに過度なストレス負荷を及ぼした可能性は低く、高密度群でみられた黒化は主として暗背地への適応の際に分泌される α -MSH の作用によるものと推測できる。

一方、水質および水温変化試験の結果は、増養殖時に起こり得る程度の亜硝酸濃度の上昇（亜硝酸態窒素として 5 mg/L）や日常的に生じる数°C の水温変動でも黒化面積増加率を有意に高める方向に作用することに加え、飼育水の亜硝酸濃度上昇と水温変動が合わさると当該値が大きく上昇するとともに、黒化出現率自体も有意（対照群の 3 倍程度）に高くなり、黒化が著しく進むことを示す。また、血漿コルチゾルの測定結果からは、飼育水の亜硝酸態窒素濃度が 5 mg/L 程度上昇した程度ではヒラメに大きなストレス負荷は掛かっていないものの、日常的な水温変動が数°C であっても魚にはストレス負荷因子として作用し、血漿コルチゾル濃度を有意（対照群の 2.5 倍程度）に上昇させることに加え、飼育水の亜硝酸態窒素濃度上昇と水温変動が合わさると当該値は対照群の 8 倍程度の値にまで上昇し、亜硝酸態窒素濃度上昇や水温変動の単独作用時と比べて、ストレス負

荷が著しく大きくなっていることが分かる。

以上の結果は、増養殖現場で生じるヒラメの着底型黒化は、黒背地への適応に伴う α -MSHの分泌量増加による（要因がストレス負荷と直結しない）ものに加え、飼育期間中の突発的な水質悪化のみでなく、日常的に起こり得るレベルの水質および水温変化であっても、複合的に作用すると重大なストレス要因となり、HPI系の活性化を経て、ヒラメ着底型黒化の誘起につながることを示唆する。なお、飼育密度も、単独では黒化にかかわる因子としての重要度は低いものの、水質悪化や日常的な水温変動等と協同的に働く（複合される）と黒化が促進される可能性の高いことを示す。

魚によって直接・間接的に飼育水中で消費または蓄積される物質の中で、その物質の消費または蓄積によって飼育魚が影響を受ける濃度に最も早く到達するものは溶存酸素濃度（DO）であるとの報告がある⁽²⁴⁾。DOは魚のストレス耐性に大きな影響力を有し、低濃度時には同耐性をはじめとし、各種生理機能（生体防御活性を含む）の低下が引き起こされることは良く知られている。従って、当然のことではあるが、飼育密度、DOを含む水質や水温管理に留意し、適正な条件でヒラメを飼育することが、黒化の防除に加え、種苗の品質向上を図る上で重要である。

また、本報ではヒラメの無眼側黒化に及ぼす神経系活動の影響については全く言及していないが、自律神経系の活動異常がヒラメの黒化に影響を及ぼす可能性が強く示唆されている⁽²⁵⁾ことから、今後は、内分泌系に加えて神経系の機能調節異常が当該黒化にどのように影響しているかを詳細に調べる必要がある。

謝辞

本研究を進めるに際し、快く飼育施設をお貸し頂きました宮城県水産高校の山本照夫校長先生ならびに座間 彰先生、ヒラメの飼育技術指導ならびに魚の提供などいろいろ便宜を御図り頂きました同校の亀山千代志先生ならびに畠山智宏先生に厚く御礼申し上げます。

文献

- (1) Norman JR (1934) A Systematic Monograph of the Flatfishes (Heterosomata) Vol. 1, Psettoidea, Bothidae, Pleuronectidae. Johnson Reprint Corporation, New York. 459.
- (2) Pickering A D, TG Pottinger (1989) Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effect of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiol Biochem, **7**(1-4): 253-258.
- (3) 福永辰廣 (1990) 総説 ヒラメ種苗生産の現状. 水産増殖, **34**(4): 391-394
- (4) Kakuta I (1998) Reduction of Stress Response in Carp, *Cyprinus carpio* L., Held under Deteriorating Environmental Conditions by Oral Administration of Bovine Lactoferrin. J. Fish Dis, **21**: 161-167.
- (5) 加治俊二・福永辰廣 (1999) ヒラメ種苗生産の現状と体色異常魚の魚市場での価格等に関するアンケート結果について. 栽培技研, **24**(2): 67-101.
- (6) 青森県栽培漁業振興協会 (1994) ヒラメの無眼側体色異常の出現防除対策への取り組みについて. 平成6年度太平洋北区栽培漁業協議会技術部会資料: 1-5.
- (7) 高橋庸一 (1994) ヒラメ稚魚の無眼側の体色異常におよぼす飼育密度と飼料の影響. 日本水産学会誌, **60**(5): 593-598.
- (8) 山田浩 (2004) ヒラメ黒化防除技術開発の取り組みと成果—茨城方式の種苗生産—. 水産総合研究センター委託事業報告書: 1-17.
- (9) 岡村正裕 (1997) ヒラメ種苗の敷砂と流速を用いた無眼側体色異常防除. 新潟県沿岸漁業振興協会日栽協ヒラメ黒化防除に関する情報交換会資料: 1-2.
- (10) 青海忠久 (1991) ヒラメ幼魚の無眼側の着色に及ぼす光照射、有眼側の体色、および供試魚の由来の影響. 水産増殖, **39**(2): 173-180.
- (11) 長谷川靖之・竹内俊郎・板垣恵美子・福永辰廣 (1988) ヒラメ無眼側体色異常出現に及ぼす飼料中の脂溶性ビタミン強化の影響. 水産増殖, **46**(2): 279-286.
- (12) 栽培漁業センター宮津事業場 (2004) 飼育密度の影響. 栽培漁業シリーズ 10, ヒラメの無眼側体色異常個体の出現要因と防除技術: 87-88.
- (13) 川那公士・難波健二 (2004) ヒラメ種苗の接触刺激による無眼側体色異常発現の抑制効果. 栽培漁業シリーズ 10, ヒラメの無眼側体色異常個体の出現要因と防除技術: 127-134.
- (14) Yamanome, T., M. Amano, A. Takahashi (2005) White background reduces the occurrence of staining,

- activates melanin-concentrating hormone and promotes somatic growth in barfin flounder. *Aquaculture*, **244** : 323-329.
- (15) 藤井徹夫 (2003) DNA 分析によるヒラメの集団構造および放流魚の移動の解明. 栽培漁業技術中央研修会テキスト集 平成 14 年度 栽培漁業における遺伝情報の利用 : 69-81.
- (16) 青海忠久・金子豊二・田川正朋 (1999) ヒラメ幼魚の無眼側黒化に関する内分泌的検討. 日本水産学会秋季大会講演要旨集, **54** : 429.
- (17) 亀山貴一・角田 出 (2007) コルチゾルおよび RU486 の投与がヒラメの無眼側着色に及ぼす影響. 日本水産学会誌, **73**(5) : 867-871.
- (18) 赤崎正人 (1990) ストレス作用因子と魚類のストレス. 水産増殖, **38** : 289-290.
- (19) Kakuta, I (2001) Interrenal stress responsiveness of marbled sole, *Pleuronectes yokohamae*, inhabiting Tokyo bay. *Environ Toxicol*, **17** : 1-6.
- (20) Arnekleiv JV, Urke HA, Kristensen T, Halleraker JH, Flodmark LEW (2004) Recovery of Wild, Juvenile Brown Trout from Stress of Flow Reduction, Electrofishing, Handling and Transfer from River to an Indoor Simulated Stream Channel. *J Fish Biol*, **64** : 541-552.
- (21) Pickering AD, Pottinger TG (1985) Cortisol Can Increase the Susceptibility of the Brown Trout, *Salmo trutta* L., to Disease without Reducing the White Blood Cell Count. *J Fosh Dis*, **27** : 611-619.
- (22) Kakuta I (1997) Effect of Sewage on Blood Parameters and the Resistance against Bacterial Infection of Goldfish, *Carassius auratus*. *Environ Toxicol Water Qual*, **12** : 43-51.
- (23) Kakuta I (1997) Suppression of Stress Reactions of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Reared at High Density by Oral Administration of Bovine Lactoferrin. *SUISANZOSHOKU*, **45** : 345-350.
- (24) 千葉健治 (1978) 7. 養魚環境要因としての溶存酸素. In 水産学シリーズ 24 魚の呼吸と循環. 日本水産学会編, 恒星社厚生閣, 東京 : 96-110.
- (25) 高瀬清美・鈴木加奈子・岸 勝志・角田 出 (2010) ヒラメ無眼側黒化の機構解明と黒化抑制に関する研究. 日本海水学会誌, **64**(3) : 134.