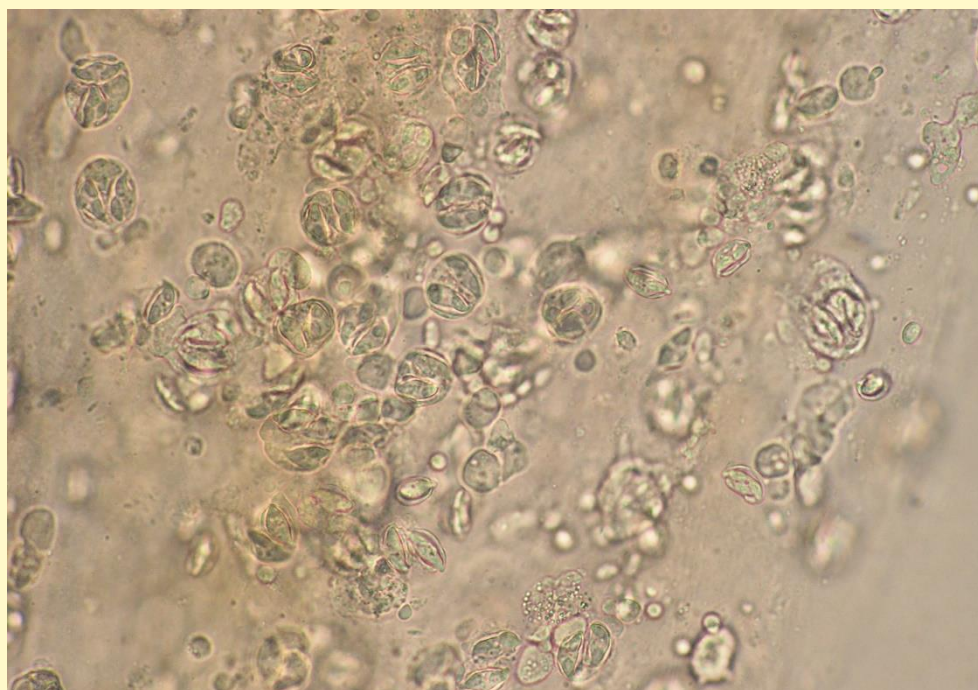


海・人・自然

東海大学博物館研究報告



Science Reports of
The Museum, Tokai University

No.15
2020

海・人・自然

東海大学博物館研究報告

Science Reports of
The Museum, Tokai University

No. 15

2020年 3月

東海大学海洋学部博物館

Museum:
School of Marine Science and
Technology, Tokai University

海・人・自然
東海大学博物館研究報告

No. 15

2020年 3月

目 次

[原著論文]

飼育下のカクレクマノミに発生した粘液胞子虫性やせ病の症例と昇温処理前後
における臓器の組織性状 1

青木聡史・山口昂大・吉川航平・齋藤翔太・鈴木伸洋

東海大学博物館研究報告投稿規定 10

Science Reports of the Museum, Tokai University

No. 15

March, 2020

Contents

[Article]

Comparisons of Morphological and Histological Character on Internal Organ Tissues of Captive Clownfish Affected by Myxosporean Emaciation Before and After High Water Temperature Treatment	1
Satoshi AOKI, Kodai YAMAGUCHI, Kohei YOSHIKAWA, Syota SAITO and Nobuhiro SUZUKI	
Guide of Preparing Manuscripts	10

飼育下のカクレマノミに発生した粘液胞子虫性やせ病の症例と 昇温処理前後における臓器の組織性状¹⁾

青木聡史²⁾・山口昂大³⁾・吉川航平³⁾・齋藤翔太³⁾・鈴木伸洋³⁾

Comparisons of Morphological and Histological Character on Internal Organ Tissues of Captive Clownfish Affected by Myxosporean Emaciation Before and After High Water Temperature Treatment¹⁾

Satoshi AOKI²⁾, Kodai YAMAGUCHI³⁾, Kohei YOSHIKAWA³⁾, Syota SAITO³⁾ and Nobuhiro SUZUKI³⁾

Abstract

Myxosporean Emaciation Disease detected on captive bred anemonefishes *Amphiprion ocellaris* at Marine Science Museum, Tokai University was diagnosed as parasitism caused by myxozoan, *Enteromyxum leei*. Reduction of fish mortality and histological degeneration of were observed after raised water temperature from 25 to 30 as high water temperature treatment. Mortality from subject fish were recorded up to 6 weeks after high water temperature treatment, however, mortality started declining after 6 weeks then recorded no mortality after 10 weeks. Histological observation on body tissues from affected fish that died before high water temperature treatment showed tissue necrosis and cell degeneration on intestine, gill, kidney and liver. Also, myxozoan parasites were observed in intestinal epithelium and gill vessels. Tissue regeneration on all affected organs were observed after high water temperature treatment. That suggests lightly affected fish were able to discharge parasite via viscera. From this experimental study, high water temperature treatment will be expected effective for Myxosporean Emaciation Disease on tropical and subtropical fish species.

はじめに

粘液胞子虫性やせ病は、魚類の腸管上皮に粘液胞子虫が寄生することによってその部位の変性や剥離を伴い、著しいやせ症状を呈して、最終的には死亡を誘発する寄生虫病である（柳田，2017）。

その原因寄生体として、双殻目の *Enteromyxum leei* や *Sphaerospora fugu* などが知られている。特に *E. leei* は寄生宿主の範囲が広く、トラフグ、ヒラメ、マダイ、イシガキダイ、ヤイトハタなど養殖魚への感染および被害（Tun et al., 2000 ; Yanagida et al., 2005 ; 知名ら，2013）をはじめ、水族館飼育魚でもチョウチョウウオ類やベラ類な

¹⁾ 東海大学海洋科学博物館研究業績 No. 255.

Contributions from the Marine Science Museum, Tokai University, No. 255.

²⁾ 東海大学海洋科学博物館 〒424-8620, 静岡県静岡市清水区三保2389

Marine Science Museum, Tokai University, 2389 Miho, Shimizu-ku, Shizuoka City, Shizuoka 424-8620, Japan

³⁾ 元東海大学海洋学海洋学部水産学科 〒424-8610, 静岡県静岡市清水区折戸3-20-1

School of Marine Science and Technology, Tokai University (Former Post), 3-20-1 Orido, Shimizu-ku, Shizuoka City, Shizuoka 424-8610, Japan

どの感染事例が報告されている (Padrós et al., 2001 ; Hyatt et al., 2018). *Enteromyxum leei* の詳細な生活環は不明だが、感染魚との同居や感染魚の飼育排水での感染、および排泄された寄生虫の栄養体を経口的に取り込むことなどにより感染が広がることが知られている (Yasuda et al., 2002, 2005 ; Yanagida et al., 2004).

カクレクマノミ *Amphiprion ocellaris* はスズキ目スズメダイ科に属する熱帯・亜熱帯性魚類である。2017年1月頃から東海大学海洋科学博物館の展示水槽において飼育されていた3~4歳魚が著しいやせ症状を呈し、活動量や摂餌量が低下後に斃死する事例が認められた。やせ症状が認められた個体から排泄された白い糸状の糞や斃死個体の腸管腔内に貯留していた粘液をスライドグラス上に塗抹し、光学顕微鏡下で観察したところ、粘液胞子虫 *E. leei* の虫体を確認した。

カクレクマノミにおける粘液胞子虫性やせ病については、*E. leei* の人為感染成立の報告 (Yokoyama and Shirakashi, 2007) や、人為感染させた感染魚の飼育水温を25℃から30℃へ上昇させることで虫体の腸管上皮への寄生率が有意に低下することが報告されている (China et al., 2014)。本研究では、東海大学海洋科学博物館で継代飼育されていたカクレクマノミに自然発症した、*E. leei* の寄生による粘液胞子虫性やせ病の昇温治療効果を検証するため、昇温前後における斃死個体の出現推移ならびに罹患魚の病理組織学的検討を行ったので報告する。

材 料 と 方 法

供試魚・病状観察・剖検

東海大学海洋科学博物館の常設展示室に設置されたリング型円柱アクリル水槽（直径1660 mm，高さ1180 mm，中心部にある円柱状の中空部分の直径700 mm，容量約2000 L，水温調節器と濾過循環器が付帯）で飼育していたカクレクマノミ（当館繁殖育成個体；3~4歳魚）約300個体のうち、粘液胞子虫性やせ病の特徴である躯幹部の顕著なやせ症状を呈した瀕死および斃死個体の出現推移を、2017年11月から2018年8月まで観察した。また、瀕死個体および斃死直後の個体を解剖し臓

器の所見をとった。

粘液胞子虫の観察

顕著なやせ症状の見られた瀕死および斃死個体から採取した腸管内液や水槽内に浮出した糸状の糞をスライドグラス上に塗抹し、Diff-Quik染色を施して、光学顕微鏡により粘液胞子虫の有無と形態および染色性を観察した。併せて虫体の大きさ（胞子は長さと幅，栄養体は直径）を測定し，観察結果と併せて種を同定した。

昇温飼育

2018年2月2日から16日かけて飼育水温を25℃から30℃へと徐々に上昇させ，高水温下での飼育を継続しての治療効果を検討した。高水温飼育の期間は，水温が27℃以上となった2月5日を昇温0日目とし，8月24日までの200日間に渡って経過を観察した。昇温処理前後で水温以外の飼育環境は変えず，塩分濃度は35.0‰，pHは8.0前後を保った。照明は150Wメタルハライドランプ3灯を用いて，通常は8~17時の間点灯した。餌料として魚介類（冷凍のナンキョクオキアミ *Euphausia superba* とアサリ *Ruditapes philippinarum* および鮮魚のマアジ *Trachurus japonicus*）の混合ミンチ（1日1回，週5日）と市販の配合餌料（日清丸紅飼料，おとひめS2）（毎日1回）を飽食するまで与えた。

病理組織学的観察

病理組織学的観察には，供試魚として昇温前の瀕死個体（ $n=5$ ），昇温30日目（ $n=4$ ）および159日目（ $n=3$ ）に水槽内から無作為に標本抽出した個体を用いた。供試魚は3-アミノ安息香酸エチル・メタンスルホン酸（MS222）で麻酔後，腹部に切れ込みを入れ，10 %中性海水ホルマリンにて固定した。その後，東海大学海洋学部の組織学研究室へ運び，全長（TL）・体重（BW）を測定後，腸管，鰓，腎臓，肝臓，脾臓を摘出した。定法によりパラフィン組織切片（3-5 μm ）を作製し，ヘマトキシリン・エオジン染色（HE染色）を施して，光学顕微鏡下で組織観察した。

肥満度の比較

供試魚の全長と体重から肥満度 [$\text{CF} = \text{BW} (\text{g})$]

/ TL (mm) × 100] を求めた。昇温処理前後の個体における肥満度の比較には、t検定を用いて有意差を求めた。

結 果

罹患魚の症状・剖検

罹患魚は躯幹部をはじめとして全身が著しくやせた状況を呈していた (Fig. 1A). また、重篤なやせ症状が見られる個体のみならず、症状が比較的軽度の個体でも総排泄孔から白い糸状の糞の排泄が確認された (Fig. 1B). 食欲・遊泳活動ともに減退し、呼吸数の増加を伴い水槽底で横臥する個体や水面付近を力なく漂う個体も認められた。開腹すると、腸管は透けるほど薄くなっており、内部に粘液質の液体の貯留が確認された (Fig. 1C). また、一部の個体では腸管が裂開するなど著しい損傷や、腎臓が摘出できないほど萎縮していた。

粘液胞子虫の形態と染色性

著しいやせ症状が見られた個体の腸内液および飼育水槽底に堆積していた糞からは、粘液胞子虫の成熟胞子および栄養体の各ステージが多数確認された (Fig. 2A, B). 成熟胞子は八の字型に配列される2個の極嚢 (Polar capsule) を持ち、長さは平均11.78 μm (10.5-13.9 μm), 幅は平均6.03 μm (4.4-7.8 μm) であった ($n = 15$). 栄養体は円形で多数の核を持ち、直径は平均17.36 μm (16.2-18.7 μm) であった ($n = 10$). また、虫体へのDiff-quick染色により極嚢が濃染された。

昇温前後の死亡数

昇温前の13週間 (2017年11月3日～2018年2月4日) は、一週間当たり平均3.9個体 (0～10個体: 収容尾数の約1.3 %) の斃死が続いた (Fig. 3). 一方、昇温後の6週間 (2018年2月5日～2018年3月26日) では一週間当たり平均4.2個体 (2～7個体) の斃死が続いた。その後は斃死数が減少し、10週後 (2018年4月6日) 以降は斃死も症状も認められなくなった。

昇温前後における臓器の病理組織学的特徴

腸管 昇温前は、供試魚とした5個体全てで粘膜

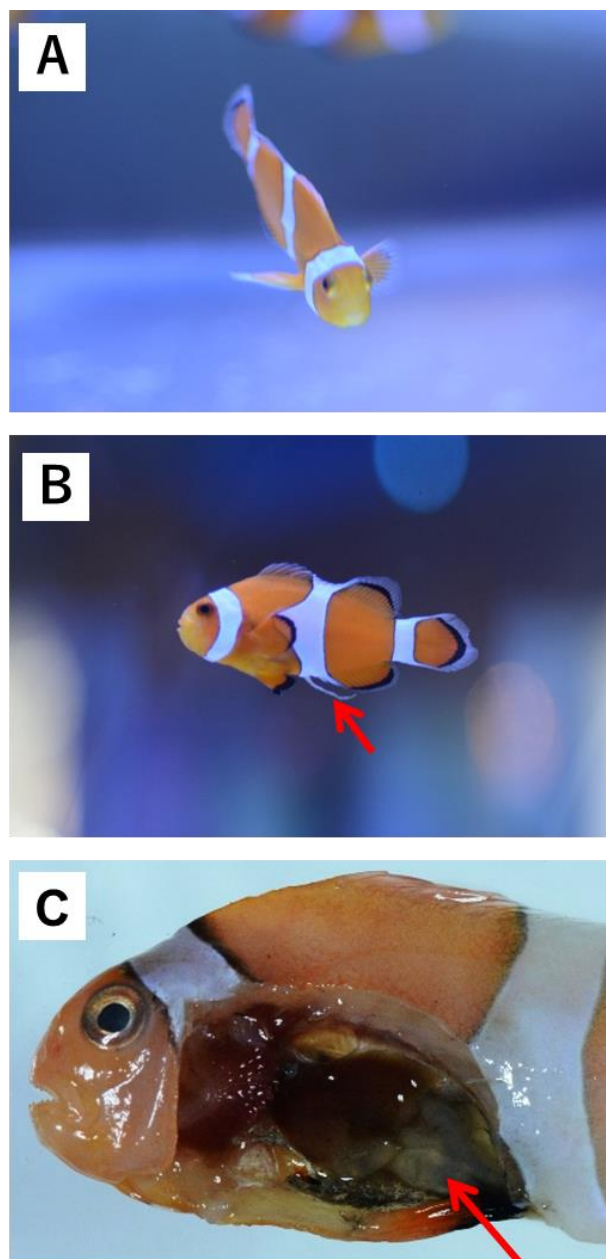


Fig. 1 Severely emaciated *Amphiprion ocellaris* infected with *Enteromyxum leei*. A: Infected fish was apparently severe emaciated wholly (the cranial, trunk and caudal peduncle bones, etc.). B: Excreting white filamentous feces. C: Retention of mucus in affected intestine.

上皮層から粘膜固有層にかけて粘液胞子虫の重篤な寄生がみられ、基本構造が乱れて細胞膨潤により腸管上皮や炎症部位での剥離が認められた。激しい剥離によって腸管上皮の基本構造である粘膜のひだ構造が消失し、腸管腔内には粘液胞子虫の虫体を含む剥離した腸管上皮が認められた (Fig. 4A, B).

昇温30日後の4個体では、粘膜固有層内に白血球など免疫細胞が多く見られ、組織内に寄生してい

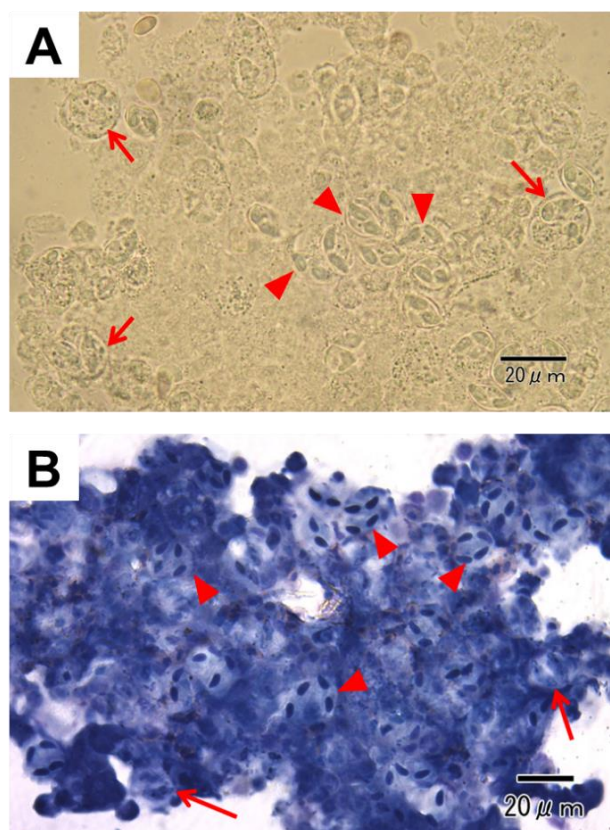


Fig. 2 The views of *Enteromyxum leei* in the intestine of *Amphiprion ocellaris*. **A:** Direct microscopic. **B:** Diff-Quik stain. Arrowheads and arrows indicate fully developed spores and presporogonic trophozoites, respectively.

た虫体の多くは排除され、一部は封入体に包まれていた。また、粘膜固有層上に上皮細胞の再生が認められ、1個体では低いひだ構造の形成が認められた (Fig. 5A)。昇温159日後の3個体では粘膜上皮層の剥離は認められず、虫体の寄生はみられなかった。粘膜上皮細胞の再生が顕著で健常個体の腸管構造を呈していた (Fig. 5B)。

鰓 昇温前は、主に一次鰓弁の先端部を除く中間部から基部において呼吸上皮細胞の浮腫や崩壊壊死・剥離などの棍棒状の病変が認められた。二次鰓弁では動脈が拡張し、多数の赤血球が滞留し、うっ血症状も認められた (Fig. 4C)。虫体の浸潤は、呼吸上皮では認められなかったが、鰓弁基部のうっ血した動脈部では認められた (Fig. 4D)。

昇温30日後と159日後の全7個体で呼吸上皮の壊死や剥離、うっ血などの顕著な病変は認められなかった。鰓弁の再生が認められ、一次鰓弁の棍棒状変性の改善が認められた (Fig. 5C)。

腎臓 昇温前および昇温30日後の全個体で、虫体の浸潤状況は確認できなかったが、尿細管上皮

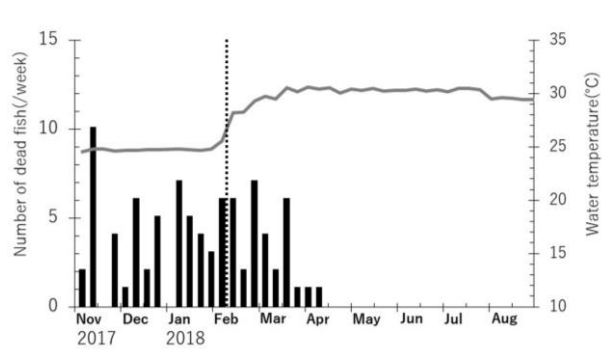


Fig. 3 Changes of weekly mortalities of *Amphiprion ocellaris* (Bar) and average water temperature (line) during the outbreak of myxosporean emaciation disease. Broken line indicates the first day of high water temperature treatment (5 Feb. 2018).

細胞の壊死や空胞様の著しい尿細管の変性が認められた。間質部では白血球などの増生による異物処理現象が認められた (Fig. 4E)。

昇温159日後の3個体では顕著な病変は認められなかった。近位尿細管の細胞は核が大きく再生が顕著で、間質細胞も正常であった (Fig. 5D)。

肝臓 昇温前は全個体で虫体の浸潤は確認できなかったが、一部の肝細胞質の中に空胞様構造の変性を伴う策状構造の乱れが認められた。また一部の肝細胞核の形態異常や壊死が認められ、胆汁色素うっ滞 (黄褐色の顆粒) や、壊死細胞において核融解を生じている場合も見られた (Fig. 4F)。

昇温30日後と159日後の全7個体で、肝細胞の細胞質空胞様変性や核の壊死・融解など顕著な病変は認められなくなった。策状構造も正常となり、肝細胞の核は大きく、核分裂の様相も観察され再生が著しかった (Fig. 5E)。

脾臓 昇温前後の全個体で、顕著な病変は認められなかった。

昇温前後の肥満度

昇温前の瀕死個体の肥満度は平均4.02 ($n = 5$)であった。昇温159日後には摂餌量が向上し、肥満度は平均8.18 ($n = 3$)となり、昇温前後で有意な差が認められた ($p < 0.05$)。また、比較のため粘液胞子虫性やせ病に感染していないカクレクマノミ ($n = 4$)で肥満度を求めたところ、その値は平均6.91 ($n = 4$)で、昇温処理後の感染個体との間で有意差は認められなかった ($p < 0.05$)。

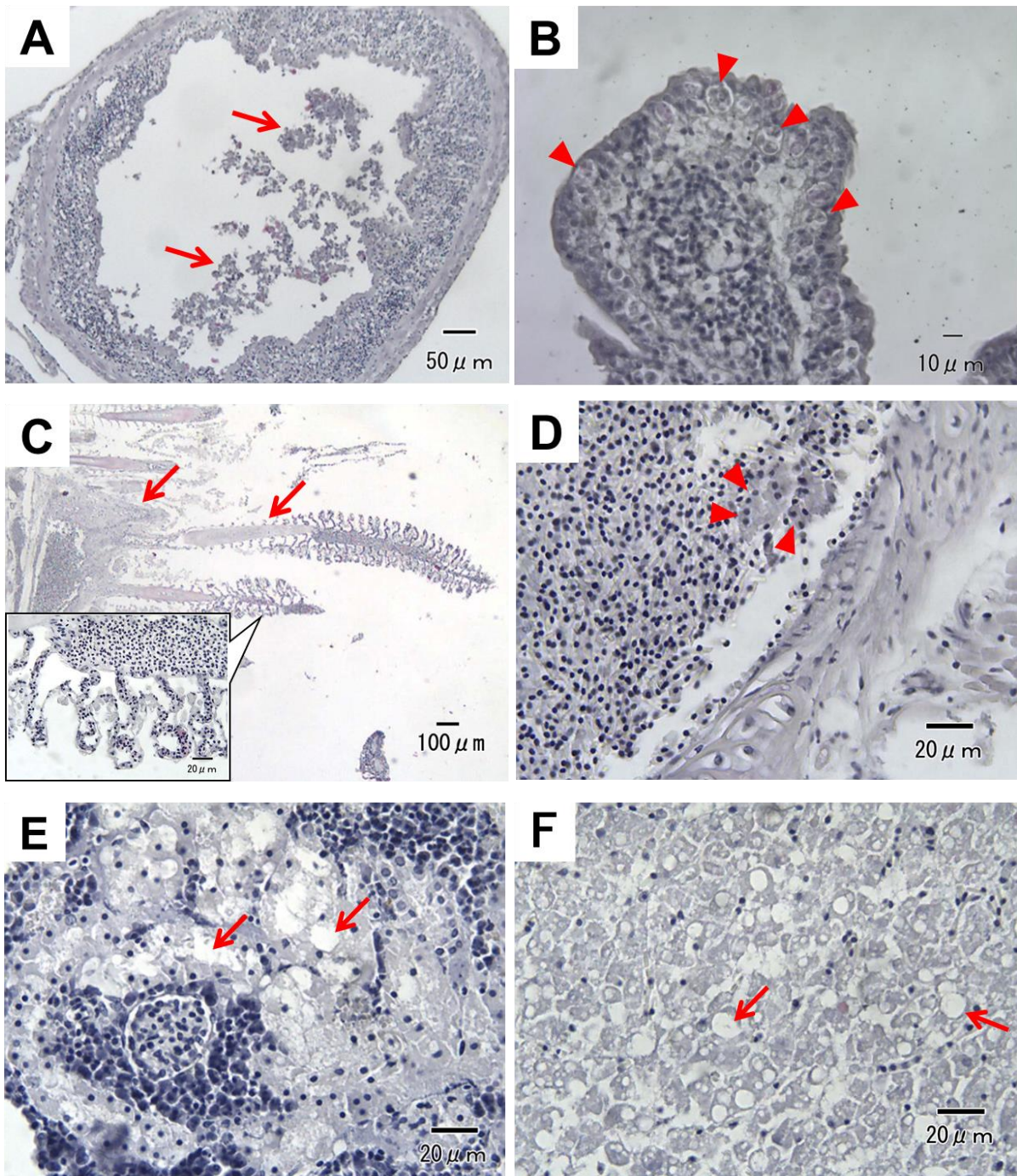


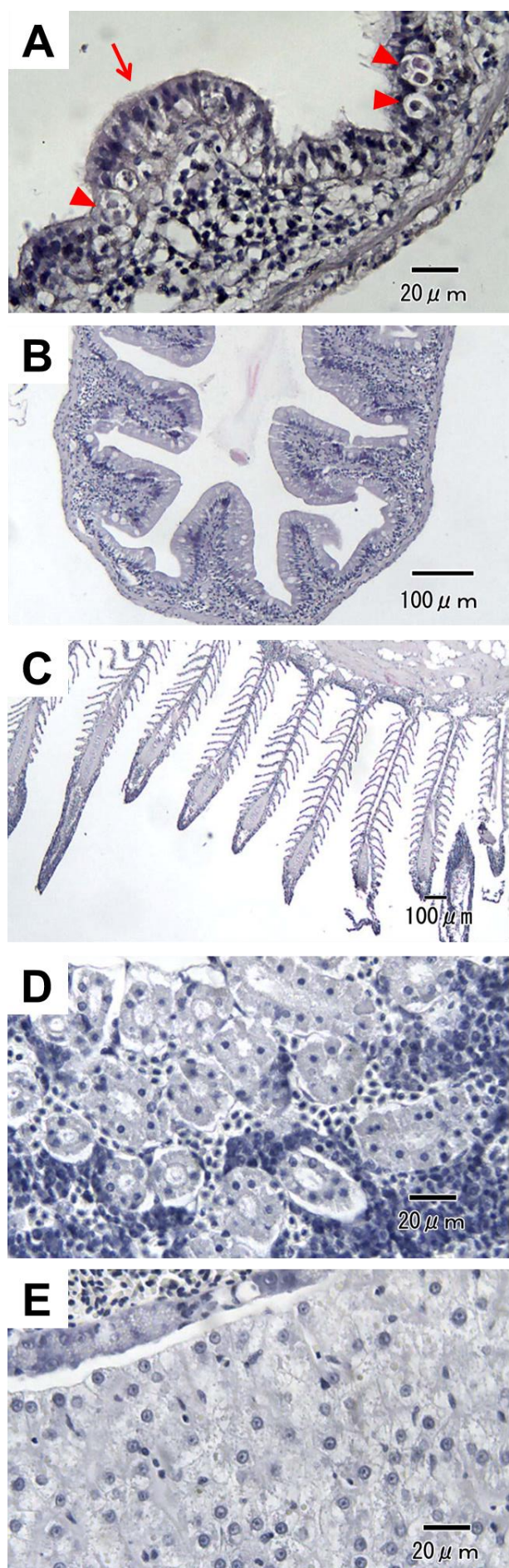
Fig. 4 Histopathology of *Amphiprion ocellaris* infected with *Enteromyxum leei* before high water temperature treatment. A and B: Histological sections of intestinal epithelium. Sloughed epithelial cells are observed in the lumen (arrows). Numerous *E. leei* (arrowheads) are seen in the epithelium. HE stain. C: Histological sections of gill filament. Necrosis at gill filament root and middle part is seen (arrows). The inset shows a blood stasis at secondary lamellae. HE stain. D: Histological sections of branchial artery. *E. leei* are observed in artery (arrowheads). HE stain. E: Histological sections of kidney. A large number of vacuoles in the cell (arrows) and extensive necrosis of nephrocyte were observed. HE stain. F: Histological sections of liver. A large number of vacuoles in the cell (arrows) and disintegration of hepatic due to extensive necrosis of hepatocytes were observed. HE stain.

論 議

1. 疾病の症状と原因種

本研究のカクレマノミに認められた顕著なや

せ症状や、腸管における粘液質の液体の貯留などは、既知の *E. leei* 重篤感染魚で報告されていた症状 (Tun et al., 2000 ; 知名ほか, 2013 ; 柳田, 2017) と一致している。本研究では、さらに腸管が裂開



するなど著しい損傷や、腎臓が摘出できないほど萎縮しているなど既知の報告にはない重傷個体も認められた。これは、罹患魚の斃死数が増加してから昇温治療を開始するまでの期間が13週と長く、その間に疾病が重篤化したためと考えられた。

観察された粘液胞子虫の胞子は緩やかな三日月形を呈し、Diff-quick染色に濃染する2個の極嚢が八の字型に配列している点で *E. leei* と一致する（柳田，2017）。一方、本研究の胞子は長さ10.5–13.9 μm ，幅4.4–7.8 μm で、既知の *E. leei* の大きさ（長さ13.9–19.1 μm ，幅5.6–11.0 μm ）よりもやや小さい（柳田，2017）。これは虫体をDiff-Quick染色後に計測したため、固定液によって収縮したためと考えられた。したがって、症状および胞子の形態やDiff-Quick染色に極嚢が濃染する染色性の観察結果から、本症の病原体は *E. leei* と考えられた。なお、本種のほかに日本国内から報告されている粘液胞子虫性やせ病の原因種としては、*S. fugu*がある。しかし、*S. fugu*は胞子が丸みを帯びた台形で、長さ8.3–9.5 μm ，幅13.0–15.0 μm であること、そして2個の極嚢が球形であることで *E. leei* と容易に区別できる（柳田，2017）。

2. 小型魚向けの生検法

罹患魚が排泄した白い糸状の糞からは、*E. leei* の虫体が多数確認された。これは、虫体の重篤な寄生により腸管の上皮や炎症部分が腸腔内に脱落したためと考えられた。*Enteromyxum leei*への感染の有無を調べるためには、供試魚を麻酔後に肛門から綿棒を挿入して腸粘膜のスタンプ標本作製し、Diff-Quick染色を施してから顕微鏡観察を行う簡便な生検法が知られている（Yanagida et al.,

Fig. 5 Histopathology on various organ tissue of *Enteromyxum leei* infected *Amphiprion ocellaris* after high water temperature treatment. **A:** Histological sections of intestinal epithelium. Day 30 on high water temperature treatment. Some parasites inclusion bodies (arrowheads) are seen in the epithelium. Regenerated intestinal epithelia tissue is observed on the gut lamina propria (arrow). HE stain. **B:** Histological sections of intestinal epithelium. Day 159 (histological normal). HE stain. **C:** Histological sections of gill filament. Day 159 (histological normal). HE stain. **D:** Histological sections of kidney. Day 159 (histological normal). HE stain. **E:** Histological sections of liver. Day 159 (histological normal). HE stain

2005). しかし, カクレクマノミなどの小型魚では綿棒の肛門挿入によるサンプル採取が困難で, 魚体への負担も大きい. 本研究では飼育水槽で得られる糞を直接顕微鏡観察もしくは塗抹標本にDiff-Quik染色を施して顕微鏡観察したが, この方法は*E. leei*感染の疑いのある水槽飼育下の小型魚に対して有効な生検法であると考えられた.

3. 昇温前後の組織性状と昇温による治療効果

*Enteromyxum leei*の臓器組織への浸潤が確実に観察されたのは, 腸管と鰓であった. これらの臓器では, 粘液胞子虫性やせ病の顕著な病変である腸管粘膜上皮の浮腫による剥離と鰓呼吸上皮の混棒状剥離が認められた. このほかの臓器では, 腎臓尿細管の変性と壊死, 肝細胞質の空胞様変性と核の壊死などが確認された. これらに関連した過去の報告では, 粘液胞子虫性やせ病の病害性として, 腸管上皮の剥離や崩壊 (Tun et al., 2002) だけでなく, 胆管閉塞による肝臓の障害も死因に大きく関与している可能性が指摘されている (知名ほか, 2013). 本研究では胆管閉塞については詳細に検討しなかったが, 肝細胞の壊死や変性が確認されているので胆管閉塞を伴っている可能性は高い. また, 罹病魚の呼吸数増加を伴った行動が緩慢となる症状は, 鰓での呼吸障害によるガス交換機能の低下が起因している可能性がある. さらに本研究では腎機能障害も認められ, 重篤個体の斃死にはこれら臓器の機能不全が大きく関与していると考えられた.

本研究では昇温治療を開始する13週前から昇温6週後までは斃死個体が多く発生したが, その後は減少し, 昇温10週後以降は斃死が認められなくなった. 生存個体は腸管粘膜固有層上に粘液上皮細胞の再生が見られた. また, 鰓では呼吸上皮, 肝臓では肝細胞, 腎臓では尿細管の再生がそれぞれ認められ顕著な変性は見られなくなった. このように, 30℃への昇温飼育によって水槽内に蔓延した*E. leei*による粘液胞子虫性やせ病への長期的な治療効果が認められた.

China et al. (2014) は水温23℃でカクレクマノミに*E. leei*を暴露感染させ, 3週間後に30℃に昇温させた結果, 7日後には感染率が有意に低下したことを報告している. 一方, 本研究では, 昇温

処理による治療効果が認められるまで6週を要した. これは, 罹患魚の斃死が始まってから昇温治療を開始するまでの期間が13週と長く, その間に重傷個体が多く発生したためと考えられた. また, China et al. (2014) は, 本症に感染したヤイトハタを高水温下で飼育しても腸管内腔の*E. leei*は形態的に正常であり, 病状の回復は虫体の死滅ではなく魚体の代謝の活性化に伴う体外への排出に起因すると指摘した. 本研究の罹患したカクレクマノミにおいても腸管や鰓の上皮細胞が剥離することで虫体が体外へ排出され, その後, 臓器組織の再生が進行して自然治癒したと考えられた. なお, 昇温飼育は罹患魚が完全に回復し本研究の経過観察が終了した2018年8月24日以降も継続し, 同年10月14日から通常の飼育水温25~26℃へ低下させたが, 現在まで再発症は認められてない.

*Enteromyxum leei*感染における免疫獲得などについては過去に知見がなく, 今後の検証課題である.

本研究を含め*E. leei*罹患魚に対する昇温飼育の有効性を認める報告がある一方で, 養殖トラフグにおいては26℃を超える高水温下でも*E. leei*の感染による疾病の発生が知られている (堅田ら, 2015). China et al. (2014) は, 昇温することで*E. leei*の排出が起きるのは高水温を好む魚種の特異性であるとしており, この方法で治療効果が期待できるのは, カクレクマノミなどの熱帯・亜熱帯性魚類に限られる可能性がある.

謝 辞

本研究を行うあたり, 東海大学海洋科学博物館の鈴木宏易氏および赤松尚美氏をはじめとする職員諸氏に多大なるご協力をいただいた. また, 要旨・図表の英文執筆では西上泰総氏にご指導いただいた. さらに, 匿名の校閲者3名からは本報の内容や英文表現に関する有益なご助言を賜った. これらの方々に厚く御礼申し上げる.

引用文献

知名真知子・中村博幸・濱川 薫・玉城英信・三輪 理・孟飛・横山 博 (2013) 養殖ヤイトハタに発生した粘液胞子虫性やせ病. 魚病研究,

- 48 (3), 88-96.
- China, M., H. Nakamura, K. Hamakawa, E. Tamaki, H. Yokoyama, S. Masuoka and K. Ogawa (2014) Efficacy of high water temperature treatment of myxosporean emaciation disease caused by *Enteromyxum leei* (Myxozoa). *Fish Pathology*, **49** (3), 137-140.
- Hyatt, M. W., T. B. Waltzek, E. A. Kieran, S. Frasca Jr. and J. Lovy (2018) Diagnosis and treatment of multi-species fish mortality attributed to *Enteromyxum leei* while in quarantine at a US aquarium. *Diseases of Aquatic Organisms*, **132**, 37-48.
- 堅田昌英・奥山芳生・小久保友義・中西 一 (2015) 養殖トラフグとマダイにおける粘液胞子虫性やせ病原因虫の検出状況. *魚病研究*, **50**, 127-129.
- Padrós, F., O. Palenzuela, C. Hispano, O. Tosas, C. Zarza, S. Crespo and P. Alvarez-Pellitero (2001) *Myxidium leei* (Myxozoa) infections in aquarium-reared Mediterranean fish species. *Diseases of Aquatic Organisms*, **47**, 57-62.
- Tun, T., H. Yokoyama, K. Ogawa and H. Wakabayashi (2000) Myxosporeans and their hyperparasitic microsporeans in the intestine of emaciated tiger puffer. *Fish Pathology*, **35**, 145-156.
- Tun, T., K. Ogawa and H. Wakabayashi (2002) Pathological changes induced by three myxosporeans in the intestine of cultured tiger puffer, *Takifugu rubripes* (Temminck and Schlegel). *Journal of Fish Diseases*, **25**, 63-72.
- Yanagida, T., Y. Nomura, T. Kimura, Y. Fukuda, H. Yokoyama and K. Ogawa (2004) Molecular and morphological redescription of enteric myxozoans, *Enteromyxum leei* (formerly *Myxidium* sp. TP) and *Enteromyxum fugu* comb. n. (syn. *Myxidium fugu*) from cultured tiger puffer. *Fish Pathology*, **39**, 137-143.
- Yanagida, T., M. A. Freema, Y. Nomura, I. Takami, Y. Sugihara, H. Yokoyama and K. Ogawa (2005) Development of a PCR-based method for the detection of enteric myxozoans causing the emaciation disease of cultured tiger puffer. *Fish Pathology*, **40**, 23-28.
- Yanagida, T., O. Palenzuela, T. Hirae, S. Tanaka, H. Yokoyama and K. Ogawa (2008) Myxosporean emaciation disease of cultured red sea bream *Pagrus major* and spotted knifejaw *Oplegnathus punctatus*. *Fish Pathology*, **43**, 45-48.
- 柳田哲矢 (2017) 総説 粘液胞子虫性やせ病. *魚病研究*, **52** (2), 63-87.
- Yasuda, H., T. Ooyama, K. Iwata, T. Tun, H. Yokoyama and K. Ogawa (2002) Fish-to-fish transmission of *Myxidium* spp. (Myxozoa) in cultured tiger puffer suffering from emaciation disease. *Fish Pathology*, **37**, 29-33.
- Yasuda, H., T. Ooyama, A. Nakamura, K. Iwata, O. Palenzuela and H. Yokoyama (2005) Occurrence of the myxosporean emaciation disease caused by *Enteromyxum leei* in cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Pathology*, **40**, 175-180.
- Yokoyama, H. and S. Shikarashi (2007) Evaluation of hyposalinity treatment on infection with *Enteromyxum leei* (Myxozoa) using anemonefish *Amphiprion* spp. as experimental host. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **27**, 74-78.
- Yokoyama, H., M. Kareyama, T. Yanagida and K. Ogawa (2009) Seawater survival of *Enteromyxum leei* (Myxozoa) evaluated by in vitro viability and in vivo infectivity assays. *Fish Pathology*, **44**, 172-1.

東海大学博物館研究報告投稿規定

1. 東海大学博物館研究報告は、海洋科学博物館、自然史博物館における資料・標本の調査研究または教育活動の研究成果の報告書とし、主に東海大学博物館の学芸員およびその共同研究者から投稿を受け付け、原則として隔年発行とする(2007年より)。
2. 原稿には次の種類を設ける。原著論文、短報、総説、資料など。
3. 原稿の内容や形式は著者の責任において十分に検討されたもので、本規定で別に設ける「原稿作成要領」に従う。
4. 東海大学博物館研究報告の原著論文の査読については、編集委員が適当と判断した当該分野の研究者2名に依頼する。

原稿作成要領

1. 用 語

原稿は和文または英文とする。

2. 構 成

- (1) 表題、英文要旨 (Abstract)、要旨の直訳、本文[例: 緒言 (Introduction)、材料と方法 (Materials and methods)、結果 (Results)、論議 (Discussion)、謝辞 (Acknowledgment)、引用文献 (Literature cited) の順で作成]、図表及び写真とそのキャプション(英文が望ましい)から構成される。短報についてもこれに従う。

(2) 表 題

- (a) 表題、著者名、所属及び住所(郵便番号必記)を本文とは別の紙に和文及び英文で上記の順に行を改めて書く。
- (b) 表題を省略したRunning head(ハシラ)を和文原稿は和文(20字程度)で、英文原稿は英文(30字程度)で指定する。なお、3語程度のキーワードを記載する。
- (c) 英文表題の単語のうち、接続詞、冠詞、及び前置詞以外はすべて大文字で書き出す。ただし、文頭は全て大文字とする。

[例: The Evaluation Test of the Xanto Decca Chain in Suruga Bay.]

3. 書き方

- (1) 原稿は原則としてワープロソフトを使用して作成し、紙面出力原稿2部(1部はコピー)とテキストファイル(.txt)の入ったCD-Rなど記憶媒体を1枚提出する。
- (2) 和文の紙面出力原稿はA4判縦置きで、横書き、1行全角36字程度、30行程度で、行間をあけて上下左右に3 cm程度の余白をとる。
- (3) 英文原稿はA4判縦置きで、横書き、30行程度で、行間をあけて和文原稿と同様な余白をとる。
- (4) 和文の句読点はピリオド(.)とカンマ(,)を用いる。
- (5) 動物名などの学名の属名と種名は、紙面出力原稿にイタリック指定を示す赤の下線を引く。和名の場合には、カタカナを用いる。

[例: Homo sapiens]

- (6) 特殊文字や記号、外字、下付小文字などの指定については紙面出力原稿に赤で指定する。
- (7) 脚注は原則として用いない。

- (8) 本文中に文献を引用するときは著者の姓と年号(カッコで囲む)で表す. たとえば Nishimura (1975) studied ..., いくつかの研究がある(岩下, 1975; 西村, 1978) 等とする. 筆者が2人以上の場合は, 岩下・西村(1975), Nishimura et al. (1975), 西村ほか(1975) のように書く.
- (9) 図(写真を含む)及び表
- (a) 図表補そのまま写真版下になるよう作図, 作成する. 印刷時の大きさを指定するか, できれば原寸大のものを提出する.
 - (b) 図表の表題と説明文(キャプション)は原則として英文とする. 説明文は本文とは別の用紙に順を追って書く.
 - (c) 図表には著者名と図表番号を明記する.
- (10) 引用文献
- (a) 本文中に引用した文献のみを著者の姓のアルファベット順に並べ, 番号はつけない.
 - (b) 引用文献の表記の形式は著者名(欧文文献の主著者は姓を先に, 第2著者以降は姓を後に), 西暦年(カッコで囲む), 表題, 雑誌名(単行書のときは書名), 巻と号(号はカッコで囲む. 巻がなく号のみの場合は巻の表記と同様とする), 頁・頁とし, 単行書の時は書名に続けて出版社, 発行都市, 総頁数P.の順に記載する. 雑誌名の書名は頭文字を大文字で書く. 巻と号はアラビア数字とし, ローマ数字は用いない. 編著の場合は, 引用した部分の表題に続けて「～編:書名, 出版社, 所在地, 引用部分の掲載頁の範囲」を記す(英文ではIn ~ ed.: ...). 同一著者が単独と他との共著で現れるときは, 単独の文献に続いて2人共著, 3人共著…の順に並べる. 著者が何人いても, Aほか, A et al.とはせず, A・B・C・D(和文文献), A, B, C and D(欧文文献)のようにする. 同じ著者の論文が続く場合, 著者名を略さず, また同じ雑誌名が続く場合もIbid.等で略さず全て書く. 引用文献の表記に関しては下記の例も参照のこと.
 - (c) 英文論文中に和文の文献を引用するときは, 各文献の末尾にカッコをつけて (in Japanese with English abstract), または (in Japanese) と付記する.
 - (d) Web site上の引用文献については, 題名, サイト名, URLを表記する.

[引用文献の表記例]

鎮西清隆(1980)掛川層群の軟体動物化石群, その構成と水平分布. 国立科博専報, **13**, 15-20.

Haq, B., U. J. Hardenbol and P. R. Vail (1987) Chronology of fluctuating sea level since the Triassic. *Science*, **235**, 1156-1166.

星野通平(1976)駿河湾のなぞ, 沈黙の海底と生きている化石. 静岡新聞社, 静岡, 253 P.

久保田 正(1995)ミズウオの鳴らす警鐘. 佐尾和子・丹後玲子・根本 稔 編:プラスチックの海, おびやかされる海の生きものたち, 海洋工学研究所出版部, 東京, 67-74.

Cohen, D. M. (1986) Family Moridae. In Smith, M. M. and P. C. Heemstra eds.: *Smith's sea fishes*, Springer-Verlag, Berlin, 326-328.

安田 進(2009)2009年静岡県沖の地震の現地被災調査メモ. 日本地震工学会web site:2009年8月駿河湾の地震に関する情報, <http://www.jsce.or.jp/committee/eecs/files/090811suruga3pdf>. (閲覧日2009年10月1日)

編集委員会
委員長：鈴木宏易
委員：富山晋一

海・人・自然
東海大学博物館研究報告
Science Reports of The Museum, Tokai University
No. 15
2020年 3月
2020年 3月 31日発行
編集・発行 東海大学海洋学部博物館
館長 秋山 信彦

424-8620 静岡県静岡市清水区三保2389
電話：054-334-2385 FAX：054-335-7095
<http://www.muse-tokai.jp/>

No. **15**

March, 2020

**Science Reports of
The Museum, Tokai University**

**Museum: School of Marine Science and Technology,
Tokai University**