

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月15日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380125

研究課題名（和文） 餌料系列操作による仔魚の質的变化とその作用機構

研究課題名（英文） Quality changes of fish larvae through manipulation of feeding regimes and their mechanisms.

研究代表者

萩原 篤志（HAGIWARA ATSUSHI）

長崎大学・大学院水産・環境科学総合研究科 教授

研究者番号：50208419

研究成果の概要（和文）：天然域での採集や、実験室内での選抜や交雑を通じて得た各種動物プランクトンを材料とし、それらを餌料生物として5種の海産魚の仔魚に給餌した。その結果、アルテミアより体サイズ範囲が広い汽水産ミジンコの給餌によって、ヒラメ仔魚の成長が向上することがわかった。また、口径の小さいマハタ、メガネモチノウオ、アカハラヤッコや、咽頭径が小さいニホンウナギは、超小型ワムシ類の*Proales similis*を摂餌して消化することが可能であった。このとき、仔魚の成長にともなって、大型で遊泳力の大きい餌料を選択的に摂餌し、これらに基づいた餌料系列の活用によって仔魚の成長と生残が大きく改善され、消化酵素活性から判断した活力も向上することが確認された。*P. similis* は、市販の栄養強化剤で二次培養することによって、シオミズツボワムシと同様、高度不飽和脂肪酸（EPA, DHA, AA）の栄養強化が可能であり、量産培養も可能であることがわかった。

研究成果の概要（英文）：Culture collection of zooplanktons has been conducted through selection, breeding and field sampling. By feeding them to five species of marine fish larvae, the following findings have been obtained; 1) Japanese flounder larvae grew better by feeding brackish cladoceran *Diaphanosoma celebensis*, comparing to the feeding of *Artemia franciscana*, 2) When small sized zooplanktons were fed to fish larvae with smaller mouth such as seven-band grouper, rusty angelfish, and humphead wrasse, the minute rotifer *Proales similis* was ingested most efficiently. These larvae shifted preference to larger food according to their growth, and resulting in better growth and survival. Japanese eel larvae (large mouth, but narrow pharynx) could also ingest *P. similis*. HUFA was successfully enriched to *P. similis*, and its mass culture could be conducted using batch culture method.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2010年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2011年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

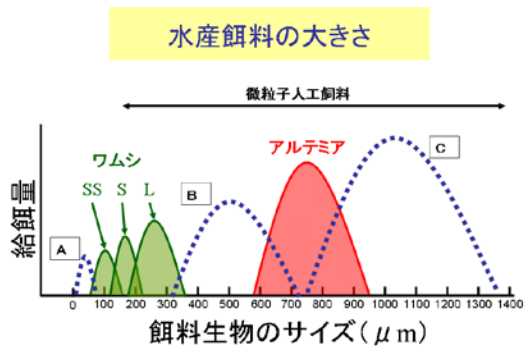
研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：動物プランクトン、餌料生物、仔魚飼育、行動、餌料系列

1. 研究開始当初の背景

我が国の種苗生産業界では、種苗価格の下落と業者の淘汰が相次ぎ、マダイ、ヒラメ、トラフグに次ぐ、高い市場価値をもつ新たな魚種導入への要望が強くなっている。一部では公的機関との連携のもとに、ハタ類、カサゴ・メバル、アマダイ、マグロ等の生産にとりくむ例も始まっている。しかし、どの魚種も初期減耗が大きく、産業として安定的に採算を取ることは現状では困難である。また、マダイ、ヒラメ、トラフグ等の量産可能種でさえも、奇形魚と称されるように、天然魚とは異なる形態を示す例が問題となっている。これは、餌料をシオミズツボムシとアルテミアのみに依存した、画一的な飼育システムが広く定着した結果、餌料や環境を多様に変化させた飼育研究に基づく仔魚の質についての知見（形態や行動など）が不足していることが原因であると考えられる。例えば、ワムシやアルテミアは、天然海域にはほとんど分布せず、天然では普通にみられる $100\mu\text{m}$ 以下、 $350\sim 600\mu\text{m}$ 、 1mm 以上のサイズレンジの餌を全くカバーできていない（下図）。これらを問題点として重視し、餌料生物学的な方法論で取り組もうとするのが本研究のねらいである。



2. 研究の目的

海産魚の人工種苗生産は、シオミズツボムシ→アルテミア→微粒子飼料という餌料系列に全面的に依存している。しかし、量産種のマダイ、ヒラメ、トラフグでさえ、上記餌料生物の給餌に起因すると推察されている形態異常の問題を抱えたままであり、マグロやウナギ等を含めた新しい量産対象魚種への餌料系列に適用することは困難である。本研究では、申請者が確立してきた動物プランクトンのカルチャーコレクション（25種130株）の中から、適株を組み合わせることによって、新たな餌料系列を導入

し、仔魚の健康度（成長、生残、活力）を改善できるか検討すると共に、仔魚用餌料が満たすべき条件について動物プランクトンと仔魚の両者の立場から生理・生態・行動学的な観点のもとに解明を試みた。

3. 研究の方法

実験Ⅰ. 一般にワムシ類は遊泳と付着を繰り返すが、仔魚は主に浮遊している餌料を摂餌する。そこで、ワムシの付着を抑制する因子の解明に取り組み、仔魚用餌料生物としての性能改善について検討した。

実験Ⅱ. ワムシ ($90\sim 350\mu\text{m}$) やアルテミアの孵化幼生 ($600\sim 900\mu\text{m}$) の他、これらではカバーできないサイズの動物プランクトン（汽水産あるいは沿岸性のワムシ類、ミジンコ類、カイアシ類）を給餌し、仔魚（ヒラメ、マハタ、メガネモチノウオ、アカハラヤッコ、ニホンウナギを使用）の摂餌状況を確認すると共に、ワムシ・アルテミア給餌の場合と、成長、生残、活力を比較検討した。

実験Ⅲ. 口径の小さな仔魚飼育に特に有効な *P. similis* の量産培養技術確立のための基礎知見を得ることを目的として、本種の栄養強化（微細藻類 *Nannochloropsis oculata*、市販のスーパー生クロレラ V-12 (*Chlorella vulgaris* クロレラ工業社製) を使用) と 2L および 500L 水槽を用いた高密度量産培養に取り組んだ。

4. 研究成果

実験Ⅰ. 水中に餌（植物プランクトン）が十分量存在する良好な環境下でワムシは付着行動を示すと共に、急激な塩分上昇等の大変強いストレスによっても付着が誘導されることがわかった。また仔魚の餌料となるようにワムシを遊泳させるためには、一時的な飢餓等のある程度のストレスを与えることが有効であった。

実験Ⅱ.

ヒラメ：3日令からL型ワムシを10個体/mLで給餌し、25～34日令の10日間はL型ワムシと汽水産ミジンコ (*Diaphanosoma celebensis*)、または、L型ワムシとアルテミア (*Artemia franciscana*) を併用給餌した。35日令以降は汽水産ミジンコまたはアルテミアをそれぞれ0.1～0.3個体/mLで単独給餌した。その結果、35日令での仔魚の

摂餌成功率はアルテミア（100%）がミジンコ（44%）より高かったが、飼育終了時（68日令）の死魚の体長は、汽水産ミジンコ区がアルテミア区よりも有意に大きくなった。マハタ：100L水槽内でシオミズツボワムシ（*Brachionus rotundiformis*、以下SS型ワムシ、約150 μm ）と汽水産ワムシ *Proales similis*（約80 μm ）を餌料としたマハタの仔魚飼育を実施した。4日令の仔魚はSS型ワムシより *P. similis* に対して高い摂餌選択性（Chessonの摂餌選択指数は各々0.3、0.7）を示し、成長に伴いSS型ワムシへの選択性が上昇した。10日令でのマハタ仔魚生残率は、*P. similis*単独給餌では2.7%、SS型ワムシ単独給餌では6.4%であったが、両者の併用給餌によって14.3%に向上した。無給餌では7日令までに全ての仔魚が死亡した。*P. similis* とSS型ワムシとの併用給餌によってマハタ仔魚の摂餌量と消化酵素活性の増大が起こり、仔魚は良好な成長と生残を示した。

メガネモチノウオ：本種は特に口径が小さく、シオミズツボワムシ複合種の中で最も小型のSS型ワムシを全く摂餌できないために、量産飼育の成功例が皆無であった。しかし本種の仔魚が *P. similis* を活発に摂餌することがわかり、2-6日令に *P. similis* を、6日令以降にSS型ワムシを給餌することによって、稚魚期までの飼育に成功した。

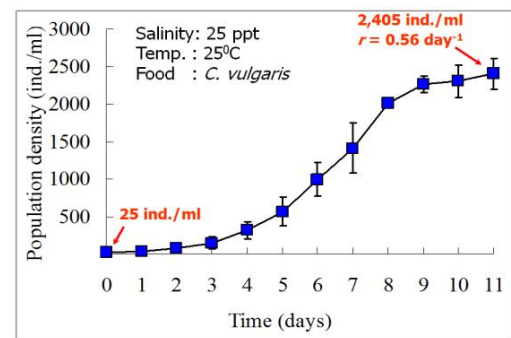
アカハラヤッコ：20~60%の仔魚（4~6日令）が *P. similis* を摂餌した。一方、他の小型動物プランクトン（*B. rotundiformis*、*Keratella* sp. cf. *sinensis*、*Paracyclops nana*のノープリウス幼生）の給餌では、摂餌が確認された仔魚は0~20%にとどまった。日令5~6の仔魚では餌料種間で成長に差はみられなかったが、*P. similis* を給餌した場合の生残率（18.5~38.0%）は他の餌料の場合（0~11.5%）に比べて高くなった。

ニホンウナギ：本種の仔魚の口径は520 μm と大きい、食道部が狭く、粘液細胞が分布しないため、固形の餌料が通過しにくい。そこで、現時点で唯一有効な餌料となっているアブラツノザメの卵を主成分としたペースト状の餌のほか、上記（アカハラヤッコの項）の小型動物プランクトンに対する摂餌を比較検討した。サメ卵ペーストと *P. similis* の給餌で摂餌率（摂餌個体の割合）は各々26.7、20.0%だったのに対し、他の

給餌では摂餌率が著しく低かった（0.0~6.7%）。無給餌ではウナギ仔魚は11日令で全て死亡したが、サメ卵ペーストと *P. similis* を給餌した場合、13日令まで、それぞれ62.8%、37.2%が生存した。

以上より、アルテミアより体サイズのレンジが広い汽水産ミジンコの給餌により、ヒラメ仔魚の成長が向上することがわかった。また、口径の小さいマハタ、メガネモチノウオ、アカハラヤッコや、咽頭径が小さいニホンウナギは、*P. similis* の摂餌と消化が可能であり、仔魚は成長するにつれて、大型で遊泳力の大きい餌料を選択的に摂餌すると共に、これらの併用によって成長と生残が大きく改善されること、消化酵素活性から判断した活力も向上することを確認した。

実験Ⅲ. *P. similis* の培養環境として、水温25~30°C、塩分2-15、植物プランクトンのナンクロプシスを培養餌料とすることにより、本種の個体群増殖を実現可能であることが確認された。また、量産培養に汎用されている市販の淡水クロレラの給餌によっても同様の増殖がみられた。2L規模のバッチ培養で *P. similis* は、初期密度25個体/mLから2400個体/mLまで増殖し、高密度培養が十分に可能であることが示された（下図）。



メガネモチノウオ仔魚飼育の実験時に実施した500L水槽を用いた連続培養では、3日間で9000万個体から1.7億個体に増加した場合もあったが、増殖が止まってから個体数の激減が起こる例もみられ、安定培養技法の確立が今後の課題となった。また市販の栄養強化剤で二次培養することによってSS型ワムシの場合と同様に、高度不飽和脂肪酸（EPA, DHA, AA）の栄養強化が可能であった（下表、Wullurら2011）。

栄養強化培養後の*Proales similis* とSS型シオミズツボワムシの高度不飽和脂肪酸(HUFA)組成(%)

栄養強化剤	<i>P. similis</i>		SS型シオミズツボワムシ
	<i>Nannochloropsis oculata</i> Super fresh	<i>Chlorella</i> Super fresh	<i>Chlorella</i> Super fresh
C20:4n-6 (AA)	5.3	0.5	0.8
C20:5n-3 (EPA)	23.2	11.0	6.1
C20:6n-3 (DHA)	0	17.5	6.6
DHA/EPA	0	1.59	1.08

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ①平井慈恵, 小磯雅彦, 照屋和久, 奥澤公一, 小林真人, 武部孝行, 佐藤琢, 中村航, 後藤敬行, 萩原篤志、メガネモチノウオ仔魚の飼育条件と微小餌料生物プロアレス*Proales similis*の餌料価値の検討、水産技術、査読有、2012印刷中
- ②Wullur, S., Sakakura, Y., Hagiwara, A. Application of the minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp in larval rearing of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*, *Aquaculture*, 査読有、315 巻、2011、355-360
- ③Assavaaree, M., Hagiwara, A., Effect of gamma-aminobutyric acid and porcine growth hormone on survival of the euryhaline rotifers *Brachionus plicatilis* sp. complex preserved at low temperature, *Fisheries Science*, 査読有、77 巻、2011、599-605
- ④Kim, H.-J., Hagiwara, A. Effect of female aging on the morphology and hatchability of resting eggs in the rotifer *Brachionus plicatilis* Müller, *Hydrobiologia*, 662, 2011, pp.107-111.
<http://naosite.lb.nagasaki-u.ac.jp/dspace/handle/10069/24462>
- ⑤Kim, H.-J., Hagiwara, A. Effect of salinity during resting egg formation and hatching on descendent reproduction in the rotifer *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff, *Journal of Plankton Research*, 査読有、33 巻、2011、1033-1042
<http://naosite.lb.nagasaki-u.ac.jp/dspace/handle/10069/27413>
- ⑥ Suga, K., Oshiyama, N., Sakakura, Y., Hagiwara, A. Isolation of mixis-related genes from the rotifer *Brachionus plicatilis* using subtractive

hybridization, *Hydrobiologia*, 査読有、662 巻、2011、83-88

<http://naosite.lb.nagasaki-u.ac.jp/dspace/handle/10069/24402>

- ⑦Suga, K., Tanaka, Y., Sakakura, Y., Hagiwara, A. Axenic culture of *Brachionus plicatilis* using antibiotics *Hydrobiologia*, 査読有、662 巻、2011、113-119
<http://naosite.lb.nagasaki-u.ac.jp/dspace/handle/10069/24463>
 - ⑧Ruttanapornvareesakul, Y., Sakakura, Y., Hagiwara, A., Screening of enzyme activity for assessing the condition of larvae in the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* and devil stinger *Inimicus japonicus*, *Fisheries Science*, 査読有、76 巻、2010、295-304
<http://naosite.lb.nagasaki-u.ac.jp/dspace/handle/10069/24849>
 - ⑨Dahms, H.-U., Hagiwara, A., Lee, J.-S. Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic studies with rotifers, *Aquatic Toxicology*, 査読有、101 巻、2010、1-12
 - ⑩Wullur, S., Sakakura, Y., Hagiwara, A., The minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp: culture and feeding to small mouth marine fish larvae, *Aquaculture*, 査読有、293 巻、2009、62-67
<http://naosite.lb.nagasaki-u.ac.jp/dspace/handle/10069/22002>
 - ⑪小磯雅彦、吉川雅代、桑田博、萩原篤志、シオミズツボワムシ*Brachionus plicatilis*の親世代の餌料環境が次世代以降の生活史特性に与える影響、日本水産学会誌、査読有、75 巻、2009、828-833
- [学会発表] (計 17 件)
- ①平井慈恵, 小磯雅彦, 小林真人, 武部孝行, 萩原篤志, 照屋和久、メガネモチノウオの飼育試験 1-仔魚飼育、平成 24 年度日本水産学会春季大会、2012 年 3 月 29 日、東京海洋大学品川キャンパス
 - ②平井慈恵, 須山絵莉子, 照屋和久, 小林真人, 武部孝行, 小磯雅彦, 萩原篤志, 有瀧真人、メガネモチノウオの飼育試験 2-仔稚魚の発育と成長、平成 24 年度日本水産学会春季大会、2012 年 3 月 29 日、東京海洋大学品川キャンパス
 - ③須山絵莉子, 平井慈恵, 照屋和久, 小林真人, 武部孝行, 小磯雅彦, 澤田千穂那, 阪倉

良孝, 萩原篤志、メガネモチノウオの飼育試験 3-初期の摂餌特性、平成 24 年度日本水産学会春季大会、2012 年 03 月 29 日、東京海洋大学品川キャンパス

- ④小磯雅彦, 手塚信弘, 柴健次, 平井慈恵, 萩原篤志、汽水産ワムシ *Proales similis* の増殖特性と大量培養の可能性について、平成 24 年度日本水産学会春季大会、2012 年 3 月 27 日、東京海洋大学品川キャンパス
- ⑤澤田千穂那, 阪倉良孝, 萩原篤志、光の強さと波長がシオミズツボワムシの走光性と個体群増殖に与える影響、平成 23 年度日本水産学会秋季大会、2011 年 9 月 29 日、長崎大学文教キャンパス
- ⑥Hee-Jin Kim, A. Hagiwara, Effect of light wavelength on the reproduction of rotifer *Brachionus plicatilis*, The 9th Asian Fisheries and Aquaculture Forum, 2011 年 4 月 23 日、上海海洋大学
- ⑦平井慈恵, 照屋和久, 小林真人, 武部孝行, 佐藤琢, 中村航, 後藤敬行, 萩原篤志、メガネモチノウオふ化仔魚飼育の試み、日本水産増殖学会第 9 回大会、2010 年 10 月 30 日、佐賀県唐津市
- ⑧平井慈恵, 奥澤公一, 浅見公雄, 佐藤琢, 糸山英輝, 大谷諒敬, 萩原篤志、飼育下におけるメガネモチノウオの産卵とふ化仔魚の初期餌料の検討、日本水産学会春季大会、2010 年 3 月 26 日～2010 年 3 月 30 日、日本大学生物資源科学部
- ⑨岩淵 睦, 阪倉良孝, 萩原篤志、低水温でのシオミズツボワムシ株間の増殖率の比較、日本水産学会秋季大会、2009 年 9 月 30 日～2009 年 10 月 03 日、いわて県民情報交流センター・アイーナ
- ⑩金 禧珍, 萩原篤志, 菅向志郎, 吉松隆夫、光の波長とシオミズツボワムシの走光性について 2009 (平成 21) 年度日本水産学会秋季大会、2009 年 9 月 30 日～2009 年 10 月 03 日、いわて県民情報交流センター・アイーナ
- ⑪茶谷翔太, 阪倉良孝, 萩原篤志、シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* 交雑株の生物学的特性と餌料価値、2009 (平成 21) 年度日本水産学会秋季大会、2009 年 9 月 30 日～2009 年 10 月 3 日、いわて県民情報交流センター・アイーナ
- ⑫Y. Sakakura, A. Hagiwara, Y. Andou, K. Kadomura, C. Tomioka, S. Yogo, K. Miyaki, Effects of water flow, salinity gradient, and light intensity on the larval performance of the devil stinger

Inimicus japonicus. Larvi 2009: Fish & shellfish larviculture symposium, 2009 年 9 月 7 日～2009 年 9 月 10 日、ベルギー・ゲント市

- ⑬A. Hagiwara Mass culture of euryhaline cladoceran *Diaphanosoma celebensis* and its feeding to marine fish larvae. Larvi 2009: Fish & shellfish larviculture symposium, 2009 年 9 月 7 日～2009 年 9 月 10 日、ベルギー・ゲント市
- ⑭A. Hagiwara, K. Suga, N. Oshiyama, Y. Sakakura Isolation of mixis related genes from the rotifer *Brachionus plicatilis* using subtractive hybridization method. 国際輪虫類学術シンポジウム (Rotifera XII) 2009 年 8 月 16 日～2009 年 8 月 21 日ドイツ・ベルリン市
- ⑮K. Suga, A. Hagiwara, Y. Tanaka, Y. Sakakura Axenic cultivation of the rotifer *Brachionus plicatilis*. 国際輪虫類学術シンポジウム (Rotifera XII) 2009 年 8 月 16 日～2009 年 8 月 21 日ドイツ・ベルリン市
- ⑯M-M. Jung, I. F. Rumengan, A. Hagiwara, Survival strategies of rotifer *Brachionus rotundiformis* and copepod *Apocyclops borneoensis* in the coexisting culture. 国際輪虫類学術シンポジウム (Rotifera XII) 2009 年 8 月 16 日～2009 年 8 月 21 日ドイツ・ベルリン市
- ⑰M-M. Jung, A. Hagiwara Biological application of two protozoan *Euplotes* sp. and *Vorticella* sp. for stable culture of rotifer *Brachionus rotundiformis* in the laboratory experiment of inter- and tripartite-specific relations. 国際輪虫類学術シンポジウム (Rotifera XII) 2009 年 8 月 16 日～2009 年 8 月 21 日ドイツ・ベルリン市

[その他]

ホームページ等

<http://www.nagasaki-u.ac.jp/ja/about/info/science/science35.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

萩原 篤志 (HAGIWARA ATSUSHI)

長崎大学・大学院水産・環境科学総合研究科・教授

研究者番号：50208419

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
阪倉 良孝 (SAKAKURA YOSHITAKA)
長崎大学・大学院水産・環境科学総合研究
科・教授
研究者番号：20325682