

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25450262

研究課題名(和文) 沿岸性カイアシ類の再生産に対する餌料プランクトンの栄養学的影響

研究課題名(英文) Nutritional influence of feed plankton on reproduction of coastal copepods

研究代表者

山田 雄一郎 (Yamada, Yuichiro)

北里大学・海洋生命科学部・講師

研究者番号：80458744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：実験室内において9種類の微細藻類(渦鞭毛藻4種、クリプト藻1種、ハプト藻1種、ラフィド藻1種、プラシノ藻1種、珪藻1種)を沿岸性カイアシ類にそれぞれ単独で与えた時のカイアシ類の摂食活性と再生産規模について調べ、さらに各微細藻の脂肪酸組成を測定し、カイアシ類の各脂肪酸摂取量を求めた。その結果、n-3系高度不飽和脂肪酸、特に22:6(n-3)脂肪酸の摂取量が多いほどカイアシ類の産卵数が増えることが明らかとなった。また、現場におけるカイアシ類の微細プランクトンに対する摂食活性と産卵数との関係について調べたところ、渦鞭毛藻および少毛類繊毛虫に対する摂食速度と産卵数との間に有意な正の相関が認められた。

研究成果の概要(英文)：Feeding activity and egg production in the neritic copepods were investigated using nine microalgae (four dinoflagellates, one cryptophyte, haptophyte, prasinophyte, raphidophyte and diatom) as food. The fatty acid composition of these microalgae was measured, and the intake of each fatty acid in the copepod was also determined. Copepod clutch sizes were increased with increasing an intake of n-3 poly-unsaturated fatty acids, especially, 22:6(n-3) fatty acid (docosahexaenoic acid). Field incubation experiments to examine the feeding activity on microplankton assemblage and the egg production of neritic copepod revealed that there was a significant positive correlation between ingestion rate on dinoflagellates/oligotrich ciliates and spawning number of copepods.

研究分野：海洋プランクトン

キーワード：動物プランクトン カイアシ類 微細藻類 摂食活性 卵生産 脂肪酸

1. 研究開始当初の背景

沿岸域においてカイアシ類は微細な動植物プランクトン等を食す一方、自身は魚類等の重要な餌料となることから、当該海域の生態系において鍵となる生物群である。沿岸性カイアシ類は小型種が多く、生活環が短期で完結するため、その出現規模は自身の再生産能力によって左右されることが予想される。カイアシ類の再生産規模を左右するのは、それらが食する餌料である、ということは過去の多くの研究から知られている。以前はカイアシ類の餌料として最も重要な生物は珪藻であるとみなされていたが、珪藻類はカイアシ類の卵生産や幼体の発生に悪影響を及ぼすことが近年明らかになっている。珪藻がカイアシ類の再生産過程に対して負の影響を与える原因として、(1)珪藻類に含まれている毒成分 (2)珪藻類に含まれる栄養成分の不足の2つが考えられている。これらの原因に着目し、カイアシ類の再生産過程に対する餌料の影響に関する研究が過去に行われてきた。しかしこれらの研究は主として研究室において、対象とする餌藻類を大量にカイアシ類に与えることにより行われた実験の結果であり、天然条件下における餌藻類とカイアシ類の再生産との関係について扱った研究は多くない。さらに、これらの研究はほとんどが欧米諸国の周辺海域において採集されたカイアシ類および藻類を用いて行われており、本邦周辺を対象海域とした研究は少ない。したがってより広範囲な海域においてカイアシ類と餌藻類との関係について扱った研究を行う必要がある。

2. 研究の目的

本研究においては、カイアシ類の再生産と餌生物との関係を明らかにするために、上記原因2の「餌藻類の栄養状態」に着目した。その理由としては、珪藻以外の餌をカイアシ類に与えて行った実験においても、餌藻類の違いによりカイアシ類の再生産規模が異なることが報告されていることから、各微細藻類に含まれている栄養成分を共通のファクターとして比較することにより、広範囲な分類群に及ぶ藻類の影響を比較・検討することが可能となるからである。この点を踏まえ、本研究では室内で培養された藻類および野外において採集された餌生物を用いた、大きく分けて2通りの実験を行ない、餌生物がカイアシ類の再生産に与える影響について検討した。

(1) 室内培養微細藻を用いたカイアシ類の摂食および卵生産実験

実験室内で各種藻類を継代培養し、これを室内において継代飼育した各種カイアシ類に与え、各種藻類に対するカイアシ類の摂食活性を算出し、カイアシ類の摂餌選択性について検討した。同様の餌条件にてカイアシ類の

雌成体を飼育し、産卵速度、卵孵化率および幼生の正常発生率を求め、さらに、カイアシ類に与えた餌藻類の栄養状態の指標として、脂肪酸組成を解析し、生物の発生と特に関係が深いn-3系高度不飽和脂肪酸の含量と再生産との関係について調べた。

(2) 天然条件下におけるカイアシ類の摂食および卵生産実験

現場において採集した海水およびカイアシ類を用いた摂食実験を行ない、微細藻類を分類群ごとに計数し、現場における微細藻類の群集組成および各種藻類に対するカイアシ類の摂食活性を求めた。次いで、現場海水中でカイアシ類を飼育し、産卵速度、卵孵化率および幼体の正常発生率を算出した。

3. 研究の方法

(1) 室内培養微細藻を用いたカイアシ類の摂食および卵生産実験

カイアシ類 *Eurytemora pacifica* および *Pseudodiaptomus marinus* は岩手県の大船渡湾において採集し、餌としてクリプト藻 *Rhodomonas salina* および渦鞭毛藻 *Heterocapsa triquetra* を混合して与え、実験室内で継代飼育したものをを用いた。また餌として用いた8種の微細藻類(渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense*、*Prorocentrum micans*、*Heterocapsa triquetra*、*Karenia mikimotoi*、クリプト藻 *Rhodomonas salina*、ハプト藻 *Isochrysis galbana*、ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo*、プラシノ藻 *Tetraselmis* sp.、珪藻 *Chaetoceros didymus*) も同様に実験室内にて継代培養した。

種々の微細藻類に対するカイアシ類の摂餌選択性

上記の微細藻類をそれぞれの細胞サイズに応じて異なる密度に調整し、一方にはカイアシ類(成体雌)を入れた実験区とし、もう一方は微細藻のみの対照区とした。これらの実験系を24時間培養した後、両区より試水を取り出して微細藻の細胞数を計数した。この計数結果よりカイアシ類の各種微細藻に対する摂食速度を算出した。

種々の微細藻類を与えた場合のカイアシ類の産卵数の変化

コペポダイト4期まで成長した両カイアシ類を抽出して上記の微細藻類をそれぞれ単独で与えて飼育し、抱卵が確認された雌成体を取り出して6穴マイクロプレートに移し、同じ微細藻を与え続けて単独で飼育した。この抱卵雌の1回あたりの産卵数およびふ化率、さらに生涯産卵回数と産卵数を調べた。

種々の微細藻類の脂肪酸含有量

培養した微細藻それぞれの細胞密度を算出し、それらを一定量測り取り、細胞をGf/F

フィルターに捕集した。これを凍結乾燥し、脂質を抽出した後にメチルエステル化を行い、ガスクロマトグラフィーを用いて各脂肪酸含有量を測定した。

(2) 天然条件下におけるカイアシ類の摂食および卵生産実験

本実験には岩手県越喜来湾において夏～秋季に優先するカイアシ類 *Acartia steueri* を用いた。9月から12月にかけて同湾において海水を採集し、同時に動物プランクトン生鮮試料も採集した。試料中より *A. steueri* の雌成体を抽出し、現場海水を満たしたボトルに入れた後、対照区として海水のみを入れたボトルとともに現場に24時間垂下した。実験終了後、ボトル中より産生された卵を取り出して計数した。さらに試水中の微細プランクトンを中心目および羽状目珪藻、渦鞭毛藻、少毛類および有鐘類繊毛虫、珪質鞭毛藻の6つに分類してそれぞれ計数した。これらの結果から本カイアシ類の各微細プランクトンに対する摂食速度を算出した。

4. 研究成果

(1) 室内培養微細藻を用いたカイアシ類の摂食および卵生産実験

種々の微細藻類に対するカイアシ類の摂食選択性

2種のカイアシ類に種々の微細藻を単独で与え、カイアシ類の微細藻に対する摂食速度を測定したところ、*E. pacifica* においては *R. salina* に対する値が最も高く (26,019細胞/個体/時) *A. tamarensis* に対する値が最も低かった (829細胞/個体/時)。一方、*P. marinus* は *I. galbana* を最も多く摂食し (28,935細胞/個体/時)、一方で *K. mikimotoi* に対する摂食速度最も低かった (63細胞/個体/時)。これらの摂食速度は微細藻の細胞数で表しているため、細胞サイズによって値に大きな偏りが生じる。そこで、細胞数により表した摂食速度に各微細藻の炭素重量を乗じることで、摂食速度を炭素重量ベースに換算した。その結果、*E. pacifica* では *R. salina* (2.68 μ gC/個体/時)、*A. tamarensis* (2.52) および *P. micans* (1.85) に対する摂食速度が高く、一方 *P. marinus* は *Tetracelmis* sp. (0.57 μ gC/個体/時)、*R. salina* (0.53) および *I. galbana* を活発に摂食していたことが明らかになった。また、*K. mikimotoi* と *C. didyms* に対する摂食速度はカイアシ類2種ともに低い値を示した (図1)。

種々の微細藻類を与えた場合のカイアシ類の産卵数の変化

1回あたりの産卵数は *E. pacifica* では15~52個、*P. marinus* では5~27個であった。生涯産卵回数は *E. pacifica* では3~7、*P. marinus* では1~3回の範囲にあった。平均生涯産卵数は *E. pacifica* および *P. marinus*

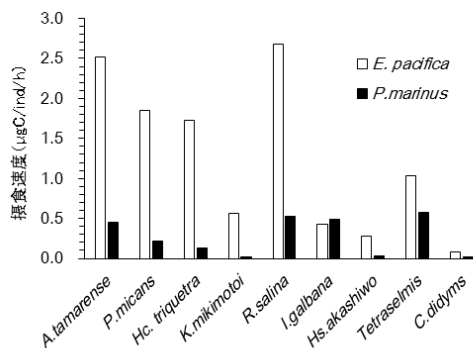


図1: 各微細藻に対するカイアシ類2種の摂食速度(炭素重量換算)

いずれも *R. salina* を与えた場合に最も多く (245個および51.3個) 次いで *H. triquetra* (237個および38.3個)、*P. micans* (215個および39.4個) を与えた場合となった。*P. marinus* の場合、*Tetracelmis* sp. および *C. didyms* を与えた場合には産卵は全く観察されなかった (図2)。

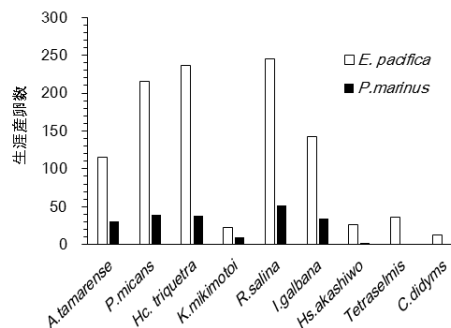


図2: 各微細藻に対するカイアシ類2種の生涯産卵数

種々の微細藻類の脂肪酸含有量

各微細藻の全脂肪酸に占めるn-3系高度不飽和脂肪酸の割合は *R. salina* が最も高く (60.7%)、次いで *Tetracelmis* sp. (46.4%)、*A. tamarensis* (42.5%)、*I. galbana* (35.7%) となった。*C. didyms* における割合はわずか1.7%であった。これら高度不飽和脂肪酸の内、ドコサヘキサエン酸 (DHA, 22:6(n-3)) の占める割合は *A. tamarensis* で最も高く (21.8%)、次いで *P. micans* (14.9%)、*H. triquetra* (12.5%)、*K. mikimotoi* (10.6%) となった。*Tetracelmis* sp. および *C. didyms* にはDHAは全く含まれていなかった (図3)。

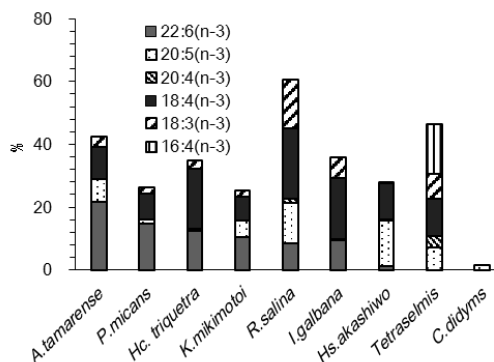


図3: 各微細藻におけるn-3系高度不飽和脂肪酸の割合

各微細藻1細胞あたりの各脂肪酸含有量を算出し、これらにカイアシ類の各微細藻に対する摂食速度で乗じて、カイアシ類2種の各

脂肪酸の摂取速度を算出した。その結果、n-3系高度不飽和脂肪酸の摂取速度は *E.pacifica* および *P.marinus* いずれも *R.salina* を与えた時が最も高く (23.7 および 4.7pg/ind)、次いで *Hc.triquetra* (14.2 および 1.1)、*P.micans* (8.5 および 1.0) を与えた時であった。特に、DHA の摂取量とカイアシ類 2 種それぞれの生涯産卵数との間には有意な正の相関が確認された (図 4)。

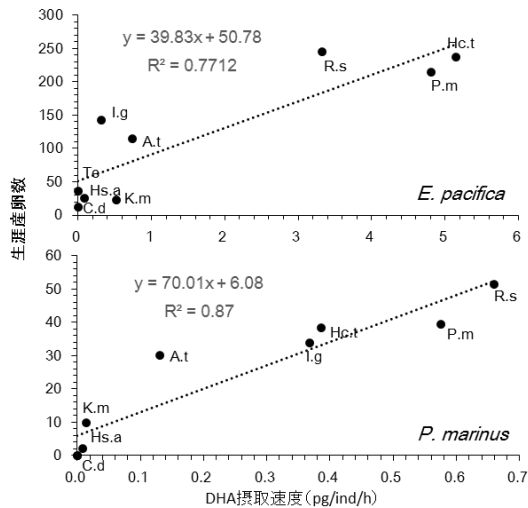


図4: 各微細藻を与えた時のカイアシ類2種のDHA摂取速度と生涯産卵数との関係

(2) 天然条件下におけるカイアシ類の摂食および卵生産実験

実験期間中 (9 月 ~ 12 月) のカイアシ類 *Acartia steueri* の総産卵数は 9 月中旬が 15 個/ind/d と最も高く、10 月に入ると 2.2 個/ind/d まで急激に減少し、以降は 12 月上旬まで 0.2~2.8 個/ind/d の範囲で変化した。以降は 4 月まで本種の出現は確認されなかった。本カイアシ類の各微細プランクトンに対する摂食速度を比較したところ、渦鞭毛藻に対する値が最も高く、特に 9 月中旬には 12.9 細胞/ind/h と最高値を記録し、以降は

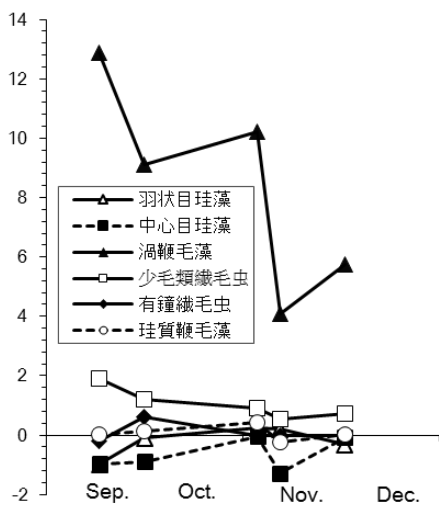


図5: 各微細プランクトンに対するカイアシ類 *A.steueri* の摂食速度の経時的変化 (9 月 ~ 12 月)

12 月上旬まで 4.1~10.2 細胞/ind/h の範囲で推移した。次いで少毛類繊毛虫に対する摂食速度が高く、9 月中旬から 12 月上旬にかけて時間の経過とともに 1.9 から 0.5 細胞/ind/h まで緩やかに減少した。一方、中心目および羽状目珪藻、有鐘繊毛虫および珪質鞭毛藻に対する摂食はほとんど確認されなかった (図 5)。また、本カイアシ類の渦鞭毛藻および少毛類繊毛虫に対する摂食速度と、産卵数との間には有意な正の相関が認められた (図 6)。

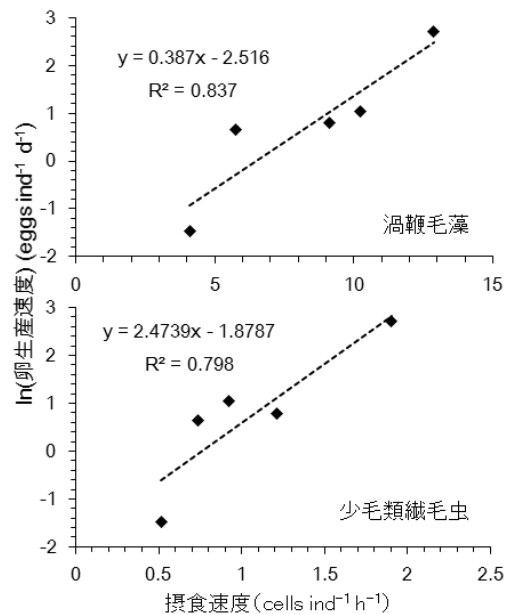


図6: *A. steueri* の微細プランクトン摂食速度と卵生産速度との関係

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

山田雄一郎、佐藤亘、小檜山篤志、岩手県越喜来湾におけるカイアシ類 *Acartia steueri* の再生産と餌料生物との関係、日本海洋学会 2016 年度春季大会、2016 年 3 月 17 日、東京大学、東京都文京区

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 雄一郎 (YAMADA, Yuichiro)

北里大学・海洋生命科学部・講師
研究者番号：80458744

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
なし