

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380108

研究課題名(和文) 餌料用動物プランクトンの行動特性：環境応答メカニズムの解明と仔魚飼育技術への展開

研究課題名(英文) Behavioral characteristics of live food zooplanktons: mechanisms involved in environmental responses and their application to fish larval rearing techniques

研究代表者

萩原 篤志 (HAGIWARA, Atsushi)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・教授

研究者番号：50208419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：ワムシ、ミジンコ、カイアシ類を研究に用いた。匍匐性カイアシ類の *Tigriopus japonicus* を高密度、暗黒、飢餓条件に置くことにより、浮遊交代の割合が増加した。どの種も正の走光性を示し、眼点の視感度特性と一致した。ミジンコとカイアシ類は光量が強くなると負の走光性を示し、底面からの光照射によって水柱の上方に分布した。ワムシとカイアシ類は正の重力走性、ミジンコは負の重力走性を示した。ワムシを給餌して成長したマングロープキリフィッシュの仔魚を、異なる餌料で飼育した結果、生残率はチグリオプス給餌区が高く、干出耐性もミジンコ給餌区とチグリオプス給餌区がアルテミア給餌区より有意に高かった。

研究成果の概要(英文)：Behavioral characteristics of marine rotifer *Brachionus plicatilis*, cladoceran *Diaphanosoma celebensis* and copepod *Tigriopus japonicus* were studied. When *T. japonicus* was cultured under high density, darkness and starvation, the creeping behavior changed to swimming. All species showed positive phototaxis, and these coincided with light absorption of eyespots using micro-spectrophotometry. *D. celebensis* and *T. japonicus* showed reverse phototaxis under strong light intensity, and they moved to surface of water column when light irradiated from the bottom. Rotifers and copepods showed positive gravity taxis, while cladoceran showed negative gravity taxis. Larvae of mangrove killifish were firstly reared by feeding rotifers and switched to *Artemia*, copepods and cladoceran. Larval survival increased when feeding copepods and stress resistance was high when feeding copepods and cladocerans.

研究分野：水産増殖学、応用プランクトン学

キーワード：水産学 餌料生物 行動 環境応答 仔魚飼育

### 1. 研究開始当初の背景

ワムシ、アルテミア、ミジンコ、カイアシ類等の動物プランクトンは、環境の変化によって多様な行動や分布を示す。そのうち、遊泳速度や摂餌速度のように、環境変化に応じて連続的に変化するパラメータについては、多くの知見があるが、特定の環境因子の有無によって on/off 的に発現する行動について調べた研究例はほとんどない。後者の想定される例として、光や化学物質などによる走性、捕食者の存在による逃避、同種個体との共存による集群、飢餓によって誘起される索餌等の行動が挙げられる。しかし、実際にそのような行動があるかどうかを含め、行動の詳細とメカニズムについての学術的知見は乏しい。また、ツボワムシ属などのワムシ類では先端に爪を備えた1本の足を有し、これによる付着と遊泳を生活史の中で繰り返すが、付着の誘導や、付着個体が遊泳を再開するメカニズムについては全く分かっていない。

上述の小型動物プランクトンは、有用魚介類の種苗生産時に生物餌料として用いられているが、行動学的な知見は少ない。その大きな理由は、水の流れに対して受動的な小型の餌料生物の行動が重視されなかったからである。また、仔魚用餌料として餌料生物が普及した背景には、高密度で量産が可能であることのほか、仔魚にとって摂餌しやすい大きさと遊泳を示すという事実があり、その行動に対してそれ以上の関心が集まらなかった経緯もある。

餌料生物が満たすべき要件として、均一に水中に浮遊し、摂餌可能な遊泳速度を示すこと等が挙げられているが、実際には餌料生物の行動と分布は多様である。例えば、申請者らは、異なる波長の光照射がワムシの遊泳速度と水槽内分布を大きく変化させ、両性生殖(耐久卵形成)にも影響を与えることを最近つきとめている。したがって、餌料生物の行動の多様性によって、その短い生活史の中で、発達・成長や繁殖が変化し、量産培養時の増殖速度や培養の安定性に悪影響を与える可能性がある。仔魚飼育槽に給餌された餌料生物の行動によっては、仔魚の摂餌効率が低下する可能性もある。特に、上述した on/off 的な行動の発現や抑制を人為的に調節できれば、量産培養や仔魚に対する餌料価値を大きく改善できる。これらに関する知見が不足していることを重視し、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

本研究の目的は「餌料生物や仔魚の行動を人為的に制御することによって、餌料生物培養の最適化と仔魚の健全な発達を実現できないか?そしてその方法は何か?」という疑問に対する解決を図ることである。特に、種苗生産システムの機能性に大きな影響を与えるような生物の行動変化を誘起する要因

として、光環境(強さと波長)、餌料条件(飢餓と飽食)および同種・他種個体との共存や捕食者の存在の有無に着目し、対象種の行動(走光性、遊泳・付着、索餌、集群、逃避)と生活史(形態、繁殖)に与える影響、およびその作用機構を研究する。これをもとに、餌料生物としての量産培養時や、餌料として給餌される仔魚飼育水槽内の環境下での挙動について、餌料プランクトンと仔魚の両者の立場から、生理・生態・行動学的な観点から検討を行う。これらに取り組みむ上で次の3つの仮説を検証した。

仮説1: 餌料生物として用いられる動物プランクトンや仔魚は、特定の環境で on/off 的な行動変化を個体レベルで発現し、その結果、生活史パラメータ(発達、寿命、内的自然増加率など)も変化する。

仮説2: 上記、仮説1の個体レベルでの検証結果が、同種や他種の個体との共存や、捕食者(被食者)の存在によって変化し、個体レベルとは異なる行動と生活史を示す。

仮説3: 餌料生物種の量産培養槽や仔魚飼育水槽の環境制御を通じて、餌料生物や仔魚の行動と生活史特性値を変化させ、これによって種苗生産システムの改善を実現できる。

### 3. 研究の方法

餌料用動物プランクトンとして汎用されるシオミズツボワムシのほか、カイアシ類2種(*Tigriopus japonicus*, *Acartia tonsa*)、プロアレス(*Proales similis*)、ミジンコ(*Diaphanosoma celebensis*)、メガネモチノウオなど小口径の仔魚用に給餌可能な小型ワムシ *Proales similis* の5種の海産動物プランクトンを用いた。これらに対し、餌料生物の個体レベルでの観察下で、行動パターンに変化を与える環境因子は何か。また、それらの条件下で、生活史パラメータはどのように変化するかについて検討した。また、これらを餌料としたマダイの仔魚飼育実験を行った。

### 4. 研究成果

シオミズツボワムシ:(1)ワムシが生涯に付着と遊泳を繰り返す回数(平均±標準偏差)は  $1.3 \pm 2.3$  回/時、合計付着時間は  $57.6 \pm 11.9$  分/時で、加齢に伴う付着時間、付着回数の変化はなかった。

カイアシ類:(2) *T. japonicus* を高密度・暗黒・飢餓条件におくと、容器内の上部で遊泳する個体が最も多く(16.8%)、他の条件下では遊泳個体の割合は3.0-13.4%だった。0.5 W/m<sup>2</sup>の光照射では、青色光に対してのみ、本種は正の走光性を示した。2.0 W/m<sup>2</sup>では正の走光性を示したが、3.5 W/m<sup>2</sup>では負の走光性を示した。また、2.0、3.5 W/m<sup>2</sup>の青色光を容器の底面から照射することによって、本種の正の重力走性よりも負の走光性が上回り、他の波長と比較して浮遊個体の割合が有意に高くなった(44.6-47.4%)。三次元培養システムを用いて微小重力下で培養しても、浮

遊する個体が増えることは無かった。

(3) *A. tonsa* と *T. japonicus* の成体 1 個体とノープリウス幼生 1, 5, 10 個体を 48 時間共存させ、給餌および無給餌条件下で共食いの誘発状況を調べた。*A. tonsa* では給餌、無給餌の両条件下で、成体による共食いと判断されるノープリウス幼生の減耗がみられ、特に無給餌下での幼生の生残(12-50%)は給餌下(56-80%)より低くなった。*T. japonicus* では、共食いと判断される幼生の減少はみられなかった。

ミジンコ類：光の波長に関わらず、ミジンコは正の走光性を示し、眼点または複眼の視感度特性と一致した。放射照度 0.5 W/m<sup>2</sup> では全ての波長光に対し、ミジンコは正の走光性を示した。一方、高エネルギーの短波長に対し忌避行動を示し、波長による正の走光性だけではなく、負の走光性を利用して行動をコントロールできる可能性がある。

重力について：ワムシは正の走性、ミジンコは負の走性を示し、このとき上部に光照射しても重力走性による分布を維持した。一方、下部から光照射すると負の重力走性に逆らって、下層へ移動するミジンコが出現した。カイアシ類 2 種の量産培養：*A. tonsa* の孵化ノープリウス幼生 1000 個体から培養を開始し、12, 15 日目に培養器内から全ての卵とノープリウス幼生を分離し、別の水槽に移して、培養を行った。3 日に 1 回、各培養器の個体群密度から、容器内の推定個体数を算出した。これらを分離培養区とし、バッチ培養区の個体数と比較した。その結果、バッチ培養では、日数の経過に伴って *A. tonsa* の個体数は減少したが、分離培養区ではバッチ培養時の約 9 倍の個体数の増加がみられた。また *T. japonicus* の増殖は、鶏糞抽出液の添加によって高くなり、1 mL/L 添加区ではバッチ培養時(4800.0 ± 480.0 個体)の約 1.5 倍(7057.8 ± 981.2 個体)、2 mL/L 添加区では約 2.5 倍(12177.8 ± 694.9 個体)となった。

(3) 仔魚飼育水槽でのワムシ分布：小型のプロアレス *Proales similis* の水槽内分布を検討した。プロアレスは給餌した直後、全層で均一に分布したが、1 日が経過すると表層、中層に分布する割合が著しく少なくなり、底層に分布が偏った。

(4) 仔魚飼育実験：ワムシを給餌して成長した仔魚を、アルテミア、ミジンコ、カイアシ類の 3 種の餌料生物を給餌し成長を比較した。生残率はアルテミア給餌区で 16.7 ± 9.8%、ミジンコ給餌区で 20.8 ± 3.8%、チグリオプス給餌区で 39.4 ± 3.1% となり、チグリオプス給餌区が有意に高かった。干出耐性もミジンコ給餌区とチグリオプス給餌区がアルテミア給餌区より有意に高かった。

## 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 15 件)

Hee-Jin Kim, Koushirou Suga, Bo-Mi Kim, Jae-Sung Rhee, Jae-Seong Lee, Atsushi Hagiwara: Light-dependent transcriptional events during resting egg hatching of the rotifer *Brachionus manjavacas*, *Marine Genomics* (査読有), 20, 25-31(2015)

Helen S. Marcial, Koushirou Suga, Shigaharu Kinoshita, Gen Kaneko, Atsushi Hagiwara, Shugo Watabe: Molecular cloning and localization of GABAA receptor-associated protein in the rotifer *Brachionus plicatilis*, *International Review of Hydrobiology* (査読有), 99(1-2), 188-197(2014)

Yoshitaka Sakakura, Yoshihide Andou, Chisato Tomioka, Shigeru Yogo, Kazushi Kadomura, Kado Miyaki and Atsushi Hagiwara: Effects of Aeration Rate and Salinity Gradient on the Survival and Growth in the Early Life Stages of the Devil Stinger *Inimicus japonicus*, *Aquaculture Sci.* (査読有), 62(1), 99-105(2014)

Hee-Jin Kim, Yoshitaka Sakakura, Isao Maruyama, Toshio Nakamura, Kazushi Takiyama, Haruyuki Fujiki, Atsushi Hagiwara: Feeding effect of selenium enriched rotifers on larval growth and development in red sea bream *Pagrus major*, *Aquaculture* (査読有) 432, 273-277 (2014).

Hee-Jin Kim, Chihona Sawada, Jae-Sung Rhee, Jae-Seong Lee, Koushirou Suga, Atsushi Hagiwara: Nutritional effects on the visual system of the rotifer *Brachionus plicatilis* sensu stricto (Rotifera: Monogononta), *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* (査読有), 460, 177-183 (2014)

Bae-Ik Lee, Dae-Jung Kim, Shin-Kwon Kim, Nam-Sil Lee, Atsushi Hagiwara, O-Nam Kwon, Heum-Gi Park, Jin-Chul Park: Optimal Salinity and Temperature Conditions for Mass Culture of Small Rotifer, *Proales similis* *Journal of Fisheries and Marine Sciences Education* (査読有), 26(6), 1315-1321(2014).

Atsushi Hagiwara, Stenly Wullur, Helen S. Marcial, Narisato Hirai, Yoshitaka Sakakura: Euryhaline rotifer *Proales similis* as initial live food for rearing fish with small mouth, *Aquaculture* (査読有), 432, 470-474(2014)

Hee-Jin Kim, Koh Nakamura, Atsushi Hagiwara: Dietary effect of selenium-fortified *Chlorella vulgaris* on reproduction of *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera: Monogononta), *International Review of Hydrobiology* (査読有), 99, 161-165 (2014)

Hee-Jin Kim, Chihona Sawada, Atsushi Hagiwara: Behavior and reproduction of the rotifer *Brachionus plicatilis* species complex under different light wavelengths and intensities,

International Review of Hydrobiology (査読有), 99, 151-156 (2014)

J-S Rhee, B-M Kim, K. Suga, K Soyano, A Hagiwara, Y Sakakura, J-S Lee:

Differential transcript expression of selected gene batteries in two clonal strains of the self-fertilizing fish, *Kryptolebias marmoratus*, Comparative Biochemistry and Physiology (査読有), Part B, 164, 229-235 (2013)

Dae-Sik Hwang, Koushirou Suga, Yoshitaka Sakakura, Heum Gi Park, Atsushi Hagiwara, Jae-Sung Rhee, and Jae-Seong Lee: Complete mitochondrial genome of the monogonont rotifer, *Brachionus koreanus* (Rotifera, Brachionidae), Mitochondrial DNA (査読有), 25 (2013)

Stenly Wullur, Takao Yoshimatsu, Hideki Tanaka, Masataka Ohtani, Yoshitaka Sakakura, Hee-Jin Kim and Atsushi Hagiwara: Ingestion by Japanese Eel *Anguilla japonica* Larvae on Various Minute Zooplanktons, Aquaculture Sci. (査読有), 61(4), 341-347, (2013)

Hee-Jin Kim, Koushirou Suga, and Atsushi Hagiwara: Effect of Light Wavelength on the Sexual and Asexual Reproduction of the Monogonont Rotifer *Brachionus manjavacas*, Aquaculture Sci. (査読有), 61(3), 261-268, (2013)

萩原篤志, 金禧珍, 澤田千穂那, 各務諒, 内桶勇樹: 異なる光環境下でのワムシの行動と生殖特性, アクアネット (査読無), 16(7), 28-30, (2013)

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シ *Proales similis* の餌料価値の検討, 水産技術 (査読有), 4(2), 57-64 (2012)

[学会発表](計 21 件)

内桶勇樹, 阪倉良孝, 星野昂大, 栗田正徳, 萩原篤志: 仔魚飼育水槽内での極小ワムシ *Proales similis* の分布, 日本水産増殖学会第 13 回大会, 2014 年 10 月 18 日, 広島大学大学院生物圏科学研究科(広島県・東広島市)

平田大樹, 阪倉良孝, 萩原篤志: 異なる餌料種が汽水産ミジンコ *Diaphanosoma celebensis* の生殖特性に与える影響, 平成 26 年度日本水産学会秋季大会, 2014 年 9 月 20 日, 九州大学(福岡県・福岡市)

松本北斗, 岩崎圭祐, 阪倉良孝, 萩原篤志: 海産カイアシ類 *Tigriopus Japonicus* の浮遊性を誘導する環境要因の検討, 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 2014 年 3 月 28 日, 北海道大学(北海道・札幌市)

A. Hagiwara: Biology of livefood zooplanktons and application to aquaculture, High Value

Aquaculture Finfish Symposium, October 15, 2013, Kagoshima(Japan)

内桶勇樹, 阪倉良孝, 萩原篤志: シオミズツボワムシと汽水産ミジンコの光走性と重力走性, 日本水産増殖学会第 12 回大会, 2013 年 10 月 14 日, 鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市)

岩崎圭祐, 松本北斗, 高久浩, 伊藤康男, 阪倉良孝, 萩原篤志:

海産カイアシ類 *Acartia tonsa* の量産培養法の検討, 平成 25 年度日本水産学会秋季大会, 2013 年 09 月 20 日, 三重大学(三重県・津市)

松本北斗, 岩崎圭祐, 高久浩, 伊藤康男, 阪倉良孝, 萩原篤志:

海産カイアシ類 *Acartia tonsa* の成長と生残に対する培養密度と共食いの影響, 平成 25 年度日本水産学会秋季大会, 2013 年 09 月 20 日, 三重大学(三重県津市)

A. Hagiwara, S.Wullur, N.Hirai, Y. Sakakura: Euryhaline rotifer *Proales similis* as initial live food for rearing fish larvae with small mouths,

LARVI'13-FISH&SHELLFISH LARVICULTURE SYMPOSIUM, September 4, 2013, (Ghent, Belgium)

Y. Sakakura, K. Suga, A. Kanamori, A. Hagiwara: The self-fertilizing mangrove killifish *Kryptolebias marmoratus* as a model fish for aquacultural study,

LARVI'13-FISH&SHELLFISH LARVICULTURE SYMPOSIUM, September 3, 2013, (Ghent, Belgium)

Hee-Jin Kim, Yoshitaka Sakakura, Isao Maruyama, Toshio Nakamura, Kazushi Takiyama, Haruyuki Fujiki and Atsushi Hagiwara: Effect of selenium-enriched rotifer on the growth and development of the red sea bream *Pagrus major* LARVAE, 10th AFAF,CAA4 2013, May 2, 2013, Yeosu (Korea)

Atsushi Hagiwara: Present status and perspective of aquaculture in Japan Business Meeting of CSF,JSFS and KOSFAS and "The First Korea-China-Japan Joint Symposium on Aquaculture", April 30, 2013, (Yeosu, Korea)

萩原篤志, 金禧珍, 澤田千穂那: 光照射と動物性初期餌料生物の行動および生活環, 平成 25 年度日本水産学会春季大会, 2013 年 3 月 30 日, 東京海洋大学(東京都・港区)

金禧珍, 阪倉良孝, 丸山功, 中村寿雄, 瀧山和志, 藤木春幸, 萩原篤志: セレン強化ワムシの給餌がマダイ仔魚の成長および発達に与える影響, 平成 25 年度日本水産学会春季大会, 2013 年 3 月 27 日, 東京海洋大学(東京都・港区)

岩崎圭祐, 阪倉良孝, 萩原篤志: 異なる餌料条件が海産カイアシ類 *Acartia tonsa* の生残・成長・産卵に与える影響, 平成 25 年度日本水産学会春季大会, 2013 年 3 月 27 日, 東京海洋大学(東京都・港区)

Hee-Jin Kim, Koushirou Suga and Atsushi Hagiwara :  
Gene expression profile during resting egg hatching in the rotifer *Brachionus plicatilis* Müller.

第10回日韓・韓日水産増殖シンポジウム  
日本水産増殖学会第11回大会,  
December 8, 2012, 長崎大学(長崎県・長崎市)

Keisuke Iwasaki, Yoshitaka Sakakura and Atsushi Hagiwara : Optimal culture conditions of two marine copepod species as live food.

第10回日韓・韓日水産増殖シンポジウム  
日本水産増殖学会第11回大会,  
December 8, 2012, 長崎大学(長崎県・長崎市)

各務諒, 阪倉良孝, 萩原篤志 : シオミズツボウムシの加齢と光環境が付着行動に与える影響,

第10回日韓・韓日水産増殖シンポジウム  
日本水産増殖学会第11回大会,  
December 8, 2012, 長崎大学(長崎県・長崎市)

Atsushi Hagiwara : Rotifer biology and aquaculture. 13<sup>th</sup> International Rotifera Symposium ROTIFERA XIII,  
November 22, 2012, Shillong(India)

Chihona Sawada, Hee-Jin Kim and Atsushi Hagiwara :  
Behavior and reproduction of the rotifer *Brachionus plicatilis* under different light Intensity and wavelength. 13<sup>th</sup> International Rotifera Symposium ROTIFERA XIII,  
November 19, 2012, Shillong(India)

Helen S.Marcial, Koushirou Suga, Shigeharu Kinoshita, Gen Kaneko, Atsushi Hagiwara, and Shugo Watabe : Molecular Cloning and localization of GABA<sub>A</sub> receptor associated protein in the rotifer *Brachionus plicatilis*. 13<sup>th</sup> International Rotifera Symposium ROTIFERA XIII,  
November 19, 2012, Shillong(India)

②岩崎圭祐, 阪倉良孝, 萩原篤志 : 海産カイアシ類の培養条件と生物機能について(予報),平成24年度日本水産学会秋季大会, 2012年9月15日,独立行政法人水産大学校(山口県・下関市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況(計0件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

萩原 篤志 (HAGIWARA, Atsushi)  
長崎大学・水産・環境科学総合研究科  
(水産)・教授  
研究者番号 : 50208419

##### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号 :

##### (3) 連携研究者

阪倉 良孝 (SAKAKURA, Yoshitaka)  
長崎大学・水産・環境科学総合研究科  
(水産)・教授  
研究者番号 : 20325682

菅 向志郎 (SUGA, Koushirou)  
長崎大学・水産・環境科学総合研究科  
(水産)・准教授  
研究者番号 : 60569185