

海洋生物科学科 2009 年研究業績

A. 研究発表

1. 論文

- (1) Effect of a dietary fermented vegetable product on the heat shock response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*
Takayuki Ashida, Masahiro Takagaki, Yoshinori Matsuura, and Eiji Okimasu
Fish. Sci., 75, 529–531 (2009)

The protection from fish diseases and the reduction of several stresses have become major interests in fish culture. The use of natural compounds as supplements is safer for the cultured fish and more effective means of reducing stress response in aquatic organisms. There was a possibility that HSP70 (Heat Shock Protein 70; heat-induced HSP70 corresponded to a predicted mass of 70.6 kDa) protects the gill tissues from heat-induced damage in the FVP (Fermented Vegetable Product; Manda^R)-fed fish. In the FVP feeding experiment, the cortisol levels in serum (a biochemical indicator after acute stress responses) after heat shock decreased promptly with time; however, the glucose concentrations in serum (the other biochemical indicator) were maintained. This study has demonstrated that dietary supplementation with FVP will help the cultured fish to induce the stress response. Although FVP contains antioxidant substances, the compounds have not yet been isolated and identified. Further study is necessary to understand the mechanisms of HSP70 induction and the serum cortisol reduction initiated by feeding of FVP.

- (2) Morphology and taxonomy of the Japanese Rhodymeniales (2). Vegetative anatomy and reproductive organs of *Lomentaria pinnata* (Lomentariaceae, Rhodophyta)
Masahiro Suzuki, Tetsuo Hashimoto, Yukimasa Yamagishi, and Makoto Yoshizaki
J. Japanese Botany, 84, 263–272 (2009)

Detailed morphological studies have been carried out on *Lomentaria pinnata* Segawa. This is the first report of male gametophytes and carposporophyte development for the species. The hollow thallus, spermatangia which are produced terminally on the mother

cells, three-celled carpogonial branch, cystocarp protrudes on the thallus, tetrahedrally divided tetrasporangia, and tetrasporangia formed in depressed sori, which satisfy the characteristics of the genus *Lomentaria*. While, the small cortical cells which form rosette-like appearance and the transverse septum occurs only at the base of the branches, which satisfy the characteristics of a separate genus *Chondrothamnion*. The breadth of thalli, branching times and presence of stoloniferous holdfast of *L. pinnata* are variable in their habitat. Comparisons of their type specimens confirm that *L. okamurae* is conspecific with *L. pinnata*.

- (3) *Trans*-Translation is involved in the CcpA-Dependent Tagging and Degradation of TreP in *Bacillus subtilis*.

Hirofumi Ujiie, Tomoko Matsutani, Hisashi Tomatsu, Ai Fujihara, Chisato Ushida, Yasuhiko Miwa, Yasutaro Fujita, Hyouta Himeno, and Akira Muto.
J. Biochem., **145**, 59-66 (2009)

TreP (trehalose-permiase (phosphotransferase system (PTS) trehalose-specific enzyme IIBC component)) is one of the target proteins of tmRNA-mediated *trans*-translation in *Bacillus subtilis* (Fujihara *et al.*, 2002). The TreP synthesis is subjected to CcpA-dependent carbon catabolite repression (CCR), and the *treP* gene contains *cre* (catabolite-responsive element) sequence, a binding site of repressor protein CcpA, in the coding region. Here, we demonstrated that the tmRNA-tagging of TreP occurs depending on the gene for CcpA. In the presence of CcpA, the transcription of *treP* mRNA terminates at 8-9 nucleotides upstream of the 5'-edge of the internal *cre* sequence, and translational switch to the tag-sequence occurs at the 101st amino acid (asparagine) position from N-terminus of TreP. The results show that *trans*-translation reaction is involved in the tagging and degradation of the N-terminal TreP fragment produced by truncated mRNA, which is a product of transcriptional roadblock by CcpA binding to the *cre* sequence in the internal coding region.

- (4) Effect of cultivation methods on nutritional enrichment of euryhaline rotifer *Brachionus plicatilis*

Tomonari Kotani, Teruhisa Genka, Hiroshi Fushimi, Masahiro Hayashi, Kristof Dierckens, and Patrick Sorgeloos
Fish. Sci., **75**, 975-984 (2009)

This study aimed at comparing fatty acid contents of rotifers cultured with different methods after nutritional enrichment in order to evaluate the rotifer quality produced by these methods. Rotifers were cultured using either a batch or a continuous culture. From the batch culture, three experimental subpopulations were used, sampled from the culture at 1, 24, and 48 h after rotifer inoculation. The continuous culture was performed with two tanks; one was for cultivation with continuous feeding and water supply (cultivation tank), and another was for harvesting from the cultivation tank by overflow (harvest tank). From the continuous culture, two subpopulations were used: one from the cultivation and one from the harvest tank. Nutritional enrichment was performed after each culture. Each population was enriched with *Nannochloropsis oculata* or a commercial enrichment diet. When the enrichment was performed with *N. oculata* on populations at 24 h after inoculation originating from either of the two tanks of continuous culture or the batch culture tank, a higher quantity of arachidonic acid (ARA) and eicosapentaenoic acid (EPA) was obtained from the two tanks of continuous culture. The same results were obtained when enrichment diet was used, this time including docosahexaenoic acid (DHA).

- (5) Effect of initial stocking density on larviculture performance of the ocellate puffer, *Takifugu rubripes*

Tomonari Kotani, Yoshiyuki Wakiyama, Tatsuhiro Imoto, Hisahide Suzuki, and Hiroshi Fushimi

J. World Aquacult. Soc., 40, 383–393 (2009)

Depending on the initial stocking density, ocellate puffer larvae exhibit the cannibalism that resulted in high mortality. We aimed to clarify the relationship between stocking density of larvae, mortality, and the effect of density on cannibalism. Ocellate puffer larvae were reared at five different stocking densities between 5 and 25 larvae/L with duplicate 1-m³ tank for each treatment. Larvae were stocked at 0 d after hatch (d.a.h.), and the experimental cultures lasted for 55 d. In larvae stocked initially at more than 10 larvae/L, cannibalism was evident from 11 to 17 d.a.h., and the survival rate at 55 d.a.h. was less than 15%. The survival rate was 25.5% at 5 larvae/L, and cannibalism was observed from 31 to 32 d.a.h. Consequently, an initial density of 5 larvae/L was the most efficient in terms of survival and the prevention of cannibalism. On the other hand, when cannibalism is still observed at 5 larvae/L, it is necessary to lower the stocking density before the onset of cannibalism.

- (6) Examination of a practical method for zinc enrichment of euryhaline rotifers (*Brachionus plicatilis*)

Seiji Matsumoto, Shuich Satoh, Tomonari Kotani, and Hiroshi Fushimi
Aquaculture, 286, 113-120 (2009)

Larval growth and survival of marine finfish in mass seed production are affected by the nutritional value of live feeds such as rotifers and *Artemia*. Thus far, many studies have been conducted to develop effective methods for the enrichment of live feeds with essential fatty acids and vitamins. In this study, a practical method for enrichment of rotifers with zinc was investigated. Changes in the concentrations of other minerals when zinc was added to the rotifer-enrichment tanks were also studied. The mineral composition of rotifers and *Chlorella* after zinc enrichment revealed that the direct addition of zinc to the culture media was not effective because rotifers cannot efficiently accumulate waterborne zinc. The ability of *Chlorella* to absorb waterborne zinc is much higher than that of rotifers, and hence, zinc was pre-accumulated in *Chlorella*, which was then fed to the rotifers. The maximum zinc content of the rotifers was $585.0 \mu\text{g g}^{-1}$ (dry matter) when the rotifers were enriched with zinc alone. This zinc concentration is comparable to that found in natural zooplankton. In rotifers simultaneously enriched with zinc and n-3 highly unsaturated fatty acids (HUFAs), the zinc content increased, but the n-3 HUFA content did not. Therefore, separate enrichment with zinc and fatty acids was adopted. The zinc content of rotifers fed zinc-enriched *Chlorella* was significantly higher than that of rotifers fed unenriched *Chlorella*. After zinc enrichment, rotifers were enriched with fatty acids, and the docosahexaenoic acid (DHA) and n-3 HUFA levels in rotifers were higher than the levels obtained after simultaneous enrichment with zinc and fatty acids. With regard to the concentration of other minerals in rotifers after zinc enrichment, the manganese content tended to decrease when the zinc content increased. The results of this study demonstrated that zinc enrichment of rotifers was successfully performed by using microalgae that had accumulated zinc, and the enrichment of rotifers with fatty acids was also achieved after the completion of zinc enrichment and before feeding the larvae. This method could be utilized for the enrichment of zooplankton with other minerals as well.

- (7) Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and polyhydroxybutyrate acid on growth performance

and immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*

Uriel Rodriguez - Estrada, Shuichi Satoh, Yutaka Haga, Hiroshi Fushimi, and John Sweetman

Aquaculture Sci., 57, 609-617 (2009)

This study investigated the single and combined effects of pre- and probiotics supplement on the growth performance and immune response of rainbow trout. Seven diets supplemented with 1% *Enterococcus faecalis* (E) , 0.4% mannan oligosaccharides (M) and 1% polyhydroxybutyrate (P) in single (E, M and P diets) , double (EM and EP diets) or triple combinations (EMP diet) were fed to juvenile rainbow trout (13.2 ± 0.25 g) for 12 weeks. During the feeding test, the fish were healthy and no mortality occurred. Although weight gain and specific growth rate (SGR) were significantly higher ($P < 0.05$) in the fish fed single supplementation of mannan oligosaccharides, its combined supplementation together with *E. faecalis* showed further improvement of growth as well as feed gain ratio (FGR) . On the other hand, single administration of *E. faecalis* could not improve any growth performance parameter. In addition, *E. faecalis* improved the immunological parameters such as hematocrit value, phagocytic index and activity and mucus production when administrated alone or combined with mannan oligosaccharides. After fourteen days challenge test the lowest cumulative mortalities were recorded in the fish fed E, M, EM and EMP diets. A single supplementation with E and M and combination of them improved the growth performance and immune response of rainbow trout.

- (8) Homogeneity among *Lactococcus garvieae* isolates from striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloch & Schneider), and its ectoparasites lone *Madinabeitia*, S. Ohtsuka, Jun Okuda, Emi Iwamoto, Terutoyo Yoshida, M. Furukawa, N. Nakaoka, and Toshihiro. Nakai
J. Fish Dis., 32, 901-905 (2009)

Infectious diseases have become more serious in aquaculture with the rapid development of intensive culture systems and the increase in fish and shellfish species cultured. Transmission of pathogenic microorganisms to fish is mainly because of horizontal mechanisms. Among co-habiting fish, direct transmission of pathogens through the water is the most important, especially when macroscopic and microscopic injuries occur on fish

body surfaces, becoming potential portals of entry for bacterial pathogens (Kanno, Nakai & Muroga 1989; Amaro, Biosca, Fouz, Alcaide & Esteve 1995). Injuries on the skin and gills of fish are frequently caused by ectoparasites, such as copepods and monogeneans, feeding on host mucus, tissue and blood (Cusack & Cone 1986; Nylund, Bjorknes & Wallace 1991; Nylund, Wallace & Hovland 1993). By these feeding activities, ectoparasites become effective mechanical vectors, potentially transferring pathogens from infected to non-infected fish (Ahne 1985; Cusack & Cone 1986; Donoghue 1986; Cusack, Rand & Cone 1988; Nylund et al. 1991; Xu, Shoemaker & Klesius 2007). However, there is little firm evidence to verify the role of ectoparasites as vectors. Bacterial and viral pathogens have been isolated from ectoparasites on infected fish (Mulcahy, Khybor & Batts 1990; Bandilla, Valtonen, Suomalainen, Aphalo & Hakalahti 2006; Pylkko, Soumalainen, Tiirola & Valtonen 2006; Xu et al. 2007), but none of these studies showed a clear similar identity between pathogens in both ectoparasites and fish.

The present study was designed to determine if ectoparasites carry the same pathogen as that of diseased fish. We targeted *Lactococcus garvieae*, one of the major Gram-positive cocci pathogenic for fish as well as animals and humans (Wang, Shie, Chen, Huang, Hsieh, Wen, Lin & Wu 2007). In Japan, *L.garvieae* infection has caused severe mortalities to cultured fish belonging to the family Carangidae, such as the yellowtail, *Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel, greater amberjack, *Seriola dumerili* (Risso), yellowtail amberjack, *Seriola lalandi* Valenciennes, and striped jack, *Pseudocaranx dentex* Bloch & Schneider, since 1974 (Kitao 1982; Kusuda, Kawai, Salati, Banner & Fryer 1991; Eldar, Ghittino, Asanta, Bozzeta, Gorla, Prearo & Bercovier 1996). We used biased sinusoidal field gel electrophoresis (BSFGE) to differentiate *L. garvieae* isolates from different origins.

- (9) The reproductive tactics and activity patterns of solitary carnivores: the Iriomote cat
Krzysztof Schmidt, Nozomi Nakanishi, Masako Izawa, Maki Okamura, Shinichi Watanabe, Sachiko Tanaka, and Teruo Doi
J. Ethol., 27, 165–174 (2009)

Felids are generally considered to be crepuscular and nocturnal in their activity, but few

studies have attempted to analyze the variability of their activity patterns. We studied the daily activity of the Iriomote cat *Prionailurus iriomotensis* by radio-tracking on Iriomote Island, Japan. The general activity patterns of Iriomote cats showed slightly prevailing activity during dark periods of the day with particular peaks at dawn and dusk or during the early hours of the night. However, these patterns were clearly dependent on the sex and reproductive status of the cat. Peaks of cats' activity coincided with those of their main prey. On average, the cats were active for thirteen hours per day. During the mating season, the rhythm of activity in males followed that of breeding females, but not that of non-breeding ones. Males exhibited 11% higher total daily activity and longer active bouts during the mating period than in the remainder of the year. Breeding females had additional mid-day activity peak during the nursing period, but their total time of activity per day was 16% lower than in the period of kittens' independence. Their active bouts were shorter and more frequent during nursing than at other times. These results suggest that lactating females perform frequent movements to and from the den site to care for kittens. During the non-nursing period, females increased their activity, possibly in response to lowered prey abundance and the need of intensive foraging to recover after lactation. Seasonal and sexual variation of activity patterns in the Iriomote cats confirmed the existence of different reproductive strategies of males and females of these solitary carnivores.

(10) イリオモテヤマネコによるヤエヤマアオガエルの轢死体の捕食例

渡辺伸一

AKAMATA, (20), 5-7 (2009)

近年、野生動物の交通事故死が問題となっており、特に八重山諸島西表島では多くの希少野生動物の生息を脅かす主要な要因の一つとなっている。著者は、西表島の古見の路上においてヤエヤマアオガエルの轢死体をイリオモテヤマネコが捕食しているのを観察した。観察したヤマネコは、その体サイズから当歳仔の若齢個体だと推定されたが、こうした経験の浅い個体が路上で採餌中に、走行車両に跳ねられる危険性が高いことが予想される。これまで、野生動物の交通事故は主に希少野生動物や人的被害の大きいシカなどの大型動物について対策が検討されてきた。しかし、今回の観察結果から、カエル類の交通死亡事故は直接その生息に悪影響を与えるだけでなく、それを餌とする捕食者を誘引し、二次的な事故を引き起こす危険性があると考えられる。よって、カエル類のような小動物についても、交通事故を防止するための対策を講じる必要がある。

- (11) 長期的なカエル類モニタリングのための自動録音システムの開発
福山欣司、大河内 勇、渡辺伸一
爬虫両棲類学会報, (1), 39-47 (2009)

世界各地で両生類の減少が深刻化している。国内でも両生類の減少傾向が指摘されて久しいが、その実態把握は未だ十分とは言えない。2006年には、国内で初めてカエルツボカビが発見され、今後、カエル類の生息状態の変化を把握することは重要な課題となっている。現在、里地モニタリングサイト1000と呼ばれる環境省のプロジェクト等で、卵塊調査法によるアカガエル類のモニタリングが始まっている。しかし、卵塊調査法でモニタリングできる種は限られており、日本のカエル相の多様性をカバーできているとは言い難い。そこで、我々は簡便で誰でもが参加可能な長期モニタリングを提案した。

- (12) Factors affecting the distribution of the leopard cat *Prionailurus bengalensis* on East Asian islands
Shinichi Watanabe
Mammal Study, 34, 201-207 (2009)

Members of the Felidae, being found at the top of the trophic hierarchy in an ecosystem, usually require extremely large habitat ranges. Thus, most cat species are found only on continents or large islands. The leopard cat *Prionailurus bengalensis*, the most widespread species of East Asian cat, is an exception to this rule, occurring on several small islands as well as larger islands and the Asian continent. Using published data for 38 East Asian islands, I evaluated the effects of geographical and biological factors on the persistence of the leopard cat population on an island by using regression analyses. The results suggested that the probability of existence of this cat species on an island increased with increasing species richness of potential prey, or with decreasing species richness of potential competitors. Geographical variation in the feeding habits of the leopard cat was also examined to clarify its ecological adaptation to different environments. The leopard cat chiefly preys on rodents but occasionally also feeds on other kinds of animals depending on region. On small islands with a small number of carnivore species, the cat frequently feeds on non-mammalian prey. This suggests that the cat potentially utilizes a variety of food items. The diet width of the leopard cat may be being determined by availability of prey items and intensity of interspecific

competition.

2. 報文

(1) ヒラメの非特異的生体防御能に及ぼす甘草抽出物経口投与の影響

三吉泰之、河原栄二郎、福田 穰

大分県農林水産研究センター水産試験場調査研究報告、No. 2、1-4 (2009)

グリチルリチンとフラボノイド類を含有する甘草抽出物をヒラメに経口投与して非特異的生体防御能への影響を検討した。また、甘草抽出物を経口投与したヒラメのエドワジェラ症に対する抗病性向上効果について検討した。非特異的生体防御能への影響の検討では、甘草抽出物の投与量を5または50mg/kgBW/日として1または2週間与えて、血清の溶血活性とリゾチーム活性を、頭腎および腸管白血球の貪食および殺菌活性を測定した。その結果、甘草抽出物を投与したヒラメでは、血清の溶血活性、白血球の貪食および殺菌活性が無投与区に比べて高くなることが確認された。さらに、5または10mg/kgBW/日の本抽出物を累計10日間与えた魚に、*Edwardsiella tarda*による攻撃試験を実施した。その結果、実験終了時の生残率は投与量にかかわらず甘草抽出物投与区で高くなる傾向がみられ、本抽出物を経口投与したヒラメは、エドワジェラ症に対して抵抗性を示すと考えられる。

(2) 小型定点観察装置をもちいたアマモ場に生息する動物相の動態観察

渡辺伸一、太田寛規

福山大学生命工学部研究年報(8)、35-47(2009)

藻場などの浅海域の動物相を調査するため、インターバル撮影機能を内蔵したデジタルカメラをもちいた定点観察法を考案した。本研究で開発した装置は、設定した時間間隔(本研究では3または5分間隔)で600枚以上の水中画像を連続的に撮影することができる。本研究では、広島県尾道市因島大浜のアマモ *Zostera marina* が優占する藻場(アマモ場)に観察装置を設置して、動物の出現を記録し、アマモ場における動物相の把握と各種の出現の日周性と季節性について調査した。装置の設置は、2008年10月から2009年1月まで毎月1回行い、設置から2日後に回収して撮影された水中画像を確認した。計178.5時間の観察から2985枚の水

中画像を撮影し、その 44.1%に総計 8434 個体の動物が撮影された。撮影された動物のうち 98.8%で種を同定することができ、魚類 10 種、腹足類 1 種、頭足類 1 種、ヒトデ類 1 種の生息を確認した。最も個体数が多かったのはクサフグ *Takifugu niphobles* (全体の 96.6%) で、次にアミメハギ *Rudarius ercodes* (0.5%) が多かった。ほとんどの種で出現頻度は調査を行った月間で変化し、各種の出現に季節性がみられた。また、各時刻における出現状況を種間で比較した結果、各種の出現パターンには昼行性や夜行性などの日周性があることが示唆された。以上の結果から、瀬戸内海におけるアマモ場は、季節性や日周性の異なるさまざまな生態をもつ動物が生息する場所であるといえる。また、そうした異なる生態をもつ動物によって構成される動物群集を効率よくモニタリングするために、本研究で考案した定点観察法は有効であるといえる。

(3) カブトガニ、2 億年の謎に迫る①

東川光二郎・渡辺伸一

日本バイオロギング研究会会報 (43), 4-5 (2009).

3. 学会発表

- (1) Evaluation of thermal tolerance traits of the redfin velvetfish *Paracentropogon rubripinnis* based on fin cells vitality and breathing frequency
Kenji Sakamoto, Asami Miyazaki, Youichi Yokoe, and Nobuhiko Taniguchi
The 10th International Symposium on Genetics in Aquaculture "Roles of Aquaculture Genetics in Addressing Global Food Crisis" XII, Bangkok, Thailand, Abstract Book, p. 49 (2009).

The thermal tolerance traits of the redfin velvetfish *Paracentropogon rubripinnis* were evaluated by caudal fin cells vitality and breathing frequency. Primary cultured cells and free cells from a caudal fin clip were used in the separate experiments. The observed values of cells vitality were similar. These values obtained in both the primary culture cells and free cells were coincided with the thermal tolerance values obtained in the individual level. These results suggest that there is a significant correlation between the in vivo and in vitro thermal tolerances in the fish. This assay method of thermal tolerances by caudal fin cells could be applied for evaluation of genetic analysis of variation and

physiological mechanisms of thermal tolerance in fish.

Ventilatory frequency was measured in redfin velvetfish which were acclimatized at 8-27°C, and then exposed to higher temperature in a range of 21-35°C at 5-300 minutes after starting of the temperature condition. The results showed two types of the changing patterns in breathing frequency. The first pattern was that the number of times of breathing was rapidly increased to 100 times/min, and then increased gradually or remained at constant frequency. The second pattern was that the number of times of breathing was stabilized at 80 times/min in the first step, and then gradually decreased. The former pattern suggests the inability to acclimate to high water temperature, while the latter suggests the ability to acclimate to high water temperature. In the selective breeding for the high water temperature tolerance traits, the breathing frequency pattern may be useful as the indicator for the traits.

(2) 瀬戸内海域産マタナゴおよびオキタナゴのマイクロサテライト DNA 多型による父性判別および遺伝的多様性評価

阪本憲司、野口大毅、宮道美緒、木崎晶子、湊 紗耶香、谷口順彦
日本水産学会春季大会 (品川)、要旨集、p. 89 (2009).

【目的】 ウミタナゴ科魚類は、日本沿岸の藻場や岩礁域に棲息する胎生魚で、卵生魚種のような浮遊生活期がないので、海域間の移動交流は制限をうける。このため、沿岸域における遺伝的集団構造研究の一つのモデル魚として利用可能と考えられる。高木・谷口(2001)は、ウミタナゴのマイクロサテライト DNA マーカーを開発し、その有用性を解明した。本研究は、分布南限域にあたる瀬戸内海域で採捕されたマタナゴおよびオキタナゴの多型解析により、両種の父性判別と遺伝的多様性の評価を試み、他海域の集団との比較を行った。

【方法】 父性判別は、マタナゴ3個体とオキタナゴ2個体の母親と、母体が孕んでいた胎仔を供試し、MS-DNAの4マーカー座 (*Dte-2*, *Dte-4*, *Dte-5*, *Dte-7*)を用いて、アレル型を検出した。アレル型の決定には、キャピラリー式オートシーケンサー(ABI 3130)によるマルチローカスローディングを採用し、アレル型の決定にはABI Peak Scanner Software V1.0を採用した。さらに、マタナゴ16個体とオキタナゴ43個体を供試し、上述のMS-DNAマーカー4種を用いて多型解析を行い、両種のヘテロ接合体率を求めた。

【結果】 マタナゴおよびオキタナゴの母親と胎仔のアレル型から推定した父親の個体数は、マタナゴでは2ないし3個体であり、オキタナゴでは1ないし2個体であると推定された。このことから、両種ともに複数雄による体内受精が行わ

れていることが明らかとなった。

マタナゴ 16 個体およびオキタナゴ 43 個体において検出された平均アシル数は、それぞれ 10 および 8.75 であった。また、両種における平均ヘテロ接合体率は各々 0.854 および 0.567 であった。Takagi ら (2008) が報告した両種の同値は、石川産マタナゴおよび岩手産オキタナゴで各々 0.783 および 0.767 であり、今回の調査結果ではマタナゴで比較的高い値を示した。

(3) 躍層低下循環装置のアオコ抑制効果の検討

藤井啓子、北口博隆、満谷 淳

平成 21 年度日本水産学会大会 (東京)、講演要旨集、p. 192 (2009-3)

広島県東部にある八田原ダムに設置された躍層低下循環装置によるアオコ抑制効果について、2008 年 7 月から 11 月まで 7 回の調査を行って検討した。その結果、躍層低下循環装置からおよそ 300 m 離れた地点までは表層から水深約 20 m までの水温を均一化して流入した河川水をその下に押し込む効果が見られるのに対し、アオコの群体を光量の乏しい水深に押し込む効果は装置のごく近傍でのみ機能していることが示唆された。なお、調査期間中は少雨であり、ダム水深は低下し続けたが、本装置は一貫して水深 21 m 層への送気が続けていた。8 月下旬以降に水深が 20 m を下回った調査地点では、表層と底層の窒素、リン濃度に差がなくなったことから、本来であれば湖底付近に隔離されていたはずの窒素、リン濃度の高い底層水が表層水と強制的に混合されたと推察され、装置がアオコ抑制という本来の目的と相反する効果を示した可能性が考えられた。

(4) リン除去を目的とする河川浄化施設におけるエストロゲン様物質の除去

北口博隆、正木 彬、藤井啓子、満谷 淳

平成 21 年度日本水産学会大会 (東京)、講演要旨集、p. 201 (2009-3)

水生生物に対してエストロゲン様作用を引き起こす主な原因物質のひとつに、人畜由来のエストロゲンがある。本研究では、中国地方の一级河川のうち水質が最も悪い状態が続いている芦田川水系において、代表的な天然エストロゲンであるエストロン (E1) と 17 β -エストラジオール (E2) の濃度を調査した。また、芦田川水系にリン除去を目的として設置されている水質浄化施設において、E1 および E2 がどの程度除去されるのかについて検討を行なった。その結果芦田川流域では、エストロゲン濃度は高屋川、瀬戸川およびそれらの支流が流入した後の河口付近で高い傾向を示した。水質浄化施設において、放流水では E1、E2 濃度が流

入水に対して 1/4 以下に減少していた。また、その減少は急速ろ過過程において顕著であった。このことから、リン除去を目的として設置された水質浄化施設は、エストロゲン様物質の低減にも有効に働く可能性があると考えられた。

(5) Effects of a bubble plume system on cyanobacterial bloom formation in a temperate reservoir

Hirota Kitaguchi

Symposium on the Formation of Research Center on Control Against Negative Impacts to Coastal Fisheries Resources in Southeast Asia, Kagoshima, Japan, Book of Abstracts, p. 8 (2009-10)

To manage cyanobacterial blooms, bubble plume aerators have been applied in many lakes and reservoirs. In most cases, they installed to induce artificial destratification. But it can occasionally encourage cyanobacterial bloom formation by upwelling nutrient rich bottom water to the surface. Therefore, another application of bubble plume system has been developed to bring incomplete or partial destratification. Incomplete destratification has been applied with two purposes: 1) dispersing cyanobacteria from the surface layer, 2) pushing thermocline down below the deepened mixing layer. The latter may force nutrient rich cold water into aphotic zone.

Lake Ashida, the reservoir of Hattabara dam in the Ashida River system flowing eastern part of Hiroshima prefecture, has equipped four bubble plume aerators to make incomplete destratification in summer. Temperatures, *Microcystis* cell density, and nutrient profile were investigated to determine the effects of the incomplete destratification of Lake Ashida. During aeration, an isothermal mixed layer (ca. 15m deep) was observed and nitrogen and phosphorus concentrations were higher in the hypolimnion than isothermal mixed layer. But, dispersing effect for cyanobacteria was observed only in the station nearby the aerator. In addition, complete destratification occurred a period of drought, suggesting that the depth of aeration might be considered according to the water level.

(6) 瀬戸内海のアサリ資源の現状と回復への取り組み

北口博隆

瀬戸内海の生物多様性保全および利用に関する研究公開シンポジウム(広島)、講演要旨集、p. 6 (2009-12)

アサリは日本人にとって最も馴染みのある海の幸の一つである。わが国のアサリ漁獲量は、昭和30年代から漸増し、1983年の16万トンにピークに翌年から減少に転じ、現在では4万トンを下回っている。瀬戸内海は、1985年には約4.5万トンと全国の生産の1/3を占めていたが、その後急減し、現在では0.1万トン程度と低水準で推移している。

平成21年3月にアサリ資源全国協議会によって取り纏められた提言「国産アサリ復活に向けて」の改訂版では、アサリ生産の現状と問題点として5項目が挙げられ、資源回復のための6項目にわたる方策が示されている。アサリ資源の回復を目指すためには、その海域における減少要因を調査した上で対策を立てることが重要である。すなわち、アサリの生活史に基づき、産卵場所と産卵時期、浮遊幼生期の移動経路やその時期の餌生物および捕食者の状況、着底場所の環境条件、稚貝の減耗要因、餌生物及び食害生物、環境条件、漁獲圧などを考慮することが必要であると考えられる。

福山大学生命工学部海洋生物科学科では、福山大学の因島キャンパスが立地する大浜地区において、地域漁業組合・住民とともに、アサリ資源の回復を目指した活動を平成19年度から開始した。これまでに、大浜町小浜地先で行なった浮遊幼生調査の結果と、干潟で行なったコドラート調査の結果から、アサリの加入はなくなってはいないことが示唆された。一方で、2008年5月に因島漁業協同組合から提供されたアサリの放流を行なったが、放流アサリは1ヶ月後にはほぼ消滅していた。これらのことから、当海域では、アサリ加入後の減耗に対する対策が重要ではないかと考えられた。

(7) 広島県因島における浮遊アオサの種組成と季節的消長
山岸幸正、垣本健吾、谷也堯俊、真鍋克志、三輪泰彦
日本藻類学会第33回大会（沖縄）、講演要旨集、p. 56（2009-3）

日本各地でグリーンタイドを形成する緑藻アオサ属 *Ulva* の分類は、近年分子系統解析により解明が進んでいる。瀬戸内海では、広島湾からアナアオサ、リボンアオサ、アオサリカの3種のグリーンタイド形成種が報告されているが、その他の海域ではまだ明らかではない。本研究では、浮遊アオサが多くみられる広島県東部の因島大浜町小浜海岸において、2008年5月から毎月バイオマスを調査するとともに、採集藻体の形態観察および分子系統解析を行い種組成を調べた。

調査地の潮間帯に陸から海へ向けて50mラインを3本設置し、各ラインに1×1m 枠定点を7つ設定し、浮遊アオサの湿重量を測定した。バイオマスは調査期間中6月が最も高く（平均1,555 g/m²）、その後減少し、11月、12月は浮遊アオサ

がほとんど消失した。本調査地から採集した 31 サンプルの *rbcL* 解析の結果、鋸歯を持たない浮遊アオサの塩基配列はデータベースのアナアオサと一致し、鋸歯を持つ浮遊アオサの配列は (1) リボンアオサと一致、(2) ミナミアオサと一致、(3) アオサリカおよび *U. scandinavica* と一致、(4) アミアオサと 1 塩基違いの 4 型が認められた。鋸歯を持つ (3) のサンプルの ITS 配列はデータベースの *U. scandinavica* およびアオサリカと 2 または 3 塩基異なっており、分類群の特定にはさらに検討が必要である。

(8) 瀬戸内海の高藻類の多様性の現状と近年の変化

山岸幸正

瀬戸内海の高多様性保全および利用に関する研究公開シンポジウム (広島)
(2009-12)

- (9) Relationship among oxygen consumption, growth and survival of larval fishes
Aki Miyashima, Tomonari Kotani, Hirohito Tawa, and Hiroshi Fushimi
5th Fish & Shellfish Larviculture Symposium, Gent, Belgium, Book of short
communications, p. 269-271 (2009-9).

In present time, it seems that there are less serious problems in the finfish larviculture industries comparing the ages of incunabula. On the other hand, each production still has the periods with some mortality and it is necessary to clarify the causes of this mortality and to improve the larviculture technique in order to get rid of this cause. It is necessary to increase the knowledge of physiological characteristics of finfish larvae for the development of suitable larviculture technique for improvement of larval healthy and quality. In order to clarify the change of physiological characteristics of larval fishes depending on growth and development, we analyzed the oxygen consumption of larval fishes in the rest, i.e. Japanese flounder, ocellate puffer, red sea bream and devil stinger. After hatching out, yolk sac larvae did not increase oxygen consumption. However they increased consumption from mouth opening to the onset of notochord flexion. After that increase, oxygen consumption turned to decrease at the onset of or during notochord flexion. It got stable after the decrease. Moreover, around that time when it turned to stabilization, the mortality increased.

- (10) Analysis of skeletal deformity in fish vitamin A- induced bone deformity model

Yutaka Haga, Shao Jun Du, Shuichi Satoh, Tomonari Kotani, Hiroshi Fushimi, and Hideyuki Inui
5th Fish & Shellfish Larviculture Symposium, Gent, Belgium, Book of short communications, p.149-150 (2009-9).

Annual aquaculture production of finfish in Japan is approximately 250,000 tons. To support increasing production of farmed fish, numbers of hatchery-raised juveniles are produced. Once the technique for mass production is established, the next step is to develop a technique to enhance the quality of the mass produced juveniles. Hatchery-raised juveniles however often show high percentage of skeletal deformity. Skeletal deformity is now a serious concern in modern aquaculture industry. It is thought that skeletal deformity is not curable after occurrence. Furthermore, skeletal deformity potentially occurs in all species and can be induced by various factors such as nutritional, environmental, behavioral and genetic factors and morphology of deformed skeleton resembles each other even if it is induced by different factors. Therefore, there are few examples of overcoming skeletal deformities in cultured fish that often occurred in hatchery-raised fish during history of juvenile production; the lordosis induced by unsuccessful inflation of swimbladder, the scoliosis induced by myxoporean parasite in the brain, and the vertebral fusion induced by oxygen deficiency during somitogenesis in several species. Unpredictability of occurrence and unknown etiology is major obstacles to study skeletal deformity in hatchery-raised fish. To study skeletal deformity in hatchery-raised juveniles, one of our model study employing vitamin A inducing skeletal deformity in fish. This approach has potential to find our mechanism underlying skeletal deformity in hatchery-raised juveniles. We focused on jaw and vertebral deformity in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* induced by retinoic acid, active vitamin A compounds.

Retinoic acid (RA) is an active form of various vitamin A compounds. Vitamin A deficiency leads to growth retardation, skeletal deformity, skin dryness and inflammation, night blindness, and infertility. These pathologic conditions are recovered by supplementation of RA except for visual function. It is well accepted that vitamin A action is mediated by two classes of nuclear receptors; RA receptor and retinoid X receptor that have subtypes such as α , β , and γ . Activity of RARs/RXRs is inhibited by binding with repressors in ligand-free status in cell. Thses two receptors act as transcription factors upon binding ligands and forming complex with several coactivators. Several ligands are known to bind RAR and RXR (all-trans RA and 9cis RA, docosahexaenoic acid, and

methoprene for RXR). It is suggested that numerous genes are directly/indirectly regulated under RARs/RXRs pathway. Although several downstream factors are proposed to mediate RARs/RXRs pathway to induce skeletal deformity in fish, clear mechanism has been unknown.

Japanese flounder *P. olivaceus* larvae were treated with various RA compounds that shows different affinity to RARs/RXRs. We examined three RA isomers and two types of synthetic RAR/RXR agonists (Am80 and methoprene acid) on the occurrence of jaw deformity in flounder larvae. It was found that RA isomers and synthetic RA that have higher affinity to RAR showed severer jaw deformity in flounder larvae. In addition, we observed that increased RAR expression in the jaw. In consistence with RAR upregulation and higher incidence of jaw deformity, it was found downregulation of patch, vitamin D receptor, and *pitx-2* in the jaw. These results suggested that jaw deformity was induced via activation of RAR pathway and in part, down regulation of these genes important for skeletal development in flounder larvae. To study mechanism of vertebral fusion in fish induced by RA, we took advantage of use of twiggy winkle hedgehog (*twhh*)-green fluorescent protein (GFP) transgenic zebrafish which specially express GFP in notochord and intervertebral disks. Detailed observation of GFP expression in this transgenic line revealed that first GFP starts to express in the notochord, but later on GFP specifically express in intervertebral disks. We observed abnormal distribution of GFP expressing cells in the notochord by RA treatment in *twhh*-GFP transgenic line. Vertebral fusion in RA treated fish is clearly revealed by lacking GFP expression in fused centrum. It was observed that extensive calcification of notochordal sheath and eventually induce vertebral fusion in fish larvae. This study suggests usefulness of *twhh*-GFP transgenes responsible for skeletal deformity in fish.

- (11) Development of zinc and manganese enrichment methods in live food and nutritional importance in marine fish larvae

Nguyen Van Tien, Seiji Matsumoto, Yutaka Haga, Tomonari Kotani, Hiroshi Fushimi, and Shuichi Satoh

5th Fish & Shellfish Larviculture Symposium, Gent, Belgium, Book of short communications, p. 465 (2009-9).

Manipulation of live food nutrition is essential for current hatchery protocol. Numerous studies have demonstrated highly unsaturated fatty acids are deficient in rotifers and *Artemia nauplii* but essential for marine fish larvae. However, much less attention has

been paid to other nutritional components such as trace elements. Here we develop new methodology to enrich Zn and Mn in rotifers and *Artemia* nauplii to the level in natural zooplankton. Since minerals are important for skeletal development of fish, it is expected from these studies that mineral supplementation to the level in natural zooplankton will benefit normal growth and skeletal development of the experimental fish. The results obtained demonstrated that enrichment of rotifer and *Artemia* with zinc and manganese was successfully performed using microalgae. We also found that direct inclusion of Zn in culture medium failed to enrich this mineral in rotifers. Using this enrichment method, we examined the effect of *Artemia* enriched with Zn and Mn on early growth, survival, proximate composition, and the occurrence of skeletal deformity in red sea bream (*Pagrus major*). Fish fed *Artemia* enriched with Zn and Mn showed significantly improved growth performance and reduced occurrence of skeletal deformity. We will discuss possible mechanism of Zn and Mn incorporation in live foods and future perspective of mineral nutrition studies in marine fish larvae.

(12) Diel Feeding rhythm of finfish larvae and establishment of appropriate feeding schedule

Tomonari Kotani and Hiroshi Fushimi

5th Fish & Shellfish Larviculture Symposium, Gent, Belgium, Book of short communications, pp. 207-208 (2009-9).

The feeding regime and schedule of finfish larviculture is usually determined separately in each hatchery and there are many variations among hatcheries even if fish species are same. There are no biological and technological bases of the determination. Or sometimes it is determined by the convenience of manipulator. It is important for successful larviculture that the feeding on larvae at earlier stages and the failure of intake by irrelevant feeding sometimes results in serious problems, such as high mortality and decline of activity. So, feeding schedule has important role to avoid such serious problems. On the other hands, since fishes have species-specific diel feeding rhythm, the feeding schedule should not be determined uniformly across some species. It is necessary to establish the feeding schedule corresponding to the diel feeding rhythm of larval fishes in order to improve the larval health and quality.

The feeding rhythm of fishes is said to relate to the circadian rhythm. Therefore, in the early stage in which the eyes of larvae do not develop so sufficiently that they can recognize the illumination, definite feeding rhythm cannot be observed in each fish

species. After their photosensitive organisms start to develop, most fish species have some peaks of feeding in daytime, especially in dusk and dawn, such as flat fishes, groupers, sparids, devil stinger and ayu. These fishes do not take food in night time. Larvae have higher peak of feeding in dawn than in dusk. This trend does not change between rotifer and *Artemia* nauplii feeding periods. Although larval ocellate puffer also has the peaks of feed intake in daytime, they kept feeding in night time. While they did not get in midnight, they started getting in dusk.

Moreover, the timing of first feeding is also important. It has been already clarified that delayed first feeding also results in serious problems. In many cases, the first feeding is performed just after mouth opening in order to prevent delayed one. However, just after mouth opening, larvae do not have well-developed function of jaws to ingest the feed. Then live feeds, rotifers or *Artemia* nauplii, remain in rearing water without ingested. They metabolize the enriched nutrition by themselves and it results in the deterioration of nutritional quality of residual live feed. Therefore too early first feeding also should be avoided.

When the feeding schedule is determined, it should be taken into account when larvae of cultivated fish species have the peaks of food intake within a day. If the feeding is late for the peaks, live feeds remain in rearing water without ingested and it results in the nutritional deterioration of residual live feed. Therefore the feeding schedule should be set before larvae have the peak of feed intake or, at least, around the peak.

- (13) クロマグロの健苗育成技術開発研究-9. クロマグロ仔稚魚の相対成長と発育段階
小谷功久、伏見 浩、小谷知也、神村裕司、川本智彦、斉藤 誠、大後戸貴浩、
鎮原正治、渡辺 勤、草野 孝
2009年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p. 30（2009-3）

【目的】本研究は飼育条件下におけるマグロ仔稚魚期の相対成長と発育段階について明らかにすることを目的とした。魚の全長に対して各測定部位の成長の特徴を相対成長の解析から区分し、それらを総合的に判断して発育段階区分を明らかにしようとした。

【方法】2007年6月に（有）奄美養魚（鹿児島県奄美大島）で飼育を行った0～39日齢のクロマグロ仔稚魚555個体を用い、全長、体長、頭長、躯間長、尾部長、および体高の6箇所を測定した。0～29日齢の仔稚魚には実体顕微鏡とマイクロメーター、30～39日齢の稚魚はデジタルノギスを用いて測定を行った。全長に対する各測定部位の相対成長をアロメトリー式を用いて表した。各部位の複相アロ

メトリーの変曲点を組み合わせ、同一の相対成長を有する全長範囲を発育段階として区分した。

【結果】全長に対する各部位の相対成長は複相アロメトリーを示した。卵黄期仔魚期が発育段階の1区分に、仔魚期が6区分、稚魚期が8区分された。卵黄期仔魚期に頭部および尾部が優成長し、仔魚期になり尾部は劣成長に転じたが、頭部は優成長のままであった。稚魚期になり頭部は劣成長になり、躯幹部が優成長に転じた。その後、体長と尾部が優成長となった。

(14) クロマグロの健苗育成技術開発研究-10. クロマグロ仔稚魚の発育段階と外部形態形成

小谷功久、伏見 浩、小谷知也、神村裕司、川本智彦、斎藤 誠、大後戸貴浩、鎮原正治、渡辺 勤、草野 孝

2009年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p. 30（2009-3）

【目的】今後に予想される形態異常魚の発生を防除するため、仔稚魚の発育段階の進行に伴う外部形態の形成過程とその特徴を明らかにする。

【方法】本技術開発研究-9と同じ標本を用いた。各発育段階のほぼ中央の全長を有する個体を無作為に抽出した。2007年6月に奄美養魚で飼育を行なった0-39日齢のクロマグロ仔稚魚555個体の相対成長の検討から区分された、卵黄期仔魚期1期、仔魚期6期、および稚魚期8期の発育段階に属する20個体の外部形態を描画装置付き実体顕微鏡を用いて詳細に記載した。

【結果】消化管の回転は卵黄期仔魚の末期に始まり、5日齢全長4.5mmで完了していた。上下顎歯は脊索末端の上屈が始まる8日齢全長5mmで出現した。11日齢全長7.6mmで上屈と背側筋節のW字型化が完了し、腹側筋節のW字型化が前方から始まった。16日齢全長8.6mmで筋節のW字型化が完了した。17日齢全長10.9mmで各鰭条数は定数に達し、膜鰭は消失した。20日齢全長12.4mmには胸鰭基底と胸鰭上部の伸長が始まると共に背側小離鰭の形成が始まった。24日齢全長17.3mmには腹側小離鰭の形成が始まった。その後、吻が丸みを帯び始め、眼瞼が眼球を覆い始めた。全長50mmでは尾鰭、キールは未完であり、成魚と同様の外部形態に到達しなかった。

(15) クロマグロの健苗育成技術開発研究-11. 大型水槽による飼育方法の開発2

神村裕司、大後戸貴浩、斎藤 誠、川本智彦、鎮原正治、赤澤敦司、古西健二、草野 孝、小谷知也、伏見 浩

2009年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p. 30（2009-3）

【目的】我々が2006年から再開したクロマグロの種苗生産において、アルテミア給餌期間における成長停滞と共食いによる大きな減耗が解決すべき課題となっている。これらの問題を餌料系列の改善によって解決することを目的とした。

【方法】本研究9, 10で明らかにしたとおり。全長5mmすぎに上下顎歯の出現が認められ、この時期からの食性の転換が予想された。そこで、この時期からふ化仔魚の給餌を開始し、餌料系列をワムシーふ化仔魚（ハマフエフキ、クロマグロ）ーキビナゴ、イカナゴミンチとし、飼育成績を検討した。また、飼育水槽の証明条件については昨年報告した好事例の再現性を検討した。

【結果】養成中の7歳魚95尾によって2008年6月中旬から9月下旬に行なわれた自然産卵から341万粒を飼育に用いた。35および80m³水槽を用いて6回の飼育を行ない、全長約7-9cmの稚魚9437尾を取り上げた。試験試料採取水槽を除くと、収容卵数に対する沖出し尾数の生残率は0.18-0.63%であった。ふ化仔魚の摂餌は全長約6mmから認められ、7mmからは活発に摂餌した。全長6-8mm仔魚の消化管内容はワムシ主体であった。7mm以降に成長の改善が認められ、沖出しまでの飼育期間が短縮された。ふ化仔魚給餌量と沖出し時生残率には強い正の相関が認められた。夜間照明は日齢と共に照度を下げ、14-23日齢ではその必要は認められなかった。

(16) クロマグロの健苗育成技術開発研究-12 クロマグロのふ化後の成長に伴う消化酵素活性の変化および消化酵素活性の日周リズム

森真理絵、黒川優子、川合真一郎、藤井あや、伏見 浩、小谷知也、神村祐司、大後戸貴浩、斎藤 誠、川本智彦、鎮原正治、赤澤敦司、古西健二
2009年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p. 30（2009-3）

【目的】クロマグロの健苗育成において適正な餌料の選択や給餌時間帯、給餌回数などを決める際に、仔稚魚の消化生理を把握しておくことは重要である。本研究では昨年度に引き続き、クロマグロのふ化直後から30日までの仔魚期において数種の消化酵素活性がどのように変化するか、また、ふ化後の成長にともなって消化酵素活性の日周リズムがどのように変化するかを調べた。

【方法】2008年8月に奄美大島（有）奄美養魚において受精卵を採取し、ふ化させた仔魚をふ化後30日まで数日間隔でサンプリングした。仔魚は磨砕後、10,000xg、5分間の遠心分離を行い、上清を粗酵素液とした。消化酵素はトリプシン、キモトリプシン、ペプシン、リパーゼおよびアミラーゼの各活性を測定した。また、ふ化後5、14および20日において3時間間隔でサンプリングし、消化酵素活性を

測定した。

【結果】トリプシンやキモトリプシン、アミラーゼおよびリパーゼはふ化後2日において微弱な活性が認められ、以後成長に伴って上昇するが、体重の増加が著しい20日以後の活性上昇はとくに顕著であった。また、トリプシン、キモトリプシン、リパーゼの各活性はふ化後5、14および20日のいずれにおいても21時に最も高い活性が認められたが、成長に伴い、昼間の活発な摂餌を反映して、日中の活性も一般に高くなった。一方、アミラーゼのみは他の酵素と異なり、ふ化後15日において09～21時までの活性レベルが高い傾向が見られた。

- (17) クロマグロ健苗育成技術開発研究-13 マグロ仔魚の体成分の経時変化
佐藤秀一、Tien Nguyen Van、芳賀 穰、白井隆明、神村祐司、大後戸貴浩、
齊藤 誠、川本智彦、鎮原正治、古西健二、伏見 浩、小谷知也
2009年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p.31（2009-3）

【目的】クロマグロ仔魚の栄養要求を検討する目的で、仔魚の体成分の経時変化および餌料に用いたハマフエフキの化学組成を検討した。

【方法】クロマグロ受精卵、ふ化仔魚、開口仔魚および通常の方法で飼育したふ化後4日目から37日目までの仔魚ならびに仔魚後期、および餌料として用いたハマフエフキの受精卵、ふ化仔魚、開口仔魚の化学分析を行った。

【結果】マグロ仔魚では、摂餌を開始することによって粗タンパク質が増加し始め特にふ化後27日目以降に著しく増加した。脂質および灰分においても同様の傾向がみられた。メチオニン等の含硫アミノ酸の代謝物質であるタウリンは、ふ化後著しく減少し、9日目にはふ化時の2%近くまで低下した。その以降、ハマフエフキを摂餌することにより著しく回復した。同様に、ドコサヘキサエン酸(DHA)もふ化後、漸次減少し、10日目にはふ化直後の約30%にまで減少し、その後改善された。これらのことより、クロマグロは仔魚期にDHAおよびタウリンを多く要求するのではないかと思われた。以上より、タウリンおよびDHAの強化方法を検討する必要があると示唆された。

- (18) クロマグロの健苗育成技術開発研究-14. 培養法の異なるシオミズツボウムシを用いて飼育したヒラメ仔稚魚の飼育成績と代謝量の比較
宮嶋 暁、福田靖子、三澤孝之、小谷知也、伏見 浩、半田岳志、難波憲二
2009年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p.31（2009-3）

【目的】マグロ種苗量産技術の確立には、初期餌料の栄養価を高めることが必須

である。本研究では連続培養法（以下連培区）と植え継ぎ培養法（以下パッチ区）で1次培養したワムシを、成長ステージが明確であるヒラメ仔稚魚に給餌した場合の飼育成績と酸素消費量を比較し、ワムシの培養法が仔稚魚の飼育成績と代謝におよぼす影響を明らかにしようとした。

【方法】実験は1kL水槽を用いて卵から47日齢まで行った。試験区は2試験区を3反復とした。ワムシ給餌は2日齢から35日齢まで、それぞれの方法で1次培養後に市販栄養強化剤で栄養強化した後に行った。酸素消費量は密閉式測定方法を用いて測定後に酸素消費量/尾/分と酸素消費量/mg 乾重/分を算出し、全長と酸素消費量との関係から酸素消費量の変化の仕方を判断した。孵化日、開口日、5日毎に全長と体長の測定を行なった。取り上げ時に空中露出試験を行なった。

【結果】ワムシ単独給餌期間の成長は連培区の方が良好であった ($p<0.05$)。生残には有意差は見られなかった。6分間の空中露出後の生残は、連培区で有意に高かった ($p<0.05$)。開口や脊索末端上屈開始など発育の転換点で酸素消費量の変化が見られ、試験区間で変化のタイミングに違いがあった。以上から、ワムシの培養法の違いがヒラメ仔稚魚の飼育成績とともに仔稚魚の代謝活性にも影響することが分かった。

(19) クロマグロの健苗育成技術開発研究-15. 栄養強化方法を変えればワムシ脂肪酸組成は変化するか？

小谷知也、田邊茉莉、板倉大樹、伏見 浩

2009年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p. 31（2009-3）

【目的】シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis*（以下ワムシ）の栄養強化は通常メーカーが指定している強化時間や使用濃度で行われる。本研究では強化剤使用方法をメーカー指定の方法を基準に強化時間および使用濃度を変化させることによる栄養強化後の脂肪酸含有量への影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】連続培養および植え継ぎ培養で培養したワムシを用い、栄養強化剤は市販のものを使用した。栄養強化剤の使用量をメーカーが指定している量を基準として1/3、1/2、等倍、2倍、3倍の5段階に調節した。強化時間は4時間、8時間、24時間に調節して栄養強化を行った。栄養強化後は脂質を抽出し、脂肪酸分析を行った。

【結果】栄養強化後の脂質含有量は連続培養ワムシでは低強化剤濃度ほど多く、植え継ぎ培養ワムシでは高強化剤濃度ほど多くなった。連続培養ワムシでは強化時間に関係なく高強化剤濃度ほど EPA 含有量が多くなった。DHA 含有量は培養法に関係なく高強化剤濃度ほど多くなった。

したがって、栄養強化剤を高濃度で使用すれば、DHA および EPA 含有量は多くなった。特に連続培養法で培養したワムシを使用すれば、さらにその効率は上がった。

(20) クロマグロの健苗育成技術開発研究-16. 汽水産ミジンコ *Diaphanosoma celebensis* の大量培養とクロマグロ仔魚への給餌

前田真里、萩原篤志、小谷知也、伏見 浩、神村祐司、大後戸貴浩、齋藤 誠、川本智彦、鎮原正治、赤澤敦司、古西健二

2009 年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p. 31 (2009-3)

【目的】*Diaphanosoma celebensis*（以下ミジンコ）は仔魚用餌料として利用されるアルテミアとサイズが同等で、比較的培養が容易なことから、供給の不安定なアルテミアの代替餌料となる可能性がある。そこで、本種の大量培養を実施すると共に、クロマグロ仔魚に給餌し、仔魚の摂餌を観察した。

【方法】クロマグロ仔魚の受精卵を 100L 水槽に 2000 粒収容して飼育した。一開口から 17 日令（脊索屈曲）まで L 型ワムシを給餌し、以後 26 日令までミジンコおよびアルテミアを給餌した。ミジンコの培養は、塩分 10、ナンノクロプシスを餌料し、30~50L 水槽内の通気下で行った。仔魚の単位時間あたりの摂餌行動回数と摂餌成功率を求めた。

【結果】ミジンコの集約的な培養例は少ないが、今回の仔魚飼育期間中、不調を起こすことなく 15~30 個体/mL で培養を継続できた。18 日令での仔魚の生残は 0.1~0.3%の低率にとどまった。仔魚は 18 日令の餌料切替え直後から、ミジンコとアルテミアに対し摂餌行動を示した。仔魚の摂餌行動の回数は、日令 18、19 ではミジンコ（1.0~1.5 回/分）がアルテミア（0.2~0.6 回/分）より多かったが、日令 20 以降は同等だった。日令 23、24 での仔魚の摂餌成功率は、ミジンコでは 75.6~78.3%、アルテミアでは 100%であり、両種の遊泳行動の違いが、仔魚の摂餌成功を左右したと推察された。

(21) クロマグロの健病性育成技術開発研究-17. 冷凍タマミジンコ *Moina macrocopa* のマダイ仔稚魚に対する餌料価値

今利浩之、小谷知也、伏見 浩、萩原篤志

2009 年日本水産学会春季大会（東京）、講演要旨集、p. 32 (2009-3)

【目的】マグロ仔魚の初期栄養状態は、その後の成長に重大な影響を及ぼす。アルテミア摂餌期に仔魚の成長停滞が生じるため、その餌料価値が問題視されてい

る。本研究は、アルテミアを使用せずにワムシと配合飼料の給餌を基本とし、栄養強化後冷凍保存しておいたミジンコと冷凍コペポダを試験的にマダイ仔稚魚に給餌してその餌料価値の検討を行った。

【方法】福岡県水産試験場が開発したミジンコ培養システムを使用して、タマミジンコの 1m³ 規模の大量培養を行った。このタマミジンコに市販栄養強化剤で栄養強化を施し、冷凍保存したものをマダイ仔稚魚に給餌した。ワムシと配合飼料のみを給餌する区を対照区とし、配合飼料と同時に冷凍ミジンコを給餌する区、冷凍コペポダを給餌する区を設けた。マダイ試験魚はワムシ給餌 (2~42 日齢) の途中で各冷凍餌料と配合飼料の給餌を開始した (17~42 日齢)。試験開始から 5 日ごとに各試験区 20~50 尾の全長と体長を測定した。飼育試験終了時に、全長 20mm 前後の魚の空中露出試験を行った。

【結果】生残はミジンコ給餌区で高くなる傾向が見られた (46.0±4.1%; ワムシ区: 41.9±6.4%; 冷コペ区: 34.1±3.6%)。成長に差はなかった。空中露出試験の結果、ワムシ区=ミジンコ区>冷コペ区の順で活性が高かった。アルテミアを使用せずにマダイ稚魚は飼育可能であり、冷凍ミジンコを用いたマダイ飼育は可能であった。

(22) 冷凍淡水産ミジンコのトラフグ仔稚魚に対する餌料価値

小谷知也、今利浩之、伏見 浩、林 雅弘

2009 年日本水産学会春季大会 (東京)、講演要旨集、p. 72 (2009-3)

【目的】ワムシに引き続く生物餌料としてアルテミアが使用されているが、栄養強化してもその効果が低いことが知られている。従来、アルテミアと市販冷凍コペポダあるいは配合飼料を併用している。本研究はトラフグ仔稚魚飼育のアルテミア給餌時に補助餌料として冷凍淡水産ミジンコを使用した場合の効果を明らかにすることを目的とした。

【方法】福岡県水産試験場が開発したミジンコ培養システムを使用して、タマミジンコ *Moina macrocopa* の 1m³ 規模の大量培養を行った。このタマミジンコに市販栄養強化剤で栄養強化し、冷凍保存した。その後トラフグ仔稚魚に給餌した。比較のため、市販冷凍コペポダを給餌する区を設けた。トラフグ試験魚はワムシ単独給餌終了後 (14 日齢)、各餌料条件で飼育した (15~40 日齢)。試験開始から 5 日毎に各試験区 20 尾の全長および体長を測定した。飼育試験終了時 (40 日齢) に、空中露出試験を行った。冷凍ミジンコおよび冷凍コペポダの脂肪酸組成をガスクロマトグラフィー法で分析した。

【結果】栄養強化した冷凍ミジンコは冷凍コペポダより DHA および EPA 量が

多く、DHA/EPA 比も高かった。トラフグ仔稚魚の成長には試験区間で差はなく、生残はミジンコ給餌区で高くなった ($33.7 \pm 5.8\%$; 冷凍コペポード区: $20.0 \pm 2.9\%$; $p < 0.05$)。空中露出後の生残は試験区間で差はなかった。以上より、栄養強化済み冷凍淡水産ミジンコはトラフグ種苗生産でアルテミアと併用給餌して使用できると判断した。

(23) マダイ仔稚魚の成長に伴う日周摂餌リズムの変化

小谷知也、上林久記、須藤健介、榎本翔太、井本達弘、伏見 浩

2009 年日本水産学会秋季大会 (盛岡)、講演要旨集、p. 43 (2009-9)

【目的】魚類種苗生産では、仔魚に効率良く給餌することが重要である。本研究はマダイ仔稚魚の摂餌日周性および排泄速度を明らかにして、適切な給餌の時間帯と回数を定めることを目的とした。

【方法】摂餌日周性および排泄速度の測定は、12L12D の光条件下で行った。摂餌日周性の測定は、午前の給餌 30 分後から 30 分毎に消化管内の生物餌料を計数し、この操作を 25 時間続けた。排泄速度の測定は、摂餌日周性の測定を行なっている水槽から、染色した生物餌料の存在する水槽に仔魚を移槽し、摂餌日周性の測定と同様に 30 分毎に計数した。計数時には、染色・未染色生物餌料を分けて計数を行った。

【結果】消化管内餌料は照明点灯開始から増加した。照明点灯中は常に消化管内に餌料が観察された。正午前後から消灯前後にかけて消化管内容物は増加し、消灯前後で最も多くなった。消灯前後のピークの後、消化管内容物は減少し、真夜中前には消化管内の生物餌料はほとんど観察出来なかった。排泄速度は午前中には遅く、正午過ぎから速くなった。夕方から再び遅くなり、暗期になると再度速くなった。以上の結果から、給餌回数はワムシで 1 日 2 回、給餌時期は点灯直後と消灯 3-4 時間前、アルテミアで 1 日 3 回、点灯直後と正午過ぎ、消灯 2-3 時間前に給餌することが良いと考えられた。

(24) ミトコンドリア DNA 多型を用いた養殖クロマグロの産卵生態解明

中立元樹、伏見 浩、草野 孝、近藤秀裕、廣野育生、青木 宙

第 12 回マリンバイオテクノロジー学会 (東京)、要旨集、p. 80 (2009-5)

【目的】近年になってクロマグロ (*Thunnus orientalis*) の完全養殖が国内で成功したことをきっかけに、養殖下でのクロマグロの産卵に関する研究が注目されている。ミトコンドリア DNA は母系遺伝マーカーであるため、雌親の数や雌親の産卵回

数および産卵周期などの推定に適した遺伝的多型マーカーである。本研究では、ミトコンドリア DNA の高変異性領域である D-loop のシーケンス解析を用いて、養殖クロマグロの産卵雌親数、産卵回数および産卵周期の推定に加え、卵期および稚魚期のハプロタイプ比較を行い、養殖クロマグロにおける初期生残率の高い雌親家系の有無を明らかにすることを目的とした。

【方法】本研究に用いたサンプルは、奄美養魚のクロマグロ養殖生簀内で生まれた魚卵、および 37 日齢と 41 日齢の稚魚である。各魚卵サンプルおよび稚魚の筋肉組織から全 DNA を抽出後、PCR 法を用いてミトコンドリア DNA の D-loop 領域部分配列を増幅した。その後、各 PCR サンプルを用いて自動 DNA シーケンサーで D-loop 領域の塩基配列決定を行った。

【結果】236 個の魚卵および 31 個体の稚魚から得られた D-loop 部分配列には、ハプロタイプが 25 種類存在していた。また、魚卵に関しては 22 日間における計 10 日のサンプリング日において、複数日に渡り(少なくとも 3 日以上)出現しているハプロタイプが多くみられた。しかし、各ハプロタイプの出現周期には一貫性がみられなかった。一方、37 日および 41 日齢の稚魚に関しては、ハプロタイプの観察数に大きな偏りがみられた。

【考察】本研究より、調査した養殖クロマグロ生簀においては、実際に産卵に寄与している雌親の数は 25 個体以上と推定された。また、それらの雌親の大部分は産卵期間内において、多回性の産卵を行っていることが示された。しかし、それらの雌親の産卵周期には特に一貫性はみられないことが示唆された。37 日および 41 日齢の稚魚のハプロタイプ頻度にもみられた大きな偏りは、仔稚魚期における初期生残率の高い雌親家系と低い雌親家系が存在することを示唆していると考えられる。

(25) Phage therapy of bacterial infections in aquaculture

Toshihiro Nakai and Emi Iwamoto

18th Evergreen International Phage Biology Meeting, Olympia, Washington
(2009-8)

Bacterial diseases are still imprecated in serious problems in aquaculture worldwide. Since the conventional control methods proved inefficiency in some cases, bacteriophage therapy has evolved. In the current study, we have investigated bacteriophage therapy from various angles. We targeted some bacterial infections drastically affecting Japanese aquaculture. These are caused by *Lactococcus garvieae* (host fish: yellowtail),

Streptococcus iniae (Japanese flounder), *Pseudomonas plecoglossicida* (ayu), *Flavobacterium psychrophilum* (ayu), and *Edwardsiella tarda* (Japanese flounder and red sea bream). Phages specific to each pathogen were isolated from fish culture environments and identified as members of the families *Myoviridae*, *Podoviridae* or *Siphoviridae*. The isolated phages revealed that the corresponding bacterial species, except *E. tarda*, possessed a single or limited phage types. Phage therapy of experimentally- or naturally-infected fish was effective to reduce mortality in the most cases, where phages were administered parenterally, orally or by immersion. Only one exception was that against *E. tarda* infection. The inconsistent result may be due to intracellular parasitic nature of the organism. Another problem was encountered in *Streptococcus iniae* infection of flounder that phage-insensitive, virulent *S. iniae* strains frequently appeared after phage treatment. Phages were stable for 12 months or longer periods under conditions of 4°C or -80°C, indicating their applicability to be used commercially as therapeutic phages. We discuss here the potential for phage therapy in aquaculture.

(26) Phage therapy by oral administration and phage transport across the fish intestine

Yasuhiko Kawato, Emi Iwamoto, and Toshihiro Nakai

18th Evergreen International Phage Biology Meeting, Olympia, Washington (2009-8)

Phage therapy against important bacterial diseases of cultured fish including *Pseudomonas plecoglossicida* and *Streptococcus iniae* infections has been studied. Oral administration of phages (*Myoviridae*, *Podoviridae*) was effective to reduce the mortality of ayu *Plecoglossus altivelis* caused by *P. plecoglossicida* infection, where the phages impregnated to feed quickly appeared in the kidneys after their administration. In contrast, oral administration of phages (*Siphoviridae*) had no therapeutic effects against *Streptococcus iniae* infection in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, and the administered phages were not detected in the kidneys. Similar results were also obtained by anal intubation of phages into fish. Infective phages were recovered from blood and

internal organs of fish within 10 min after administration. These results suggest that therapeutic efficacy of oral administration of phages is associated with transportation of phages across intestine. This paper shows our preliminary experiments on transportation of phages through fish intestine or cultured epithelial cells.

- (27) Phage therapy against *Streptococcus iniae* infection : virulence of phage-resistant bacteria in olive flounder

Emi Iwamoto, Minoru Ishida, Satoru Matsuoka, Toyoteru Yoshida, and Toshihiro Nakai

18th Evergreen International Phage Biology Meeting, Olympia, Washington (2009-8)

- (28) バクテリオファージの魚体内への侵入性に関する研究 - I キンギョ腸管からの侵入性

河東康彦、岩本恵美、中井敏博

2008年度日本魚病学会大会（仙台）、講演要旨集、p. 14 (2009-10)

【目的】これまでにおこなった魚類の細菌感染症に対するファージ療法において、アユの細菌性出血性腹水病では、ファージを経口投与すると速やかに腎臓中に多量のファージが出現し (10^{5-6} PFU/g)、すぐれた治療効果が確認された。一方、ヒラメの連鎖球菌症 (*Streptococcus iniae* 感染症) では、ファージの腹腔内注射では治療効果がみられたが、経口投与では効果がなく、腎臓中に現れたファージは少量 (10^{2-3} PFU/g) であった。これらの結果は、消化管からの魚体内への侵入量がファージ経口投与の治療効果に影響を与えることを示唆している。本研究はファージの消化管からの侵入性に関する研究の第一歩として、キンギョ腸管から臓器への侵入性を検討した。

【方法】4種の魚類病原細菌 (*Pseudomonas plecoglossicida*, *S. iniae*, *Lactococcus garvieae*, *Edwardsiella tarda*) に対するファージ8株、および *Escherichia coli* ファージ標準株3株を供試した。各ファージ株を塩化セシウムを用いた平衡密度勾配遠心法により精製した。透過型電子顕微鏡でファージの形態を観察するとともに、精製したファージをキンギョ *Carassius auratus* (体長約10 cm) の肛門から腸管内

にシリンジを用いて注入し (2×10^8 PFU/fish)、3 時間後に腎臓中の感染性ファージの数をプラーク法により測定した。

【結果】精製したファージの力価は株によりやや異なり、約 $10^{10} \sim 10^{12}$ PFU/ml であった。電顕観察により供試ファージは尾部の短い *Podoviridae* 科 (3 株)、尾部の長い *Myoviridae* 科 (3 株)、伸縮性の長い尾部を持つ *Siphoviridae* 科 (5 株) に分類された。注入 3 時間後の腎臓中におけるファージ数は 1 株で低い値 ($10^{2.5}$ PFU/g) であったが、その他のファージ株では約 $10^{3.3} \sim 10^{4.0}$ PFU/g であった。これらの結果からは、ファージの形態および大きさと腸管からの侵入性に明確な相関性は見られなかった。

(29) ニシキゴイおよびヒラメのリンパ球細胞障害性試験の有用性

木庭雄二郎、河原栄二郎

平成 21 年度日本水産学会秋季大会 (盛岡)、講演要旨集、p. 47 (2009-10)

(30) ニシキゴイおよびマダイの免疫応答に及ぼす過酸化水素浸漬の影響

河原栄二郎、横田暁生

日本水産増殖学会第 8 回大会 (下関)、講演要旨集、p. 10 (2009-10)

【目的】過酸化水素は水産用医薬品として、フグ目とスズキ目の魚類の外部寄生虫の駆除に用いられている。魚類に対する過酸化水素の毒性は低いと考えられており、致死濃度以下での影響に関する知見は少ない。本研究では、ニシキゴイおよびマダイの免疫応答に及ぼす過酸化水素浸漬の影響について調べた。

【方法】体重約 33 g のニシキゴイを用い、飼育水に 165 mg/l の過酸化水素を添加あるいは無添加で 20 分間浸漬した。浸漬 5 日後にザイモサンを腹腔内接種し、4 週後に頭腎の抗体産生細胞数を測定した。また、浸漬 1、3 および 5 日後に頭腎白血球の殺菌能、血清の溶血補体活性、血清および腎臓のリゾチーム活性を調べた。次に、体重約 70 g のマダイを用い、飼育水に 300 mg/l の過酸化水素を添加あるいは無添加で 3 分間浸漬した。浸漬 5 日後にホルマリン不活化 *Edwardsiella tarda* 菌体を腹腔内接種し、2 および 4 週後に抗体価を調べた。

【結果】ニシキゴイでは、頭腎の抗体産生細胞数はザイモサン接種 4 週後、過酸化水素浸漬によって多くなった。また、頭腎白血球の殺菌能、血清の溶血補体活性、血清および腎臓のリゾチーム活性はいずれも過酸化水素浸漬すると、1、3 および 5 日後ともに高い値を示した。さらに、マダイでは血中抗体価は *E. tarda* 接

種 2 および 4 週後ともに、過酸化水素浸漬によって高い値となった。

- (31) *Edwardsiella tarda* 実験的感染後のヒラメのリンパ球細胞障害性および白血球殺菌活性
木庭雄二郎、河原栄二郎
平成 21 年度日本水産学会中国・四国支部大会（広島）、講演要旨集（2009-11）
- (32) ヒラメおよびニシキゴイに対するセイヨウタンポポ抽出物の免疫賦活効果
河原栄二郎、江口茂
平成 21 年度日本水産学会中国・四国支部大会（広島）、講演要旨集（2009-11）
- (33) ドチザメおよびホシザメのリゾチーム活性の測定条件
河原栄二郎、根津晴菜
平成 21 年度日本水産学会中国・四国支部大会（広島）、講演要旨集（2009-11）
- (34) Identification of the regulatory regions and transcriptional factors involved in the specific expression of the cholinergic genes in *Ciona intestinalis*.
Katsumi Takamura
5th International Tunicate Meeting, Okinawa (2009-6)

We previously isolated choline acetyltransferase (*Ci-ChAT*) and vesicular acetylcholine transporter (*Ci-vAChTP*) genes in *Ciona intestinalis*, and analyzed their expression patterns during embryogenesis. These genes expressed temporally and specially by the identical pattern. *In situ* hybridization showed the expression of both genes started from middle tailbud stage and was finally detected in the visceral ganglion and post sensory vesicle in larva. Additionally, These genes localized tandemly in the same genomic region and shared the first exon (5'-UTR). From these results, we have suggested that these two genes were controlled by the same regulating manner. So, we cloned their upstream DNA regions, prepared several constructs with *LacZ* or *GFP* and introduced into fertilized eggs by electroporation. These results showed the possibility that several regulatory elements, which were required for the expression in the visceral ganglion, existed in the -1845 to -927bp region from transcriptional start point. Next, we divided this region into several DNA fragments and labeled them with DIG. We also prepared

fusion proteins for four homeobox-type transcriptional factors (Ci-Lhx3, Ci-Dmbx, Ci-Mnx and Ci-NK6). They showed as the similar expression pattern as that of *Ci-ChAT* and *Ci-vAChTP* at middle tailbud stage. Using these proteins, we did gel shift assay. The results showed that Ci-Lhx3 and Ci-NK6 bound some fragments, but Ci-Dmbx and Ci-Mnx did not.

(35) カタユウレイボヤの幼生神経細胞の分類と同定

Classification and identification of larval neurons in *Ciona intestinalis*

高村克美、南田奈巳、山中悦夫

平成 21 年度日本動物学会第 80 回大会 (静岡)、講演要旨集 (2009-9)

カタユウレイボヤの神経伝達物質合成酵素遺伝子上流域をクローニングし、レポーター遺伝子とのコンストラクトを作製した。これらを受精卵に電氣的に導入し、幼生でのその発現パターンを解析することにより、幼生神経に存在する神経細胞の分類・同定を行った。その結果、感覚胞には GABA 作動性神経が多く、コリン作動性神経群やドーパミン作動性神経群も存在した。一方、内臓神経節には、比較的大きな運動神経を含むコリン作動性神経が主で、GABA 作動性神経の存在が数個確認できた。

(36) 動物搭載型カメラから得られた海水とオキアミの分布およびペンギンの採餌行動の関係

渡辺伸一、高橋晃周、内藤靖彦、宮崎信之、Phil Trathan

平成 21 年度日本水産学会春季大会 (東京)、講演要旨集、p. 170 (2009-3)

南極に生息する *Pygoscelis* 属のペンギンは、ナンキョクオキアミを主な餌としている。オキアミの分布は一様でなく、海水を中心とした海洋環境の変化の影響で分布パターンが変化することが知られている。とくに、海流の影響で海水の分布が劇的に変化する地域では、オキアミの分布は水平方向だけでなく鉛直方向にも変化することが予想される。本研究では、海水条件が変化の中で、オキアミの深度分布を調べ、その捕食者となるペンギンの採餌行動がどう変化するのかを調べた。我々は、南極サウスオークニー諸島シグニー島で繁殖する *Pygoscelis* 属のアデリーペンギンとヒゲペンギンに動物搭載型カメラロガーを装着し、海水の状態、オキアミの深度分布、および同じ場所で採餌を行なうペンギンの数と潜水深度との関係について調査した。調査は、2007 年 12 月から 2008 年 1 月にアデリーペンギン 3 個体とヒゲペンギン 11 個体の背中に深度・画像ロガーを装着して、採

餌トリップ中の画像を4秒間隔で、また潜水深度を1秒間隔で記録した。調査期間中、海流や風向の影響で調査地周辺の海氷条件が大きく変化した。海面で海氷の遭遇率が高くなるに従い、オキアミの深度分布は浅く、ペンギンの潜水深度は浅くなる傾向があった。また、ペンギンの潜水深度が浅い場合には、他個体との遭遇率が低く、深い潜水を行なう場合に集団を形成して採餌を行なう様子が観察された。以上の結果から、採餌場所の海氷条件が餌であるオキアミの深度分布に影響を与え、ペンギンの採餌行動に影響を及ぼすと考えられる。

(37) Animal-borne cameras show interactions among sea-ice, krill and foraging penguins

Shinichi Watanabe, Akinori Takahashi, Yasuhiko Naito, Noboyuki Miyazaki, and Phil Trathan

Xth SCAR Biology International Symposium, Sapporo, Abstracts, p.156 (2009-7)

Many Antarctic seabirds prey on krill. Distribution of krill varies in relation to changing ocean environment such as sea-ice conditions. In particular, the vertical distribution of krill probably changes in areas where sea-ice condition changes dynamically due to wind or current flow conditions. In such situation, predators may adjust their feeding behaviour in relation to changing krill distribution. In this study, we investigated how krill distribution affects the foraging behaviour of *Pygoscelis* penguins. Animal-borne camera loggers were used to examine the relationships among sea-ice conditions, the depth distribution of krill, numbers of other birds encountered, and the diving depth of Adélie and chinstrap penguins. From December 2007 to January 2008, we attached the loggers on the backs of 3 Adélie and 9 chinstrap penguins, which recorded an image every 4 seconds and diving depth every second during foraging trips. During the study period, sea-ice conditions around the island greatly changed probably due to changing sea current and wind direction. As the rate of encounter with pack-ice at the sea surface increased, the depth distribution of krill and the diving depth of penguins tended to be shallower. In addition, the rate of encounter with other birds was relatively low when penguins dived shallower. It was also observed that birds aggregated and fed on krill when penguins dived relatively deep. These results suggest that sea-ice conditions at the foraging habitat of penguins affect the depth distribution of krill, which in turn affect the foraging behaviour of penguins.

(38) 加速度データロガーをもちいたヌートリアの活動リズム解析

渡辺伸一

平成 21 年度日本哺乳類学会大会（台北）、講演要旨集、p. 71 (2009-10)

人間だけでなく、多くの哺乳類は、活動リズムをもって周期的な生活をしている。活動リズムに関する研究はマウスやラットなどの齧歯類をもちいて研究が行われてきた。実験下での研究例は多いが、野生の哺乳類の活動リズムを計測した例はほとんどない。それは、無拘束状態の哺乳類の行動を継続して記録することが困難であるからである。そこで本研究では、加速度データロガーをもちいた野生下での哺乳類の活動リズムを無拘束で計測する手法を考案した。加速度ロガーは、アザラシや海鳥等の潜水動物の研究や人間の運動量の計測等で、近年、急速に利用が進んでいる。本研究では、人間の健康記録装置として開発された加速度ロガーを、野生のヌートリアに装着し、その活動量を計測した。ヌートリアは、南米原産の大型齧歯類で、第二次世界大戦後に飼育されていたものが日本各地の河川へ放逐され、西日本を中心に現在も定着が確認されている。本来の生息地では、寒暖の差がほとんどない熱帯地域であるが、日本など季節性のある河川環境へも適応している。本研究では、全国でもヌートリアの密度が最も高い地域である広島県東部地域で調査を行った。調査は、2008 年 11 月から 2009 年 2 月までに、広島県尾道市と福山市を流れる藤井川の河川敷で、かご型罠でヌートリアを捕獲し、3kg 以上の成獣個体の背面または首輪に加速度ロガーと電波発信器を装着した。装着した加速度ロガーは、装着から 7 日から 36 日後に再捕獲または脱落したものを回収して、加速度データをダウンロードした。回収した加速度ロガーから、1 日の総活動量における各時刻での活動の割合を算出して、活動リズムについて考察した。得られた結果から、ヌートリアには、活動リズムに昼行性、夜行性などの明瞭な周期性がある個体と、ない個体があり、周期性がある個体でも、活動リズムが調査期間によって変化することが明らかになった。本講演では、このような活動リズムがどのような内的・外的要因によって変化するのかについて考察する。

B. 総説

C. 著書

- (1) 気ままなネコの行動が明らかに

渡辺伸一

バイオリギングー最新科学で解明する動物生態学、日本バイオリギング研究会編、
pp. 194-195、京都通信社（2009）

データロガーは、観察が困難な海棲動物の研究のために開発され、利用されてきた。しかし、この手法は陸上動物の行動観察にも有効である。風の向くまま、気の向くまま、かつて気ままに動き回るイエネコたちの行動も、データロガーをつかえば、手に取るようにつぶさに再現できることが実証された。

D. その他

- (1) 魚類仔稚魚の摂餌リズム
小谷知也
第7回種苗生産技術交流会（2009-8）
- (2) 酸素消費量の特性から見たヒラメ仔稚魚の健苗性教科手法の開発
宮嶋 暁
第7回種苗生産技術交流会（2009-8）
- (3) 生物餌料の栄養強化を振り返って
伏見 浩
第7回種苗生産技術交流会（2009-8）
- (4) マルハニチロ水産におけるクロマグロ種苗生産技術開発の展開
伏見 浩、草野 孝
第7回種苗生産技術交流会（2009-8）
- (5) 海外イベントリポート「魚介類種苗生産シンポジウム」
小谷知也
月刊養殖, 44, 42-43（2009-11）
- (6) バクテリオファージと魚病研究
菅谷恵美・河原栄二郎・中井敏博
平成21年度瀬戸内海・四国ブロック魚病検討会（福岡）（2009-10）

- (7) 異種赤血球に対するオニヒトデ体腔液の溶血及び凝集活性
水上雅晴・山田千明・河原栄二郎
平成 21 年度瀬戸内海・四国ブロック魚病検討会（福岡）（2009-10）

- (8) ニシキゴイおよびマダイの免疫応答に及ぼす過酸化水素浸漬の影響
河原栄二郎
平成 21 年度瀬戸内海・四国ブロック魚病検討会（福岡）（2009-10）

- (9) アデリーペンギン・ヒゲペンギンの餌追跡行動
渡辺伸一
科学研究費研究「加速度エソグラム作成による動物行動計量分析」ワークショップ（東京）（2009-5）