

東海大学大学院平成 28 年度博士論文

クロウミウマの稚魚の育成に関する研究

指導 秋山 信彦 教授

東海大学大学院地球環境科学研究科
地球環境科学専攻

金子 誠

目次

1	緒言	1
2	材料と方法	3
2-1	親魚の飼育方法と稚魚の確保	
2-2	異なる水温での稚魚の摂餌量と成長	
2-3	飼育塩分についての検討	
2-4	ワムシ密度が稚魚の摂餌に及ぼす影響	
2-5	吸引摂餌行動と1回の行動で稚魚が摂餌するワムシの個体数	
2-6	稚魚の遊泳速度	
2-7	異なるワムシ密度条件下での稚魚の成長	
2-8	異なる栄養状態のワムシ給餌による稚魚の生残への影響についての検討	
2-9	稚魚による飼育水中のクロレラの直接摂取の有無についての検討	
2-10	餌料としたワムシと稚魚の脂肪酸組成と含有量	
2-11	脂肪酸の分析方法	
2-12	産出後の卵黄の残存状況	
3	結果	11
3-1	異なる水温での稚魚の摂餌量と成長	
3-2	飼育塩分についての検討	
3-3	ワムシ密度が稚魚の摂餌に及ぼす影響	
3-4	吸引摂餌行動と1回の行動で稚魚が摂餌したワムシの個体数	
3-5	稚魚の遊泳速度	
3-6	異なるワムシ密度条件下での稚魚の成長	
3-7	異なる栄養状態のワムシ給餌による稚魚の生残への影響についての検討	
3-8	稚魚による飼育水中のクロレラの直接摂取の有無についての検討	

3-9 餌料としたワムシと稚魚の脂肪酸組成と含有量

3-10 産出後の卵黄の減少過程

4	考察	20
4-1	適正飼育水温と塩分	
4-2	稚魚の遊泳力および餌料密度と生残・成長との関係	
4-3	稚魚の生残と餌料中の脂肪酸組成との関係	
4-4	総括	
5	要約	27
6	謝辞	29
7	引用文献	30
8	図表	36

1 緒言

クロウミウマ *Hippocampus kuda* は、インド・西太平洋の沿岸域に広範囲に分布し、海草や流れ藻に尾部を絡ませながら生活している (Lourie et al. 2004)。また、内湾や浮き草のある礁湖、砂の堆積した岩礁地帯でもみられ、マングローブや河口などの汽水域にも侵入することがある (Lourie et al. 2004)。また、タツノオトシゴ類の雄は腹部に育児嚢を持ち、卵を一定期間保護した後に、稚魚を産出する。

タツノオトシゴ類は観賞用として流通する他に、乾燥品が漢方薬として用いられている (和漢薬寄稿グループ, 2007; 伍ら, 1999)。タツノオトシゴ類の商取引について、1993年には香港で 51kg の乾燥海馬が消費され、1995年にはアジア全体で 45t の乾燥海馬が取引された (Vincent 1996)。多くの国々でタツノオトシゴ類の乱獲や輸出入が行われ、2002年現在、漢方薬用と観賞用としての商取引は 51 の国と地域で行われている (Job et al. 2002)。そのため、種の保存を目的として 2002年にタツノオトシゴ類はワシントン条約付属書Ⅱに指定され、2004年から国際的な商取引が規制されている。このような背景の中で需要を満たし、野生の個体群を保全する解決策として、クロウミウマの完全養殖が考えられる。そのために様々な研究がなされてきたが、いまだに初期減耗要因が解明されないために種苗生産技術が確立されていない (Woods 2000a; Correa et al. 1989; Scarratt 1995; Forteeth 1996)。

天然海域において、初期減耗を引き起こす 1 つの要因として、飢餓が挙げられる (Hjort 1926)。種苗生産過程においても、餌料密度や餌料の栄養価によっては、自然界での飢餓と同様な状況が起こり得る。海産魚類の種苗生産の初期餌料としては、シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* sp. complex (以下ワムシと表記) が有効であることが報告された (伊藤 1960)。それ以降、ワムシは様々な魚種の初期餌料として用いられ、培養技術も確立されてきた。培養したワムシを給餌する場合、ワムシ密度は高すぎても水質を悪化させる等の悪影響を及ぼすが、低い場合には、仔稚魚がワムシと遭遇できる機会が低下し、餓死することがある。そのため、魚類仔稚魚の生残とワムシ密度は密接な関係がある。ヒラメ *Paralichthys olivaceus* (安永 1971)、マダイ (北島ら 1976)、アユ

Plecoglossus altivelis altivelis (山本ら 2003), カサゴ *Sebastiscus marmoratus* (成田ら 2010), カワハギ *Stephanolepis cirrhifer* (成田ら 2011) などでは, 成長段階別の適正ワムシ密度が調べられ, 生残・成長が改善された。さらに, 種苗の大量確保が困難とされていたハタ科のスジアラ *Plectropomus leopardus* においても適正ワムシ密度が明らかにされ, 仔魚期の生残率の向上に成功した (與世田 2003)。このように給餌する際のワムシ密度は遊泳力の弱い仔魚期にとって重要な要因である。一方, 餌料密度が適正でも, ワムシを餌料とするとマダイ仔稚魚で大量死を起こすことがあった (隅田ら 1974; 北島・耕田 1976)。これは, 海産魚に必須である n-3 高度不飽和脂肪酸 (以下, n-3HUFA とする) が, ワムシには欠如していることが原因だった (渡辺 1982)。そこで, n-3HUFA を含有させたクロレラをワムシに摂餌させ, ワムシの栄養価を改善することで, 多くの種苗生産対象海産魚類の生残率が向上した (Izquierdo et al. 1989; Watanabe et al. 1989; 竹内ら 1998; Furuita et al. 1996)。

クロウミウマに関する研究では, 育児嚢 (Whittington et al. 2013) やその組織変化 (Laksanawimol et al. 2006), 繁殖生態 (Van et al. 2007), 保育期間 (Lin et al. 2007), 塩分耐性 (Hilomen-Garcia et al. 2003), 適正水温 (Lin et al. 2006), 性比 (Job et al. 2002) など数多く報告されている。しかしながら, 初期減耗が激しいためにクロウミウマを大量に生産できるには至っていない。このような中で, 稚魚に生きたコペポータを与えることで, 産出から 42 日目でも 97%を生残させた例がある (Job et al. 2002)。生きたコペポータの入手は困難であり, 一般的には用いられていない。現在, 多くの種苗生産施設で用いられているワムシでは, コペポータのように高い栄養価を持っていないことや, 大きさも小さいために十分な量を摂餌するためには, 摂餌回数も多くなり効率が悪い。そこで本研究では, クロウミウマ稚魚にワムシを餌料として用いる場合, 効率よく摂餌させる環境と稚魚が生残できる脂肪酸組成を明らかにし, 従来よりも多くの種苗を生産できる技術開発の一助となることを目的とした。

2 材料と方法

2-1 親魚の飼育方法と稚魚の確保

実験に先立って、2006年4月20日にフィリピン産のクロウミウマ親魚（体長150～180mm）を導入した。なお、体長とは、成魚の頭部頂冠から尾部末端までの長さとした（Lourie et al. 2004）。また、2006年5月18日と2007年7月11日にも新たな親魚を導入した。これらの親魚は、W900×L450×H450mmの亚克力製水槽（容積180l）に上限20個体として、飼育した。餌料として、冷凍保存した三陸沖産ツノナシオキアミ *Euphausia pacifica*、もしくは静岡県浜松市佐鳴湖産のニホンイサザアミ *Neomysis japonica*、あるいは由比港産のカタクチイワシ *Engraulis japonica* の仔魚を給餌前に解凍し、毎日9、13、17時の1日3回、飽食量を給餌した。閉鎖循環濾過とし、給餌後に残餌をサイホンで海水と共に回収し、減少した海水量に相当する海水を新たに注水した。日長時間については7～19時の12Lとし、タイマーにより明暗を切り替えた。飼育水温は27.3～28.1℃、塩分は28～30psuであった。実験にはこれらの水槽内で早朝に産出された稚魚をピペットで回収し、使用した。

2-2 異なる水温での稚魚の摂餌量と成長

異なる水温条件下での稚魚の摂餌量と成長を明らかにするために、水温20、24、28および32℃で稚魚を飼育した。稚魚（2010年8月9日産出、平均体長7.87mm、500個体収容）を実験まで水温28℃に調温した100lポリカーボネート製円形水槽で餌料としてワムシとアルテミア *Artemia franciscana*、冷凍のニホンイサザアミを与え、飼育を行った。同腹の稚魚で2回実験を繰り返す、実験期間を1回目は14日間、2回目は21日間とした。実験開始時における稚魚の体長は、1回目が74.62～76.60mm、2回目が80.21～82.30mmであった。実験容器には、30l容ポリカーボネート製円形水槽4個を用い、それぞれに1回目は112日齢、2回目は142日齢の稚魚を20個体ずつ収容した。なお、クロウミウマの成熟体長は124mm（Choo and Liew 2006）とされているため、本2-2実験においては稚魚として扱った。餌料としては、解凍したニホンイサザアミを使

用し、濾紙で水分を拭き取り、秤量（最小読み取り値 0.001 g）後、給餌した。稚魚が摂餌を行わなくなった時点で、残餌をサイホンにより回収し、その湿重量を秤量し、これを給餌量から差し引いて摂餌量を算出した。毎日 9 時、13 時、17 時の一日 3 回給餌し、これらの合計を日間摂餌量とし、個体当たりの日間摂餌量を求めた。体長を電子ノギス（最小読み取り 0.01 mm）、体重を電子天秤（最小読み取り 0.01 g）で測定した。実験中に死亡した個体は認められなかったため、増肉係数を以下の式により算出した。

$$\text{増肉係数} = \text{期間中の日間摂餌量の合計値 (g)} / \text{期間中の全個体の増重量 (g)}$$

2-3 飼育塩分についての検討

飼育に適切な塩分を検討するために、無給餌条件下において異なる塩分で稚魚を飼育した場合の生存時間を比較した。実験には、0日齢の稚魚（2010年3月6日産出、平均体長 8.42mm、4月11日産出、平均体長8.22 mm、6月11日産出、平均体長8.19 mmおよび7月17日産出、平均体長8.03 mm）180個体を用いた。実験容器に1000 mlビーカー9個を用い、産出された稚魚を塩分5、15および30 psuとして 3複対で20個体ずつ収容した。稚魚を収容した1000 mlビーカーを、あらかじめ27 °Cに調温した恒温槽に収容し、毎日5、11、17 および23時に生残数を計数した。また、飼育水の酸素欠乏と水質悪化を防ぐため、11、23時に同塩分条件の飼育水を入れた1000 mlビーカー（水温27 °Cに調温済み）に稚魚を移し替えた。

2-4 ワムシ密度が稚魚の摂餌に及ぼす影響

稚魚（2009年10月17日産出、平均体長 8.15 mm、2012年10月25日産出、平均体長 8.24 mm および 2013年1月25日産出、平均体長 8.18 mm）を用いて、異なるワムシ密度条件下での稚魚の摂餌数を比較した。2009年産出の稚魚では0、3、6 および 9 日齢、2012年および 2013年産出の稚魚では0、6 および 12 日齢で実験した。2000 ml ビーカー3個に稚魚を 30 個体ずつ収容し、飼育水中のワムシ密度が 1、10、50 個体 / ml になるように給餌した（以下、1 個体 / ml 区、10 個体 / ml 区、50 個体 / ml 区と表記）。

空胃状態で実験するために、0日齢の稚魚では、産出後、直ちに実験を開始し、その他の日齢個体は実験前日にビーカーに収容した。ビーカー上面からは36w白色蛍光灯4灯で12時間照射し、水面光量子量は、約 $50 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。また、ビーカー内でワムシが十分に攪拌されるよう、エアチューブの先にエアストーン（直径25mm）を取り付け、約4ml/分で通気した。給餌から60分経過後にピペット（広口に加工済）で稚魚を吸い出し、*m*-アミノ安息香酸エチルメタンサルホネート（以下MS-222と表記、SIGMA-ALDRICH）で麻酔することで、消化管内のワムシを吐き出さないようにした。その後、体表に付着したワムシと摂餌されたワムシを見分けるために、体表に付着したワムシを洗い流し、2枚のスライドグラスで挟んで稚魚を押しつぶし、双眼実体顕微鏡を用いて消化管内のワムシ数を計数した。消化管内から摘出されたワムシ数を摂餌数とした。また、実験開始前と終了後には1mlメスピペットでビーカー内の海水を吸い取り、ワムシ密度を測定し、平均値を求めた。

2-5 吸引摂餌行動と1回の行動で稚魚が摂餌するワムシの個体数

1回の吸引摂餌行動で稚魚が摂餌するワムシの個体数を検討するために、異なるワムシ密度条件下での吸引摂餌を行った回数を記録した。実験には0と4日齢の稚魚（2013年8月3日産出、平均体長7.88mm）を用いた。観察には透明のアクリル製角形容器（W170×L47×H127mm）を使用した。ワムシ以外の餌料の混入を防ぐために、あらかじめプランクトンネット（80 μm , 17XX, ミュラーガーゼ）で濾過した海水を使用した。濾過した海水900ml（水温26.8~27.8 $^{\circ}\text{C}$ 、塩分15.5psu）を角形容器に満たした。この中に稚魚1個体を収容し、無給餌の場合およびワムシ密度を9.6~750個体/mlとした場合の吸引摂餌行動の回数を各々1時間目視で計数した。タツノオトシゴ類の吸引摂餌は次のように行われる。下顎が下側（尾側）に少し下がり、上顎の先端が斜め上後方（体軸側）に少し近づく。その上・下顎の動きと連動して、口蓋の左右が大きく広がる。その瞬間に吸引摂餌が行われる（Roos et al. 2009）。この行動を1時間観察した後に、MS-222で麻酔し、稚魚が内容物を吐き出さないようにした。また、体表に付着したワムシと摂

餌されたワムシを見分けるために、体表のワムシを洗い流した後に、2枚のスライドガラスで挟んで押しつぶし、消化管内に含まれるワムシ数を双眼実体顕微鏡下で計数した。

2-6 稚魚の遊泳速度

稚魚の遊泳速度を調べるために、稚魚（2013年2月8日産出、平均体長 8.28 mm）を用い、走光性（岩谷ら 2013）を利用して、遊泳速度を計測した。実験に使用したアクリル製長形角形水槽（W50×L300×H60 mm）を図 1 に示す。光の反射を抑えるために、両短側面は透明とし、長側面は黒色とした。容器に海水を 900 ml（水温 24.5 °C，塩分 15.2 psu）入れ、稚魚を 1 個体収容した。短側面側からクリプトンライト（BF-150，パナソニック，中心波長 600 nm）を照射し、容器の端に稚魚を遊泳させた。その際に観察された遊泳行動を上方からビデオカメラ（DCR-SR62，ソニー）で撮影し、動画を 1 秒ごとの静止画に変換した後、稚魚が進んだ距離を画像解析ソフト（ImageJ，ver 1.46）で測定することにより、遊泳速度を求めた。

2-7 異なるワムシ密度条件下での稚魚の成長

ワムシ密度が稚魚の成長に及ぼす影響を検討するために、稚魚（2013年12月11日産出、平均体長 8.20 mm）を 15 個の 2000 ml ビーカー（3 複対×5 条件）に 30 個体ずつ収容した。これらのビーカー内には、ワムシ密度が 1，10，50，100，200 個体 / ml になるように注入した（水温 23.6～24.2 °C，塩分 15.2～16.4 psu）。ワムシ密度については、メスピペットでビーカー内の飼育水を 1 ml 吸い取り、10 回繰り返し計数したときの、平均値とした。ワムシ密度と水質を維持するために、毎日 2 回の頻度で、新たに調整した別のビーカーにピペット（広口に加工済）で稚魚を吸い上げ、移し替えた。なお、光量子量，通気量は前述の 2-4 実験と同様とした。実験開始時（0 日齢）と終了時（15 日齢）に稚魚を MS-222 で麻酔し、体長と体重を測定した。

2-8 異なる栄養状態のワムシ給餌による稚魚の生残への影響についての検討

栄養状態の異なるワムシが稚魚の生残に及ぼす影響を検討するために、稚魚（2008年11月5日、12日、23日、12月20日産出）を用い、計4回の繰り返し実験を行った。産出後の稚魚（平均体長 8.02 mm）を 1000 ml ビーカー9個に 20 個体ずつ収容した。餌料としたワムシは、給餌前に、100 l 容円形水槽にて n-3HUFA 強化クロレラ（スーパー生クロレラ-V12、クロレラ工業、以下単にクロレラと表記）で、12 時間栄養強化させた（以下、栄養強化ワムシと表記）。栄養強化ワムシには 1000 ml ビーカー内に①クロレラを 0.5 ml 添加した場合、②添加しない場合、さらに、③あらかじめ 48 時間無給餌にしたワムシ（以下、未強化ワムシと表記）の 3 条件のワムシを 3 複対で産出 480 時間後まで稚魚に与え、異なる栄養条件下での稚魚の生残率を比較した。実験中は、毎日 8 時 30 分に前述の 3 条件①②③のワムシを 10 個体 / ml の密度となるように給餌するとともに、飼育水にクロレラを添加した条件①ではワムシが消費したクロレラを補うために、クロレラ 0.5 ml を 15 時に追加した。また、ビーカーを水温 27 °C の恒温槽に収容し、明期を 8 時～21 時、水面上の光量子束密度を $26\sim 28\mu\text{ mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ に維持し、通気量は前述の 2-4 実験と同様とした。夜間は無給餌条件とするため、20 時 30 分に全ての稚魚を新しい飼育水の入ったビーカーに移動した。また、稚魚を移し替えた後の飼育水の pH、水温、溶存酸素量および塩分をマルチ水質モニタリングシステム（U-21、ホリバ）で測定した。

2-9 稚魚による飼育水中のクロレラの直接摂取の有無についての検討

稚魚のクロレラの直接摂餌の有無を検討するために、①栄養強化ワムシをクロレラと共に給餌した場合、②栄養強化ワムシのみを給餌した場合、③クロレラのみを給餌した場合、④無給餌の場合の 4 条件における稚魚の生残を比較した。実験には稚魚（2009年3月2日と15日産出、平均体長 7.95 mm）を用い、2 回の反復実験を行った。前述の実験 2-4 同様、3 複対の実験とし、稚魚を 1000 ml ビーカー12 個（4 条件×3 対）に 20 個体ずつ収容した。なお、光量子量、通気量は前述の 2-4 実験と同様とした。ワムシ密

度、pH、水温、溶存酸素量および塩分の測定については前述の実験 2-8 と同様に測定した。

2-10 餌料としたワムシと稚魚の脂肪酸組成と含有量

2-8 実験の①クロレラを添加した栄養強化ワムシ、および③未強化ワムシを給餌し 108 時間飼育（水温 26.5～27.3 °C）した稚魚の脂肪酸組成と含有量を分析した。別腹の稚魚（2009 年 8 月 10 日および 11 月 12 日産出個体）で 2 回分析し、比較対照として産出直後の稚魚についても同様に分析した。前述の実験 2-4 と同様に 1000 ml ビーカーに稚魚（平均体長 7.73 mm）を収容し、飼育水への有機物の混入を避けるために、蒸留水に人工海水の素（レイシーソルト G, イワキ）を溶解させて使用した（塩分 20.3～26.2 psu）。また、餌料については、栄養強化剤として使用したクロレラと、栄養強化ワムシ（12～18 時間強化）および未強化ワムシ（48～60 時間無給餌）について脂肪酸分析した。稚魚と餌料の湿重量を測定後、常圧加熱乾燥法で水分を測定し、湿重量を差し引き、乾燥重量（g）あたりに含まれる脂肪酸量を算出した。分析に使用したクロレラの重量は 463.1 mg、ワムシの重量は 355.7～680.7 mg、稚魚の重量は 37.8～49.6 mg であった。クロレラを除く全てのサンプルは、ステンレス製メッシュ（120 μm）上で洗瓶により人工海水で洗浄した後に、蒸留水で再度洗浄した。その後、超音波洗浄機（UT-105, シャープ）を用いて 10 秒間洗浄し、分析試料として -80 °C で冷凍保存した。

2-11 脂肪酸の分析方法

各冷凍試料には 1.5N 水酸化カリウムメタノール溶液 80 ml とジクロロメタン 15 ml を加え、窒素気流下、115 °C で 2 時間攪拌、還流した状態で脂質を加水分解抽出した。抽出液を分液ロートに移し蒸留水 80 ml とジクロロメタン 20 ml を加えてから、振とう・静置し脂質層を 3 回分液した。その後、3N 塩酸と 1N 水酸化ナトリウムで約 pH5 に調整した後、脂質にジアゾメタン・エーテル溶液を加え、脂肪酸のカルボキシル基のメチルエステル誘導体化を行った。N-メチル-N-ニトロソ-p-トルエンスルホンアミドと 7N

水酸化ナトリウムとの反応によって、ジアゾメタンを生成させ、それをジエチルエーテル中に溶存させた。このジアゾメタン-ジエチルエーテル溶液を室温で3時間放置し、メチル化を完結させた (Nishimura et al. 2006)。

その後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで脂質の分画を行った。シリカゲル (230-400 mesh) を 570 °C で3時間加熱処理した後、真空状態で常温にて冷却した。シリカゲルをオープンカラム (内径 12 mm, 長さ 30 cm) に充填後、ヘキサン、ヘキサンとベンゼンの混合溶媒 (9 : 1, 9 : 4, 9 : 5, 5 : 5.5) および試料 (脂肪酸のメチルエステル誘導体) を流し、分離及び精製した。脂肪酸の定量はガスクロマトグラフ (GC17A ver.3, 島津製作所) で行った。キャリアガスとしてヘリウムを使用し、カラムオープン温度を 70 °C から 295 °C まで1分間に 7.5 °C ずつ昇温させ、295 °C を 10 分間保持した。脂肪酸の同定にはピコニリル誘導体化後に、ガスクロマトグラフ (HP6890, Agilent) と四重極型マスマスペクトルメーター (Auto Mass System II, JEOL) を連結したガスクロマト質量分析計を用い、分析条件は前述のガスクロマトグラフ分析と同様とした。オープンカラムインジェクター及び水素炎イオン検出機を装備した両機器のキャピラリーカラム (DB-5MS, Agilent) には長さ 30 m, 直径 0.32 mm, フィルム層 0.25 μ m を使用した。

2-12 産出後の卵黄の残存状況

産出後の稚魚が保有する卵黄の残存状況が脂肪酸分析に与える影響を組織学的に評価するため、稚魚 (2008 年 10 月 25 日, 平均体長 8.18 mm と 2009 年 4 月 7 日産出, 平均体長 8.19 mm) の一部 ($n=4\sim 9$) を水温 25.4~25.6 °C, 塩分 18.2~18.7 psu および無給餌条件下で飼育した。分析個体として、2008 年産では産出直後および産出から 6, 12, 18, 24, 77 時間後、2009 年産では産出直後および産出から 24, 60, 90 時間後の稚魚を抽出した。これら稚魚をブアン氏液で 24 時間固定し、70%エタノールで保存した。エタノール濃度を徐々に高くし、生体内の水分を、脱水し、パラフィンを透徹させるためにキシレンに置換した。その後、パラフィン包埋することにより、組織切片を 10 μ m の

厚さで作製し，これを Mayer のヘマトキシリン・エオシン（メルク）で2重染色した。
双眼実体顕微鏡に取り付けた画像解析装置（LUZEX，ニレコ）を用いて背鰭の切断面
が確認された組織切片の卵黄断面積を測定することにより卵黄の残存状況を評価した。

3 結果

3-1 異なる水温での稚魚の摂餌量と成長

異なる水温条件下で育成したときの稚魚（2010年8月9日産出個体）の体長と体重の推移について、1回目の実験結果を図2に示した。4種類の水温条件の実測水温の平均値は、 $20.9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.22$ （ $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 設定）、 $23.9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.66$ （ $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ 設定）、 $28.4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.84$ （ $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 設定）および $31.1\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.79$ （ $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 設定）であった。本実験中、すべての水温条件において死亡個体は認められなかった。24 $^{\circ}\text{C}$ で飼育した場合、体長の平均値は実験開始時に74.40 mmだったが、実験開始から14日後には11.81 mm伸長し、86.21 mmとなった。この値は他の水温条件（4.77~8.50 mm）より大きかった。また、水温24 $^{\circ}\text{C}$ と32 $^{\circ}\text{C}$ で飼育したときの体長には有意差が認められた（図2, Tukey-Kramer, $P<0.05$ ）。体重では24 $^{\circ}\text{C}$ で飼育した場合、実験開始時には20個体の平均値が1.77 gであったが、14日後には2.74 gと増加した。また、開始から14日後の稚魚の体重には20 $^{\circ}\text{C}$ と32 $^{\circ}\text{C}$ 間および24 $^{\circ}\text{C}$ と32 $^{\circ}\text{C}$ 間で有意差が認められた（図2, Tukey-Kramer, $P<0.05$ ）。

各水温条件における日間摂餌量と増肉係数を表1に示した。体長・体重ともに最も成長した24 $^{\circ}\text{C}$ では、日間摂餌量の平均値も他の条件に比べて大きく8.36 gだった。続いて摂餌量が多かったのは、28 $^{\circ}\text{C}$ の7.68 gであり、32 $^{\circ}\text{C}$ の6.37 gがこれに次ぎ、20 $^{\circ}\text{C}$ では最も小さく6.00 gだった。各水温条件下での日間摂餌量の平均値には、分散分析による有意差が認められた（表3, $P<0.05$ ）。増肉係数も24 $^{\circ}\text{C}$ で飼育した場合が5.15となり、他の水温条件の5.81~111.1に比べ低かった（表1）。

2回目の実験結果を図3に示した。2回目の実験の実測水温の平均値は、 $20.0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.24$ （ $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 設定）、 $24.2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.58$ （ $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ 設定）、 $28.0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.12$ （ $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 設定）、 $32.1\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.69$ （ $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 設定）であった。実験開始時に平均81.45 mmだった体長は24 $^{\circ}\text{C}$ で飼育した場合、実験開始から7日後には平均7.06 mm伸長し、88.51 mmとなった。実験を終了した28日後では11.36 mm伸長し、92.81 mmとなった。稚魚の体長の平均値は実験開始から14日後には水温24 $^{\circ}\text{C}$ と28 $^{\circ}\text{C}$ で有意に異なった（図3, Tukey-Kramer, $P<0.05$ ）。体重では、24 $^{\circ}\text{C}$ で飼育した場合、2.91 gであった平均体重が実験開始から28日後には

0.50 g 増重し、3.41 g になった。実験開始から 14 日後には、水温 24 °C と 28 °C で飼育した場合の体重が有意に異なった (図 3, Tukey-Kramer, $P<0.05$)。増肉係数は、24 °C で 3.62 であり、1 回目と同様に他の温度での 4.15~118.6 と比べ小さい値を示した (表 2)。一方、日間摂餌量の平均値は、32 °C で 6.11 g と最も高く、1 回目とは異なる結果となった。各水温条件下での日間摂餌量の平均値にも、分散分析による有意差は認められなかった (表 3)。

3-2 飼育塩分についての検討

4 回の実験中、3 つの塩分条件の実測塩分は塩分 4.7~5.8 psu (5 psu 設定)、塩分 14.2~15.7 psu (15 psu 設定)、塩分 28.3~29.8 psu (30 psu 設定) であった。異なる塩分条件下における稚魚の生残率を図 4 に示した。1 回目の実験 (2010 年 3 月 6 日産出個体) では、塩分 30 psu の海水で稚魚を無給餌飼育した場合、126 時間後に 3 複対の合計 60 個体が全滅した。一方、塩分 30 psu で飼育した場合と比較して、塩分 15 psu で飼育した場合では、18 時間長く、144 時間生存した。塩分 5 psu で飼育した場合は反対に 18 時間生存時間が有意に短縮した (図 4, Steel-Dwass, $P<0.05$)。2 回目の実験 (2010 年 4 月 11 日産出個体) においても、塩分 5 および 30 psu で飼育した場合に比べて、15 psu で 138 時間と長く生残した (図 4, Steel-Dwass, $P<0.05$)。3, 4 回目の実験 (2010 年 6 月 11 日産出、7 月 17 日産出個体) でもこの傾向は変わらず、塩分 15 psu で飼育した場合の生残時間は、156~162 時間と塩分 5 および 30 psu の 90~120 時間より有意に長かった (図 4, Steel-Dwass, $P<0.05$)。

3-3 ワムシ密度が稚魚の摂餌に及ぼす影響

ワムシ密度と給餌 1 時間後の稚魚 (2009 年 10 月 17 日産出) の消化管内におけるワムシ数との関係を稚魚の日齢ごと図 5 に示す。1, 10 および 50 個体 / ml 区におけるワムシ密度の実測値は、それぞれ、0.7~1.4, 8.7~17.0, 54.2~61.0 個体 / ml の範囲にあった。このうち 1 個体 / ml 区での消化管内ワムシ数の平均値は、0 日齢で 1.7 個体、3

日齢で 1.2 個体，6 日齢で 2.0 個体，9 日齢で 3.3 個体であり，これらの日齢間でのワムシ数には，有意差は認められなかった。10 個体 / ml 区では，稚魚の消化管内のワムシ数は，0，3，6 および 9 日齢において，それぞれ 3.0，4.3，3.8 および 11.3 個体であり，0，9 日齢間と 6，9 日齢間には有意差が認められた（図 5，Steel-Dwass， $P<0.05$ ）。50 個体 / ml 区の稚魚の消化管内ワムシ数も 0 日齢 5.8 個体，3 日齢 9.2 個体，6 日齢 10.0 個体，9 日齢 16.3 個体と，0 日齢と 9 日齢の間に有意差が検出された（図 5，Steel-Dwass， $P<0.05$ ）。

稚魚（2012 年 10 月 25 日および 2013 年 1 月 25 日産出，以下 2012 年産，2013 年産と表記）を対象にワムシ密度と給餌 1 時間後の稚魚の消化管内ワムシ数との関係を稚魚の日齢別に，図 6 に示した。1，10 および 50 個体 / ml 区におけるワムシ密度の実測値はそれぞれ，2012 年産でそれぞれ 0.7~1.7 個体 / ml，9.2~13.9 個体 / ml，43.9~66.3 個体 / ml の範囲にあった。2013 年産を対象とした実験ではそれぞれ，0.7~1.7 個体 / ml，10.2~16.6 個体 / ml，42.3~68.1 個体 / ml の範囲にあった。2012 年産を対象とした実験では，1 個体 / ml 区において，消化管ワムシ数の平均値は 0 日齢で 2.7 ± 1.9 個体，6 日齢で 1.6 ± 1.1 個体，12 日齢で 2.4 ± 1.0 個体であり，これらの日齢間のワムシ数には，有意差は認められなかった（図 6）。10 個体 / ml 区における稚魚の消化管内ワムシ数の平均値は，0 日齢 4.3 ± 1.7 個体，6 日齢 3.5 ± 1.0 個体，12 日齢 16.5 ± 4.3 個体と，12 日齢で有意に多かった（図 6，Steel-Dwass， $P<0.05$ ）。50 個体 / ml 区の稚魚についても 0 および 6 日齢では，それぞれ 10.2 ± 3.4 個体と 8.0 ± 1.5 個体であったのに対し，12 日齢では 30.1 ± 4.1 個体と 12 日齢で有意に多かった（図 6，Steel-Dwass， $P<0.05$ ）。

2013 年産を対象とした実験においても，1 個体 / ml 区では 0，6 および 12 日齢で消化管内ワムシ数の平均値がそれぞれ 0.5，0.5 および 1.2 個体であり，有意な差は認められなかった。10 個体 / ml 区では，消化管内ワムシ数は 0，6 日齢それぞれで 5.5 ± 2.2 個体および 5.3 ± 1.1 個体であったのに対し，12 日齢では 16.9 ± 4.9 個体と有意に多かった（図 6，Steel-Dwass， $P<0.05$ ）。50 個体 / ml 区においての，稚魚の消化管内ワムシ数

は 0 日齢で 9.1 ± 2.5 個体, 6 日齢で 13.8 ± 2.7 個体, 12 日齢では, 31.8 ± 5.2 個体であり, 12 日齢は 10 個体 / ml 区と同様に有意に多かった (図 6, Steel-Dwass, $P < 0.05$)。

3-4 吸引摂餌行動と 1 回の行動で稚魚が摂餌したワムシの個体数

飼育水中のワムシ密度と吸引摂餌回数との関係を検討した結果を図 7 に, 飼育水中のワムシ密度と稚魚の消化管内ワムシ数の関係を図 8 に, 吸引摂餌回数と消化管内ワムシ数を図 9 にそれぞれ 0 日齢と 4 日齢を分けて示した。

0 日齢の場合, 容器内のワムシ密度が $9.6 \sim 63$ 個体 / ml の範囲内では, 1 時間に 1~4 回の吸引摂餌行動が観察された (図 7-①)。ワムシ密度が 261 個体 / ml 以上では, ワムシ密度が高くなるに伴い吸引摂餌回数も 4 回から 19 回と増加し, ワムシ密度が 518 個体 / ml で最大 32 回の吸引摂餌を記録した (図 7-①)。4 日齢では, ワムシ密度が $9 \sim 52$ 個体 / ml のときに 1 回~7 回の吸引摂餌行動が観察された (図 7-②)。

ワムシ密度と吸引摂餌回数の間には, 0 日齢の場合, 相関分析により有意な正の相関が認められた (図 8-①, $P < 0.05$, $r = 0.86$)。4 日齢では, 155 個体 / ml 以上のワムシ密度では, ワムシ密度が高くなるに伴い, 4 回から 29 回と吸引摂餌回数も増加し, ワムシ密度が 551 個体 / ml のとき最大 49 回の吸引摂餌行動が観察された (図 8-②)。ワムシ密度が高くなるに伴い消化管内ワムシ数も増加した 0 日齢と同様, 4 日齢でもワムシ密度と吸引摂餌回数, およびワムシ密度と消化管内ワムシ数の間には有意な正の相関が認められた (相関分析, それぞれ $r = 0.82$ および $r = 0.73$ ともに $P < 0.05$)。

ワムシ密度が高くなるに伴い, 消化管内ワムシ数も増加傾向にあり, 両者の間には有意な正の相関が認められた (図 9-①, 相関分析, $P < 0.05$, $r = 0.82$)。また, 消化管内ワムシ数が最も多かったのは, ワムシ密度が 561 個体 / ml のときの 123 個体であった。1 回の吸引摂餌行動で摂餌したワムシ数を計算したところ, 0 日齢での平均値は 2.5 個体 ($n = 30$) で, 最大は, ワムシ密度が 577 個体 / ml のときの 6.4 個体, 最小は 12 個体 / ml の 0.3 個体であった (図 9-①)。4 日齢では, 1 回の吸引摂餌行動で摂餌したワムシ数の

平均値は 2.4 個体 (n=30) であり, ワムシ密度が 358 個体 / ml のとき最大 5.8 個体, ワムシ密度が 9 個体 / ml では最小 0.5 個体であった (図 9-②)。

3-5 稚魚の遊泳速度

稚魚の遊泳速度を日齢別に整理し, 図 10 に示した。0 日齢の稚魚の遊泳速度は 10.6 ± 4.0 mm/s だった。4, 5 および 6 日齢では 7.12~8.09 mm/s と 0 日齢との間に有意差が認められたものの (図 10, Dunnet's multiple comparison test, $P < 0.05$), 7~15 日後では $8.8 \pm 2.2 \sim 10.3 \pm 3.4$ mm/s で, 0 日齢と比較して有意差はなかった。

3-6 異なるワムシ密度条件下での稚魚の成長

異なるワムシ密度条件下で, 15 日間飼育したときの体長と体重の変化をそれぞれ表 4 と表 5 に示した。実験開始時 (2013 年 12 月 11 日産出) に 7.01 mm (n=30) であった稚魚の体長は, ワムシ密度を 1 個体 / ml とした場合では, 実験開始から 15 日後に 3 個のビーカーにおいて体長 13.08~13.35 mm (n=4) に成長した。ワムシ密度を 10, 50 および 100 個体 / ml とした場合では, さらに成長し, 体長はそれぞれ 5.12~15.44 mm (n=7~8), 15.10~15.45 mm (n=8~9), 15.63~15.78 mm (n=6) に成長した。最も成長していたのは, ワムシ密度が 200 個体 / ml の場合で, 15 日後には 16.91~17.03 mm (n=4~5) と実験開始時の 2.4 倍になっていた (表 4)。

実験開始時には 2.5mg であった稚魚 (n=30) の体重は, 実験開始から 15 日後にワムシ密度が 1 個体 / ml では 7.5~9.8mg (n=4), ワムシ密度 10 個体 / ml では 7.8~13.2 mg (n=7~8) となった。さらに, ワムシ密度が 50 個体 / ml を超えると, ワムシ密度に比例して稚魚の体重も増加する傾向が見られ, ワムシ密度 200 個体 / ml で, 稚魚の体重は 20.6~22.3 mg (n=4~5) と開始時の 8.8 倍になった (表 5)。分散分析の結果, 実験終了時の体長および体重は, 同一のワムシ密度内では飼育ビーカー間で有意差は検出されず, 異なるワムシ密度間において有意差が認められた (Two-way ANOVA, $P < 0.05$, 表 4, 5)。

3-7 異なる栄養状態のワムシ給餌による稚魚の生残への影響についての検討

異なる栄養状態のワムシを稚魚に与えた場合の生残率を図 11 に示した。4 回の実験の pH は 7.79~8.29, 水温は 24.7~26.6 °C, 溶存酸素量は 6.22~6.80 mg/l, 塩分は 20.3~22.9 psu であった。生残率については, 比率 (p) を逆正弦変換 ($\arcsin\sqrt{p}$) した後に, 一元配置分散分析に供した (田中ら 2010, 神保ら 2012)。各実験での分散分析表を表 6 に示す。1 回目の実験 (2008 年 11 月 5 日産出個体) で, 栄養強化ワムシとともにクロレラを飼育水に添加した場合での, 稚魚の生残率の 3 複対の平均値は, 実験終了時の 480 時間後において, 61.6% であった。一方, 未強化ワムシを給餌した場合, 実験終了時には 10% と低かった。クロレラ添加なしで栄養強化ワムシを給餌した場合の生残率の平均値は, 実験終了時において 45% であった (図 11, ANOVA, $P<0.05$)。

2~4 回目の実験でも同じ傾向の結果が得られた。2, 3 回目の実験 (2008 年 11 月 12 日, 11 月 23 日産出個体) では, 飼育水にクロレラを添加し, 栄養強化ワムシを与えると, 480 時間後でも 23.3~43.3% が生残した。クロレラ添加なしで栄養強化ワムシを与えても 480 時間後に 13.3~18.3% が生残した。一方, 未強化ワムシを給餌した場合では 300 時間後に全滅した (図 11, ANOVA, $P<0.05$)。

4 回目 (2008 年 12 月 20 日産出個体) では, ワムシとともにクロレラを添加した場合で, 480 時間後でも平均 88.3% が生残し, 繰り返し行った 4 回の実験中もっとも高い生残率であった。クロレラ添加なしで栄養強化ワムシを給餌した場合でも 43.3% が生残した。これに対し, 未強化ワムシを給餌した場合, 480 時間後の 3 複対の生残率の平均値は 6.7% と低かった (図 11, ANOVA, $P<0.05$)。

3-8 稚魚による飼育水中のクロレラの直接摂取の有無についての検討

クロレラの有無が稚魚の生残に及ぼす影響を検討した結果を図 12 に示した。2 回の実験期間中の pH は 7.91~8.19, 水温は 27.9~28.0 °C, 溶存酸素量は 5.77~6.07 mg/l, 塩分は 22.5~24.5 psu であった。前述 3-7 実験と同様に生残率については, 比率 (p) を

逆正弦変換 ($\arcsin\sqrt{p}$) した後に、一元配置分散分析に供した。各実験での分散分析表を表 7 に示す。繰り返し行った 2 回の実験 (2009 年 3 月 2 日と 15 日産出個体) とも、無給餌条件において稚魚は 120~126 時間で全滅した。また、クロレラのみ飼育水に添加した場合でも 126~132 時間で全滅した。一方、稚魚に栄養強化ワムシを給餌した場合、3 複対の実験終了時における 240 時間後の生残率の平均値が 1 回目では 6.7%、2 回目では 11.7% だった。栄養強化ワムシとともにクロレラを添加した場合には、2 回とも実験終了時に 60% の生残率であった (図 12, ANOVA, $P<0.05$)。

3-9 餌料としたワムシと稚魚の脂肪酸組成と含有量

① ワムシ

本実験で使用したクロレラと強化および未強化ワムシの脂肪酸組成を表 8 に示す。検出された 48 時間未強化ワムシの脂肪酸は C14, Branched-C15, C15, C16, C16:1 (n-7), C16:1 (n-9), C16:2 (n-6), C16:3 (n-3), Branched-C17, C17, C18, C18:1 (n-9), C18:2 (n-6), C18:3 (n-3), C19, C20, C20:1 (n-10), C20:2, C20:3, C20:4, C20:4 (n-6), C20:5 (n-3), C22:5 (n-3), C22:6 (n-3) であった。その中で、C20:5 (n-3) (以下, EPA と表記) は乾燥飼料重量あたり 3.83 mg/g, C22:5 (n-3) (以下, DPA と表記) は 1.94 mg/g, C22:6 (n-3) (以下, DHA と表記) は 1.72 mg/g で、未強化の時間を 60 時間に延長すると、EPA は 1.41 mg/g, DPA は 0.66 mg/g, DHA は 0.27 mg/g と半減した (表 8)。一方、これら 3 種の脂肪酸 EPA, DPA, DHA は 12 および、18 時間栄養強化ワムシでは 2.89~17.48 mg/g と 60 時間未強化ワムシに比較して 1.5~64 倍増加した。他に 3 倍以上に増加していたものに、C16:2 (n-6), C16:3 (n-3), C18:2 (n-6) (以下, LA と表記), C18:3 (n-3) (以下, LNA と表記) であった。栄養強化時間の短い 12 時間強化の脂肪酸量は 18 時間強化ワムシよりも 1.01~1.52 倍多かった (表 8)。

② 稚魚

産出後の稚魚および栄養強化ワムシ未強化ワムシを給餌した後、108時間経過した稚魚の脂肪酸組成を表9に示した。1回目の分析(2009年8月10日産出個体)において、産出直後の稚魚からはC16:1(n-9)とC16:3(n-3)は検出されなかった。未強化ワムシを給餌し108時間経過すると稚魚から検出された脂肪酸量は0.02~10.52 mg/gとなり、産出直後より49.1~89.9%減少した。一方、栄養強化ワムシを給餌した場合でもほとんどの脂肪酸において減少したが、LAでは産出直後の1.17 mg/gより約3倍高い3.49 mg/gとなった(表9)。

2回目の分析(2009年11月12日産出個体)では、1回目(2009年8月10日産出個体)とは異なり、栄養強化ワムシを与えて108時間飼育した稚魚からは、LAに加えて、C16:2(n-6) C20:2, C20:3, EPA, DPAおよびDHAなど16種の脂肪酸が産出直後の稚魚よりも0.03~5.93 mg/g多く検出された(表9)。

実験開始から108時間経過した稚魚の体重は、栄養強化ワムシを給餌した場合、1回目(2009年8月10日産出個体)では、1個体あたり4.15 mgと未強化ワムシを給餌した場合の1.98 mgよりも重かった。この傾向は2回目(2009年11月12日産出個体)でも同様で、稚魚の体重は栄養強化ワムシを給餌した場合、3.18 mgで未強化ワムシを給餌した場合の1.56 mgよりも重かった。なお、本実験では、未強化ワムシを給餌した場合に、水面に浮上した稚魚が(1回目は15個体、2回目は19個体)確認された。

3-10 産出後の卵黄の減少過程

産出直後と産出から60および77時間後の稚魚が保有する卵黄の残存状況を図13に示した。また、産出直後における稚魚の卵黄断面積の経時的変化を示したものが図14である。産出直後の稚魚(2008年10月25日産出)には、まだ腹腔内に卵黄が残留し(図13-①)、そのときの卵黄断面積の平均値は $4.02 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$ ($n=6$)であった。産出から24時間後の卵黄断面積は $4.31 \times 10^{-4} \text{ mm}^2$ ($n=5$)となった(図14-①)。さらに、産出から77時間後には全ての個体($n=5$)で卵黄が消失したことが確認された(図14-①)。

稚魚（2009年1月13日産出）においても、まだ腹腔内に卵黄が残留しており、産出から60時間後にも $1.65 \times 10^{-2} \text{mm}^2$ が残留していた（図14-②）。その後、産出90時間後には全ての個体（ $n=4$ ）で卵黄が失したことが確認された。

4 考察

4-1 適正飼育水温と塩分

クロウミウマ稚魚の成長に適した水温を明らかにするために 20, 24, 28 および 32 °C で飼育実験を行った。その結果, 開始時の体重の平均値が 1.77 g のクロウミウマ稚魚を 24 °C で飼育すると, 14 日後には 0.97 g 増重し, この値は他の水温条件での増重量 0.03 ~0.62 g よりも高かった。また, 体長の平均値についても水温 24 °C では, 開始時に 74.40 mm であったが, 14 日後には 11.81 mm 伸長し, この値は他の水温条件の 4.77~8.50 mm よりも高い値であった。2 回目の実験でも 24°C の成長が他の水温条件より優れていた。水温はその生物にとって生活可能な範囲外では生存できないが, 範囲内であれば高ければ高いほど代謝が高くなる (竹内 1991)。西太平洋の温帯から亜熱帯に分布する *Hippocampus erectus* 稚魚では, 水温 25, 27, 29, 31, 33 °C で飼育した場合に, 30 °C を超えると成長が悪くなることが明らかにされている (Lin et al. 2008)。クロウミウマでも, 32 °C での増肉係数が 111.1~118.6 と高かったことから, 32 °C は本種の適切な水温の範囲外であると考えられた。

生残に適した塩分を明らかにするために異なる塩分条件で無給餌飼育した結果, 稚魚を 15 psu で飼育した場合では, 5 および 30 psu で飼育した場合と比較して, 18~36 時間長く生存した。その後の 3 回の実験でもこの傾向は変わらず, 15 psu では, 生残時間が 156~162 時間生存し, 5 および 30 psu の 90~120 時間より長かった。クロウミウマの分布域は日本からオーストラリア北部までの温帯から熱帯と幅広いが, 生息域はマングローブや河口に限定されている (Lin et al. 2007)。生活環境を考慮すると, 15 psu における稚魚の半数致死時間が長いことは, 合目的的であり, 本種は外洋水よりも塩分が薄い環境で生残率が高くなると考えられた。また, Hilomen-Garcia et al. 2003 も, 本種の最適塩分を 15~20 psu としており, 本結果を支持するものとなった。以上の結果から本研究では, クロウミウマの育成に適する水温および塩分は 24 °C および 15 psu で, これらの条件で飼育することが望ましいと考えられた。

4-2 稚魚の遊泳力および餌料密度と生残・成長との関係

魚類仔魚の生残・成長に対して、餌料密度は重要な要素である。マダイ (北島ら 1976)、クロダイ (岡内ら 1980)、トラフグ (北島・林田 1984)、カサゴ (成田ら 2010) およびカワハギ (成田ら 2011) 仔魚で餌料密度の重要性が報告されている。これらの魚種の餌料密度と生残率との関係については、餌料密度が高いほど摂餌機会が増し、遊泳力の弱い仔魚であっても十分な量を摂餌できるため、生残率が高くなると考えられている。

孵化 5 日後のカワハギや産仔 2 日後のカサゴでも、ワムシ密度が低いと摂餌機会が少ないため、クロウミウマと同様に仔魚の摂餌数は減少するが、成長に伴って、低いワムシ密度でも、活発に摂餌し始めることが明らかとなっている (成田ら 2010, 2011)。タイセイヨウニシン *Ciuepa harengus* 仔魚と、カタクチイワシの一種 *Engraulis mordax* においてもワムシ密度が低いと摂餌に失敗するが、成長に伴い摂餌の成功率が向上することが報告されている (Beyer 1980)。これらの仔魚は、遊泳に必要な各鰭や体側筋などの諸器官が未熟であるため、孵化直後は遊泳力が乏しいが、形態的に発達することで、遊泳力が増し、効率的な摂餌が行えるようになると考えられている。本研究の結果、0, 6 および 12 日齢のクロウミウマ稚魚に 1 個体 / ml 前後の低い密度でワムシを給餌すると、摂餌数はそれぞれ 0.5~2.7 個体, 0.6~1.6 個体, 1.2~2.4 個体とほぼ変わらなかった。

また、マハタ *Hyporthodus septemfasciatus* の遊泳速度は、仔魚では $13.5 \pm 6.0 \sim 24.4 \pm 15.0$ mm/s であるが、稚魚では 165.5 ± 89.4 mm/s と増大することが知られている (Sabate et al. 2009)。また、ハタハタ *Arctoscopus japonicus* では孵化仔魚でも、42 mm/s の遊泳速度を有している (森岡ら 2009)。しかしながら、クロウミウマ稚魚では遊泳速度が、0 日齢では 10.6 ± 4.0 mm/s で、15 日後でも 10.3 ± 3.4 mm/s とほとんど変化しないことが明らかとなった。魚類は前進する際に、主に尾鰭から推進力を得ているため、その発達に伴って遊泳速度が速くなる。本種を含むタツノオトシゴ亜科では尾鰭を欠くため (瀬能 2000)、背鰭を動かすことによって推進力を得ている (Gemmell et al. 2013)。このような遊泳行動のため、クロウミウマでは成長に伴う遊泳能力の向上が見られないと

考えられる。このことから、浮遊期の稚魚では、同じワムシ密度の場合、摂餌機会が変わらず、ワムシ密度が低い場合、成長しても摂餌数が増大しなかったと考えられる。

西大西洋の亜熱帯に分布する *Hippocampus reidi* では頭蓋を上方に傾けるとともに、上顎と下顎が開いて吸引摂餌する。そのときに上・下顎の動きと連動して、口蓋の左右が大きく広がる。(Roos et al 2009)。この摂餌に関与する頭部の動きは Pivot feeding (Van and Aerts 2008; Van et al. 2009; Gemmell et al. 2013) と呼ばれ、ヨウジウオ科魚類に特有の摂餌行動である。本研究では、この Pivot feeding の回数を吸引摂餌回数として定義し、異なるワムシ密度で条件下のクロウミウマ稚魚の吸引摂餌回数と摂餌数との関係を調べた。その結果、0日齢の稚魚では、飼育水中のワムシ密度が高いほど吸引摂餌回数が増加し、正の相関が認められた。また、1回の吸引摂餌あたりの摂餌数もワムシ密度を高くすることで増加し、ワムシ密度が 577 個体 / ml のとき 1 回の吸引摂餌行動で 6.4 個体のワムシを摂餌していた。一方、ワムシ密度が 12 個体 / ml 以下では、1回の行動で摂餌数が 0.3 個体となり、摂餌に失敗するケースがあることも示唆された。4日齢の稚魚でも同様の傾向が見られ、ワムシ密度が 358 個体 / ml のとき、1回の吸引摂餌行動で 5.8 個体のワムシを摂餌した。多くの海産魚類の仔魚期においては S 字行動や C 字行動と呼ばれる特徴的な摂餌行動で餌を捕食する (Rosenthal and Hempel 1970; Hunter 1972; Webb 1978)。この行動は、餌料を摂餌するときに魚体上方からみて体を S 字型にすることから名づけられた。このとき、サバヒー *Chanos chanos* 仔魚で 1 度の S 字行動で餌料を 1 個体摂餌することが報告されている (Kawamura and Hara 1980)。仔魚が 1 回の摂餌行動で多数の餌料生物を摂餌する報告は皆無である。今回の観察結果から、吸引摂餌することで吻部前方の海水とともにワムシを吸引できるために、ワムシ密度が高いと、1回の吸引摂餌行動で、複数のワムシを摂餌できたと考えられる。このように 1 回の摂餌行動で複数のワムシを摂餌することは、エネルギー収支効率が良い。

さらに、異なるワムシ密度条件下での稚魚の成長について調べた結果、ワムシ密度が 1 個体 / ml と低い場合、稚魚の体長は平均 6.18 mm の伸長に留まったのに対し、ワムシ密度が 10~100 個体 / ml では体長は 8.21~8.28 mm、ワムシ密度が 200 個体 / ml では、

体長が 9.95 mm と最も伸長した。サバヒー (Hagiwara 1996), マダイ (Mobin et al. 2001), マイワシ *Sardinops melanostictus* (Oozeki and Zenitani 1996), ミナミマグロ *Thunnus maccoyii* (Jenkins et al. 1991) 仔魚では高餌料密度で良好な成長が報告されているが、これらは成長に伴い、摂餌数が増えるため、成長が良好になると考えられている。クロウミウマの場合も、ワムシ密度が高いことで、摂餌機会が増加し、摂餌数が増加する。これに加えてクロウミウマでは著しく給餌密度を高くすることによって、1 回の摂餌行動で複数のワムシを吸引摂餌できるため、エネルギー収支の効率が良く、成長が良好になると考えられた。

4-3 稚魚の生残と餌料中の脂肪酸組成との関係

仔稚魚の育成に必要な栄養素としての必須脂肪酸は、ワムシには含まれていない (渡辺ら 1978)。そこで、給餌する前に、クロレラなどの単細胞藻類等を用いたワムシの栄養強化が行われるようになり (北島・耕田 1976; Maruyama et al. 2006), こうした栄養強化剤の出現によってマダイや、ヒラメなどの初期減耗を大幅に減らすことが可能となっている (竹内 1991)。また、メナダ *Liza haematocheila* 仔魚 (吉松ら 1995) やマダコ *Octopus vulgaris* 幼生 (浜崎・竹内 2000) では、幼生や仔魚に与える餌料生物の栄養価低下の防止策として、飼育水中にナンノクロロプシスを添加することが試みられ、それらの生残向上に成功している。本研究では脂肪酸をワムシに添加するために、市販の栄養強化用クロレラを使用した。その結果、栄養強化ワムシをクロウミウマ稚魚に与えると、実験期間内に全滅することなく、産出 480 時間後でも 13.3~45.0%が生残した。さらに、栄養強化ワムシの脂肪酸量を維持するため、飼育水にもクロレラを添加した場合では、産出 480 時間後でも 23.3~88.3%が生残し、ばらつきはあるものの、同腹の稚魚を用いた実験の中では常に高い生残率であった。一方、稚魚に 48 時間未強化ワムシを給餌した場合、産出から 300 時間で全ての稚魚が死滅した場合が認められた。

今回用いたワムシの脂肪酸含有量は、栄養強化ワムシでは C₁₈系列と EPA, DHA が未強化ワムシより明らかに多く、DHA では最大で 64 倍もの違いがあった。これらのワ

ムシを摂餌させた稚魚の脂肪酸含有量は、LA が乾燥重量 1 g あたり 3.49~6.42 mg と、未強化ワムシを稚魚に給餌した場合よりも、多く含まれていた。また、EPA は未強化ワムシを給餌した稚魚より 0.09~0.94 mg、DHA では 0.37~3.59 mg 多く含まれていたことから、これら脂肪酸は、クロレラ由来であると考えられる。前述のようにクロウミウマは吸引摂餌行動をするために、飼育水に添加したクロレラを直接摂餌することが考えられるが、飼育水にクロレラのみを添加した場合と、無給餌条件での稚魚の生残時間には差がなかったことから、クロレラを稚魚が直接摂餌することはないと推察される。したがって、クロレラがワムシの栄養状態を高く保ち続けたことで、高い生残率になったものと考えられる。また、産出直後の稚魚が保有していた卵黄は、水温が 25.4~25.6 °C の条件下では産出から 24 時間後にはほぼ消失し、産出から 77 時間後には完全に吸収されていた。今回、脂肪酸分析を行うために育成したときの水温は 26.5~27.3 °C であり、産出から 108 時間後に抽出したことから、卵黄はすでに無くなっていたと考えられる。したがって、稚魚から検出された脂肪酸は、親魚由来の卵黄物質の影響ではなく、ワムシから摂取した脂肪酸であると考えられる。なお、繰り返し行った 2 回の実験で、1 回目と 2 回目の卵黄の残存量が異なっていたのは、親魚の産出するタイミングによるものと思われる。

魚類の必須脂肪酸の要求型は、淡水魚型と海水魚型に大きく分けられる(古板 2004)。淡水魚型はさらに、LNA を要求するニジマス型、LA を要求するティラピア型、これら LNA と LA の両方を要求するコイ型の 3 つに分けられる。また、n-3HUFA を要求する魚種の多くが海産魚であることから海産魚型と呼ばれている。海産魚型においては n-3HUFA の中でも、特に EPA、DHA が魚類仔稚魚の高い生残率に寄与することが明らかになっている。これら 4 型以外にも、淡水と海水を行き来する両側回遊魚のアユでは、EPA あるいは DHA を強化したワムシを給餌する必要があるといった報告(全国湖沼河川養殖研究会 1999) や、EPA と LNA の両方が必須脂肪酸(海産魚型+ニジマス型)であるといった報告(Kanazawa et al. 1982) もあり、研究者の間で意見が分かれている。一方、産卵のために海に下る降河回遊魚のカマキリ *Cottus kazika* では、n-3HUFA を含

まないワムシを与えると、生残率が低下したことから、n-3HUFAが必須脂肪酸であると考えられている(岩谷ら 2003)。このように脂肪酸の要求型は、魚種ごとに細かく分類されており、それらの知見は必ずしも生息域もしくは生活史と必ずしも一致していない。

本実験の結果では、クロウミウマ稚魚に栄養強化ワムシを与えると、LAが産出直後より約3倍多くなり、n-3HUFA(EPA, DPA, DHA)が1.6~7.8倍多く検出された。今回の実験では、それぞれの脂肪酸を単独でワムシに添加していないことから、これらの脂肪酸全てが必須であるか否かについては明確にできなかったが、これらの脂肪酸が生残に関与したことが示唆された。今回の実験から、クロウミウマ稚魚に十分栄養強化したワムシを給餌するだけでなく、飼育水にクロレラを添加することでワムシの栄養価を高く維持でき、生残率を高くすることが可能となった。

4-4 総括

本研究では、漢方薬の原料として乱獲されているクロウミウマ稚魚を安定的に育成するための方法についてワムシの密度およびワムシの栄養価の観点から明らかにした。クロウミウマ稚魚の生残と成長効率の最も良い水温条件は24℃、塩分条件は15psuであることが明らかとなった。クロウミウマ稚魚は産出から約18日間は浮遊期間であり、遊泳力が弱く、この間成長しても遊泳力は変わらない。そのため、ワムシ密度を他魚種より高く設定することで、ワムシとの摂餌機会を高めるだけでなく吸引摂餌によって1回の行動当たりの摂餌数が増加するために、生残が良くなることが明らかとなった。このように、1回の摂餌行動で複数のワムシを摂餌する浮遊期仔魚の報告例はなく、クロウミウマで初めての報告となる。さらに、ワムシの脂肪酸(LAとn-3HUFA)含有量を高く維持するために、飼育水槽に栄養強化用のクロレラを添加することで生残が良好になることも明らかとなった。以上のようにクロウミウマを効率よく成長させるための方策として、ワムシ密度を200個体/ml以上とし、ワムシを栄養強化するだけでなく、

飼育水にも栄養強化用クロレラを添加することが、従来の方法より種苗の安定供給につながる結論付けられた。

5 要約

1) 本研究は、漢方薬の原料として乱獲され、絶滅が危惧されるクロウミウマを安定的に種苗生産するための技術開発の一助となるための基礎研究として、適正餌料密度および栄養要求を明らかにすることを目的とした。

2) 異なる水温条件下で稚魚の成長を比較したところ、24℃で飼育した稚魚の平均増重量は0.50~0.97 gであり、20, 28, 32℃で飼育した場合の平均増重量0.03~0.62 gより多かった。また、24℃での増肉係数が3.62~5.15であり、他の水温条件での4.15~118.6よりも低いことから、成長に対する適正水温は24℃であると考えられた。

3) 稚魚を5, 15, 30 psuの塩分で無給餌飼育した結果、塩分15 psuで138~162時間と、他条件での90~120時間よりも生残時間が長かった。したがって、稚魚を飼育する適正塩分は15 psuと考えられた。

4) 異なるワムシ密度条件下での稚魚の摂餌数と吸引摂餌行動との関係を調べた。ワムシ密度を577 個体 / ml と高くすると、稚魚の1時間あたりの吸引摂餌回数は10回で、ワムシ密度が9.6~63.0 個体 / ml と低いと、1~4回と少なかった。また、摂餌数はワムシ密度577 個体 / ml のときに64 個体であったのに対し、9.6~63.0 個体 / ml のワムシ密度では、0~9 個体であった。クロウミウマでは、ワムシ密度を高くすると1回の摂餌行動で複数個体を同時に摂餌できることが明らかとなった。そのため、ワムシの密度を高くすることで、稚魚のエネルギー収支効率が良くなり、成長が良好になると考えられた。

5) 0.7~1.4 個体 / ml の低いワムシ密度の場合、0, 3, 6, 9日齢の稚魚の摂餌数は、それぞれ1.7, 1.2, 2.0, 3.3 個体と、成長しても変化が少なかった。これは稚魚の遊泳速度が産出直後で 10.6 ± 4.0 mm / s であり、15日後でも 10.3 ± 3.4 mm / s とほとんど変化

が見られないため摂餌機会の増加に繋がらなかったと考えられた。本種の浮遊幼生期の稚魚では、遊泳力が乏しくクロウミウマ稚魚は低いワムシ密度では摂餌効率が低く、稚魚の成長が低下することが明らかとなった。

6) 栄養強化ワムシと、未強化ワムシ、栄養強化ワムシとともにクロレラを飼育水中に添加した3条件での480時間後の稚魚の生残率を比較した。その結果、栄養強化ワムシを給餌し、クロレラを飼育水中にも添加した場合で、23.3～88.3%の稚魚が生存した。また、クロレラを添加せずに栄養強化ワムシを給餌した場合は、13.3～45%の生残率であった。一方、未強化ワムシを給餌すると稚魚の生残率は0～10%と低かった。脂肪酸分析の結果、栄養強化ワムシでは未強化ワムシよりリノール酸が20.47～24.67 mg/g高く、EPA、DHAについても7.83～17.21 mg/g高かった。さらに、栄養強化ワムシを給餌した108時間後の稚魚の体内からは、未強化ワムシを給餌した場合より、リノール酸が2.50～5.43 mg/g高く、EPA、DHAについても0.55～5.45 mg/g高く検出された。したがって、これらの脂肪酸が欠乏すると稚魚の生残率が低下することが明らかとなった。

7) 本研究によって、浮遊幼生期のクロウミウマ稚魚は遊泳力が弱く、低密度でワムシを与えると摂餌に失敗することが明らかとなった。ワムシ密度を200個体/mlまで高めると、摂餌機会が増えるとともに、1回の吸引行動で複数のワムシを効率よく摂餌でき、その結果成長が良好になることも明らかとなった。さらに、ワムシの脂肪酸含有量を高く維持するために飼育水槽に栄養強化用に用いるクロレラを添加することが、クロウミウマ稚魚の栄養要求量を満たし、生残率向上に有効であることが明らかになった。

6 謝辞

本研究の遂行ならびに本論の取りまとめにあたり、終始懇切なるご指導とご校閲を賜った東海大学海洋学部水産学科教授の秋山信彦博士に深甚なる感謝の意を表します。また、本校校閲の労をとられ、数多くのご意見を賜りました東海大学海洋学部水産学科教授の齋藤寛博士ならびに福井篤博士、同大学理学部化学科教授の石原良美博士、同大学生物学部海洋生物科学科教授の櫻井泉博士に厚くお礼申し上げます。

静岡商工会議所並びに静岡市には本研究を遂行するに当たり、さまざまなご支援とご協力を頂いた。関係の方々に厚くお礼申し上げます。また、私の実験の補佐をしていた東海大学海洋学部水産学科秋山研究室の皆様に感謝の意を表します。

7 引用文献

- Beyer, J. E. (1980) Feeding success of clupeoid fish larvae and stochastic thinking. *Dana*, **1**, 65-91.
- Choo C. K. and H. C. Liew (2006) Morphological development and allometric growth patterns in the juvenile seahorse *Hippocampus kuda* Bleeker. *Journal of fish biology*, **69**, 426-445.
- Correa, M., K. S. Chung and R. Manrique (1989) Caltive experimental del caballito de mar, *Hippocampus erectus*. *Boletin del Instituto Oceanografico de Venezuela*, **28**, 191-196.
- Forteeh, N (1996) Seahorse, *Hippocampus abdominalis* in culture. *Australian Aquaculture*. **9**, 83-84.
- 古板博文 (2004) 種苗生産過程における魚類の必須脂肪酸要求. 日水誌, **70**, 512-515.
- Furuita, H., T. Takeuchi, T. Watanabe, H. Fujimoto, S. Sekiya and K. Imaizumi (1996) Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and highly unsaturated fatty acid. *Fisheries Sci.*, **62**, 372-379.
- Gemmell, B. J., J. Sheng and J. B. Edward (2013) Morphology of seahorse head hydrodynamically aids in capture of evasive prey. *Nat. commun.*, **4**, 2840.
- Hagiwara, A., Y. Oozeki and C. S. LEE (1996) Effects of food densities on the survival and growth of milkfish, *Chanos chanos* larvae. *Suisanzousyoku*, **44**, 105-112.
- 浜崎活幸・竹内俊郎 (2000) マダコ浮遊期幼生の生残と成長に及ぼす飼育水へのナンノクロロプシスの添加効果. 栽培技研, **28**, 13-16.
- Hilomen-Garcia, G. V., R. D. Reyes and C. M. H. Garcia (2003) Tolerance of seahorse *Hippocampus kuda* (Bleeker) juveniles to various salinities. *J. Appl. Ichthyol.*, **19**, 94-98.
- Hjort, J. (1926) Fluctuations in the year classes of important food fishes. *J. cons. Int. Exp. Mer.*, **1**, 5-38.
- Hunter, J. R. (1972) Swimming and feeding behavior of larval fish anchovy *Engraulis mordax*. *Fishery bulttein.*, **70**, 821-838.
- 伊藤 隆 (1960) 輪虫の海水培養と保存について. 三重県立大学水産学部紀要, **3**, 708-740.

- 岩谷芳自・渥美正廣・倉有里恵・佐々木博子（2003）カマキリの種苗生産におけるシオミズツボワムシの高度不飽和脂肪酸強化の効果について. 水産増殖, **51**, 109-115.
- 岩谷厚志・金子 誠・秋山信彦（2013）クロウミウマ *Hippocampus kuda* 稚魚の成長に伴う骨格形成と走光性の変化. 水産増殖, **61**, 145-151.
- Izquierdo, M. S., T. Watanabe, T. Takeuchi, T. Arakawa, and C. Kitajima（1989）Requirement of larval red sea bream *Pagrus major* for essential fatty acid. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1395-1405.
- 神保忠雄・浜崎活幸・芦立昌一（2012）ケガニ幼生の生残，発育および摂餌に及ぼす塩分の影響. 日水誌, **78**, 405-412.
- Jenkins G. P., J. W. Young and T. L. O. Davis（1991）Density Dependence of Larval Growth of a Marine Fish, the Southern Bluefin Tuna, *Thunnus maccoyii*. **48**, 1358-1363.
- Job, S. D., H. H. Do, J. J. Meeuwig and H. J. Hall（2002）Culturing the oceanic seahorse, *Hippocampus kuda*. *Aquaculture*, **214**, 333-341.
- Kanazawa, A., S. Teshima. and M. Sakamoto（1982）Requirements of Essential Fatty Acids for the Larval Ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **48**, 587-590.
- Kawamura, G. and S. Hara（1980）On the visual feeding of milkfish larvae and juveniles in captivity. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1297-1300
- 北島 力・福所邦彦・岩本 浩・山本博敬（1976）マダイ仔稚のシオミズツボワムシ摂餌量. 長崎水試研報, **2**, 105-112.
- 北島 力・林田豪介（1984）トラフグ仔稚魚のワムシおよびアルテミア幼生日間摂餌量. 長崎水試研報, **10**, 41-48.
- 北島 力・耕田隆彦（1976）酵母培養ワムシがマダイ仔魚に与える影響とクロレラの効果. 長崎水試研報, **2**, 113-116.
- Laksanawimol, P., P., Damrongphol and M. Kruatrachue（2006）Alteration of the brood pouch morphology during gestation of male seahorse, *Hippocampus kuda*. *Marine and Freshwater Research*, **57**, 497-502.

- Lin, Q., J. Lu, Y. Gao, L. Shen, J. Cai and J. Luo (2006) The effect of temperature on gonad, embryonic development and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture*, **254**, 701-713.
- Lin, Q., Y. Gao, J. Sheng, Q. Chen, B. Zhang and J. Lu (2007) The effect of food and sum of effective temperature on the embryonic development of the seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture*, **262**, 481-492.
- Lin, Q., J. D. Lin and D. Zhang (2008) Breeding and juvenile culture of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* Perry, 1810. *Aquaculture*, **277**, 287-292
- Lourie, S. A., S. J. Foster, E. W. T. Cooper and A. C. J. Vincent (2004) A guide to the identification of seahorses. Project seahorse and TRAFFIC North America, p65.
- Maruyama, I., S. Yamamoto, M. Hayashi and O. Murata (2006) Rotifers fed with n-3 highly unsaturated fatty acid-enriched *Chlorella vulgaris* are suitable for the rearing of larval red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture sci.*, **54**, 229-230. (Short paper)
- Mobin, S. M. A., K. Kanai and K. Yoshikoshi (2001) Effects of feeding levels on the pathological alterations in the digestive system of larvae and juveniles of red sea bream *Pagrus major*. *J. Aquat. Anim. health.* **13**, 202-213.
- 森岡泰三・長倉義智・村上直人・市川 卓・白藤徳夫・福永恭平・渡邊精一 (2009) ハタハタ仔魚の外部栄養への転換, 絶食耐性および絶食が仔魚の遊泳速度に与える影響. 日水誌, **75**, 376-382.
- 成田篤史・柏倉 真・齋藤 寛・岡田喜裕・秋山信彦 (2010) 飼育環境の違いがカサゴ仔魚の摂餌活動と摂餌量および成長に与える影響. 水産増殖, **58**, 289-296.
- 成田篤史・柏倉 真・齋藤 寛・岡田喜裕・秋山信彦 (2011) 飼育環境の違いがカワハギ仔魚の摂餌活動, 摂餌量, 生残および成長に与える影響. 水産増殖, **59**, 551-561.
- Nishimura, M., M. Shimokawara, T. Watanabe and K. Mizuno (2006) Efficient GC / MS analysis of hydroxyl lipid compounds from geochemical samples using tertiary-butyldimethylsilyl etherification. *Organic Geochemistry*, **37**, 1019-1035

- 岡内正典・尾城 隆・北村章二・辻ヶ堂諦・福所邦彦 (1980) クロダイ仔稚魚の日間ワムシ摂餌量. 養殖研報, **1**, 39-45.
- Oozeki, Y. and H. Zenitani (1996) Factors affecting the recent growth of Japanese sardine larvae (*Sardinops melanostictus*). In Survival strategies in early life stages of marine resources. Edited by Y. Watanabe, Y. Yamashita, and Y. Oozeki. A.A. Balkema Publishers, Rotterdam, Netherlands. pp. 95–104.
- Roos, G., H. Leysen, S. V. Wassenbergh, A. Herrel, P. Jacobs, M. Dierick, P. Aerts and D. Adriaens (2009) Linking morphology and motion: A test of a four-bar mechanism in seahorses. *Physiological and Biochemical Zoology*, **82**, 7-19.
- Rosenthal, H and G. Hempel (1970) Experimental studies in feeding and food requirements of herring larvae (*Clupea harengus*) . In “Marine Food Chains”. (ed. by J. H. Steele) University of California, Los Angels, USA, pp.344-364.
- Sabate, D. L. S. F., Y. Sakakura, M. Shiozaki and A. Hagiwara (2009) Onset and development of aggressive behavior in the early life stages of the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture*, **290**, 97-103
- Scarratt, A. M (1995) Techniques for raising lined seahorses (*Hippocampus erectus*) . *Aquarium Frontiers*, **3**, 24-29.
- 瀬能 宏 (2000) 日本産魚類検索 全種の同定 第2版 (中坊徹治編), 東海大学出版, 東京, pp.512-536.
- 隅田征三郎・尾脇満雄・浦田勝喜 (1974) マダイ・イシダイ仔魚の飼育過程での大量へい死について. 昭和 48 年度熊本水試事業報告書, 373-382.
- 竹内俊郎 (1991) 魚類における必須脂肪酸要求の多様性. 化学と生物, **29**, 571-580.
- 竹内俊郎・石崎靖朗・渡邊 武・今泉圭之輔・清水 健 (1998) DHA含量が異なるワムシを摂餌したブリ仔稚魚のアルテミア摂餌期におけるDHA要求. 日水誌, **64**, 270-275

- 田中庸介・久門一紀・樋口健太郎・江場岳史・西 明文・二階堂英城・塩澤 聡 (2010)
小型水槽飼育におけるクロマグロ仔魚の初期生残の向上. 水産技術, **3**, 17-20.
- Van, L. K. J.W., B. Dzyuba, A. Cliffe, H. J. Koldewey and W. V. Holt (2007) Dimorphic sperm and the unlikely route to fertilization in the yellow seahorse. *J. Exper. Biol.*, **210**, 432-437.
- Van, W. S. and P. Aerts (2008) Rapid pivot feeding in pipefish: flow effects on prey and evaluation of simple dynamic modeling via computational fluid dynamics. *J. R. Soc. Interface*, **5**, 1291-1301.
- Van, W.S., G. Roos, A. Genbrugge, H. Leysen and P. Aerts, D. Adriaens and A. Herrel (2009) Suction is kids play: extremely fast suction in newborn seahorses. *Biol. Lett.*, **5**, 200-203.
- Vincent, A. C. J. (1996) The international trade in seahorse TRAFFIC International. Cambridge. pp. 162-163
- 和漢薬寄稿グループ (2007) 生薬探訪シリーズ (42) 海馬と海竜をめぐる. 和漢薬, **652**, pp.11-13.
- 渡辺 武・北島 力・荒川敏久・福所邦彦・藤田矢郎 (1978) 脂肪酸組成からみたシオミズツボワムシの栄養価. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **44**, 1109-1114.
- 渡辺 武 (1982) 魚の必要脂肪酸と種苗生産. 油化学, **31**, 77-90.
- Watanabe, T., T. Arakawa, T. Takeuchi and S. Satoh (1989) Comparison between Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids in Terms of Essential Fatty Acid Efficiency in Juvenile Striped Jack *Pseudocaranx dentex*. *Nippon suisan gakkaishi*, **55**, 1989-1995.
- Webb, P. W. (1978) Hydrodynamics: nonscombroid fish. In *Fish Physiology*, vol. 7 (ed. W. S. Hoar & D. J. Randall) New York, London: Academic Press. pp. 189-237
- Whittington, C. M., K. Musolf, S. Sommer and A. B. Wilson (2013) Behavioural cues of reproductive status in seahorses *Hippocampus abdominalis*. *Journal of fish biology*, **83**, 220-226

- Woods, C. M.C. (2000a) Preliminary observations on breeding and rearing the seahorse *Hippocampus abdominalis* (Teleostei: Syngnathidae) in captivity. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, **34**, 475-485.
- 山本章造・藤井義弘・村田 守 (2003) アユ仔魚の摂餌の日周変化と成長にともなう日間摂餌量の変化. *水産増殖*, **51**, 73-80.
- 安永義暢 (1971) ヒラメ稚仔の摂餌生態と成長. *東海水研報*. **68**, 31-43.
- 與世田兼三・浅見公雄・福本麻衣子・高井 良・黒川優子・川合真一郎 (2003) サイズの異なる2タイプのワムシがスジアラ仔魚の初期摂餌と初期生残に及ぼす影響. *水産増殖*, **51**, 101-108.
- 吉松隆夫・林 雅弘・戸田享次・古市政幸・北島 力 (1995) メナダ仔魚の必須脂肪酸要求と飼育槽へのナンノクロロプシスの添加効果. *日水誌*, **61**, 912-918.
- 全国湖沼河川養殖研究会・アユ初期飼料研究部会 (1999) アユ種苗生産マニュアル. p3.

表 1 各水温条件における日間摂餌量と増肉係数（1回目）

	水温 (°C)			
	20	24	28	32
日間摂餌量 (g)	6.00	8.36	7.68	6.37
増肉係数	5.81	5.15	7.72	111.1

表 2 各水温条件における日間摂餌量と増肉係数（2回目）

	水温 (°C)			
	20	24	28	32
日間摂餌量 (g)	5.00	5.87	6.11	6.37
増肉係数	4.15	3.62	15.4	118.6

表 3 水温条件別の稚魚の日間摂餌量の分散分析結果

	変動要因	変動	自由度	分散	F値	P値
1回目	群間	44.0	3	14.6	6.1	<0.05
	誤差	105.9	44	2.4		
	全体	149.9	47			
2回目	群間	30.3	3	10.1	2.28	0.08
	誤差	476.8	108	4.4		
	全体	507.1	111			

表4 異なる餌料密度（1個体 / ml, 10個体 / ml, 50個体 / ml, 100個体 / ml, 200個体 / ml）条件下での15日間飼育したときのクロウミウマ稚魚の体長の比較

餌料密度 (個体 / ml)	体長 (mm)		
	No.1	No.2	No.3
1 個体 / ml	13.35 ± 0.87(4)	13.16 ± 0.14(4)	13.08 ± 1.10(4)
10 個体 / ml	15.12 ± 0.45(7)	15.33 ± 0.43(8)	15.44 ± 0.44(7)
50 個体 / ml	15.10 ± 0.52(9)	15.45 ± 0.59(8)	15.12 ± 0.63(8)
100 個体 / ml	15.78 ± 0.53(6)	15.75 ± 0.82(6)	15.63 ± 0.91(6)
200 個体 / ml	17.03 ± 0.29(5)	16.96 ± 0.34(4)	16.91 ± 0.13(5)

表中の数値は平均値 ± 標準偏差で()内はデータ数を示す。

No.1～3はビーカー番号を示す。

開始時の体長：7.01 ± 0.29(mm)

表5 異なる餌料密度（1個体 / ml, 10個体 / ml, 50個体 / ml, 100個体 / ml, 200個体 / ml）条件下での15日間飼育したときのクロウミウマ稚魚の体重の比較

餌料密度 (個体 / ml)	体重(mg)		
	No.1	No.2	No.3
1 個体 / ml	7.5±1.7(4)	8.2±1.6(4)	9.8±1.3(4)
10 個体 / ml	9.8±1.8(7)	7.8±3.7(8)	13.2±4.0(7)
50 個体 / ml	13.5±3.4(9)	12.9±3.1(8)	12.9±2.6(8)
100 個体 / ml	16.9±1.2(6)	16.4±3.4(6)	15.6±4.7(6)
200 個体 / ml	22.3±4.6(5)	22.9±5.5(4)	20.6±5.3(5)

表中の数値は平均値±標準偏差で()内はデータ数を示す。

No.1～3はビーカー番号を示す。

開始時の体重：2.5±0.3(mg)

表 6 異なる栄養状態のワムシをクロウミウマ稚魚に与えた場合の生残率の分散分析結果

1回目	変動要因	変動	自由度	分散	F値	P値
No.1	群間	6.6	2	3.3	34.7	<0.05
	誤差	23.6	249	0.1		
	全体	30.1	251			
No.2	群間	4.9	2	2.5	16.2	<0.05
	誤差	37.8	249	0.2		
	全体	42.8	251			
No.3	群間	11.3	2	5.7	53.2	<0.05
	誤差	26.5	249	0.1		
	全体	37.8	251			
2回目	変動要因	変動	自由度	分散	F値	P値
No.1	群間	18.9	2	9.4	41.9	<0.05
	誤差	56.1	249	0.2		
	全体	30.1	251			
No.2	群間	14.9	2	7.4	26.7	<0.05
	誤差	69.4	249	0.3		
	全体	84.3	251			
No.3	群間	8.0	2	4.0	15.8	<0.05
	誤差	63.2	249	0.3		
	全体	71.2	251			
3回目	変動要因	変動	自由度	分散	F値	P値
No.1	群間	7.3	2	3.6	41.9	<0.05
	誤差	65.7	249	0.3		
	全体	72.9	251			
No.2	群間	14.9	2	7.4	26.7	<0.05
	誤差	69.4	249	0.3		
	全体	84.3	251			
No.3	群間	8.0	2	4.0	15.8	<0.05
	誤差	63.2	249	0.3		
	全体	71.2	251			
4回目	変動要因	変動	自由度	分散	F値	P値
No.1	群間	37.1	2	18.5	135.0	<0.05
	誤差	34.2	249	0.1		
	全体	71.2	251			
No.2	群間	22.1	2	11.1	76.1	<0.05
	誤差	36.2	249	0.1		
	全体	58.3	251			
No.3	群間	16.8	2	8.4	82.3	<0.05
	誤差	25.4	249	0.1		
	全体	42.3	251			

No.1～3はビーカー番号を示す。

表7 飼育水へのクロレラの有無がクロウミウマ稚魚の生残率へ及ぼす影響の分散分析結果

1回目	変動要因	変動	自由度	分散	F値	P値
No.1	群間	11.7	3	3.9	11.5	<0.05
	誤差	63.9	188	0.3		
	全体	75.6	191			
No.2	群間	20.1	3	6.7	19.5	<0.05
	誤差	64.6	188	0.3		
	全体	84.7	191			
No.3	群間	14.2	3	4.7	13.9	<0.05
	誤差	64.3	249	0.3		
	全体	78.6	191			
2回目	変動要因	変動	自由度	分散	F値	P値
No.1	群間	11.5	3	3.8	12.3	<0.05
	誤差	58.9	188	0.3		
	全体	70.4	191			
No.2	群間	20.0	3	6.7	23.4	<0.05
	誤差	53.4	188	0.3		
	全体	73.4	191			
No.3	群間	16.1	3	5.4	18.9	<0.05
	誤差	53.6	188	0.3		
	全体	69.7	191			

No.1～3はビーカー番号を示す。

表 8 12時間～18時間栄養強化したワムシと48時間～60時間未強化ワムシ
およびクロレラの脂肪酸組成

脂肪酸	略号	クロレラ	存在量 (mg / g dry weight)			
			栄養強化ワムシ		未強化ワムシ	
			12h	18h	48h	60h
C14		1.28	1.98	1.53	0.52	0.62
Branched-C15		0.14	0.23	0.29	0.40	0.26
Branched-C15		0.00	0.00	0.05	0.15	0.12
C15		0.12	0.77	0.72	0.35	0.41
C16		43.74	22.05	19.44	5.14	5.77
C16:1 (n-7)		1.35	1.02	0.77	0.60	0.66
C16:1 (n-9)		3.45	1.89	1.78	0.00	0.00
C16:2 (n-6)		31.39	10.16	8.26	0.66	0.92
C16:3 (n-3)		14.13	2.45	1.65	0.44	0.53
Branched-C17		1.50	0.74	0.99	0.46	0.37
C17		0.40	0.47	0.40	0.36	0.38
C18		3.42	3.77	3.58	2.06	2.38
C18:1 (n-9)	OA	2.32	1.31	1.43	0.90	0.94
C18:2 (n-6)	LA	62.03	34.64	29.03	8.56	9.97
C18:3 (n-3)	LNA	35.94	17.35	13.78	4.69	4.84
C19		0.03	0.10	0.10	0.09	0.11
C20		0.28	0.13	0.12	0.04	0.08
C20:1 (n-10)		1.02	0.15	0.12	0.13	0.13
C20:2		0.37	7.96	5.62	2.70	3.58
C20:3		0.51	0.61	0.51	0.41	0.42
C20:4		0.29	1.13	0.85	0.63	0.41
C20:4 (n-6)	ArA	1.02	0.94	0.78	1.17	0.82
C20:5 (n-3)	EPA	34.10	15.81	11.66	3.83	1.41
C22:5 (n-3)	DPA	5.27	4.08	2.89	1.94	0.66
C22:6 (n-3)	DHA	48.53	17.48	12.07	1.72	0.27
飽和脂肪酸		50.91	10.24	27.22	9.57	10.50
不飽和脂肪酸		241.72	116.98	91.20	28.38	25.56
n-3高度不飽和脂肪酸		91.11	48.16	34.50	12.53	7.70
総脂肪酸		296.42	128.87	119.63	38.25	36.18

表9 産出直後の稚魚と栄養強化ワムシ、未強化ワムシを与え、108時間経過した稚魚の脂肪酸組成

脂肪酸	存在量 (mg / g dry weight)						
	1回目			2回目			
	産出直後	108時間後		産出直後	108時間後		
		強化	未強化		強化	未強化	
C14		1.51	0.27	0.29	0.21	0.25	0.19
Branched-C15		0.17	0.04	0.03	0.00	0.00	0.00
Branched-C15		0.05	0.00	0.01	0.00	0.09	0.00
C15		0.58	0.19	0.16	0.11	0.19	0.11
C16		31.87	8.89	9.04	7.04	9.43	6.78
C16:1 (n-7)		5.25	0.56	0.96	0.73	0.41	0.35
C16:1 (n-9)		0.00	0.13	0.00	0.09	0.20	0.09
C16:2 (n-6)		0.24	0.13	0.06	0.11	0.13	0.10
C16:3 (n-3)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	0.00
Branched-C17		0.51	0.21	0.13	0.29	0.21	0.23
C17		1.38	0.68	0.67	0.50	0.50	0.49
C18		12.31	5.95	6.40	3.68	7.10	5.78
C18:1 (n-9)	OA	3.62	1.04	1.08	0.96	1.06	0.89
C18:2 (n-6)	LA	1.17	3.49	0.99	0.78	6.42	0.99
C18:3 (n-3)	LNA	12.94	5.20	5.59	3.74	5.31	4.45
C19		0.24	0.12	0.13	0.96	0.18	0.88
C20		0.30	0.13	0.16	0.10	0.18	0.15
C20:1 (n-10)		0.09	0.04	0.04	0.09	0.12	0.10
C20:2		0.46	0.54	0.21	0.28	1.41	0.18
C20:3		0.06	0.08	0.05	0.08	0.65	0.09
C20:4		0.04	0.03	0.02	0.14	0.22	0.13
C20:4 (n-6)	ArA	2.08	1.10	1.24	1.83	1.73	2.55
C20:5 (n-3)	EPA	7.02	1.55	1.46	1.35	1.59	0.65
C22:5 (n-3)	DPA	5.24	1.73	1.64	1.63	2.35	1.43
C22:6 (n-3)	DHA	24.95	10.89	10.52	6.78	12.75	9.16
飽和脂肪酸		48.92	16.48	17.02	12.89	18.13	14.61
不飽和脂肪酸		63.16	26.51	23.86	18.59	34.65	21.16
n-3高度不飽和脂肪酸		37.21	14.17	13.62	9.76	16.69	11.24
総脂肪酸		112.08	42.99	40.88	31.48	52.78	35.77

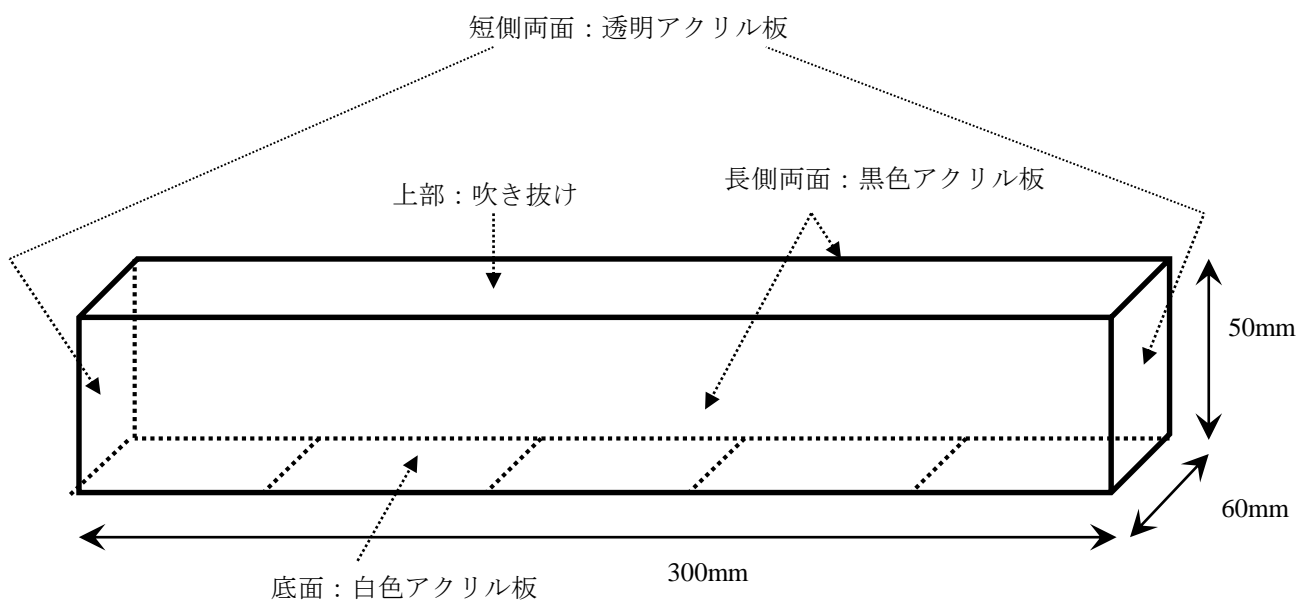


図1 遊泳速度を調べるために用いた容器

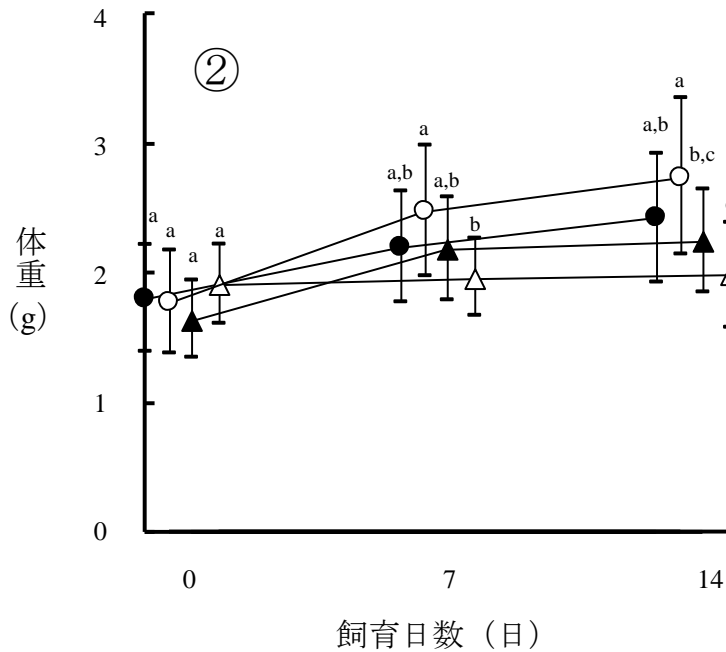
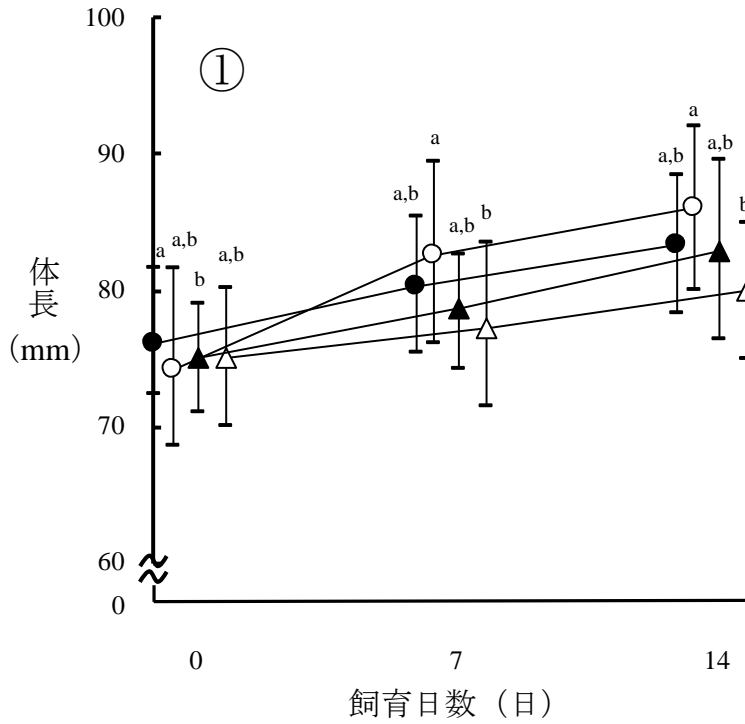


図2 異なる水温条件下で育成したクロウミウマの体長と体重の推移 (1回目)
 異符号：水温条件間でTukey-Kramerによる有意差 ($P < 0.05$) がみられた場合
 ●：20°C, ○：24°C, ▲：28°C, △：32°C；範囲は標準偏差
 ①：体長
 ②：体重

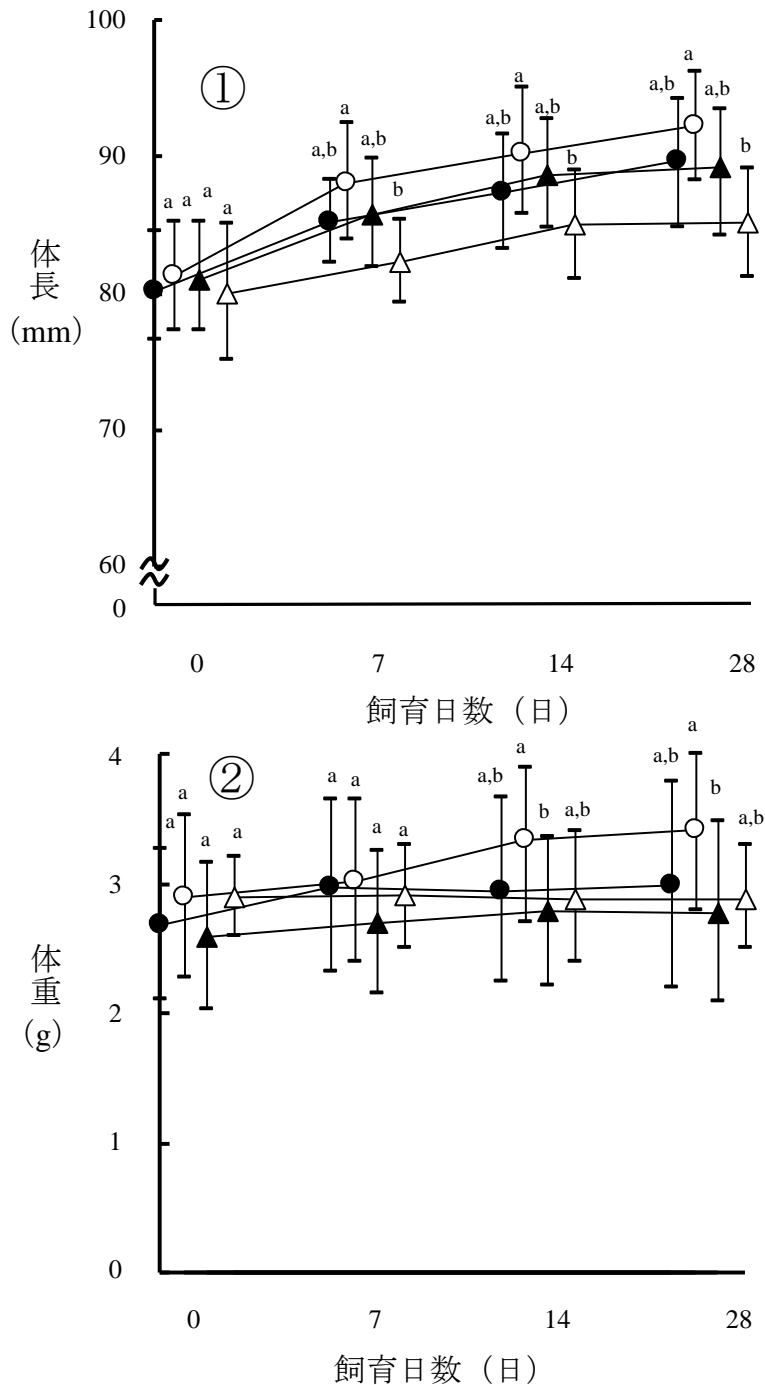


図3 異なる水温条件下で育成したクロウミウマの体長と体重の推移 (2回目)
 異符号: 水温条件間でTukey-Kramerによる有意差 ($P < 0.05$) がみられた場合
 ●: 20°C, ○: 24°C, ▲: 28°C, △: 32°C; 範囲は標準偏差
 ①: 体長
 ②: 体重

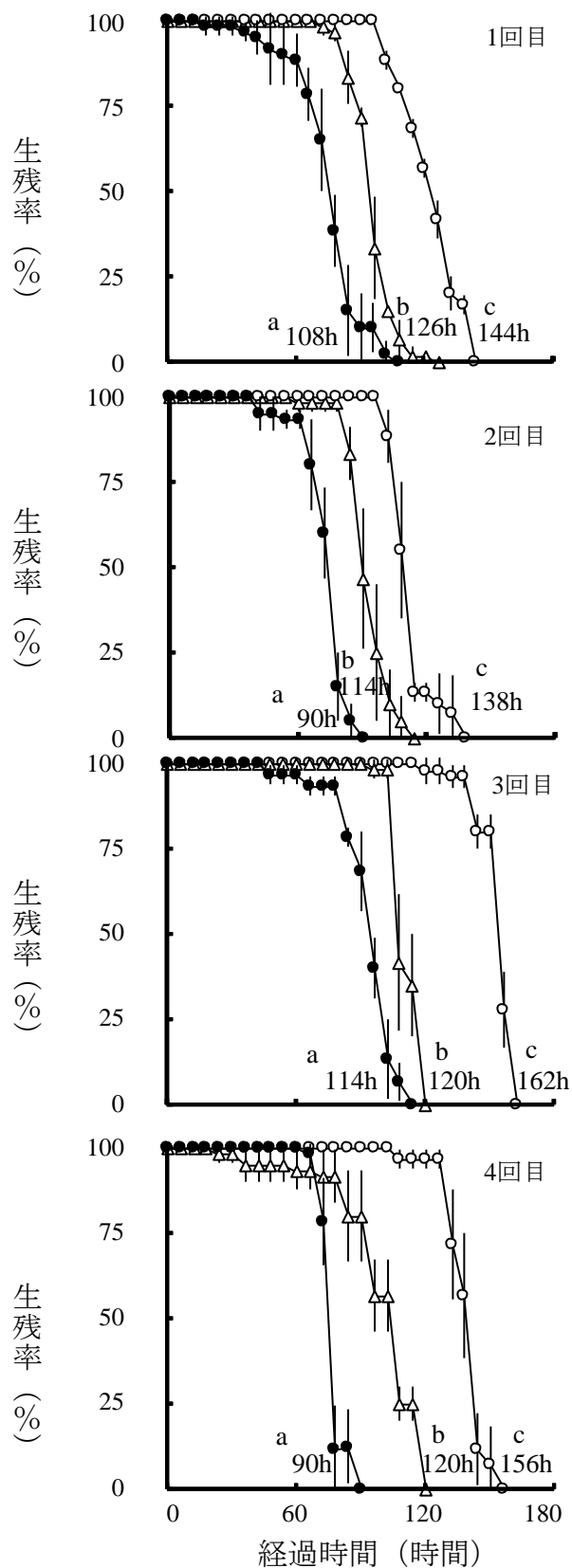


図4 異なる塩分条件 (5psu, 15psu, 30psu) 下でのクロウミウマ稚魚の生存率
 ● : 5psu ○ : 15psu △ : 30psu ; 範囲は標準偏差
 異符号 : 塩分条件間でSteel-Dwassによる有意差 ($P < 0.05$) がみられた場合を示す

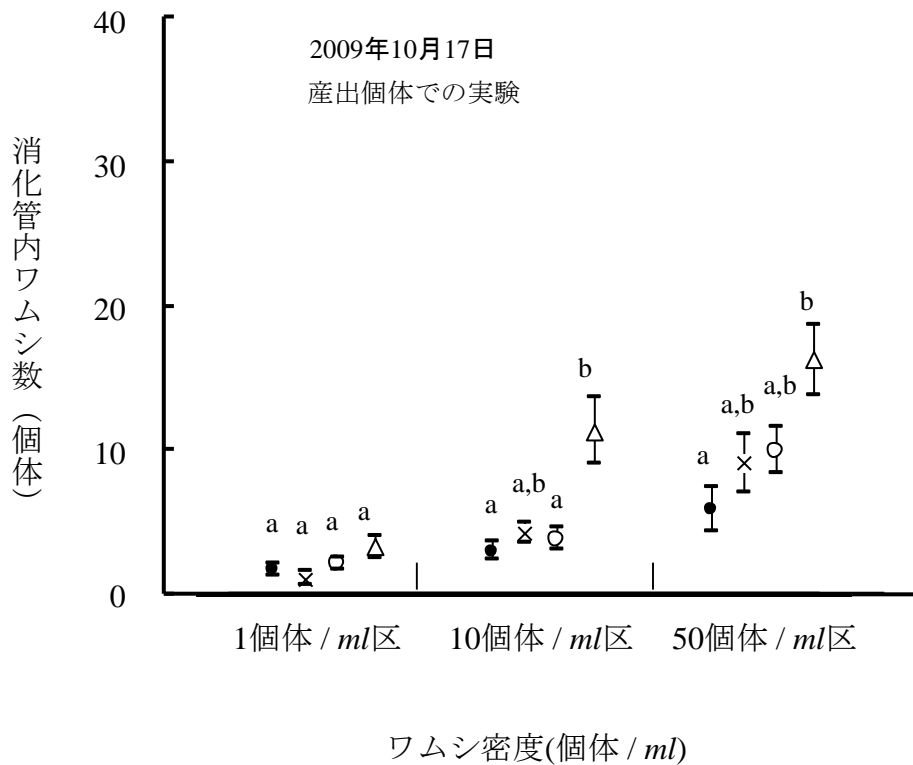


図5 異なるワムシ密度で飼育したときのクロウミウマ稚魚の消化管から摘出されワムシ数の違い

● : 0日齢, × : 3日齢, ○ : 6日齢, △ : 9日齢 ; 範囲は標準偏差
異符号 : 密度条件間でSteel-Dwassによる有意差 ($P < 0.05$)
がみられた場合を示す

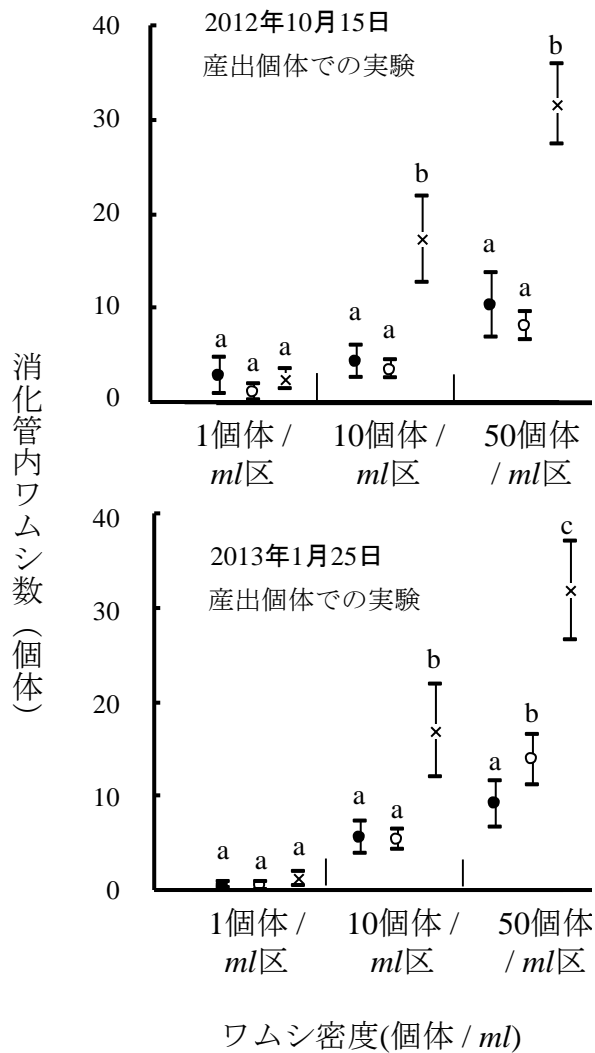


図6 異なるワムシ密度で飼育したときのクロウミウマ稚魚の消化管から抽出されワムシ数の違い
 ● : 0日齢, ○ : 6日齢, × : 12日齢 ; 範囲は標準偏差
 異符号 : 密度条件間でSteel-Dwassによる有意差 ($P < 0.05$) がみられた場合を示す

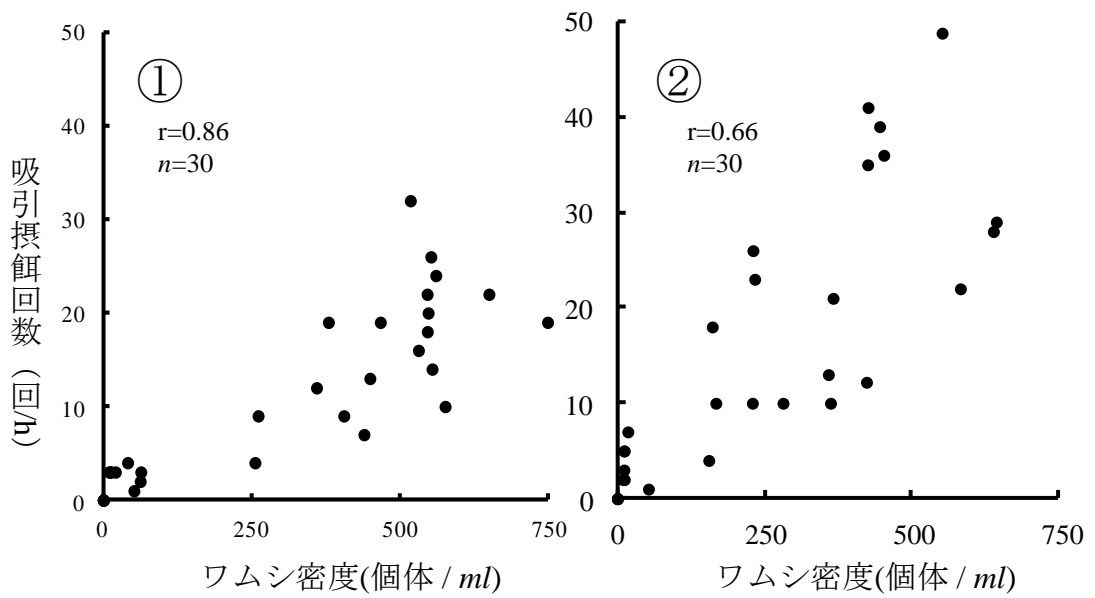


図7 飼育水中のワムシ密度と稚魚の吸引摂餌回数の関係

r は相関係数, n は個体数を表す

① : 0日齢

② : 4日齢

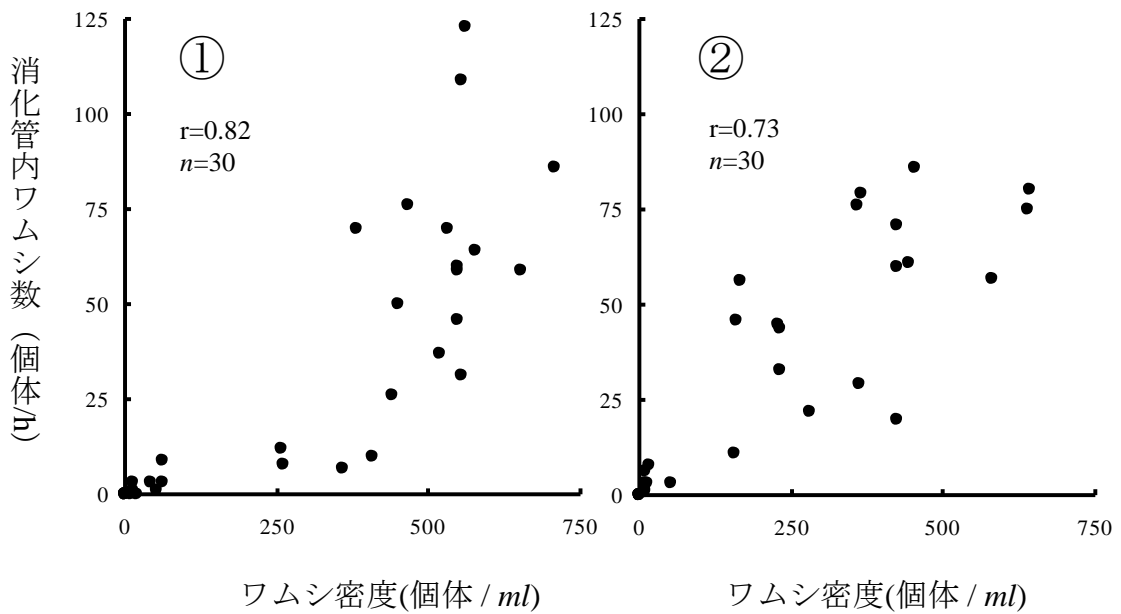


図8 飼育水中のワムシ密度と稚魚の消化管内から抽出されたワムシ数の関係

rは相関係数, nは個体数を表す

① : 0日齢

② : 4日齢

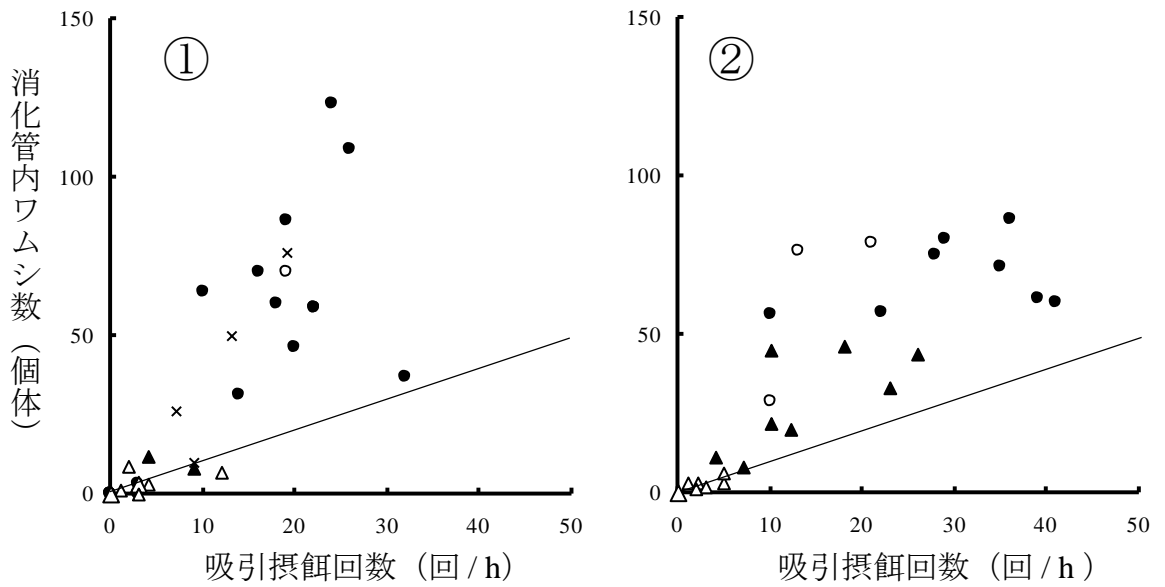


図9 異なる餌料密度条件下での稚魚の吸引摂餌回数と稚魚の消化管内から抽出されたワムシ数の関係

直線は吸引摂餌回数と消化管内ワムシ数が等しい場合を意味する

- △ : 200個体 / ml以下, ▲ : 200~300個体 / ml
- : 300~400個体 / ml, × : 400~500個体 / ml
- : 500個体 / ml以上

① : 0日齢

② : 4日齢

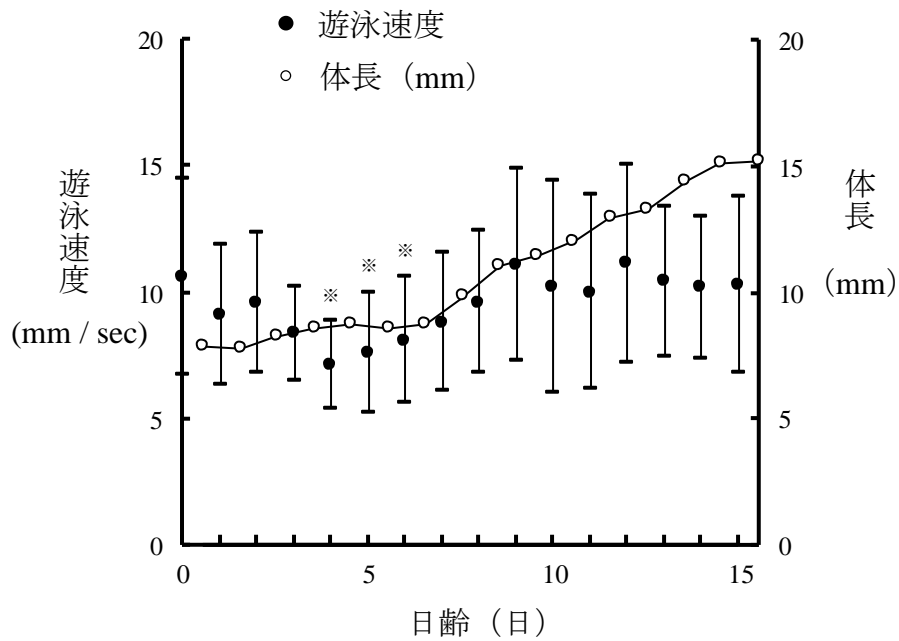


図10 クロウミウマ稚魚の日齢別の遊泳速度の平均値 (n=480)
 ※はDunnet's multiple comparison testで0日齢との間に有意差があったことを示す；範囲は標準偏差

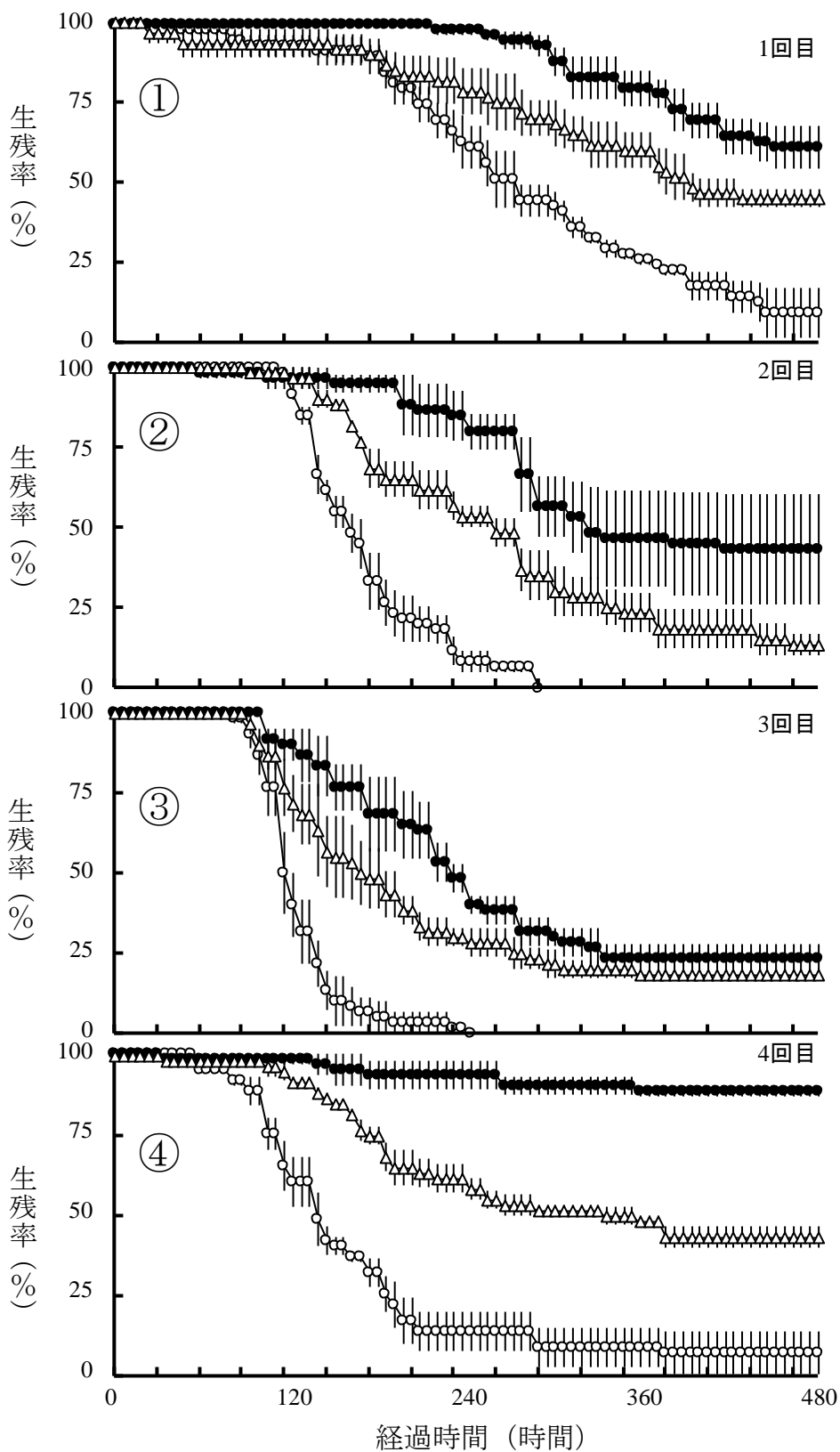


図11 異なる栄養状態のワムシをクロウミウマ稚魚に与えた場合の生存率

○ : 未強化ワムシ △ : 栄養強化ワムシ ● : 栄養強化ワムシ+クロレラ
 範囲は標準誤差

① : 1回目 ③ : 3回目
 ② : 2回目 ④ : 4回目

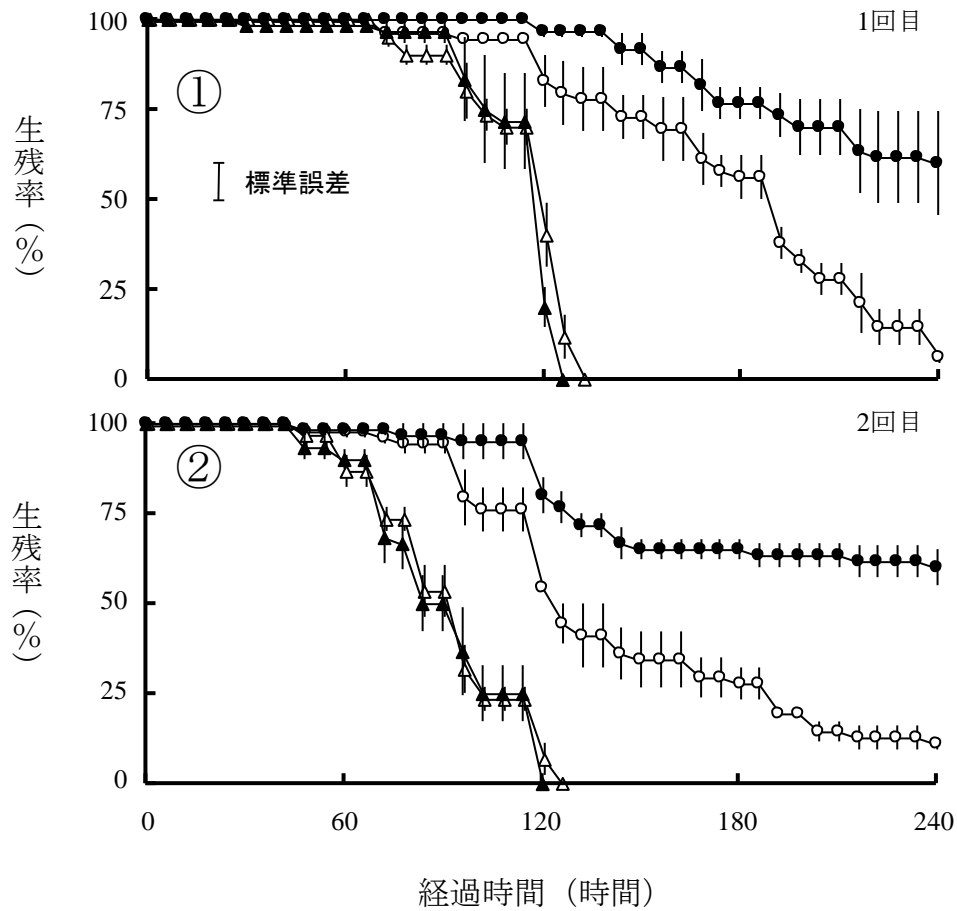


図12 飼育水へのクロレラの有無がクロウミウマ稚魚の生残率へ及ぼす影響

▲ : 無給餌条件, △ : 飼育水にクロレラのみ添加, ○ : 栄養強化ワムシ
 ● : 栄養強化ワムシとともにクロレラを飼育水に入れた場合
 範囲は標準誤差

① : 1回目

② : 2回目

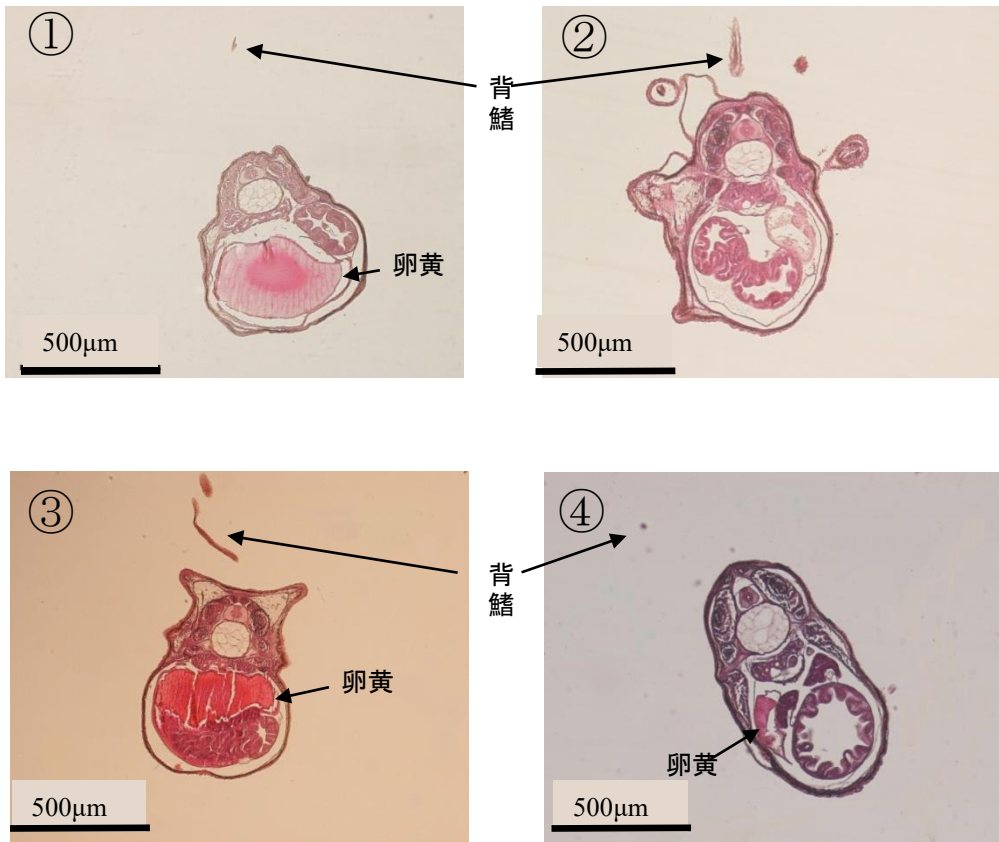


図13 クロウミウマ稚魚における 産出された直後と時間経過した
個体の卵黄の残存状況

- ① : 2008年10月25日産出直後
- ② : 2008年10月25日産出77時間後
- ③ : 2009年1月13日産出直後
- ④ : 2009年1月13日産出60時間後

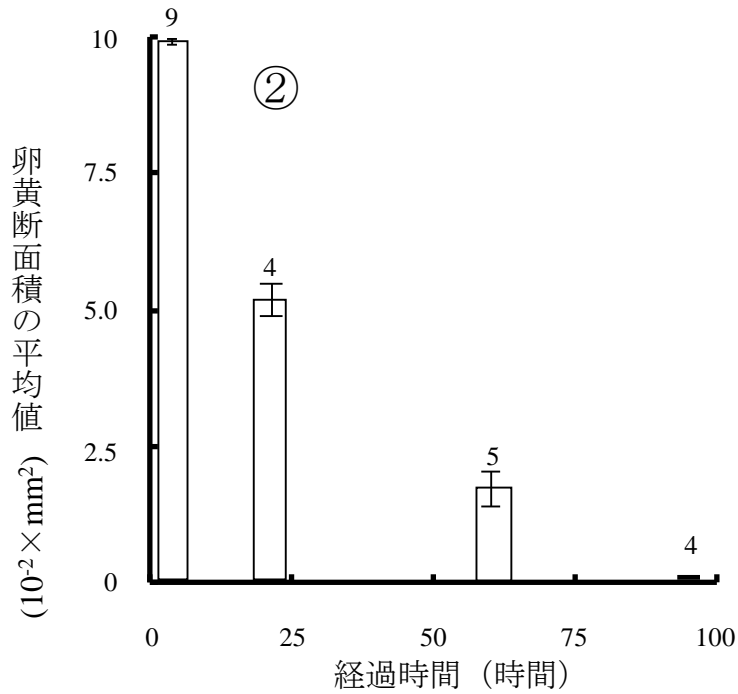
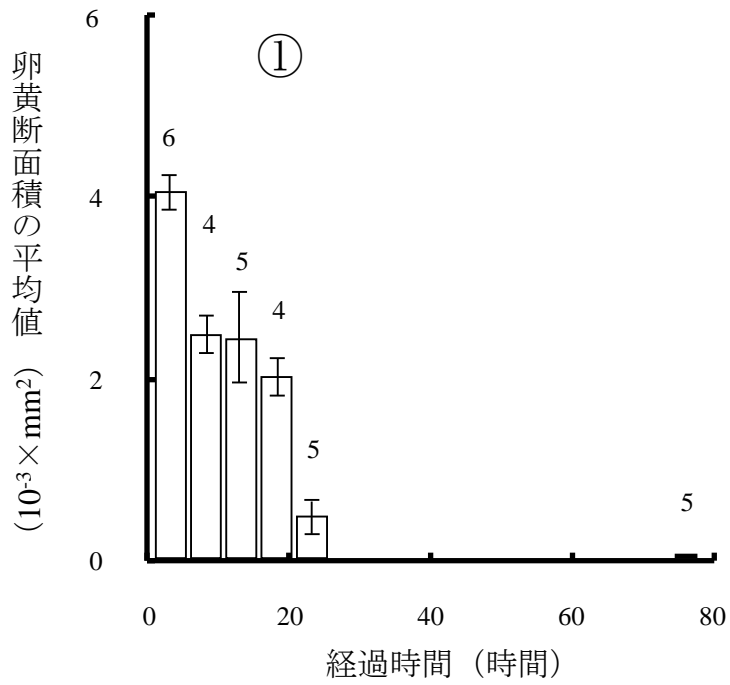


図14 産出直後を起点としたクロウミウマ稚魚における卵黄断面積の経時変化

バーの上の数値は標本数を表し、範囲は標準誤差

① : 2008年10月25日産出

② : 2009年1月13日産出