

# ハタ類3種 (ヤイトハタ *Epinephelus malabaricus*, キジハタ *Epinephelus akaara*, スジアラ *Plectropomus leopardus*) の初期減耗要因の解明に関する研究<sup>\*1</sup>

與世田兼三<sup>\*2</sup>

## Studies on early mass mortality during hatchery rearing of three grouper species, Malabar grouper *Epinephelus malabaricus*, red spotted grouper *Epinephelus akaara*, and leopard coral grouper *Plectropomus leopardus*

Kenzo YOSEDA

**Abstract :** Some grouper species belonging to the genera of *Epinephelus* and *Plectropomus*, studies for aquaculture and stock enhancement in various countries have been undertaken because these species have a high economic importance for fisheries. However, mass-scale rearing of grouper species has not been successful compared to other target aquaculture species such a red sea bream *Pagrus major* and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* owing to an unknown cause of early mass mortality. For this reason, the cause and mechanism of the early mortality during endogenous nutrition and initiation of exogenous nutrition is urgently required to elucidate making improve on early survival under mass-scale rearing.

In the present study, three species of hatchery-reared grouper, Malabar grouper *Epinephelus malabaricus*, red spotted grouper *Epinephelus akaara*, and leopard coral grouper *Plectropomus leopardus* were studied to elucidate the cause of early mass mortality under rearing conditions. The duration of absorption time in endogenous nutrition ranged from 0 to 28 hours after the onset of feeding, but that of the other five target species is longer than grouper and ranged from 43.5 to 90.5 hours. It means that larvae of grouper are characterized by the earliest exhaustion of the endogenous nutrition and for that reason the shortest time leeway to the onset of feeding. Moreover, the negative growth point exactly coincides with the time at which the larvae completely consumed the oil globule in the present study, and they also possess very short periods for resistance of food deprivation from the onset of feeding on 6 hours in the present study. These results indicate that early mass mortality of grouper species occurs due to food deprivation depending on unsuitable rearing environmental conditions related with first-feeding during the period that endogenous reserves still remain and/or immediately after they are exhausted. Based on these results, I conclude here that the most important matter to improve the mass-scale early survival in grouper species is to keep and maintain optimum environmental conditions such a water temperature, photoperiod, aeration, light intensity, and circulation methods in tanks related with the first-

2007年12月13日受理 (Received on December 13, 2007)

\*1 京都大学審査学位論文 (掲載するに際し投稿規定に沿って一部修正した)

\*2 西海区水産研究所石垣支所 〒907-0451 沖縄県石垣市榕海大田148-446 (Ishigaki Tropical Station, Seikai National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, 148-446, Fukaihohta, Ishigaki, Okinawa 907-0451, Japan)

feeding stage during the “critical point”. Such an experimental design and approach demonstrated in the present study is available to clarify the early stage of mortality not only new aquaculture target species but also natural larvae when and why the early mortality occurs.

**Key words :** Hatchery-reared grouper, *Epinephelus malabaricus*, *Epinephelus akaara*, *Plectropomus leopardus*, mass mortality

## 目次

緒言	
第1章	異なる水温と初回摂餌の遅れがヤイトハタ仔魚の摂餌、成長、および生残に及ぼす影響
第2章	初回摂餌の遅れがキジハタ仔魚の摂餌、成長、および生残に及ぼす影響
第3章	異なる水温と初回摂餌の遅れがスジアラ仔魚の摂餌成長、および生残に及ぼす影響
第4章	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
第5章	異なる日周条件がスジアラ仔魚の初期摂餌、初期生残、および消化酵素活性に及ぼす影響
第6章	総合考察：ハタ類の初期減耗の機序
謝辞	
文献	

## 緒言

ハタ科 Serranidae の魚類は温帯、亜熱帯、および熱帯海域に広く分布 (片山, 1984; Randall, 1990; 瀬能, 1993; 益田・小林, 1994) し、中でもマハタ属 *Epinephelus* とスジアラ属 *Plectropomus* に属する幾つかの魚種は経済的な価値が高いことから増養殖に関する数多くの研究が日本のみならず、東南アジアなどの諸外国でも行われてきた。本研究で対象としたハタ類はマハタ属のヤイトハタ *Epinephelus malabaricus* とキジハタ *Epinephelus akaara*、およびスジアラ属のスジアラ *Plectropomus leopardus* の3種である。以下にこれら3種の特徴と研究背景を紹介する。

ヤイトハタはマハタ属の中では全長1m以上に達する大型のハタ類である。本種は西太平洋から西アフリカおよび紅海に分布する (Randall, 1990)。沖縄県で本種は最も重要な養殖対象種の一つとされており (中村ら, 2005)、また、台湾でも積極的に養殖が行われており生産された種苗は東南アジアなどへ輸出されている (Liao *et al.*, 2001)。本種については飼育条件下における自然産卵と初期生活史 (濱本ら, 1986)、

栄養要求 (Chen and Tsai, 1993; Shiau and Lan, 1999; Wu *et al.*, 2002) などに関する研究が行われてきた。

キジハタはマハタ属の中では全長60cm程度の小型種に類別される。本種は青森県以南から瀬戸内海、さらに朝鮮半島南部や中国沿岸域にかけて広く分布する (片山, 1984; 瀬能, 1993; 益田・小林, 1994)。

関西方面ではアコウと称され美味であることから刺身や鍋物の食材として古くから珍重されてきた重要な沿岸漁業資源の1つであるが、近年その漁獲量が激減している (中国四国農政局統計情報部, 2001)。本種は美味で市場での経済価値が高いために、古くから増養殖に関する研究が行われており、これまでに産卵と卵発生および鰭条の発達 (萱野・尾田, 1991; 萱野・水戸, 1993; 鶴川ら, 1996; 萱野, 1996; 萱野ら, 1998; Kusaka *et al.*, 2001; Okumura *et al.*, 2002)、粘液細胞の発達 (Kaji *et al.*, 1995)、種苗生産 (福永ら, 1990; 萱野・丁, 1990; 萱野・何, 1997; Yamaoka *et al.*, 2000)、および資源添加 (萱野ら, 1998; 萱野, 2001; 奥村ら, 2002; 奥村ら, 2003) 等に関する報告がある。

スジアラは、本邦南西諸島から西部オーストラリア、およびインド洋に分布するスジアラ属の魚類である (片山, 1984; Randall, 1990; 瀬能, 1993)。本種は、サンゴ礁域で主に一本釣りや夜間の矛突き漁などによって漁獲され、市場ではハタ類の中で最も高値で取り引きされている重要な沿岸漁業資源の1つである。本種については、水槽内での産卵生態 (照屋ら, 1992; 山本・與世田, 2005)、卵内発生と仔稚魚の形態変化 (Masuma *et al.*, 1993; Dody *et al.*, 2002)、およびワムシに対する仔魚の摂餌選択性 (升間・竹内, 2001) などに関する研究が行われてきた。

上述したように、これらのハタ類3種は経済的な価値が高いために種苗生産あるいは養殖に関する研究が行われてきたが、ハタ類は開口時から10日齢前後に生じる大きな初期減耗が量産化を阻む問題とされてきた (鶴川ら, 1966; Hussain and Higuchi, 1980; 辻ヶ堂・林, 1982; 濱本ら, 1986; 多和田, 1989; Fukuhara, 1989; 北島, 1991; Duray *et al.*, 1996, 1997; 萱野・何, 1997; Toledo *et al.*, 1997; Okumura, 1997; Sawada *et*

al., 1999; Yamaoka *et al.*, 2000; Toledo *et al.*, 2002; 土橋ら, 2003; 照屋, 2003; 照屋・與世田, 2006)。一般的に魚類の仔魚期に生じる大量減耗は初回摂餌と密接に関わっていると推察されている (Lasker, 1962; Blaxter and Hempel, 1963; Laurence, 1973; Wiggins *et al.*, 1985; Kohno *et al.*, 1994; Kohno *et al.*, 1997; Kohno, 1998)。これらの論文では、卵黄と油球を吸収する時間が初期減耗と密接に関与していると考察されている。とりわけ、ハタ類の初期減耗に関しては内部栄養と骨格系の発達 (Kohno *et al.*, 1994; Kohno *et al.*, 1997; Kohno, 1998)、餌サイズ・密度、水温、照度条件 (Toledo *et al.*, 1997, 2002, 2004; 萱野・何, 1997; Yamaoka *et al.*, 2000; 田中ら, 2005; 照屋・與世田, 2006) などの観点から調べられてきた。これらの研究は、ハタ類では内部栄養から外部栄養に切り替わる所謂“critical point”の摂餌状態が生残に大きな影響を及ぼす可能性を示唆している。しかし、ハタ類の種苗生産工程下における初期減耗と密接に関わっていると推察されている内部栄養期の発達過程と初回摂餌を含む外部栄養に切り替わる転換期との関係は明らかにされていない。

本研究では、上述したハタ類3種の内部栄養から外部栄養に切り替わるまでの転換期に焦点を絞って内部栄養の吸収過程を調べた。また、その知見に基づいて、初回摂餌の遅れがハタ類の初期減耗にどのように関与しているかを調べ、ハタ類の減耗機序を解明して、ハタ類の初期生残の向上を目的とした。第1章ではヤイトハタ、第2章ではキジハタ、第3章ではスジアラを例にとって、各魚種の内部栄養の吸収過程と初回摂餌の遅れがその後の仔魚の成長と生残に及ぼす影響を調べた。第4章と第5章ではスジアラを研究材料とし、初期生残を向上させるための実用化試験に取り組んだ。第6章ではこれらの結果を取り纏め、研究対象としたハタ類3種における初期減耗の発現機序と初期生残の向上に関して総合的な考察を行うと共に、今後に残された研究課題について論述した。

## 第1章 異なる水温と初回摂餌の遅れがヤイトハタ *Epinephelus malabaricus* 仔魚の成長に及ぼす影響

ヤイトハタは西太平洋から東アフリカおよび紅海に分布する大型のハタの仲間である (Randall, 1990)。本種は日本では沖縄で (中村ら, 2005)、また、東南アジアでは特に台湾で重要な養殖対象種として位置づけられている (Liao *et al.*, 2001)。沖縄県水産試験場八重山支場では1997年に平均全長35mmで24万尾の種

苗生産に成功しているが (金城ら, 1999)、原因不明の初期減耗によって取り揚げ時の生残率は0.7~18.4%と安定していない。

本章では、ヤイトハタ仔魚の内部栄養から外部栄養に切り替わるまでの栄養転換期に異なる水温での内部栄養の吸収過程を調べ、その結果に基づき、初回摂餌の遅れがその後の仔魚の成長と生残、および回復可能な飢餓耐性に及ぼす影響について調べた。

## 材料と方法

### 親魚と採卵

親魚の養成は沖縄県水産試験場八重山支場で200kL水槽1面を用いて行い、性比不明の18尾 (平均体重20.6kg) を産卵に供した。水温試験と初回摂餌試験の実験に用いた受精卵は、いずれも沖縄県水産試験場八重山支場で養成した親魚から自然産卵で得られたものを供した。本種の水槽内での産卵は18~20時に観察され、産卵自体は約1時間で終息する。自然産卵で得られた卵は、産卵翌朝に回収し、受精卵と未受精卵 (沈卵) に分け、受精卵のみを二重のビニール袋へ海水とともに約10,000粒/Lの密度で収容して純酸素を封入し、20L容量の発泡スチロール箱 (実水量10L) に梱包して(社)日本栽培漁業協会八重山事業場 (現、(独)水産総合研究センター八重山栽培漁業センター; 以下、八重山栽培漁業センター) まで約0.5時間かけて輸送した。

水温試験に用いた受精卵は2001年6月17日に、また、初回摂餌試験に供したものは2002年6月21日に得られたものである。水温試験に供した卵の平均卵径と標準偏差は $923 \pm 17.6 \mu\text{m}$  ( $n=50$ ) であった。これらの受精卵を1kL黒色ポリエチレン水槽3面へそれぞれ25,000粒/kLの密度で収容した。初回摂餌試験では500L黒色ポリエチレン水槽 (サンプリング水槽) 6面へ受精卵をそれぞれ2,1250粒/水槽の密度で、また、試験終了時の生残と成長を調べる100Lポリエチレン水槽6面には1日齢のふ化仔魚をそれぞれ3,339尾ずつ収容した。収容した仔魚の全長と標準偏差は $2.75 \pm 0.07\text{mm}$  ( $n=22$ ) であった。

### 1. 異なる水温条件下でのヤイトハタ仔魚の内部栄養吸収と発育過程

**試験区の設定** 異なる水温における本種仔魚の内部栄養吸収過程を調べるために水温25、28、および31℃の3試験区を設定し、25,000粒の受精卵を1kL水槽3面へそれぞれ収容した。なお、産卵水温と設定水温の温度差があった水温25℃と31℃区の受精卵は10L容量のビニール袋に入れて、1kL水槽へ浮かべ、約1

時間経過後にビニール袋から1 kL 水槽へ海水とともに移した。各試験水槽へ収容後は温度変化を一切与えていない。受精卵収容時の発育ステージは濱本ら(1986)に従うと胚体形成のGステージであった。本試験は50%の個体がふ化した時点から試験を開始し、油球の割合がふ化時と比べて1%未満となった時点で試験終了とした。なお、ここでは50%の仔魚が開口した時間を開口時間と定義し、ふ化後の時間をHAHと略記し、さらに試験開始後の経過時間(HAH)についてはふ化後を基準とした。

**仔魚の飼育方法** 試験は八重山栽培漁業センターで2001年6月17日～6月21日にかけ1 kL ポリエチレン水槽3面を用いて実施した。各試験水槽の上部に60Wの蛍光電球1個を吊るし、いずれの試験区も24時間の恒明条件とした。また、水槽上面あるいは天井部には遮光率99%の寒冷紗を設置し直射日光を遮断した。恒明条件にした理由は光刺激に由来する仔魚の浮上死亡を回避させるためである(Yamaoka *et al.*, 2000)。通気量は微量に調整し、海水の注水量は5～10mL/分で管理した。水温25℃区は2.2kWの冷却機(TC-2200E, 山一製作所)を、また、水温28℃区と31℃区では1 kWのヒーターとサーモスタットを用いて調温した。試験期間中の各区の水温は25℃区が $25.2 \pm 0.6$

℃、28℃区が $28.1 \pm 0.2$ ℃、および30℃区が $31.0 \pm 0.3$ ℃となり、ほぼ設定水温を維持できた。

ヤイトハタ仔魚を安静状態に保ち、飼育水中のワムシの飢餓を防止する目的で、卵収容時から試験終了時まで、市販の濃縮ナンノクロプシス *Nannochloropsis sp.* (メルシャン) を細胞濃度が50万 cells/mLとなるように1日2回(9, 16時)添加した。S型ワムシ *Brachionus rotundiformis* タイ株(以下、ワムシ)はスーパー生クロレラ(クロレラ工業, 1.5L/ワムシ10億個体)で6～22時間の栄養強化後に2日齢の17時に試験水槽へ5～10個体/mLの基準で与えた。3日齢から試験終了までは10時と15時の1日2回飼育水中のワムシ密度を計数後に基準量の不足分を適宜追加した。

**試料の採取と測定** ふ化から試験終了まで2～6時間間隔で試料の採取と測定を行った。各観察時間に採取された各試験区の10尾の仔魚は、m-アミノ安息香酸エチルメタンスルホネート(関東化学)で5～10ppmの濃度にて麻酔後にスライドグラスに移し、画像解析ソフト(Image-Pro Plus, Media Cybernetics社)を用いて全長、卵黄長径、卵黄短径、および油球径を0.1mm単位まで測定した。卵黄と油球の体積はBlaxter and Hempel(1963)に準じ、

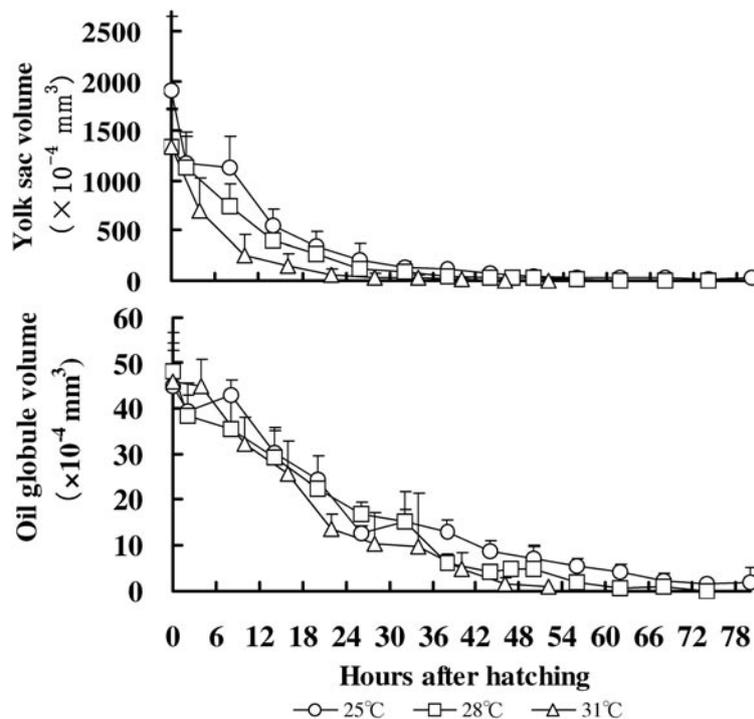


Fig. 1-1. Yolk sac (upper) and oil globule (lower) absorption in Malabar grouper *E. malabaricus* larvae under different temperature conditions. Different symbols and bars indicate the mean value and standard deviation, respectively.

前者は楕円体として  $V = \pi / 6 L H^2$  (Lは卵黄の長径, Hは卵黄の短径), 後者は真円体として  $V = 4/3 \pi r^3$  (rは油球の半径) の計算式で算出した。さらに3つの異なる水温条件における成長関係式は Yoshida (1956) に従い, 以下のように求めた。

$$l_t = l_\infty - (l_\infty - l_0) e^{-at}$$

ここで,  $l_t$  は各日齢の全長,  $t$  はふ化してからの経過時間,  $l_\infty$  は 極限体長,  $l_0$  はふ化直後の全長, および  $a$  値は成長係数を示す。この成長関係式は JMP Ver.5.01a (SAS Institute Inc.) で算出した。

**統計処理** 各試験区間の卵黄と油球の体積および平均全長の差は, 一元配置の分散分析で有意差が認められた場合に限り, 多重比較検定 (Scheffe 法) を用いて有意差の検定を行い, 有意水準は 5% とした。3つの異なる水温条件下での成長係数は  $t$ -test で検定した。

2. 初回摂餌試験

**試験区の設定** 本試験ではサンプリング水槽1面から1~2時間間隔で20尾の仔魚を無作為に採取して開口時間を調べ, 50%の個体が開口した時間(2日齢の19時:0HAMO)を基準として試験を開始した。開口時にワムシを20個体/mLの基準で与える試験区を対照区の1区(Gp. 1)とし, 1区から6時間後に与える2区(Gp. 2), 1区から12時間後に与える3区(Gp. 3), および1区から24時間後に与える4区(Gp. 4)を設けた。一方, 給餌区に対するネガティブコントロールとして無給餌の5区(Gp. 5)を設け, 合計5試験区とした。

6日齢の7時(84HAMO)にサンプリング水槽5区の試験区では全滅に近い状態であったため, その時点で試験終了とし, 100Lポリエチレン水槽の全数計数によって算出した仔魚数を試験終了時の生残尾数とした。なお, 本試験での試験開始後の経過時間(HAMO)については開口時を基準とした。

**飼育方法** 試験は八重山栽培漁業センターで2002年

6月14日~6月18日にかけて室内の100Lポリエチレン水槽10面を用いて実施し, 各試験区は2区ずつ設けた。その他に各試験区のサンプリング水槽として500Lポリエチレン水槽5面を用いた。いずれも水温を28℃に保つためにウォーターバス方式で温度を管理し, 100L水槽群は1-kWのヒーターとサーモスタットを, 500L水槽群はボイラーを用いて調整した。各試験区の水槽上面には遮光率99%の寒冷紗を設置した。水槽中央部に蛍光灯4基8本(36W×8)を2組設置し, 水槽表面で約1,000lx程度の照度が維持できるようにした。これらの蛍光灯を用い, 試験開始から試験終了時まで24時間の恒明条件とした。通気量は微量に調整し, 海水の注水量は5~10mL/分で管理した。ヤイトハタ仔魚を安静状態に保ち, 飼育水中のワムシの飢餓を防止する目的で, 卵収容時から試験終了時まで, DHAとEPAを生体濃縮した淡水クロレラ(スーパー生クロレラV12, クロレラ工業)を細胞濃度が10万cells/mLとなるように1日2回(9,16時)添加した。その他の飼育方法は上述した水温試験に準じた。

**試料の採取と測定方法** 試験を開始した2日齢の19時(0HAMO)から試験終了(84HAMO)まで6時間間隔で試料の採取と測定を行った。各観察時間に採取された各試験区の20尾の仔魚の測定方法は上述した水温試験に準じた。全長を測定した仔魚は, 消化管中のワムシを計数するため, スライドグラスで押しつぶした後, 生物顕微鏡下でワムシの咀嚼器のみを計数して仔魚のワムシ摂餌数を求めた。平均摂餌率は摂餌した仔魚の総数を供試個体で割った値, 平均摂餌数は,  $\sum xi/N$  ( $xi$  は  $i$  番目の個体の摂餌数,  $N$  は観察した仔魚数) で示した。

**統計処理** 各試験区間の平均全長と仔魚1尾当たりの平均摂餌数の差, および生残率は, 一元配置の分散分析で有意差が認められた場合に限り, 多重比較検定 (Scheffe 法) を用いて有意差の検定を行い, 有意水準は 5% とし, 有意差が認められた値についてのみは 1

Table 1-1. Some selected aspects examined of early stage larvae in *E. malabaricus* under different temperature conditions.

Temp. (°C)	Mean total length ± SD (mm)			Mean volume of yolk sac ± SD (×10 <sup>-4</sup> mm <sup>3</sup> )			Mean volume of oil globule ± SD (×10 <sup>-4</sup> mm <sup>3</sup> )			Time (h) from hatching to		
	At hatching	At onset of mouth opening	At onset of feeding	At hatching	Onset of mouth opening	At onset of feeding	At hatching	Onset of mouth opening	At onset of feeding	Onset of mouth opening	Onset of feeding	Exhaustion of endogenous nutrition
25	1.84 ± 0.10 <sup>a</sup>	2.83 ± 0.10 <sup>a</sup>	2.77 ± 0.14 <sup>a</sup>	1,910 ± 742 <sup>a</sup>	30.6 ± 8.7 <sup>a</sup>	25.9 ± 16.5 <sup>a</sup>	44.6 ± 8.3 <sup>a</sup>	5.6 ± 1.5 <sup>a</sup>	2.2 ± 1.6 <sup>a</sup>	56	68	86
28	1.79 ± 0.22 <sup>a</sup>	2.66 ± 0.05 <sup>b</sup>	2.81 ± 0.06 <sup>a</sup>	1,347 ± 377 <sup>a</sup>	23.2 ± 8.7 <sup>ab</sup>	4.9 ± 10.0 <sup>ab</sup>	48.4 ± 7.8 <sup>a</sup>	4.9 ± 1.6 <sup>a</sup>	1.1 ± 1.9 <sup>a</sup>	47	65	74
31	1.71 ± 0.16 <sup>a</sup>	2.67 ± 0.14 <sup>b</sup>	2.72 ± 0.05 <sup>a</sup>	1,336 ± 865 <sup>a</sup>	16.2 ± 9.7 <sup>b</sup>	2.8 ± 3.8 <sup>b</sup>	45.9 ± 10.8 <sup>a</sup>	4.9 ± 3.4 <sup>a</sup>	1.6 ± 1.3 <sup>a</sup>	40	46	52

Mean values in the same column with different superscript are significantly different (P<0.05).

%で再度検定を行った。また、1～4区の各観察時間のワムシ摂餌率の全体平均とワムシ摂餌数の全体平均との相関はスピアマンの順位相関で調べ、有意水準は1%とした。

## 結果

### 1. 異なる水温条件下でのサイトハタ仔魚の内部栄養吸収と発育過程

各試験区のふ化仔魚 ( $n=10$ ) の卵黄と油球体積は25℃区で $1,910 \pm 742$ と $44.6 \pm 8.3 \times 10^{-4} \text{mm}^3$ 、28℃区で

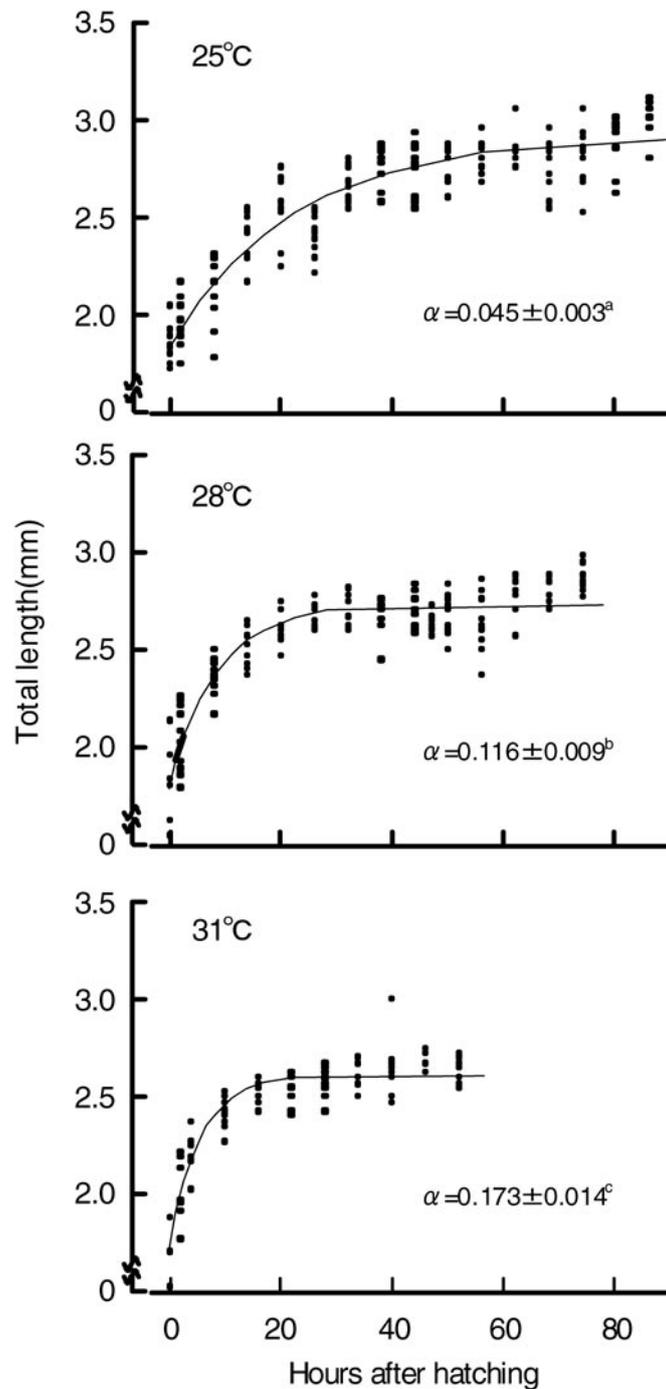


Fig. 1-2. Growth of Malabar grouper *E. malabaricus* larvae from hatching to the time of complete oil globule absorption under different temperature conditions.

は $1,347 \pm 377$ と $48.4 \pm 7.8 \times 10^4 \text{mm}^3$ , および $31^\circ\text{C}$ 区では $1,336 \pm 865$ と $45.9 \pm 10.8 \times 10^4 \text{mm}^3$ であった。仔魚の卵黄体積がふ化時に比べて5%以下まで吸収された時間は水温が最も高い $31^\circ\text{C}$ 区で22HAHと最も早く, ついで $28^\circ\text{C}$ 区で32HAH,  $25^\circ\text{C}$ 区では38HAHと最も遅かった。油球も卵黄と同様な傾向を示し, ふ化時に比べて5%以下まで吸収された時間は $31^\circ\text{C}$ 区で22HAH,  $28^\circ\text{C}$ 区で56HAH, および $25^\circ\text{C}$ 区で68HAHとなり, さらに, 油球が完全に吸収された時間は $31^\circ\text{C}$ 区で52HAH,  $28^\circ\text{C}$ 区で74HAH, および $25^\circ\text{C}$ 区で86HAH

となった。このように, 内部栄養は高水温ほど速やかに吸収される傾向が顕著であった (Fig. 1-1)。仔魚の開口と初回摂餌はそれぞれ,  $25^\circ\text{C}$ 区では56HAHと68HAH,  $28^\circ\text{C}$ 区では47HAHと65HAH, および $31^\circ\text{C}$ 区では40HAHと46HAHに観察された (Table 1-1)。

各試験区のふ化仔魚の卵黄と油球の体積について有意差の検定を行った ( $n=10$ )。卵黄体積の有意差は開口時と初回摂餌時に認められ, いずれも $25^\circ\text{C}$ 区の卵黄体積が $31^\circ\text{C}$ 区よりも有意に大きかった ( $P<0.05$ )。しかし, 油球の体積はふ化時, 開口時, および初回摂

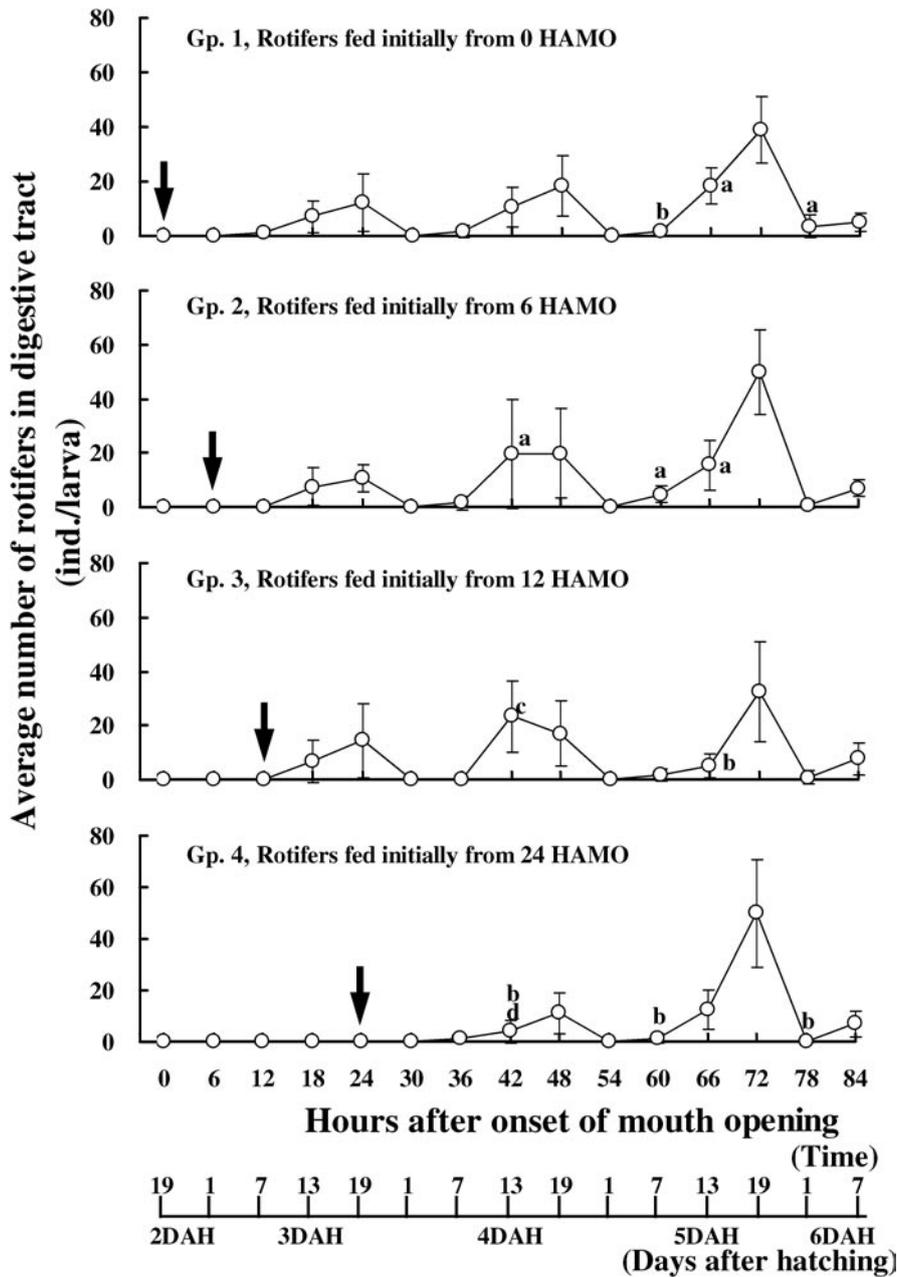


Fig. 1-3. Diel changes in average number of rotifers in the gut of Malabar grouper *E. malabaricus* larvae between Gp. 1 and Gp. 4. Negative control of Gp. 5 is starved. Closed arrows indicate time of first-feeding.

餌時のいずれにおいても試験区間の有意差はなかった ( $P > 0.05$ , Table 1-1)。

一方, Yoshida (1956) に従い, ふ化から油球を完全に吸収するまでの成長を調べたところ, 成長係数  $a$  値は水温25℃区で  $a = 0.045 \pm 0.003$ , 28℃区で  $a = 0.116 \pm 0.009$ , および31℃区で  $a = 0.173 \pm 0.014$  となり, 高水温ほど成長係数が有意に高くなった ( $P < 0.05$ , Fig. 1-2)。しかし, 開口時の全長のみは, 水温が最も低い25℃区が他の2試験区よりも有意に大きかった ( $P < 0.05$ , Table 1-1)。

## 2. 初回摂餌試験

**ヤイトハタ仔魚のワムシ摂餌率の推移** 5区を除く試験期間中の各試験区の平均摂餌率を調べたところ, 1区は66.1%, 2区は67.9%, 3区は62.4%, および4区は56.4%となった。1~4区の各観察時間のワムシ摂餌率の全体平均と後述するワムシ摂餌数の全体平均との相関を調べたところ, 両者の間には有意な相関 ( $P < 0.01$ ) があり, ワムシ摂餌率はワムシ平均摂餌数と連動していた。

**仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数の比較** 各試験区間における仔魚1尾当たりの平均摂餌数の

違いを見るために, 有意差の検定を行った。その結果, 42HAMOでは2区が4区よりも有意に ( $P < 0.05$ ), 3区が4区よりも有意に多く摂餌していた ( $P < 0.01$ )。60HAMOでは2区が1区より, および2区が4区よりも有意に多く摂餌していた ( $P < 0.05$ )。66HAMOでは1区と2区がいずれも3区よりも有意に多く摂餌していた ( $P < 0.05$ )。さらに, 78HAMOでは1区が4区よりも有意に多く摂餌していた ( $P < 0.05$ )。このように, 仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数には, 1区~3区が4区に比べて有意に多く摂餌する傾向があった (Fig. 1-3)。

試験期間中における仔魚1尾当たりの平均摂餌数の多寡は各試験区間で上述したように有意差が認められた。しかし, 24時間恒明条件としているにも関わらず, 各試験区の摂餌のピークはいずれも19時に観察され, 摂餌の日内変動は5区を除いて同様なパターンを示した (Fig. 1-3)。

**成長と生残** 試験開始 (0HAMO) から試験終了 (84HAMO) まで, 12時間間隔で各試験区間における平均全長の有意差の検定を行った。有意差は24HAMOから認められ, 3区が4区と5区よりも有意に大きかった ( $P < 0.05$ )。36HAMOから84HAMO

Table 1-2. Results of initial feeding time on mean survival rate and mean total length in malabar grouper *E. malabaricus* larvae at the end of the experiment

Gp. no.	Initial no. (individuals)	Final no. (individuals)	Survival rate (%)	Mean total length $\pm$ SD (mm) at 96 HAMO
1-1	3,339	302	9.0	
1-2	3,339	208	6.2	( $n=23$ )
	6,678	510	7.6	$3.74 \pm 0.24^a$
2-1	3,339	84	2.5	
2-2	3,339	826	24.7	( $n=20$ )
	6,678	910	13.6	$3.71 \pm 0.11^a$
3-1	3,339	79	2.4	
3-2	3,339	259	7.8	( $n=22$ )
	6,678	338	5.1	$3.69 \pm 0.13^a$
4-1	3,339	194	5.8	
4-2	3,339	35	1.0	( $n=20$ )
	6,678	229	3.4	$3.33 \pm 0.18^b$
5-1	3,339	17	0.5	
5-2	3,339	3	0.1	( $n=5^*$ )
	6,678	20	0.3	$2.67 \pm 0.11^c$

HAMO is expressed as hours after mouth opening time. Mean values in the same column with different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

\*, Only five samples were successfully measured due to the weak condition of larvae.

まで1～3区はいずれも4区と5区より有意に大きく ( $P < 0.01$ ), また, 48HAMO から84HAMO までは4区が5区よりも有意に大きかった ( $P < 0.01$ ).

一方, 無給餌とした5区の成長は24HAMO から84HAMO まで負の成長を示し, 試験区の中で最も劣った (Table 1-2, Fig. 1-4)。試験終了時 (96HAMO) の平均生残率は, 1区が7.6%, 2区は13.6%, 3区は5.1%, および4区は3.4%となった。これに対して, 無給餌とした5区では0.3%となり, 各試験区間で有意差は認められなかったものの, 初回摂餌の時間が遅れることによって生残率が低下する傾向が認められた (Table 1-2)。

### 考 察

海産魚類では一般的に仔稚魚の成長を含む発達は水温の上昇に伴って促進されるとされ, 特に変態を伴う魚種の変態サイズはより低い温度で大型化する傾向が見られる (陸谷, 1988; Seikai *et al.*, 1986; 有瀧ら, 2003; Aritaki and Seikai, 2004)。本研究においても開口, 初回摂餌, および内部栄養の吸収などの形態発達は高水温ほど発達が促進された (Fig. 1-1, Table 1-1)。たとえば, 水温25℃区の開口時と初回摂餌時の卵黄体積は水温31℃区のものよりも有意に大きく ( $P < 0.05$ , Table 1-1), 両区の間水温となる28℃区の卵黄と油球の吸収過程は両区の間値を示した (Fig. 1-1)。これらの結果は, 異なる水温条件によって仔魚本来が有する内部栄養の吸収過程が異なることを示しており, すなわち, 内部栄養吸収は水温条件によってコントロールできることを示唆している。

さらに, 仔魚の成長率は高水温ほど有意に高くなるが ( $P < 0.05$ , Fig. 1-2), 逆に, 仔魚の開口時の平均全長は水温25℃区が28℃区と31℃区よりも有意に大きかった (Table 1-1)。他のハタ類の内部栄養吸収に関する論文の中で, チャイロマルハタ *E. coioides* 仔魚の油球の吸収過程は水温のみでなく塩分によっても影響を受けると報告されており (Toledo *et al.*, 2002, Toledo *et al.*, 2004), 仔魚の発育に伴う油球吸収は環境条件によって左右されることを示唆している。今後も飼育条件下のどのような環境要因が仔魚の内部栄養吸収過程に影響を与えているかどうかを検討する必要がある。

内部栄養吸収だけでなく形態発育も高水温ほど早く促進されることは上述したが, 高水温によって促進された発育は本種仔魚の内部栄養吸収の結果から考察すると初期生残の見地からは不利と言わざるを得ない。なぜなら, 高水温によって発育が促進されるとヤイトハタ仔魚は24HAMO に内部栄養を吸収し, 形態的あるいは生理的な変化を伴う外部栄養への転換期がごく僅かとなるからである。本研究では異なる水温条件下での生残率に関しては調査していないが, 水温31℃区の内部栄養が最も早く吸収され, 外部栄養に切り替わるまでの時間がごく僅かの期間という事実からも初期生残の面からは不利であることが十分に予測される。実際, 本種仔魚の量産飼育現場では30℃を超えるような高水温では大量減耗が報告されており (仲盛ら, 2005), この結果は量産飼育を行う上で水温条件が初期生残に関与する大きな要因の一つであることを示唆している。さらに, キジハタ *E. akaara* では低水温で親魚管理をすると, 卵径と仔魚のサイズが大きくなる

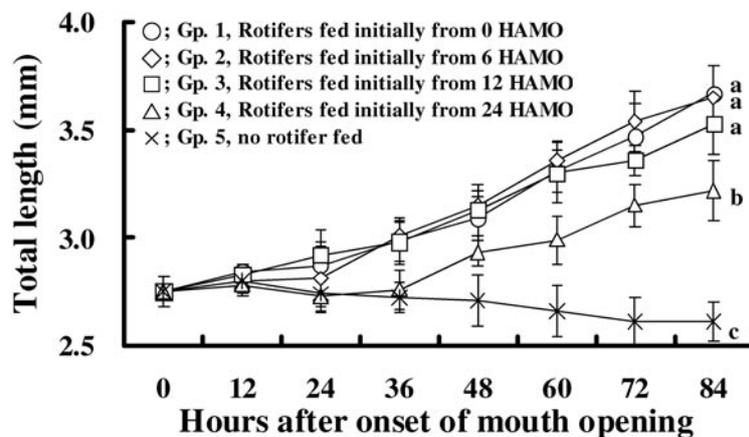


Fig. 1-4. Growth of Malabar grouper *E. malabaricus* larvae under different feeding conditions. Symbols indicate the mean values of total length.

と報告されており (Okumura, 2003), この事実はハタ類の量産飼育を行う上では重要な意味を持ち, 本種仔魚の水温と初期生残の関係については今後の研究結果を待ちたい。

一方, 熱帯・亜熱帯に生息するヤイトハタとは異なり, 冷水から温水域まで広く分布するイカナゴ *Ammodytes personatus* では水温6.5~15.5°Cの広い水温範囲での発育が可能であり, 内部栄養は水温6.5°Cの条件下では9日齢以降に完全に吸収され, 飢餓状態でも長期間生存することから内部栄養の吸収が本種の初期生残にとっては必ずしも危機的なものではないと結論付けている (Yamashita and Aoyama, 1985)。

イカナゴとは異なり, ヤイトハタのように初回摂餌時にはほぼ内部栄養を吸収し, 初期減耗が大きい魚種では内部栄養の吸収時間と摂餌開始からの回復可能な絶食耐性時間との関係を調べることは, 減耗機序を解明する上で特に重要である。

初回摂餌試験は上述した内部栄養期の発育過程の知見に基づき, 水温28°Cの条件下で初回摂餌の遅れがその後の仔魚の成長と生残に及ぼす影響を調べた。開口時から0, 6, および12時間後に給餌した1~3区では摂餌の日内変動と成長に関しては有意な差は認められなかった (Fig. 1-3, 4)。このことは, 開口時から12HAMO までにはほぼ同様な摂餌と成長を示すこと示唆している。しかし, 24HAMO にワムシを与えた4区の成長は1~3区よりも有意に劣った ( $P < 0.05$ )。試験終了時の生残については試験区間で有意差は認められなかったが, 初回摂餌の時間が最も遅かった4区では他の1~3区の給餌群よりも生残が劣る傾向にあった (Table 1-2)。これに対して, 飢餓状態とした5区の成長は12HAMO から試験終了まで負の成長を示した (Fig. 1-4)。この時間はふ化後の時間に換算すると71HAHに相当し, 上述した異なる水温条件下でのヤイトハタ仔魚の内部栄養吸収と発育過程の結果に準じると油球を完全に吸収した時間 (74HAH) とほぼ一致する。さらに, 3区は5区で負の成長へ転じた24HAMO に給餌しているにも関わらず, 成長と生残が1~3区よりも顕著に劣っていた。Yamashita and Aoyama (1986) はイカナゴの初回摂餌の遅れが生残と成長に及ぼす影響を調べ, 本種では9日齢以前に初回給餌を行った群に比べて12日齢以降に初回給餌を行った群の成長が顕著に劣ったことから, その時間を飢餓に耐えうる回復可能な絶食耐性時間と定義した。本研究ではこの定義に準じ, 対照区よりも成長と生残が顕著に劣るポイントをハタ類の飢餓に耐えうる回復可能な絶食耐性時間と定義する。以下の章では, この定義に準じると, ヤイトハタ仔魚では24HAMO

が飢餓に耐えうる回復可能な絶食耐性時間となる。

イカナゴでは卵黄の吸収時期は生残に対して危機的なものではないとしている (Yamashita and Aoyama, 1985)。しかし, ヤイトハタでは上述したように明らかな“critical point”が存在し, その時間内に初回摂餌に成功するかどうかでその後の成長と生残が大きく左右された。

第4章で述べるように, ハタの仲間のスジアラ *P. leopardus* 仔魚では内部栄養から外部栄養に切り替わる3日齢の摂餌量と5日齢の生残率との間には有意な相関があり, 初回摂餌のタイミングがその後の仔魚の成長と生残に密接に関与しており, 本章の結果と良く一致した。

大西洋ニシン *Clupea harengus* (Blaxter and Hempel, 1963), plaice *Pleuronectes platessa* (Blaxter and Ehrlich, 1974), grunion *Leuresthes tenuis* (May, 1971), イカナゴ *Ammodytes personatus* (Yamashita and Aoyama, 1986) などの魚種は回復可能な耐性時間がふ化後5日以上あり, 飢餓に対して強い魚種であることが報告されている。これらの魚種は, plaiceを除いて沈性卵あるいは粘着卵でふ化仔魚のサイズが大きく, 冷水性であることなどの特徴を有する。一方, サワラ *Scomberomorus niphonius* 仔魚の回復可能な時間は0~1日とされている (Shoji *et al.* 2002)。Houde (1974) は Lined sole *Achirus lineatus*, bay anchovy *Anchoa mitchilli*, および sea bream *Archosargus rhomboidalis* の3魚種を試験に供し, これらのcritical pointはふ化後2.5~3.5日にあると推察している。このような魚種は浮性卵であり, 比較的暖水域に生息し, ふ化数日間後に大きな減耗が生じるのが特徴である。これらの魚種に比べてヤイトハタの特徴は, 卵径が0.88~0.96mmで亜熱帯あるいは熱帯地域に生息する (濱本ら, 1986)。また, 本種仔魚では負の成長を示すポイントと油球を完全に吸収する時期とがほぼ一致し, 初回摂餌のタイミングと時間がその後の仔魚の成長と生残に大きく影響を与えること, さらに, 仔魚の発育は内部栄養と密接に関与し, 本種仔魚では飢餓に対する耐性が弱いことが明らかになった。さらに, 本試験では初回摂餌の給餌時間が異なり, かつ24時間の恒明条件としたにも関わらず, 給餌群 (1~4区) のワムシ摂餌率とワムシ摂餌数の日内変動はほぼ一致しており (Fig. 1-3), 両者の間には有意な相関が認められた ( $P < 0.01$ )。これは本種仔魚ではかなり初期の段階から摂餌リズムを有することを示唆しており, 自然の日周リズムを考慮すると飢餓に耐えうる回復可能な絶食耐性時間はさらに短縮されることになる。

このため、ヤイトハタの初期生残を向上させるためには、所謂“critical point”の摂餌に関わる最適な飼育条件を整えることが必要であり、とりわけ、ヤイトハタ仔魚では開口24時間以内にスムーズに摂餌させることが安定生産を行う上では特に重要である。

## 第2章 初回摂餌の遅れがキジハタ *Epinephelus akaara* 仔魚の摂餌、成長、および生残に及ぼす影響

キジハタ *E. akaara* はハタ科マハタ属に属し、本属の中では全長60cm程度の小型種に類別される。福永ら(1990)は(社)日本栽培漁業協会玉野事業場(現;(独)水産総合研究センター玉野栽培漁業センター;以下、玉野栽培漁業センター)で1989年に4回の生産で平均全長約30mmの種苗を合計40.3万尾(平均生残率34.1%)生産することに成功した。しかし、それ以降は20万尾以上の量産化に成功した機関はなく、その種苗生産技術の改善は低迷してきた。本種は開口時から10日齢前後に生じる大きな初期減耗、とりわけ開口前後に生じる仔魚の浮上死亡が量産化を阻む問題とされてきた(Okumura, 1997; Yamaoka *et al.*, 2000)。また、萱野・何(1997)は摂餌に成功しなければ不可逆的な死に至る時期、いわゆるPoint of no return (PNR)を特定できなかったものの、開口後の極めて早い時期にPNRが存在すると推察している。

本章では水温26℃の温度条件下での内部栄養の吸収過程を調べ、その結果に基づき、初回摂餌の遅れがその後の仔魚の成長と生残、および飢餓耐性に及ぼす影響について調べた。

### 材料と方法

#### 親魚と採卵

実験に用いた受精卵は、いずれも(独)水産総合研究センター玉野栽培漁業センターで養成した親魚から自然産卵で得られたものを供した。キジハタ仔魚の内部栄養の吸収過程を調べた受精卵は2002年7月30日に、また、初回摂餌試験を調べたものは2003年8月4日に得られたものである。後者で得られた卵の平均卵径と標準偏差は $763 \pm 19.3 \mu\text{m}$  ( $n=50$ )、受精率は37.3%であった。2003年における玉野栽培漁業センターでのキジハタの平均受精率は19.5%であり(津村, 2003)、飼育条件下では受精率が低いのが本種の特徴である。親魚の養成は玉野栽培漁業センターで50kL水槽1面を用いて行い、雌雄の内訳は雌30尾(体重0.3~0.7kg)と雄10尾(体重0.5~0.9kg)であった。

自然産卵で得られた卵は、産卵翌朝に回収し、受精卵と未受精卵(沈卵)に分け、内部栄養の吸収過程を調べた試験では0.5kLポリエチレン水槽1面へ20,000粒/kLの密度で収容した。初回摂餌の試験では、分離した受精卵は二重のビニール袋へ海水とともに10,000粒/Lの密度で収容して純酸素を封入し、20L容量の発泡スチロール箱(実水量10L)に梱包して(独)水産総合研究センター上浦栽培漁業センターまで約8時間かけて輸送した。搬入した受精卵は疾病予防の目的で、0.3ppmのオキシダント海水中で1分間消毒後、500Lアルテミアふ化水槽に収容してふ化を待ち、その水槽で2日齢まで流水(水温23℃、塩分34ppt、流量2.5L/分)で管理した。2日齢に、500Lアルテミアふ化水槽で管理していた仔魚を各試験水槽へ全数計数によって2,500尾ずつ収容した。

#### 1. 水温26℃条件下のキジハタ仔魚の内部栄養吸収と発育過程

**試験区の設定** 本試験は水温26℃における仔魚の内部栄養吸収と発育過程を調べるために実施した。試験は50%の個体がふ化した時点から開始し、油球を完全に吸収した時点で終了とした。なお、開口時間の定義と試験開始後の経過時間については、第1章の内部栄養吸収と発育過程を調べた試験に準じた。

**仔魚の飼育方法** 試験は玉野栽培漁業センターで2002年7月30日~8月3日に実施した。試験水槽の上部に蛍光灯1基(36W)を設置し、24時間の恒明条件とした。通気量は微量に調整し、試験期間中は止水飼育とした。水温は0.5kWのヒーターとサーモスタットを用いて調温し、試験開始時の23.2℃から1日1℃の割合で徐々に加温を行い、設定水温の26℃には仔魚の開口100%時に到達し、試験期間中の水温は $25.2 \pm 0.9^\circ\text{C}$ であった。淡水クロレラ(スーパー生クロレラV12, クロレラ工業)の添加方法、ワムシの給餌基準、およびワムシの栄養強化方法は、第1章の初回摂餌試験に準じた。

**試料の採取と測定方法** ふ化から試験終了まで4時間間隔で試料の採取と測定を行った。各観察時間に採取された各試験区の20尾の仔魚は、m-アミノ安息香酸エチルメタンサルホネート(関東化学)で麻酔後(5~10ppm)にスライドガラスに移し、万能投影機(ニコンV-12)で50倍に拡大し、デジタルノギス(ミットヨ)を用いて全長、卵黄長径、卵黄短径、および油球径を0.1mm単位まで測定した。卵黄と油球の体積測定は、第1章の内部栄養吸収と発育過程を調べた試験に準じた。

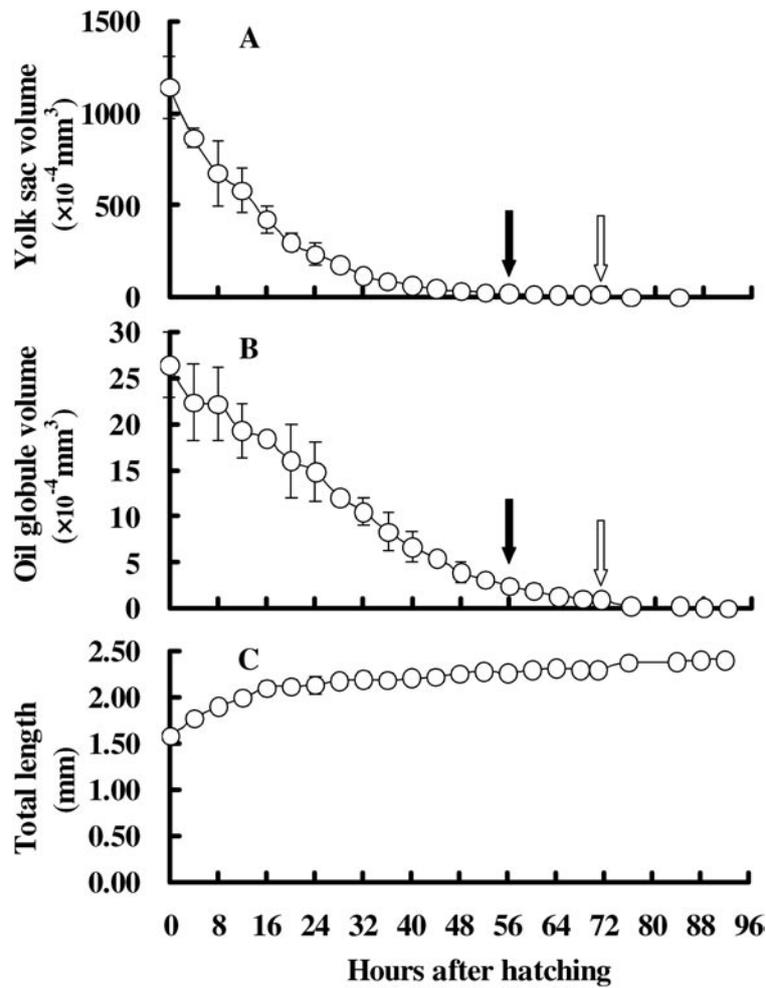


Fig.2-1. A; Yolk absorption in newly hatched larvae of red spotted grouper *E. akaara* at 26°C. Closed and open arrows indicate the onset of mouth opening and feeding, respectively. B; Oil globule absorption in newly hatched larvae of red spotted grouper *E. akaara*. C; Growth in total length of red spotted grouper *E. akaara* larvae from hatching to the end of the experiment.

Table 2-1. Some selected aspects examined of early stage larvae in *E. akaara* at 26°C water temperature condition

Biological aspects	Hatching	Mouth opening	Onset of feeding	Exhaustion of endogenous nutrition
Total length (mm)	1.58 ± 0.03	2.27 ± 0.05	2.30 ± 0.04	—
Volume of yolk sac ( $\times 10^{-4} \text{ mm}^3$ )	1144 ± 168	21.2 ± 4.3	15.4 ± 4.1	—
Volume of oil globule ( $\times 10^{-4} \text{ mm}^3$ )	26.5 ± 3.5	2.4 ± 0.3	1.0 ± 0.5	—
Time from hatching to (hrs)	—	56	71	92
Time from onset of feeding to (hrs)	—	—	—	21

## 2. 初回摂餌試験

**試験区の設定** 第2章と第3章では、生物学的に摂餌が可能となる時間を「摂餌開始」、また、実際に餌を与えられて仔魚が食べ始める時間を「初回摂餌」として区別する。本試験に入る前に摂餌開始の時間を調べるため、試験区とは別に観察専用の水槽(0.5kLポリエチレン水槽)を設け、開口時(3日齢の0時)にワムシを20個体/mLの基準で与え、給餌後は1~2時間間隔でその水槽から約50尾程度の仔魚を採取し、ワムシの摂餌状況を調べた。その結果、3日齢の17時(摂餌開始0時間;0HAOF)に仔魚の摂餌率が50%以上に到達したため、その時間を摂餌開始の時間と定義し、本試験を開始した。摂餌開始の時間に上述した給餌基準でワムシを与える試験区を対照区(1区:Gp. 1)とし、1区から6時間後にワムシを与える区(2区:Gp. 2)、12時間後にワムシを与える区(3区:Gp. 3)、および18時間後にワムシを与える区(4区:Gp. 4)を設けた。一方、給餌区に対するネガティブコントロールとして無給餌区(5区:Gp. 5)の合計5試験区を設定した。6日齢の11時(66HAOF)に5区の試験区では全滅に近い状態であったため、その時点で試験終了とした。2日齢の収容尾数を試験開始の生残尾数とし、また、6日齢の全数計数によって算出した仔魚数を試験終了時の生残尾数とした。本試験での試験開始後の経過時間(HAOF)については摂餌開始時を基準として論じる。

**仔魚の飼育方法** 本試験は上浦栽培漁業センターで2003年8月6日~8月10日に室内の0.5kLポリエチレン水槽10面を用いて実施し、各試験区は2区ずつ設けた。各試験区の水槽上面には遮光率99%の寒冷紗を設置した。水槽中央部に蛍光灯2基(36W×2)を設置し、水槽表面で約2,000lx程度の照度が維持できるようにした。これらの蛍光灯を用い、試験開始から試験終了時まで24時間の恒明条件とした。各試験区の水面上0cmの平均水中照度は1,600~1,800lx、水面下30cmでは710~1,000lxで推移した。試験開始時から試験終了時までの通気量は0.25L/分とし、試験期間中は止水飼育とした。各試験区の溶存酸素は5.91~6.72mg/Lで推移した。水温は0.5kWのヒーターとサーモスタットを用いて調温し、試験開始時(2日齢)の24.4℃から6時間に0.5℃の割合で徐々に加温を行い、設定水温の26℃には3日齢の7時に到達した。3日齢から試験終了までは26℃を維持し、各試験区の平均水温は24.4~26.7℃の範囲で推移した。淡水クロレラ(スーパー生クロレラV12,クロレラ工業)の添加方法、ワムシの給餌基準、およびワムシの栄養強化方法は、第1章の初回摂餌試験に準じた。

**試料の採取と測定方法** 試験開始時から試験終了まで6時間間隔で試料の採取と測定を行った。各観察時間に採取された各試験区の20尾の仔魚の測定、ワムシ摂餌率、および平均摂餌数の算出方法は、第1章の初回摂餌試験に準じた。

**統計処理** 各試験区間の平均全長と仔魚1尾当たりの摂餌数の差、および生残率の検定、並びにワムシ摂餌率とワムシ摂餌数の相関は、第1章の初回摂餌試験に準じた。

## 結果

### 1. 水温26℃条件下のキジハタ仔魚の内部栄養吸収と発育過程

ふ化時の仔魚( $n=20$ )の全長(平均±標準偏差)は $1.58 \pm 0.03$ mm、卵黄と油球体積は $1,144 \pm 168$ mm<sup>3</sup>と $26.5 \pm 3.5 \times 10^{-4}$ mm<sup>3</sup>であった。卵黄が油球よりも早く吸収され、前者は25HAHにふ化時に比べて約75%、44HAHには同様に5%以下まで、さらに76HAHで完全に吸収された(Fig. 2-1-A)。一方、後者は40HAHにふ化時に比べて75%、68HAHには同様に5%以下まで、さらに92HAHで完全に吸収された(Fig. 2-1-B)。

仔魚の開口は56HAH、また、摂餌開始は71HAHに観察され、さらに摂餌開始から油球を完全に吸収するまでの時間は21時間であった(Table 2-1)。仔魚の全長はふ化から12HAHまでは時間当たり0.01~0.03mmの成長率を示したが、それ以降から試験終了までは0.00~0.01mmと緩やかな成長率を示した(Fig. 2-1-C)。

### 2. 初回摂餌試験

**キジハタ仔魚のワムシ摂餌率の推移** 5区を除く給餌開始6時間後の各試験区の平均摂餌率を調べたところ、1区は50%、2区は5%、3区は25%、および4区は45%となった(Fig. 2-2)。1~4区の各観察時間のワムシ摂餌率の全体平均と後述するワムシ摂餌数の全体平均との相関を調べたところ、両者の間には有意な相関( $P < 0.01$ )が認められ、ワムシ摂餌率はワムシ平均摂餌数と連動して変動した。

**仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数の比較** 各試験区間における仔魚1尾当たりの平均摂餌数の違いを見るために、有意差の検定を行った。その結果、30HAOFでは1区が4区に比べて有意に多く( $P < 0.05$ )、同36HAOFでは1区が3区と4区に比べて有意に多く摂餌していた( $P < 0.01$ )。さらに、48HAOFでは1区が2~4区よりも有意に( $P <$

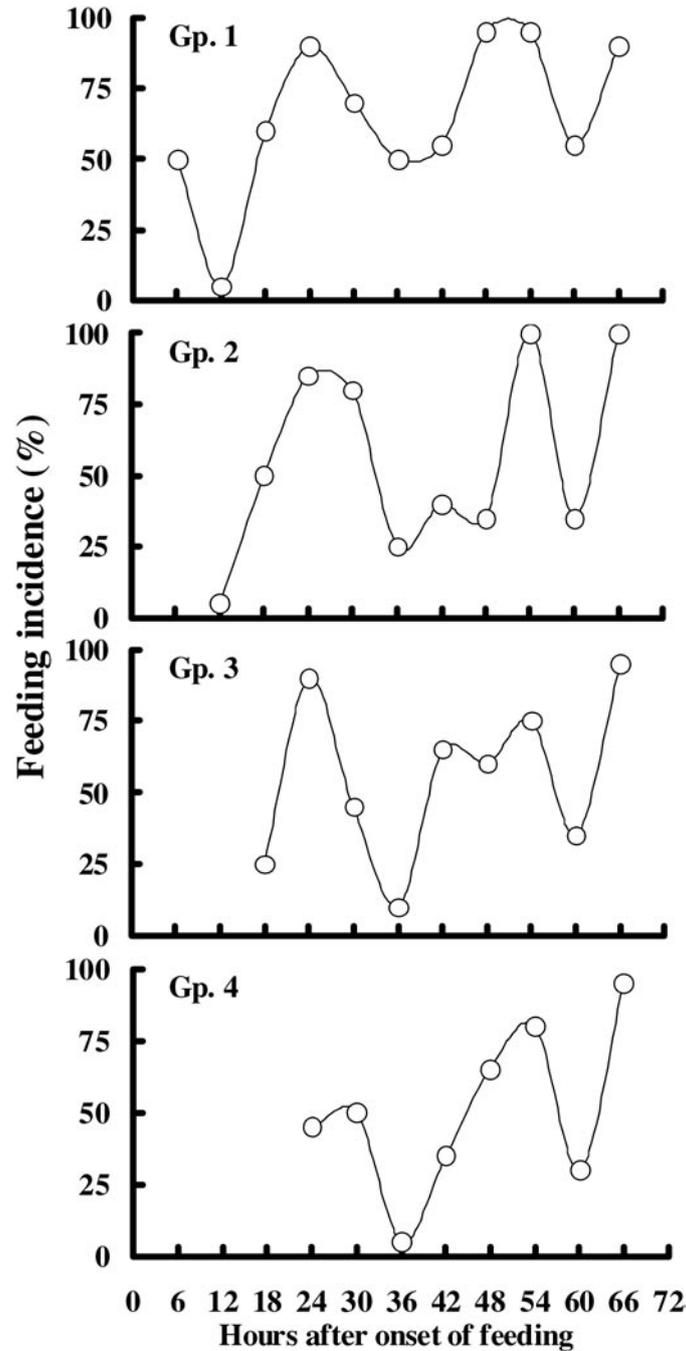


Fig.2-2. Changes in feeding incidence of red spotted grouper *E. akaara* larvae fed rotifers between Gp. 1 and Gp. 4. Negative control of Gp. 5 is starved. Closed arrow indicates the initial feeding.

0.01), 同54HAOFでは, 2区が3区よりも有意に ( $P < 0.01$ ), 2区が4区よりも有意に ( $P < 0.05$ ) 多く摂餌していた。このように, 仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数は, 1区が2区~4区に比べて有意に多く摂餌する傾向があった (Fig. 2-3)。

試験期間中における仔魚1尾当たりの平均摂餌数の

多寡は各試験区間で上述したように有意差が認められたが, そのピークはいずれも17~23時に観察され, また, 摂餌の日内変動は各試験区間で同様なパターンを示した。

**成長と生残** 試験開始時と試験終了時 (66HAOF) の各試験区間における平均全長の有意差の検定を行っ

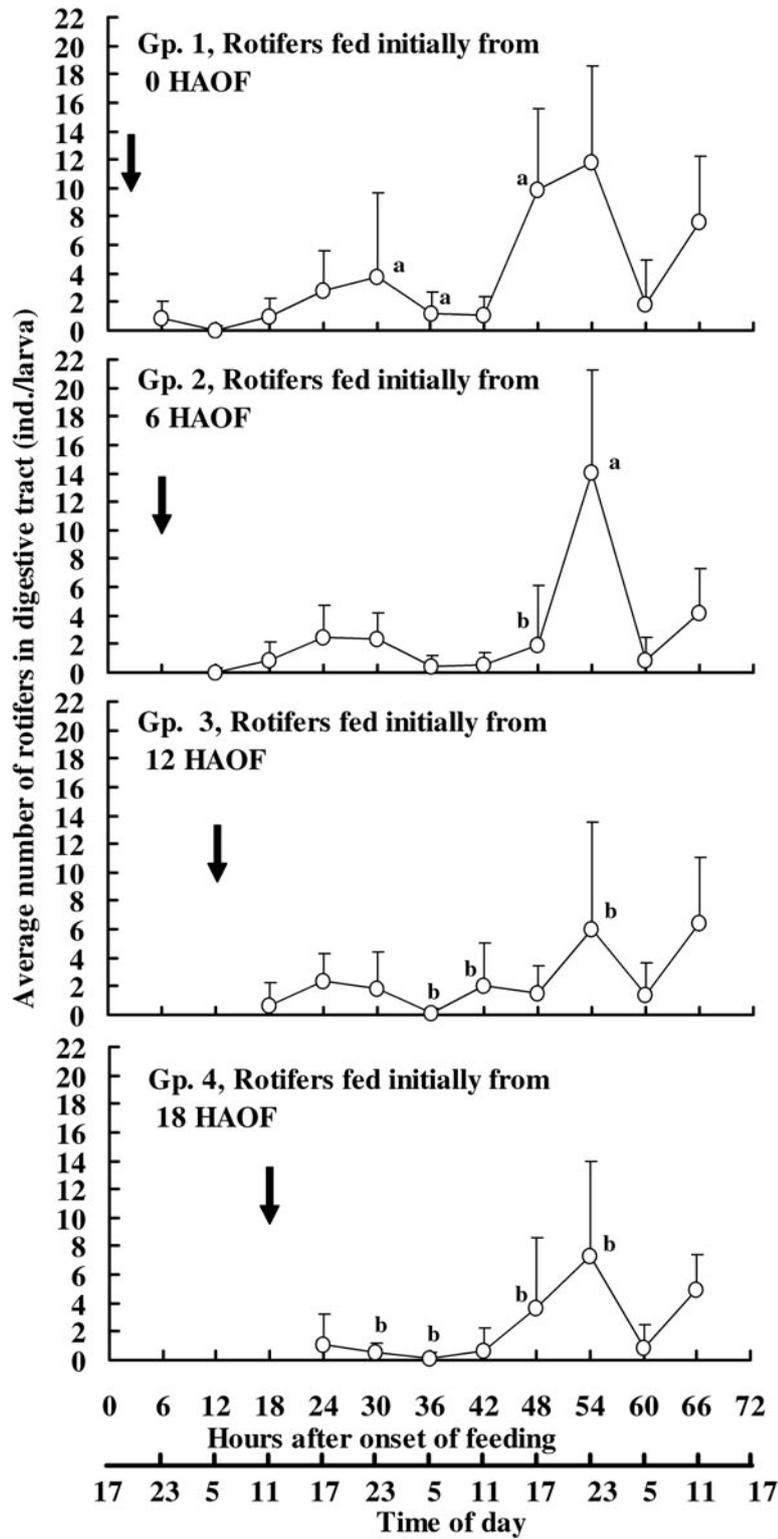


Fig.2-3. Diel changes in average number of rotifer in the gut of red spotted grouper *E.akaara* larvae between Gp. 1 and Gp. 4. Negative control of No.5 is starved. Closed arrow and bars indicate the initial feeding and standard deviation, respectively. Different letters represent significant difference among Gp.1-4 (One-way ANOVA, shceff' s test, a>b).

たところ、前者では各試験区間で有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。しかし、後者では、1区が2区よりも有意に ( $P < 0.01$ )、また、1区が3区よりも有意に ( $P < 0.05$ )、さらに1区が4区よりも有意に大きかった ( $P < 0.01$ , Table 2-2)。一方、無給餌とした5区の成長は12HAOFを境として試験終了まで負の成長を示し、試験区の中で最も劣った (Fig. 2-4)。試験終了時 (66HAOF) の平均生残率は、1区が20.3%、2区は6.3%、3区は7.9%、および4区は2.6%となった。これに対して、無給餌とした5区では0.1%となり、各試験区間で有意差は認められなかったものの、初回摂餌の時間が遅れることによって生残率が低下する傾向が認められた (Table 2-2)。

### 考 察

キジハタ仔魚の内部栄養では卵黄が油球よりも速やかに吸収される傾向があり、前者は44HAHにふ化時に比べて5%以下まで、さらに、76HAHで完全に吸収された。後者は68HAHには同様に5%以下まで、さらに92HAHで完全に吸収された (Fig. 2-1-A, B)。仔魚の開口は56HAHに、また、摂餌開始は71HAHに観察された (Table 2-1)。摂餌開始時における仔魚の卵黄と油球は、前者がふ化時に比べて体積で1.3%、後者は同様に3.8%と僅かながらも残存していた。ふ化から内部栄養を吸収するまでの成長を見ると、卵黄と油球の残存割合がそれぞれ50.8

%と72.9%となった12HAHまでは時間当たり0.01~0.03mmの成長率を示したが、それ以降から試験終了までは0.00~0.01mmと緩やかな成長率を示した (Fig. 2-1-C)。

Yamashita and Aoyama (1986) は飢餓に耐えうる時間を回復可能な絶食耐性時間と定義し、初回摂餌の時間を任意に遅らせて仔魚がある一定の飢餓条件後に発育できるかどうかを調べ、イカナゴでは卵黄の吸収時期は生残に対して危機的なものではないと結論付けている。

そこで、キジハタ仔魚の回復可能な絶食耐性時間を調べたところ、給餌群の1~4区では全ての試験区で試験開始時よりも大きくなっていったが、試験終了時の平均全長は1区が2区よりも有意に ( $P < 0.01$ ) に、また、1区が3区よりも有意に ( $P < 0.05$ )、さらに1区が4区よりも有意に大きかった ( $P < 0.01$ , Table 2-2)。また、試験終了時の平均生残率も1区が20.3%、2区は6.3%、3区は7.9%、および4区は2.6%となり、初回摂餌の時間が遅れることによって成長の停滞と生残率の低下が顕著であった (Table 2-2)。今回の試験では給餌群間の平均生残率は統計的な有意差が認められていない。これは2日齢時に全数計数によって試験水槽へ収容した際のハンドリングの影響による仔魚の減耗があったものと推察された。各測定時間の給餌群の平均摂餌率と仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数との間には有意な相関が認められ ( $P < 0.01$ )、また、給餌群の各試験区の摂餌のピークは

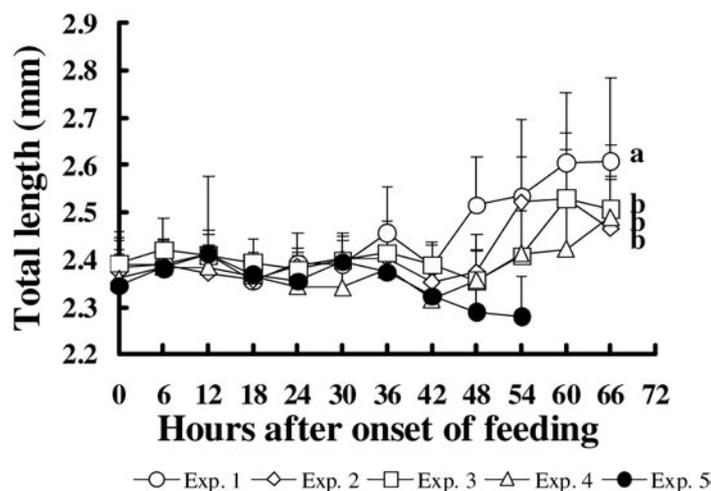


Fig. 2-4. Growth of red spotted grouper *E. akaara* larvae under different feeding conditions. Symbols and bars indicate the mean values of the total length and standard deviation, respectively. Different letters represent significant difference among No.1-4 (one-way ANOVA, shceff' s test, a>b).

初回摂餌の時間が異なってもほぼ一致していたのは注目に値する (Fig. 2-2, 3)。このような摂餌の日内変動は、ヤイトハタ (第1章) とスジアラ (第3章) でも観察されており、キジハタでも同様にかなり初期の段階から摂餌の日周リズムを有することが推察された。一方、ネガティブコントロールとして飢餓条件とした5区の成長は12HAOFを境として試験終了まで負の成長を示した (Fig. 2-5, Table 2-2)。この負の成長へ転じた時間 (12HAOF) は、ふ化89時間後に相当し、上述した水温試験の結果に基づくと、内部栄養 (油球) を完全に吸収した時間 (92HAH) にほぼ一致していた。また、3区では5区で負の成長へと転じた12HAOFに初回給餌を行っているにも関わらず、1区に比べると成長が有意に劣り ( $P < 0.05$ )、かつ、生残も半分以下まで低下していた。この現象は、キジハタの他にヤイトハタ (第1章) とスジアラ (第3章) でも同様に観察された。本種では6HAOF以降に初回給餌を行った試験区は1区と比べて成長が有意に劣り、かつ、この時間を境として生残率も低下していることから、6HAOFがキジハタ仔魚の飢餓に耐える回復可能な絶食耐性時間であると考えられる。

これまでに冷水性魚類の回復可能な耐性時間につ

いては、大西洋ニシン *Clupea harengus* (Blaxter and Hempel, 1963), plaice *Pleuronectes platessa* (Blaxter and Ehrlich, 1974), grunion *Leuresthes tenuis* (May, 1971), イカナゴ *Ammodytes personatus* (Yamashita and Aoyama, 1986) などで調べられており、いずれも回復可能な耐性時間がふ化後5日以上あり、飢餓に対して強い魚種であることが報告されている。一方、暖水性の魚類の中でサワラ *Scomberomorus niphonius* 仔魚 (Shoji *et al.*, 2002) は、4~6日齢までに初回摂餌を行うと90%以上が生残するが、それが1日遅れると生残率が20%まで急激に低下する。Houde (1974) は lined sole *Achirus lineatus*, bay anchovy *Anchoa mitchilli*, および sea bream *Archosargus rhomboidalis* の3魚種を試験に供し、これらの critical point はふ化後2.5~3.5日にあると推察しており、いずれもふ化数日間後に大きな減耗が生じるのが特徴である。上述した魚種に比べて、キジハタは摂餌開始から僅か6時間の間に初回摂餌に成功しないと初回摂餌後の成長遅滞や生残率の低下が顕著であり、飢餓に対する耐性が極めて弱い魚種と位置づけられる。換言すれば、この時期に如何に効率良く摂餌できるような飼育環境を整えるかがキジハタ飼育の最も

Table 2-2. Effects of delayed initial feeding on survival rate and growth of red spotted grouper *E. akaara* larvae at the end of the experiment

Gp. no.	Delay of initial feeding (Hours)	Number of larvae		Survival rate (%)	Mean total length $\pm$ SD (mm)	
		Initial at 2 DAH	Final at 69 HAOF		Initial at 0 HAOF	Final at 69 HAOF
1-1	0	2,500	687	27.5		
1-2		2,500	329	13.2	(n=20)	(n=60)
Mean				20.3	2.38 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.67 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
2-1	6	2,500	221	8.8		
2-2		2,500	94	3.8	(n=20)	(n=60)
Mean				6.3	2.39 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	2.55 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>
3-1	12	2,500	185	7.4		
3-2		2,500	210	8.4	(n=20)	(n=60)
Mean				7.9	2.39 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	2.59 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>
4-1	18	2,500	77	3.1		
4-2		2,500	53	2.1	(n=20)	(n=53)
Mean				2.6	2.36 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	2.52 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>
5-1	—*	2,500	0	0.0		
5-2		2,500	3	0.1	(n=20)	
Mean				0.1	2.35 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	—

DAH and HAOF are expressed as days after hatching and hours after onset of feeding, respectively.

Mean values in the same column with different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

\* No food.

重要な飼育のポイントである。飼育環境を整える上で飼育水温の設定は重要な要因であり、本試験で用いた26℃の水温ではふ化率が高く、また仔魚の奇形率が低いとされ(萱野・尾田, 1991), さらに、過去に福永ら(1990)が40万尾の量産に初めて成功した飼育水温とも一致する。近年は摂餌開始(3日齢)~5日齢までの摂餌に関わる水中照度, 通気方法, およびワムシの餌料密度などを改善することによって, 開口後の摂餌量が増加し, 最終的に取り揚げ時の生産量と生残率が向上している(津村, 2003; 津村ら, 2004)。これは本研究の第4章と第5章のスジアラで指摘しているように, 初回摂餌の重要性を裏付けている。

本研究により, キジハタ仔魚の初期減耗は摂餌開始から12時間の間に何らかの摂餌不良によって生じている可能性が高いことが明らかになった。従って, 本種仔魚の初期減耗を回避するには, 深夜に開口する場合も想定して, 夜間の電照を行い, 速やかにかつ適正な量の餌料を摂餌できるような飼育条件を整えることが最も重要である。

### 第3章 異なる水温と初回摂餌の遅れがスジアラ *Plectropomus leopardus* 仔魚の摂餌, 成長, および生残に及ぼす影響

スジアラ *P. leopardus* は, 沖縄県の市場では三大高級魚の1つとして位置づけられており, ハタ類の中では最も高値で取り引きされている重要な沿岸漁業資源である。地先定着型の栽培漁業対象種として八重山栽培漁業センターでは, 1985年から本種の種苗生産技術開発に取り組んできた。しかし, 本種は他のマハタ属魚類に比べて5日齢までの初期減耗が大きいのが特徴である(福永ら, 1990; Duray, *et al.*, 1997; 川辺, 1999; 照屋, 2003; 土橋ら, 2003; 照屋・與世田, 2006)。

本章では, スジアラ仔魚の内部栄養から外部栄養に切り替わるまでの栄養転換期に異なる水温での内部栄

養の吸収過程を調べ, その知見に基づいて, 初回摂餌の遅れがスジアラ仔魚の摂餌, 成長, および生残に及ぼす影響を調べた。

## 材料と方法

### 親魚と採卵

産卵に供した親魚と卵の回収方法については, 本研究の第4章に準じた。自然産卵によって得られた受精卵を紫外線処理海水で洗卵後に, 後述する各試験水槽へ収容した。

### 1. 異なる水温条件下でのスジアラ仔魚の内部栄養吸収と発育過程

**試験区の設定** 異なる水温における本種仔魚の内部栄養吸収過程を調べるため, 水温26℃, 28℃, および30℃の3試験区を設定し, 2万粒の受精卵を1kL水槽3面へそれぞれ収容した。産卵時の水温は25.8℃であり, 設定水温との温度差があった水温28℃と30℃区の受精卵は10L容量のビニール袋に入れて, 1kL水槽へ浮かべ, 約1時間経過後にビニール袋から1kL水槽へ海水とともに移した。試験水槽へ収容後の受精卵には温度変化を一切与えていない。受精卵収容時の発育ステージはMasuma *et al.* (1993) に従うと胚体形成のKステージであった。本試験は50%の個体がふ化した時点から試験を開始し, 油球の割合がふ化時に比べて1%未満となった時点で試験終了とした。なお, 開口時間の定義と試験開始後の経過時間については, 第1章の内部栄養吸収と発育過程を調べた試験に準じた。

**飼育方法** 試験は2001年5月20日~5月25日にかけて1kL黒色ポリエチレン水槽3面を用いて実施した。各試験水槽の上部に60Wの蛍光灯1個を吊し, いずれの試験区も24時間の恒明条件とした。通気量は微量に調整し, 海水の注水量は50mL/分で管理した。水温26℃区は2.2-kWの冷却器(TC-2200E, 山一

**Table 3-1.** Some selected aspects examined in early larval *P. leopardus* under different temperature conditions

Temp. (°C)	Total length (mm)		Complete oil globule absorption	Volume of yolk sac ( $\times 10^{-4}$ mm <sup>3</sup> )		Volume of oil globule ( $\times 10^{-4}$ mm <sup>3</sup> )		Time (h) from hatching to		Exhaustion of endogenous nutrition*	Complete oil globule absorption
	Hatching	Mouth opening		hatching	Mouth opening	Hatching	Mouth opening	Mouth opening			
26	1.64 ± 0.10 <sup>a</sup>	2.65 ± 0.12	2.59 ± 0.13 <sup>a</sup>	2078 ± 256 <sup>a</sup>	8.7 ± 3.5 <sup>a</sup>	40.4 ± 4.1 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.7 <sup>a</sup>	56	52	64	
28	1.69 ± 0.10 <sup>ab</sup>	2.53 ± 0.09	2.47 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1572 ± 485 <sup>b</sup>	12.2 ± 7.8 <sup>a</sup>	31.4 ± 1.4 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.7 <sup>a</sup>	52	52	60	
30	1.75 ± 0.06 <sup>b</sup>	2.53 ± 0.07	2.34 ± 0.17 <sup>b</sup>	1838 ± 53 <sup>ab</sup>	12.7 ± 5.7 <sup>a</sup>	32.6 ± 2.9 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.9 <sup>a</sup>	52	52	60	

Mean values in the same column with different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ). \*Time when oil globule was consumed less than 5% from the initial volume.

製作所)を、また、水温28℃区と30℃区では1kWのヒーターとサーモスタットを用いて調温した。試験期間中の各区の水温は26℃区が $26.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、28℃区が $28.4 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、および30℃区が $30.2 \pm 0.4^\circ\text{C}$ となり、設定水温をほぼ維持できた。スジアラ仔魚を安静状態に保ち、飼育水中のワムシの飢餓を防止する目的で、卵収容時から試験終了時まで、市販の冷蔵濃縮ナンノクロロプシス *Nannochloropsis sp.* (メルシャン) を細胞濃度が50万 cells/mLとなるように1日2回(9, 16時)添加した。ワムシの給餌基準とワムシの栄養強化方法は、第1章の初回摂餌試験に準じた。

**試料の採取と測定** ふ化から試験終了まで4時間間隔で試料の採取と測定を行った。各観察時間に採取された各試験区の20尾の仔魚の測定方法は、第2章の内部栄養吸収と発育過程を調べた試験に準じた。

**統計処理** 各試験区間の卵黄と油球の体積および平均全長の差の検定は、第1章の内部栄養吸収と発育過程を調べた試験に準じた。

## 2. 初回摂餌試験

**試験区の設定** 本試験では100万粒の受精卵を後述する6つの試験区へそれぞれ収容した。実験に供した受精卵の卵径と標準偏差は $0.87 \pm 0.016\text{mm}$  ( $n=60$ )、ふ化率は51.2%であった。試験区とは別に摂餌開始の時間を調べるための観察専用の水槽(60kL八角型コンクリート水槽)を設け、この水槽へも100万粒の受精卵を収容した。仔魚の開口時(2日齢の18時)にワムシを20個体/mLの基準で与え、給餌後は1~2時間間隔でその水槽から約50尾程度の仔魚を採取し、ワムシの摂餌状況を調べた。その結果、3日齢の7時(0HAOF)に仔魚の摂餌率が50%以上に到達したため、その時間を摂餌開始の時間と定義し、本試験を開始した。摂餌開始の時間に上述した給餌基準でワムシを与える試験区を対照区(1区: Gp. 1)とし、1区から3時間後にワムシを与える区(2区: Gp. 2)、6時間後にワムシを与える区(3区: Gp. 3)、および9時間後にワムシを与える区(4区: Gp. 4)を設けた。一方、給餌区に対するネガティブコントロールとして無給餌区(5区: Gp. 5)の合計5試験区を設定した。5日齢の4時(45HAOF)に5区の試験区では全滅に近い状態であったため、その時点で試験終了とした。生残尾数は後述するように夜間計数によって算出し、3日齢と5日齢をそれぞれ試験開始および試験終了の生残尾数とした。本試験での試験開始後の経過時間(HAOF)については摂餌開始時を基準とした。

**飼育方法** 本試験は2004年5月19日~5月21日に室内の60kL八角型コンクリート水槽5面を用いて実

施した。各試験区の水槽上面には遮光率99%の寒冷紗を設置した。水槽中央部に蛍光灯4基8本(36W×8)を2組設置し、水槽表面で約1,000lx程度の照度が維持できるようにした。これらの2組の蛍光灯を用い、卵収容時から試験終了時までには24時間の恒明条件とした。各試験区の水面上0cmの平均水中照度は718~920lx、水面下50cmでは497~684lxで推移した。開口時(2日齢の18時)から試験終了時(45HAOF)までの通気量は酸素0.5L/分、空気2.0L/分、海水の注水量は1.5kL/時間とした。各試験区の溶存酸素は7.39~10.79mg/Lで推移した。卵収容から試験終了まで28℃を維持し、各試験区の平均水温は28.0~28.2℃の範囲で推移した。淡水クロレラ(スーパー生クロレラV12, クロレラ工業)の添加方法、ワムシの給餌基準、およびワムシの栄養強化方法は、第1章の初回摂餌試験に準じた。生残尾数は、3と4日齢および5日齢の3回夜間にφ40mmの塩化ビニール製パイプを用いて水槽内の6箇所から約20Lを採水し、容積法により算出した。

**試料の採取と測定方法** 試験を開始した3日齢の7時(0HAOF)から同日の22時(15HAOF)までは3時間間隔、それ以降から試験終了(45HAOF)までは6時間間隔で試料の採取と測定を行った。各観察時間に採取された各試験区の20尾の仔魚の測定、ワムシ摂餌率、および平均摂餌数の算出方法は、第1章の初回摂餌試験に準じた。

**統計処理** 各試験区間の平均全長と仔魚1尾当たりの摂餌数の差、および生残率の検定、並びにワムシ摂餌率とワムシ摂餌数の相関は、第1章の初回摂餌試験に準じた。

## 結果

### 1. 異なる水温条件下でのスジアラ仔魚の内部栄養吸収と発育過程

各試験区のふ化仔魚( $n=10$ )の卵黄と油球体積は26℃区で $2,078 \pm 256$ と $40.4 \pm 4.1 \times 10^{-4}\text{mm}^3$ 、28℃区では $1,572 \pm 485$ と $31.4 \pm 1.4 \times 10^{-4}\text{mm}^3$ 、および30℃区では $1,838 \pm 53$ と $32.6 \pm 2.9 \times 10^{-4}\text{mm}^3$ であった。仔魚の卵黄は水温が最も高い30℃区ではふ化時の体積に対して6HAHで25%まで、また、48HAHには10%以下まで吸収された。26℃区と28℃区の仔魚の卵黄の吸収パターンは同様な傾向を示し、いずれも24HAHには50%まで減少していた。仔魚の油球の吸収パターンは3水温区で同様な傾向を示し、卵黄よりも緩やかに吸収される傾向が見られた(Fig. 3-1)。52HAHにいずれの試験区でも仔魚の油球の割合が5%以下とな

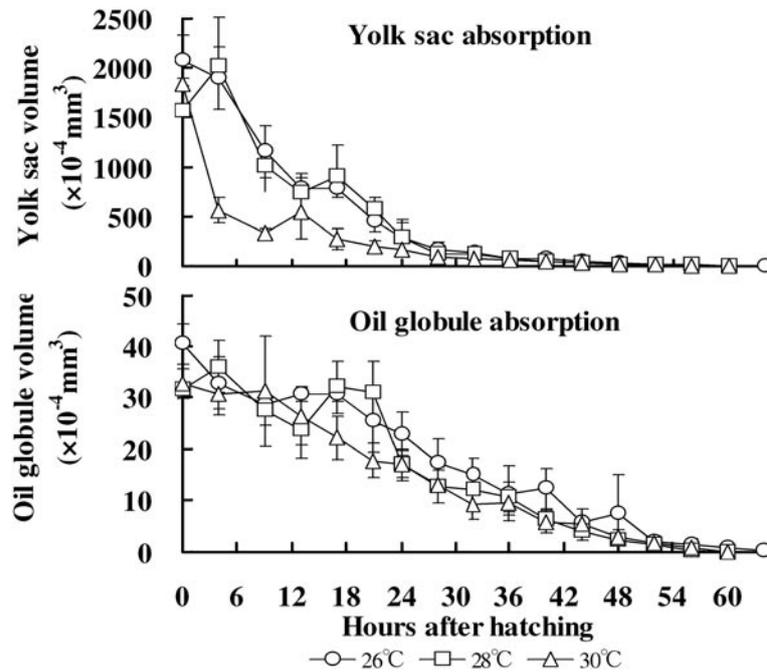


Fig. 3-1. Yolk sac (upper) and oil globule (lower) absorption in larval leopard coral grouper *P. leopardus* under different temperature conditions. Different symbol and bars indicate the mean value and standard deviation, respectively.

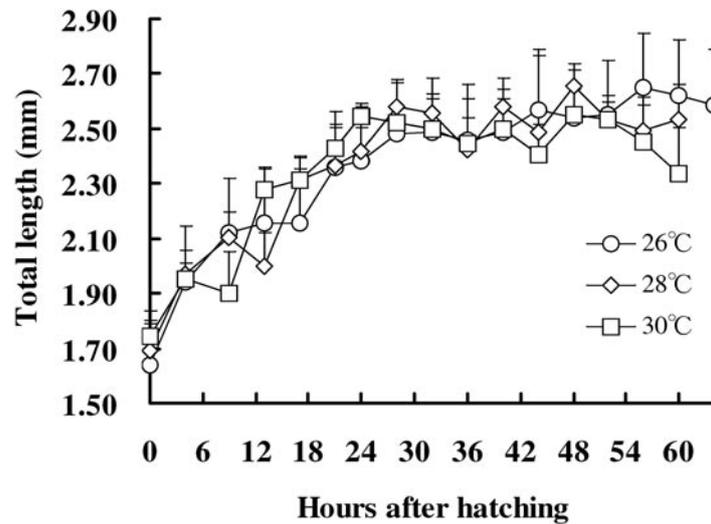


Fig. 3-2. Growth of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae from hatching to the time when the oil globule was consumed less than 5% of its initial volume.

り、油球が1%未満まで吸収された時間は26℃区が64HAH、28℃区と30℃区ではいずれも60HAHであった。仔魚の開口は、28℃区と30℃区では52HAHに、26℃区では56HAHに観察された (Table 3-1)。本試験では2日齢の17時にワムシを給餌したが、いずれの試験区も摂餌開始前に内部栄養が完全に吸収されていたために、試験を終了した。従って、ここでは各試験区の摂餌開始時間や摂餌状況等については言及しない。

各試験区のふ化仔魚の卵黄と油球の体積について有意差の検定を行ったところ ( $n=10$ )、前者では26℃区が28℃区よりも有意に体積が大きく ( $P<0.01$ )、26℃区と28℃区および28℃区と30℃区では有意差がなかった ( $P>0.05$ )。後者では26℃区が28℃区と30℃区よりも有意に体積が大きかったが ( $P<0.01$ )、28℃区と30℃区では有意差が認められなかった ( $P>0.05$ )。開口時のふ化仔魚の卵黄と油球の体積には各試験区間で有意差が認められなかった ( $P>0.05$ , Table 3-1)。一方、各試験区のふ化仔魚の全長の大きさについて有意差の検定を行ったところ ( $n=10$ )、30℃区が26℃区よりも有意に大きく ( $P<0.05$ )、26℃区と28℃区および28℃区と30℃区では有意差がなかった。また、開口時では26℃区が28℃区と30℃区よりも有意に大きく ( $P<0.05$ )、さらに、油球吸収時では26℃区が30℃区よりも有意に大きかった ( $P<0.01$ )。いずれの試験区でも48HAHまでの成長は水温に関係なく同様な傾向を示したが、30℃区のみはそれ以降から試験終了 (60HAH) までは負の成長を示した (Fig. 3-2)。

## 2. 初回摂餌試験

**スジアラ仔魚のワムシ摂餌率の推移** 5区を除く給餌3時間後の各試験区の平均摂餌率を調べたところ、1区と2区は95%、3区は85%、および4区は35%であり、4区の平均摂餌率が給餌区の1~4区の中では最も低かった。給餌3時間後から試験終了 (45HAOF) までの平均摂餌率は1区が72.0%、2区が72.2%、3区が63.8%、および4区では46.4%であり、9HAOFにワムシを与えた4区のみは試験期間中を通して平均摂餌率が1~3区よりも低く推移した (Fig. 3-3)。1~4区の各観察時間のワムシ摂餌率の全体平均と後述するワムシ摂餌数の全体平均との相関を調べたところ、両者の間には有意な相関 ( $P<0.01$ ) が認められ、ワムシ摂餌率はワムシ平均摂餌数と連動して変動していた。

**仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数の比較** 各試験区間における仔魚1尾当たりの平均摂餌数の違い

を見るために、有意差の検定を行った。その結果、9HAOFでは1区が3区に比べて有意に多く摂餌し ( $P<0.05$ )、21HAOFでは4区が1区と2区に比べて摂餌数が有意に劣った ( $P<0.01$ )。さらに、試験終了時 (45HAOF) では1区は2区よりも摂餌数が有意に少なかったものの ( $P<0.01$ )、1区は3区と4区よりも有意に ( $P<0.01$ )、また、2区は3区と4区よりも有意に多く摂餌していた ( $P<0.01$ )。このように、仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数は、1区と2区が3区と4区よりも有意に多い傾向にあった (Fig. 3-4)。また、1~4区の仔魚1尾当たりの平均摂餌数のピークは初回給餌の時間が異なっても3日齢では13~16時、4日齢では10~16時に観察された。

**成長と生残** 各試験区の試験開始時 (0HAOF) と試験終了時 (45HAOF) の平均全長を  $t$  検定で調べたところ、試験開始時よりも有意に大きかったのは1区 ( $P<0.01$ ) と2区 ( $P<0.01$ ) であった。3区と4区では有意差がなく ( $P>0.05$ )、一方、5区では試験開始時よりも有意に小さかった ( $P<0.01$ , Fig. 3-5)。

試験開始時と試験終了時における各試験区間の平均全長の有意差の検定を行った (Table 3-2)。その結果、前者では各試験区間で有意差は認められなかった ( $P>0.05$ )。しかし、後者では1区と2区では有意差がなかったが ( $P>0.05$ )、1区と2区は3区~5区よりも有意に大きかった ( $P<0.01$ )。さらに、3区と4区では有意差が認められなかったが ( $P>0.05$ )、3区、4区はいずれも5区よりも有意に大きかった ( $P<0.05$ )。

試験終了時の生残率は、1区と2区は41.4%と42.3%とあった。3区では33.7%、4区では20.4%となり、無給餌区の5区では0%であり、初回摂餌の時間が遅れることによって生残率が低下する傾向が認められた (Table 3-2)。

## 考 察

スジアラ仔魚の卵黄は最も水温の高い30℃区で他の2試験区よりも早く吸収される傾向があったが、油球は26~30℃区の試験区でいずれも同様な吸収パターンを示した (Fig. 3-1)。本種仔魚の開口は水温26℃区で56HAH、水温28℃区と30℃区では52HAHに観察され、いずれの試験区でも52HAHには油球の割合がふ化時に比べて5%未満まで減少し、開口時点で内部栄養をほぼ吸収していた (Fig. 3-1, Table 3-1)。また、開口時の各区の全長には有意差は認められず、ふ化から48HAHまでの成長は水温に関係なくいずれ

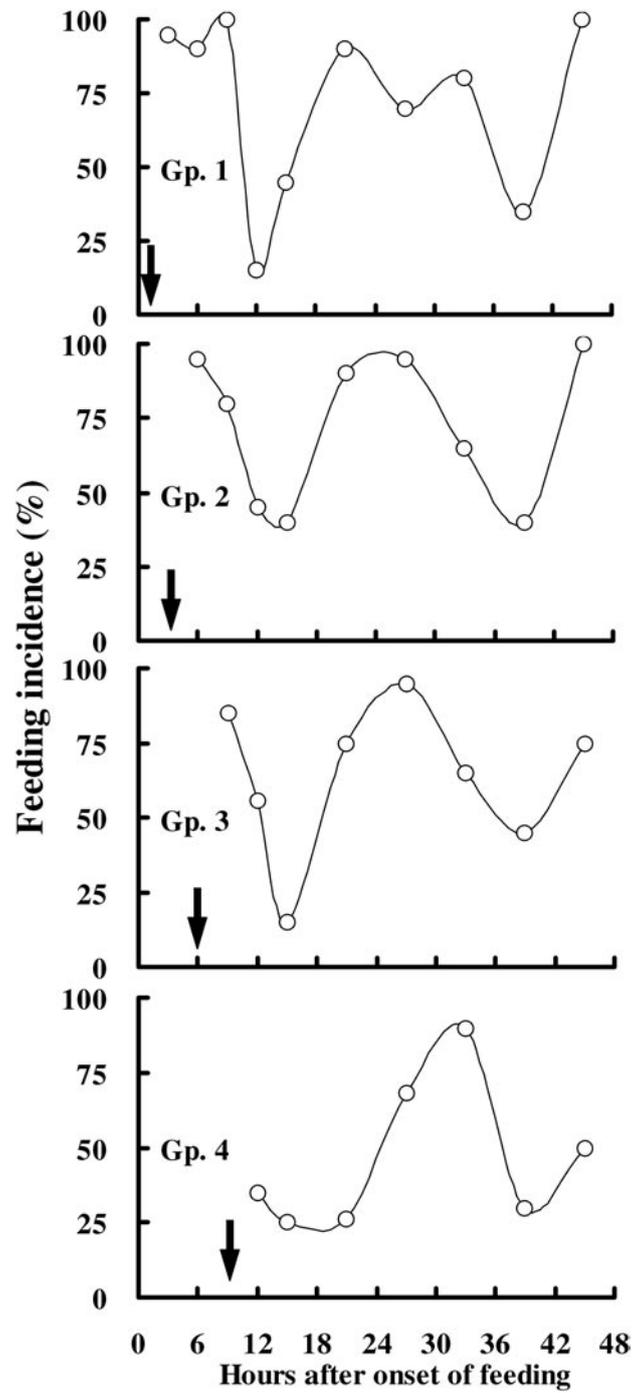


Fig.3-3. Changes in feeding incidence of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae fed rotifers between Gp.1 and Gp. 4. Negative control of Gp. 5 is starved. Closed arrow indicates the initial feeding.

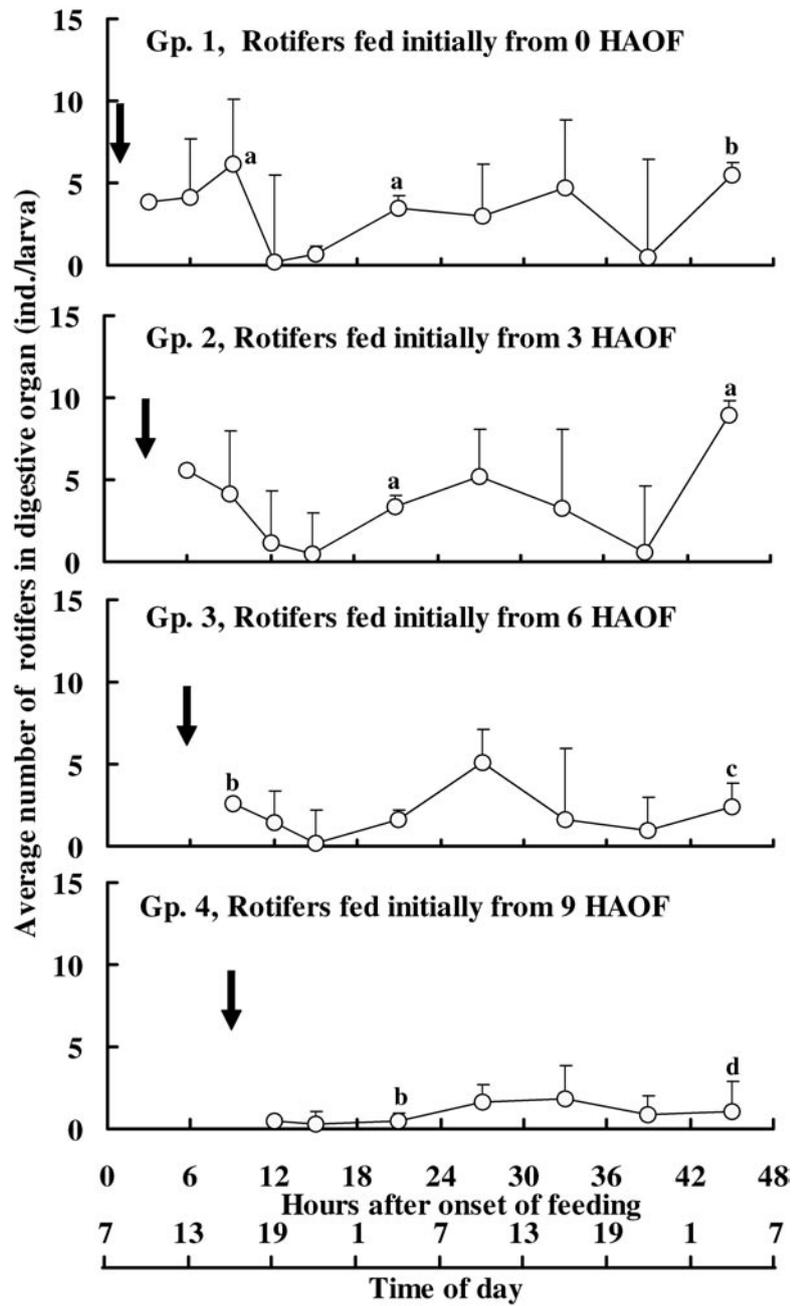


Fig.3-4. Diel changes in average number of rotifers in the gut of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae between Gp. 1 and Gp. 4. Negative control of Gp. 5 is starved. Arrow indicates the initial feeding time. Different letters represent significant difference among Gp. 1-4 (one-way ANOVA, shceff's test,  $a>b>c>d$ ).

の試験区でも同様な傾向であった。しかし、30℃区のみは52HAHから試験終了(60HAH)まで負の成長を示した(Fig. 3-2, Table 3-1)。マハタ属のヤイトハタでは水温の違いによって仔魚の卵黄と油球の吸収パターンが異なり、25~31℃の水温条件下での成長は高水温区ほど早く進み、かつ、内部栄養も早く吸収されることが示されているが(第1章)、スジアラ仔魚でも同様に内部栄養は早い時期に吸収された。Toledo *et al.* (2002)はチャイロマルハタ *E. coioides* で異なる塩分と通気量が仔魚の油球吸収速度等に与える影響を調べており、6日齢では0.62mL/分の最も低い通気量、また16pptの塩分で油球体積が最も大きかったと報告しており、卵黄は水温のみでなくその他の環境条件によっても左右されることを示唆している。しかし、いずれにしろ本種仔魚のように外部栄養に切り替わる前に開口時点で既に内部栄養を完全に吸収する特徴を持つ魚種は飼育条件下では不利であると言わざるを得ない。実際、本論においても第4章で本種仔魚では内部栄養から外部栄養に切り替わる3日齢の摂餌量が5日齢の生残と相関があり、初回摂餌の重要性が指摘されている。Yamashita and Aoyama (1986)は初回摂餌の時間を任意に遅らせて仔魚がある一定の飢餓条件後に発育できるかどうかを調べ、イカナゴでは卵黄の吸収時期は生残に対して危機的なものではないと結論付けている。ハタ類のように初期減耗が大きい魚種では摂餌開始からの回復可能な絶食耐性時間を調べることは、減耗機構を解明する上で特に重要である。

そこで、筆者はスジアラ仔魚の回復可能な絶食耐性時間を把握するため、水温28℃の温度条件下で摂餌開始時から3時間ずつ初回摂餌の時間を遅らせ、初回摂餌後の仔魚の摂餌、成長、および生残に及ぼす影響を調べた。その結果、対照区(1区)と対照区か

ら3時間後にワムシを給餌した2区のみは試験終了時(45HAOF)に正の成長を示したが、対照区から6時間と9時間遅らせた3区と4区では成長が停滞あるいは負の成長を示した(Fig. 3-5, Table 3-2)。一方、ネガティブコントロールとして飢餓条件とした5区では6HAOFを境として試験終了まで負の成長を示した(Fig. 3-5, Table 3-2)。この負の成長へ転じた時間(6HAOF)は、ふ化66時間後に相当し、上述した水温試験の結果に基づくと、内部栄養(油球)を完全に吸収した時間(60HAH)にほぼ一致していた。また、3区では5区の負の成長へ転じた時間(6HAOF)に初回給餌を行っているにも関わらず、成長と生残に悪影響が生じている。この時間がスジアラ仔魚の飢餓に耐えうる回復可能な絶食耐性時間と考えられ、本種では内部栄養から外部栄養に切り替わる栄養転換期のみならず、絶食耐性の転換期も極めて短いのが特徴的であった。

本試験では初回摂餌の給餌時間が異なっているにも関わらず、給餌群(1~4区)の摂餌率とワムシ摂餌数の日内変動はほぼ一致しており(Fig. 3-3, 4)、両者間には有意な相関が認められた( $P < 0.01$ )。このような摂餌の日内変動は、ヤイトハタ(第1章)とキジハタ(第2章)でも観察されており、スジアラでもかなり初期の段階から摂餌の日周リズムを有することが推察された。

大西洋ニシン *Clupea harengus* (Blaxter and Hempel, 1963), plaice *Pleuronectes platessa* (Blaxter and Ehrlich, 1974), grunion *Leuresthes tenuis* (May, 1971), イカナゴ *Ammodytes personatus* (Yamashita and Aoyama, 1986)などの魚種は回復可能な耐性時間がふ化後5日以上あり、飢餓に対して強い魚種であることが報告されている。これらの魚種は、plaiceを除いて沈性卵あるいは粘着卵でふ化仔魚のサイズが大

**Table 3-2.** Effects of delayed initial-feeding on mean survival rate and mean total length in leopard coral grouper *P. leopardus* at the end of the experiment

Gp. no.	Delay of initial-feeding (hours)	Number of larvae $\times 10^4$ (individuals)		Survival rate (%)	Mean total length $\pm$ SD (mm)	
		Initial at 3 DAH <sup>*1</sup>	Final at 5 DAH		Initial at 0 HAOF <sup>*2</sup>	Final at 45 HAOF
1	0	40.3	16.7	41.4	2.61 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup> (n=20)	2.81 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup> (n=20)
2	3	42.1	17.8	42.3	2.67 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> (n=20)	2.78 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup> (n=20)
3	6	44.5	15.0	33.7	2.56 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup> (n=20)	2.57 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup> (n=20)
4	9	40.7	8.3	20.4	2.58 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup> (n=20)	2.55 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup> (n=20)
5	— <sup>*3</sup>	43.9	0	0	2.59 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup> (n=20)	2.40 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup> (n=20)

Mean value in the same column with different subscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>\*1</sup>: DAH is expressed as days after hatching; <sup>\*2</sup>: HAOF is expressed as hours after onset of feeding; <sup>\*3</sup>: No food.

きく、冷水性であることなどの特徴を有する。一方、サワラ *Scomberomorus niphonius* 仔魚では4~6日齢までに初回給餌を行うと90%以上の生残を示すが、それが1日齢遅れると生残率が20%まで急減に低下する (Shoji *et al.*, 2002)。Houde (1974) は Lined sole *Achirus lineatus*, bay anchovy *Anchoa mitchilli*, および sea bream *Archosargus rhomboidalis* の3魚種を試験に供し、これらの critical point はふ化後2.5~3.5日にあると推察している。このような魚種では浮性卵で比較的暖水域に生息し、ふ化数日間後に大きな減耗が生じるのが特徴である。

Kohno (1998) は、回復可能な絶食耐性時間を調べていないが、摂餌開始から内部栄養を完全に吸収するまでの時間を6種の高産魚類で比較し、マハタ属の *E. coioides* と *E. fusoguttatus* の2種がそれらの中では吸収時間が最も早く、前者で28.5時間、後者では25.0時間、また、両種とも摂餌開始時には卵黄と油球を僅かながら有すると報告している。また、マハタ属のヤイトハタ *E. malbaricus* では摂餌開始から9時間後に内部栄養を完全に吸収し、いずれも摂餌開始時には油球と卵黄が僅かながら残存する (第1章)。ハタ類では本種の他にヤイトハタとキジハタで回復可能な絶食耐性時間が調べられており、両者はいずれも6 HAOF であり、この絶食耐性時間と内部栄養を完全に吸収した時間とが一致したと報告されている (第1, 2章)。これに対して、スジアラ仔魚では摂餌開始の時点で既に内部栄養を完全に吸収し、また、回復可能な絶食耐性時間がヤイトハタとキジハタと同様に6時間という生物学的な特性を有す。このような生物学的な特性が本種の種苗生産を困難にしている原因であると考えられる。この結果は、本研究の第4章で示した本種仔魚では内部栄養から外部栄養に切り替わる3日齢の摂餌量が5日齢の生残と相関があるとの指摘を裏付けている。

本研究により、スジアラ仔魚の初期減耗は摂餌開始から僅か6時間の間に何らかの摂餌不良によって生じている可能性が極めて高いことが明らかになった。従って、本種仔魚の初期減耗を回避するには初回摂餌から6時間の間に如何に効率良く、かつ適正な量の餌料を摂餌できるような飼育環境を整えることが重要であり、小型サイズのワムシの給餌 (第4章) や夜間の電照飼育 (第5章) は有効な飼育手法であると考えられる。

#### 第4章 サイズの異なる2タイプのワムシがスジアラ *Plectropomus leopardus* 仔魚の初期摂餌と初期生残に及ぼす影響

第1~第3章ではヤイトハタ、キジハタ、およびスジアラのハタ類3種の内部栄養を完全に吸収する時間と飢餓耐性の時間とがほぼ一致することを明らかにし、ハタ類では外部栄養に切り替わる際の摂餌に関する飼育条件の重要性を指摘した。

本章では、ハタ類の飼育条件の中でも重要な要因となる初期餌料のワムシを例にとり、0日齢から5日齢までに焦点を絞って、量産規模でサイズの異なる2タイプのワムシがスジアラ仔魚の摂餌生態、初期生残、およびトリブシン活性に与える影響を検討した。

#### 材料と方法

**親魚と卵の回収** 産卵に供した親魚は、八重山栽培漁業センターで養成した天然魚 (全長49.0~72.5cm, 体重2.0~8.1kg) である。親魚は、八重山栽培漁業センターの200kL 陸上水槽2面にそれぞれ31尾を収容した。雌雄の内訳は雄4~5尾と雌26~27尾であった。これらの親魚から自然産卵によって得られた受精卵を産卵した日の翌朝に回収した。1回目は372万粒の受精卵を採卵し、100Lの卵管理水槽 (アルテミア用ふ化水槽) 2面を用いて1.9万粒/Lの密度で、2回目は450万粒を採卵し、1回目と同様に2.3万粒/Lの密度で卵管理を行った。回収した受精卵は、紫外線処理海水で洗卵後、卵管理水槽に一時的に収容した。収容後は、容積法により浮上卵と沈下卵を計数し、計数後は、約5分程度静置し、水槽の底面部に沈下した沈下卵を底面部に接続されたバルブを開いて取り除いた。卵管理水槽には、中央に1個のエアストーンを垂下して通気を施し、クッパー氏胞形成まで流水 (2.5~5.0 L/分) で4~6時間の卵管理後、陸上の60kL八角型コンクリート水槽へ等分に分けて収容した。

**試験区の設定と仔魚の飼育方法** 八重山栽培漁業センターで培養したS型ワムシ (*Brachionus rotundiformis*; 以下, Sワムシ) とそれよりも背甲長の小さいS型ワムシタイ株 (以下, タイワムシ) の2タイプのワムシをスジアラ仔魚の初期餌料として試験に供した。本試験は、60kL八角型コンクリート水槽を使用し、上述したワムシを用いてタイワムシ給餌区とSワムシ給餌区を設け、2回の試験で合計5事例の飼育を行った (Table 4-1)。2回目の試験では、両試験区の他に、水槽上面を完全に覆って24時間の恒暗条件としたタイワムシ給餌区に対するネガティブコ

**Table 4-1.** Experimental conditions of mass rearing trials for first feeding larvae of leopard coral grouper *P. leopardus*

Expt. no.	Trials. no.	Strain of rotifer	Rotifer density (ind./ml)	Water exchange (%/day)	Light condition	Duration of experiment (day)
I	1	Thai-type	15	30	ambient	July. 5 ~ Jul. 9 2000 (5)
	2	S-type	15	30	ambient	July. 5 ~ Jul. 9 2000 (5)
II	3	Thai-type	15	30	ambient	Aug. 8 ~ Aug. 12 2000 (5)
	4	S-type	15	30	ambient	Aug. 8 ~ Aug. 12 2000 (5)
	5	Thai-type (negative control)	15	30	L:D=0:24	Aug. 8 ~ Aug. 12 2000 (5)

ントロール区を設定した。この試験区のねらいはタイワムシを給餌するものの、24時間の恒暗条件下で仔魚が摂餌可能かどうかとその後の生残を調べるために設けたものである。なお、八重山栽培漁業センターにおける試験期間中の自然の明暗リズムは6時から19時までの13時間が明、また、19時から6時までの11時間が暗であった。

本試験では、原則として卵収容から試験終了まで水温は自然条件、ワムシの飼育水中の密度は15個体/mL、換水方法は終日30%/日の流水方式、また、ナンクロロプシス *Nannochloropsis sp.* の添加は飼育水中の密度50万 cells/mLを基準として行った。ワムシの給餌は全ての飼育事例で仔魚が開口し摂餌を始める前日の2日齢の16時に行い、3~5日齢は10時と15時の1日2回飼育水中のワムシ密度を計数後に基準量の不足分を追加した。タイワムシとSワムシはいずれもスーパー生クロレラ (1.5L/ワムシ10億個体) で6~22時間の栄養強化後に給餌した。

生残尾数は、試験終了まで毎日夜間にφ40mmの塩化ビニール製パイプを用いて水槽内の6ポイントから約20Lを採水し、容積法により算出した。

**試料の採取と測定方法** 本試験に供した仔魚は3日齢の4時に100%の割合で開口したことから、試料の採取を同日の5時から開始した。摂餌開始日となる3日齢の5時から翌日の17時まで、24~5時の時間帯を除いて2時間間隔で飼育水中の水温、水面上30cmの照度 (IM-5, Topcon) と水面下100cmにおける水中照度 (ALM-1, Alec), さらに、溶存酸素量 (55/12FT, YSI) を測定した。また、水槽内の4ポイントから2Lビーカーを用いて約18Lを採水し、実験室に運んでからワムシ密度を計数後、仔魚のみを1Lビーカーに濃縮して選別した。各観察時間に採取された各試験区の20尾の仔魚の測定、ワムシ摂餌率、および平均摂餌数の算出方法は、第1章の初回摂餌試験に準じた。上述した試料の他に、両試験区の飼育水中におけるワムシの体長組成の変動を調べるために、5%海水ホルマリン溶液で200個体以上のワムシを固定し、後日背甲

長を生物顕微鏡で測定した。さらに、両試験区から約50尾の仔魚を任意に採取し、5%海水ホルマリン溶液で固定し、後日仔魚の口幅を生物顕微鏡で測定した。

本研究における最大平均摂餌数は5~21時の時間帯で仔魚1尾当たりの平均摂餌数が最も高かった値と定義した。

**トリプシン活性の分析** 2回目の試験では、両試験区とネガティブコントロール区における仔魚の消化酵素活性を調べるために、各サンプリング時に仔魚10尾を1尾ずつエッペンドルフチューブに入れて-80℃の冷凍庫に保存し、後日分析に供した。トリプシン活性は仔魚1個体ずつの活性測定が可能な Ueberschär (1995) の測定方法に従い、トリプシンの基質としては Na-benzoyl-L-arginin-methyl-coumarinylamide を用いた。活性は各サンプリング時の10個体それぞれについて測定し、全活性 (Total activity: unit/min./individual) で示した。

**統計処理** 両試験区間における仔魚1尾当たりの摂餌数とワムシ背甲長の差は、分散に差がないことを確認後、Studentのt検定で検定を行った。有意水準は  $P < 0.05$  とし、有意差が認められた値についてのみは  $P < 0.01$  で再度調べた。

## 結果

**飼育環境** 試験期間中の溶存酸素 (DO) はネガティブコントロール区の飼育事例が8.13~8.67mg/Lで最も高く、残りの4飼育事例では5.67~8.67mg/Lの範囲で推移した。飼育水温は28.0~29.2℃、水面上30cmの照度は0~82,600lxで推移した。また、水面下100cmの照度は、0~20,000lxの範囲で推移した (Fig. 4-1)。

ネガティブコントロール区では寒冷紗と水槽壁面の間隙から入射する光の影響で1回のみ50lxの水中照度が測定されたが、それ以外では終日0~31lxと低かった。

**仔魚の全長と口幅長との関係** 1回目の試験の3日

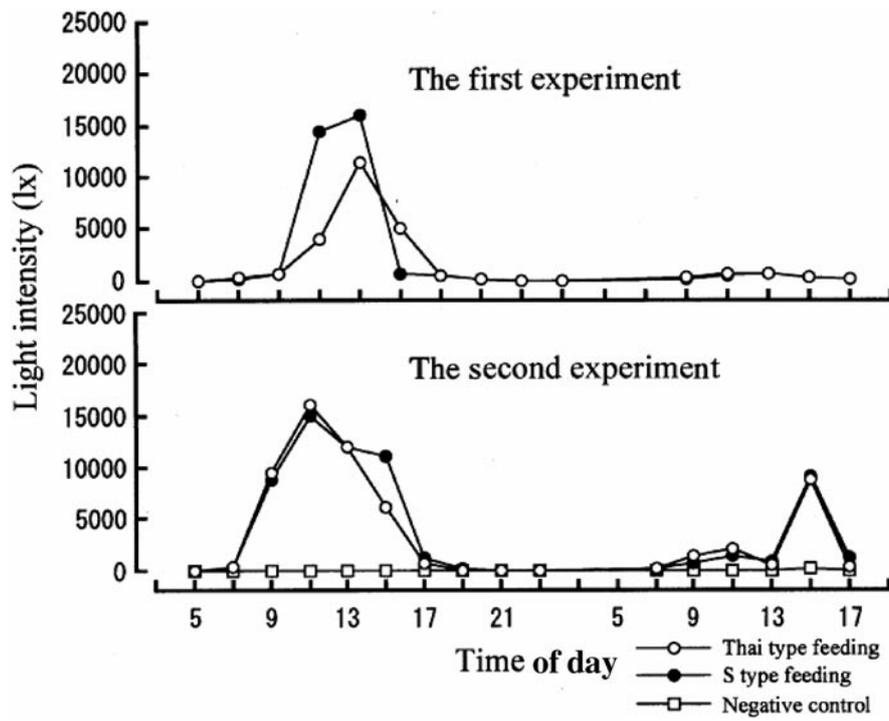


Fig. 4-1. Light intensities at less than 100 cm from the water surface in the first and the second experimental trials conducted on 3-4 days after hatching.

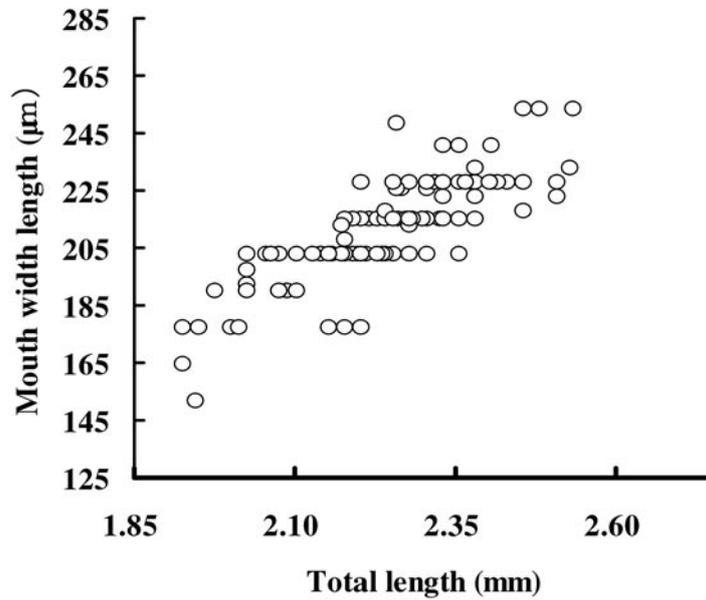


Fig. 4-2. Relationship between total length and mouth width length in leopard coral grouper *P.leopardus* larvae.

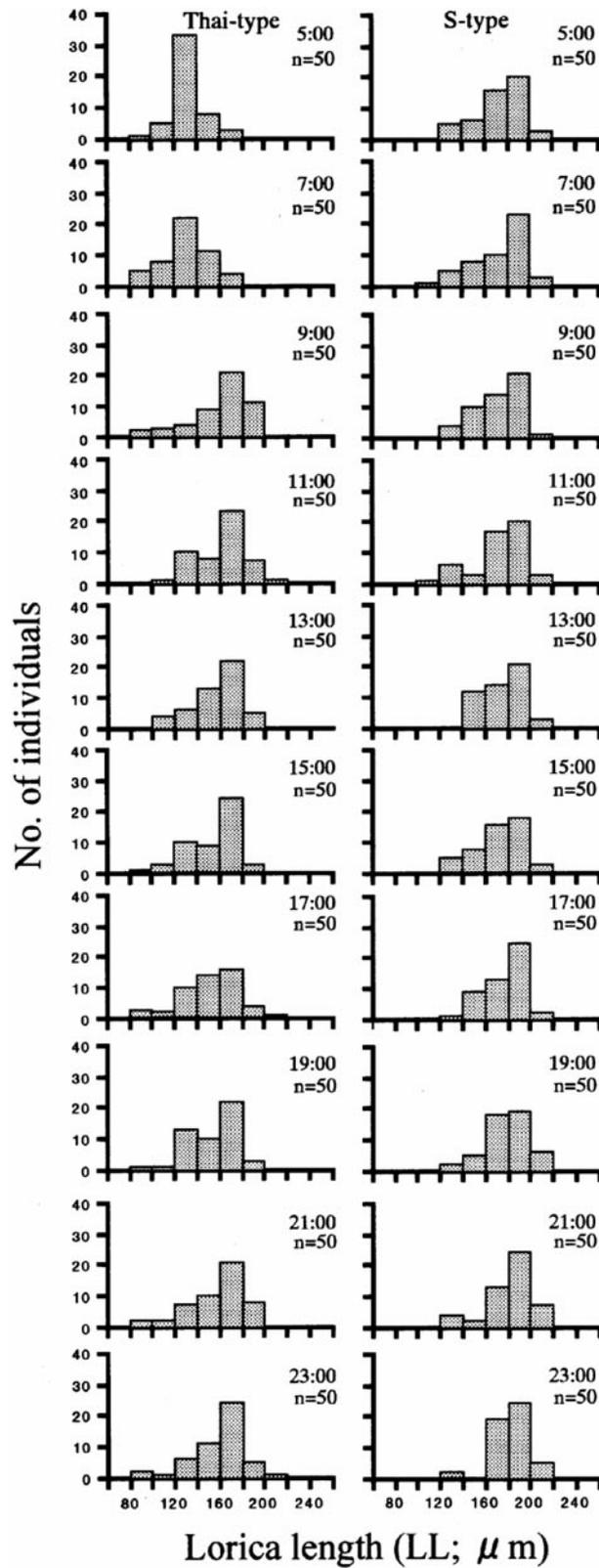


Fig. 4-3. Comparison of size distribution between Thai and S-type rotifer of lorica length (LL) used in the first experimental trial on 3 days after hatching.

齢(7時)と4日齢(7時)のタイワムシ給餌区とSワムシ給餌区の仔魚の全長と口幅長を測定し、両区のそれぞれの値を *t* 検定で調べたところ、いずれも有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。従って、ここでは両区の両者の値を平均化して示すと、3日齢の平均全長と平均口幅長はそれぞれ  $2.29 \pm 0.11 \text{mm}$  ( $n=119$ ) と  $212.8 \mu\text{m} \pm 13.9$  ( $n=119$ )、また4日齢ではそれぞれ  $2.32 \pm 0.11 \text{mm}$  ( $n=104$ ) と  $218.5 \mu\text{m} \pm 18.7$  ( $n=104$ ) であった。さらに、2回目の試験についても1回目と同様に両区の仔魚の全長と口幅長には *t* 検定では有意差がなかった ( $P > 0.05$ )。従って、両者の値を平均化して示すと3日齢の平均全長と平均口幅長はそれぞれ  $2.25 \pm 0.10 \text{mm}$  ( $n=107$ ) と  $199.2 \mu\text{m} \pm 16.3$  ( $n=107$ ) であった。4日齢の全長と口幅長はそれぞれ  $2.21 \pm 0.13 \text{mm}$  ( $n=110$ ) と  $208.4 \mu\text{m} \pm 15.9$  ( $n=110$ ) であった。さらに、3~4日齢における全長と口幅長の関係式を調べたところ、 $\text{MWL} = 102.25\text{TL} - 22.31$  ( $n=247$ ,  $r^2=0.57$ ) となった。ここで、MWLは口幅長、TLは全長、 $n$ は測定尾数、および  $r$ は相関係数を示す (Fig. 4-2)。

**ワムシの背甲長組成の変化** 1回目の試験の3日齢の5~23時に測定したタイワムシ給餌区とSワムシ給餌区における飼育水中のワムシ背甲長組成の経時変化を Fig. 4-3 に示した。タイワムシ給餌区のワムシ平均背甲長は  $150.7 \pm 24.7 \mu\text{m}$  ( $n=500$ , 平均±標準偏差) であった。タイワムシ給餌区のワムシ平均背甲長は5時と7時にはモードの中心が  $120 \sim 140 \mu\text{m}$  にあり、 $130 \mu\text{m}$  以下のワムシは全体の51%存在した。しかし、それ以外の時間帯では  $160 \sim 180 \mu\text{m}$  に中心があったが、各時間帯で  $80 \sim 100 \mu\text{m}$  サイズの小型ワムシが少なくとも2.8%は存在した。一方、Sワムシ給餌区のワムシ平均背甲長は  $174.8 \pm 19.8 \mu\text{m}$  ( $n=500$ ) となり、 $130 \mu\text{m}$  以下のワムシはタイワムシとは異なり全体の僅か7%しか存在せず、調査した全ての時間帯でタイワムシよりも有意に大きく ( $P < 0.01$ )、 $80 \sim 100 \mu\text{m}$  サイズの小型ワムシは0.1%以下しか存在しなかった。

2回目の試験においても3日齢の5~23時に測定したタイワムシ給餌区とSワムシ給餌区の飼育水中におけるワムシの背甲長組成の経時変化は1回目とほぼ同様であった。タイワムシ給餌区のワムシ平均背甲長は  $138.4 \pm 15.1 \mu\text{m}$  ( $n=500$ )、Sワムシ給餌区では  $162.3 \pm 22.6 \mu\text{m}$  ( $n=500$ ) となり、調査したすべての時間帯で前者の試験区のワムシ平均背甲長が後者のものよりも有意に小さかった ( $P < 0.01$ )。

**スジアラ仔魚のワムシ摂餌率の日内変動** 1回目の試験では両区ともに初期摂餌は、3日齢の7時に5%の割合で観察された。50%以上の平均摂餌率はタイワ

ムシ給餌区では9時に観察され、その際の仔魚の全長は  $2.46 \pm 0.10 \text{mm}$  ( $n=20$ , 平均値±標準偏差) であった。また、Sワムシ給餌区では2時間遅れて11時に50%以上の平均摂餌率が観察され、仔魚の全長は  $2.44 \pm 0.09 \text{mm}$  ( $n=20$ ) であった。両区ともに平均摂餌率は13~21時までは60~95%と高く推移したものの23時から急激に低下した (Fig. 4-4)。4日齢の7時以降は前日と同様な摂餌傾向を示した。

2回目の試験における初期摂餌はタイワムシ給餌区とSワムシ給餌区のいずれも9時に観察され、前者では5%、後者では15%であった。50%以上の平均摂餌率はタイワムシ給餌区で11時に観察され、その際の仔魚の全長は  $2.42 \pm 0.11 \text{mm}$  ( $n=20$ ) であった。また、Sワムシ給餌区では2時間遅れて13時に観察され、仔魚の全長は  $2.31 \pm 0.11 \text{mm}$  ( $n=20$ ) であった。両区の平均摂餌率は1回目と同様に21時以降からは急激に低下した。4日齢の7時以降は前日と同様な摂餌傾向を示した (Fig. 4-4)。一方、タイワムシのネガティブコントロール区では11時に初期摂餌が5%の割合で観察されたものの、摂餌率は上昇せずに0~15%と低めに推移した。

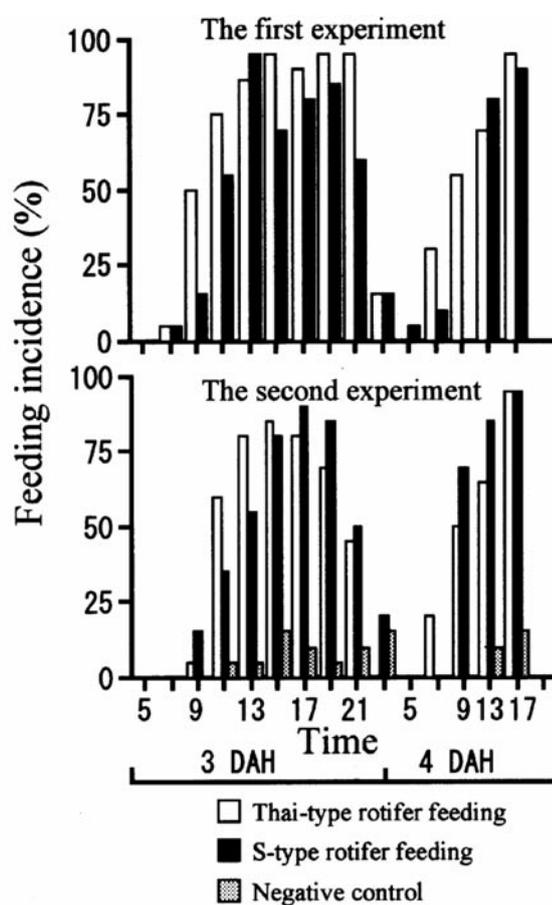
**仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数の比較** 両試験区間における仔魚1尾当たりの平均摂餌数の違いを調べるために、ワムシの摂餌率が50%を超えた時間帯について有意差の検定を行った。その結果、1回目の試験の3日齢では15時 ( $P < 0.01$ )、17時 ( $P < 0.05$ ) および19時 ( $P < 0.05$ ) の時間帯でタイワムシ給餌区の仔魚がSワムシ給餌区よりも有意にワムシを数多く摂餌していた。しかし、4日齢になるとワムシの摂餌数の有意差は各時間帯で認められなかった (Fig. 4-5)。

2回目の試験では3日齢の11時の時間帯でタイワムシ給餌区の仔魚がSワムシ給餌区よりも有意に多く摂餌していた ( $P < 0.01$ )。一方、タイワムシのネガティブコントロール区では、平均摂餌数は0.25個体/尾以下と他の2区よりも明らかに劣った。

**成長と生残** 1回目の試験終了時(5日齢)における平均全長はタイワムシ給餌区で2.59mm、また、Sワムシ給餌区では2.63mmとなり、両試験区間では差が認められなかった。2回目の試験では前者が2.50mm、後者が2.52mmとなり1回目と同様に大きさの違いは認められなかった (Table 4-2)。一方、試験終了時の生残を比較したところ、1回目ではタイワムシ給餌区で31.7%、Sワムシ給餌区では5.9%、また、2回目では前者が13.3%、後者が6.2%となり、いずれの試験でもタイワムシ給餌区の生残がSワムシ給餌区よりも高かった。一方、ネガティブコントロール

**Table 4-2.** Results of mass rearing trials for first feeding larvae of leopard coral grouper *P. leopardus*

Expt. no.	Trials. no.	Strains of rotifer	No. of larvae ( $\times 10^4$ )		Survival rate (%)	Total length (mm)	
			Initial	Final		Initial	Final
I	1	Thai-type	142.4	45.2	31.7	2.35 $\pm$ 0.10	2.59 $\pm$ 0.15
	2	S-type	146.7	8.7	5.9	2.35 $\pm$ 0.10	2.63 $\pm$ 0.22
II	3	Thai-type	125.3	16.7	13.3	2.28 $\pm$ 0.09	2.50 $\pm$ 0.26
	4	S-type	121.8	7.5	6.2	2.28 $\pm$ 0.09	2.52 $\pm$ 0.16
	5	Thai-type (negative control)	127.5	0	0.0	2.28 $\pm$ 0.09	—

**Fig.4-4.** Differences in feeding incidence of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae maintained in three different feeding conditions: Thai-type rotifer, S-type rotifer, and negative control tanks on 3-4 days after hatching.

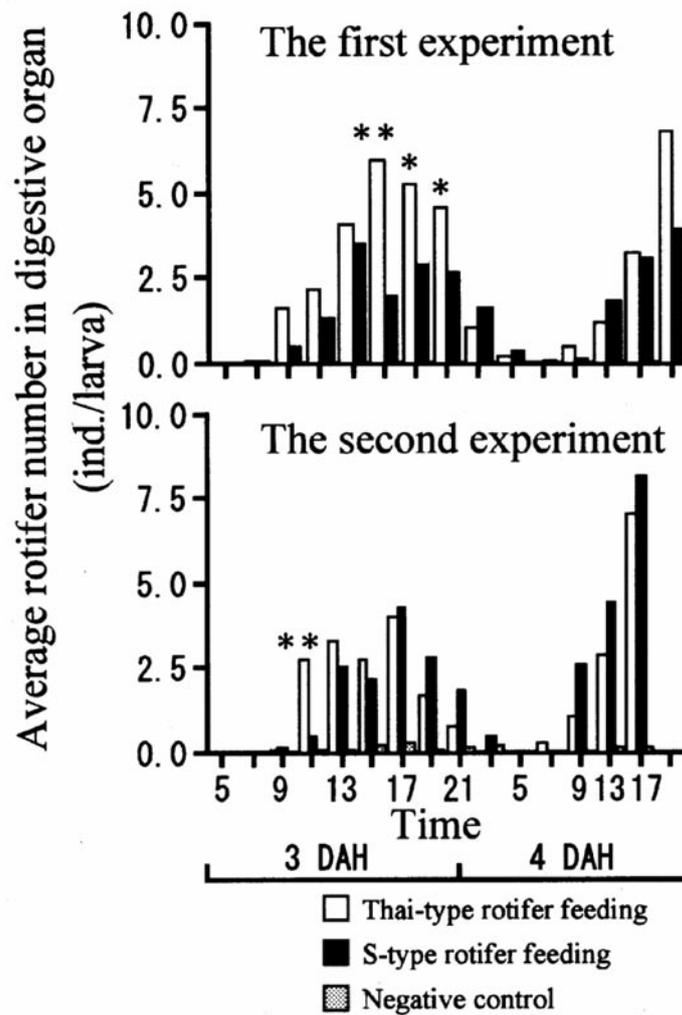


Fig.4-5. Differences in average rotifer number in the gut of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae maintained in three different feeding conditions: Thai-type rotifer, S-type rotifer, and negative control tanks on 3-4 days after hatching. \*, Significant difference at  $P < 0.05$  and \*\*, significant difference at  $P < 0.01$ , respectively.

区では5日齢に全滅した (Table 4-2)。

**トリプシン活性値の日内変動** 2回目の試験におけるタイワムシ給餌区, Sワムシ給餌区およびネガティブコントロール区のトリプシン活性値の日内変動を Fig. 4-6 に示した。タイワムシ給餌区とネガティブコントロール区では3日齢の9時に, Sワムシ給餌区では同日の11時に活性値のピークが見られた。また, ネガティブコントロール区では同日の11時に, タイワムシ給餌区では同様に21時, およびSワムシ給餌区では同様に23時に活性値が最も低かった。4日齢ではタイワムシ給餌区とSワムシ給餌区では緩やかな増減を繰り返したが, ネガティブコントロール区では13時に

顕著な活性の上昇が観察された。

タイワムシ給餌区, Sワムシ給餌区およびネガティブコントロール区の3試験区における平均のトリプシン活性値と仔魚1尾当たりの平均摂餌数との関係を調べた。これらの試験区の相関係数はそれぞれ  $r^2=0.006$ ,  $r^2=0.076$ , および  $r^2=0.016$  となり, いずれの試験区でも両者の間では相関は認められなかった。

#### 考 察

スジアラ仔魚の初回摂餌は1回目の試験では3日齢の7時, 2回目の試験では9時に両試験区で同時に観

察された。しかし、仔魚のワムシ摂餌率が50%に到達する時間帯は試験区間で異なり、タイワムシ給餌区がいずれの試験でも2時間早かった (Fig. 4-4)。また、3日齢における仔魚1尾当たりの平均摂餌数を両試験区間で比較したところ、1回目の試験ではタイワムシ給餌区の仔魚が13、15および17時の時間帯で、2回目の試験では11時の時間帯でSワムシ給餌区の仔魚よりも有意に多く摂餌していた (Fig. 4-5)。タイワムシ給餌区のワムシ平均背甲長のモードを観察すると、初回摂餌が見られた3日齢の7時にはモードの中心が120~140  $\mu\text{m}$  にあり、約半分 (51%) の個体が130  $\mu\text{m}$  以下の小型ワムシであったが、9時以降のモードは160~180  $\mu\text{m}$  に移行した。この理由はスジアラ仔魚が130  $\mu\text{m}$  以下の小型サイズのワムシを選択的に摂餌し、その結果として、大型のワムシが飼育水中に取り残され、タイワムシの背甲長のモードが160~180  $\mu\text{m}$  に移行したものと推察された。これに対して、Sワムシ給餌区のワムシ平均背甲長のモードの中心は160~180  $\mu\text{m}$  にほぼ一定しており、タイワムシのように小型サイズから先に摂餌されている兆候は観察されなかった。実際、升間・竹内 (2001) は開口当日の3日齢のスジアラ仔魚を試験に供し、3タイプのワムシ (タイワムシ、Sワムシ、L型ワムシ) を給餌し、仔魚のワムシサイズに対する Ivlev の摂餌選択指数を求め、平均背甲長130  $\mu\text{m}$  のワムシを選択的に摂餌したと報告しており、本章の結果と良く一致した。また、田中ら (2005) は、マハタを供試魚として用い、Chesson の餌選択指数により仔魚のサイズによるワムシ類の摂餌選択性を調べ、4日齢の仔魚では平均背甲長 $121.5 \pm 15.2 \mu\text{m}$  の小型ワムシを選択的に摂餌し、発育に伴い小型サイズのワムシから大型サイズのワムシへと摂餌選択性が移行したと報告している。また、スジアラでは4日齢になるといずれの試験でもその摂餌数に両試験区間で有意差が認められなかったのは、ワムシタイプの違いに関係なくスジアラ仔魚が平均背甲長162  $\mu\text{m}$  程度のSワムシでも摂餌できる能力を備えるようになったものと推察でき、その際の仔魚の平均全長と平均口幅長はそれぞれ2.26mm ( $n=214$ ) と213.5  $\mu\text{m}$  ( $n=214$ ) であった。

スジアラ仔魚の3~4日齢における摂餌の日内変動は、1回目と2回目の試験で両試験区ともに同じような傾向を示した。すなわち、3日齢の7~9時に初回摂餌が認められ、その後仔魚1尾当たりの摂餌数は緩やかに上昇し、15~17時にピークに達した。17~21時にかけては急速に摂餌が低下し、23~7時の間では摂餌が認められなかった。翌日の7時以降からは再び摂餌を開始し、それ以降については前日とほぼ同様

な摂餌状況を示し、光に同調して朝方から摂餌を始めて夕方に1回のピークを示すような日内変動が顕著であった。すなわち、スジアラ仔魚では初回摂餌の早い段階から摂餌リズムを有することが示唆された (Fig. 4-4, 5)。このような初期の摂餌生態はクロマグロ *Thunnus thynnus* でも報告されており (Sawada *et al.*, 2000)、摂餌行動が視覚情報に大きく左右される魚種として考察されている。これに対して、Atlantic cod *Gadus morhua* 仔魚では、24時間の恒明条件を施すことによって餌料生物との遭遇回数が増すことにより、0~28日齢までは成長、生残および消化管の充満度の面から良好であったとの報告がなされており、とりわけ、初期の摂餌生態は種間によって異なると論じられている (Puvanendran and Brown, 2002)。

今回本種で初めて測定したトリプシン活性値はいずれの試験区においても3日齢の9~11時において活性のピークが認められ、ピークに達した後は漸減傾向を示した。この理由として、摂餌開始直後の仔魚では摂取した餌を完全に消化できるほどの酵素の合成・分泌が進行していなかったと推察される。しかし、4日齢の7時以降はいずれの試験区でも活性の緩やかな上昇が認められたことから摂取したワムシを消化するには充分量の酵素が分泌されているものと考えられる。一方、24時間の恒暗条件で摂餌数が少なかったネガティブコントロール区においては活性値のピークは3日齢の9時と4日齢の13時に2回認められ、しかも、4日齢のピークの活性値はタイワムシ給餌区とSワムシ給餌区の値よりも高かった。その理由は特定できていないが、ネガティブコントロール区では給餌区に比べてワムシの摂餌数が極端に少なく、消化酵素の分泌が少なかったことが1つの要因として考えられる。また、そのピークの時間帯が24時間の恒暗条件であるにも関わらずタイワムシとSワムシ給餌区と同様な傾向を示したことは注目に値し、今後さらに詳しい検討が必要である。

試験終了時の生残を試験区間で比較したところ、3日齢に有意に多くのワムシを摂餌していたタイワムシ給餌区の5日齢の生残がSワムシ給餌区よりも高く推移しており、開口当日の摂餌が5日齢の生残に影響を及ぼしている可能性が認められた。この傾向を再確認するために、2000年に実施した本試験以外の種苗生産の飼育事例も含めて3日齢における仔魚の最大平均摂餌数と5日齢の生残との関係を調べた。本試験以外の飼育事例では全てタイワムシを給餌していたが、水温とワムシ密度の条件は本試験と少し異なっていた。その結果を Fig. 4-7 に示したが、両者の間には高い相関が認められ ( $r^2=0.71$ )、開口当日 (3日齢) におけ

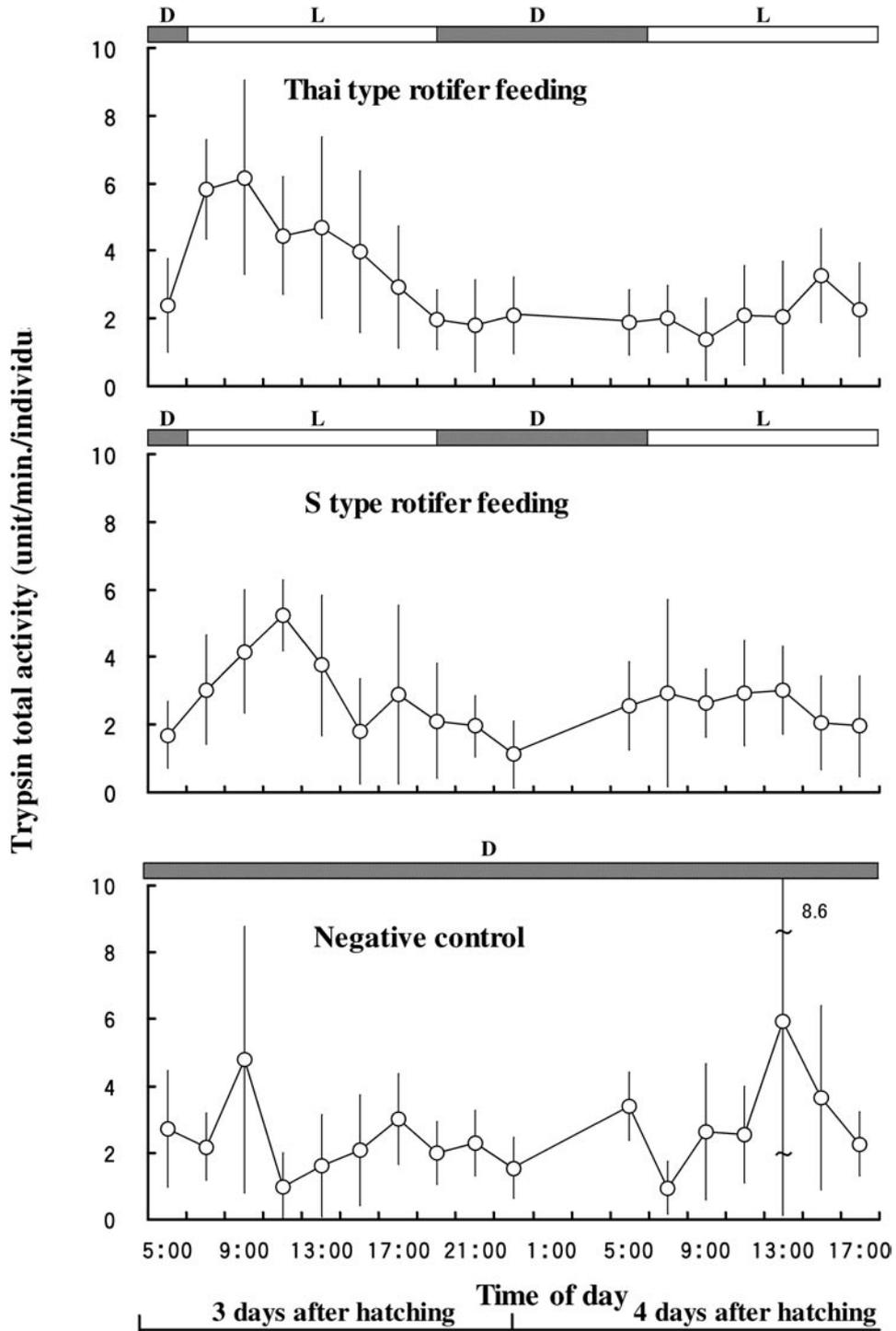


Fig. 4-6. Changes in total tryptic activities of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae fed rotifers of Thai-type, S-type, and negative control. Open circles and vertical bars represent the mean and standard deviations, respectively.

る摂餌数が5日齢の生残に大きく影響を及ぼしている可能性があり、今後本種の種苗生産技術開発を進めてゆく上での重要なポイントになる。実際、2回目の試験のネガティブコントロール区においては仔魚が50lx以下の暗条件下ではほとんど摂餌できずに5日齢で全滅していることから見ても、開口当日から翌日にかけての摂餌の有無と多寡がその後の生残に大きく影響を及ぼしていると推察できる。

ハタ類の摂餌生態については、これまでにキジハタ *E. akaara* (萱野・何, 1997), チャイロマルハタ *E. coioides* (Toledo *et al.*, 1997), アカハタ *E. fasciatus* (川辺, 1999), スジアラ *P. leopardus* (升間・竹内, 2001), およびマハタ (田中ら, 2005) などで報告されている。これ等の研究の中で、開口時の全長が $2.39 \pm 0.13\text{mm}$ と小さいキジハタでは、タイワムシの給餌期間は開口後2日間で充分と報告されている (萱野・何, 1997)。一方、開口時の全長が $2.77 \sim 2.92\text{mm}$ のアカハタでは開口時からSワムシ給餌の有効性が報告されており (川辺, 1999), また、マハタの $3.0\text{mm}$ 未満の仔魚は背甲長 $101 \sim 160 \mu\text{m}$ のワムシに正の選択性があり、特に $121 \sim 140 \mu\text{m}$ のワムシに強い正の選択性を示すとされ、開口時の全長と消化管内でのワムシ背甲長の大きさから給餌するワムシのタイプが選択されている (田中ら, 2005)。

本種は水温 $28^\circ\text{C}$ では3日齢に開口し、摂餌開始前に卵黄と油球を完全に吸収することが知られている (第3章)。このように内部栄養を開口当日に速やかに吸収するような魚種にとっては、上述したように開口当日の摂餌率や摂餌数などがその後の生残に大きく影響を与えていると考えられる。とりわけ、初回摂餌の

際により小型の餌料を選択的に摂餌するような仔魚では、サイズの小さいタイワムシを給餌することが仔魚の初期生残および成長に対して有効であると考えられる。

#### 第5章 異なる日周条件がスジアラ *Plectropomus leopardus* 仔魚の初期摂餌、初期生残および消化酵素活性に及ぼす影響

第4章では、ハタ類の飼育条件の中でも重要な要因となる初期餌料のワムシを例にとり、量産規模でサイズの異なる2タイプのワムシがスジアラ仔魚の摂餌生態、初期生残、およびトリプシン活性に与える影響を調べ、初期餌料となるワムシタイプとサイズが摂餌開始時の仔魚の摂餌率に影響を与え、さらに、3日齢の摂餌数が5日齢の生残に大きく関与していることを明らかにした。

多くの海産仔稚魚は視覚による摂餌を行い、摂餌率は光の強度によって向上すると報告されている (Blaxter and Stain, 1970; Hunter, 1981; Blaxter, 1986)。また、実験室レベルでの日周条件、とりわけ、長日処理が海産仔稚魚の摂餌生態、生残および成長に及ぼす効果は魚種によって異なっている (Blaxter, 1975; MacFarland, 1986; Batty, 1987; Bolla and Holmefjord, 1988; Duray and Kohno, 1988; Downing and Litvak, 1999)。

そこで本章では、スジアラの初期生残を向上させることを目的とし、異なる日周条件が仔魚の摂餌生態、初期生残およびトリプシン活性に与える影響を量産規模で検証するとともに、本試験で適正と考えられた日

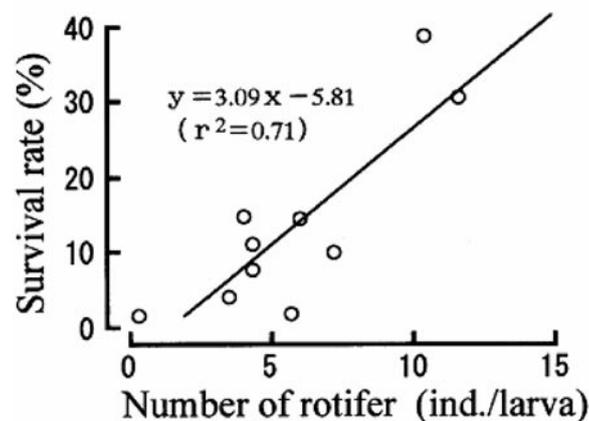


Fig. 4-7. Relationship between maximal number of rotifer eaten by a larva on three days after hatching and survival rate on five days after hatching in leopard coral grouper *P. leopardus* larvae.

周条件での実用化試験を実施した。

## 材料と方法

### 1. 日周試験

**親魚と卵の回収** 産卵に供した親魚と卵の回収方法については、本研究の第4章に準じた。自然産卵によって得られた180万粒の受精卵を紫外線処理海水で洗卵後に、陸上の60kL八角型コンクリート水槽へ等分に分けて収容した。

**試験区の設定と仔魚の飼育方法** 本試験は(社)日本栽培漁業協会八重山事業場(以下、八重山事業場;現、(独)水産総合研究センター八重山栽培漁業センター)で2001年に室内の60kL八角型コンクリート水槽3面を用いて実施した。対照区は水槽上面に遮光率99%の寒冷紗を設置し、照度は自然条件とする区を設けた(1区)。この状態では天井部からの直射日光は遮断されるが、水槽側面からの日光は入射する。他の2試験区については、鉄パイプで水槽周りに枠を組み立て、それに1区と同じ材質の寒冷紗を二重に覆って光りを完全に遮断した。この中に蛍光灯4基8本(36W×8)を水槽中央部に2組設置し、水槽表面で約1,000lx程度の照度が維持できるようにした。この照度条件に、2区では24時間の恒明条件、3区では0~6時と12~18時を明条件、また、6~12時と18~24時を暗条件としてタイマーで調整した(Table 5-1)。

2区のねらいは、開口直後から24時間の恒明条件を設けて仔魚の摂餌を早めさせることと摂餌可能な時間を増やすこと、また、3区は明暗の日周条件を任意に1日2回繰り返し、その日周に同調させて摂餌させることをねらいとした(Table 5-1)。なお、八重山事業場における試験期間中の自然の明暗周期は6時から19時までの13時間が明期、また、19時から6時までの11時間が暗期となっている。

本試験では、卵収容から試験終了まで水温は自然条件、ワムシの飼育水中の密度は10個体/mL、換水方法は終日30%/日の流水方式とした。また、市販の

冷蔵濃縮ナンノクロプシス *Nannochloropsis* sp. (メルシャン)の添加は飼育水中の密度50万 cells/mLを基準として行った。タイワムシの給餌は全ての飼育事例で仔魚が開口し摂餌を始める前日の日齢2の16時に行い、3~5日齢は10時と15時の1日2回飼育水中のワムシ密度を計数後に基準量の不足分を追加した。また、6日齢からはS型ワムシをタイワムシの給餌方法と同じ基準で給餌した。タイワムシとSワムシの栄養強化方法は第4章に準じた。生残尾数は、0, 3, 4日齢および6日齢の4回夜間にφ40mmの塩化ビニール製パイプを用いて水槽内の6ポイントから約20Lを採水し、容積法により算出した。

**試料の採取と測定方法** ふ化仔魚の摂餌開始日となる3日齢の3時から翌日の21時まで、22~2時の時間帯を除いて3~9時までは3時間間隔、9~21時までは6時間間隔で飼育水中の水温、水面下10cmと100cmにおける水中照度(ALM-1, Alec)を測定し、各測定時における試料の採取と測定方法については、第4章に準じた。

**トリプシン活性の分析** 3~4日齢と6~7日齢における各試験区の仔魚の消化酵素活性の分析方法は第4章に準じた。

**統計処理** 各試験区間における仔魚1尾当たりの摂餌数と取り上げ時の全長の差は、一元配置の分散分析で有意差が認められた場合に限り、多重比較検定(Fisher's PLSD法)で試験区間の有意差の検定を行った。有意水準は5%とし、有意差が認められた値についてのみは1%で再度検定を行った。

### 2. 量産規模の実用化試験

**親魚と卵の回収** 産卵に供した親魚と卵の回収方法については、本論文の第3章に準じた。自然産卵によって得られた受精卵を事例1では61.0万粒、事例2では56.4万粒および事例3では93.8万粒を紫外線処理海水で洗卵後、陸上の60kL八角型コンクリート水槽へそれぞれ収容した。

**飼育方法** 上述した日周の試験条件を応用した実用

Table 5-1. Experimental conditions of mass rearing trials for first feeding larvae of leopard coral grouper *P. leopardus*

Expt. no.	Photoperiod	Time of light regimes	No. of Electric light (36w)	Condition of black screen
1	Ambient	6-18	None	Covered only at the upper interior surface of tank
2	L:D=24:0	0-24	Sixteen	Covered completely with black screen
3	L:D:L:D=6:6:6:6	0-6, 12-18	Sixteen	Covered completely with black screen

化試験を2002年に実施した。試験は室内の60kL八角型コンクリート水槽3面を用い、いずれの水槽でも照度、日長、および給餌条件を統一した飼育方法で行った。水槽上面には遮光率99%の寒冷紗を設置し、0～2日齢までは終日全閉、3日齢以降は終日半閉の条件とした。0～4日齢は蛍光灯4基8本(36W×8)を水槽中央部に2組設置し、24時間の恒明条件とした電照飼育を行った。5～7日齢は自然の明暗周期に合わせた電照飼育を行い、7～18時を明条件、18～7時を暗条件としてタイマーで調整した。8日齢以降は電照を中止し、照度は自然条件とした(Table 5-2)。水温は卵収容から試験終了までは温水ボイラーを用いて水槽壁面に設置したチタン配管内に温水を循環させ、28℃に調温した。飼育開始当初から水槽への注水を行い、卵収容からふ化までは1日当たり全体の100～200%を目安に換水した。1～5日齢、6～10日齢、11～20日齢および21～43日齢までは、それぞれ、1日当たり全体の30%、50%、75～100%および150～300%を目安に換水した。また、市販の冷蔵濃縮ナンノクロプシス *Nannochloropsis* sp. (メルシャン) の添加は上記の日周試験に準じた。実用化試験の餌料にはタイワムシ、Sワムシ、アルテミア *Artemia* sp. (米国ユタ州ソルトレイク産, INVE) のノープリウス幼生 (以下、

アルテミア) および市販の配合飼料 (協和発酵) を用い、それぞれ、2～5日齢、6～39日齢、11～42日齢および12～43日齢の期間与えた。給餌基準はタイワムシとSワムシは20個体/mL、アルテミアは0.1～0.3個体/mL および配合飼料は50～500g/日/60kLとした。タイワムシとSワムシはいずれもスーパー生クロレラ (クロレラ工業, 1.5L/10億個体) で6～22時間、アルテミアはドコサDHAオイル (USC, 50mL/kL) で6～22時間の栄養強化後に給餌した。

## 結果

### 1. 日周試験

本試験では3～4日齢と6～7日齢における各観察時間の飼育環境、摂餌率、摂餌数、およびトリプシン活性の比較を容易にするために同じ時系列で示すこととした。

**飼育環境** 各試験区の水温、ワムシ密度、ナンノクロプシス濃度および水中照度を Table 5-3 に示した。水中照度を除いて、試験区間で大きな差異は認められなかった。試験期間中の水面下10cmの照度は1区で0～1,300lx、2区で475～648lx および3区では0～653lxの範囲で、水面下100cmの照度はそれぞれ

Table 5-2. Experimental conditions for mass rearing trials of *P. leopardus* in 2002

Trial no.	Condition of photoperiods			No. of Electric light	Condition of black screen at ceiling	
	0-4 DAH*	5-7 DAH*	8 DAH*<		0-2 DAH*	3 DAH*<
1	L:D=24:0	L:D=13:11	Ambient	Sixteen	Closed	Half closed
2	L:D=24:0	L:D=13:11	Ambient	Sixteen	Closed	Half closed
3	L:D=24:0	L:D=13:11	Ambient	Sixteen	Closed	Half closed

\*DAH: days after hatching.

Table 5-3. Results of experimental conditions for first feeding larvae of leopard coral grouper *P. leopardus* such as water temperature, rotifer and *Nannochloropsis* sp. densities and light intensities at the depth of 10 cm and 100 cm from the water surface during experimental periods

Expt. No.	Water temperature * <sup>1</sup> (°C)	Rotifer density * <sup>1</sup> (ind./mL)	<i>Nannochloropsis</i> sp. * <sup>1</sup> density (×10 <sup>4</sup> /mL)	Light intensities at the depth (lx) * <sup>2</sup>	
				10cm	100cm
1	27.4±0.4	7.6±3.8	24.4±17.6	266(0～1303)	155(0～310)
2	27.3±0.5	8.7±4.1	24.7±18.7	571(475～648)	300(231～345)
3	27.7±0.8	6.8±3.6	19.8±13.9	272(0～653)	140(0～328)

\*<sup>1</sup>: mean ± standard deviation.

\*<sup>2</sup>: mean value (min.～max.).

れ、0~310lx, 231~345lx および0~325lxの範囲で推移した (Fig. 5-1)。

**スジアラ仔魚の平均摂餌率の日内変動** 本試験における初期摂餌は24時間恒明条件とした2区で3日齢の6時に50%の割合で、ついで、対照区となる1区は同日の9時に25%の割合で観察された。6時間間隔で明と暗条件を1日2回繰り返した3区は同日の15時に90%の割合で最も遅く観察された。50%以上の平均摂餌率は2区で9時に70%の割合で最も早く観察され、その際の仔魚の全長は $2.66 \pm 0.13\text{mm}$  ( $n=20$ , 平均値 $\pm$ 標準偏差)であった。次に、1区が2区よりも9時間遅れて15時に100%の割合で観察され、その際の仔魚の全長は $2.56 \pm 0.10\text{mm}$  ( $n=20$ )であった。また、3区では1区と同時間に90%の割合で観察され、その際

の仔魚の全長は $2.67 \pm 0.11\text{mm}$  ( $n=20$ )であった (Fig. 5-2-A)。

3~4日齢における各試験区間の平均摂餌率には統計的な有意差は認められなかったが、その平均値は2区が61.7%と最も高く、1区では41.7%、3区では40.0%であった。また、50%以上の平均摂餌率を各試験区間で比較してみると、2区では3日齢の9時、15時、4日齢の4時、9時および15時の合計5回、昼夜を問わず観察されたのに対し、1区では、3日齢の15時、4日齢の9時および15時の合計3回、すべて日中に、また、3区では、3日齢の15時、21時および4日齢の15時の合計3回、明条件の時間帯に限り観察された (Fig. 5-2-A)。

6~7日齢についても同様に調べたところ、1区

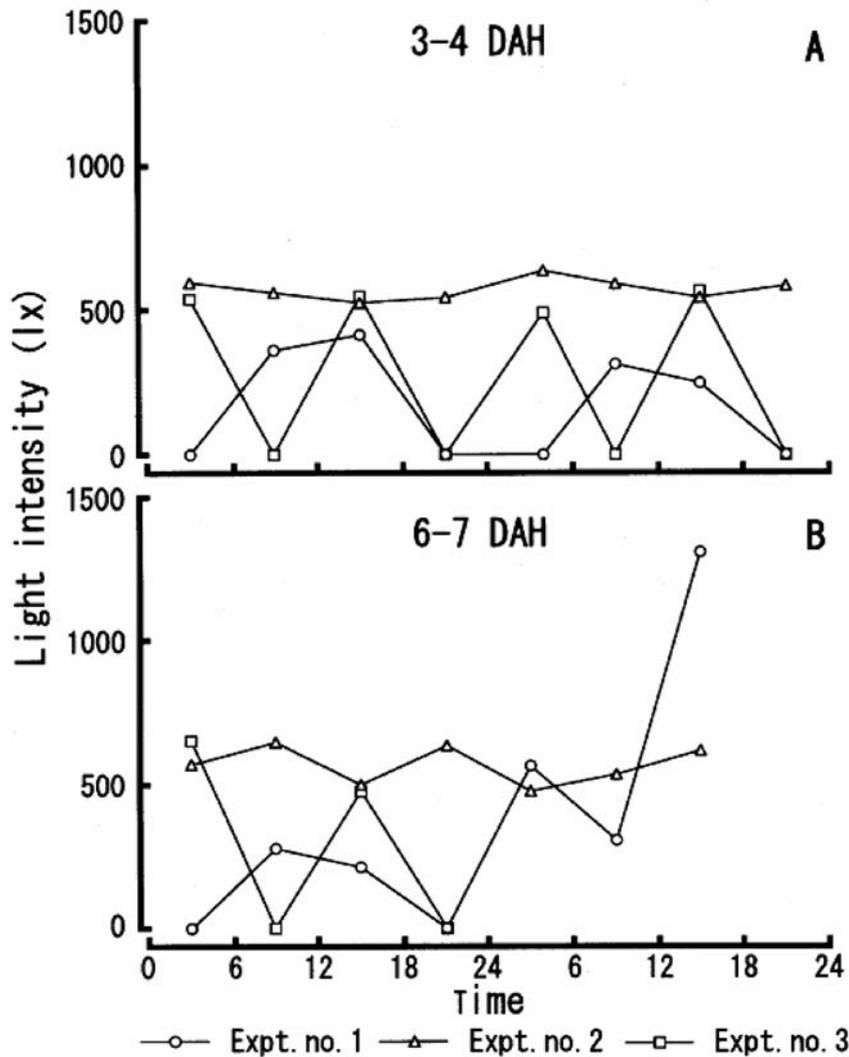


Fig. 5-1. Light intensities at the depth of 100 cm from the water surface between 3-4 (A) and 6-7 (B) days after hatching.

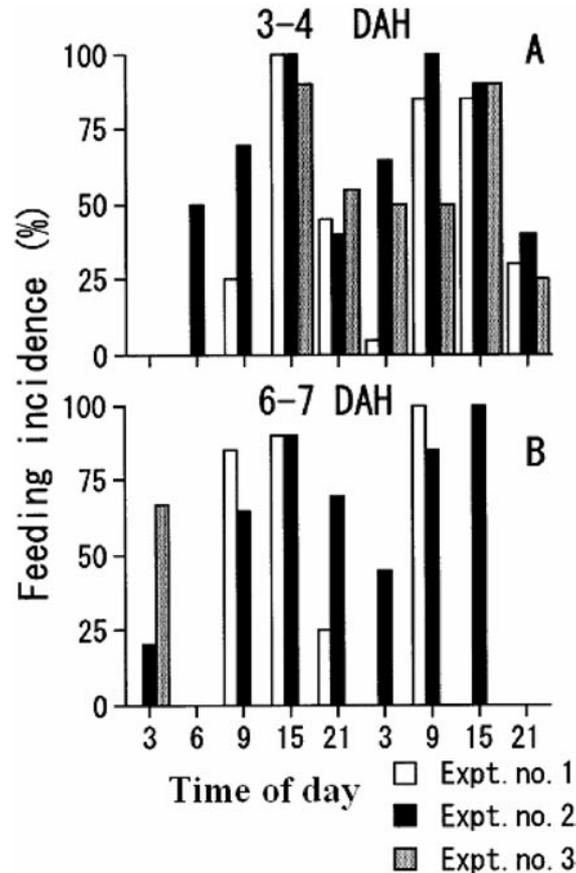


Fig. 5-2. Differences in feeding incidence of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae reared in three different photoperiods: ambient (no.1), 24 Light tank (no.2), 6 Light repeating tank (no.3) between 3-4 (A) and 6-7 (B) days after hatching.

と2区では3～4日齢と同じ回数が観察されたのに対し、3区は6日齢の明条件となる3時に1回観察され、それ以降については減耗が大きく仔魚のサンプリングが不可能となり、平均摂餌率を調べることができなかった (Fig. 5-2-B)。しかし、50%以上の平均摂餌率は試験期間中を通して、1区では日中に、2区では昼夜を問わず、3区では1区と同様に明条件の時間帯に限り観察された。

**仔魚1尾当たりのワムシ平均摂餌数の比較** 3～4日齢における平均摂餌数は、1区では日周条件の水中照度に同調して、平均摂餌数が増加している傾向があった (Fig. 5-1-A, Fig. 5-3-A)。このため、3～4日齢における平均摂餌数と水面下10cmの照度との関係について相関係数を求めたところ、1区のみは $r=0.66$ となって有意な相関 ( $P<0.05$ ) が認められた。これに対して、他の2試験区では両者間で相関がなかった。

3～4日齢における1区の平均摂餌数は、15時に摂餌のピークが1回あって日中に摂餌数が高く、21～4時の夜間には1個体/尾以下と低かった。2区の3日齢における平均摂餌数は、1区と同様に15時に摂餌のピークが観察されたのに対し、夜間においても1個体/尾以上の摂餌が見られ、4日齢では摂餌のピークが前日より6時間早く進んで9時に観察された。3区では1区とほぼ同様な傾向を示し、3～4日齢は15時に摂餌のピークが観察されたが、平均摂餌数は3試験区間で最も低く推移した (Fig. 5-3-A)。

6日齢の平均摂餌数は1区と2区ではほぼ同様な傾向を示し、両区ともに摂餌のピークは15時に観察された。7日齢の2区では3時から15時にかけて平均摂餌数が1.4から12.5個体/尾と急激に上昇したが、1区では9時以降は減耗が大きすぎてサンプリングできず平均摂餌数を調べることができなかった (Fig. 5-3-B)。3区では6日齢の3時以降は1区と同じ理由で

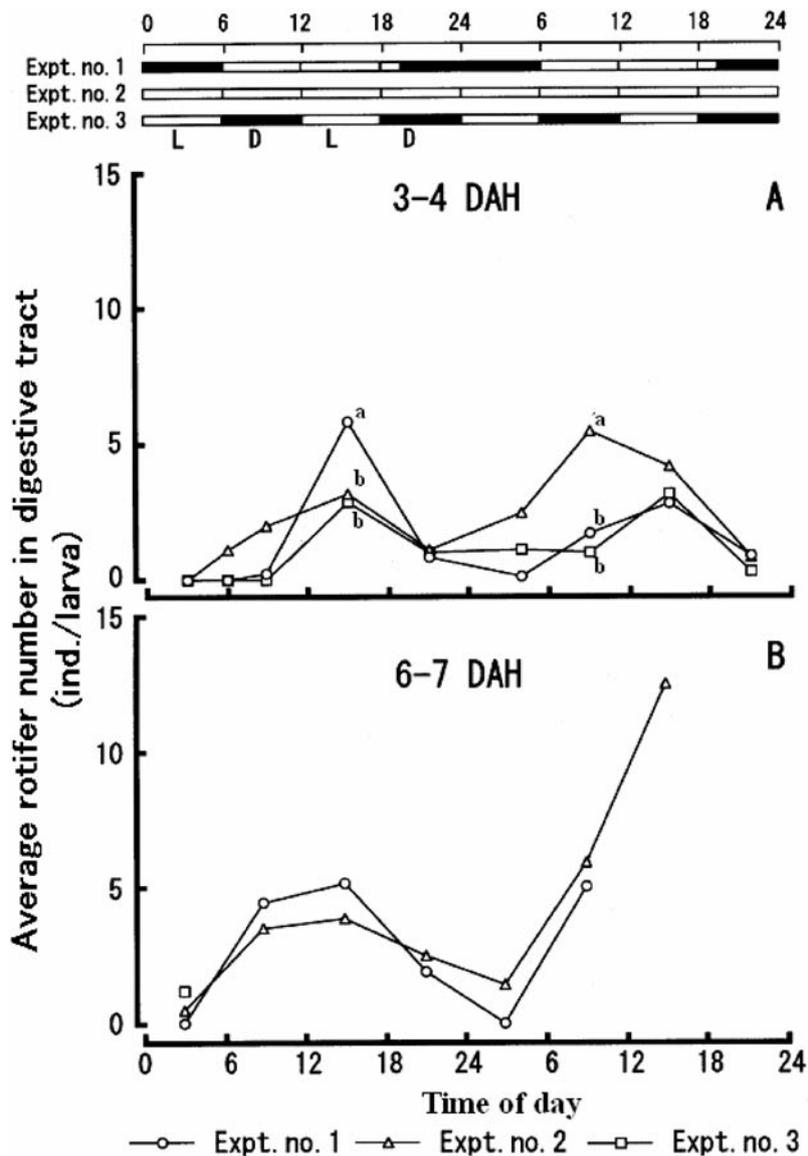


Fig. 5-3. Differences in average rotifer number in the gut of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae reared in three different photoperiods: ambient, 24 Light tank, and 6 Light repeating tank between 3-4 (A) and 6-7 (B) days after hatching. Different letters represent significant difference among Expt.no.1-3 (Fisher's PLSD test,  $a > b$ ,  $P < 0.01$ ).

測定できなかった。

各試験区間における平均摂餌数の違いを見るために、平均摂餌率が50%を超えた3日齢の15時、4日齢の9時と15時および6日齢の9時と15時の合計5つの時間帯について有意差を調べた。その結果、3日齢の15時と4日齢の9時についてのみは、試験区間で有意差が認められ、3日齢の15時には、1区が2区と3区よりも有意に多く摂餌していたが ( $P < 0.01$ )、4日

齢の9時には2区が1区と3区よりも有意に多く摂餌していた ( $P < 0.01$ )。

**トリプシン活性値の日内変動** 3~4日齢における各試験区間のトリプシン活性値を調べたところ、3日齢のトリプシン活性は、いずれの試験区においても3時から9時にかけては緩やかに上昇した。4日齢においては1区と3区では同じような傾向、すなわち0.05から0.48unit/min./ind.の範囲で低めに推移した

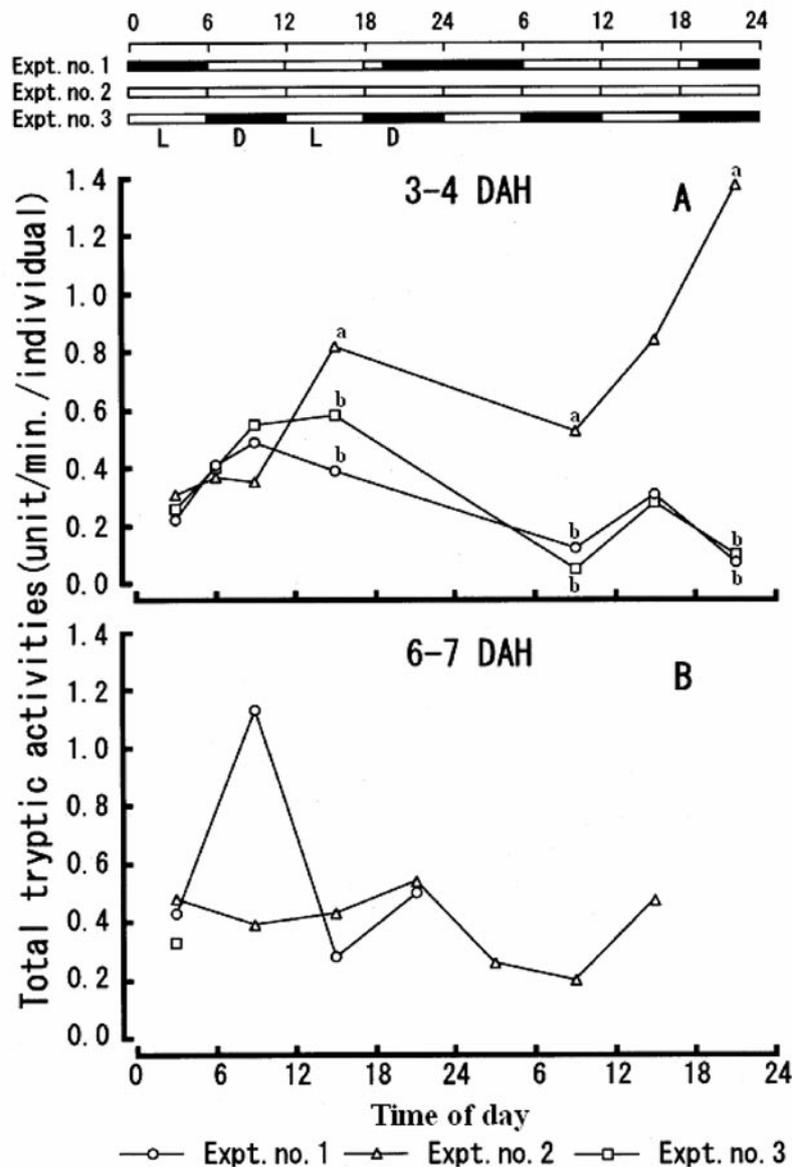


Fig. 5-4. Changes in total tryptic activities of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae reared in three different photoperiods: ambient, 24 Light tank, and 6 Light repeating tank between 3-4 (A) and 6-7 (B) days after hatching. Different letters represent significant difference among Exp.no.1-3 (Fisher's PLSD test,  $a > b$ ,  $P < 0.01$ ).

が、2区では4日齢の9時から21時にかけてその値が0.53から1.37unit/min./ind.まで急激に上昇した (Fig. 5-4-A)。

6日齢の3時におけるトリプシン活性値は、3試験区間で大差なかった。しかし、1区ではその値が3時から9時にかけて0.48から0.89unit/min./ind.へと急激に上昇したのに対し、2区では6日齢の21時と7日齢の15時に緩やかに活性値が0.17から0.47unit/min./ind.

へ上昇した (Fig. 5-4-B)。一方、3区では6日齢の3時以降は減耗が大きくてサンプリングできずに分析できなかった。

3～4日齢における各試験区間のトリプシン活性値を比較したところ、3日齢の15時、4日齢の9時および15時については有意差があり、2区が1区と3区よりも有意に高く ( $P < 0.05$ )、1区と3区では有意差がなかった。6～7日齢にかけては3区のサンプリン

グができなかったために、トリプシン活性の有意差の検定は行わなかった。

3 試験区における平均のトリプシン活性値と仔魚1尾当たりの平均摂餌数との関係を調べたところ、いずれの試験区でも両者の間で有意な相関は認められなかった。

**成長と生残** 試験終了時（6日齢の15時）の成長と生残の結果を Table 5-4 に示した。試験終了時の平均全長は1区で2.80mm、2区で3.32mmとなり、2区が1区よりも有意に大きかった ( $P < 0.01$ )。これに対して、3区は減耗が大きく測定用のサンプルが得られなかった。一方、6日齢までの生残を比較したところ、1区と3区は3日齢から6日齢にかけて急激な減耗があり、6日齢の生残率はそれぞれ8.7%と1.5%であった。これに対して、2区では3日齢から6日齢にかけては大きな減耗が見られず、6日齢の生残は69.4%と高く、平均全長と同様に生残でも3試験区の中では2区が最も優れていた (Fig. 5-5)。

## 2. 実用化試験

**飼育結果** 3事例における3日齢から5日齢までの摂餌状況を Fig. 5-6 に示した。いずれの事例においても平均摂餌数の日内変動は同様な傾向を示し、6時

前後から摂餌を始めて、夕方の18時前後に摂餌のピークが認められた。また、ふ化から取り上げまでの成長は3事例で多少異なり、取り上げ前後の40日齢の平均全長は事例1 ( $23.3 \pm 2.13\text{mm}$ ) と2 ( $24.3 \pm 2.32\text{mm}$ ) が事例3 ( $20.1 \pm 0.22\text{mm}$ ) よりも有意に大きかったがその原因は特定できなかった ( $P < 0.01$ , Fig. 5-7)。一方、10日齢までの初期生残は事例3では今回行った日周試験の2区と同様な傾向を示したが、その他の事例1と2では開口までの減耗が大きく、事例3とは異なっており、その原因を特定できなかった (Fig. 5-8)。しかし、開口までの初期減耗が観察されても事例1と2では取り上げまで飼育を継続することができ、これら3回の実用化試験で、平均全長22.6mmの種苗を合計33,477尾取り上げ、生残率は2.7~2.9%と安定していた (Table 5-5)。

## 考 察

スジアラ仔魚の初回摂餌は24時間恒明条件を施した2区で、対照区の1区よりも3時間、明暗条件を6時間間隔で1日2回繰り返した3区よりも9時間早く生じた。また、3~4日齢における50%以上の平均摂餌率は、1区と3区では前者が日中にのみ3回、後者が

Table 5-4. Results of mass rearing trials for first feeding larvae of leopard coral grouper *P. leopardus*

Expt. no.	Photoperiod	No. of larvae ( $\times 10^4$ )		Survival rate (%)	Total length (mm)*	
		Initial	Final		Initial	Final
1	Ambient	54.9	4.8	8.7	$2.30 \pm 0.11$	$2.80 \pm 0.14$
2	L:D=24:0	66.3	46.0	69.4	$2.30 \pm 0.11$	$3.03 \pm 0.17$
3	L:D:L:D=6:6:6:6	65.4	1.0	1.5	$2.30 \pm 0.11$	—

\*Total length: mean  $\pm$  standard deviation.

Table 5-5. Results of mass rearing trials of *P. leopardus* in 2002

Trial no.	Condition of photoperiods		No. of larvae		Survival rate (%)	Total length (mm)*		Experimental periods (days)
	0-4 DAH	5-7 DAH	Initial	Final		Initial	Final	
1	L:D=24:0	L:D=13:11	356,000	10,456	2.9	$2.29 \pm 0.10$	$23.3 \pm 2.13^a$	4.19-5.31 (42)
2	L:D=24:0	L:D=13:11	287,000	7,677	2.7	$2.33 \pm 0.14$	$24.3 \pm 2.32^a$	4.24-6.06 (43)
3	L:D=24:0	L:D=13:11	557,000	15,344	2.8	$2.23 \pm 0.11$	$20.1 \pm 0.22^b$	5.24-7.05 (42)
Total			1,200,000	33,477	2.8			

\*Total length: mean  $\pm$  standard deviation.

同じく3回明条件の時間帯に限定されて観察された。これに対して、2区の50%以上の平均摂餌率は昼夜を問わずに5回観察された (Fig. 5-2)。一方、平均摂餌数は3日齢の15時では対照区となる1区が2区と3区よりも有意に高かったが ( $P < 0.01$ ), 4日齢の9時では2区が1区と3区よりも有意に高くなっていた ( $P < 0.01$ )。試験終了時の生残では、2区が69.4%と3試験区間では最も高く、また、平均全長でも、2区が3試験区間では最も良好な成長を示した (Table 5-4)。これらの試験結果を総合的に見ると恒明条件とした2区が3試験区間では最も優れており、24時間の電照飼育が本種の生残と成長に対して効果があったと推察される。これは、本試験のねらい通りに仔魚の初回摂餌を早めさせ、かつ、摂餌の機会を対照区よりも増やすことに成功したと判断できる。これに対して、明暗条件を6時間間隔で1日2回繰り返し、日周リズムに併せて摂餌の機会を増加させることをねらいとした3区は、初回摂餌の時間が最も遅く、また、明暗の刺激による仔魚の浮上死亡も観察されたことから、この日周リズムは本種仔魚の成長と生残に対して悪影響を及ぼすことが明らかになった。この日周リズムでは初回摂餌の時間が15時と3試験区間で最も遅く観察されており、すなわち、本種では開口後速やかに摂餌できないと5日齢には全滅する結果と良く一致した (第3章, 第4章)。

24時間の恒明条件が仔魚の生残と成長に効果を及ぼ

した魚種として、アイゴ *Siganus guttatus* (Duray and Kohno, 1988), ヘダイの仲間 *Sparus aurata* (Tandler and Helps, 1985), および大西洋マダラ *Gadus morhua* (Puvanendran and Brown, 2002) が報告されている。これに対して24時間の恒明条件が仔魚の生残と成長に悪影響を及ぼした魚種では、ヨーロッパスズキ *Dicentrarchus labrax* (Barahona - Femades, 1979) が報告されている。

大西洋マダラ *G. morhua* (Puvanendran and Brown, 2002) では24時間, 18時間, および12時間明条件とした3種類の日周条件と300~2,400lxの異なった4種類の照度条件を用い、仔魚の摂餌生態, 成長および生残状況が調べられている。それによると, 2,400lxの照度条件と24時間の恒明条件で最も減耗率が低いと報告しているが, 24時間の恒明条件は28日齢以内に止めるべきであるとしており, 電照による効果には限界があることを言及している。実際, 本試験でも2区で4日齢の摂餌のピークが前日の15時から9時にシフトしているのが観察されており, 24時間の電照飼育によって, 本種では朝方から摂餌を始めて夕方に1回の摂餌のピークを迎え, 夜間には摂餌しないといった仔魚本来の摂餌リズムが狂わされている可能性もある。しかし, 本種仔魚は摂餌開始前に内部栄養を完全に吸収することから (第3章), 開口後速やかに摂餌できるかどうか5日齢の生残に大きく関与している。従って, 本試験の2区の結果が示すように初回摂

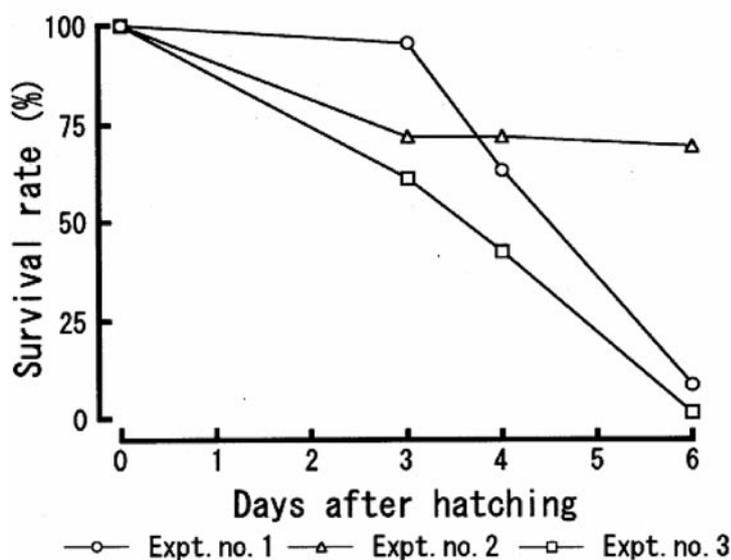


Fig. 5-5. Changes in survival rate of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae reared in three different photoperiods: ambient (no. 1), 24 Light tank (no. 2), and 6 Light repeating tank (no. 3) during experimental periods.

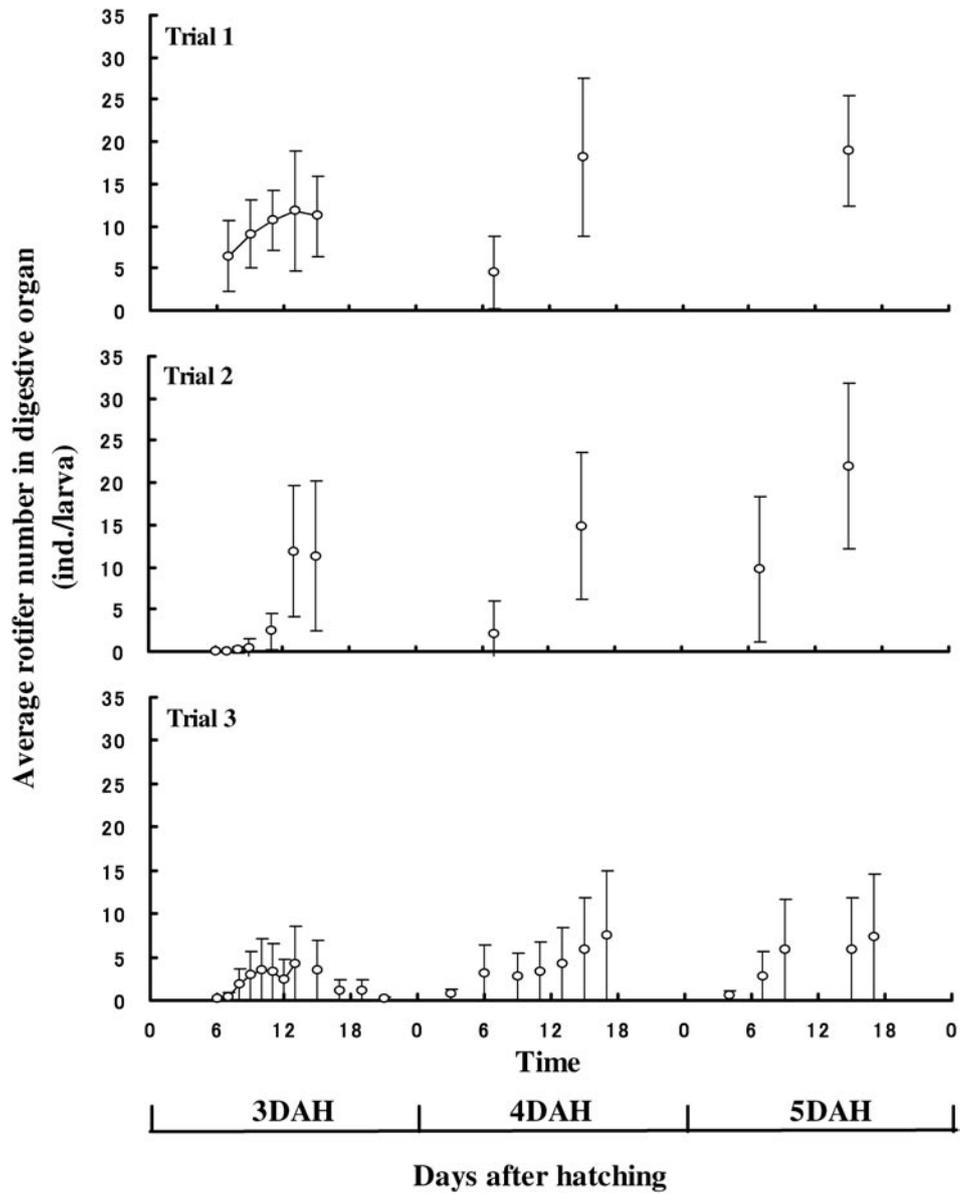


Fig. 5-6. Differences in average rotifer number in the gut of leopard coral grouper *P. leopardus* larvae reared in three experimental trial tanks on 3-5 days after hatching. Open circles and vertical lines indicate mean and standard deviation, respectively.

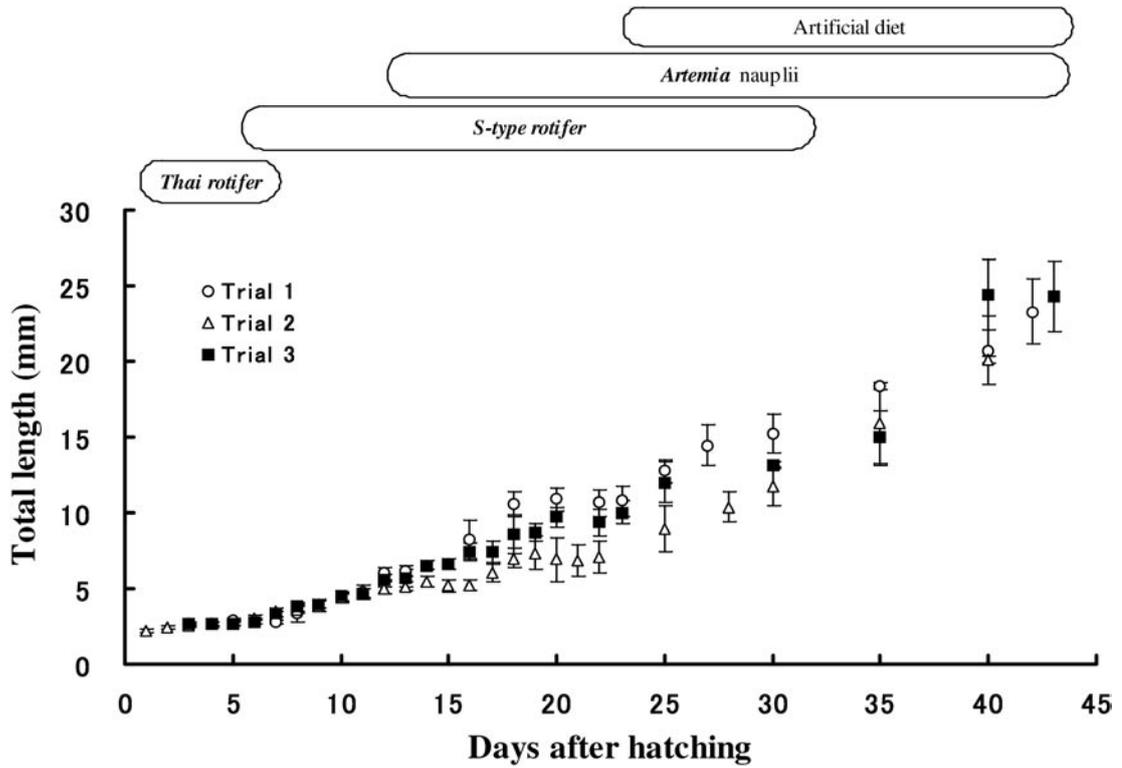


Fig. 5-7. Growth of larvae and early juveniles in leopard coral grouper *P. leopardus* in three experimental trial tanks. The three different symbols and vertical lines indicate mean total length and standard deviation, respectively. Feeding schedule is illustrated at the top of the figure.

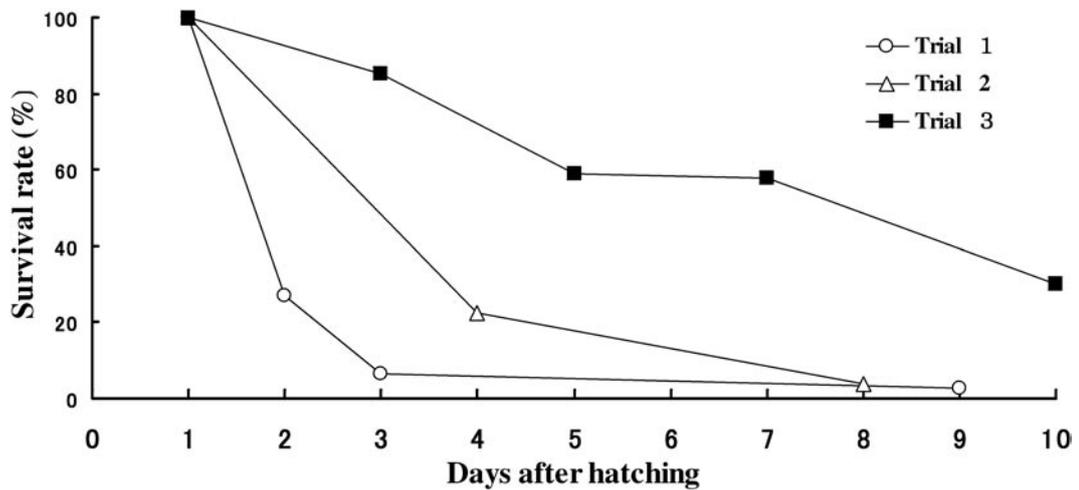


Fig. 5-8. Changes in survival rate of leopard coral grouper *P. leopardus* in three experimental trial tanks between 0 and 10 days after hatching.

餌の時間を早めさせ、かつ、昼夜にわたって摂餌の機会を増やすことは初期生残を向上させる上では重要な飼育条件として捉えることができる。このため、日周条件は仔魚のリズムを考慮し、初期減耗が安定する5日齢前後には終息すべきであろう。

2002年には上述したことを踏まえて、量産規模での実用化試験を60kL八角型コンクリート水槽で実施した。日周条件は、Table 5-2に示したように、上述した日周試験の結果を応用し、0～4日齢までは24時間の恒明条件、5日齢から7日齢までは自然の明暗リズムに調整し、8日齢以降からは電照飼育を中止した飼育を行った。その結果、43日齢までの3事例の飼育で全長約20mmの種苗を合計33,477尾取り上げることができ、取り上げ時の平均生残率は2.8%であった。この生残率と1999年の平均生残率とを比較すると、後者は0.2%となっており、また、取り上げまでに成功した飼育事例は27事例中僅か5事例と極めて不安定であった(塩澤, 1999)。これに比較すると2002年は3事例すべてにおいて、安定した生残率を得ることに成功している。これは、第3章で述べたように、3日齢の摂餌数が5日齢の生残に大きく関与しており、初回摂餌の重要性に負うところが大きい。それを踏まえて、如何に効率良く摂餌させるかという観点から、今回の日周試験を行った。これらの試験結果を量産規模で応用して、着底まで3事例の実証試験を行ったところ、開口までにある程度の初期減耗があったとしても確実に、しかも従来よりも高い生残率で種苗生産が可能となった。このため、本種では初回摂餌の時間帯を早め、摂餌の機会と摂餌数を高めてスムーズに外部栄養へと切り替えることが安定生産に結びつき、種苗生産での重要なポイントであると考えられた。

今回行った24時間の電照飼育がスジアラ仔魚の初期生残と成長に対して効果があり、種苗生産現場で実用的に使用可能であることは判明したものの、最適な照度は解明されておらず、今後の課題としたい。

また、3～4日齢におけるトリプシン活性は、生残と成長が最も良好であった2区で他の2試験区よりも有意に高くなっており( $P < 0.05$ )、マダラ(川合, 2001)のように健全魚と異常魚ではトリプシンの活性値が明らかに異なり、仔魚の活力を示す指標と成り得る可能性が示唆され、今後も消化酵素活性、仔魚の摂餌状況および生残との関係は調査を継続する必要がある。

## 第6章 総合考察；ハタ類の初期減耗の機序

本研究の第1～第3章ではヤイトハタ、キジハタ、

およびスジアラのハタ類3種の内部栄養を完全に吸収する時間と回復可能な飢餓耐性時間を調べ、両者の時間がほぼ一致すること、これら3種では飢餓に対する耐性が極めて弱いこと、さらに、外部栄養に切り替わる際の初回摂餌のタイミングがその後の仔魚の成長と生残を左右していることを明らかにした。従って、ハタ類の種苗生産工程下に生じる大量減耗を回避し、初期生残を向上させるためには最適な飼育条件を構築することが重要なポイントであることを指摘した。

第4～第5章ではスジアラを例にとり、初期生残を向上させるための初回摂餌に関わる最適な飼育条件を解明するため、異なるワムシサイズと日周条件が仔魚の摂餌生態、初期生残およびトリプシン活性に与える影響を量産規模で検討した。最後に、これらの試験で適正と考えられた飼育条件を用いた実証試験を実施し、従来よりも安定的にスジアラ種苗を生産する飼育手法を明らかにした。ここでは、これまでの結果を総合的に取り纏め、ハタ類の初期減耗要因の機序について考察する。

### 1. ハタ類3種の内部栄養吸収と発育過程の比較

ハタ類の種苗生産工程下では、開口時から10日齢後に生じる大きな初期減耗が量産化を阻む大きな問題とされてきた(Hussain and Higuchi, 1980; Fukuhara, 1989; Duray *et al.*, 1996, 1997; 萱野・何, 1997; Toledo *et al.*, 1997; Yamaoka *et al.*, 2000; 土橋ら, 2003; 照屋, 2003; 照屋・與世田, 2006)。この初期減耗を解明するため、これまでに内部栄養と骨格系の発達(Kohno *et al.*, 1994; Kohno *et al.*, 1997; Kohno, 1998)、餌サイズ・密度、水温、照度条件(Toledo *et al.*, 1997, 2002, 2004; 萱野 泰久・何, 1997; Yamaoka *et al.*, 2000; 田中ら, 2005; 照屋・與世田, 2006)などが調べられてきた。これらの研究は、ハタ類では内部栄養から外部栄養に切り替わる所謂“critical point”の摂餌状態が生残に大きな影響を及ぼす可能性を示唆している。そこで、第1～第3章ではヤイトハタ、キジハタ、およびスジアラ3種のハタ類を例にとり、内部栄養の吸収過程と初期発育を調べた。その結果と東南アジアおよび日本で養殖が行われている海産魚類との栄養転換期を比較した結果をTable 6-1に示した。比較対象とした魚類はマハタ属のチャイロマルハタ *E. coioides* とアカマダラハタ *E. fuscoguttatus*、アカメの仲間 *Lates calcarifer*、サバヒー *Chanus chanus*、ゴマアイゴ *Siganus guttatus*、ゴマフエダイ *Lutjanus argentimaculatus* (Kohno, 1998)、およびマダイ *Pagrus major* (茂木ら, 2001)の7種である。初めに、ハタ類5種間で比較してみると、ふ化仔魚のサイズは

Table 6-1. Comparison of some selected aspects between five hatchery reared grouper species and another six hatchery reared species

Species	WT (°C)	Total length (mm)			Volume of yolk sac ( $\times 10^{-4} \text{mm}^3$ )			Volume of oil globule ( $\times 10^{-4} \text{mm}^3$ )			Time (h) from hatching to		Time (h) from onset of feeding to exhaustion of endogenous nutrition	
		Hatching	Mouth opening	Onset of feeding	Hatching	Mouth opening	Onset of feeding	Hatching	Mouth opening	Onset of feeding	Onset of feeding	Exhaustion of endogenous nutrition		
<i>E. malabaricus</i> <sup>*1</sup>	25	1.84 ± 0.10	2.83 ± 0.10	2.77 ± 0.14	1,910 ± 742	31 ± 9	26 ± 17	45 ± 8	6 ± 2	2 ± 2	56	68	86	18
	28	1.79 ± 0.22	2.66 ± 0.05	2.81 ± 0.06	1,347 ± 377	23 ± 12	5 ± 10	48 ± 7	5 ± 2	1 ± 2	47	65	74	9
	31	1.71 ± 0.16	2.67 ± 0.14	2.72 ± 0.05	1,336 ± 865	16 ± 10	3 ± 4	46 ± 11	5 ± 3	2 ± 1	40	46	52	6
<i>E. akaara</i> <sup>*2</sup>	26	1.58 ± 0.03	2.27 ± 0.05	2.30 ± 0.04	1,145 ± 168	21 ± 4	15 ± 4	26 ± 4	2 ± 0.3	1 ± 0.5	56	71	92	21
	26	1.64 ± 0.10	2.65 ± 0.12	2.59 ± 0.13	2,078 ± 256	9 ± 3	0	40 ± 4	1 ± 1	0	56	—	64	0
<i>P. leopardus</i> <sup>*3</sup>	28	1.69 ± 0.10	2.53 ± 0.09	2.47 ± 0.12	1,572 ± 485	12 ± 8	0	31 ± 1	1 ± 1	0	52	—	60	0
	30	1.75 ± 0.06	2.45 ± 0.16	2.34 ± 0.17	1,838 ± 53	13 ± 6	0	33 ± 3	2 ± 1	0	52	—	60	0
<i>E. coioides</i> <sup>*4</sup>	26.5-28.8	1.69	—	—	1,354	13	5	34	5	2	—	70	98	28
<i>E. fuscoguttatus</i> <sup>*4</sup>	26.0-29.5	1.34	—	—	1,687	7	3	36	1	0.4	—	69	94	25
<i>Lates calcarifer</i> <sup>*4</sup>	26.2-28.4	1.40	—	—	1,396	89	74	45	41	40	—	54.5	145	90.5
<i>Chanos chanos</i> <sup>*4</sup>	26-28	3.72	—	—	3,630	74	15	—	—	—	—	77	125	48
<i>Siganus guttatus</i> <sup>*4</sup>	22.0-26.5	1.90	—	—	239	10	7	34	8	5	—	55.5	127	71.5
<i>Lutjanus argentimaculatus</i> <sup>*4</sup>	26.0-29.0	1.72	—	—	1,803	16	0.4	25	7	0.3	—	70.5	114	43.5
<i>Pagrus major</i> <sup>*5</sup>	20.3	2.06	—	—	2,062 ± 258	—	—	—	—	—	64	88	136.5	48.5

\*1: The present study, Chapter I; \*2: The present study, Chapter II; \*3: The present study, Chapter III; \*4: Kohno, 1998; \*5: Moteki et al., 2001

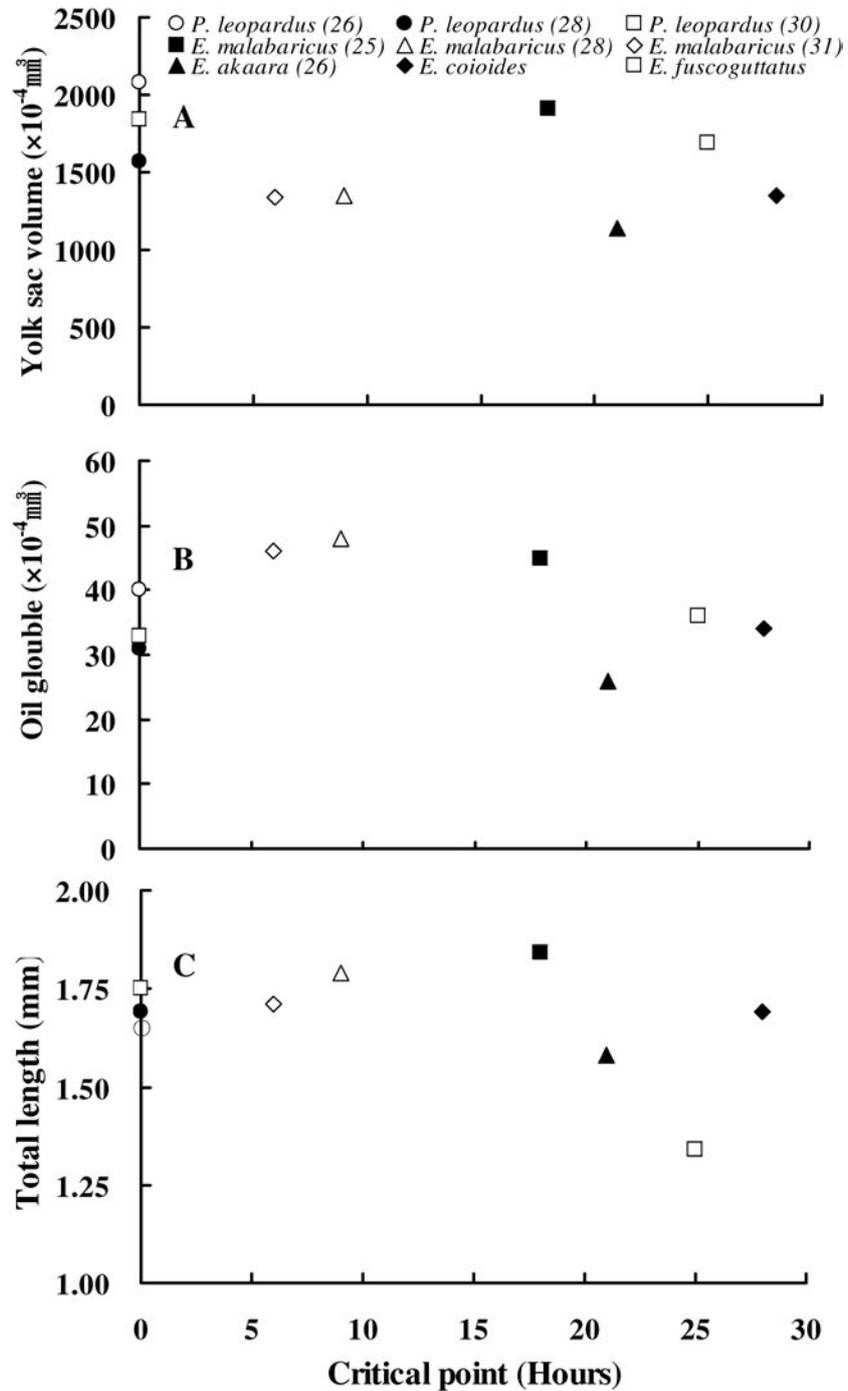


Fig. 6-1. Relationships between yolk sac (A), oil globule (B), and total length of hatched larvae (C) and critical point in hatchery-reared five grouper species, *P. leopardus*, *E. malabaricus*, *E. akaara*, *E. coioides* (Kohno, 1998), and *E. fuscoguttatus* (Kohno, 1998). Numbers shown in parentheses represent the rearing water temperature.

アカマダラハタが全長1.34mmと最も小さく、ヤイトハタが1.84mmと最も大きく、その他の3種では1.58~1.75mmと大差ない。ふ化時の卵黄体積はキジハタが $1.145 \times 10^{-4} \text{mm}^3$ と最も小さく、スジアラの水温26℃条件下での体積が $2.078 \times 10^{-4} \text{mm}^3$ と最も大きかった。ふ化時の油球体積は卵黄体積と同様な傾向を示し、 $26 \sim 48 \times 10^{-4} \text{mm}^3$ の値を示した。初回摂餌から内部栄養(油球)を完全に吸収する時間(以下、“critical point”)を比較したところ、最も卵黄体積が大きかったスジアラが0時間と最も短く、ヤイトハタが6~18時間、キジハタが21時間、アカマダラハタが25時間、およびチャイロマルハタが28時間と最も長かった。同じ種類でも水温条件によって卵黄と油球体積の吸収過程は異なっており、高水温ほど早く内部栄養が吸収されるのが顕著であった。ここで上述したハタ類5種のふ化時の卵黄と“critical point”(Fig. 6-1-A)、ふ化時の油球と“critical point”(Fig. 6-1-B)、およびふ化仔魚のサイズと“critical point”(Fig. 6-1-C)との相関を調べたところ、両者はそれぞれ $r = -0.39$  ( $P=0.37$ )と $r = -0.17$  ( $P=0.67$ )、および $r=0.15$  ( $P=0.61$ )となり、有意差は認められなかった。このことは、内部栄養の体積や仔魚のサイズが“critical point”の長さを限定しているものではないことを示唆している。実際、キジハタのように卵黄と油球体積がこれら5種の中では最も小さいにも関わらず、内部栄養吸収過程は逆に3番目に長くなっており、一方、最も大きな卵黄体積を有すスジアラが最も早く内部栄養を吸収しており、仔魚の初期生残の観点からは、卵黄と油球の体積よりもむしろ“critical point”の長さが特に重要な指標と言える。卵黄吸収が水温の影響を受けることは上述したが、水温のみならず(第1, 3章)、塩分や通気量によっても影響を受けるとされ(Toledo *et al.*, 2002)、正常な発育を促進させるためには適切な環境要因の把握が重要である。

次に、ハタ類以外の魚種を含む10種類間で“critical point”の長さを比較すると、ハタ類5種が0~28時間であるのに対し、ハタ類以外の5種では43.5~90.5時間と長いのが特徴的であった。このことは、ハタ類の“critical point”が他の海産魚類よりも時間的に厳しいことを示唆している。特に、アカメの仲間の*L. calcarifer*はふ化仔魚のサイズが1.40mmと小さいにも関わらず、“critical point”の長さが90.5時間となっており、“critical point”は上述したようにふ化仔魚のサイズや内部栄養の体積に左右されず、それら以外の何らかの種の特異性に起因し、とりわけハタ類でその時間が短いのが特徴的であった。また、日本では安定して種苗生産が行われてきたマダイはハタ類とは異

なり、その長さが48.5時間もあり、内部栄養吸収時点での摂餌量が多く、かつ、100%摂餌に達する時間が短く、初期摂餌の段階から高い摂餌機能を持っていることが報告されている(茂木ら, 2001)。この結果は、“critical point”の長さが初期飼育の難易度を示す好事例であろう。Kohno *et al.* (1997)はハタ類と他の海産魚類とを比較し、主に口器などの内部骨格の発達と内部栄養吸収の観点からハタ類は他の海産魚類に比べて、種苗生産が困難であると言及している。しかし、この現象だけではハタ類の初期減耗要因を特定できていない。それに加えて、ハタ類の初期飼育が難しいのは、後述するハタ類仔魚の餌料欠乏に由来する回復可能な飢餓耐性時間が極めて短いことに起因することをここで新たに提唱したい。

## 2. 初回摂餌試験

本研究では上述した知見に基づいて、ハタ類の“critical point”が実際の種苗生産工程下で初期の生残と成長に如何に関わっているかということ明らかにするため、初回摂餌の遅れがハタ類3種仔魚の摂餌、成長、および生残に及ぼす影響を調べた。その結果、本研究で調べたハタ類3種では内部栄養を完全に吸収する時間と回復可能な飢餓耐性の時間とがほぼ一致すること(Fig. 6-2)、また、ハタ類3種の回復可能な絶食耐性時間は、摂餌開始を基準とすれば、ヤイトハタ(第1章)、キジハタ(第2章)、およびスジアラではいずれも6時間(第3章)となり、これら3種では餌料欠乏に由来する飢餓耐性が極めて弱いこと、さらに、外部栄養に切り替わる際の初回摂餌のタイミングがその後の仔魚の成長と生残を左右していることを明らかにした。この結果と上述した内部栄養吸収過程および仔魚の発育を含めて考察すると、ハタ類の初期減耗は“critical point”の発現が他の海産魚類に比べて短いことに加え、回復可能な絶食耐性時間も摂餌開始の僅か6時間と極めて短いことに起因するものと推察された。すなわち、種苗生産工程下の不適切な飼育条件によってハタ類仔魚が初回摂餌に失敗すると、その影響が成長と生残に大きく反映され、その結果として初期減耗が生じるものと推察される。

ここで、浮性卵で比較的暖水域に生息する魚種と上述したハタ類3種の回復可能な時間を比較すると、サワラ *Scomberomorus niphonius* 仔魚は摂餌開始0~1日後(Shoji *et al.* 2002)とされている。また、Houde (1974)は lined sole *Achirus lineatus*, bay anchovy *Anchoa mitchilli*, および sea bream *Archosargus rhomboidalis* の3魚種を試験に供し、これらの“critical point”はふ化2.5~3.5日後にあると

推察している。このように、上述した魚類とは異なり、ハタ類3種では摂餌開始の僅か6~12時間の間に初回摂餌に失敗するとその後の仔魚の生残と成長に悪影響が生じることになり、如何に初回摂餌が重要であるかを示している。また、本研究で対象としたハタ類3種では、いずれも給餌区のネガティブコントロールとして飢餓区を設けているが、飢餓区での負の成長を示すポイントが内部栄養を完全に吸収する時間とほぼ一致し、しかも、この時期に給餌しても成長は対照区に比べて有意に劣り、かつ生残も劣ることが示されている(第1~3章)。この結果は、種苗生産工程下で回復可能な絶食耐性時間を調べる際には、無給餌区のみを設けてふ化から3~6時間間隔で体長を測定し、負の成長を示すポイントを明らかにするだけでも充分に把握可能であることを示唆しており、他の海産魚類にも容易に応用可能な研究手法である。

ハタ類3種の初回摂餌の重要性については上述したが、実際、スジアラで初回摂餌に関わる重要な飼育条件と考えられる最適な餌料サイズ(第4章)や日周条件(第5章)を明らかにすることにより、初期生残が向上し、安定生産に結びついている。また、クエ *E. bruneus* 仔魚では比重増によって生ずる沈降

を通気によって防ぎ、さらに、最適な照度や水温を明らかにすることによって、飛躍的に種苗生産成績が向上している(照屋・與世田, 2006)。また、キジハタでも摂餌開始(3日齢)~5日齢までの摂餌に関わる水中照度、通気方法、およびワムシの餌料密度などを改善することによって、開口後の摂餌量が増加し、最終的に取り揚げ時の生産量と生残率が向上している(津村, 2003; 津村ら, 2004)。さらに、マハタ *E. septemfasciatus* では、飼育水槽内の流れに着目し、流場制御によって初期生残を向上させる新たな飼育手法を開発している(阪倉ら, 2006; Sakakura *et al.*, 2006a,b)。これらの研究は、本研究で指摘した初回摂餌の重要性を裏付けている(第1~5章)。したがって、ハタ類の初期生残を向上させるためには、初回摂餌に関わる最適な環境要因を明らかにすることが最も重要である。

今後は冷水性魚類、暖水性魚類、熱帯・亜熱帯性魚類、あるいは異体類などに区分し、内部栄養から外部栄養への転換期と回復可能な絶食耐性時間を調べ、各魚種の“critical point”と初期減耗との関連を明らかにすることは栽培漁業における種苗生産工程下の飼育技術のみならず、天然仔魚の減耗の機構を推定する上

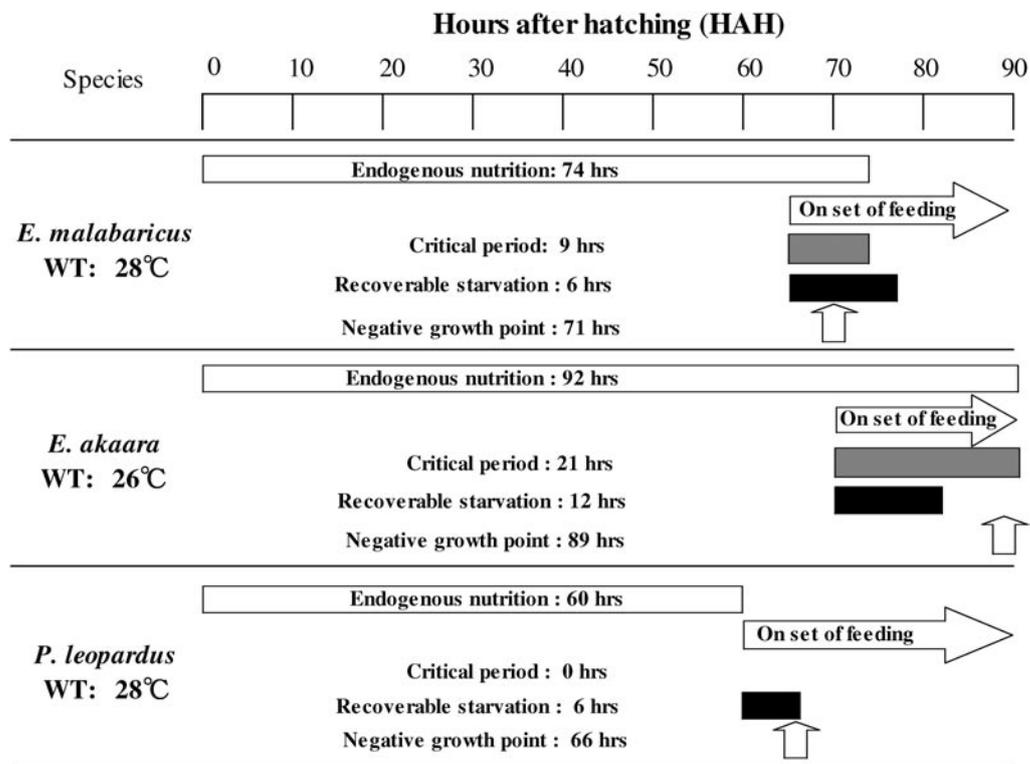


Fig. 6-2. Diagrammatic outline of developmental events related with early mortality in hatchery-reared larvae of three grouper species, *E. malabaricus*, *E. akaara*, and *P. leopardus*.

でも大きく貢献するものと考えられる。

### 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇切なるご指導とご校閲を賜った京都大学フィールド科学教育研究センター教授田中 克博士に深甚なる感謝の意を表します。また、本論文のご校閲を頂き、貴重なご意見を賜った同大学フィールド科学教育研究センター教授山下洋、同助教授田川正朋両博士に厚くお礼申し上げます。

独立行政法人水産総合研究センター栽培漁業部の古澤 徹 元理事、今村茂生 元理事、西海区水産研究所井上 潔所長および馬場徳寿業務推進部長には終始示唆に富んだご指導、ご助言を賜った。ここに記して謝意を表したい。ヤイトハタの飼育試験では、京都大学農学研究科の横木 研氏と小林あやさんの両氏にご協力を賜り、お礼申し上げます。

研究の端緒から暖かい激励と有益なご意見を頂いた神戸女学院大学長 川合真一郎教授、東京海洋大学助教授浜崎活幸博士に衷心よりお礼申し上げます。

独立行政法人水産総合研究センター業務企画部の有元 操博士、同企画部の高橋庸一研究開発コーディネーター（現、小浜栽培漁業センター）、上浦栽培漁業センターの岡 雅一場長（現、水産総合研究センター栽培管理課長）、同玉野栽培漁業センターの関谷幸生場長（現、北海道区水産研究所厚岸栽培技術開発センター）、同宮古栽培漁業センター場長 有瀧真人博士には、当初より暖かい激励と有益なご意見を頂いた。謹んで感謝の意を表する。

本研究の一部は、独立行政法人水産総合研究センター栽培漁業部内のハタ類種苗生産技術開発チームの一貫として実施したものであり、同チームリーダーの片腕として上浦栽培漁業センター（現、養殖研究所上浦栽培技術開発センター）の照屋和久主任技術開発員をはじめとするチームメンバーの橋本 博技術開発員、および菅谷琢磨博士には絶大なる協力をいただき、心よりお礼申し上げます。また、同上浦栽培漁業センター（現、養殖研究所上浦栽培技術開発センター）と玉野栽培漁業センターの場長をはじめとする職員諸氏、および元八重山栽培漁業センターの廣川 潤場長（現、養殖研究所上浦栽培技術開発センター古満目分場栽培技術研究グループチーム長）をはじめとする職員各位には絶大なる協力を頂き、この場を借りてお礼申し上げます。

### 文 献

- 有瀧真人, 太田健吾, 堀田又治, 田川正朋, 田中 克, 2003. 異なる飼育水温がホシガレイ仔魚の発育と変態に関連した形態異常の出現に及ぼす影響. 日本水産学会誌 **70**, 8-15.
- Aritaki, M., Seikai, T., 2004. Temperature effects on early development and occurrence of metamorphosis-related morphological abnormalities in hatchery-reared brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*. *Aquaculture* **240**, 517-530.
- Barahona-Femades, M. H., 1979. Some effects of light intensity and photoperiod on the sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax* (L.)) reared at the Centre Oceanologique de Bretagne. *Aquaculture* **17**, 311-321.
- Batty, R. S., 1987. Effect of light intensity on activity and food searching of larval herring *Clupea harengus*: a laboratory study. *Mar. Biol.* **93**, 323-327.
- Blaxter, J.H.S., Hempel G., 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). *J. Cons. Int. Explor. Mer* **28**, 211-240.
- Blaxter, J. H.S., Staines, M., 1970. Pure-cone retinæ and retinomoter responses in larval teleosts. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* **50**, 449-460.
- Blaxter, J.H.S., Ehrlich K.E., 1974. Changes in the behavior during starvation of herring and plaice larvae. In: Blaxter J.H.S. (Eds). *The early Life History of Fish*. Springer-Verlag, Berlin. 575-588.
- Blaxter, J. H.S., 1975. The role of light on the vertical migration of fish- a review. In: Evans, G. C., Bainbridge, R. Rackham, O., (Eds.), *Light as an Ecological Factor: Part II*. The 16th Symposium of the British Ecological Society, 26-28 March 1974, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 189-210.
- Blaxter, J. H.S., 1986. Development of sense organs and behaviour of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. *Trans. Am. Fish. Soc.* **115**, 98-114.
- Bolla, S., Holmefjord, I., 1988. Effect of temperature and light on development of Atlantic halibut larvae. *Aquaculture* **74**, 355-358.
- Chen, H.Y., Tsai, J.C., 1993. Optimal dietary level for

- the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semipurified diets. *Aquaculture* **119**, 265-271.
- Dody, D. T., Yoseda, K., Hirokawa, J., Tagawa, M., Tanaka, M., 2002. Effects of thyroxin and thiourea on the metamorphosis of coral trout grouper *Plectropomus leopardus*. *Fish. Sci.* **68**, 282-289.
- Downing, G., Litvak, M. K., 1999. The influence of light intensity on growth of larval haddock. *N. Am. J. Aquacult.* **61**, 135-140.
- Duray, M.N., Estudillo, C.B., Alpasan, L.G., 1996. The effect of background color and rotifer density on rotifer intake, growth and survival of the grouper (*Epinephelus suillus*) larvae. *Aquaculture* **146**, 217-225.
- Duray, M.N., Estudillo, C.B., Alpasan, L.G., 1997. Larval rearing of the grouper *Epinephelus suillus* under laboratory conditions. *Aquaculture* **150**, 63-76.
- Duray, M., Kohno H., 1988. Effects of continuous lighting on growth and survival of first-feeding larval rabbitfish *Siganus guttatus*. *Aquaculture* **72**, 73-79.
- Fukuhara, O., 1989. Review of culture of grouper in Japan. *Bull. Nansei Reg. Fish. Res. Lab.* **22**, 47-57.
- 福永恭平, 野上欣也, 吉田儀弘, 浜崎活幸, 丸山敬吾, 1990. 日本栽培魚漁業協会・玉野事業場における最近のキジハタ種苗生産量の増大と問題点について. 栽培技研 **19**, 33-40.
- 濱本俊策, 真鍋一郎, 春日 公, 野坂克己, 1986. ヤイトハタ *Epinephelus salmoides* (LACEPEDE) の水槽内産卵と生活史. 栽培技研 **15**, 213-218.
- Houde, E.D., 1974. Effects of temperature and delayed feeding on growth and survival of larvae of three species of subtropical marine fishes. *Mar. Biol.* **26**, 271-285.
- Hussain, N.A., Higuchi, M., 1980. Larval rearing and development of the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.). *Aquaculture* **19**, 339-350.
- Hunter, J. R., 1981. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. In: Lasker, R., (Ed.), *Marine Fish Larvae: Morphology, Ecology and Relation to Fishes*. University of Washington Press, Seattle, pp. 33-77.
- Kaji, T., Yamaoka, K., Issiki, T., Yamada, T., 1995. Mucous cell development on the body surface in larvae of the red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Bull. Mar. Sci. Fish. Kochi University* **15**, 117-120.
- 金城清昭, 中村博幸, 大島洋行, 中本光男, 1999. ヤイトハタの養殖試験. 沖縄県水産試験場事業報告書, 平成9年度, 135-154.
- 片山正夫, 1984. ハタ科. 日本産魚類大図鑑解説 (益田 一・荒賀忠一・上野輝彌・吉野哲夫編), 東海大学出版会, 東京, 123-124.
- 川合真一郎, 2001. 仔稚魚の消化吸収機構から見た栄養. 栽培漁業技術体系化事業基礎理論コーステキスト集 XIV (魚介類幼生の栄養要求と餌料の栄養強化). 水産庁, (社)日本栽培漁業協会, 平成13年度. 1-36.
- 萱野泰久, 丁 達相, 尾田 正, 中川平介, 1990. キジハタ稚魚に対する至適給餌頻度. 水産増殖 **38**, 319-326.
- 萱野泰久, 尾田 正, 1991. キジハタ卵の発生におよぼす水温の影響. 水産増殖 **39**, 309-313.
- 萱野泰久, 水戸 鼓, 1993. キジハタの卵発生およびふ化仔魚の生残に及ぼす塩分の影響. 栽培技研 **22**, 35-38.
- 萱野泰久, 1996. キジハタ養成親魚の産卵量の経年変化. 栽培技研 **25**, 47-52.
- 萱野泰久, 何 玉環, 1997. キジハタ仔魚の初期摂餌と成長. 水産増殖 **45**, 213-218.
- 萱野泰久, 何 玉環, 原 隆, 福永丈人, 1998. 年齢組成の異なるキジハタ親魚群の自然産出卵の卵質. 水産増殖 **46**, 213-218.
- 萱野泰久, 林 浩志, 田中丈裕, 片山敬一, 1998. 瀬戸内海白石島海洋牧場に生息する魚類の生活様式とキジハタ放流魚の生態. 栽培技研 **27**, 27-34.
- 萱野泰久, 2001. 人工漁礁域に蟄集するキジハタの食性. 水産増殖 **49**, 15-21.
- 川辺勝俊, 1999. アカハタ仔魚の初期餌料としてのいわゆるS型ワムシの有効性. 水産増殖 **47**, 403-408.
- 北島 力, 1991. マハタの卵内発生および飼育による仔稚魚の形態変化. 魚類学雑誌 **38**, 47-55.
- Kohno, H., Ohno, A., Taki, Y., 1994. Why is grouper larval rearing difficult?: a comparison of the biological natures of early larvae of four tropical marine fish species. In: Chou, L.K., Munro, A.D., Lam, T.J., Chen, T.W., Chen, L.K.K., Ding, J.K., Hooi, K.K., Kho, H.W., Phang, V.P.E., Shim, K.F.,

- Tan, C.H. (Eds.), The Third Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 450-453.
- Kohno, H., Ordonio-Aguilar, R.S., Ohno, A., Taki, Y., 1997. Why is grouper rearing difficult?: an approach from the development of the feeding apparatus in early stage larvae of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Ichthyol. Res.* **44**, 267-274.
- Kohno, H., 1998. Early life history features influencing larval survival of cultivated tropical finfish. In: De Silva, S. S. (Eds.), Tropical Mariculture: Academic Press, London, pp. 72-110.
- Kusaka, A., Yamaoka, K., Yamada, T., Abe, M., Kinoshita, I., 2001. Early development of dorsal and pelvic fins and their supports in hatchery-reared red-spotted grouper, *Epinephelus akaara* (Perciformes: Serranidae). *Ichthyol. Res.* **48**, 355-360.
- Lasker, R., 1962. Efficiency and rate of yolk utilization of developing embryos and larvae of the Pacific sardine *Sardinops caerulea* (Girard). *J. Fish. Res. Board Can.* **19**, 867-875.
- Laurence, G. C., 1973. Influence of temperature on nutrition utilization of embryonic and prolarval tautog, *Tautoga onitis*. *J. Fish. Res. Board Can.* **30**, 435-442.
- Liao, I. C., Su, H.M., Chang, E.Y., 2001. Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture* **200**, 1-31.
- McFarland, W. N., 1986. Light in the sea-correlations with behaviours of fishes and invertebrates. *Am. Zool.* **26**, 389-401.
- Masuma, S., Tezuka, N., Teruya K., 1993. Embryonic and morphological development of larval and juvenile coral trout, *Plectropomus leopardus*. *Japan. J. Ichthyol.* **40**, 333-342.
- 升間主計, 竹内宏行, 2001. スジアラ仔魚の3タイプワムシに対する摂餌選択性. 栽培技研 **28**, 69-72.
- 益田 一, 小林安雅, 1994. 「日本産魚類生態大図鑑」東海大学出版会, 東京. 109-114.
- May, R.C., 1971. Effects of delayed initial feeding on larvae of the grunion, *Leuresthes tenuis*. *Fish. Bull.* **69**, 411-425.
- 茂木正人, 石川 健, 寺岡成樹, 伏見 浩, 2001. マダイ仔魚の内部栄養から外部栄養への転換. 水産増殖 **49**, 323-328.
- 睦谷一馬, 1988. 人工飼育におけるマコガレイ仔稚魚の成長と変態について. 水産増殖 **36**, 27-32.
- 中村博幸, 佐多忠夫, 吉里文夫, 下村宏美, 2005. 養殖ヤイトハタ等ブランド化推進技術開発事業. 沖縄県水産試験場事業報告書, 159-163.
- 仲盛 淳, 狩俣洋文, 中本光男, 呉屋秀夫, 大浜幸司, 2005. ヤイトハタ種苗生産事業. 沖縄県水産試験場事業報告書, 平成15年度, 169-172.
- Okumura, S., 1997. Seed production of grouper in Japan. The proceedings of the Second International Seminar on Fisheries Science in a Tropical Area. 97-102.
- Okumura, S., Okamoto, K., Oomori, R., Nakazono, A., 2002. Spawning behavior and artificial fertilization in captive reared spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Aquaculture* **206**, 165-173.
- 奥村重信, 津村誠一, 丸山敬吾, 2002. 水槽実験によるキジハタ幼魚保護礁の素材評価. 日本水産学会誌 **68**, 186-191.
- 奥村重信, 津村誠一, 丸山敬吾, 2003. 野外放流実験による二種類のキジハタ幼魚保護実験礁の比較. 日本水産学会誌 **69**, 57-64.
- Okumura, S., 2003. Variation in egg size spawned under different water temperatures in the red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Suisanzoshoku* **51**, 231-232.
- Puvanendran, V., Brown J. A., 2002. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. *Aquaculture* **214**, 131-151.
- Randall, J. E., 1990. Serranidae. In "Fishes of the Great Barrier Reef and Coral Sea". (ed. by Randall, J.E., Allen, G. R., Steene, R.C.), University of Hawaii Press, Honolulu, pp. 105-115.
- 阪倉良孝, 萩原篤志, 塩谷茂明, 2006. 水槽内の流場制御によるマハタ仔魚飼育. 日本水産学会誌 **72**, 267-270.
- Sakakura, Y., Shiotani, S., Chuda, H., Hagiwara, A., 2006. Improvement of the survival in the seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, larvae by optimizing aeration and water inlet in the mass-scale rearing tank. *Fish. Sci.* **72**, 939-947.
- Sakakura, Y., Shiotani, S., Shiozaki, M., Hagiwara, A., 2006. Larval rearing without aeration: A case study of the seven-band grouper, *Epinephelus*

- septemfasciatus*, using a wave maker. *Fish. Sci.* (In press).
- Sawada, Y., Kato, K., Okada, T., Kurata, M., Mukai, Y., Miyashita, S., Murata, O., Kumai, H., 1999. Growth and morphological development of larval and juvenile *Epinephelus bruneus* (Perciforms: Serranidae). *Ichthyol. Res.* **46**, 245-257.
- Sawada, Y., Miyashita, S., Aoyama, M., Kurata, M., Mukai, Y., Okada, T., Murata, O., Kumai, H., 2000. Rotifer-size Selectivity and optimal feeding density of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, larvae. *Suisanzoshoku* **48**, 169-177.
- Seikai, T., Tanangonan, J.B., Tanaka, M., 1986. Temperature influence on larval growth and metamorphosis of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in the laboratory. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **52**, 977-982.
- 瀬能 宏, 1993. ハタ科. 日本産魚類検索 (中坊徹次編), 東海大学出版会, 東京, 601-603.
- Shiau, S.Y., Lan, C.W., 1999. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* **145**, 259-266.
- 塩澤 聡 (1999): II-I-3-(1) 種苗生産技術開発の概要. I-4-(1)スジアラ. (社)日本栽培漁業協会事業年報, 平成11年度, 171-176.
- Shoji, J., Aoyama, M., Fujimoto, H., Iwamoto, A., Tanaka, M., 2002. Susceptibility to starvation by piscivorous Japanese Spanish mackerel *Scomberomorus niphonius* (Scombridae) larvae at first feeding. *Fish. Sci.* **68**, 59-64.
- 田中由香里, 阪倉良孝, 中田 久, 萩原篤志, 安元進, 2005. マハタ仔魚のワムシサイズに対する摂餌選択性. 日本水産学会誌 **71**, 911-916.
- Tandler, A., Helps, S., 1985. The effects of photoperiod and water exchange rate on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, Linnaeus; Sparidae) from hatching to metamorphosis in mass rearing systems. *Aquaculture* **48**, 71-82.
- 多和田真周, 1989. マダラハタの卵内発生と仔稚魚の形態変化. 水産増殖 **37**, 99-103.
- 照屋和久, 升間主計, 本藤 靖, 1992. 水槽内でのスジアラの産卵および産卵行動. 栽培技研 **21**, 69-72.
- 照屋和久, 2003. (3)クエの量産飼育試験. 平成14年度日本栽培漁業協会年報, 290-291.
- 照屋和久, 與世田兼三, 2006. クエ仔魚の成長と生残に適した初期飼育条件と大量種苗量産試験. 水産増殖 **54**, 187-194.
- Toledo, J.D., Golez, S.N., Doi, M., Ohno, A., 1997. Food selection of early grouper, *Epinephelus coioides*, larvae reared by semi-intensive methods. *Suisanzoshoku* **45**, 327-337.
- Toledo, J.D., Caberoy, N.B., Qunitio, G.F., Choresca, C.H., Nakagawa, H., 2002. Effects of salinity, aeration, and light intensity on oil globule absorption, feeding incidence, growth, and survival of early-stage grouper *Epinephelus coioides* larvae. *Fish. Sci.* **68**, 478-483.
- Toledo, J.D., Caberoy, N.B., Qunitio, G.F., 2004. Environmental factors affecting embryonic development, hatching and survival of early stage larvae of the grouper (*Epinephelus coioides*). In: Rimmer, M.A., McBride, S., Williams, K.C. (Eds.), *Advances in grouper aquaculture: Australian Centre for International Agriculture Research, Canberra*, pp.10-16.
- 辻ヶ堂 諦, 林 文蔵, 1982. ノミノクチの産卵生態と卵発生および仔魚について. 三重県尾鷲水産試験場事業報告, 昭和55年度, 29-34.
- 津村誠一, 2003. 7 玉野事業場3. 地域型底層性魚類の種苗生産技術の開発 (キジハタ). 日本栽培漁業協会事業年報, (社)日本栽培漁業協会, 平成15年度, 東京. 2003; 80-81.
- 津村誠一, 高野世嗣, 小畑泰弘, 與世田兼三, 2004. II. 健全な種苗の飼育技術の開発. キジハタの初期飼育における貝化石の添加効果. 栽培漁業センター技報第1号, (独)水産総合研究センター, 東京, 45-48.
- 土橋靖史, 栗山 功, 黒宮香美, 柏木正章, 吉岡 基, 2003. マハタ種苗生産過程における仔魚の活力とその生残に及ぼす水温, 証明, およびフィードオイルの影響. 水産増殖 **51**, 49-54.
- 中国四国農政局統計情報部, 2001. 平成11年岡山件漁業の動き, 岡山農林統計協会, 岡山. 47.
- 鶴川正雄, 樋口正毅, 水戸 敏, 1966. キジハタの産卵習性と初期生活史. 魚類学雑誌 **13**, 156-161.
- Ueberschar, B., 1995. The use of tryptic enzyme activity measurement as a nutritional condition index: laboratory calibration data and field application. *ICES Mar. Sci. Symp.* **201**, 119-129.
- Wiggins, T.A., Bender, Jr. T.R., Mudrak, V.A., Coll, J.A., 1985. The development, feeding, growth,

- and survival of cultured American shad larvae through the transition from endogenous to exogenous nutrition. *Prog. Fish. Cult.* **47**, 87-93.
- Wu, F.C., Ting, Y.Y., Chen, H.Y., 2002. Docosahexaenoic acid is superior to eicosapentaenoic acid as essential fatty acid for growth of grouper, *Epinephelus malabaricus*. *J. Nutr. Sci.* **132**, 72-79.
- Wyatt, T., 1972. Some effects of food density on the growth and behavior of plaice larvae. *Mar. Biol.*, **14**, 210-216.
- 山本和久, 與世田兼三, 2005. 飼育条件下におけるスジアラの産卵生態. 栽培漁業センター技報第4号, (独)水産総合研究センター, 東京, 9-13.
- Yamaoka, K., Nanbu, T., Miyagawa, M., Isshiki, T., Kusaka, A., 2000. Water surface tension-related deaths in prelarval red-spotted grouper. *Aquaculture* **189**, 165-176.
- Yamashita, Y., Aoyama, T., 1985. Hatching time, yolk sac absorption onset of feeding, and early growth of the Japanese sand eel *Ammodytes personatus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **51**, 1777-1780.
- Yamashita, Y., Aoyama, T., 1986. Starvation resistance of larvae of the Japanese sand eel *Ammodytes personatus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **52**, 635-639.
- Yoshida, Y., 1956. Relation between the sardine and the food plankton- III. On the growth curve of *Sardinops melanosticta*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **21**, 1007-1010.