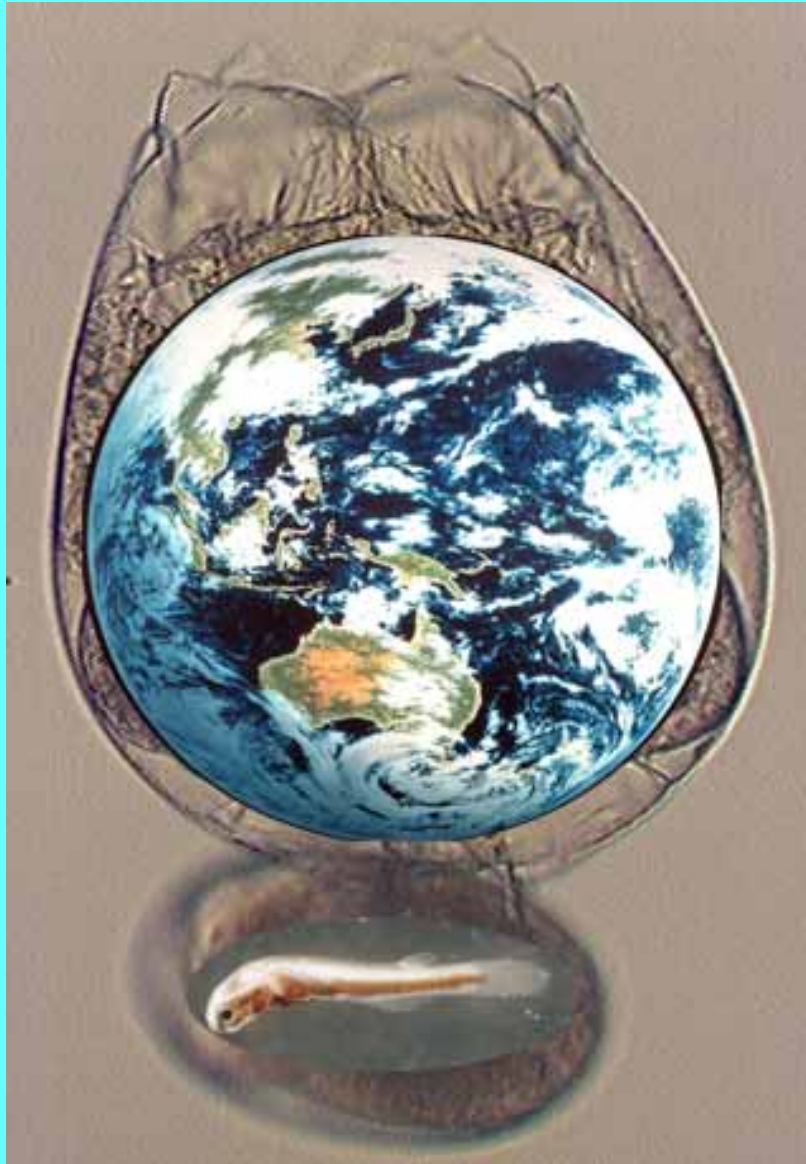


長崎大学水産学部 水産増殖学研究室



教授・萩原篤志

助教授・阪倉良孝



水産増殖学研究室の研究課題と社会との接点

種苗生産 (餌料生物・仔魚飼育)

増養殖



餌料プランクトン
ワムシ
(体長 0.2 mm)



マハタ仔魚 (4日令, 体長 2 mm)



マハタ成魚 (体長 ~ 90 cm)

研究課題

良質の種苗を効率よく大量生産
経験値を科学的な形式値へ
基礎研究の充実

餌料・栄養

1) 餌料プランクトンの育種・保存

ワムシのカルチャーコレクション 1

ワムシの遺伝子解析 2

ワムシ耐久卵の商品化 3

プランクトンの健康度判定 4

生理活性物質 5,6

2) 新規餌料プランクトンの開発 7

飼育環境・仔魚飼育

3) 仔魚の健康度判定技法開発 8

4) 餌料系列の確立 9

5) 新型水槽の開発 10

共同研究機関および業績リスト 11,12

フィードバック

新しい種苗生産システム

長崎県総合水産試験場

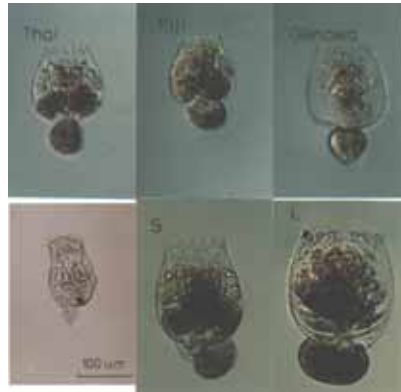
養殖業者等

1. 海産ツボワムシ類の交雑による育種

- 【目的】 ワムシ有用新品種の開発
- 【成果】 交雑株作製に成功
交雑株の生物学的特性の解明

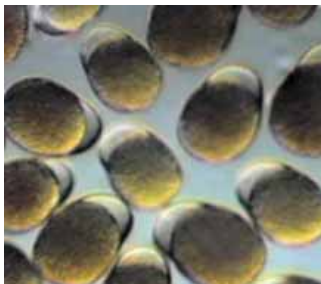
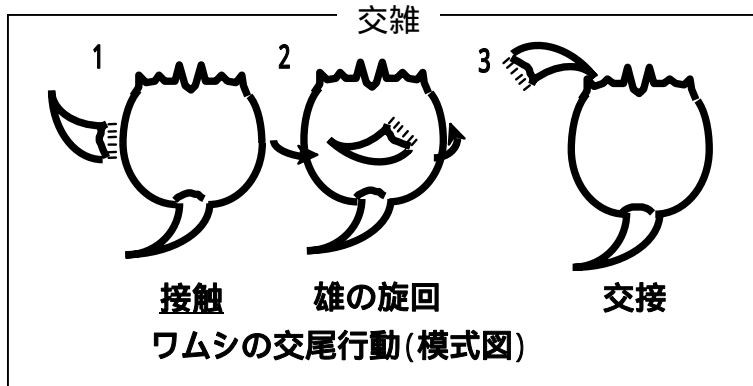


当研究室で保有するワムシ株カルチャーコレクション



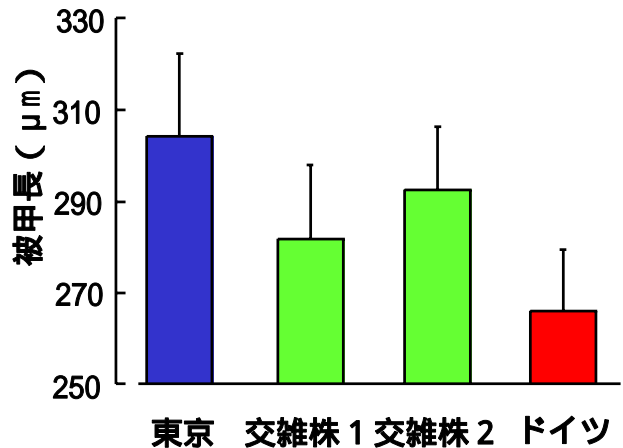
様々な大きさのワムシ株と雄ワムシ(下左)

優良株選定



ワムシ受精卵

ふ化



2. 餌料用プランクトン「ワムシ」の遺伝子解析と外来遺伝子導入法の開発

【目的】

ワムシ生活史を遺伝子レベルで解析する際に有用な、ESTデータベースの作成とディフュージョンディスプレイ法によるワムシ個体（雄・単生生殖雌・両性生殖雌）に特異的な遺伝子の特定をおこなう。前述の遺伝子データを基に、遺伝子操作を行い自然界に存在しない体サイズ・生殖特性・環境耐性を有する新品種ワムシを作出する。

【成果】

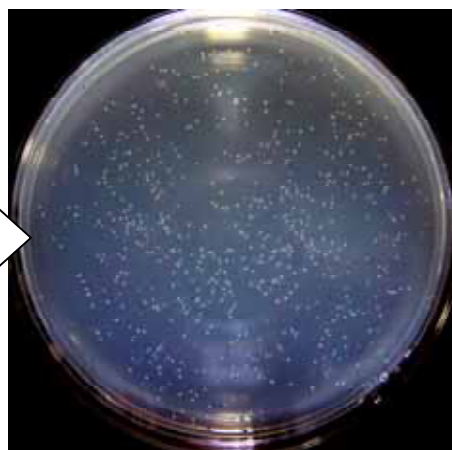
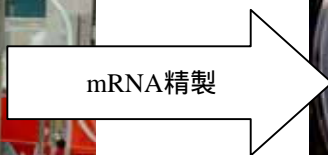
EST作成において、他生物由来の遺伝子配列の混入を防ぐ為、ワムシの純粋培養方法を確立した。（特願2003-382155）

純粋培養ワムシよりmRNAを精製し、cDNAライブラリーを構築した。

マイクロマニピュレータによる、ワムシ卵への遺伝子導入方法を確立した。（特許申請準備中）



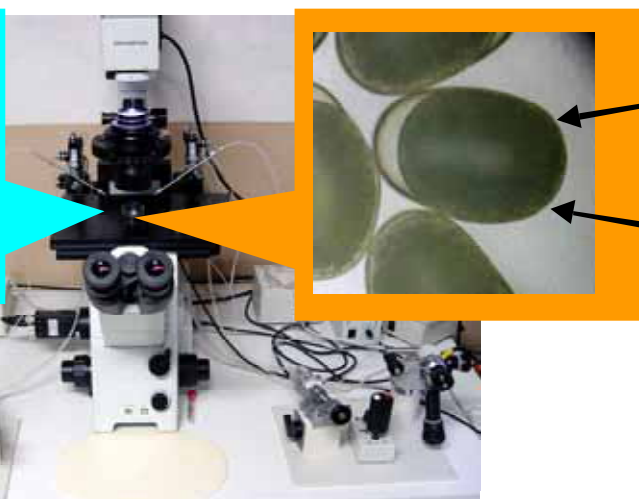
ワムシの純粋培養装置



ワムシcDNAライブラリー（大腸菌に導入・構築）



ワムシ卵に最適化した
遺伝子導入ガラス針（450倍）



ガラス針が挿入可能な
ワムシ卵の箇所（矢印）

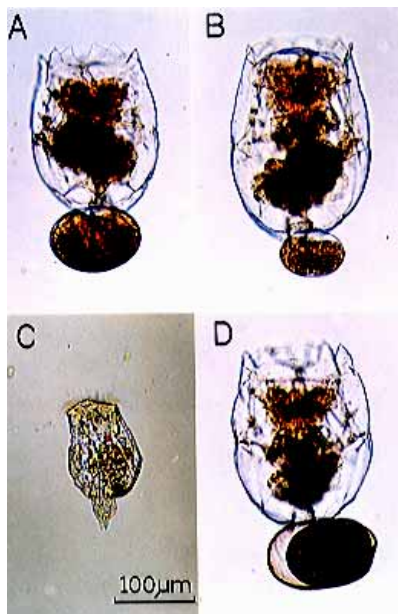
ワムシへ遺伝子を導入する際に使用するマイクロマニピュレーター

3. 海産魚ベビーフード「ワムシ」の耐久卵による保存とその商品化

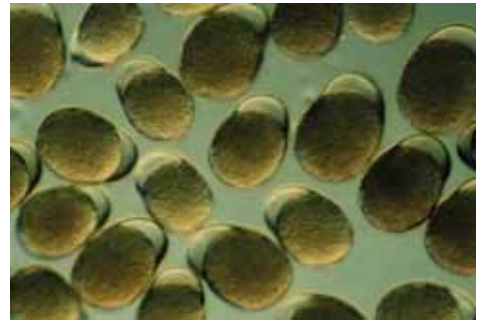
【目的】「ワムシ」の耐久卵量産技術の開発とその商品化

【成果】

生活環コントロールによる耐久卵量産技法の確立
(特許第3465050号,特願2003-323257)
ワムシ耐久卵生産に対する人工海水の開発
(特願2003-072203)
100億個レベルでの量産と缶詰化の成功



上図 生活環に出現する3タイプの雌ワムシ (A,B,D)と雄(C)



ワムシ耐久卵



量産された耐久卵



右図 耐久卵1000万粒入りの缶詰 (試作品)

4. 餌料用動物プランクトンの培養診断技術の開発

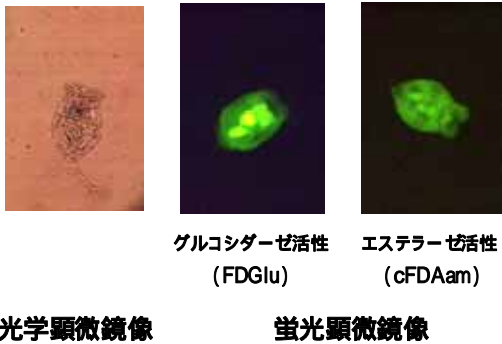
【目的】

海産仔魚の餌料として汎用されている海産ワムシ類の大量培養時に、その健康状態を知るための技法を開発する。

【成果】

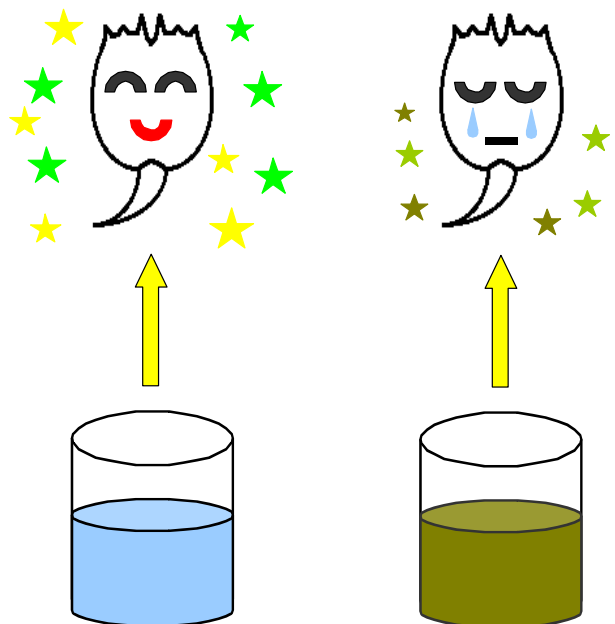
環境の変化はワムシの生理状態に影響を与え、個体の寿命や産仔数の変化をもたらす。この変化に応じてワムシの摂餌速度と遊泳速度が変化することを確認した。

市販の蛍光性基質を用いた酵素活性測定を実施した。その結果、ワムシのグルコシダーゼやエステラーゼの活性が環境の変化や個体の生理状態と高い相関を示しながら変化することを確認し、ワムシ培養の不調を事前に予測することが可能となった。



「元気なワムシはピカピカ光るよ！」

「元気がないと光らない」



プランクトンの健康診断

5. 海産ワムシ類に対するホルモン作用

【目的】

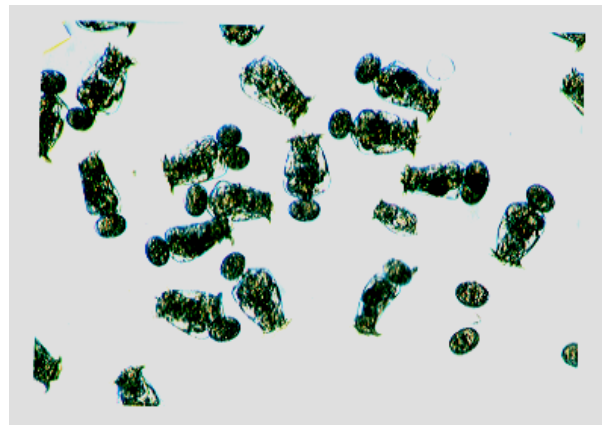
ワムシ類は魚介類幼生の餌料生物として世界中で培養されている有用動物であるが、内分泌の知見は皆無である。各種ホルモンのワムシに対する作用を解明する。

【成果】

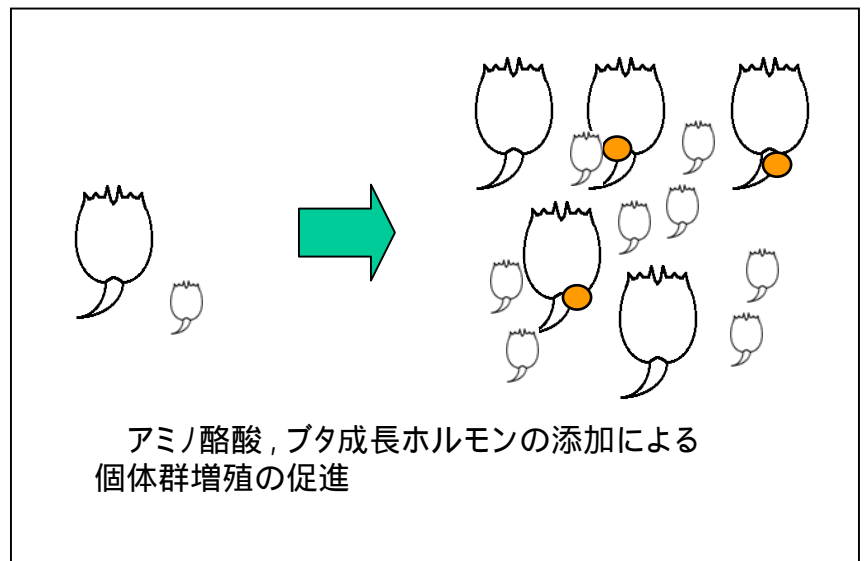
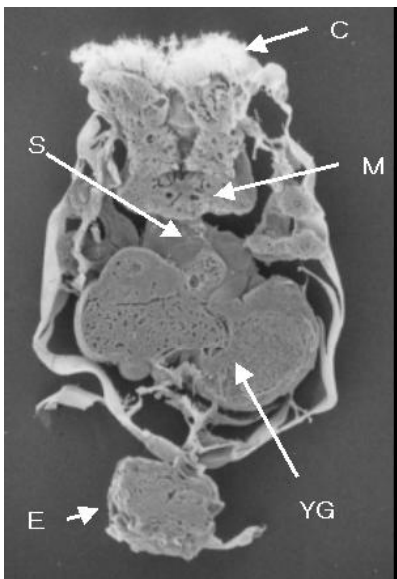
各種ホルモン(神経伝達物質を含む)をワムシ培養中に添加したところ、アミノ酪酸(GABA)、ブタ成長ホルモン(GH)はワムシの増殖を促進し、セロトニン(5-HT)と幼若ホルモンの添加は耐久卵形成を誘導した。

ワムシ培養が不調の時に、GABAの添加効果が顕著に現れ、個体群の増殖活性を高める作用がみられた。

ワムシ体内にGABAと5-HTが検出され(HPLC分析)、神経伝達物質として機能している可能性が示唆された。また、ブタ成長ホルモンの抗体と反応するGH様物質がワムシ体内に存在することも確認された。



大量培養中のワムシ



海産ワムシの縦断面・細胞数は約800

6 . 内分泌かく乱物質が動物プランクトン生活史に与える影響とその作用機構



カイアシ類

ミジンコ類

ワムシ類

Tigriopus japonicus *Diaphanosoma celebensis* *Brachionus plicatilis*

【目的】

高等動物に内分泌かく乱作用を示す物質が、動物プランクトン3種の生殖に与える影響と個体レベルでの作用機構を明らかにする。

【成果】

各種化学物質を致死濃度以下で曝露したところ、生物種の生存には影響を与えないが、生殖特性に変化を生じる物質の存在を確認した。

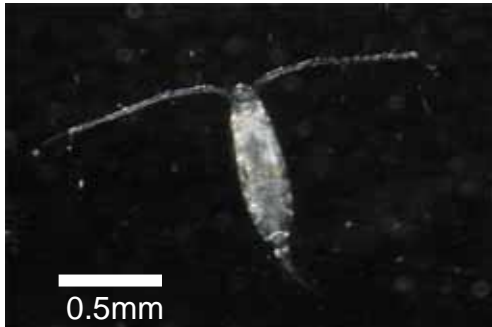
(例: 環境エストロゲンがミジンコ産仔数を増大; フェイトロチオンなどがカイアシ類の雄の出現率を高める; メトプレン等がワムシ類の両性生殖誘導を促進。)

各種殺虫剤を低濃度で曝露した場合、ワムシの個体群増殖や耐久卵形成には影響を与えないが、耐久卵の孵化能力を低下させることを発見。

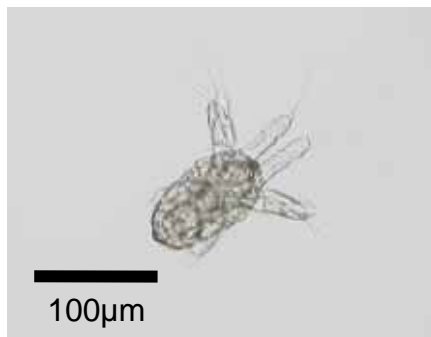
7. 海産カイアシ類の培養法確立と改良

【目的】 新しい仔魚用初期餌料の開発

【成果】 カイアシ類人工培養法の確立
カイアシ類同一個体群の長期間培養に成功
カイアシ類培養に適した微細藻類の選定



海産カイアシ類 *Acartia tsuensis* 成体



海産カイアシ類 *Acartia tsuensis* ノープリウス幼生



カイアシ類小規模培養 (5L)



カイアシ類中規模培養 (20L) の連続給餌および給水システム



長崎県水試での大規模カイアシ類培養 (400L) と作業風景

8. 仔魚の健康度測定技法の開発

【目的】

海産仔魚の飼育時に、その健康状態をリアルタイムで測定するための技法を開発する。

【成果】

産卵群によって仔魚の健康状態は異なり、良好な状態の仔魚ほど無給餌生存日数が長くなることを確認し、仔魚のトリプシンやエステラーゼ活性および遊泳行動が産卵群によって異なり、無給餌生存日数と強い相関をもつことが明らかになった。

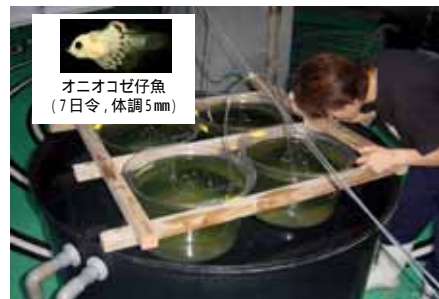
自家受精する海産魚マングローブキリフィッシュ (*Rivulus marmoratus*) クローン個体群をモデル実験系として、仔魚の酵素活性を個体レベルで測定する技法を確立した。

産仔直後のカサゴ仔魚の健康度を、酵素活性と遊泳行動をパラメータにリアルタイム評価することが可能になった (特願2001-134162)。

イサキ仔魚およびオニオコゼ仔魚の健康度を、それぞれ仔魚のエステラーゼ活性と遊泳行動および仔魚のトリプシン活性で評価できることを明らかにした。



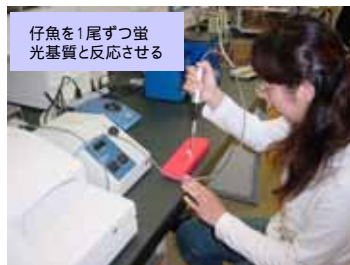
研究室での飼育実験



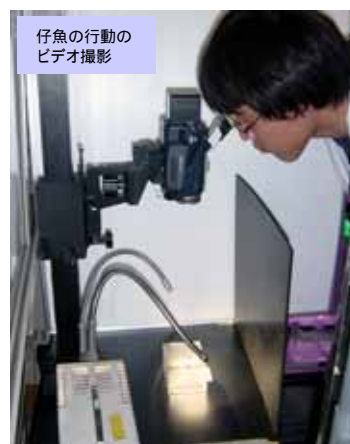
長崎県総合水産試験場での飼育実験

酵素活性および行動計測による仔魚の健康度評価

仔魚1尾当たりの酵素活性を測定



仔魚の行動観察と数値化



9. 仔魚飼育の餌料系列開発

【目的】

生物餌料に対する仔魚の摂餌行動を解析することにより、最適な餌料系列を開発する。

【成果】

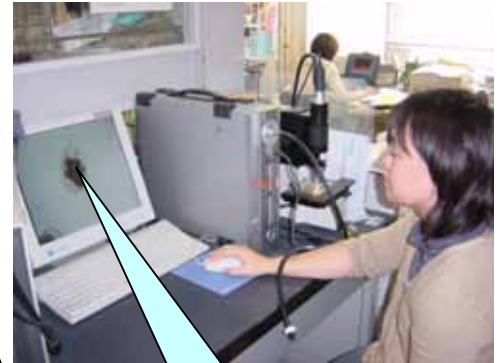
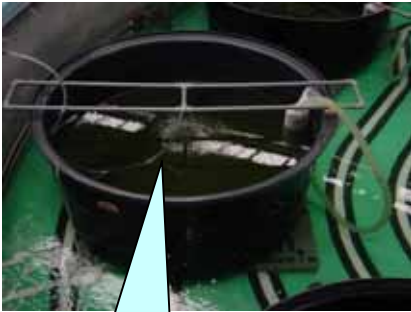
長崎県特産種のマハタおよびオニオコゼについて、それぞれの仔魚の餌料生物(ワムシ, アルテミア)に対する詳細な餌料種・餌料サイズ選択性を明らかにした。

得られた成果を基に新たな餌料系列を開発し、この餌料系列は仔魚の生残・成長、および必須脂肪酸(DHA)の蓄積について、従来の餌料系列よりも良い成績を示すことが明らかになった。

飼育実験

解剖(形態計測, 消化管摘出)

解析(摂餌ワムシ計測, 摂餌選択性解析)



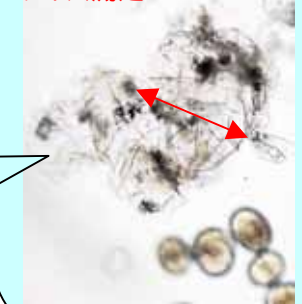
マハタ仔魚(20日令, 体長4mm)



解剖による消化管の摘出



消化管内のワムシと
サイズ測定



海産仔魚の摂餌選択性の解析手順

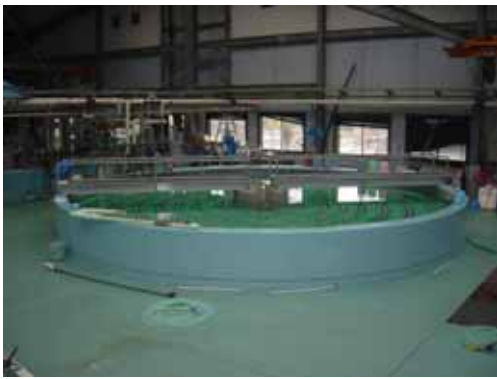
10. 新規飼育水槽の開発

【目的】

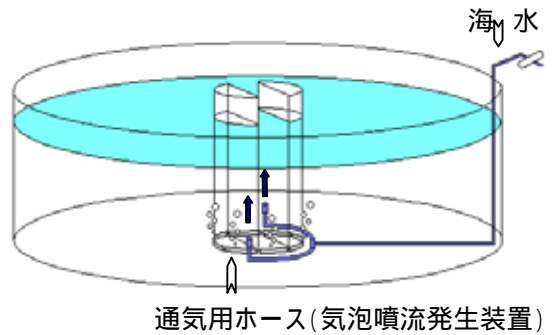
流体力学および行動学的アプローチによって、飼育水槽内の流場と仔魚の分布を正確に把握することによって、仔魚飼育に適した水槽システムを開発する。

【成果】

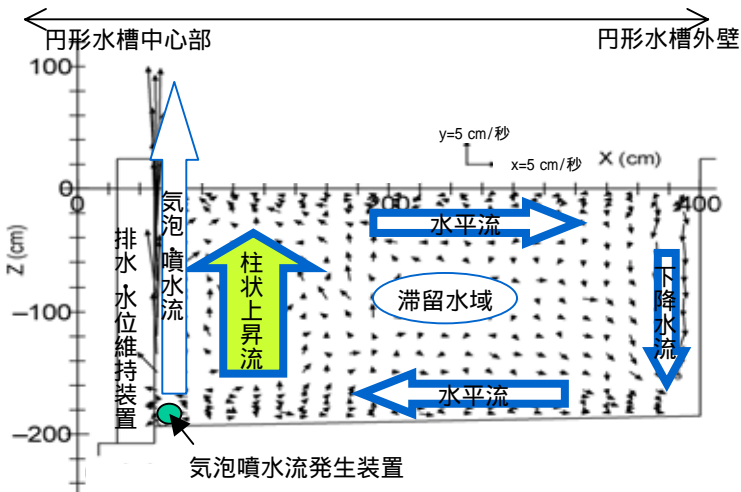
従来は大型水槽内に複数のエアストーンを設置して流れを形成していたが、流場に微細な乱れが多数生じていることが分かった。そこで、円形水槽の中央にエアストーンを集約し、水槽内に循環流を形成するとともに、仔魚が水面近傍に滞留できるような水槽を考案した。この新規開発水槽でマハタの初期飼育を実施したところ、従来の飼育法よりも3倍の生残率を安定して実現できた(特許出願中)。



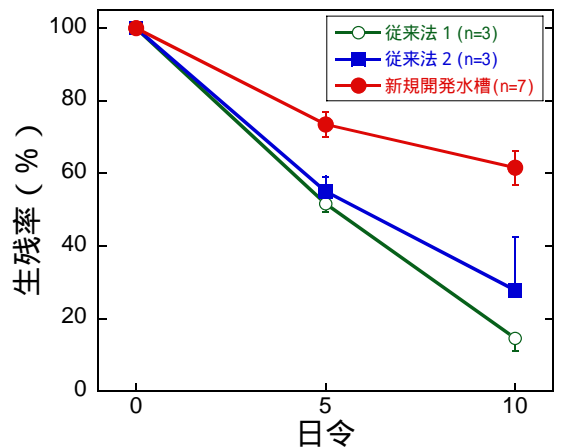
種苗生産用大型水槽(100トン)



新規開発水槽の概要



新規開発水槽内の流れを可視化



安定した大量飼育を実現

共同研究を実施している相手側機関（研究者）（過去3年間）

【国内】

長崎県産業振興財団

菅 向志郎 博士

ワムシ類の遺伝および育種



Yaowalux Ruttanapornvareesakul 博士

仔魚の生化学的性状解析



植木史織 氏

優良ワムシ株の検索，餌料生物
と仔稚魚の健康診断技法の開発



田中由香里 氏

ワムシの耐久卵量産技術の開発



長崎県総合水産試験場，日本栽培漁業協会
能登島事業場（現，独立行政法人水産総合
研究センター・能登島栽培漁業センター）
福岡県水産海洋技術センター・内水面研究
所

【海外】

ジョージア工科大学生物学科（米国，T.W. Snell博士），ゲルフ大学魚類学研究所（カナダ，D. Noakes博士），バレンシア大学生態学研究所（スペイン，M. Serra博士），イスラエル陸水海洋研究所（イスラエル，E. Lubzens博士），ウッズホール海洋研究所（米国，D.M. Welch博士），ネスナ大学（ノルウェー，A.I. Olsen博士）サムラトランギ大学（インドネシア，I.F.M. ルメンガン博士）

研究業績（抜粋）

【原著論文】

Marcial, H.S., Hagiwara, A. & T. W. Snell (2003) Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22(12):3025-3030.

Kotani, T. & A. Hagiwara (2003) Fertilization between the rotifer *Brachionus plicatilis* strains at different temperatures. *Fisheries Science* 69(5): 1078-1080.

Assavaaree, M., Hagiwara, A., Kogane, T. & M. Arimoto (2003) Effect of temperature on resting egg formation of the tropical SS-type rotifer *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff. *Fisheries Science*; 69: 520-528.

塩谷茂明，赤澤敦司，阪倉良孝，中田久，荒川敏久，萩原篤志 (2003) 仔魚飼育水槽内の流場の計測：マハタ飼育水槽の検討例，*水産工学*，39(3): 201-208.

Yoshinaga, T, A Hagiwara, K Tsukamoto (2003) Life history response and age-specific tolerance to starvation in *Brachionus plicatilis* O.F. Muller (Rotifera). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 287: 261-271.

Sakakura, Y. & Tsukamoto, K. (2002). Possible index of fish quality for release determined by behavior of metamorphosing larvae. *Fisheries Science* 68(suppl.I), 912-915

Sakakura, Y. & Tsukamoto, K. (2002). Onset and development of aggressive behavior in the early life stage of Japanese flounder. *Fisheries Science* 68, 854-861.

Hagiwara, A., W. G. Gallardo, M. Assavaaree, T. Kotani & A. B. de Araujo (2001) Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture* 200 (1-2): 111-127.

萩原篤志・阪倉良孝・松尾陽子・笠原康 (2001). カサゴ仔魚の活力評価. 長崎県地域研究開発促進拠点事業可能性試験報告 H11. 282-296.

Araujo, A. B. de, A. Hagiwara & T. W. Snell (2001) Effect of unionized ammonia, viscosity and protozoan contamination on reproduction and enzyme activity of the rotifer *Brachionus rotundiformis*. *Hydrobiologia* 446/447: 363-368.

Kotani, T., M. Ozaki, K. Matsuoka, T. W. Snell & A. Hagiwara (2001) Reproductive isolation among geographically and temporally isolated marine *Brachionus* strains. *Hydrobiologia* 446/447: 283-290.

阪倉良孝 (2001) 魚類の攻撃行動の個体発生に関する研究. 日本水産学会誌 67, 605-609.

Gallardo, W.G., A. Hagiwara, K. Hara, K. Soyano & T. W. Snell (2000) GABA, 5-HT and other amino acids in the rotifers *Brachionus plicatilis* and *B. rotundiformis*. *Comp. Biochem. Physiol.* part A. 127(3): 301-307.

Sakakura, Y. & Noakes, DLG. (2000). Age, growth, and sexual development in the self-fertilizing hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. *Environmental Biology of Fishes* 59, 309-317.

【著書】

萩原篤志 (2000) 水生生物の内分泌系に及ぼす影響の実験的検証 - 動物プランクトン. 水産環境における内分泌攪乱物質, 川合・小山編, 水産学シリーズ126, 恒星社厚生閣 pp. 120-129.

Tsukamoto, K., Kuwada, H., Uchida, K., Masuda, R. & Sakakura, Y. (1999). Fish quality and stocking effectiveness: Behavioral approach. *Proceedings of First International symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching*, B. R. Howell, E. Moksness and T. Svasand (eds), Blackwell Scientific Publications, 205-218.

Hagiwara, A., T. W. Snell, E. Lubzens & C. S. Tamaru (Eds.) (1997) *Live food in aquaculture. Developments in Hydrobiology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 326p.

【特許】

SS型ワムシ耐久卵量産技術

特許第3465050号

ワムシ冷蔵保存技術

特許第3412016号

カサゴ仔魚の活力評価技法

特願2001-134162

人工海水及びそれを用いた耐久卵の製造方法
特願2003-72203

高孵化率ワムシ耐久卵の生産方法

特願2003-323257

遺伝子導入用針 特願2003-404282

動植物プランクトンの無菌化方法及び当該無菌化方法を用いたワムシの培養方法

特願2003-382155

魚類初期飼育に適した流れを形成する飼育水槽に関する発明

特願2003-412841