

氏 名(本籍)	い で けい いち ろう 井 出 恵 一 郎
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 797 号
学位授与年月日	平 成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	農学研究科資源生物科学専攻 (博士課程)
学位論文題目	飼育実験に基づく腐肉食性 Lysianassid 端脚類 <i>Scopelocheirus onagawae</i> の摂食生態に関する研究
論文審査委員	(主 査) 教 授 大 森 迪 夫 (副 査) 教 授 佐 藤 實 教 授 木 島 明 博

論文内容要旨

1. 序論

腐肉食性小型甲殻類は、生物の死骸を摂食し糞として排出することで有機物を分散させ、またそれ自身が上位消費者に捕食されることで、有機物を直接上位消費者へ伝達する。そのため微生物による分解過程を経る物質循環経路に比べて、より効率的なもうひとつの物質循環経路を形成するという重要な役割を果たすと考えられている。またこれらの生物は底曳網の操業や、非漁獲対象生物の混獲投棄などの漁業活動により発生した死骸として与えられる有機負荷を効率的に除去している可能性がある。漁業などの人間活動が海洋生態系に与える影響を評価する上で、腐肉食性小型甲殻類が形成する、有機負荷の除去を伴う効率的な物質循環経路が近年注目されるようになり、それらの生物の海洋生態系における役割を定性的、定量的に解明することが不可欠な課題となってきた。

腐肉食性小型甲殻類の中で、Lysianassid 端脚類は形態的に腐肉食に特化しており、また広く分布する。Lysianassid 端脚類による有機負荷の除去が、それらが死骸の存在を感知し、遊泳、食物に到達し摂食するという一連の過程から成り立つ。これまでの研究ではそれぞれの過程における断片的な知見が得られるにとどまっていた。しかし腐肉食性小型甲殻類が海洋生態系において果たす役割を定性的、定量的に解明するためには、一つの種について有機負荷を除去する一連のメカニズムを体系的に明らかにし、そうした知見を他種についても蓄積することが必要となる。また他種生物や海流など様々な要因が複雑に存在する現場での観察や実験だけでは、一連のメカニズムを詳細に解明することは難しい。それらの要因を整理、制御した飼育条件下での実験を行い、その結果を現場へ還元、検証することではじめて、詳細なメカニズムの解明が可能になる。

Takekawa(2001)は、宮城県女川湾に生息する Lysianassid 端脚類の中で最も優占する *Scopelocheirus onagawae* を新たに記載した。本研究では飼育実験を通して、本種の消化時間、飽食率、摂食速度、食物選好性、摂餌誘引物質と物質濃度に対する応答、索餌行動について明らかにし、死骸を感知してから摂食するまでの一連のメカニズムを体系的に解明することを目的とした。

2. *Scopelocheirus onagawae* の消化時間、飽食率と摂食速度

(1) 蛍光分析法による摂食量測定法

これまでの Lysianassid 端脚類の摂食量測定法はイカの外套膜を用い、消化管内容物の量から摂食量を推定するという方法で、微量な摂食量が測定できず、一度に多くの個体についての測定が困難であった。そこで本研究では *S. onagawae* の摂食量を測定するにあたり、油性食用色素赤色 106 号を添加したカマボコを飼育餌料として用い、アンモニア-エタノール溶液中で個体から色素を抽出、蛍光強度を測定し、蛍光強度測定値を個体の摂食乾燥重量に換算する方法を考案した。

赤色カマボコを 3%アンモニア-エタノール溶液中で振とうした場合、赤色カマボコ湿重量と蛍光強度の関係を見ると、微量なカマボコ湿重量の範囲 '0.040~1.70 mg' でも両者

間に有意な相関が認められた (Fig. 1)。また赤色カマボコを 3%アンモニア-エタノール溶液中で振とうした場合、蛍光強度は 24 時間後に 3000 以上を示し、抽出率は 98%であった (Table 1)。これらのことから、色素添加したカマボコと蛍光分析によって、微量な試料でも、短時間に多くの個体の摂食量を測定することが可能になった。

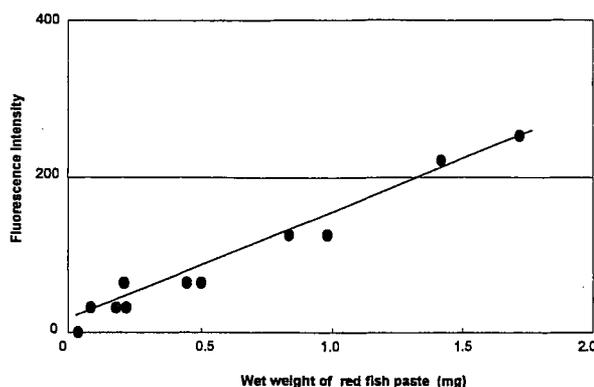


Fig. 1 赤色カマボコ湿重量に対する蛍光強度の相関関係の一例
赤色カマボコ湿重量と蛍光強度の間に有意な正の相関が認められた (Pearson test, $r^2 = 0.986$)。

Table 1 赤色カマボコ、白色カマボコを海水中、アンモニア-エタノール溶液中で振とうした場合の蛍光強度、浸出率と抽出率 (平均値±標準誤差)

Shaking time (h)	Sea-Water			Ammonia-ethanol		
	White fish paste	Red fish paste	Seepage ratio	White fish paste	Red fish paste	Extraction ratio
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	—	31.4±0.32	1.00±0.011	—	—	—
24	0.00	—	—	141.31±0.60	3077.31±0.49	98.00±0.43

(2) *Scopelocheirus onagawae* の消化時間、飽食率と摂食速度

飼育個体の採集は 2001 年 5 月から 11 月にかけて、宮城県女川湾大貝崎沖の岩礁域 (Fig. 2)、水深 25~30 m の地点で行った。採集にはサンマを餌としたベイトトラップ (Fig. 2) を用いた。採集した個体を飼育施設へ持ち帰り、絶食させた後、白色カマボコで飽食させ、給餌実験を開始した。

消化時間については、餌料として赤色カマボコを用い、絶食時間にもなう摂食量の増加から、消化管内容物量の減少の割合を追跡し、消化時間を推定した。飽食率と摂食速度についても赤色カマボコを用い、給餌時間に伴う摂食量の増加を追跡し、増加曲線の漸近値から飽食率、曲線の立ち上がりから摂食速度を推定した。この値を 5 つの異なる水温間で比較した。

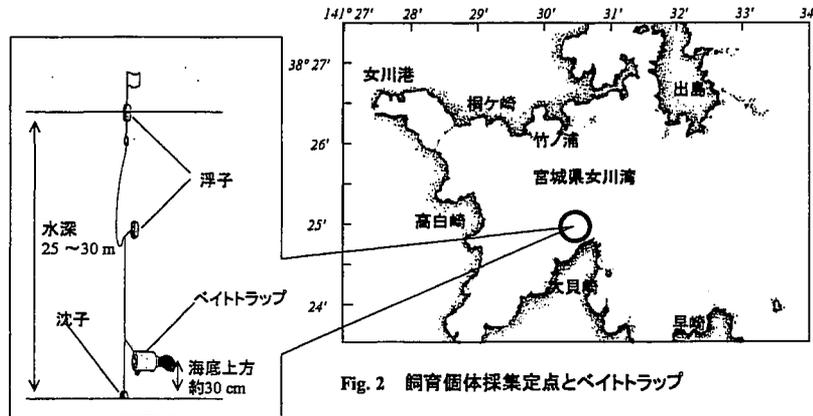


Fig. 2 飼育個体採集定点とベイトトラップ

絶食時間に伴い相対摂食量は次第に増加し 21 時間後には約 4.3%を示した。この値は個体の飽食率に相当し、消化曲線を描くと、本種は約 24 時間で消化を完了させるものと考えられた (Fig. 3)。この消化時間は寒冷海域の種に比べて短かった。摂食速度は水温の上昇に伴い増加し (Table 2)、本種の摂食活動性が温度依存的であることを示した。飽食率は水温間で大きな差は見られず、3.6~4.1%の範囲にあり (Table 3)、寒冷海域の種に比べその値は極めて小さかった。このことから、本種は寒冷海域の種とは異なり、個体の摂食量は小さいものの、短い時間で消化を完了させる。その結果として摂食の時間間隔が短くなり、個体群としての摂食量が大きくなるものと考えられた。

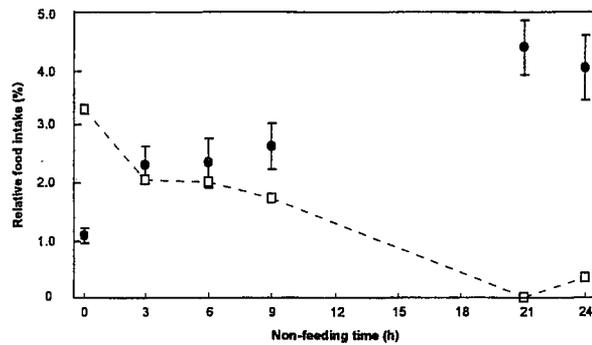


Fig. 3 絶食時間に対する相対摂食率の推移

●は相対摂食量の平均値を示す。□は絶食21時間で示された相対摂食量4.3%と各絶食時間の相対摂食量の平均値との差を示す。縦線は標準誤差を示す。

Table 2. 各水温における、全摂食個体、雄、非抱卵雌、抱卵雌別に見た個体の飽食率(%)
()内はケージ内の個体のうち、カマボコを摂食した個体の割合を示す

水温 (°C)	全摂食個体	雄	非抱卵雌	抱卵雌
6	3.6 (92)	4.6	3.1	4.2
8	3.8 (78)	5.1	3.2	1.8
13	4.0 (80)	4.4	4.5	2.3
18	3.6 (84)	3.8	4.3	2.2
21	4.1 (84)	3.8	4.5	4.1

Table 3. 各水温における、全摂食個体、雄、非抱卵雌、抱卵雌別に見た定数 b

水温 (°C)	全摂食個体	雄	非抱卵雌	抱卵雌
6	0.039	0.043	0.051	0.010
8	0.073	0.066	0.110	0.089
13	0.086	0.072	0.120	0.082
18	0.200	0.180	0.110	1.100
21	0.210	0.210	0.190	0.100

3, *Scopelocheirus onagawae* の食物選好性

飼育個体の採集は前章と同様に行い、採集した個体は絶食させた後、サンマで飽食させ給餌実験を開始した。生体および死骸の摂食実験では生体、死骸に対する蝟集個体率の推移を追跡し、8種類の異なる餌生物間で比較した。外傷を負った生物に対する摂食実験では、外傷ヒラメ稚魚に対する蝟集個体率の推移を、4種類の外傷タイプ間で比較した。

本種は生体（外傷のない）に蝟集することはなかった。また死骸に対する蝟集個体率の推移は、餌生物間で3タイプに大別された (Fig. 4-(a), (b), (c))。しかしすべての生物の死骸に蝟集したことから、本種は様々な生物の死骸を摂食するものと考えられた。外傷ヒラメ稚魚に対する蝟集個体率は外傷のタイプによって異なり (Fig. 5-(a), (b))、本種が外傷生物を摂食するかしないかは、その外傷の程度や外傷を負った生物の遊泳能力に依存するものと考えられた。本種が生体に蝟集せず外傷生物に蝟集したことや、死骸に対する蝟集個体率の推移が餌生物間で3タイプに大別されたことは、死骸や外傷生物から溶出する化学物質の種類や量を反映するものと考えられた。

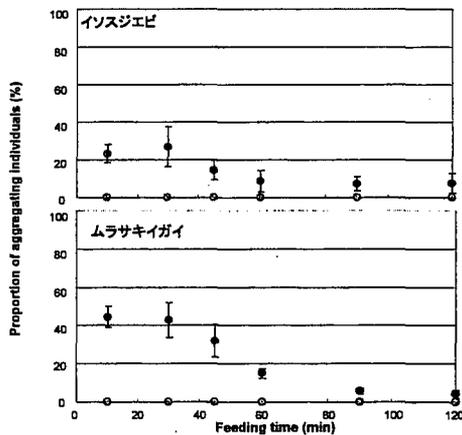


Fig. 4-(a) 給餌時間に対する蝟集個体率の推移 (イソスジエビ、ムラサキイガイ)
○は生体を、●は死骸を与えた場合の蝟集個体率の平均値を示す。縦線は標準誤差を示す。

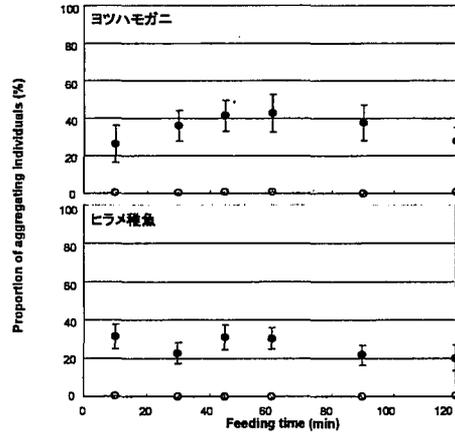


Fig. 4-(b) 給餌時間に対する蝟集個体率の推移 (ヨツハマガニ、ヒラメ稚魚)
○は生体を、●は死骸を与えた場合の蝟集個体率の平均値を示す。縦線は標準誤差を示す。

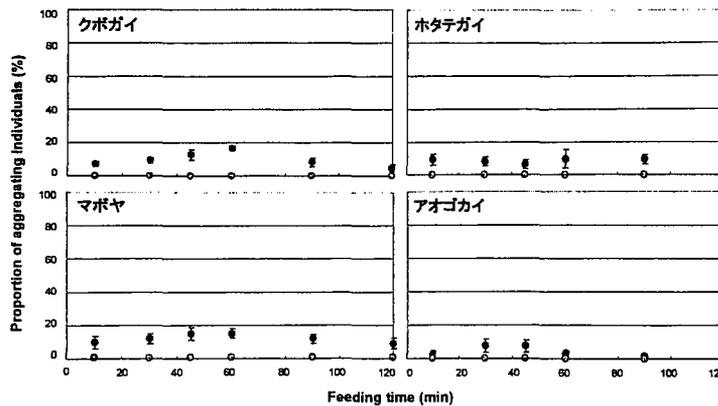


Fig. 4-(c) 給餌時間に対する蝟集個体率の推移 (クボガイ、ホタテガイ、マボヤ、アオゴカイ)
○は生体を、●は死骸を与えた場合の蝟集個体率の平均値を示す。縦線は標準誤差を示す。

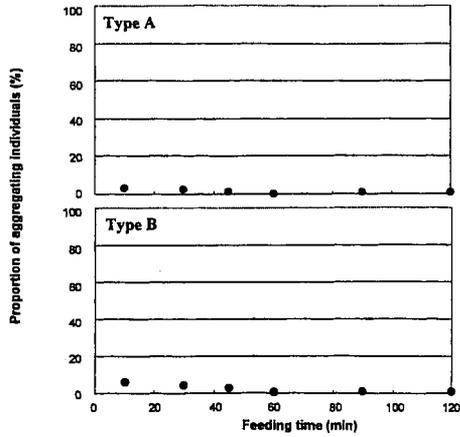


Fig. 5 - (a) ヒラメ種魚に負わせた外傷タイプ別の給餌時間に対する蛸集個体率の推移 (Type A, B) ●は蛸集個体率の平均値を示す。縦線は標準誤差を示す。

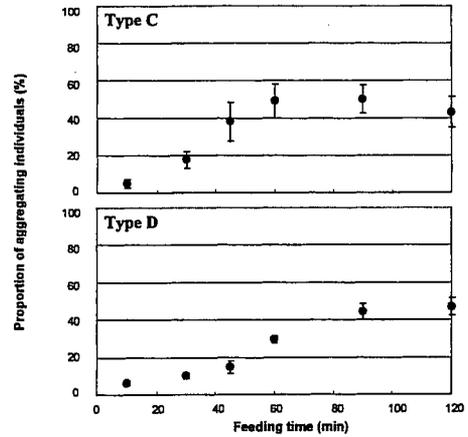


Fig. 5 - (b) ヒラメ種魚に負わせた外傷タイプ別の給餌時間に対する蛸集個体率の推移 (Type C, D) ●は蛸集個体率の平均値を示す。縦線は標準誤差を示す。

4, *Scopelocheirus onagawae* の摂餌誘引物質の特定とアミノ酸濃度に対する応答

飼育個体の採集は前章と同様に行い、採集した個体は絶食させた後、サンマで飽食させ、給餌実験を開始した。ヒラメ体組織から 8 種類のエキス成分を抽出し、これらエキス成分と標品アミノ酸を、寒天あるいはセルロースアルミ板に添加して飼育個体に与え、蛸集個体率を各画分間で比較した。アミノ酸濃度に対する応答では、アミノ酸を添加した海水を注水した後の遊泳個体数を計数し、異なるアミノ酸濃度間で比較した。

セルロースアルミ板に対する蛸集個体率を見ると、本種の摂餌誘引物質は脂溶性画分ではなく、水溶性画分に含まれることが分かった。水溶性画分の中で、ウルトラフィルター通過液を添加した寒天と、標品アミノ酸を用いてヒラメ組織に含まれる全アミノ酸を添加した寒天に、約 80%と同程度の蛸集個体率が示された (Fig. 6)。このことから本種の摂餌誘引物質がアミノ酸であることがわかった。また本種は濃度依存的に中性、塩基性アミノ酸に蛸集する一方で、酸性アミノ酸には蛸集しなかった (Fig. 7)。

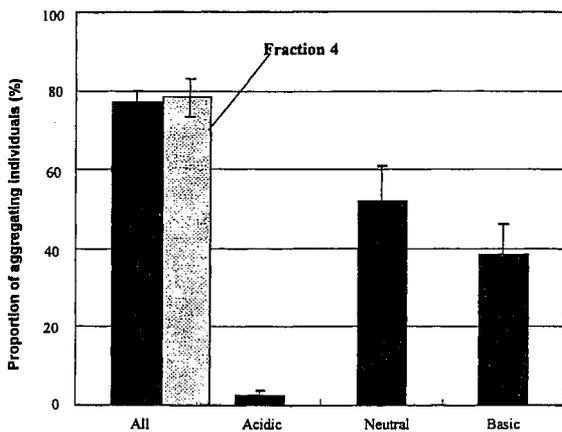


Fig. 6 酸性、中性、塩基性および全アミノ酸を添加した寒天に対する蛸集個体率の比較
標品アミノ酸の添加濃度はFraction 4に含まれるアミノ酸濃度に従った。縦線は標準誤差を示す。

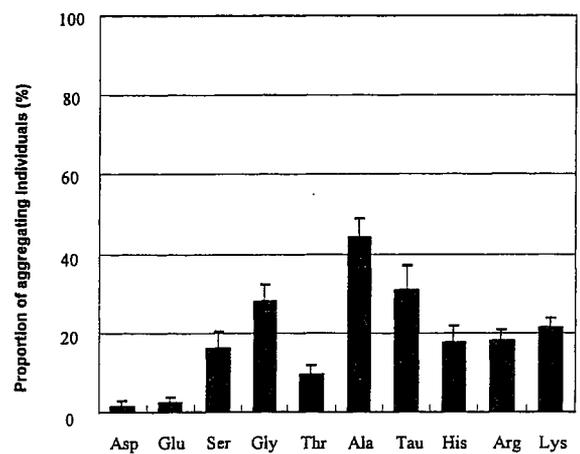


Fig. 7 各アミノ酸を添加した寒天に対する蛸集個体率の比較
標品アミノ酸の添加濃度はFraction 4に含まれるアミノ酸濃度に従った。縦線は標準誤差を示す。

添加するアミノ酸濃度を統一した場合、Gly, Ala, Arg が高い摂餌誘引効果を示したが、アミノ酸単体では全アミノ酸を添加した寒天に見られた 80% という蛸集個体率は再現できなかった (Fig.8)。しかし Asp と他の単体アミノ酸を混合すると、すべてのアミノ酸で蛸集個体率の増大が見られ、特に Asp と Gly、Asp と Ala の組み合わせで約 80% の蛸集個体率が得られた (Fig. 9)。Glu を混合した場合も蛸集個体率の増大が見られたが、Asp に比べその効果は低かった (Fig. 10)。

濃度段階別にアミノ酸添加海水注水後の遊泳個体数を比較すると、本種は最小で 5.0×10^{-9} mol/l のアミノ酸の濃度差を感知することがわかった (Fig. 11)。またアミノ酸添加海水の濃度順応による遊泳個体数の増加が見られた (Fig. 12) ことから本種が敏感な化学受容器をもつ可能性が示唆された。

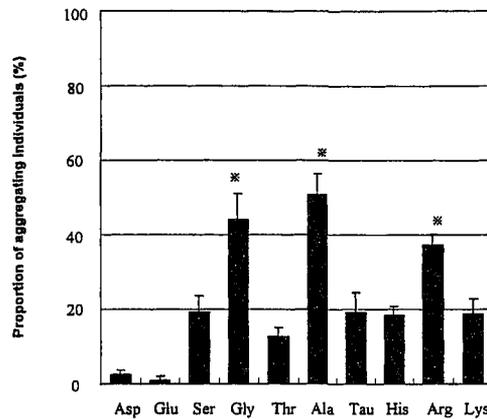


Fig. 8 各アミノ酸を添加した寒天に対する蛸集個体率の比較
標品アミノ酸の添加濃度は0.25 mMに統一した。縦線は標準誤差を示す。
(※: One-way ANOVA, Scheffe's comparison test, P < 0.05)

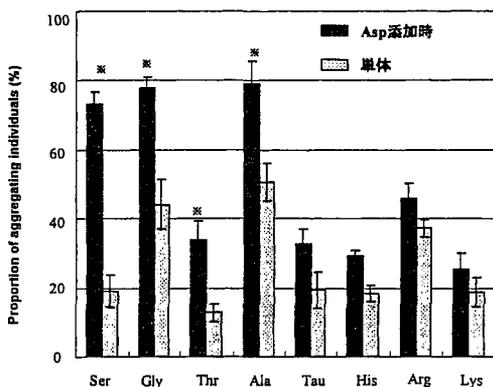


Fig. 9 各アミノ酸における単体とAsp添加時の蛸集個体率の比較

標品アミノ酸の添加濃度は0.13 mMに統一した。縦線は標準誤差を示す。
Ser, Gly, Thr, Alaでは有意に増大(※: One-way ANOVA, Scheffe's comparison test, P < 0.05)

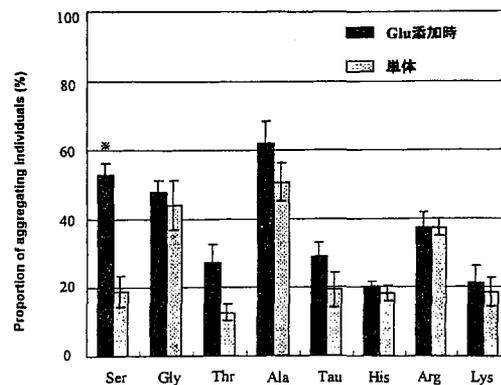


Fig. 10 各アミノ酸における単体とGlu添加時の蛸集個体率の比較

標品アミノ酸の添加濃度は0.13 mMに統一した。縦線は標準誤差を示す。
Serでは有意に増大(※: One-way ANOVA, Scheffe's comparison test, P < 0.05)

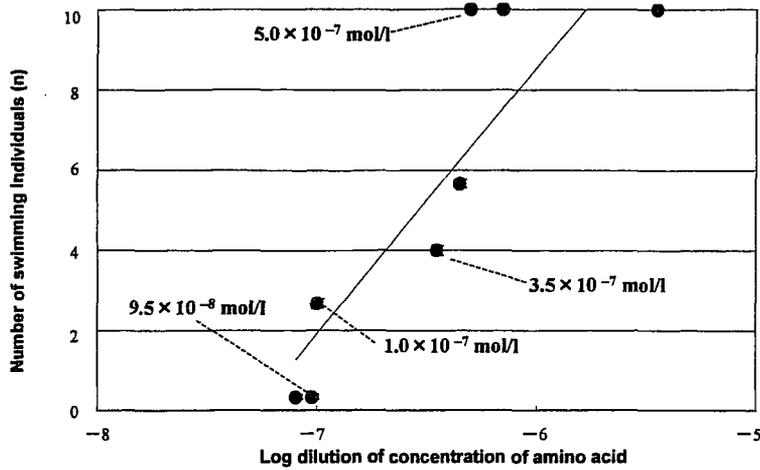


Fig. 11 アミノ酸濃度とアミノ酸添加海水注水300秒後の遊泳個体数の関係
●は流水300秒後の遊泳個体数の平均値を示す。縦線は標準誤差を示す。
両者間に有意な正の相関関係が認められた (Pearson test, $r^2 = 0.876$, $P < 0.01$)。

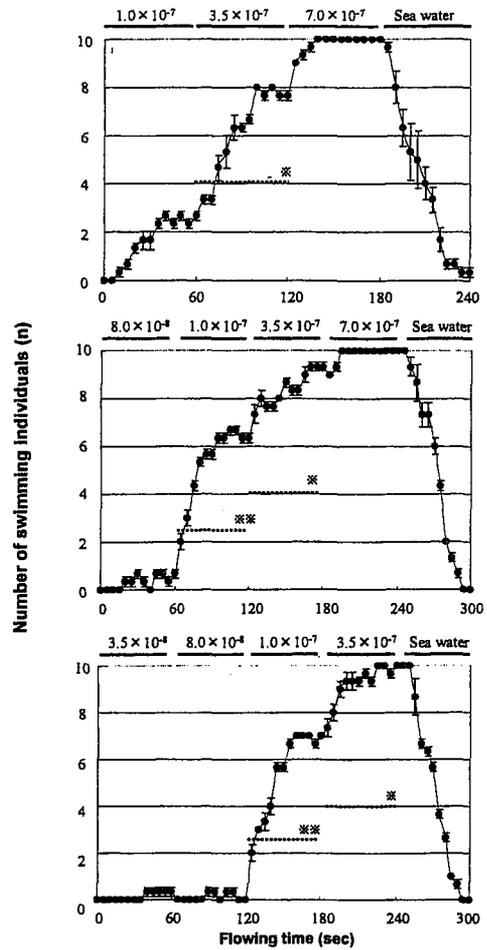


Fig. 12 経時的アミノ酸濃度上昇に対する遊泳個体数の推移
●は遊泳個体数の平均値を示す。縦線は標準誤差を示す。
(※: 海水注水後に 3.5×10^{-7} mol/lのアミノ酸を注いだ時の遊泳個体数)
(※※: 海水注水後に 1.0×10^{-7} mol/lのアミノ酸を注いだ時の遊泳個体数)

5, *Scopelocheirus onagawae* の索餌行動

飼育個体の採集は前章と同様に行い、採集した個体は絶食させた後、サンマで飽食させ、水槽内の遊泳の様子をビデオ撮影し、遊泳軌跡を2次元動画解析ソフトによりトレースした。アミノ酸を添加した海水を滴下する前、個体はランダムな方向に直線的に遊泳したが (Fig. 13-(a))、ひとたびアミノ酸を感知すると急激に速度を落とし、アミノ酸の拡散範囲内で回転運動をする様子が確認された (Fig. 13-(b))。しかしアミノ酸添加海水の滴下口へ向かう明瞭な様子が見られなかった (Table 4) ことから、本種がアミノ酸を感知した後、アミノ酸の濃度勾配のほかに、流れの刺激を感知し、複合的な刺激情報によって餌にたどりついている可能性が示唆された。

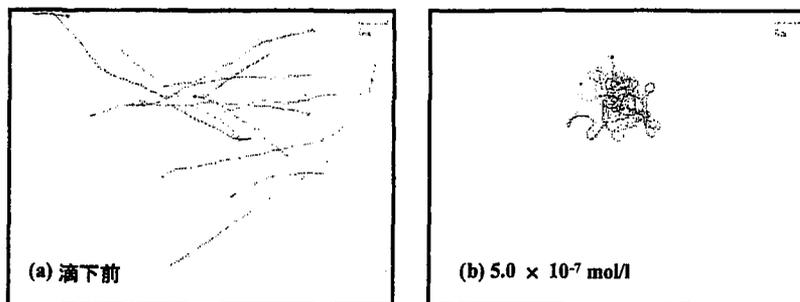


Fig. 13-(a), (b) 個体の遊泳軌跡トレース結果

Table 4 トレース個体の単位時間あたりX, Y方向移動距離、遊泳速度の平均値と最大遊泳速度のアミノ酸濃度別比較

Additional concentration (mol/l)	Distance (cm/0.033sec)		Speed (cm/sec)	Maximum Speed (cm/sec)
	X-way	Y-way		
0 (Sea water)	-11.00 ※	-7.31 ※	16.80 ※	93.5 ※
1.0×10^{-7}	-1.46	-2.78	9.06	88.5
3.5×10^{-7}	-2.33	-2.69	10.4	61.9
5.0×10^{-7}	-3.40	-0.734	8.94	51.4
1.0×10^{-6}	1.65	2.79 ※※	9.59	67.4

※ ANOVA, Sheffe's comparison test, $P < 0.05$.

※※ t-test, $P < 0.01$

6. 総括

本研究では *Scopelocheirus onagawae* が生物の死骸や外傷個体の存在を感知し、遊泳、食物に到達して摂食するまでの一連のメカニズム (Fig. 14) を体系的に明らかにした。本種は、日没直後から活発な遊泳を開始する。その遊泳は直線的で方向性はランダム、遊泳速度は約 90 cm/sec ほどである。このような活発な遊泳をしていた個体は、食物とする生物の死骸や外傷個体から溶出するアミノ酸を、敏感な化学受容器によって感知する。アミノ酸を感知した個体は、アミノ酸の濃度勾配を化学受容器によって感知し、さらに流れを機械受容器によって感知する。それら複合的な刺激情報によって本種は、多くの個体が効率的に食物に到達していると考えられる。食物へ到達した個体はそれを摂食し、再び分散する。本種個体の摂食量は小さいが、約 24 時間で消化を完了させる。このことは結果的に本種の摂食の時間間隔を短くさせ、生物の死骸や外傷個体の感知から摂食、分散までの一連のサイクルが日単位で起こっていることになる。これにより個体群としての摂食量の総量

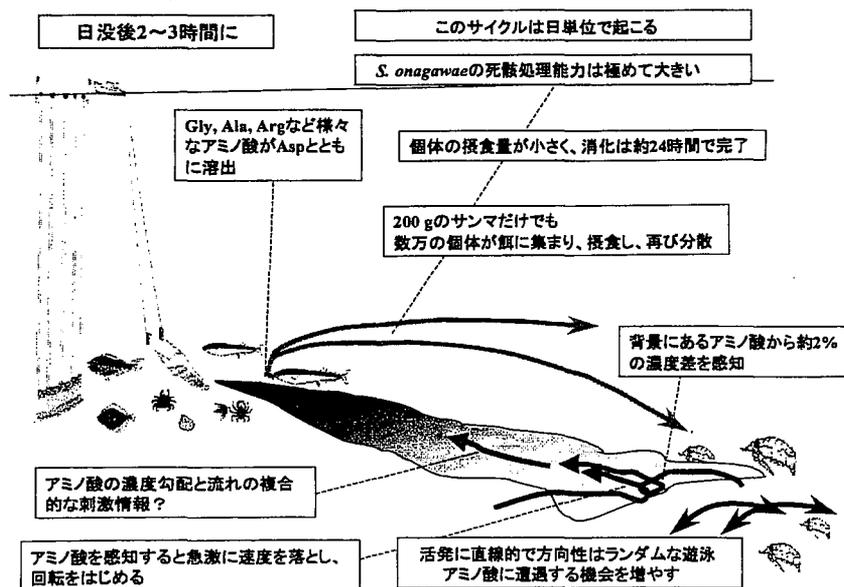


Fig. 14 *Scopelocheirus onagawae* が死骸や外傷個体を感知し摂食するまでのメカニズム

は極めて大きいものになる。

これまで腐肉食性小型甲殻類の摂食生態に関する研究は、寒冷海域、深海域を中心に、それらの生物が死骸の存在を感知し、遊泳し、食物に到達して摂食するまでのそれぞれの過程における断片的な知見が得られるにとどまっていた。これに対し本研究では、腐肉食性 Lysianassid 端脚類 *Scopelocheirus onagawae* について、摂食生態を明らかにするために飼育実験を通して、死骸や外傷個体の存在を感知し、遊泳し、食物に到達して摂食するまでの一連のメカニズムを体系的に明らかにした。しかし排出量や自然の海での生息密度など、糞として分散される有機物量を検討する上で不可欠な知見が得られていない。また本種の上位消費者による被食に関する知見も必要である。腐肉食性小型甲殻類が死骸を摂食し、有機負荷を分散させると同時に上位消費者により捕食されることで、有機物を直接上位消費者へ伝達する一連の過程を体系的に明らかにすることは、将来、腐肉食性小型甲殻類が海洋生態系において、有機負荷の除去を伴う効率的な物質循環経路の形成に果たす役割を定性的、定量的に明らかにすることの最も重要な基礎である。このような scavenger が形成する物質循環経路についての研究は未だ始まったばかりであり、今後の発展が期待される。

論文審査結果要旨

腐肉食性小型甲殻類は、生物の死骸を摂食し、糞として排出することで有機物を分散させると共に、それ自身が上位消費者に捕食されることで有機物を直接上位消費者へ伝達するという、微生物による分解過程を経る物質循環経路に比べてより効率約なもう一つの物質循環経路を形成するという形で生態系において重要な役割を果たしていると考えられる。近年、底引網による直接的殺傷や混獲投棄により生じた有機負荷の除去に果たすこれらの生物の役割が認識されるようになり、これらの生物の海洋生態系における役割を定性的、定量的に解明することが必要とされるようになってきた。しかし、これまでの研究はそれらの生物の海洋生態系で果たす役割を定量的に明らかにすることはもとより、その死骸への蝟集の過程さえも断片的な知見の蓄積の段階にあるにすぎない。この研究は、女川湾で優占する腐肉食性端脚類、*Scopelocheirus onagawae* が死骸の存在を感知し、遊泳、食物に到達し、摂食して飽食するまでの過程を体系的に明らかにすることを目的としている。

著者は油性食用色素を混入したカマボコを摂食させ、摂食個体の蛍光強度を測定することにより最大体長 15mm 程度の小型の本種の摂食量を 1 個体毎に測定する方法を考案し、幾つかの水溫条件下での摂食実験により次のことを明らかにした。浅海・温帯域の本種は、深海・極域の腐肉食性端脚類と比べて、個体の摂食量は小さいものの、24 時間以内という短時間で消化を完了させることにより、摂食量を大きくしていること、日没後 2～3 時間という短時間の間に活発に遊泳し、数万の個体が死骸に集まることにより大量の死骸の除去を行っていることを明らかにした。

次に、数種の生きた生物と死骸や外傷を与えた魚類を餌とした蝟集実験を行い、本種が様々な生物の死骸を摂食すること、生きた個体には蝟集せず、死骸や外傷生物から溶出する化学物質の種類や量が蝟集の経緯に関係していることを明らかにした。

次に著者は、ヒラメ体組織から抽出した 8 種類のエキス成分と標品アミノ酸を用いた蝟集実験を行い、次のことを明らかにした。即ち、蝟集は濃度依存的に中性、塩基性アミノ酸に対する反応として起こり、酸性アミノ酸には蝟集しない。しかし、酸性アミノ酸の Asp と中性、塩基性アミノ酸、特に Gly, Ala, Arg との共同効果によりバックグラウンドとしての海水中のアミノ酸濃度の 2% の変化を感知できることを明らかにした。

さらに、蝟集行動の動画画像解析により、本種がアミノ酸濃度の変化を感知した際、それまでの高速で直線的な遊泳行動をゆっくりした旋回行動に変えることで蝟集物質の分布範囲にとどまり、流れの情報等に対する反応をも利用しながら死骸に蝟集するということを明らかにした。

この様に、著者は、野外の観察に基づいた断片的な知見の集積にすぎなかった腐肉食性端脚類の死骸への蝟集機構を一連の過程として体系的に明らかにした。このような研究成果は今後の腐肉食性小型甲殻類の生態学的研究の展開に必要な不可欠な知見を与えるものであり、博士の学位に十分に値するものと判断する。