

地球規模課題対応国際科学技術協力

(生物資源研究分野「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」領域)

資源の持続的利用に向けたマグロ類 2 種の産卵生態と

初期生活史に関する基礎研究

(パナマ)

平成 24 年度実施報告書

代表者：澤田 好史

近畿大学水産研究所・教授

<平成 22 年度採択>

1. プロジェクト全体の実施の概要

パナマ共和国を含む中米諸国ではキハダと太平洋クロマグロの漁業、養殖業は重要産業であるが、その資源量の大きな変動に加え、漁獲過剰と地球規模の気候変動による減少が危惧され、産業基盤が揺らいでいる。本課題では両種の将来に亘る持続的な漁業に必要な資源管理技術向上と、キハダの天然資源に頼らない養殖技術確立を、パナマ共和国水産資源庁 (ARAP)、日本およびパナマ共和国を含む 16 カ国が加盟する全米熱帯マグロ類委員会 (IATTC) との共同研究で目指す。また将来これらの研究を担うパナマの若い専門家の育成も行う。

平成 22 年度 (R/D 署名以前と以降 2011 年 3 月)。

次年度からの本格的な飼育実験のための準備期間として、研究・分析設備・機器の準備、試料の分析方法開発、予備的試験等を研究目標とするとともに、人的要素の整備として、研究チーム編成、カウンターパート技術水準等の情報収集、近畿大学での博士号取得等の大学院教育について協議した。

平成 23 年度 (2011 年 4 月から 2012 年 3 月)

キハダ・クロマグロ親魚産卵データ収集、キハダ卵・仔魚飼育実験、分析用野生個体の採取、分析技術開発とカウンターパートの技術取得、キハダ飼育技術開発とカウンターパートの技術取得、飼育・分析用機器配備を実施した。また、各研究項目の近畿大学、ARAP、IATTC の担当者決定とその実施スケジュール協議を実施するとともに、近畿大学大学院での修士号・博士号取得を目標とした大学院レベルのカウンターパートの教育について協議を行った。さらに、試薬、その他消耗品等のパナマ共和国での調達体制の確立に向けた努力を行った。

平成 24 年度 (2012 年 4 月から 2013 年 3 月)

クロマグロとキハダの産卵生態、キハダ母系解析、初期生残・発育に及ぼす重要要因解明、キハダ初期生活史研究のための飼育技術開発について研究が進展し、それぞれの分野で概ねプロジェクトスケジュールに沿った成果が得られた。研究の進展とともに、最終的に良く統合された形でのプロジェクト成果が得られるよう、多岐に亘る研究内容の相互調整が必要となり、これに努めることを重視している。また、カウンターパートの教育・技術向上にも留意しているが、人員の入れ替わりがあり、この対応を実施している。これらプロジェクト進展に伴う課題は、相互に密接なコミュニケーションを図りつつ今後も重視して対応する予定である。

2. 研究グループ別の実施内容

平成24年度

産卵生態解明チーム

① 研究のねらい

産卵生態解明チームでは、キハダと太平洋クロマグロの資源予測技術向上を目指した天然海域での年毎の産卵状況の把握法開発と、キハダの人工孵化・養殖技術の基礎となるキハダ親魚の飼育下での産卵生態解明、系統判別と育種のための基盤整備を目指している。平成 24 年度はこれらの本格的な研究を開始した。内容としては、1. キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集 (PO 1-1.~1-4.)、2. キハダと太平洋クロマグロの母系解析 (PO 2-1.~2-2.)、3. 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統判別・育種のための基盤整備 (PO 4.1:PO 4-1-1 から 4-1-7) である。

② 研究実施方法

1. キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集

キハダについてはパナマ共和国 IATTC アチョチヌス実験場で飼育されている産卵親魚の産卵状況 (孵化

率・卵の化学成分等)と飼育環境の毎日記録する。効率的な採卵法と共に産卵量の推定法を検討する。太平洋クロマグロについては、近畿大学水産研究所大島実験場で飼育されている産卵親魚の産卵状況と飼育環境の毎日記録する。

2. キハダと太平洋クロマグロの母系解析

太平洋クロマグロについては、すでに日本市場での 500 個体の試料の収集を終えている。キハダについては、日本産 25 個体およびパナマ産 77 個体を採集済みである。両種についてミトコンドリア DNA 調節領域、およびマイクロサテライト領域の解析を行っている。

3. 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統判別・育種のための基盤整備

生殖腺を含む、臓器の生理状態の把握方法として、遺伝子の転写産物量は一つの指標となりえる。遺伝子発現調査には対象遺伝子配列が既知である必要であるが、マグロ類ではゲノム情報が未整備であるので対象遺伝子配列同定から始めなくてはならない。調査候補対象遺伝子は多数であるので、多数遺伝子のクローニングの手間を省略できるよう工夫し、キハダの肝臓、幽門垂、頭腎由来 cDNA を次世代シーケンサーで分析し、多数の配列情報をライブラリーとした。キハダ cDNA 情報 182,967 コンティグ、平均 1,190 塩基を得た。

今後母系解析や生理状態把握、個体識別、育種等で必要となる様々な遺伝子の情報ライブラリーとして活用すべく、得られた配列の分析を行う。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

1. キハダおよび太平洋クロマグロの飼育下での産卵状況、産卵と環境との関係に関する情報の収集

まずアチョチヌス実験場では、キハダの飼育下での産卵状況(産卵数・産卵時刻・孵化率)を毎日記録することを継続している。同時に、産卵と環境の関係を解明すべく、天候、気温、飼育水温等も記録している。またサイホン採卵法を用いた採卵状況について調査した。さらに太平洋クロマグロでも、近畿大学大島実験場(和歌山県東牟婁郡串本町)においても、産卵状況、天候、気温、水温等の記録を毎日行っている。これらのデータの解析については、さらにデータを収集しつつ行う予定。

2. キハダと太平洋クロマグロの母系解析

太平洋クロマグロについては、すでに日本市場での 500 個体の試料の収集を終えて、ミトコンドリア D-loop と DNA マイクロサテライトの解析を始めている。キハダについては、24 年度後期渡航の際にアチョチヌス実験場近郊魚市場でヒレを採取できる体制を確立し、70 尾の標本を収集し分析中である。

3. 両種の産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子発現解析と系統・個体・雌雄等判別のための基盤整備

クロマグロ、キハダの生殖腺や内臓生理状態把握に有効な遺伝子を同定すべく、各組織試料を収集した。キハダの肝臓、幽門垂、頭腎由来 cDNA の次世代シーケンスを終了し、配列データベースを構築中である。

また沖縄で得たキハダ試料 20 個体分のうち一個体を用い、384 穴マイクロタイタープレート 72 枚分の BAC クローンを作製した。

クロマグロ、キハダの雌雄判別基盤として、クロマグロ雌雄に顕著な DNA マーカーを同定した。これらマーカーの近傍配列を分析中で、近傍コーディングジーンが分かり次第キハダ雌雄に適用する計画である。

④ カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

産卵生態解明のために必要な試料・情報の選択とその収集方法、母系解析のための遺伝子解析技術、産卵親魚の生理状態把握のための遺伝子解析技術がカウンターパートに移転されつつある。キハダ受精卵一粒より高収量で DNA を調整する手法および分析法を講習した。

⑤ 初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況

当初、キハダの生理状態を把握する手法として転写産物定量を考えた。マグロ類は DNA 配列情報が未整備であるので、調査対象遺伝子を一つずつクローニングすることを考えたが、次世代シーケンスが普及してきたので、クローニングをやめ、次世代シーケンスで網羅的に配列情報を予想以上に得る事が出来た。

栄養要求解明・飼料開発チーム

① 研究のねらい

本事業の栄養要求解明・飼料開発チームでは、キハダと太平洋クロマグロの仔稚魚・幼魚期の天然海域での生残を理解し、毎年の資源加入量の予測に繋げるために、生残に大きく影響する天然海域での餌料の栄養価の解析、両種の仔稚魚・幼魚期の栄養要求の解明、摂餌生態・消化機能の発育過程解明を目指している。両種の初期生活史における餌料生物の栄養価についてはこれまでほとんど知見がない。太平洋クロマグロの天然海域での生物餌料を採取することは、主産卵場が台湾東部海域から奄美諸島で沿岸域から遠く離れるため困難である。そのため、クロマグロ初期生活史における栄養要求の解明は飼育試験に基づくことになるが、キハダについてはパナマ共和国 IATTC アチョチニス実験場沖合いに産卵場があり、餌料となる生物の採取も可能であることから、天然餌料の栄養価分析と仔稚魚のそれらの利用状況解明が可能である。

また、本チームではアチョチニス実験場において、キハダ養殖の基盤技術として人工配合飼料の開発も目的とするが、国内で研究が先行している太平洋クロマグロ仔稚魚の人工配合飼料に関する情報を参考に進めたい。

本年度は、キハダ初期飼育期間における魚体の栄養素含量・各種酵素活性の変化、クロマグロ卵発生に伴う卵栄養成分・各種酵素活性の変化、キハダに対するクロマグロ稚魚用配合飼料の利用性などについて検討した。また、アチョチニス実験場におけるキハダの栄養要求解明に必要な一般化学分析関連の機器を購入・設置した。なお、クロマグロ稚魚用配合飼料には希少で高品質かつ高価な飼料原料が配合され、キハダに利用するには経済的に多くの問題を抱えている。

② 研究実施方法

ふ化直後から 35 日後まで定期的にキハダ仔稚魚を取り上げて体重・体長を測定するとともに、試料を凍結して近畿大学水産研究所に持ち帰り、一般化学成分、酵素活性の変化を調べた。また、クロマグロ卵発生期間における一般成分・酵素活性についても、近畿大学水産研究所で採卵後に収容したふ化水槽から適時取り上げて測定した。一方、平成 23 年度で充分な検証ができなかった。クロマグロ稚魚用配合飼料のキハダに対する利用性について再確認を行い、イワシを主体にした生餌より優れた飼育成績と歩留まりの得られることを明らかにした。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

当初の計画を概ねカバーできた。なお、親魚用飼料の検討についてはアチョチニス実験場の状況により割愛した。親魚飼料については生餌の鮮度や給餌量によって栄養価が異なることから、配合飼料化について模索する必要がある。今後、キハダの初期発育期間における体成分の変化と、一昨年に採集した天然動物プランクトンの栄養素含量から、各発育段階における天然プランクトンの必要量を推察する。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

本年度はカウンターパートに分析機器の取り扱い、一般分析方法について指導した。また、キハダ初期発育期間における体成分の変化から、発育段階における特徴を詳述した。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

餌飼料、魚体の栄養分析のうち、脂肪酸組成とアミノ酸分析については、パナマ国内での分析システム立ち上げを断念し、近畿大学へ試料を輸送して分析することを主な手段とすることにした。

初期発育解明と飼育技術開発チーム

① 研究のねらい

魚類は仔稚魚期に大量に斃死する、いわゆる初期減耗のため資源変動が激しい。仔稚魚期の生残過程を明らかにすることは、魚類資源管理にとって最も重要な研究である。本研究では大規模回遊をするクロマグロとキハダマグロ仔稚魚の生態的特徴について、種間比較を行い初期減耗の原因を解明する。具体的にはキハダと太平洋クロマグロの卵、仔魚、稚魚、幼魚期までの天然海域での成長、発育、生残の様相、特にこれらと環境要因および餌料との関係を両種で比較しつつ明らかにすることを目的としている。また、キハダの人工孵化・養殖技術基盤整備のために飼育下での成長、発育、生残の様相とそれらの改善策を開発することも目的としている。本年度の研究では、1. 卵発生、2. 視覚の発育、3. 行動の発育、4. クロマグロ稚魚の運動能力と摂取エネルギー解明、5. 形態発育、6. 飼育魚の健康管理とキハダとクロマグロの寄生虫症の比較、7. 飼育環境を内容とした。

②研究実施方法

1. 卵発生

キハダ親魚水槽で採卵し、受精後の胚発生段階の進行状況の決定、および採卵後異なる水温および塩分下で培養し、発生速度、生残率の差などを調べる。キハダの胚発生過程の解明では、発育段階の決定およびそれらの形態変化を生態写真で記録した。現在、発生系列発生系列の組織標本を作製し、胚葉形成、器官形成等につき、クロマグロの発生進行と比較する。特に生殖巣の形成過程、性分化に焦点を当てる。水温および塩分が発生速度、孵化率、生残率等に及ぼす影響では、形態形成の進行状況、孵化率、正常仔魚率および日間斃死尾数が水温や塩分の高低によってどのような影響を受けるかを調べ、クロマグロの知見と比較する。

2. 仔稚魚の温度耐性とストレス応答 (PO3-1-7)

仔稚魚の環境変化に伴う影響を推察するには、各種環境負荷に対するストレス耐性および応答を調べる必要がある。本年度は、昨年度に引き続いてクロマグロ仔稚魚を飼育し、半数致死レベルを判定するための実験条件を設定する。次に、クロマグロ仔稚魚の高水温および低水温負荷に対する耐性を調べるとともに、半数致死レベルでの仔稚魚を取り上げ、リアルタイムPCRを用いて、ストレスタンパク質関連遺伝子の発現解析を行う。一方、キハダ仔稚魚については、アチョチネス実験場で仔稚魚を飼育し、高水温ストレスに対する耐性をクロマグロと同様の方法で調べる。

3. 視覚の発達過程の解明 (PO3-2-1~3-2-4)

キハダとクロマグロ仔稚魚の自然環境下における適切な生息環境を明確にするには、それぞれの魚の視覚特性と光情報に対する行動、飼育成績を詳細に調べるのが望ましい。本年度は、昨年度に引き続いて、キハダおよびクロマグロにおける仔稚魚期の視物質オプシン遺伝子の同定、仔稚魚期における各種視物質オプシ

ン遺伝子の発現解析を部分的に進める。すなわち、視物質オプシン遺伝子の同定を行うため、試料の mRNA を抽出して逆転写後に cDNA を作成し、クローニングして構造解析を行う。それらのデータを基に、仔稚魚の発育に伴う視物質オプシン遺伝子の発現解析を部分的に進める。

また、キハダとクロマグロ仔稚魚の飼育成績に及ぼす光波長の影響を調べるため、波長の異なる各種 LED 下で仔稚魚を飼育して、摂餌量、成長、生残率等をそれぞれ比較する。

4. キハダにおける共食い発生原因の解明 (PO3-3-4)

キハダとクロマグロ仔稚魚は、自然環境下でも飼育環境下でも、攻撃行動や共食いが多発するが、その発生原因については不明な点も多い。本年度は、Flexion 期以降のキハダ仔魚を餌密度および個体の大小差が異なる環境下で飼育し、各種攻撃行動、生残率等の変化をそれぞれ調べる。

5. クロマグロ稚魚の運動能力と摂取エネルギー解明

稚魚期のクロマグロを対象として、餌と水温が運動能力と摂取エネルギーに及ぼす影響を明らかにする。密閉した水槽内で、クロマグロ稚魚へ給餌を行ない餌の種類や量を変えて摂餌後の酸素消費量と遊泳速度の変化を測定する。さらに、適水温・低水温時に海上生簀で摂餌後の行動変化測定を実施する。同様の実験をキハダでも実施し、クロマグロとの比較を行ない、キハダ海上生簀飼育のための基礎データとする。

6. 形態発育

キハダの形態形成、成長発育に関連する遺伝子、インシュリン様成長因子(IGF)の一部配列のクローニングを行った。この配列をもとに、初期発育期における発現パターンを調べ、筋肉(赤身筋、血合筋)の形成との関わりを解析するとともに、その形質に関する育種につなげるためのマーカー遺伝子探索に繋げる。また、胚発生期から 100 日齢への高成長期における筋肉形成過程の解析を行う予定である。現在までに、クロマグロについては 1 日齢から 10 日齢、また 20 日齢から 100 日齢までの IGF 発現解析を行った。追って、キハダの同遺伝子の発現動向を調べ比較する。

7. キハダ飼育における空気、飼育水供給等あるいは微生物環境と成長・生残の関係解明(PO 4-4-1)

- 1) 飼育水の細菌群集の制御を目指した飼育法(植物プランクトンの活用)で仔魚飼育を行い、通常の飼育法に比して飼育初期の生残率がどの程度向上するのかを評価する。
- 2) 上記飼育法で飼育した場合と、通常の飼育法で飼育した場合の飼育水における細菌群集組成の解析を行い、比較する。

8. キハダの飼育水流動が、仔魚の生残率に及ぼす影響(PO 4-4-1)

キハダの飼育初期における沈降現象の発生を軽減するために、適切な飼育水の流動環境について調べる。すなわち、水槽形状および水流発生法の異なる環境下でキハダ仔魚を飼育し、摂餌数、成長、生残率等の飼育成績に及ぼす影響をそれぞれ検討する。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

1. 卵発生

キハダの採卵はパナマでなくては行えない。キハダの胚発生過程の解明では、すでに現地でのサンプリングの一部を終わり、日本に持ち帰って組織学的解析を一部行っている。水温が発生速度、孵化率、生残率等に及ぼす影響を調べたところ、23 および 26°C 区が $\geq 29^\circ\text{C}$ 区より有意に高い孵化率、正常仔魚率および無給餌生残指数(SAI)を示した。塩分の影響では、35 および 38 g/L 区が ≤ 32 g/L 区より高い値を示したが、SAI では 26 g/L で有意に高かった。水温と塩分の相互作用を調べた結果、孵化率と正常仔魚率は 32 g/L の塩分で 23, 26°C 区が、35 g/L で 23°C 区が、38 g/L では 23, 26, 29°C がそれぞれ高い値を示した。これより、水温と塩分

は何れも孵化率や正常仔魚率に相互作用を示すことがわかった。また、クロマグロおよびキハダ卵、ふ化仔魚の最適環境は、自然産卵場の環境データに酷似することが示唆され、現在はデータ解析の確認を行っている。

2. 仔稚魚の温度耐性とストレス応答 (PO3-1-7)

近畿大学農学部キャンパスおよび大島実験場で飼育したクロマグロ仔稚魚を用い、半数致死レベルを判定するための実験条件を調べたところ、予想より短い時間で設定することができた。また、クロマグロ仔稚魚の高水温および低水温負荷に対する耐性をそれぞれ調べ、予定どおりに実験が進んだ。さらに、半数致死レベルでの仔稚魚を取り上げて試料を保存し、現在は一部のストレスタンパク質関連遺伝子の発現解析を継続して行っている。一方、キハダ仔稚魚の高水温ストレス耐性を ARAP スタッフとともに調べたが、一部の発育段階で実験が曖昧になり、25年度に追試を行う予定である。

3. 視覚の発達過程の解明 (PO3-2-1~3-2-4)

クロマグロは近畿大学農学部キャンパスで、キハダはアチョチネス実験場で仔魚を飼育し、試料を無事に採取して保存することができた。検出された視物質オプシン遺伝子の全塩基配列を解読し、同定を行うため、現在は作成した cDNA 遺伝子の構造解析を継続している。また、それらのデータを基に作成したプライマーを用い、仔稚魚の発育に伴う視物質オプシン遺伝子の発現解析を進めている。さらに、光波長の影響を調べるため、クロマグロは農学部キャンパスおよび大島実験場で、キハダはアチョチネス実験場でそれぞれ仔稚魚を飼育し、飼育成績に及ぼす各種 LED 光の影響を調べた。

4. キハダにおける共食い発生原因の解明 (PO3-3-4)

実験はアチョチネス実験場で ARAP スタッフとともに実施した。Flexion 期以降のキハダ仔魚を餌密度および個体の大小差が異なる環境下で飼育し、各種攻撃行動、生残率等の変化をそれぞれ比較することができた。現在それらのデータ解析を進めている。

5. クロマグロ稚魚の運動能力と摂取エネルギー解明

クロマグロ稚魚は、摂餌後に遊泳速度が最大で 1.3 倍、酸素消費量が 1.6 倍に増加することが明らかになった。これは消化・吸収に伴う特異的動的作用によるものと考えられた。低水温環境下(15℃)では、適水温時(25℃)に比べて、摂餌量の減衰・遊泳速度の低下・消化時間の遅延が見られた。クロマグロ同様にキハダでも餌や環境水温によって同様の運動・生理変化を示すものと考えられる。現在、アチョチネス実験場の陸上水槽のキハダで同様の実験を実施し、解析を行なっている。

6. 形態発育

現在 IGF 遺伝子の cDNA の全長決定を行っているところであり、順次 Myo-D やその他筋肉形成に関わる遺伝子および受容体遺伝子のクローニングをすすめ、発現解析を実施する予定。現在までに、クロマグロについては 1 日齢から 10 日齢、また 20 日齢から 100 日齢までの IGF 発現解析を行った。追って、キハダの同遺伝子の発現動向を調べ比較する。

7. 飼育魚の健康管理

太平洋産キハダを調査したところ、近年日本のクロマグロで問題となっている筋肉寄生性の粘液胞子虫が確認された。これまでキハダでは筋肉の死後融解を引き起こす粘液胞子虫が知られているが、今回得られたサンプルとクロマグロから得た粘液胞子虫の形態と遺伝子を比較した結果、近縁別種である可能性が示唆された。現在、日本国内で流通しているキハダからサンプルを得て、種の特定向けでのデータ解析および、病害性についてクロマグロ寄生種との比較を行っている。

8. キハダ飼育における空気、飼育水供給等あるいは微生物環境と成長・生残の関係解明 (PO 4-4-1)

2012 年度では、これまでの現地におけるキハダ飼育試験の知見を反映させたことで、試験の実行に大きな障

害はなくなった。前年度の試験において飼育水の細菌数が飼育開始直後に急増することを確かめ、飼育水での細菌の増殖は不可避との前提でこれをいかに制御するか、という課題を設定して研究を進めていく。細菌群の解析については、分子生物学的な手法の導入を試行し、解析条件の検討を行った。これらの課題を検討するために6月、11月の2回の渡航において、のべ3回の飼育試験を実施した。

2013年度ではより詳細な群集組成の解析を進める予定である。飼育水の細菌群集組成の解析・比較に加え、卵収容槽や植物プランクトン培養槽なども解析の範囲に加えてゆく。

9. キハダの飼育水流動が、仔魚の生残率に及ぼす影響(PO 4-4-1)

キハダの飼育初期における沈降死を軽減するために、適切な飼育水の流動環境について調べた結果、水槽形状および水流発生法の異なる環境下で飼育成績の異なることが示唆された。飼育成績等について、さらに解析を進めているところである。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

本年度はカウンターパートに飼育実験、各種行動実験の実施方法、仔魚の測定方法、摂餌率の測定方法、データの解析方法と取り扱いについて指導した。

⑤初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

特になし。

3. 成果発表等

(1) 原著論文発表

① 本年度発表総数(国内 1件、国際 2件) “in press“(国内 0件、国際 1件)

“submitted to be published“(国内 1件、国際 2件)

① 本プロジェクト期間累積件数(国内 1件、海外 3件)

“in press“(国内 0件、国際 1件)

“submitted to be published“(国内 1件、国際 1件)

③ 論文詳細情報

1. Tsutsumi Y., Matsumoto T., Honryo T., Agawa Y., Sawada Y., Ishibashi Y. Effects of light wavelength on growth and survival rate in juvenile Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*. *Environmental Biology of Fishes*, (in press).
2. Sawada Y., Honryo T., Aagawa Y., Kim Y.-S., Katayama S., Kurata M., Okada T., Miyashita S. Teratogenic effect of short-term hypercapnia and hypoxia on red sea bream, *Pagrus major*, embryos. *Journal of Fish Biology* (submitted to be published).
3. Sawada Y., Kaga T., Agawa Y., Honryo T., Yang-Su Kim, Naaktani M., Okada T., Cano A., Margulies D., Scholey V. Growth Analysis in Artificially Hatched Pacific Bluefin Tuna, *Thunnus orientalis*. *Aquaculture Science* (submitted to be published).
4. Stein, M., D. Margulies, V. Scholey, and J. Wexler. 2013. Achotines Laboratory: Captive Yellowfin Tuna in Panama. *Panorama Acuicola*, March-April 2013 (submitted to be published).
5. Guillén A., Honryo T., Ibarra J., Cano A., Margulies D., Scholey V. P., Wexler J. B., Stein M. S., Kobayashi T., Sawada Y. Effect of Water Temperature on Embryonic Development of Yellowfin Tuna (*Thunnus*

albacares). (in preparation).

6. Delgado D., Kim Y.-S., Cano A., Marguleis D., Scholey V. P., Sawada Y. Anesthesia of Yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, larvae. (in preparation).

(2) 特許出願

- ① 本年度特許出願内訳 (国内 0 件、海外 0 件)
- ② 本プロジェクト期間累積件数 (国内 0 件、海外 0 件)

4. プロジェクト実施体制

(1) 産卵生態解明チーム

- ① 研究者グループリーダー名: 小林 徹 (近畿大学・教授)

- ② 研究項目

- ・ キハダの飼育下での産卵生態 (産卵シーズン、産卵時刻、産卵と環境要因との関係、産卵と栄養状態
- ・ との関係) 解明。
- ・ キハダの栄養状態と産卵成績との関係解明
- ・ キハダ産卵個体識別と野生群の母系解析

(2) 栄養要求解明・飼料開発チーム

- ① 研究者グループリーダー名: 滝井 健二 (近畿大学・教授)

- ② 研究項目

- ・ キハダおよび太平洋クロマグロ仔稚魚・幼魚の摂餌生態解明
- ・ キハダ仔稚魚・幼魚の天然海域での餌料の栄養価分析
- ・ キハダの消化器官の発育解明
- ・ キハダの人工配合飼料開発

(3) 初期発育解明と飼育技術開発チーム

- ① 研究者グループリーダー名: 石橋 泰典 (近畿大学・教授)

- ② 研究項目

- ・ キハダおよび太平洋クロマグロの成長・発育に及ぼす生物・環境要因の影響解明
- ・ キハダおよび太平洋クロマグロの視覚の発育および光刺激に対する反応解明
- ・ 飼育キハダの遺伝解析・管理技術開発
- ・ キハダ健康状態情報収集
- ・ キハダ親魚候補魚の捕獲・輸送技術開発
- ・ キハダ初期飼育および養成技術開発

以上