

1 Effects of light wavelengths and intensities on phototaxis and
2 feeding behavior of the mangrove killifish *Kryptolebias*
3 *marmoratus* larvae
4

5 Naoya ISHIDA^{1,2*} and Yoshitaka SAKAKURA³
6

7 **Abstract:** To validate effective light conditions for larviculture,
8 we investigated the effects of wavelengths and intensities of light
9 on phototaxis and feeding behavior in the mangrove killifish
10 *Kryptolebias marmoratus* larvae. We used four different light
11 wavelengths (white, with peaks at 460 and 570 nm; blue at 470
12 nm; green at 525 nm; and red at 660 nm) and two intensities (0.5,
13 2.0 W m⁻²). Mangrove killifish larvae showed positive phototaxis
14 under all light wavelengths regardless of light intensities.

15 *Artemia franciscana* nauplii showed a tendency to be swarm at
16 corner of the water tank. Feeding amount of *Artemia* by fish
17 larvae under white light was 1.7 times higher than that under red
18 light. These results suggest that mangrove killifish larvae may
19 efficiently feed in shorter wavelength of light.
20

21 **Key words:** *Kryptolebias marmoratus*; Larva; Phototaxis; Light
22 wavelength
23

24 マングローブ・キリフィッシュ *Kryptolebias marmoratus* 仔魚
25 の光走性と摂餌行動に対する光波長と放射照度の影響
26
27 ランニングタイトル：マングローブ・キリフィッシュ仔魚の光
28 走性

29

30 石田直也^{1,2}・阪倉良孝^{3**}

31

32 光の波長と強度は、海産仔稚魚の生残と成長に影響を与え
33 ることが知られている。例えば、タイセイヨウマダラ *Gadus*
34 *morhua* の仔魚は、照度が 15 lux の場合に比べ 1,200 lux の光
35 を照射して飼育すると成長が促進される (Van der Meeren and
36 Jorstad 2001)。一方、Southern flounder *Paralichthys*
37 *lethostigma* の仔魚は照度が 1,000 lux の飼育下で成長と生残が
38 低くなり、100 lux の下で最も高くなる (Henne and Watanabe
39 2003)。光波長についてみると、ササウシノシタ科の *Solea*
40 *senegalensis* と European seabass *Dicentrarchus labrax* の仔魚は
41 赤色に比べ青色の LED 照明で飼育した方が高い成長率を示す

¹ 長崎県総合水産試験場 (Nagasaki Prefectural Institute of Fisheries, 1551-4 Taira, Nagasaki 851-2213, Japan)

² 水産庁増殖推進部裁培養殖課 (Fisheries Agency Resources Enhancement Promotion Department Fish Ranching and Aquaculture Division, 1-2-1 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8907, Japan)

³ 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科 (Graduate School of Fisheries and Environmental Sciences, Nagasaki University, 1-14 Bunkyo, Nagasaki 852-8521, Japan)

* 連絡先 (corresponding author) : Tel, (+81)95-819-2823: E-mail, sakakura@nagasaki-u.ac.jp (Y. Sakakura)

42 (Blanco-Vives et al. 2010; Villamizar et al. 2009)。また、マツ
43 カワ *Verasper moseri* 稚魚の成長は青か緑色の光を飼育に用い
44 ると、赤色および自然光よりも成長が促進される (Takahashi
45 et al. 2016)。このように、特定の光波長と光強度で飼育した
46 ときに仔稚魚の成長と生残が高くなる原因の一つは、特定の
47 光波長・光強度が仔稚魚の成長・生残に関わる行動に影響を
48 与えているためと考えられ、この仮説が数種の海産魚で検討
49 されている。例えば、European seabass の仔魚は、青色 LED
50 照明下で摂餌および遊泳が活発になるが、赤色では不活発に
51 なる (Villamizar et al. 2011)。また、Downing and Litvak
52 (2001) はコダラ *Melanogrammus aeglefinus* の仔魚は 20 lux
53 以下の弱い光に比べ、130~1500 lux の照度で有意に餌料摂餌
54 数が多くなり、青色 LED 照明下で摂餌行動が活発になること
55 を見出した。さらに、生物の走性の一つである光走性は多く
56 の魚種の仔稚魚期に観察されるが (社団法人全国豊かな海づ
57 くり推進協会 2006)、ハタハタ *Arctoscopus japonicus* の稚魚
58 では、青色 LED 照明に対する正の光走性が生残率の向上に繋
59 がるという報告がある (河村ら 2010)。また、Ina et al.
60 (2017) はクロマグロ *Thunnus orientalis* 仔魚が 3 日齢以降に
61 正の光走性を示すことから、仔稚魚期に明期を 24 時間にする
62 ことで、沈降死を軽減できると指摘している。以上の知見か
63 ら、光波長と光強度は仔稚魚期の摂餌、遊泳および光走性に
64 影響を与えると考えられる。特に仔魚の摂餌は成長と生残に
65 大きく関与する行動であり、光走性も魚種によっては生残の
66 重要な要因の一つとなる。

67 海産仔魚の初期餌料として広く用いられているシオミズツ
68 ボワムシについても，光波長・光強度が光走性に与える影響に
69 ついて検討されている。シオミズツボワムシ *Brachionus*
70 *plicatilis* sp. complex は LED 照明の青，緑，白色には正の光走
71 性を示すが，放射照度が高くなると正の光走性が弱まる。一方，
72 赤色では光強度によらず光走性を示さない (Kim et al. 2014)。
73 また，デンマークやノルウェーでは，カイアシ類を餌料に用い
74 た種苗生産が実施されており，餌料の *Acartia tonsa* は波長が
75 453～620 nm の光に正の光走性を示す (Stearns and Forward
76 1984)。したがって，光波長や光強度は仔魚だけではなく，餌料
77 生物の行動にも影響を与える。以上より，特定の光波長や光強
78 度で変化する仔魚および餌料生物の両者の行動を明らかにす
79 ることで，種苗生産に有効な光条件を検討できると考えられる。

80 マングローブ・キリフィッシュ *Kryptolebias marmoratus* はブ
81 ラジル南東部からフロリダ半島南部までの大西洋およびカリ
82 ブ海沿岸や西インド諸島のマングローブ域に分布しており
83 (Turner et al. 1992)，脊椎動物で唯一自家受精を行う
84 (Harrington 1961)。本種は幅広い水温 (7～45℃，Davis et al.
85 1990) と塩分 (0～114，King et al. 1989) で生息可能で，高濃
86 度のアンモニアに耐性を有する (Frick and Wright 2002) など，
87 飼育とハンドリングが容易で，実験生物として有利な特性を有
88 する。硬骨魚類の仔稚魚期の摂餌量には個体差が見られるが
89 (山本ら 2003, 2005)，マングローブ・キリフィッシュは自家
90 受精を行うことから，クローン系統の産出が可能であり
91 (Kallman and Harrington 1964; Harrington and Kallman 1968)，

92 同一系統の個体は、通常の遺伝的多様性を持つ仔稚魚と比較し
93 て摂餌行動の個体差が少ない。これらの特性を利用し、本種は
94 異なる系統間での摂餌行動の比較や (Grageda et al. 2005), 様々
95 な餌料生物種に対する稚仔魚の摂餌行動および成長に関する
96 研究のクローンモデル魚とされてきた (Grageda et al. 2008;
97 Pandey et al. 2008)。そこで、本研究でも本種をモデル生物とし
98 て選び、仔魚が異なる光強度と光波長に対して、どのように光
99 走性や摂餌行動を変化させるのかを調べた。また、マングロー
100 ブ・キリフィッシュ仔稚魚の摂餌行動や成長の比較に用いられて
101 きた餌料であるアルテミア *Artemia franciscana* (Grageda et al.
102 2005, 2008; Pandey et al. 2008) が異なる放射強度と光波長に対
103 して、どのような光走性を示すのか調べた。

104 材料および方法

105 マングローブ・キリフィッシュ仔魚の光走性 供試魚には、
106 マングローブ・キリフィッシュの DAN 株を用いた。DAN 株は
107 ベリーズの Dangriga で採集されたもので、長崎大学水産増殖学
108 研究室で継代飼育されているクローン系群である (Kanamori et
109 al. 2016)。親魚より受精卵を採集し、プラスチック容器 (直径
110 5.8 cm, 高さ 7 cm, 容量 120 ml) に個別に収容した。これらを、
111 塩分 17 の人工海水 (Marine Art Hi, 富田製薬; 以下 1/2 海水),
112 水温 25°C, 光周期 14L:10D の条件で管理した。その後、胚体の
113 心臓が鼓動していること、尾鰭の鰭条が十分に発達して孵化直
114 前の発生段階であること (Koenig and Chasar 1984) を確認して、
115 実体顕微鏡 (SZX12, OLYMPUS) 下で先端の鋭利なピンセット
116 を用いて卵膜を破り、孵化させた。孵化させた日を 0 日令とし、

117 2～4日令の仔魚（体長 5.2～6.1 mm）を実験に使用した。

118 室温 25℃の暗室内で，Kim et al.（2014）のシオミズツボワ
119 ムシの光走性試験の方法に準拠し，LED照明の上にアクリル製
120 水槽（長さ 120 mm，幅 30 mm，深さ 30 mm）を設置した（Fig.
121 1a）。水槽は底が透明，それ以外の部分は黒色であり，水槽の底
122 からのみ光を通すようにした。水槽に 1/2 海水（25℃）を 60 ml
123 入れ，水深は 16 mm とした。プラスチック製の仕切板で，幅が
124 40 mm になるよう水槽を 3 分割して，3 区画を作った。光を照
125 射する端の区画を A 区とし，中央を B 区，最も光源から遠い区
126 画を C 区とした。A 区にのみ光が当たるようにするため，LED
127 照明パネルの光照射部以外を黒い画用紙で覆った。水槽中央の
128 B 区に仔魚を 1 尾収容し，暗条件で 5 分間静置後，LED 照明の
129 照射を開始して，直ちに仕切を外し，（Fig. 1b）5 分間光を照射
130 した。光源（ピーク波長）には，青（470 nm），緑（525 nm），
131 赤（660 nm），白色（460, 570 nm のピーク波長の混合光）の 4
132 種類の LED 照明（ISL-150×150，シーシーエス）を用いた。放
133 射照度は，先行研究でマングローブ・キリフィッシュの行動試
134 験の餌料としても用いられたシオミズツボワムシ（Pandey et al.
135 2008）の光走性試験（Kim et al. 2014）の光強度に合わせて 0.5
136 W m^{-2} と 2.0 W m^{-2} の 2 段階に設定し，計 8 つの光照射区で実
137 験をおこなった。対照実験は水槽を全暗とした。観察者が対象
138 の行動に与える影響を除外するために，水槽の上部に設置した
139 高感度 CCD カメラ（SSC-DC80，SONY）を暗室の外に設けたモ
140 ニターに繋ぎ，モニターを通じて 5 分の光照射中または暗黒下
141 で仔魚が光照射部（A 区）に滞在した時間（秒）を計測した。



Fig. 1

142 なお，暗黒区では CCD カメラに付属している赤外線照射下
143 で計測した。この操作を，4 種類の LED について，それぞれ 2
144 段階の放射強度で各 10 回ずつ実施した。対照実験（暗黒）は
145 20 回操作を繰り返した。

146 **アルテミアの光走性** 市販されているアメリカ合衆国グレ
147 ートソルトレイク産のアルテミア *Artemia franciscana* の乾燥シ
148 ストを水温 25℃の 1/2 海水中で 24 時間曝気して孵化させた。
149 孵化直後を 0 日令とし，2~3 日令の開口したノープリウス幼生
150 を供試生物として使用した。なお，ノープリウス幼生は成体に
151 みられる複眼を持たず，眼点（光吸収器官）を一つ持つ（萩原
152 2008）。マングローブ・キリフィッシュと同様の光照射区と暗
153 黒区を設け，Fig. 1a の装置を用いた方法でアルテミアを B 区
154 に 30 個体収容した。その後，暗室内で 5 分間静置してから LED
155 照明の照射を開始して，仕切りを外し 5 分間の光照射が終了後，
156 直ちに仕切を戻して，3 区画内のアルテミアの個体数を計数し
157 た（Fig. 1c）。この操作を光照射区では 5 回，暗黒区では 10 回
158 ずつ繰り返した。

159 **マングローブ・キリフィッシュ仔魚の摂餌行動** 短波長と長
160 波長の光が摂餌行動に与える影響を明らかにするため，光源に
161 は，光走性試験で使用した短波長を含む白色，短波長の青色お
162 よび長波長の赤色の LED 照明を用い，放射照度を 2.0 W m^{-2} と
163 して，計 3 つの実験区を設けた。各々の実験区では，マングロ
164 ーブ・キリフィッシュおよびアルテミアの光走性実験と同様の
165 方法で孵化させた供試生物を用い，同様の実験装置を使用した。
166 LED 照射区を B 区とし，A 区にアルテミアを 30 個体，C 区に

167 マングローブ・キリフィッシュ仔魚を 1 尾それぞれ収容した
168 (Fig. 1d)。兩種を収容して暗黒下で 5 分間静置した後に，B 区
169 より光を照射し，直ちに仕切を外した (Fig. 1e)。水槽上部に設
170 置した CCD カメラで水槽内の兩種の行動を録画し，録画画像
171 を解析した。まず，録画画像を 30 秒毎の 10 回の動画に分け，
172 30 秒間の水槽内の分布を 3 分割した区画のアルテミアの個体
173 数をそれぞれ計数した。なお，各区画に分布したアルテミア個
174 体数の比較には，実際に計数した数に，それぞれの区画で仔魚
175 が摂餌した数を加えた累積値を用いた。以上の一連の操作をそ
176 れぞれの実験区で 3 回ずつ繰り返した。暗黒下の仔魚の摂餌を
177 確認するため，上記の観察条件で，光を照射せずに赤外線下で
178 5 分間の仔魚の摂餌数を計数した。この操作を 5 回ずつ繰り返
179 した。

180 **統計処理** マングローブ・キリフィッシュ仔魚の光走性実験
181 で得られた滞在時間の比較には二元配置反復測定分散分析
182 (two-way repeated measures ANOVA) をおこない，光波長と放
183 射照度の二つの要因に交互作用がないと判断された場合
184 ($P > 0.05$) には，各々の要因について一元配置反復測定分散分
185 析 (one-way repeated measures ANOVA) により解析した。さら
186 に，分散が等しくないと判断された場合 ($P < 0.05$) には，多重
187 比較検定 (Tukey-Kramer test) をおこなった。アルテミアの光
188 走性実験で得られた個体数の比較には二元配置分散分析 (two-
189 way ANOVA) をおこない，光波長と放射照度の二つの要因に交
190 互作用があると判断された場合 ($P < 0.05$) には，多重比較検定
191 (Tukey-Kramer test) をおこなった。仔魚の摂餌実験で得られ

192 た各種データ（仔魚の摂餌数，区画毎の累積摂餌数）の比較に
193 は一元配置分散分析（one-way ANOVA）をおこない，分散が等
194 しくないと判断された場合（ $P < 0.05$ ）には，多重比較検定
195 （Tukey-Kramer test）をおこなった。

196

197 結果

198 マングローブ・キリフィッシュ仔魚の光走性 光波長と放
199 射照度には滞在時間に対する交互作用はなく（two-way
200 repeated measures ANOVA, $P = 0.643$, $n = 10$, $df = 4$, $F =$
201 0.630 ），放射照度 0.5 , 2.0 W m^{-2} 間の有意差はなかった（one-
202 way repeated measures ANOVA, $P = 0.873$, $n = 40$, $df = 1$, $F =$
203 0.026 ）。光波長間の有意差もなく（one-way repeated measures
204 ANOVA, $P = 0.480$, $n = 20$, $df = 3$, $F = 0.832$ ），光波長や放射照
205 度の違いにより，光照射部の滞在時間に差はなかった。マン
206 グローブ・キリフィッシュ仔魚の暗黒区の滞在時間は 97 ± 19
207 秒（平均 \pm 標準偏差）であった（Fig. 2）。暗黒と比べて，青
208 色と黄緑色のピーク波長の混合光による白色（ 163 ± 33 秒），
209 緑色（ 165 ± 51 秒）および赤色（ 184 ± 75 秒）波長の光で 1.7
210 ~ 1.9 倍ほど滞在時間が長くなり（one-way repeated measures
211 ANOVA, $P < 0.05$, $n = 20$, $df = 4$, $F = 6.813$; Tukey-Kramer test,
212 $P < 0.05$ ），青色（ 141 ± 52 秒）も暗黒より滞在時間が長くな
213 る傾向が見られた。



Fig. 2

214 アルテミアの光走性 水槽内のアルテミアの分布は光波長
215 間で有意差はなく（one-way ANOVA, $P = 0.954$, $n = 10$, $df = 4$, $F =$
216 0.168 ），放射照度間の有意差もなかった（one-way ANOVA, P

217 = 0.892, $n = 10$, $df = 1$, $F = 0.019$)。A, B, Cそれぞれの区画の
218 個体数を比較すると, 赤色 (0.5 W m^{-2}) の光では, B区 (8 ± 3
219 個体) と C区 (6 ± 4 個体) に比べ, 光照射区の A区 (16 ± 3 個
220 体) に多く (one-way ANOVA, $P < 0.05$, $n = 5$, $df = 2$, $F = 8.692$;
221 Tukey-Kramer test, $P < 0.05$), 青色 (0.5 W m^{-2}) の光でも B区
222 (3 ± 1 個体) と C区 (10 ± 3 個体) に比べ, A区 (17 ± 4 個
223 体) に多く (one-way ANOVA, $P < 0.05$, $n = 5$, $df = 2$, $F = 30.546$;
224 Tukey-Kramer test, $P < 0.05$), 半数以上の個体が光照射部に分
225 布した。また, 緑色 (0.5 W m^{-2}) の光では B区 (4 ± 1 個体)
226 に比べ両隅の A区 (14 ± 5 個体) と C区 (12 ± 5 個体) に多く
227 分布した (one-way ANOVA, $P < 0.05$, $n = 5$, $df = 2$, $F = 6.813$;
228 Tukey-Kramer test, $P < 0.05$)。他方で, 白色 (0.5 W m^{-2}) の光で
229 は 3 区画に分布した個体数に有意差は無かった (one-way
230 ANOVA, $P = 0.103$, $n = 5$, $df = 2$, $F = 2.758$, Fig. 3a)。しかし,
231 放射照度を 2.0 W m^{-2} に上げると, 光照射部とその反対側の区
232 画に多くの個体が移動し, 水槽の四隅に蟻集しているのが観察
233 された (Fig. 3b)。暗黒下でもアルテミアは, B区 (7 ± 3 個体)
234 に比べ, A区 (13 ± 3 個体) および C区 (10 ± 3 個体) に 3~6
235 個体ほど多く移動し, 水槽の両端に蟻集する傾向が見られた
236 (Fig. 3c)。

Fig.3

237 マングローブ・キリフィッシュ仔魚の摂餌行動 仔魚が 5 分
238 間で摂餌したアルテミアの数は, 暗黒では 3 ± 3 個体だった (Fig.
239 4)。光照射区では白色 (15 ± 1 個体), 青色 (13 ± 2 個体), 赤
240 色 (9 ± 2 個体) の順となり, 光を照射すると暗黒よりも摂餌数
241 が 3~5 倍に増加した。摂餌数は赤色光に比べ白色光の方が 1.7

Fig.4

242 倍多く (one-way ANOVA, $P < 0.05$, $n = 3-5$, $df = 3$, $F = 16.716$;
243 Tukey-Kramer test, $P < 0.05$), 青色光でも赤色光より摂餌が多
244 くなる傾向が見られた。青色と白色光では, 仔魚は近傍にいる
245 アルテミアに摂餌行動を示したのに対し, 赤色光では仔魚はア
246 ルテミアが摂餌可能な範囲にいるにも関わらず, 摂餌をしない
247 場合があった。仔魚は全ての光照射区で, 光照射部 (B 区) で
248 の摂餌が多く, A 区および C 区での摂餌は少なかった (白色,
249 one-way ANOVA, $P < 0.05$, $n = 3$, $df = 2$, $F = 9.824$; 青色, one-
250 way ANOVA, $P < 0.05$, $n = 3$, $df = 2$, $F = 18.902$; 赤色, one-way
251 ANOVA, $P < 0.05$, $n = 3$, $df = 2$, $F = 46.500$; Tukey-Kramer test, P
252 < 0.05 , Fig.5)。

Fig.5

253

254 考察

255 マングローブ・キリフィッシュ仔魚の光走性

256 マングローブ・キリフィッシュ仔魚は光強度によらず, 青色
257 (470 nm), 緑色 (525 nm), 赤色 (660 nm) および白色 (460,
258 570 nm) の LED 光に正の光走性を示した。Ali et al. (1988a, b)
259 は, 本種の受精 7 日後の胚胎は既に単錐体と複錐体がよく発達
260 しており, 3 日齢仔魚は成魚と比べ完全ではないものの, 網膜
261 の色素上皮細胞は機能的であり, 神経網膜から脈絡膜への物質
262 循環を調整していると指摘していることから, 本研究で用いた
263 仔魚は光を感知できると考えられる。

264 *K. marmoratus* はマングローブ域に分布しており (Turner et al.
265 1992), 本種の生息地によっては, 潮の干満や雨季および乾季な
266 どの気候変動により, 水温や塩分といった環境が大きく変化す

267 る (Frick and Wright 2002)。環境が大きく変動すると水中の背
268 景光も変化する (Loew and McFarland 1990; Horodysky et al.
269 2008)。また、水中での光波長は水域により大きく異なり、降雨
270 等によって懸濁物質が多く存在する淡水域では、黄色～赤色の
271 長波長の光が相対的に多くなる (Jerlov 1968)。一方、沿岸域で
272 は環境の変化により様々な光波長が混在し、主に青緑色 (500nm)
273 の光が多く、外洋域では青色 (470～480 nm) の短波長の光が多
274 く存在する (Loew and McFarland 1990; Cohen and Forward 2002)。
275 淡水と海水が混じり合うマングローブ域に生息するマングロ
276 ーブ・キリフィッシュは、さまざまな背景光の下で生息してい
277 ると推測される。このことから、マングローブ・キリフィッシ
278 ュ仔魚は生息域に順応するため幅広い波長の光を感じること
279 が可能であり、今回実験に用いた全ての波長に対して正の光走
280 性を示したと推察される。光強度の違いは仔魚の光走性に影響
281 を与えるが (小山 1978; Gehrke 1994; Marchesan et al. 2005),
282 0.5 W m^{-2} と 2.0 W m^{-2} で比較した本研究では有意差は検出さ
283 れなかった。しかし、中波長の黄緑色を含む白色と長波長の赤
284 色では 2.0 W m^{-2} に強めると光照射部への滞在時間は 1.1-1.2 倍
285 に増加した。このように、長波長の光強度を強めると光に集ま
286 る割合が増加する事例は European seabass でも確認されている
287 (Marchesan et al. 2005)。先行研究で光走性に差が表れたのは、
288 光強度に 10 倍以上の差があった場合に多かったが (Gehrke
289 1994; 加治ら 2008), 光強度に 4 倍差がある条件で比較した本
290 研究でも、マングローブ・キリフィッシュ仔魚の光走性は異な
291 る傾向がみられた。これらのことから、光強度が光走性に与え

292 る影響を明らかにするためには，より強い光強度で光走性に与
293 える影響を比較することが必要であると考えられる。

294 アルテミアの光走性

295 アルテミアのノープリウス幼生は 0.5 W m^{-2} では，青色と赤色
296 の幅広い波長で光照射部に蟻集したが，白色と緑色では水槽の
297 四隅に蟻集した。本研究で用いた *Artemia franciscana* と同属の
298 *A. salina* のノープリウス幼生は短波長の光に強い正の光走性を示
299 すことが報告されているが（矢島・水納谷 1980），本研究では
300 長波長の赤色 LED 照明の光照射部にも蟻集するのが観察され
301 た。さらに，放射強度を 2.0 W m^{-2} にした場合も全波長で水槽
302 の四隅に蟻集し，対照区の暗黒でも同様の性質が観察された。
303 LED 照明が円形水槽内のアルテミア分布に与える影響を調べ
304 た実験では，白，青，赤色 LED 照明下で，群れを形成して水槽
305 の壁面に沿って遊泳し，水槽内を循環する行動が確認されてい
306 る（Villamizar et al. 2011）。このことから，複数個体では群れ
307 で水槽の壁面に沿って遊泳する行動や個体同士の接触刺激に
308 より，光走性よりは隅に蟻集する性質が強く表れたと推察され
309 る。

310 マングローブ・キリフィッシュ仔魚の摂餌行動

311 マングローブ・キリフィッシュ仔魚のアルテミア摂餌数は長
312 波長（赤色）に比べ短波長の光（460nm）を含む白色および短
313 波長（青色）の LED 光で多く，主に光照射部で摂餌していた。
314 仔魚は今回実験に用いた全ての光波長に光走性を示し，アルテ
315 ミアの分布も光波長間で差はなかったことから，光照射部の滞
316 在時間が摂餌数の違いに影響を与えたとは考えにくい。

317 仔魚の摂餌行動は，視覚による餌料の検出が主要であり
318 (Blaxter, 1969)，仔魚が餌料と出会う確率は，餌料と背景のコ
319 ントラスト，視覚能力および光に影響を受けることが指摘され
320 ている (Utne-Palm 1999; Huse and Fiksen 2010)。

321 海産仔魚の錐体細胞にある光受容体の吸収極大は，青色や緑
322 色の短波長が多い (Britt et al. 2001)。また，同じ魚種でも仔魚
323 は網膜の光感受性が成魚とは異なり，Shand et al. (2008) は
324 Southern black bream *Acanthopagrus butcheri* の仔魚期では成魚
325 と比べ短波長よりの錐体細胞の光受容体が多いことを報告し
326 ている。仔魚期に短波長の光受容体を持つのは，餌料となる動
327 物プランクトンを海中で識別するためではないかと指摘され
328 ている (Britt et al. 2001)。これらのことから，マングローブ・
329 キリフィッシュの仔魚についても，短波長 (460nm) を含む白
330 色 LED および短波長の光 (470nm) を主波長とする青色 LED の
331 背景光下では，アルテミアのコントラストが上昇したことで，
332 仔魚はアルテミアの識別が容易になり，長波長の光 (660nm)
333 を主波長とする赤色 LED に比べ摂餌数が多かったと考えられ
334 る。他方で，マングローブ・キリフィッシュ仔魚の餌料である
335 シオミズツボウムシは，本研究で検証した同程度の光強度で本
336 種仔魚と同様に白，青，緑色光に正の光走性を示すことから
337 (Kim et al. 2014)，中～長波長の光を用いることで，遭遇率の
338 上昇によりマングローブ・キリフィッシュ仔魚の摂餌効率が増
339 加する可能性も考えられる。本研究で，マングローブ・キリフ
340 ィッシュ仔魚は放射照度 $0.5 - 2.0 \text{ W m}^{-2}$ の青，緑，赤，白色の
341 全波長に正の光走性を示すことや本種仔魚の餌料をアルテミ

342 アとした場合，良好な成長を得るには，摂餌が多くなる短波長
343 の青色や白色 LED 照明を用いることが適切であることが明ら
344 かになった。短波長の光と摂餌の関係については，コダラ
345 （Downing and Litvak 2001）や European seabass （Villamizar et
346 al. 2011）の仔魚は，青色 LED 照明下で摂餌が活発になること
347 が報告されている。つまり，海産魚の種苗生産では，仔魚期の
348 飼育には短波長の光を用いることで，摂餌数が増え生残率の向
349 上および良好な成長が得られる可能性がある。

350 今回，放射照度 0.5 W m^{-2} で仔魚の摂餌実験をおこなって
351 らず，光強度が摂餌に与える影響については調べていないため，
352 成長に有効な光強度については検討できなかった。しかし，本
353 研究のような短期の観察ではなく，長期の観察では，タイセイ
354 ヨウマダラやタイセイヨウサケ *Salmo salar* は強光下で網膜の
355 組織が破壊され（Vera and Migaud 2009），European seabass の仔
356 魚は奇形が多くなる（Johnson and Katavic 1984）。網膜の他に脳
357 の松果体も光受容能を有しており，概日リズムに影響を与える
358 （田畑 1986）。松果体による光受容は仔稚魚期の行動に影響を
359 与える場合があり（Yoshizawa and Jeffery 2008），マングローブ・
360 キリフィッシュ仔魚についても受精 10 日後の胚胎の時点で松
361 果体の光受容体は分化していることから（Ali et al. 1988b），光
362 波長の違いが松果体による光受容により行動に影響を与えた
363 可能性もある。今後，光波長の違いが松果体を通して行動や内
364 因的なリズムにどのように作用するか検討することも重要で
365 ある。また，緑色 LED 光でマツカワ稚魚の成長が促進されるの
366 は，緑色光が食欲に関する内分泌系と神経系を刺激したことが

367 要因であるとの報告 (Takahashi et al. 2016) もある。種苗生産
368 にとって有利な光波長・光強度を明らかにするには、行動だけ
369 ではなく組織、形態および生理の観点からも注目する必要があ
370 る。

371 要約

372 種苗生産に有効な光条件を検証するために、光波長と光の強
373 さがマングローブ・キリフィッシュ仔魚の光走性と摂餌に与え
374 る影響について青 (ピーク波長 470 nm)、緑 (525 nm)、赤 (660
375 nm)、白色 (460, 570 nm) の 4 色の LED 光源を用いて調べた。
376 マングローブ・キリフィッシュ仔魚は放射照度によらず、全て
377 の光波長に正の光走性を示した。仔魚の餌料であるアルテミア
378 は水槽の隅に蟻集する傾向がみられた。仔魚の摂餌数は赤色光
379 に比べ白色光下で多くなったことから、短波長よりの光を飼育
380 に用いることで、良好な成長を得られる可能性がある。

381

382 謝辞

383 本研究の一部は、農研機構・SIP (戦略的イノベーション創造
384 プログラム) 次世代農林水産業創造技術「ゲノム編集技術等を
385 用いた農林水産物の画期的育種改良」の助成により実施された。

386

387 文献

388 Ali, M. A., M. A. Klyne, E. H. Park, and S. H. Lee (1988a)
389 Structural changes in retinal pigmented epithelium of *Rivulus*
390 *marmoratus* Poey embryos during development. *Anat. Embryol.*,
391 **177**, 451-457.

392 Ali, M. A., M. A. Klyne, E. H. Park, and S. H. Lee (1988b) Pineal
393 and Retinal Photo receptors in Embryonic *Rivulus marmoratus*
394 Poey. *Anat. Anz.*, **167**, 359-469.

395 Blanco-Vives, B., N. Villamizar, J. Ramos, M. J. Bayarri, O.
396 Chereguini and F. J. Sánchez-Vázquez (2010) Effect of daily
397 thermo-and photo-cycles of different light spectrum on the
398 development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae.
399 *Aquaculture*, **306**, 137-145.

400 Blaxter, J. H. S. (1969) Visual thresholds and spectral sensitivity
401 of flatfish larvae. *J. Exp. Biol.*, **51**, 221-230.

402 Britt, L. L., E. R. Loew and W. N. Mcfarland (2001) Visual
403 pigments in the early life stages of Pacific Northwest marine
404 fishes. *J. Exp. Biol.*, **204**, 2581-2587.

405 Cohen, J. H. and R. B. Forward (2002) Spectral sensitivity of
406 vertically migrating marine copepods. *Biol. Bull.*, **203**, 307-314.

407 Davis, W. P., D. S. Taylor and B. J. Turner (1990) Field
408 observations of the ecology and habits of mangrove rivulus
409 (*Rivulus marmoratus*), in Belize and Florida (Teleostei:
410 Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters*,
411 **1**, 123-134.

412 Downing, G. and M. K. Litvak (2001) The effect of light intensity
413 and spectrum on the incidence of first feeding by larval haddock
414 (*Melanogrammus aeglefinus*). *J. Fish Biol.*, **59**, 1566-1578.

415 Frick, N. T. and P. A. Wright (2002) Nitrogen metabolism and
416 excretion in the mangrove killifish *Rivulus marmoratus* I. The

417 influence of environmental salinity and external ammonia. *J.*
418 *Exp. Biol.*, **205**, 79-89.

419 Gehrke, P.C. (1994) Influence of light intensity and wavelength on
420 phototactic behavior of larval silver perch *Bidyanus bidyanus*
421 and golden perch *Macquaria ambigua* and the effectiveness of
422 light traps. *J. Fish Biol.*, **44**, 741-751.

423 Grageda, M. V. C., Y. Sakakura, M. Minamimoto and A. Hagiwara
424 (2005) Differences in life-history traits in two clonal strains of
425 the self-fertilizing fish *Rivulus marmoratus*. *Environ. Biol.*
426 *Fish.*, **73**, 427-436.

427 Grageda, M. V. C., T. Kotani, Y. Sakakura and A. Hagiwara (2008)
428 Effects of feeding copepod and Artemia on early growth and
429 behaviour of the self-fertilizing fish, *Rivulus marmoratus*,
430 under laboratory conditions. *Aquaculture*, **281**, 100-105.

431 萩原篤志 (2008) 仔魚の餌料生物としての動物プランクトン。
432 養殖の餌と水一影の主役たち (杉田治男編), 恒星社厚生閣,
433 東京, pp. 80-86.

434 Harrington, R. W. Jr. (1961) Oviparous hermaphroditic fish with
435 internal self-fertilization. *Science*, **134**, 1749-1750.

436 Harrington, R. W. Jr. and K. Kallman (1968) The homozygosity of
437 clones of the self-fertilizing hermaphroditic fish *Rivulus*
438 *marmoratus* Poey (Cyprinodontidae, Atheriniformes). *Am. Nat.*,
439 **102**, 337-343.

440 Henne, J. P. and W. O. Watanabe (2003) Effects of light intensity
441 and salinity on growth, survival, and whole-body osmolality of

442 larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *J. World*
443 *Aquacult. Soc.*, **34**, 450-465.

444 Horodysky, A. Z., R. W. Brill, E. J. Warrant, J. A. Musick and R.
445 J. Latour (2008) Comparative visual function in five sciaenid
446 fishes inhabiting Chesapeake Bay. *J. Exp. Biol.*, **211**, 3601-3612.

447 Huse, G. and Ø. Fiksen (2010) Modelling encounter rates and
448 distribution of mobile predators and prey. *Prog. Oceanogr.*, **84**,
449 93-104.

450 Ina, Y., Y. Sakakura, Y. Tanaka, T. Yamada, K. Kumon, T. Eba, H.
451 Hashimoto, J. Konishi, T. Takashi and K. Gen (2017)
452 Development of phototaxis in the early life stages of Pacific
453 Bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Fish. Sci.*, **83**, 537-542.

454 Jerlov, N. G. (1968) Optical oceanography. American Elsevier
455 Publishing, New York, pp. 194.

456 Johnson, D. W. and I. Katavic (1984) Mortality, growth and swim
457 bladder stress syndrome of sea bass (*Dicentrarchus labrax*)
458 larvae under varied environmental conditions. *Aquaculture*, **38**,
459 67-78.

460 加治俊二・西 明文・橋本 博・今泉 均・足立純一 (2008) ウナ
461 ギ仔魚飼育方法を応用したハモ仔魚飼育の試み. 水産技術,
462 1, 83-86. [Kaji, S., A. Nishi, H. Hashimoto, H. Imaizumi and J.
463 Adachi (2008) Trial for Rearing Pike Eel *Muraenesox cinereus*
464 Larvae by Applying the Japanese Eel Larvae Rearing Method.
465 *Journal of Fisheries Technology*, **1**, 83-86 (in Japanese with
466 English abstract).]

467 Kallman, K. and R. W. Harrington, Jr. (1964) Evidence for the
468 existence of homozygous clones in the self-fertilizing
469 hermaphroditic teleost *Rivulus marmoratus* (Poey). *Biol. Bull.*,
470 **126**, 101-114.

471 Kanamori, A., Y. Sugita, Y. Yuasa, T. Suzuki, K. Kawamura, Y. Uno,
472 K. Kamimura, Y. Matsuda, C. A. Wilson, A. Amores, J. H.
473 Postlethwait, K. Suga and Y. Sakakura (2016) A genetic map for
474 the only self-fertilizing vertebrate. *G3: Genes, Genomes,*
475 *Genetics*, **6**, 1095-1106.

476 河村希典・山田潤一・斎藤和敬・佐藤正人・甲本亮太・柴田理
477 (2010) 発光ダイオードを用いた種苗生産における稚魚の
478 飼集. 秋田大学大学院工学資源学研究所研究報告, **31**, 1-8.
479 [Kawamura, M., J. Yamada, K. Saito, M. Sato, R. Komoto and
480 O. Shibata (2010) Settlement of juvenile fishes for a seeding
481 production by using several color light emitting diodes.
482 *Scientific and Technical Reports of Graduate School of*
483 *Engineering and Resource Science, Akita University*, **31**, 1-8 (in
484 Japanese with English abstract).]

485 Kim, H. J., C. Sawada and A. Hagiwara (2014) Behavior and
486 reproduction of the rotifer *Brachionus plicatilis* species
487 complex under different light wavelengths and intensities. *Int.*
488 *Rev. Hydrobiol.*, **99**, 151-156.

489 King, J. C., D. C. Abel and D. R. DiBona (1989). Effects of salinity
490 on chloride cells in the euryhaline cyprinodontid fish *Rivulus*
491 *marmoratus*. *Cell Tissue Res.*, **257**, 367-377.

- 492 Koenig, C. C. and M. P. Chasar (1984) Usefulness of the
493 hermaphroditic marine fish, *Rivulus marmoratus*, in
494 carcinogenicity testing. *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, **65**, 15-33.
- 495 小山長雄 (1978) アユの生態. 中央公論社, 東京, pp. 176.
- 496 Loew, E. R. and W. N. McFarland (1990) The underwater visual
497 environment. In “*The Visual System of Fish*” (ed. by Douglas,
498 R. and M. Djamgoz), Springer Netherlands, London. pp. 1-43.
- 499 Marchesana, M., M. Spoto, L. Verginella and EA. Ferrero (2005)
500 Behavioural effects of artificial light on fish species of
501 commercial interest. *Fish. Res.*, **73**, 171-185.
- 502 Pandey, BD, A. Hagiwara and Y. Sakakura (2008) Feeding
503 behaviour, feed selectivity and growth studies of mangrove
504 killifish, *Kryptolebias marmoratus*, larvae using various live
505 and formulated feeds. *Environ. Biol. Fish.*, **82**, 365-375.
- 506 社団法人全国豊かな海づくり推進協会 (2006) 主要対象生物の
507 発育段階の生態的知見の収集・整理 (平成 18 年度水産基盤
508 整備調査委託事業報告書). 水産庁, 東京. 316 pp.
- 509 Shand, J., W. L. Davies, N. Thomas, L. Balmer, J. A. Cowing, M.
510 Pointer, L. S. Carvalho, A. E. O. Trezise, S. P. Collin, L. D.
511 Beazley and D. M. Hunt (2008) The influence of ontogeny and
512 light environment on the expression of visual pigment opsins
513 in the retina of the black bream, *Acanthopagrus butcheri.*, **211**,
514 1495-1503.
- 515 Stearns, D. E. and R. B. Forward (1984) Photosensitivity of the
516 calanoid copepod *Acartia tonsa*. *Mar. Biol.*, **82**, 85-89.

517 田畑満生 (2002) 魚類の日周リズムと自発摂餌への展開研究,
518 日本水産学会誌, 68, 305-308. [Tabata, M. (2003) Studies of
519 fish daily rhythms and development of demand-feeding system.
520 *Nippon Suisan Gakkaishi*, **68**, 305-308 (in Japanese with
521 English abstract).]

522 Takahashi, A., S. Kasagi, N. Murakami, S. Furufuji, S. Kikuchi, K.
523 Mizusawa and T. Andoh (2016) Chronic effects of light
524 irradiated from LED on the growth performance and endocrine
525 properties of barfin flounder *Verasper moseri*. *Gen. Comp.*
526 *Endocrinol*, **232**, 101-108.

527 Turner, B. J., W. P. Davis and D. S. Taylor (1992) Abundant males
528 in populations of a selfing hermaphrodite fish, *Rivulus*
529 *marmoratus*, from some Belize cays. *J. Fish Biol.*, **40**, 307-310.

530 Utne-Palm, A. C. (1999) The effect of prey mobility, prey contrast,
531 turbidity and spectral composition on the reaction distance of
532 *Gobiusculus flavescens* to its planktonic prey. *J. Fish Biol.*, **54**,
533 1244-1258.

534 Van der Meeren, T. and K. E. Jorstad (2001) Growth and survival
535 of Arcto-Norwegian and Norwegian coastal cod larvae (*Gadus*
536 *morhua* L.) reared together in mesocosms under different light
537 regimes. *Aquacult. Res.*, **32**, 549-563.

538 Vera, L. M. and H. Migaud (2009) Continuous high light intensity
539 can induce retinal degeneration in Atlantic salmon, Atlantic cod
540 and European sea bass. *Aquaculture*, **296**, 150-158.

541 Villamizar, N., A. García-Alcazar and F. J. Sánchez-Vázquez

542 (2009) Effect of light spectrum and photoperiod on the growth,
543 development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus*
544 *labrax*) larvae. *Aquaculture*, **292**, 80-86.

545 Villamizar, N., G. Garcia-Mateos and F. J. Sánchez-Vázquez (2011)
546 Behavioral responses of European sea bass (*Dicentrarchus*
547 *labrax*) larvae and *Artemia* sp. exposed to constant light or
548 darkness vs. light/dark cycles of white, red or blue wavelengths.
549 *Aquaculture*, **317**, 197-202.

550 山本章造・藤井義弘・村田 守 (2003) アユ仔魚の摂餌の日周
551 変化と成長にともなう日間摂餌量の変化. 水産増殖, **51**, 73-
552 80. [Yamamoto, S., Y. Fujii and M. Murata (2003)
553 Developmental Changes in Diurnal Feeding Activity and Daily
554 Food Consumption in Ayu, *Plecoglossus altivelis* larvae.
555 *Aquacult. Sci.*, **51**, 73-80 (in Japanese with English abstract).]

556 山本章造・杉野博之・中力健治・増成伸文・近藤正美 (2005)
557 陸上水槽におけるマコガレイ仔稚魚の摂餌活動の日周変化
558 と成長にともなう日間摂餌量の変化. 水産増殖, **53**, 157-165.
559 [Yamamoto, S., H. Sugino, K. Cyuuriki, N. Masunari and M.
560 Kondou (2003) Developmental Changes in Diel Feeding
561 Activity and Estimation of Daily Food Consumption in
562 Hatchery-reared Larval and Juvenile Marbled Sole *Pleuronectes*
563 *yokohamae*. *Aquacult. Sci.*, **53**, 157-165 (in Japanese with
564 English abstract).]

565 矢島エイ子・水納谷民太郎 (1980) アルテミアの走光性の研究
566 - I 光集合の作用スペクトル. 長崎大学教養部紀要 (自然科

567 学篇), **21**, 29-33.

568 Yoshizawa, M., WR. Jeffery (2008) Shadow response in the blind
569 cavefish *Astyanax* reveals conservation of a functional pineal
570 eye. *J. Exp. Biol.*, **211**, 292-299.

571

572 図の説明

573 Fig.1. Experimental design for phototaxis and feeding behavior
574 analysis. (a) Dark adaptation, test organism were introduced
575 into the middle part (B part) of experimental vessel for 5
576 min. (b) Removal of partitions, illumination using a LED
577 bulb for 5 min and observed by CCD camera. (c) Counting
578 of distributed *Artemia* nauplii. (d) Dark adaptation, *Artemia*
579 nauplii and mangrove killifish larvae were introduced into
580 the A and C part of experimental vessel for 5 min. (e)
581 Removal of partitions, illumination using a LED bulb for 5
582 min and observed feeding number by CCD camera.

583 Fig.2. Staying duration (sec) of mangrove killifish larva under LED
584 lights. The abbreviations (W, B, G, R) present white (460,
585 570 nm), blue (470 nm), green (525 nm) and red light (660
586 nm) wavelengths, respectively. Error bars indicate standard
587 deviations ($n = 10\sim 20$) and different letters indicate
588 significant differences between the light wavelengths ($a > b$,
589 Tukey-Kramer test, $P < 0.05$).

590 Fig.3. Distribution of *Artemia* nauplii under different wavelength
591 and intensities. The abbreviations (W, B, G, R) present
592 white (460, 570 nm), blue (470 nm), green (525 nm) and red
593 light (660 nm) wavelengths, respectively: (a) 0.5 W m^{-2} , (b)
594 2.0 W m^{-2} , (c) darkness. Error bars and different letters
595 indicate standard deviations ($n = 5\sim 10$) and significant
596 differences ($a > b > c$, Tukey-Kramer test, $P < 0.05$).

597 Fig.4. Numbers of *Artemia* nauplii ingested by mangrove killifish
598 larvae. The abbreviations (W, B, R) present white, blue and
599 red light wavelengths. Error bars and different letters
600 indicate standard deviations ($n = 3\sim 5$) and significant
601 differences ($a>b>c$, Tukey-Kramer test, $P < 0.05$).

602 Fig.5. Numbers of *Artemia* nauplii ingested by a mangrove killifish
603 larva at 3 partitions in an observation tank: (W) White (460,
604 570 nm), (B) blue (470 nm), and (R) red (660 nm) light
605 wavelengths at light intensities of 2.0 W m^{-2} . Error bars
606 indicate standard deviations and different letters indicate
607 significant differences between the areas ($a>b$, Tukey-
608 Kramer test, $P < 0.05$, $n = 3$).

Fig.1 (29024_石田・阪倉)

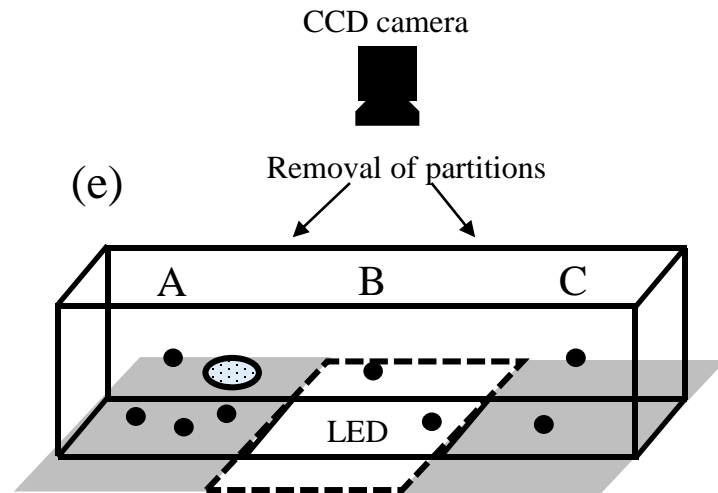
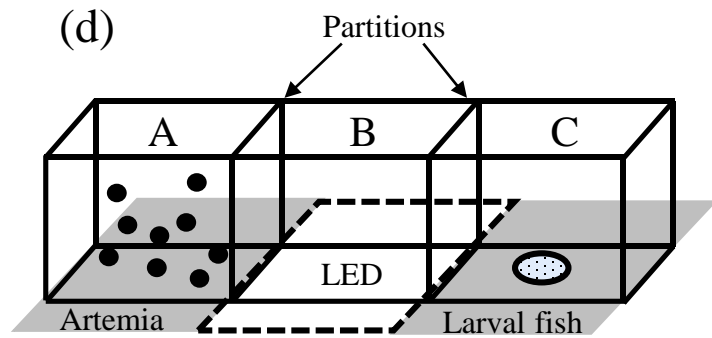
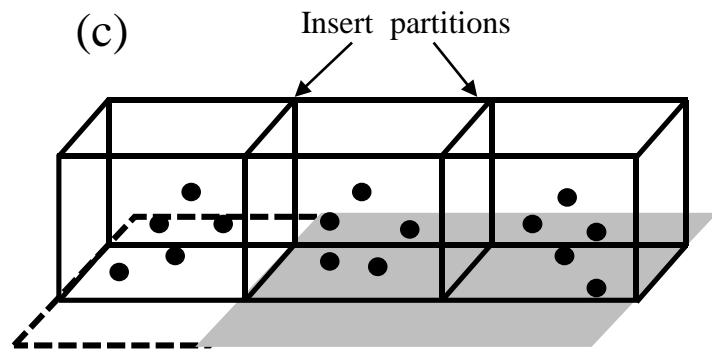
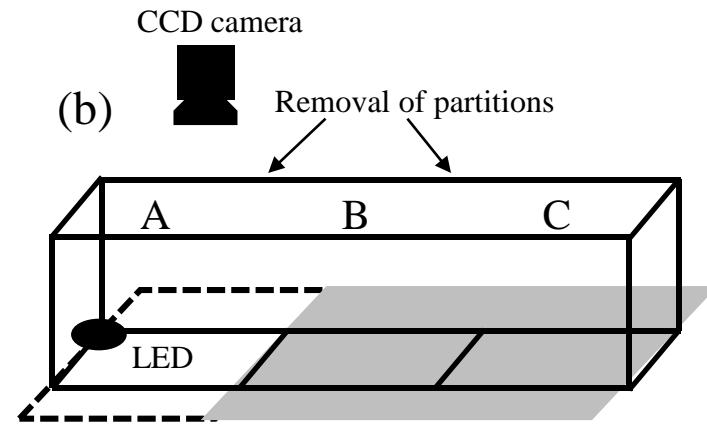
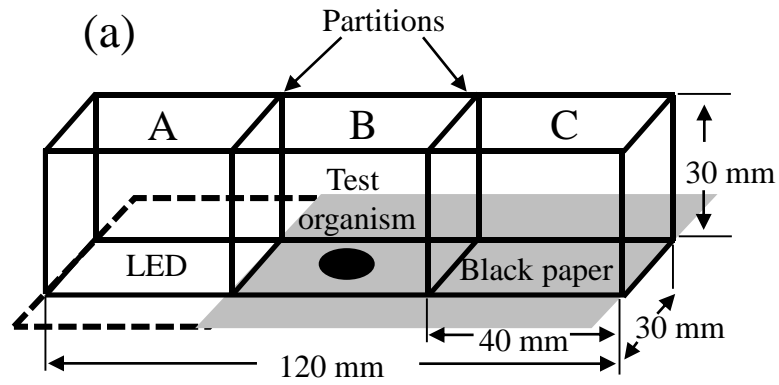


Fig. 2 (29024_石田・阪倉)

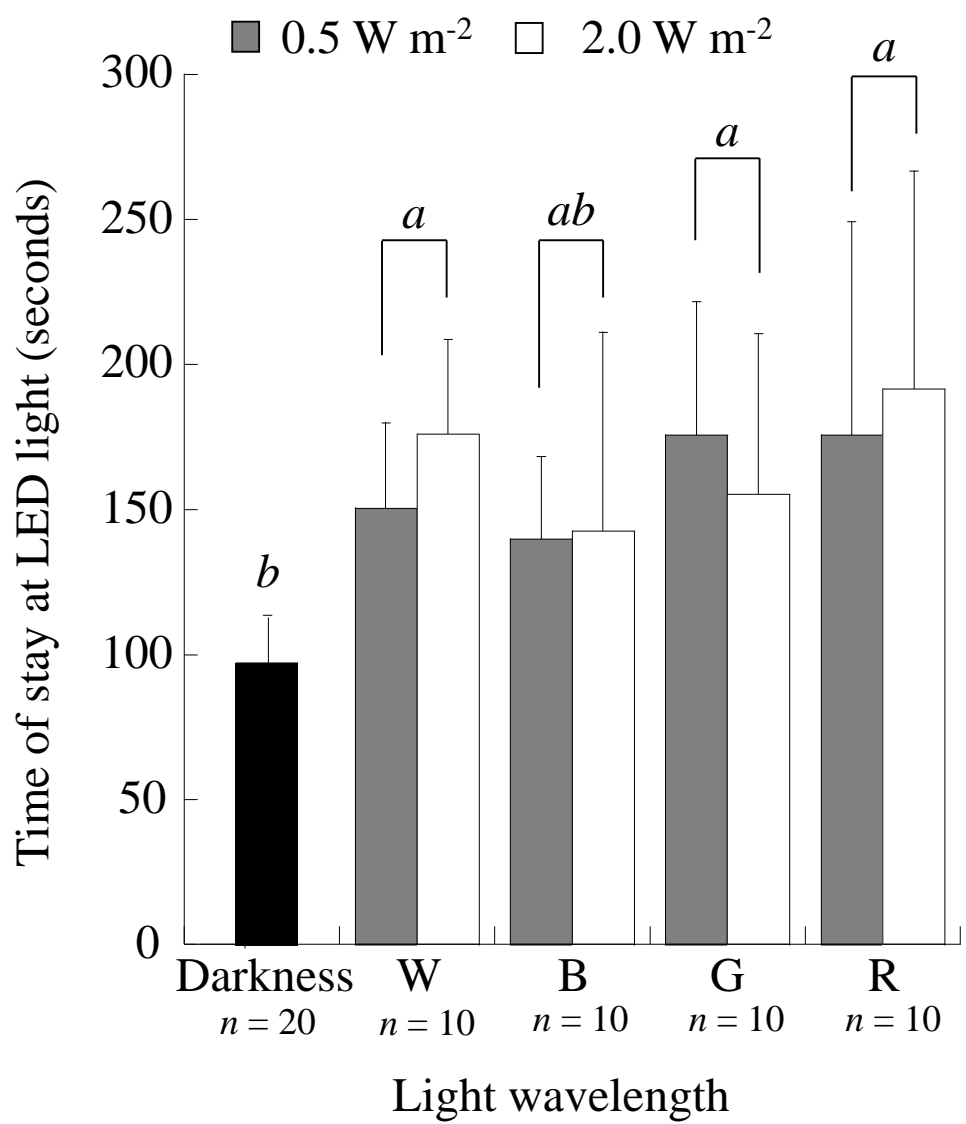


Fig. 3 (29024_石田・阪倉)

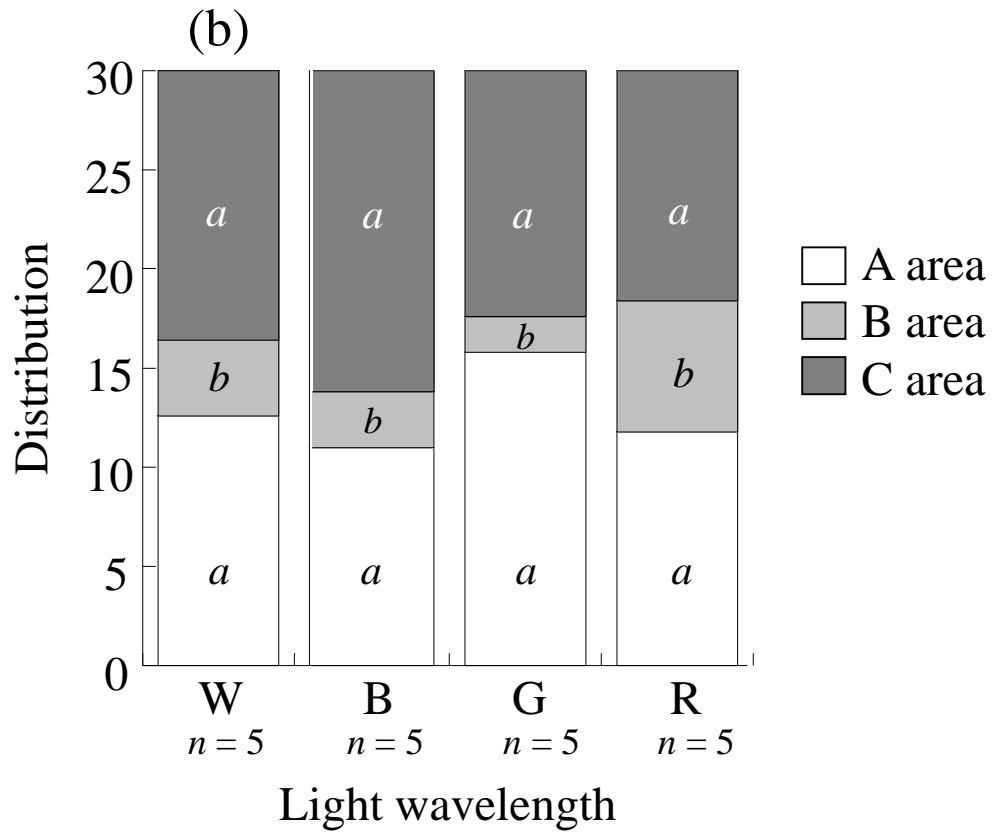
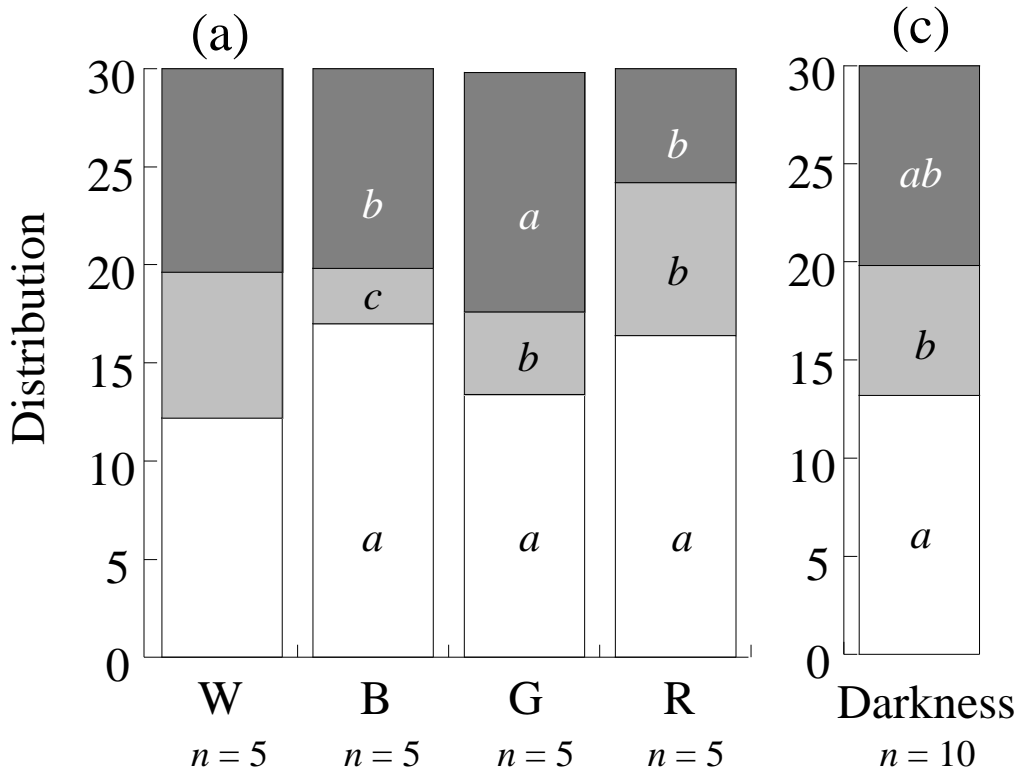


Fig. 4 (29024_石田・阪倉)

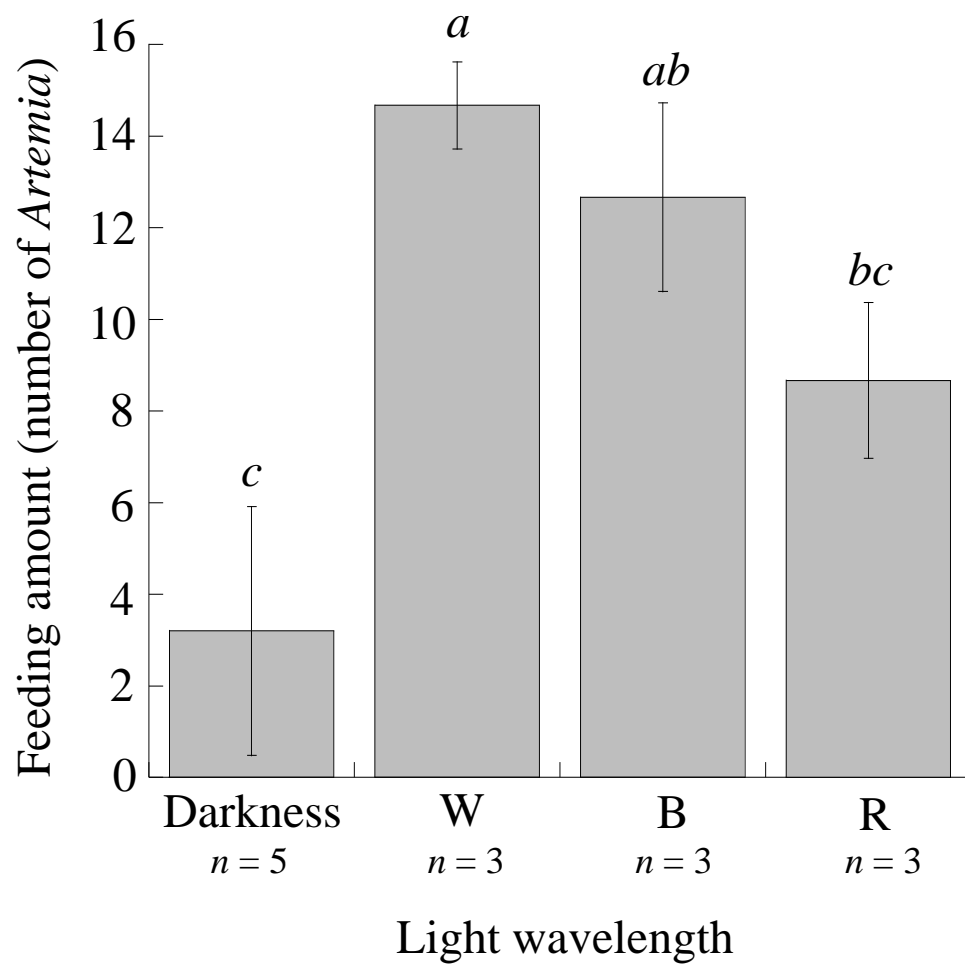


Fig. 5 (29024_石田・阪倉)

