

海洋生物科学科 2013 年研究業績

A. 研究発表

1. 論文

- (1) Complete genome sequences of *Edwardsiella tarda*-lytic bacteriophages KF-1 and IW-1

Motoshige Yasuike, Emi Sugaya, Yoji Nakamura, Yuya Shigenobu, Yasuhiko Kawato, Wataru Kai, Satoshi Nagai, Atushi Fujiwara, Motohiko Sano, Takanori Kobayashi, and Toshihiro Nakai

Genome Announc., 1, e00089-12 (2013)

We report the complete genome sequences of two *Edwardsiella tarda*-lytic bacteriophages isolated from flounder kidney (KF-1) and seawater (IW-1). These newly sequenced phage genomes provide a novel resource for future studies on phage-host interaction mechanisms and various applications of the phages for control of edwardsiellosis in aquaculture.

- (2) Complete genome Sequence of a novel myovirus which infects atypical strains of *Edwardsiella tarda*

Motoshige Yasuike, Emi Sugaya, Yoji Nakamura, Yuya Shigenobu, Yasuhiko Kawato, Wataru Kai, Satoshi Nagai, Atushi Fujiwara, Motohiko Sano, Takanori Kobayashi, and Toshihiro Nakai

Genome Announc., 1, e00248-12 (2013)

We present the genome sequence of a novel *Edwardsiella tarda*-lytic bacteriophage, MSW-3, which specifically infects atypical *E. tarda* strains. The morphological and genomic features of MSW-3 suggest that this phage is a new member of the dwarf myoviruses, which have been much less studied than other groups of myoviruses.

- (3) Contaminants in tracked seabirds show regional patterns of marine pollution
Atsuo Ito, Rei Yamashita, Hideshige Takada, Takashi Yamamoto, Kozue Shiomi, Carlos Zavalaga, Tomoya Abe, Shinichi Watanabe, Maki Yamamoto, Katsufumi Sato, Hiroyoshi Kohno, Ken Yoda, Tomohiko Iida, and Yutaka Watanuki

Ocean-scale monitoring of pollution is challenging. Seabirds are useful indicators because they travel over a broad foraging range. Nevertheless, this coarse spatial resolution is not fine enough to discriminate pollution in a finer scale. Previous studies have demonstrated that pollution levels are higher in the Sea of Japan and South and East China Seas than the Northern Pacific Ocean. To test these findings in a wide-ranging animal, we tracked streaked shearwaters (*Calonectris leucomelas*) from four islands in Japan using global positioning system (GPS) and measured persistent organic pollutants (POPs) in the oil of their preen glands. The POPs did not change during 6 to 21 days when birds from Awashima were foraging only in the Sea of Japan, while it increased when they crossed to the Pacific through the Tsugaru Strait and foraged along the eastern coast of Hokkaido where industrial cities occur. These results indicate that POPs in the oil reflect relatively short-term exposure. Concentrations of POPs displayed greater variation among regions. Total polychlorinated biphenyls were highest in birds foraging in a small area of the semiclosed Seto Inland Sea surrounded by urbanized coast, p,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) was highest in birds foraging in the East China Sea, and total hexachlorocyclohexanes were highest in birds foraging in the Sea of Japan. All were lowest in birds foraging in the Pacific. This distribution of POPs concentration partly agrees with previous findings based on mussels, fish, and seawater and possibly reflects the mobility and emission sources of each type of POP. These results highlight the importance of information on the foraging area of highly mobile top predators to make them more effective monitors of regional marine pollution.

- (4) Measurement of diurnal body tilt angle distributions of threeline grunt *Parapristipoma trilineatum* using micro-acceleration data loggers
Hideaki Tanoue, Teruhisa Komatsu, Alabsi Natheer, Isamu Mitani, Shinichi Watanabe, Yuuki Watanabe, Akira Hamano, and Nobuyuki Miyazaki
J. Mar. Sci. Eng., **1**, 3–9 (2013)

The body tilt angle of a fish has a large effect on the acoustic target strength. For an accurate estimation of fish abundance using acoustic methods, it is necessary to measure body tilt angles in free-ranging fish. We measured diurnal body tilt angle distributions of threeline grunt (*Parapristipoma trilineatum*) while swimming in schools in a fish cage. Micro-acceleration data loggers were used to record (for 3 days) swaying and surging accelerations (at 16 Hz intervals) of 10 individuals among 20 forming a school in a fish

cage. Time series analysis of 1-h mean body tilt angles revealed significant differences in body tilt angles between day ($-7.9 \pm 3.28^\circ$) and night ($0.8 \pm 5.89^\circ$), which must be taken into account when conducting acoustic surveys. These results will be useful for calculating the average dorsal aspect target strength (TS) of threeline grunt for accurate estimations of fish abundance.

- (5) Enzymatic properties of β -1,3-glucanase from *Streptomyces* sp Mo
Masahiro Kurakake, Yuuki Yamanouchi, Kouta Kinohara, and Shingo Moriyama
J. Food Sci., **78**, C502-C506 (2013)

Streptomyces sp Mo endo- β -1,3-glucanase was found to have hydrolyzing activity toward curdlan and released laminarioligosaccharides selectively. The molecular weight was estimated to be 36,000 Da and its N-terminal amino acid sequence was VTPPDISVTN. The optimal pH was 6 and the enzyme was found to be stable from pH 5 to 8. The optimal temperature was 60°C and the activity was stable below 50°C. The enzyme hydrolyzed selectively curdlan containing only β -1,3 linkages. The enzyme had 89% relative activity toward *Laminaria digitata* laminarin which contains a small amount of β -1,6 linkages compared with curdlan, while *Eisenia bicyclis* laminarin with a higher amount of β -1,6-linkages, was not hydrolyzed. Mo enzyme adsorbed completely on curdlan powder. The enzymatic hydrolysis of curdlan powder resulted in the accumulation of laminaribiose (yield 81.7%). Trisaccharide was inevitably released from the hydrolysis of laminarioligosaccharides with 5 to 7 degrees of polymerization (DP). Although the enzyme cleaved off disaccharide (DP 2) from tetrasaccharide (DP 4), the reaction rate was lower than those of DP 5-7. The results indicated that the active site of Mo endo- β -1,3-glucanase can efficiently recognize glucosyl residue chain of greater than DP5 and hydrolyzes the β -1,3 linkage between the third and fourth glucosyl residue.

- (6) 低魚粉飼料の栄養評価と飼育魚の健康評価 II. 低魚粉飼育魚の健康評価 2.
飼育魚の免疫機能
小嶋智一、河原栄二郎
日本水産学会誌, **79**, 455 (2013)

近年、飼料原料である魚粉の価格が高騰したため、代替原料を用いた低魚粉飼料の開発が進められている。低魚粉による魚の成長低下については、タウリンの添加によって改善されることが明らかにされたことから、現在では低魚粉飼料が普及し始めている。しかし、養殖の現場では低魚粉飼育魚の抗病性が危惧

されているだけでなく、実験的感染試験で抗病性が低下しているとの報告もある。そこで、低魚粉飼育魚の免疫機能を評価し、魚種毎の評価方法およびその活用法について検討した。その結果、ブリに対しては低魚粉飼料に植物乳酸菌 *L. plantarum* の死菌体を添加すると、植物性タンパク質原料の利用性を向上させるとともに、非特異的免疫機能を亢進させ、抗病性を高めることが明らかとなった。

2. 報文

- (1) 水中撮影による飼育動物の行動評価：カブトガニ類の活動率と利用場所の推定
渡辺伸一、片山統貴、野本智也
福山大学内海生物資源研究所報告 (23), 1-6 (2013)

For monitoring activity of aquatic animals in captivity, we developed an observation technique using a waterproof digital still camera. The camera can record underwater images at fixed interval (10 minutes in the present study) for 4.9 days (ca. 700 images). We had set the camera in an aquarium which contained a male Japanese horseshoe crab (Crab1) and a pair of American horseshoe crabs (Crab2, 3). We obtained 1,306 images when Crab1 was singly kept and 1,844 images when three crabs were kept together. We evaluated activity rate and site occupation in the aquarium in each crab. The results showed that the activity rate of Crab1 significantly increased when it was kept with the other crabs (49%) than when it was singly kept (39%). The site occupation also significantly differed between the captive conditions. When three crabs were kept together, the activity rates and site occupations differed among the crabs. We assumed that it was resulted from both affected by interactions among individuals and interspecific differences for the mating systems. We believe this technique will be applicable to various types of aquatic animals in order to test how captive conditions affect the activity.

- (2) ギンブナにおける肝組織由来初代細胞培養法の健闘
阪本憲司、阿江潤平、村井 悠
福山大学内海生物資源研究所報告 (23), 7-12 (2013)

クローンギンブナを供試魚とし、肝組織由来初代細胞培養法を検討した。トリプシン、コラゲナーゼおよびディスパーゼの各種酵素および酵素処理時間の違いによる初代培養細胞（繊維芽様細胞）の増殖の程度から、細胞調製の好適条件を検

討した。その結果、トリプシンを用いて分散させた細胞のディッシュへの付着が良好で、さらに、繊維芽様細胞の良好な増殖が認められた。酵素処理時間は、摘出した肝臓の大きさにもよるが、37℃、1～3分の条件でインキュベートしたところ、処理時間を短くすることによって、その後の細胞の付着および増殖の程度が向上した。本結果から、トリプシン処理時間が1～3分で細胞の増殖が良好であり、これは処理時間が短くなることで、細胞への影響が軽減されたためであると推察された。

(3) 配合飼料を用いたニホンイサザアミの水槽内飼育

水上雅晴、栗原沙織、安藤宗一郎

福山大学内海生物資源研究所報告 (23), 13-26 (2013)

市販のクルマエビ用配合飼料を用いて、ニホンイサザアミの水槽内飼育を試みた。与える餌のサイズを検討するために、水温 25℃、塩分 10.5‰ に調整した希釈海水中で、粒径が 0.04 および 0.60mm のクルマエビ用配合飼料と孵化アルテミアを用いて止水飼育を行い、ニホンイサザアミの生残率を比較した結果、0.60mm 区において飼育 12 日後の生残率が 68.8% と最も高い値を示した。また、0.60mm 粒径の配合飼料を用いたニホンイサザアミの長期飼育を目的に、500 のオーバーフロー水槽内に成熟した雌雄各 500 個体ずつを、1 回転/日の量で同希釈海水を注入しながら掛け流し飼育した結果、生残率は飼育 14、28 および 35 日目でそれぞれ 61.6、49.8 および 21.3% となった。さらに、飼育期間中には、0 から 14、15 から 28 および 29 から 35 日目の間でそれぞれ 2110、3045 および 685 個体の稚アミが飼育した成熟個体から産出された。したがって、配合飼料を用いたニホンイサザアミの飼育は可能で、長期間に渡ってその個体群を維持管理するには、飼育中に産出された稚アミの成長を早めて次の世代への繁殖加入を促す技術を確立することが重要と考えられた。

(4) Lethal toxicity of insecticides imidacloprid to *Cyprinus carpio*

Yuko Kawakami, and Eijiro Kawahara

Rep. Res. Inst. Mar. Biores., Fukuyama Univ. (23), 27-35 (2013)

Lethal toxicity and influence on the tissue of insecticides imidacloprid against *Cyprinus carpio* were examined. Lethal toxicity tests were concentrations of the active ingredient imidacloprid prepared to 800, 400, 200, 100, 50 and 0 mg/l in breeding water. The 50% lethal concentration of 4.5 g average weight of test fish was calculated 170 mg/l. The influence on the tissue was concentrations of the active ingredient imidacloprid prepared

to 1,000, 100, 10, 1, 0.1 and 0 mg/l in breeding water. Pathological changes were observed in the gill tissue at the concentration of 0.1 mg/l. These findings suggest that there are imidacloprid has a lethal toxicity, and it damages the gill tissue in the immersion of 0.1 mg/l at least.

- (5) Cytotoxic effect of extracellular products *Streptococcus parauberis* isolated from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*
Yuki Kijima, Emi Sugaya, and Eijiro Kawahara
Rep. Res. Inst. Mar. Biores., Fukuyama Univ. (23), 36-42 (2013)

We examined the effects of *Streptococcus parauberis* extracellular products (ECP) on white blood cell count or surviving white blood cell count of head kidney leukocytes in Japanese flounder. White blood cell count and surviving white blood cell count were lowered ECP addition ward than PBS addition ward. In the second place, we examined the effect of ECP on head kidney leukocytes functions in Japanese flounder. Leukocytes functions were find out of bacterial activity, phagocytic activity and Phagocytic index. bacterial activity, phagocytic activity and phagocytic index were lowered ECP addition ward than PBS addition ward. These findings suggest that there are ECP has cytotoxic against head kidney leukocytes in Japanese flounder.

- (6) ふれあい出前水族館を活用した社会人基礎力養成教育
水上雅晴、河原栄二郎
福山大学内海生物資源研究所報告 (23), 43-61 (2013)

筆者らの所属する海洋生物科学科では、学芸員養成課程を設けて学芸員の資格取得を目指す学生の指導を積極的に行っており、博物館実習の事前事後学習の一環として、学生が学外で移動型水族館を開催するふれあい出前水族館を実施した。生き物を間近に観察し直接触れ合うことは、生き物に対する愛護精神や適正な飼養についての関心と理解を深めるために有効で、癒しの効果があるといわれている。本活動では、水族館の運営に携わる本学科学学生らのコミュニケーション能力の向上、現場で活かせる専門知識の習得および就業力の向上を目指し、展示企画、展示生物の採取と日常管理、標本やパネル類の作製および解説に関する手法を修得させながら、海洋生物を教材とした理科教育の有用性および社会貢献の重要性について理解させることを目的とした。

本活動では、普段海と接することの少ない山間部の小学校および老人福祉施設として神石高原町立油木小学校および介護老人福祉施設あいあい桜が丘へ、また、

海フェスタおのみち海の総合展およびじばさんフェア 2012 のような各種展示会場へ、主に学芸員資格の取得を目指す本学科 10 名の 4 年生がタッチングプールや小型水槽を出張展示して生き物の解説を実施した。参加学生は学内生活だけでは接することのない小学生や要介護者と触れ合うことで、コミュニケーション能力や専門知識の必要性を改めて認識するとともに、それらの向上効果が認められたことから、出前水族館を活用した社会人基礎力養成教育の有効性が示唆された。

- (7) *Microcystis* 属シアノバクテリアの窒素およびリンに関する飢餓培養条件の検討
藤井啓子、北口博隆、満谷 淳
福山大学生命工学部研究年報 (12), 43-56 (2013)

アオコ原因シアノバクテリア *Microcystis aeruginosa* の細胞に貯蔵された窒素とリンを共に十分に枯渇させるための飢餓培養条件について検討した。その結果、*M. aeruginosa* NIES-102 株では N/P 比(モル比)が 80 の培地で 14 日間、*M. aeruginosa* NIES-104 株では 60 の培地で 14 日間、*M. aeruginosa* NIES-298 株では 120 の培地で 15 日間、それぞれ定常期後期まで培養を行うことで窒素とリンの双方について共に十分に飢餓状態に達した細胞が得られることを見出した。次に、溶存態無機窒素(DIN)濃度または溶存態無機リン(DIP)濃度を段階的に変化させ、その他の成分は過剰に含むように調製した一連の培地にこれらの条件で飢餓培養を行った *M. aeruginosa* の細胞を接種して培養を行い、それぞれの培地における AGP(Algal Growth Potential; 藻類増殖潜在力)値と比増殖速度を調べた。3 株共に AGP 値は、DIN 濃度を変化させた一連の培地では初期 DIN 濃度と、DIP 濃度を変化させた一連の培地では初期 DIP 濃度と、それぞれ直線的な比例関係を示した。しかし、同一の DIN または DIP 濃度の培地に接種した場合の AGP 値と比増殖速度は共に 3 株で値が異なり、株間で増殖特性に違いがあることが明らかになった。初期 DIP 濃度に対して得られた AGP 値から導き出された回帰直線の傾きを初期 DIN 濃度に対して得られた AGP 値から導き出された回帰直線の傾きで割ることによって求めた増殖最適 N/P 比(モル比)は、NIES-102 株では 71、NIES-104 株では 101、NIES-298 株では 287 となった。これらの値は、シアノバクテリアの好む N/P 比としてこれまでに報告されてきた値(質量比で 30 未満=モル比で約 66 未満)よりも高かった。

3. 学会発表

- (1) 八田原ダムにおけるアオコ発生要因に関わる芦田川上流域の栄養塩環境調査
藤井啓子、北口博隆、満谷 淳
第 47 回日本水環境学会年会(東京)、講演要旨集、p. 458 (2013-3)

広島県の八田原ダムでは、降雨による出水後、著しく無機リン濃度が上昇し、その後の日照条件が整えばアオコが大発生する。本研究では、上流から河川水とともに流入したと考えられる窒素・リンの負荷源を探るため、本ダムの主要流入河川である芦田川上流域で定期的に採水し、窒素・リン濃度を測定した。

芦田川上流域では、無機窒素・リン濃度ともに、源流 (St. 1) から世羅町市街地 (St. 5) まで、下流になるにつれて段階的に上昇し、八田原ダムの約 3 km 上流に位置する三川ダム (St. 6) で一旦低下した。そのさらに下流では、7 月末の調査時までは、三川ダムより放水された水 (St. 7) で再度上昇した。本調査では三川ダムの表層水を採取しており、それらに含まれる栄養塩は藻類等に利用され減少していた一方、三川ダムで放水している水深約 5~10 m の湖水ではほとんど利用されないまま放水されていたため、このように濃度が変動したと考えられた。一方、8 月以降は St. 7 での濃度上昇は小さく、7 月末以降出水による上流からの流入量が少なかったことで三川ダムでの滞留時間が長くなった上、同時期に発生したアオコにより深い水深の多くの栄養塩が増殖に利用された後に下流へと放水されたと考えられた。

また、芦田川上流域で主な栄養塩の負荷源と考えられるものとして、下流になるにつれて段階的に濃度が上昇したこと、水田から水を抜く落水時期に入る 8 月以降よりも水が張られていたそれ以前の時期、特に代かき時期に近い最初の調査時でより栄養塩濃度が高かったことの二点から、上流域に広がる水田地帯が挙げられた。すなわち、水田やその周辺水路から流出した栄養塩は、平水時には三川ダムで *Microcystis* 等の藻類に利用され一度濃度が低下するが、降雨等による大量の河川水の流入があった場合には、三川ダムで藻類に利用される間もなく下流へと放水されるため高濃度の栄養塩を含む河川水が直接八田原ダムへ流入して無機リンの著しい増加をもたらし、アオコの大発生へとつながるものと考えられた。

- (2) 竹・松廃材のリグニン成分からの抗酸化物質について
倉掛昌裕、廣津紗弥、芝田美幸
日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台)、講演要旨集、p. 458 (2013-3)

【目的】竹や木材などの廃棄物は木質バイオマスとして注目されており、主成分のセルロースの糖化によりエタノール発酵用のグルコースが得られる。しかし、その他成分のリグニンの分解物やヘミセルロースに結合するフェルラ酸などを抗酸化剤として利用することも可能と考えられる。ここでは竹廃材等草本類に対して、リグニンの変性・分解効果のあるアンモニア高温処理を行い、その処理物抽出液の抗酸化性について調べた。また、リグニン含量の高い針葉樹の赤松（枝部）を試料として用い、リグニンからの抗酸化物の生産性について調べた。

【方法】(1)アンモニア高温処理法：25ml 容メジューム瓶に粉碎した試料 2g を量り入れ、25%アンモニア水 4ml を加え均一になるように混ぜた。120℃で 20 分間置いた後、アンモニアを除去するため減圧乾燥させた。この乾燥物をアンモニア高温処理試料として実験に供した。

(2)DPPH ラジカル消去活性測定法：試験管に試料抽出液 0.2ml、0.1M Tris-HCl (pH7.4) 0.8 ml、0.5M DPPH (1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラシル) 1ml を順次加えて 10 秒間攪拌後、暗所で 20 分間置いた。その後、波長 517nm での吸光度を測定した。試料溶液の代わりにエタノールを添加したものの吸光度をブランクとして、試料の DPPH ラジカル消去活性を計算した。50%消去率を与える試料溶液の濃度 IC50 を求めた。

(3)SOD 様活性測定法：試験管に試料抽出液 0.1ml、50mM リン酸 (pH8.0) 2.5ml、2mM キサンチン 0.1ml、3mMEDTA・2Na 0.1ml、1.5mM WST-1 0.1ml、60 mU/ml XO (キサンチンオキシダーゼ) 0.1ml を順次加えて 10 秒間攪拌後、37℃で 20 分間置き、波長 438nm の吸光度を測定した。試料抽出液の代わりにエタノール 0.1ml を添加したもの、XO の代わりにエタノール 0.1ml を添加したもの、試料抽出液と XO の代わりにエタノール 0.2ml を添加したものをそれぞれブランクとして、活性酸素消去力 (SOD 様活性) を求めた。DPPH ラジカル消去活性測定と同様に IC50 を求めた。

【結果】アンモニア高温処理および未処理の孟宗竹および赤松の抽出液の DPPH ラジカル消去活性について比較したところ、孟宗竹では処理により IC50 は 40% まで減少し、抗酸化物質の生成が認められた。一方、赤松では処理より IC50 は 4 倍程度になり、抗酸化性は大きく減少した。この結果について詳細に調べるため、孟宗竹および赤松をアンモニア高温処理後、リグニンを抽出・分離し、その抗酸化性について分析を行なった。

(3) *Aspergillus oryzae* KB 由来糖転移酵素生産のための液体培養条件

倉掛昌裕、芝田美幸、廣津紗弥、竹中勇太

日本食品科学工学会 第 60 回大会 (東京)、講演要旨集、p. 197 (2013-8)

【目的】 *Aspergillus oryzae* KB 株は、2種のβ-フルクトフラノシダーゼ、F1及びF2を生産した。F1は糖転移性の高い酵素でフルクトオリゴ糖合成に有効であるのに対し、F2は加水分解性を有した。前回、非イオン性界面活性剤 Tween 20を培地に添加し液体培養することで、KB株は菌体ペレットを多く形成し、F1酵素生産性を高めることを報告した。今回は、他の界面活性剤を用い、F1酵素生産性のための培養条件について検討を行った。

【方法】 KB株の液体培養は、1%シュクロース、0.5%酵母エキス、0.2%リン酸水素2ナトリウム12水和物の培地に、Tween等の非イオン性界面活性剤を0.5~1.0%添加し、30℃、150rpmで2~3日間行った。培養後、菌体ペレットをホモジナイズした懸濁液を1%シュクロースに、pH5、40℃で10分間反応させ、生成したグルコース量をグルコースオキシダーゼ法によって定量することで、β-フルクトフラノシダーゼ活性を求めた。この活性値を0.2U/mlにそろえ、20%シュクロースにpH5、40℃にて1~2時間反応させ、HPLC (NH2-P50カラム；旭化成(株))にて生成糖を分析した。フルクトースおよびグルコースの生成量を測定することで糖転移活性 (F1相当) 及び加水分解活性 (F2相当) を求めた。

【結果】 KB株の液体培養において、シュクロース培地に Tween 20、40、および80を添加することで無添加に比べ、F1酵素生産が4倍程度高まったが、HBL (hydrophile lipophile balance) 値による影響はなかった。しかし、HBL値が低いほど、すなわち疎水性が高いほど、F2酵素生産性は高まり、F1酵素の生産選択性 (F1/F2) は、最も親水性の高いHLB値16.7のTween 20で最大となった。各種ポリオキシエチレンオレイル (POE 2~50) を用いて液体培養を行ったところ、POE 10 (HLB=14.7) がF1酵素生産性に最適であることがわかった。Tweenと同様にHLB値によって菌体のペレット粒径が変化することが認められたので、F1酵素生産性との関係について調べた。

(4) 紅藻スサビノリのリンゴ酸脱水素酵素遺伝子の解析

三輪泰彦、吉田拓音、山岸幸正

平成25年度日本水産学会秋季大会(三重)、講演要旨集、p.98(2013-9)

【目的】 我々の研究室では海のモデル植物である紅藻スサビノリを研究対象としてリン欠乏に対する適応機構を分子レベルで解明することを目指している。陸上植物のシロバナルーピンではリン酸の欠乏によって根圏にクエン酸やリンゴ酸を放出し、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ、クエン酸合成酵素、リンゴ酸脱水素酵素 (MDH) の活性がそれぞれ増加することが報告されている。そこで

スサビノリにおいても同様の生理現象がおきていると考え、*MDH* 遺伝子の解析を行った。

【方法】グリセロリン酸を含む合成培地 (+P) とグリセロールを含む合成培地 (-P) で培養した葉状体から調製した粗抽出液を用いて *MDH* の酵素活性を測定した。サブトラクション法および -P で培養した葉状体から作製した cDNA ライブラリーから 2 種の *MDH* 遺伝子を単離した (*MDH1*、*MDH2* と命名)。2 種の *MDH* 遺伝子のコード領域を連結した発現ベクターを用いて大腸菌内での発現を試み、機能解析を行った。ウェスタンブロット (WB) 法によって *MDH1* 遺伝子の発現および遺伝子産物の細胞内局在を解析した。

【結果】リン欠乏によってスサビノリの *MDH* 活性の増加がみられた。スサビノリの *MDH1* cDNA の全長は 1,764 bp で、その ORF は 467 アミノ酸残基のタンパク質 (48.4 kDa) をコードし、一方 *MDH2* cDNA の全長は 1,376 bp で、その ORF は 359 アミノ酸残基のタンパク質 (39.4 kDa) をコードしていた。*MDH1* 遺伝子産物は珪藻 *Thalassiosira pseudonana* の *MDH* と、*MDH2* 遺伝子産物は紅色硫黄細菌 *Thiorhodospira sibirica* の *MDH* とそれぞれ高い相同性を示した。大腸菌内で発現した 2 種の *MDH* 遺伝子産物は、いずれもリンゴ酸脱水素酵素の活性を示した。スサビノリ *MDH1* 遺伝子の発現は、リン欠乏によって誘導された。WB の結果、*MDH1* 遺伝子産物の大部分が細胞質内に局在した。以上、スサビノリの *MDH1* 遺伝子はリン欠乏に対する環境適応機構に関与することが示唆された。

(5) 広島県佐木島での被覆網設置によるアサリの保護育成効果

北口博隆、藤井啓子、満谷 淳、岡田知則

平成 25 年度日本水産学会秋季大会 (三重)、講演要旨集、p. 24 (2013-9)

広島県三原市鷺浦町 (佐木島) の干潟では、地元町内会が中心となりアサリ資源の回復を目指した取り組みが平成 22 年度から実施されている。平成 23 年度に実施した調査の結果、当干潟では天然個体を保護するにより資源回復を図ることができる可能性が示された。平成 24 年度は、干潟に被覆網を 4 か所設置して、その内外でアサリ個体密度を調査し、被覆網によるアサリの保護育成効果を検討した。被覆網内では、平成 24 年 8 月には殻長 20 mm 未満の個体が多く見られたが、11 月には殻長 25 mm 以上の個体の割合が増加した。殻長 20 mm 以上のアサリは、平成 24 年 11 月には最大 272 個/m²、平成 25 年 5 月には最大 624 個/m² の密度に達した。一方、被覆網外ではアサリ密度は低く推移し、被覆網内でもアサリ密度が低く推移する場所もあった。これらの結果から、当干潟において被覆網はアサリの保護育成に有効であるが、稚貝の着底、生残は場所によって異なるため、被覆網を設置する場所の選定には考慮を要すると考えられた。

(6) ヒラメ稚魚の高水温耐性に及ぼす重油の影響

阪本憲司、中嶋正道

平成 25 年度日本水産学会秋季年会 (三重)、講演要旨集、p. 40 (2013-9)

【目的】2011 年3 月11 日に発生した東日本大震災に伴う津波により、石油タンクから大量の石油類が流出し、沿岸域に生息する生物への影響が懸念される。とくに環境適応能力への影響が懸念される。そこで本研究では、石油類のうち沿岸域への流出が認められている重油に着目し、震災を受けた沿岸域にも生息しているヒラメを供試魚として、重油曝露 (浸漬) が環境適応能力 (高水温耐性能力) へ及ぼす影響を調べた。

【方法】種苗生産会社から購入したヒラメ稚魚60 尾 (全長: 67.7 ± 4.9 mm) を用いた。4L 容量の円形プラスチック容器に2L の飼育水を入れ、エアストーンによる通気飼育を行った。飼育水温を 17°C とし、各水槽に供試験魚を5尾ずつ収容した。重油浸漬実験は、4つの実験区 (0.5, 1, 2.5 および5 ppm) を設け、重油を海水に溶解するためにDMSO (5 ml/L) を用いた。重油浸漬実験のコントロール区として、海水区とDMSO 添加区 (5 ml/L) を設けた。これらの実験区で5日間無給餌飼育をし、その後、高水温耐性実験を行った。耐性実験は、20 L の海水を入れたプラスチック容器に籠を沈め、この中に実験区別に供試魚を収容して行った。サーモスタットで温度コントロールが可能なヒーターを用いて、 17°C から10分間に 1°C ずつ温度を上げ 30°C に達した時点で実験開始とし、死亡するまでの生存時間 (分) を記録した。

【結果】重油浸漬中に死亡する個体は観察されなかった。高水温耐性実験の結果、各実験区の生存時間 (分 \pm 標準偏差) は海水区で 265.6 ± 76.2 、DMSO 区で 236.8 ± 69.9 あった。また、重油浸漬実験区では 0.5ppm 区で 187.4 ± 60.4 、1ppm 区で 160.2 ± 41.5 、2.5ppm 区で 133 ± 56 および 5ppm 区で 55.4 ± 9.7 あった。本結果から、重油濃度が高まるにつれて高水温耐性能力が低下することが明らかとなった。

(7) 速く走らないチーター: ナミビア Harnas 野生動物保護区におけるチーターのハンティング行動

渡辺伸一、Juanita de Villiers、Jo van der Merwe、佐藤克文

2013 年度日本哺乳類学会・日本霊長類学会合同大会 (岡山)、講演要旨集、p. 110 (2013-9)

チーターは、陸上動物最速の動物で、草原を疾走する小型の有蹄類を追尾して仕留める。こうしたチーターのハンティングはメディアを通じて研究者でなくとも

誰もが知ることである。しかし、チーターのハンティングに関する研究の多くは、広大な草原に覆われた東アフリカの一部の地域で行われてきた。本研究では、チーターのハンティングについて、詳細な研究が行われていない、アフリカ南西部のナミビアで調査した。チーターの行動は、これまで主に目視観察により行われてきたが、灌木が生い茂るブッシュで目視観察は困難である。そこで本研究では、GPS・加速度・動画を記録するデータロガーを用いて、チーターの行動を自動計測した。本研究では、Harnas 野生動物保護区で野生復帰プログラム中の雌雄 2 個体へデータロガーを装着して行動を記録した。計 19 回データロガーを装着して、計 37 日間の行動データが得られた。加速度データの周波数特性と GPS による移動速度のデータから行動を秒間隔で休息、移動、ハンティング、摂食に分類した。その結果、70 回のハンティングが記録され、うち 7 回のハンティングに成功した。ハンティング時の疾走時間は 35.4 ± 26.6 (平均 \pm SD、レンジ 11–152) 秒、疾走距離は 160 ± 144 (29–645) m で、ハンティング中の最高速度は 30.5 ± 10.9 (13.6–60.7) km/h だった。この値は、これまで計測されたチーターのハンティング時の速度と比較すると最も低い値だった。また、チーターはハンティング後、他の捕食者による獲物の横取りを避けるため、すぐに摂食を始めることが一般的である。しかし、本研究ではハンティング後、6–30 分後から摂食を開始し、獲物の傍に 12 時間以上滞在した。こうした結果は、これまで知られていたチーターのハンティングのイメージとは大きく異なる。おそらく競争者となる捕食者の密度が低く、灌木林が生い茂るアフリカ南西部の生息環境に本種が適応した結果だと考えられる。

(8) 岡山県笠岡市におけるカブトガニの中長期的な行動と利用場所の変化
渡辺伸一、小山田早織、森信 敏、惣路紀通
第 32 回日本動物行動学会 (岡山)、講演要旨集、p. 16 (2013–11)

岡山県笠岡市は、カブトガニの代表的な生息地だったが、環境悪化により生息数が激減したため、生息地の保全が急務となっている。カブトガニの生息地保全のためには、生活史を通じた利用場所の把握が課題となるが、成体の行動についてはほとんど情報がない。本研究では、超音波発信器と深度温度データロガーで中長期的に本種の行動を調査し、一年を通じた行動と利用場所の変化を調査した。超音波発信器による追跡結果から、産卵期 (6–9 月) 中は湾内にある産卵地周辺の浅瀬 (水深 0–3m) を高頻度で利用した。産卵期後は湾口部へかけて移動し、多くの個体は湾外へ出たが、湾口部の浅瀬に留まる個体もいた。回収したデータロガーから、越冬行動を含む長期の行動データを得ることができた。その結果、水温が 18°C 未満に低下する 11 月中に活動を停止し、水温が 17°C 以上になる半年以

上の間、活動を停止（越冬）することが明らかになった。越冬場所は、湾口部付近の水深 2-10m の浅瀬だったが、越冬後は水深 30m に達する広範囲を活動し、やがて産卵場所へ回帰することが示唆された。

- (9) 芸予諸島海域におけるメバル類の遺伝的分化
戸田慎平、阪本憲司、南 卓志
平成 25 年度日本水産学会中国・四国支部例会（愛媛）、講演要旨集、p. 8 (2013-11)
- (10) オニヒトデ体腔液の赤血球凝集素の特性
水上雅晴、安藤宗一郎、中村真健、河原栄二郎
平成 25 年度日本水産学会中国・四国支部例会（愛媛）、講演要旨集、p. 15 (2013-11)
- (11) 養殖ヒラメ病魚由来細菌の性状および病原性
河原栄二郎、山口晋作、菅谷恵美、福岡利広、水野芳嗣
平成 25 年度日本水産学会中国四国支部例会（愛媛）、講演要旨集、p. 16 (2013-11)
- (12) ノカルジア症病原菌 *Nocardia seriolae* の superoxide dismutase 活性と病原性
河原栄二郎、加藤 典
平成 25 年度日本水産学会中国四国支部例会（愛媛）、講演要旨集、p. 16 (2013-11)
- (13) ニシキゴイの非特異免疫能に及ぼす過酸化水素浸漬の影響
河原栄二郎、中澤なつ子
平成 25 年度日本水産学会中国四国支部例会（愛媛）、講演要旨集、p. 17 (2013-11)

B. 総説

C. 著書

D. その他

- (1) 殺虫剤イミダクロプリドのニシキゴイに対する致死毒性および免疫毒性
河原栄二郎
平成 24 年度南中九州・西四国水族防疫会議（高知）（2013-2）
- (2) 支部のページ、平成 24 年度日本水産学会中国・四国支部例会
北口博隆
日本水産学会誌, 79, 481-482 (2013)
- (3) オニヒトデ体腔液の赤血球凝集の特性
水上雅晴、河原栄二郎
平成 25 年度瀬戸内海・四国ブロック魚病検討会（徳島）（2013-10）
- (4) カワハギのリゾチーム活性および補体活性の測定条件
河原栄二郎
平成 25 年度瀬戸内海・四国ブロック魚病検討会（徳島）（2013-10）
- (5) バイオロギングに使える特定小電力無線局の作成について：これまで用いられていた発信器
渡辺伸一
第 9 回日本バイオロギング研究会シンポジウム（千葉）（2013-10）
- (6) オオミズナギドリ研究の現状と将来展望：山口県上関町宇和島におけるオオミズナギドリの生態調査報告
渡辺伸一
第 9 回日本バイオロギング研究会シンポジウム（千葉）（2013-10）
- (7) 研究室紹介：福山大学 生命工学部海洋生物科学科 海洋動物行動学研究室
渡辺伸一
日本バイオロギング研究会会報（84）， 2-4（2013）
- (8) 水産科学の分野で活躍する女性たち 19 「研究も出会いもすべて、宝の山に」
菅谷恵美
日本水産学会誌, 50, 924 (2013)

- (9) 魚病研究へのバクテリオファージの利用
菅谷恵美
第 33 回九州・山口ブロック魚病分科会（佐賀）（2013-11）

- (10) アユの免疫応答について、冷水病浸漬ワクチンの開発から
河原栄二郎
全国湖沼河川養殖研究会、平成 25 年度アユの疾病研究部会（別府）（2014-2）