

2021年度 生物科学科 修論・卒論発表会プログラム

第1日目 2月8日(火)

【 修士論文 】 発表 15分 (13分に予鈴あり), 質疑応答 5分

渡部 雄貴	西南日本産ツツジ属植物の繁殖生態学的研究	9:00 - 9:20	片桐先生
古閑 友博	高知県西部の蘚類相	9:20 - 9:40	
渡邊 桜子	沖縄県におけるアオウミガメ孵化幼体の性比と温暖化の影響	9:40 -	遠藤先生
友成 実生子	四国太平洋岸に來遊するアカウミガメ (<i>Caretta caretta</i>) の 個体群構造と血液生化学的分析	10:00 - 10:20	

< 休憩 > 10:20 - 10:40

芹田 凌平	ヒゲナガハシリグモの集団形成と生態について	10:40 - 11:00	斉藤先生
井上 裕太	日本産エソ科アカエソ属魚類の分類学的研究	11:00 - 11:20	鈴木先生
山口 蓮	アジ科ブリモドキ属魚類の分類学的研究	11:20 - 11:40	
幸 大二郎	インド-西太平洋産ヨウジウオ科イシヨウジ属魚類の分類学的 再検討	11:40 - 12:00	

< 昼休み > 12:00 - 13:00

川竹 慶	絶滅種イタヤガイ科二枚貝 <i>Amussiopecten praesignis</i> の生 活史と殻成長特性の変遷	13:00 - 13:20	佐々木先生
原田 侑哉	油糧蓄積微生物オーランチオキトリウムの生物濃縮を介した 有効利用法の検討	13:20 - 13:40	松岡先生
山新 晃弘	クリオネ・アルギニンキナーゼ(AK)の機能	13:40 - 14:00	
川崎 優香	海綿動物に存在するアミノ酸ラセマーゼに関する研究	14:00 - 14:20	

□ 発表者の交代を速やかに行うため、次の発表者はマイクやビデオを準備した上で、順番が来たら直ちに共有できるようにスライドを開いておいて下さい。

第2日目 2月9日(水)

【 卒業論文 】 発表 10分 (9分に予鈴あり), 質疑応答 2分

< 海洋生物学研究室 >

小松 夏来	マイワシとウルメイワシ (ニシン科) の頭部側線系	9:00 - 9:12	斉藤先生
田中 かりん	ベラ科とブダイ科の側線鱗	9:12 - 9:24	
岡部 笑莉加	スズキ目魚類における尾鰭上の鱗	9:24 - 9:36	
小川 春奈	カレイ目魚類における尾鰭上の側線系	9:36 - 9:48	

< 休憩 > 9:48 - 10:00

深瀬 雄大	日本産ヤガラ属アカヤガラの分類学的研究	10:00 - 10:12	近藤先生
堀内 海咲	日本産フサアンコウ属稚魚の分類学的研究	10:12 - 10:24	

佐藤 優吉	イトウダイ科テリエビスの分類学的研究	10:24	-	10:36	
守屋 晴	日本産セキトリイワシ科ハゲイワシ属魚類の分類学的研究	10:36	-	10:48	

< 休憩 > 10:48 - 11:20

< 植物分類学研究室 >

南 耕太郎	横倉山（高知県高岡郡越知町）の粘菌相 —アカガシ林を中心とした調査—	11:20	-	11:32	比嘉先生
井田 直斗	永瀬ダム（高知県香美市）と周辺地域の地衣類相	11:32	-	11:44	
中西 ゆきの	地衣類の二次代謝産物が他の地衣類に与える影響	11:44	-	11:56	
倉岡 木花	高知県における外来種ウチワサボテン属の分布と防除方法の検討	11:56	-	12:08	

< 昼休み > 12:08 - 13:10

< 海洋植物学研究室 >

橋本 将平	海洋細菌との共培養がヒトエグサ細胞の発生に与える影響	13:10	-	13:22	関田先生
佐口 敬大	汽水種スジアオノリ有性個体群の地理的隔離の検討	13:22	-	13:34	
堀田 璃音	キヌイトアオノリ 3 株の成長特性比較	13:34	-	13:46	

< 海洋動物学研究室 >

川嶋 優希	土佐湾におけるユメエビ科の分布	13:46	-	13:58	遠藤先生
横井 瞳	絶滅危惧種タイマイにおける孵卵温度と遊泳水温が孵化及び幼体の運動性に与える影響	13:58	-	14:10	

< 休憩 > 14:10 - 14:30

< 細胞生物学研究室 >

小川 純輝	緑藻ボタンアオサの葉緑体定位運動の連続観察	14:30	-	14:42	有川先生
小林 雅弥	緑藻ボタンアオサの葉緑体定位運動に伴う葉緑体の微細構造	14:42	-	14:54	
多田 昌弘	緑藻ボタンアオサの葉緑体定位運動に伴う細胞小器官の変化	14:54	-	15:06	

< 休憩 > 15:06 - 15:20

山崎 龍	渦鞭毛藻 <i>Gymnodinium pyrenoidosum</i> の遊走細胞の細胞微細構造	15:20	-	15:32	平岡先生
西原 一仁	渦鞭毛藻 <i>Symbiodinium</i> sp.における分裂の同調培養条件の検討	15:32	-	15:44	
武田 紘希	渦鞭毛藻 <i>Pyrocystis lunula</i> の同調培養条件と細胞微細構造	15:44	-	15:56	

< 休憩 > 15:56 - 16:10

< 理論生物学研究室 >

永田 悠斗	桐見ダムが河川の生物に与える影響：植物プランクトンとタイワンシジミに着目して	16:10	-	16:22	奈良先生
尾原 あまね	高知県産サワガニにおける肺吸虫の寄生状況	16:22	-	16:34	
吉川 咲菜	登山道における爬虫類の日光浴の時間帯と季節性	16:34	-	16:46	

第3日目 2月10日(木)

< 比較生化学研究室 >

湯川 さくら	アカサング (<i>Corallium japonicum</i>) セリンラセマーゼの酵素機能解析	9:00	-	9:12	峯先生
喜井 健裕	無脊椎動物に存在するアラニンラセマーゼ遺伝子の探索	9:12	-	9:24	
湯口 勝也	哺乳類に存在する D-グルタミン酸合成酵素の探索	9:24	-	9:36	
三步 泉汰郎	珍渦虫 <i>Xenoturbella bocki</i> のセリンラセマーゼホモログの機能解析	9:36	-	9:48	
幸野 立奈	宝石サングの RNA-Seq 解析	9:48	-	10:00	

< 休憩 > 10:00 - 10:20

< 植物生態学研究室 >

高橋 宏誌	静電容量センサーを用いた樹皮含水量測定法の開発	10:20	-	10:32	加藤先生
大槻 泰広	高知県産維管束植物の機能形質データベースの構築	10:32	-	10:44	
松永 健太	高知県におけるニホンジカを目撃効率と生息密度の関係	10:44	-	10:56	

< 休憩 > 10:56 - 11:10

谷山 拓未	高知市における社寺叢の現状と保全に関する生態学的研究	11:10	-	11:22	岡本先生
小田 訓匡	北アルプス南部, 上高地西方における過去約 3 千年間の植生変遷	11:22	-	11:34	
碓井 みどり	布地付着花粉の走査型電子顕微鏡観察のための前処理法の検討	11:34	-	11:46	

< 昼休み > 11:46 - 13:00

< 古生物学研究室 >

竹中 隆紀	タマキガイ科二枚貝 5 種の殻成長特性と緯度勾配	13:00	-	13:12	三宅
福家 直幸	イタヤガイ科二枚貝ツキヒガイの酸素同位体比プロファイルと殻成長	13:12	-	13:24	
山田 恵	現生および化石トドロキガイの色彩パターン	13:24	-	13:36	
佐藤 晃	愛知県南知多町岩屋南露頭における中新統山海累層の深海成泥岩に見られる生痕化石	13:36	-	13:48	
桑原 一	始新統室戸半島層群に産する <i>Tosalorbis hanzawai</i> の古生態学的研究	13:48	-	14:00	

< 休憩 > 14:00 - 14:20

< 動物生理学研究室 >

宮脇 達郎	繊毛虫コルポーダ休眠シストの凍結耐性	14:20	-	14:32	宇田先生
青木 敏人	正露丸クイック C の寄生虫アニサキス殺虫効果	14:32	-	14:44	
小松 華歩	繊毛虫ゾウリムシ (<i>Paramecium caudatum</i>) における SDS-PAGE サンプル調整法の改善	14:44	-	14:56	
山本 桃花	原生生物における有性生殖の多様性に基づく系統樹作成の試み	14:56	-	15:08	

ツツジ属植物は、主に北半球の温帯から寒帯にかけて広く分布する常緑または落葉の低木、小高木または高木である。全世界では約 1000 種が記録されており、日本には 62 種が自生する。同種群は、北温帯、熱帯東南アジア全域、オーストラリア北東部における森林の構成種である。ハチ・ハエなど様々な訪花昆虫と共生関係を持つツツジ属植物の生態を明らかにすることは、森林の多様性を検討するうえで重要である。ツツジ属植物は、古くから園芸利用を目的とする繁殖生態の研究が行われてきたが、希少種の保全を目的とする種生態学研究も行われている。本研究では、第 1 章で希少種トキワバイカツツジの種子発芽特性について、第 2 章で西南日本産ツツジ属植物の花形質と訪花昆虫との関係性について検討を行った。

ツツジ属植物の種子発芽特性について、これまでも複数種で研究が行われてきたが、トキワバイカツツジ (*Rhododendron uwaense*)、ケラマツツジ (*Rhododendron scabrum*)、タカクマミツバツツジ (*Rhododendron viscistylum*) など絶滅が危惧されている種では十分な知見は得られていない。特に、愛媛県の 1 小集水域にのみ自生するトキワバイカツツジは保全の緊急性が高く、種子発芽特性を含む種生態学的特性の解明が急務である。そこで第 1 章では、トキワバイカツツジを対象に、条件と期間を変えて保存した種子を用いて種子発芽実験を行った。実験の結果、本種の種子の保存には冷温条件が適しており、発芽は明条件のみで確認された。また、本種の種子は特別な休眠性を示さないこと、保存期間が長期化すると種子発芽率が低下することが明らかとなった。本種は、種子寿命が長くないと考えられることから、種子採取後の翌春に明るく開けた環境に播種することが適していると思われる。本種は人工林内にも生育することから森林施業による光環境の改善は、本種の種子発芽を促進すると考えられた。本種の実生はやや湿った場所を好むとの報告があることから、今後は伐採による林床の乾燥が本種の生育に与える影響についても評価が必要である。

動物媒花植物の種子繁殖は、送粉者の訪花に影響される。植物の花形質と送粉者の選好性について明らかにすることは、自然生態系内における種間関係や遺伝的多様性の解明にとって重要である。ツツジ属植物は北半球の広範に生育する主要な動物媒花植物で多様な送粉者を持つ。ツツジ属内の花形質差異と送粉者の訪花の関係性について、複数地域での比較研究は行われているが、同一地域・動物相での知見は限られている。そこで第 2 章では、高知県立牧野植物園に植栽されているツツジ 16 種類を対象に花形質と昆虫訪花の関係を調べた。調査の結果、コウチュウ目は、繁殖に用いる資源を蜜に多く投資するツツジの花を選択的に訪れたが、チョウ目、ハエ目、ハチ目では花形質の選択性は認められなかった。この結果は、花形質の変動性が小さい同属種内では花形質の差異は昆虫の嗜好性に大きく影響しない可能性を示した。

本研究では、西南日本に生育する希少種トキワバイカツツジの種子発芽特性とツツジ属植物 16 種類の花形質と訪花昆虫の関係性を明らかにした。同種群の繁殖生態学的特性および保全のためには、さらに多くの種を対象に調査研究が必要である。

高知県西部の蘚類相

生物科学コース 植物分類学分野 古閑 友博

高知県（2022）によると、高知県の地形は四国中央の主要部を占める北部山地と、その延長にあたる室戸半島方面の東部山地、幡多地域にかけての西部山地に大別され、全国第 1 位の森林面積率を誇る。さらに全国有数の降水量や日照時間、黒潮の影響による温暖な気候など、蘚苔類の生育に極めて適した環境となっている。高知県の蘚苔類相の研究は、工石山（出口・岸 1981）や梶ヶ森（原ほか 1986）、横倉山（Deguchi & Ohno 1987, Tsuchiya et al. 1996）など、県中央―東部地域で調査が行われてきた。しかし、県西部においてまとまった研究はほとんど行われていない。そこで本研究は、高知県高岡郡四万十町に位置する鈴ヶ森（標高 1054 m）、宿毛市の篠山（標高 1065 m）、高岡郡四万十市の不動山（標高 779 m）、高岡郡中土佐町の朴ノ川山（標高 842 m）の 4 箇所のを調査対象として、高知県西部の蘚類相を明らかにすることを目的とした。

各調査地の植生について、鈴ヶ森は江戸時代に伐採が禁止されていたことから、アカガシやモミの天然林を持つ。不動山はヒノキ、アカマツ、モミ、などの温帯性針葉樹とカシ、シイ類の常緑広葉樹を交えた天然の針広混交林を持つ。また、スギやヒノキの人工林も見られる（四国森林管理局 2022）。篠山はシイ、カシの常緑広葉樹林を持ち、山頂付近ではシャクナゲ、コウヤマキなどの天然林が見られる（石川 1985）。朴ノ川山は伐採と植林が繰り返されており、スギ、ヒノキなどの植林による人工林が優占する林冠を持つ。山頂付近はモミ、ツガの針葉樹が目立つようになる。

本研究では、このような自然豊かな 4 箇所のを調査対象とし、2019 年 7 月から 2021 年 11 月にかけて採集した約 1200 点の標本及び高知大学工学部植物標本庫（KOCH）に保管されている米田（2020）、藤木（2020）による篠山と不動山の標本約 50 点を用いた。それらを同定した結果、高知県西部より 34 科 74 属 141 種 4 変種の蘚類の生育を確認した。この中には環境省（2020）により絶滅危惧 II 類（VU）に指定される *Dendrocyathophorum decolyi*, *Entodon conchophyllus*, *Syrrhopodon tosaensis*, 準絶滅危惧（NT）に指定される *Cyathophorum hookerianum*, *Neckeropsis obtusata* の 5 種が含まれている。

この結果をもとに、高知県西部の蘚類相を明らかにするため、科別出現種数に着目し検討を行った。その結果、大きなマットを形成し、広い面積を占有する特徴が見られる種が多く出現し、高知県西部は比較的安定した環境を持ち、豊かな自然が多く残されていることを反映していると示唆された。また、着生基物、標高に着目すると、調査地ごとの微環境の変化によって種組成が大きく変化する結果となった。このことから高知県西部の蘚類相は森林植生の多様性や湿度条件の影響を強く受けていることが示唆された。高知県西部にはまだ自然豊かな環境を持つものの、調査が不十分である山や溪谷が多く存在する。今後も調査・研究を続けていくことが重要である。

沖縄県におけるアオウミガメ孵化幼体の性比と温暖化の影響

生物科学コース 海洋動物学分野 渡邊 桜子

沖縄県におけるアオウミガメ幼体を対象として内視鏡を用いた生殖腺の直接観察および摘出した生殖腺の組織観察、血中性ホルモン分析の3つの手法を用いて性判別を行った。その結果に基づいて温度依存性決定における孵卵温度と性比の関係式を求めた。

沖縄島謝敷、八重山諸島伊原間と黒島西の浜の3浜を調査地とした。アオウミガメの産卵巣を探索し、産卵巣に温度ロガーを設置して自然状態の孵卵温度を測定した。性決定期間を過ぎた後に、採卵して人工孵化を行った。孵化幼体は4ヶ月飼育した後、内視鏡によって生殖腺と中腎傍管を観察して性判別を行った。21巣123個体の幼体を施術してオス31個体、メス92個体を確認した。

性ホルモン分析では、孵化幼体30個体を用いた。孵化から1週間以内と4ヶ月後に再び採血を行い、抗ミューラー管ホルモン、エストラジオール、プロゲステロン、テストステロンの4項目を測定した。内視鏡検査の結果に基づいてこれらの性差を比較し、性ホルモンの値から性判別が可能かを検討した。しかし、性判別の決め手となる結果は得られなかった。

内視鏡の結果および孵卵温度を用いて性比（メスの割合）と孵卵温度のロジスティック曲線を作成した。その結果、性比が1:1になる臨界温度は29.6℃、性比が雌雄混合する温度範囲は26.3 - 32.9℃と算出された。このロジスティック曲線を用いて、2021年における八重山諸島の性比を推定したところ、55%となった。この値は、他の地域と比較して低かった。

黒島西の浜で測定された2002 - 2021年の砂中温度と、石垣島地方気象台で観測された同期間の気温データを比較し、この期間の気温と砂中温度に高い相関が見いだせた。その回帰式を用いて、石垣島地方気象台で観測された1897 - 2021年の気温を用い、過去の砂中温度を算出した。そして、本研究で得られたロジスティック曲線から過去の性比を推定した。1897年における性比は27%と現在よりも低かった。したがって、琉球列島は、世界的に見ればオスを多く産生する比較的珍しい産卵地として重要である。一方で、性比は徐々にメスに偏りつつある現状が明らかとなった。

四国太平洋岸に來遊するアカウミガメ (*Caretta caretta*) の個体群構造と血液生化学的分析
生物科学コース 海洋動物学分野 友成 実生子

環境省レッドリストで絶滅危惧 □B 類に指定されるアカウミガメ (*Caretta caretta*) は、毎年南日本の太平洋側の砂浜海岸へ産卵のために上陸してくるため、本種の保護を目的とした研究が産卵メスを主として進められてきた。四国太平洋岸は黒潮流域に面し、漁業が盛んで数多くの定置網が設置されており、毎年相当数のアカウミガメが入網することが知られている。ウミガメ類の繁殖生理の把握を目的とした情報は、近年進められる希少種の生息域外保全（飼育下等）にも役立てられるが、各個体の成熟度や健康状態などの生理学的情報までは収集されておらず、依然としてデータが不足している。したがって、本研究では、四国太平洋岸に來遊するアカウミガメ個体群の性、サイズ、発育段階等を調べて個体群構造を明らかにするとともに、自然下における本種の健康・栄養状態等の情報を収集することを目的とした。

2020年9月から約1年間で高知県室戸市の定置網に入網したアカウミガメを対象とした。入網数は調査開始の9月以降、徐々に増加し、3-5月にピークとなり、その後減少した。これらを、過去に衛星追跡を用いて確認したアカウミガメの季節回遊パターンに従って、移動期(9-12月)、越冬期(1-3月)、産卵期(5-8月)において各項目の解析を行った。入網個体について、rTL値(尾長/直甲長)で性を判別し、不明個体については、過去に土佐湾で捕獲された個体のオスにおける、テストステロン(T)の最低値である154 pg/mLを基準にそれ以上をオス、それ未満をメスとして判別を行った。さらに、本種の北太平洋個体群のオス、メスそれぞれの最小成熟甲長(オス:77.8 cm、メス:73.8 cm)で成体と亜成体に分類した。

全71個体の内訳とサイズ(直甲長:平均値 ± 標準偏差(最小値-最大値、N=個体数))は、成体オスが84.1 ± 3.4 cm (79.1-90.2 cm、N=12)、成体メスが80.1 ± 4.5 cm (73.9-92.8 cm、N=20)、亜成体オスが67.8 ± 4.2 cm (60.1-76.6 cm、N=14)、亜成体メスが67.7 ± 4.8 cm (58.3-73.4 cm、N=25)であった。各期におけるメスの割合は、成体の移動期が42.9%、越冬期が57.1%、産卵期が25.0%、亜成体の移動期が57.1%、越冬期が60.0%、産卵期が75.0%であり、四国太平洋岸に來遊する個体は多くの時期でメスが多いことが分かった。

T濃度については、成体・亜成体のどちらにおいても、オスに限らず一部のメスで越冬期末期から産卵期前期に高値の個体が確認できた。これは繁殖生理に伴った現象と考えられ、時期によっては、T濃度による性判別は困難と考えられる。

産卵期の成体メスは、総タンパク質(TP)、アルブミン(Alb)などの栄養状態、および総コレステロール(TCHO)、中性脂肪(TG)などの採餌状況を示す項目において高値で、さらに、カルシウム(Ca)も高値であったことから、産卵を控えた個体と考えられた。また、この個体では直近の採餌状況を示すカリウム(K)の値が低値であったことから、産卵メスが産卵期に絶食もしくは採餌量が減少していることが裏付けられた。

ヒゲナガハシリグモの集団形成と生態について

生物科学コース 理論生物学分野 芹田 凌平

ヒゲナガハシリグモは水辺や林に生息する徘徊性のクモであるが、国内での分布域が限られていることから、その生態はほとんど分かっていなかった。2017年に高知県高知市朝倉地区の個体群において、足場を形成する集団を発見した。そこで本研究では、本種の足場による集団形成の意義やその生態を明らかにすることを目的として、食性調査、調査地水路の水生昆虫調査、夜間行動観察を行なった。食性調査から、本種がトビケラやガガンボ、ユスリカなどの水生昆虫を主に摂食していること、水生昆虫調査からそれらの餌生物が水路から羽化してくることが確認された。夜間行動観察では、水面に待機し、水面を流れてくる昆虫に反応する個体や、メスの周辺でオス間闘争を行なう個体が確認された。また、足場は成体の個体数減少に伴って縮小・消滅した。これらのことから、本種が水路から羽化する水生昆虫を餌資源に利用していること、足場の維持には本種の個体数の多さが関わっていることが示唆された。本種は、水路水面という限られた採餌空間を利用する上で、足場形成により水面での姿勢安定および捕食機会を確保していると考えられる。また、オス間闘争は、集団形成に伴う密度増加がオス間の遭遇・闘争頻度を高めている可能性がある。

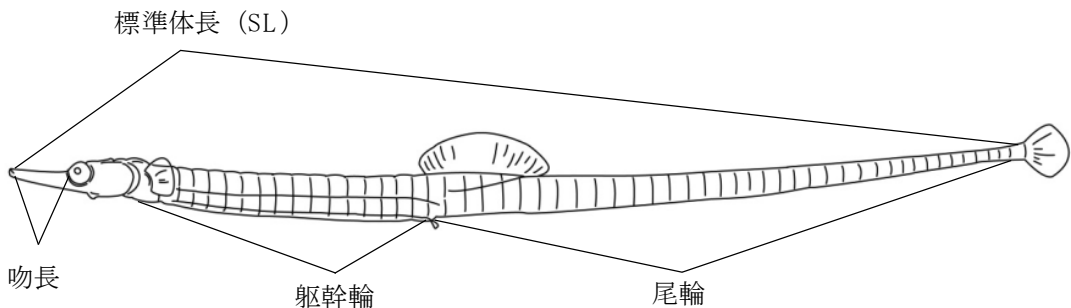
エソ科アカエソ属 (Synodontidae: *Synodus* Scopoli, 1777) は *Synodus synodus* (Linnaeus, 1758) をタイプ種とし、現在約50有効種を含み、腹鰭が8軟条で、外側の軟条が内側の軟条よりも著しく短い、臀鰭基底長が背鰭基底長よりも短い、尾鰭両葉の前鰭鰭条が被鱗しないことなどの特徴をもつ。そのうち、国内からは標本に基づき15種が記録されたが、近年、本属の包括的な分類学的検討は行なわれていない。そのため、本研究では4種のタイプ標本を含む345標本と各種の原記載の特徴をもとに、日本産各種の識別形質や学名の有効性を再検討した。その結果、国内からは16種の分布が確認され、4種の学名の有効性が明らかとなった。そのうち、国内未記録であった *Synodus pacificus* Ho, Chen and Shao, 2016 に同定される4標本が、2000–2021年に神奈川県真鶴岬沖、長崎県対馬島、鹿児島県沖秋目島南沖、および沖縄県伊江島の水深80–200 m から得られていたことが判明した。これらの標本は *S. pacificus* の識別形質である次の斑紋をもつ：体側の上下に反転したオメガ状の黒斑、鰓蓋に黒斑、そして背鰭と尾鰭に褐色縦帯または褐色斑。また、本種は口蓋骨歯帯の先端付近の歯がそれぞれほぼ同長で、体側に明瞭な褐色斑をもつことなどから、チョウチョウエソ *Synodus macrops* Tanaka, 1917 やハナトゴエソ *Synodus kaianus* (Günther, 1880) に類似する。しかし、3種の識別形質を再検討した結果、*S. pacificus* は下枝鰓耙数が通常22 (後者2種では通常18)、腹腔の膜が白色で7–8個の黒点をもつ (黒色で黒点は不明瞭)、体側の褐色斑が上下反転したオメガ状 (*S. macrops* ではXまたはY字状、*S. kaianus* では四角状)、擬鰓数が通常26 (通常22, 通常20–21)、標準体長に対する上顎長の割合が16.3–18.1% (13.4–16.9%, 16.0–19.6%) などにより明瞭に識別された。*S. pacificus* の原記載では、近縁種の *S. macrops* のタイプ標本が未観察であったため、本研究で精査したところ、形態と色彩から2種は明瞭に識別され、両種とも有効と判明した。本種はこれまで台湾、フィリピンおよびニューカレドニアから記録され、日本近海からは未報告であり、本標本に基づく日本からの初記録となる。さらに、高知県柏島と和歌山県からも写真と文献でチョウチョウエソやエソ科の一種としての記録があることが判明した。また、本研究の過程で発見されたベトナム産の1標本は、分布の西限記録となる。次に、*Synodus tectus* Cressey, 1981 は本属の分類学的研究で記載され、形態が類似するホシノエソ *Synodus hoshinonis* Tanaka, 1917 とは腹膜の黒点の数で識別されたが、そのほかの分類形質は言及されていない。さらに、2017年に出版されたフィリピンのパナイ島周辺の魚類図鑑では、*S. tectus* と *S. hoshinonis* の有効性を検討する必要があるとされたが、これまで再検討されていない。そのため、*S. tectus* と *S. hoshinonis* を比較した結果、背鰭と臀鰭軟条数 (前者では11–14 vs. 後者では12–14; 8–11 vs. 9–11)、側線有孔鱗数 (52–56 vs. 53–56)、標準体長に対する眼窩径の割合 (5.0–11.1% vs. 5.3–11.5%)、標準体長に対する両眼間隔の割合 (1.5–7.3% vs. 2.2–8.8%) では変異幅と両種のホロタイプの計数値が重複する。さらに、その他の46形質の詳細な比較検討からも識別できなかった。そのため、これらを同一種とする異名関係を支持する結論に達した。

スズキ目アジ科のブリモドキ属 *Naucrates* Rafinesque, 1810 はブリモドキ *Naucrates ductor* (Linnaeus, 1758)のみを含み, 第1背鰭棘が鰭膜で連結しない, 体側に5本の暗色横帯をもつ, 稜鱗がない, 尾柄の側面には隆起線が発達し, 背腹面には尾柄溝をもつことなどの形態特徴で同科他属とは明瞭に異なる. ブリモドキは三大洋の温帯域に分布し, 現在は22名義種1有効種とされる. 京都大学が予備的に行った日本産ブリモドキのミトコンドリアDNAのCOI領域を用いた分子系統解析で, 2隠蔽種の存在が示唆された. 本研究はこれらの形態的差異を見だし, 適用すべき学名を決定することを目的とした. 本研究では, 高知大学海洋生物学研究室(BSKU)をはじめ, 6研究機関に所蔵される79標本を用いた. この標本群には標準体長に占める体高の割合が約22%から30%を超える個体が混在し, 種の識別形質になり得ると仮定した. また, この標本群の尾鰭鰭条数の変異幅は36–41であり, このうち36–37の計数値をもつ個体が比較的体高の高い標本群として分類できることが判明した. 本研究では, 尾鰭鰭条数38–41の標本群を *N. sp. 1*, 36–37の標本群を *N. sp. 2* として扱った. *N. sp. 1* と *N. sp. 2* の間では, 第1背鰭担鰭骨の神経棘間への挿入位置に差異が見られた. *N. sp. 1* では, 第1背鰭担鰭骨の挿入位置は第4神経棘の前で最頻値をとるが, *N. sp. 2* では, すべての個体で第1背鰭担鰭骨が第3神経棘の前へ挿入される. さらに, 側線有孔鱗数の計数では, 51–93の非常に広い変異幅がみられた. このうち, *N. sp. 1* は59–93の広い値を示し, 頻度分布が61と79でピークを2つ形成した. 一方, *N. sp. 2* は51–70の値を示し, 側線有孔鱗数が比較的少ない傾向にあった. なお, *N. sp. 1* には, 吻端の輪郭が丸みを帯びる個体と角張る個体が混在し, *N. sp. 1* が側線有孔鱗数の頻度分布で形成した2つのピークと概ね合致したが(吻端が角張る個体は79のピークに属する), 分子系統解析ではこれらが同一クレードに含まれたため, 種内変異と考えた. また, 名義種との比較を行ったところ, *N. polysarcus* Fowler, 1905(タイプ産地はメキシコ西岸)と形質が類似したが, 本属では比較的記載が新しい種であり, 新参異名とされた名義種のタイプ標本を検討する必要がある. さらに, Fowler(1905)は, *N. polysarcus* は, *N. ductor* より高い体高で暫定的に識別できるとしたことから, *N. sp. 1* は *N. ductor* に一致する可能性が高い. 本研究では日本産のほか, アフリカ東岸沖のインド洋産とコスタリカ沖の東太平洋産各1標本を観察し, いずれも *N. sp. 1* と形質が一致した. 以上の結果により, 日本産ブリモドキ属は2種に識別される. 海外産の本属魚類については, 文献調査から, *N. sp. 1* と *N. sp. 2* にそれぞれ一致する標本を確認した. しかし, これら2種の分布やさらなる隠蔽種が存在する可能性については, 海外産を含めた多数の標本を検討する必要がある.

インド-西太平洋産ヨウジウオ科イシヨウジ属魚類の分類学的再検討

生物科学コース 海洋生物学分野 幸 大二郎

ヨウジウオ科 Syngnathidae は三大洋に 60 属約 320 種が分布し、体が骨板の体輪からなる、口が斜線で管状、両顎に歯を欠く、吸い込み型の摂餌をすることなどにより特徴づけられる。イシヨウジ属 *Corythoichthys* Kaup, 1853 は、インド-西太平洋の浅海域に生息し、19 名義種のうち 11 種が有効とされ、日本では 5 種が知られる。Dawson (1977) の分類学的再検討により新参異名とされた *C. conspicillatus* (Jenyns, 1842), *C. isigakius* Jordan and Snyder, 1901, および *C. waitei* Jordan and Seale, 1906 の 3 種は、近年では有効種とする見解がある。しかし、標本に基づく検討がされていない。また、日本産のイシヨウジ *C. haematopterus* (Bleeker, 1851) には、遺伝的に異なる 2 系統が含まれることが報告された。本研究では 462 標本に基づき、本属魚類の分類学的再検討を行った。その結果、オビイシヨウジ *C. amplexus* Dawson and Randall, 1975, *C. benedetto* Allen and Erdmann, 2008, キシマイシヨウジ *C. conspicillatus*, *C. flavofasciatus* (Rüppell, 1838), イシヨウジ *C. haematopterus* (Bleeker, 1851), *C. insularis* Dawson, 1977, *C. intestinalis* (Ramsay, 1881), *C. nigripectus* Herald, 1953, *C. ocellatus* Herald, 1953, *C. paxtoni* Dawson, 1977, オボロイシヨウジ *C. polynotatus* Dawson, 1977, そしてクチナガイシヨウジ *C. schultzi* Herald, 1953 の 12 有効種、および *C. sp. 1* と *C. sp. 2* の 2 未記載種を認めた。これまで日本でイシヨウジ“*C. haematopterus*”と同定された 197 標本は、*C. haematopterus*, *C. intestinalis*, および *C. sp. 1* の 3 種を含み、それぞれ躯幹輪数 (*C. haematopterus* では 17, *C. intestinalis* では 16, *C. sp. 1* では 17), 通常の尾輪数 (34–35, 34–35, 36–38), 通常の背鰭軟条数 (29–31, 27–29, 27–28), 吻長に対する眼窩後縁から胸鰭基底中央までの長さ (79.1–100%, 81.8–106.7%, 100.4–124.6%), 体側後部 3 分の 1 の色彩 (不明瞭, 明瞭, 不明瞭) などの特徴で識別できる。*C. sp. 2* は *C. flavofasciatus* と *C. intestinalis* に類似し、体側の網目状模様 (*C. sp. 2* では背側と連続しない, 他 2 種では連続する), 肛門輪腹面の黒色斑 (ない, ある, ない), 背鰭の模様 (透明, 褐色斑が散在, 透明) などの特徴で識別できることが判明した。これまで *C. intestinalis* の分布北限はグアム島であり、日本近海から報告がない。本研究で調査した鹿児島県奄美大島産の 10 標本は、日本国内における初記録かつ分布北限記録となる。さらに、本属魚類 9 種の COI 遺伝子領域の部分塩基配列を基に、最尤法で推定した有根系統樹では、*C. sp. 1* は *C. haematopterus* と別のクレードに入ること、*C. flavofasciatus* は紅海・インド洋・太平洋で 3 系統に分かれることが判明した。Dawson (1977) によると、*C. flavofasciatus* には尾輪数 [紅海産では 32–36 (通常 34–35), インド洋産では 34–39 (通常 35–37), 太平洋産では 35–39 (通常 36–38)], 通常の背鰭軟条数 (30–31, 28–30, 31–33), そして背鰭基底下の通常の体輪数 (6.0–6.5, 6.0–6.5, 6.5–7.25) の差異が地理的変異とされた。*C. flavofasciatus* (タイプ産地: 紅海, エジプト) のネオタイプは尾輪数が 34, *C. flavofasciatus* の新参異名とされた *C. conspicillatus* (タイプ産地: ソシエテ諸島), *C. sealei* Jordan and Starks in Jordan and Seale, 1906 (タイプ産地: サモア) および *C. serrulifer* Fowler, 1938 (タイプ産地: ソシエテ諸島) のホロタイプの尾輪数は 38 であり、本研究で調査したマイクロネシア・キリバス・台湾・日本産の標本の尾輪数は通常 37–38 であった。現在、日本では *C. flavofasciatus* に“キシマイシヨウジ”の標準和名が用いられるが、本種は紅海からインド洋に分布する可能性が高く、日本周辺には出現しないと考えられる。そのため、*C. conspicillatus* を有効種として“キシマイシヨウジ”の標準和名を適用する。一方、*C. serrulifer* は *C. conspicillatus* の新参異名として扱うことが妥当である。



これまでイタヤガイ科現生種二枚貝の生活史に関する研究は数多く行われたが(e.g., 丸と小原, 1967; Pennec *et al.*, 2003), 絶滅種の検討例は少ない. そこで本研究では, 鮮新統から更新統の関東から沖縄の太平洋沿岸に分布した絶滅種 *Amussiopecten praesignis* のラメラ幅分析, および酸素同位体比分析に基づいて, 生活史と殻成長特性の変遷を検討した.

本研究では唐ノ浜層群穴内層から採取した 12 個体, 掛川層群大日層から産出した 5 個体, 日向灘層群肥後屋敷層と琉球層群仲尾次層から産出した各 1 個体の *A. praesignis* を試料とした. そして左殻表面にあるラメラ幅を計測した全 19 個体中 7 個体の酸素同位体比を分析した. また土佐湾から採取したイタヤガイ科現生である 3 個体の *Ylistrum japonicum* と, 1 個体の *Pecten albicans* を酸素同位体比分析した. なお, ラメラ幅分析には, デジタルマイクロ顕微鏡 (KEYENCE 社, VHS-1000) を使用した. また酸素同位体比分析には高知大学海洋コア総合研究センター設置の酸素同位体比分析システム (Thermo 社, Thermo-Finnigan MAT 253 Mass Spectrometer) 及び, 酸素同位体比分析装置 (Isoprime Ltd 社, IsoPrime) を使用した.

予察の結果, 1□3 回の酸素同位体比変動サイクルが認められ, ラメラの詰まる白色の成長障害輪は高水温期に年 1 回形成されたと推定された. この関係から同位体未分析試料でも成長障害輪 (順に S1, S2, S3) を年輪として認定した. そして S1 時の殻高, S2 時の殻高と S1 時の殻高の差から, 生後 1 年と生後 2 年目の殻成長速度を比較した. 次に殻頂部から S1 までのラメラ本数を求めた. また 0.2 % 間隔で酸素同位体比の階級値を設定し, 階級ごとの殻成長量を調べた. 以下に本研究の結果と考察を 3 点記述する.

1. 酸素同位体比分析の結果から 1□3 回の季節変動サイクルが認められたため, *A. praesignis* の寿命は 1 年から 3 年と推定される. また S1 時の殻高は約 60 mm, S2 時の殻高と S1 時の殻高の差は約 29 mm で, 両者間に有意差が認められた. 同科の現生種 *Pecten maximus* の S1 時の殻高は最大で 30 mm あり (e.g., Chauvaud *et al.*, 2012), さらに近縁な現生種ツキヒガイ *Ylistrum japonicum* の S1 時の殻高は 60 mm で, 寿命は約 5 年である (Son *et al.*, 1996). よって *A. praesignis* の初期成長速度は *Y. japonicum* に匹敵していたが, より短命で世代交代頻度の高い生活史特性を持っていたと推定される. また S1 時の殻高を産地間で比較した結果, 掛川層群大日層産出個体や穴内岸ノ下の穴内層産出個体は, 安田町唐浜の穴内層上部・中部産出個体に比べ大きかった. よって鮮新統後期から更新統前期にかけて *A. praesignis* の初期成長速度が増加したと推定される.
2. 殻頂部から S1 までのラメラ本数は 143 本から 271 本であった. この数値は, *A. praesignis* と比較的近縁な現生種 *P. maximus* と同様に (e.g., Antoine, 1978), ラメラは 1 日に 1 本形成されたという推定と矛盾しない. また現在の土佐湾の表層水温の観測データから最も水温の高い秋季 (9 月から 10 月) に成長障害輪が形成されたと仮定すると, *A. praesignis* は冬季から春季にかけて, 約 4 か月の間に産卵・孵化したと推定される. また産地間で殻頂部から S1 までのラメラ本数に有意差が認められなかったため, 鮮新世後期と更新世前期の期間に, 産卵・孵化の時期は変化しなかったと推定される.
3. 酸素同位体比による殻成長量の比較の結果, 7 個体中 6 個体で低水温期や水温変動期の殻成長量が高水温期の殻成長量に比べ大きかった. そのため本種は低水温期から水温変動期を中心に殻成長したと推定される. また殻形成時の酸素同位体比範囲の比較から, *A. praesignis* の殻形成時の $\delta^{18}\text{O}$ 値は, 現生種の *Pecten albicans* や *Y. japonicum* より高水温側に偏っていた. よって現生近縁種に比べて, *A. praesignis* の低水温環境に対する適応は不十分で, 更新統以降の寒冷化が *A. praesignis* の絶滅要因と関連する可能性を示唆する.

油糧蓄積微生物オーランチオキトリウムの生物濃縮を介した有効利用法の検討

生物科学コース 動物生理学分野 原田 侑哉

オーランチオキトリウムは、海水または汽水域に広く生息するラビリンチュラ類に属する従属栄養生物である。この生物は、油滴と呼ばれる細胞小器官に DHA などの脂質を蓄積するという特徴があることから、近年、新たな水産資源になり得るとして注目を集めている。

これまでに、オーランチオキトリウムを捕食させた動物プランクトンを養殖魚に与えた場合、養殖魚の稚魚の成長や生存に良い影響を及ぼしたという報告がある。しかし、この研究はタラやニシンといった海水魚に対して行われた研究であり、淡水魚に対して同様の実験を行った例はない。そこで本研究では、淡水に生息するゾウリムシにオーランチオキトリウムを捕食させることでゾウリムシ体内に脂質を蓄積させ、それを観賞魚として人気の高いメダカの稚魚に給餌することで、オーランチオキトリウム由来の脂質の影響によりメダカ稚魚の成長が促進され、生存日数が延びることを期待して、オーランチオキトリウムが持つ脂質の生物濃縮を介した有効利用法の開発とその評価を行った。

まず、オーランチオキトリウム由来の脂質がゾウリムシに蓄積されるかどうかの検証を行った。オーランチオキトリウムを捕食させたゾウリムシに対して脂質を染色するナイルレッドを加えて、食胞内のオーランチオキトリウムの観察を試みた。しかし、この手法ではゾウリムシ体内に元から存在していた脂質にもナイルレッドが反応し、食胞のみを選択的に観察することは困難であった。そこで、細胞を破碎し食胞を取り出してナイルレッド染色を行ったが、食胞は観察できても、ゾウリムシ体内にオーランチオキトリウムの脂質が吸収されるのか、あるいは長期にわたり蓄積するのかは判別できなかった。これらの問題を解決するために、本研究では、薄層クロマトグラフィーを使用し、オーランチオキトリウムとオーランチオキトリウムを摂食したゾウリムシに含まれる脂質の分離・抽出を行い、それを比較することで脂質の同定を行った。その結果、ゾウリムシ体内にオーランチオキトリウム由来の脂質が蓄積されることが確認され、その量はゾウリムシ 1 匹あたりオーランチオキトリウム 35×10^4 匹分と見積もられた。ゾウリムシがオーランチオキトリウムを捕食し体内へ脂質を蓄積することは、オーランチオキトリウムとゾウリムシの排泄物とをナイルレッド染色して比較した結果からも確認できた。オーランチオキトリウムに含まれる脂質の約 40% がゾウリムシ体内に移動すると見積もられた。

次にオーランチオキトリウム由来の脂質を蓄積したゾウリムシの、メダカの餌としての有効性を評価した。市販の餌と比較して、ゾウリムシ、あるいは脂質を蓄積したゾウリムシを単独で与えた結果、メダカ稚魚の成長や生存日数に対して良い影響は認められなかった。次に、市販の餌とゾウリムシを混ぜてメダカ稚魚に給餌した。その結果、成長に関しては影響は認められなかったが、生存日数に関しては、市販の餌を単独で与えた場合よりもゾウリムシを混ぜて与えた方が有意に長く生存した。しかしながら、ゾウリムシと脂質蓄積ゾウリムシの間では特に差が認められず、オーランチオキトリウム由来の脂質の有効性は示されなかった。

今回、オーランチオキトリウムの脂質を蓄積したゾウリムシにメダカ稚魚の成長を促進させる効果があるのではないかと考えたが、期待したような結果は得られなかった。しかしながら、生物濃縮を介したオーランチオキトリウムが持つ脂質の有効利用法の研究はこれまでに報告例が少なく、さらには、淡水棲生物に汽水棲生物の脂質が蓄積されたという報告例も今までにないため、本研究結果によ

クリオネは冷水域に分布する外洋性寒海種である。今回の研究では低温下で働く酵素の機能を明らかにする目的から、その中の一種類であるダイオウハダカカメガイ (*Clione limacina*, 以下*Clione*またはクリオネと略す) を材料に用いて研究を行った。

現在、この *Clione* では、RNA シークエンシングの結果から 2 種類のアルギニンキナーゼ(AK1, AK2) を持つことが判明している。アミノ酸配列を用いた分子系統樹解析の結果からは、この 2 種類の AK は別のクラスターに属する。本研究では、AK1, AK2 のリコンビナント酵素を発現、精製、酵素活性測定を行うことで、2 種類の *Clione* AK が、一般的な中温性酵素なのか、或いは低温に適応した低温適合性酵素なのかを明らかにすることを具体的な目的とした。

精製したリコンビナント酵素を使って、利用できる 5 種類のグアニジノ化合物で酵素活性測定を行った。その結果、*Clione* AK1 は L-アルギニンにのみ活性を示し、一方 AK2 はどの基質にも活性を示さなかった。

活性のあった AK1 の K_m^{Arg} 値は、測定温度の下降と共に低下した。また、25 °C と 15 °C の反応触媒効率 k_{cat}/K_m^{Arg} を比較すると、後者は前者の 1.1 倍となっていた。これは、2 種類の温度感受性の違いを持つ *Neocaridina* AK の値と比較した時（低温性 AK1 は 1.7 倍、中温性 AK2 では 1.3 倍）、*Clione* AK1 が中温性酵素である可能性を示す。

次に、*Clione* AK1 の様々な温度における k_{cat} を用いて、アレニウスプロットを作成し、反応の活性化エネルギー (E_a) を求め、引き続き遷移状態の熱力学的パラメーター： ΔH^{\ddagger} 、 ΔG^{\ddagger} 、 ΔS^{\ddagger} を算出した。その結果、 E_a は 65.6 kJ/mol、 ΔH^{\ddagger} は 63.1 kJ/mol、 ΔG^{\ddagger} は 73.0 kJ/mol、 ΔS^{\ddagger} は -33 J/mol/K と計算された。

次に、 $\Delta(\Delta H^{\ddagger})_{p-m}$ 値 (*Clione* の ΔH^{\ddagger} から、典型的な中温性 *Neocaridina* AK2 酵素の ΔH^{\ddagger} を減じた値)、及び $\Delta(T\Delta S^{\ddagger})_{p-m}$ 値 (*Clione* の $T\Delta S^{\ddagger}$ から、典型的な中温性 *Neocaridina* AK2 酵素の $T\Delta S^{\ddagger}$ を減じた値) を算出し、*Clione* AK1 が中温性酵素か、或は低温適合酵素であるかの評価を行った。その結果、*Clione* AK1 の $\Delta(\Delta H^{\ddagger})_{p-m}$ 値は 15.0 kJ/mol、 $\Delta(T\Delta S^{\ddagger})_{p-m}$ 値は 1.6 kJ/mol と計算された。低温適合酵素の $\Delta(\Delta H^{\ddagger})_{p-m}$ 値、 $\Delta(T\Delta S^{\ddagger})_{p-m}$ 値は大きな負の値を取り、一方、中温性酵素では正の値を取っていることから、*Clione* AK1 は中温性酵素であると推定された。

海綿動物に存在するアミノ酸ラセマーゼに関する研究

生物科学コース 比較生化学分野 川崎 優香

アミノ酸には、L体とD体の2種類の鏡像異性体が存在するが、生体内にはL-アミノ酸のみが存在すると考えられてきた。しかし、近年の研究により、遊離型D-アミノ酸が生体内に存在し、様々な生理機能をもつことが明らかとなってきた。また、L-アミノ酸とD-アミノ酸との間の異性化反応を可逆的に触媒するアミノ酸ラセマーゼによって、D-アミノ酸が生合成されることも明らかとなった。セリンラセマーゼ (SerR) とアスパラギン酸ラセマーゼ (AspR) は動物界に広く分布し、共通の祖先遺伝子から進化したとされている。そして、AspRには150-152位に2個または3個のSer残基が必ず存在し、AspR活性に必要な不可欠であることが報告されている。この領域はTriple Serine loop領域と呼ばれ、この領域の獲得によってSerR遺伝子からAspR遺伝子への進化が起こったと考えられている。また、海綿動物の*Amphimedon queenslandica*からは、アスパラギンラセマーゼ (AsnR) 活性とAspR活性の両方をもつアスパラギン/アスパラギン酸ラセマーゼ (Asn/AspR) が発見されている。これまで、動物においてD-Asnを合成可能な酵素は*A. queenslandica*のAsn/AspR以外には報告されていない。

本研究では、海綿動物において、*A. queenslandica* Asn/AspRのようなD-Asnを合成可能な酵素がどのように分布しているのかを確認すると共に、どのような進化によってSerRまたはAspRがアスパラギンへのラセマーゼ活性を獲得したのかを明らかにすることを目的とした。GenBankの塩基配列データベースを利用して、海綿動物に存在するSerRのホモログ (SerRH) 遺伝子の探索を行った。そして、発見されたSerRHのうち、普通海綿綱から多骨海綿目の*Mycale grandis* SerRH、磯海綿目の*Halichondria panicea* SerRH1及びSerRH2、淡水海綿目の*Lubomirskia baikalensis* SerRH1及びSerRH2、単骨海綿目の*Haliclona amboinensis* SerRH1、SerRH2及びSerRH3、六放海綿綱からリッサキノサ目の*Rossella fibulata* SerRH1及びSerRH2の計10種類について、人工遺伝子合成及びリコンビナント酵素の機能解析を行った。その結果、*L. baikalensis* SerRH2は可溶性のリコンビナントタンパク質を得ることができなかったが、それ以外については、可溶性のリコンビナントタンパク質が得られ、アミノ酸へのラセマーゼ活性を確認することができた。各種アミノ酸に対するラセマーゼ活性から、*M. grandis* SerRH、*H. panicea* SerRH1及びSerRH2はAspR、*R. fibulata* SerRH1及び*H. amboinensis* SerRH3はSerR、*L. baikalensis* SerRH1及び*R. fibulata* SerRH2はAsn/AspR、*H. amboinensis* SerRH1及びSerRH2はAsnRであると推測された。*H. amboinensis* AsnR1のL-Asnを基質とした触媒効率 (k_{cat}/K_m) は、L-Serを基質としたときよりも約24倍高くなり、*H. amboinensis* AsnR2では、L-Asnへの k_{cat}/K_m はL-AspやL-Serに対する k_{cat}/K_m の約94倍高い値になり、これら酵素がアスパラギンに高い基質特異性を示すことがわかった。*R. fibulata* Asn/AspRでは、 k_{cat}/K_m はL-Asp、L-Asn、及びL-Serに対して同程度の値となり、基質特異性の低い酵素である事がわかった。本研究で用いた6種の全ての海綿動物でAsnR、AspR及びAsn/AspRの少なくとも1つが必ず存在し、作成した分子系統樹より、AsnR、AspR及びAsn/AspRは近縁な遺伝子ではなく、海綿動物の29のSerRH遺伝子の中で分散して存在していた。海綿動物においてD-AspまたはD-Asnの合成酵素が特定の種ではなく広範囲に存在しており、合成されるD-AspまたはD-Asnには、最も原始的な後生動物である海綿動物において普遍的な生理機能が存在することが推測された。

また、AsnRの基質認識部位を特定するため、具体的にAsnR、SerR、Asn/AspRについて23種類のアミノ酸置換変異体酵素を作製し、その酵素活性の変化を検討した。その結果、AsnR活性に特異的なアミノ酸残基は複数箇所に存在しており、中でも特に152位アミノ酸残基が基質アスパラギンの認識に重要であることが明らかになった。また、海綿動物では、他のAspR同様に、SerRからTriple Serine loop領域の獲得によって、まずAspRが生じたと考えられた。そして、152位に電荷をもつアミノ酸残基を獲得することでAsnR活性を獲得し、Asn/AspRへと進化し、さらにアスパラギンへの基質特異性を上昇させ、最終的にAsnRが生じたと考えられた。

マイワシとウルメイワシ（ニシン科）の頭部側線系

海洋生物学研究室 小松 夏来

マイワシ *Sardinops melanostictus* (Temminck and Schlegel, 1846) とウルメイワシ *Etrumeus micropus* (Temminck and Schlegel, 1846) は貧者の食卓を賑わす大切な魚である。両種が属するニシン科では、頭部が樹状に分岐した側線系で覆われる。これは、本科が密着して群泳する習性に関連すると考えられている。両種はなじみの深い魚であるが、その側線系の詳細は不明である。本研究では 2 種の頭部側線系に記載を与え、共通点と相違点を明らかにすることを目的とした。頭部の主要側線管は 8 本で構成される。これらは皮下を通り、細長い小管を分岐する。小管はその中間部から末端部で外部に開孔する。主要側線管の構造は 2 種に共通するが、各主要管に付属する小管の数、形状および部位による小管の有無に差があった。小管の総数はマイワシでは 2873、ウルメイワシでは 1509 であった。マイワシでは脂脛上と主鰓蓋の下部に小管があったが、ウルメイワシではなかった。眼窩上管はマイワシでは 2 列、ウルメイワシでは 1 列であった。相対的にマイワシの方がウルメイワシより小管が発達し、管の中の感丘の数も多いと考えられた。したがって、水の流れに対する感受性はマイワシの方がウルメイワシより高い可能性がある。

ベラ科とブダイ科の側線鱗

海洋生物学研究室 田中 かりん



ベラ科とブダイ科はスズキ目ベラ亜目に含まれる沿岸性の魚類で、熱帯から温帯にかけて広く分布する。分子系統学的研究では、ブダイ科はベラ科内のサブグループであるとされている。両科では体側の側線系は大型の鱗（側線鱗）で形成されることが知られている。しかし、側線鱗上の管の状態などに種間の違いがあるか否かは不明である。本研究では、ベラ科 7 属 12 種、ブダイ科 3 属 8 種、計 20 種の側線鱗を観察した。側線（鱗）が体側後方で急降下する種(タイプ A)と上下 2 本に分離する種(タイプ B)の 2 タイプを認めた。ブダイ科 8 種はすべてタイプ B であり、ベラ科テンス属のテンスとバラヒラベラ 2 種も同タイプであった。他のベラ科の種はタイプ A である。側線鱗上の管には孔が付属する。この孔の数には種によって差があった。また、孔の数の成長による変異と側線鱗の後方への伸長程度にも差があった。これら 3 つの特徴により、グループ A を 3 サブグループに、グループ B を 2 サブグループに分割できた。分子系統樹に今回の結果をプロットすると、タイプ B はベラ科の一部とブダイ科の近縁性を支持する可能性が考えられた。

スズキ目魚類における尾鰭上の鱗

海洋生物学研究室 岡部 笑莉加



スズキ目魚類ではアカメ科とニベ科のみで側線が尾鰭上にまで延長するとされていた。しかし、他の科においても、側線神経はしばしば尾鰭上にまで延長している。そこで、スズキ目魚類における尾鰭上の側線の有無、側線鱗の配列と形状および側線鱗以外の鱗の配列を明らかにすることを目的とし、30科40種を観察した。尾鰭上には多くの種(19科27種)で側線が延長していた。側線が延長している種では側線の本数、延長の程度、側線鱗側面の管にある孔の有無と数で差異があった。尾鰭上の鱗(側線鱗以外)の配列には、鰭膜のみに鱗がある種(パターン1)、鰭膜と鰭条に鱗があり両部位で配列に差異がある種(パターン2)、鰭条と鰭膜に鱗が一樣に分布する種(パターン3)の3パターンが認められた。パターン1には、鰭膜上に鱗が1列に並ぶ種と複数列に並ぶ種があった。パターン1がもっとも普通で、鰭膜に複数列の鱗が並ぶ種が多かった。尾鰭上の側線鱗側面の管には、ほとんどの種で孔が1個あった。しかし、孔が2個の種やそれ以上の種もあった。側線の尾鰭上への延長は多くの種で生じており、これは水流への感度を向上させる上で適応的である。側線鱗側面の管にある孔の有無や数は、環境情報の取捨選択に関連すると考えられた。尾鰭上の様々な鱗の分布パターンは、尾鰭の柔軟性を調整していると思われるが、これは今後の課題である。

カレイ目魚類における尾鰭上の側線系

海洋生物学研究室 小川 春奈

カレイ目魚類は、体が眼のある側(有眼側)と無い側(無眼側)に分かれるので、異体類とも称される。本目魚類における躯幹部の側線系については既に知見がある。しかし、尾鰭上の側線系に注目した研究はなく、尾鰭上の鱗の発達が有眼側と無眼側で同一なのか否かも不明である。本研究ではカレイ目7科16属16種の尾鰭の側線系と鱗の特徴を有眼側と無眼側で観察し、比較した。ボウズガレイなど4科10種では、側線が有眼側と無眼側で発達し、それぞれの種で尾鰭の後部から後縁に達していた。キシウダルマガレイなど2科5種では、側線は有眼側のみにあり、その伸長の程度は様々であった。コケビラメ1科1種では尾鰭両側に側線がなかった。両側間で尾鰭全体での鱗の分布、側線鱗のサイズおよび側線鱗の消失部位(鱗に引き続き長いチューブ状の構造が側線系を形成する場合がある)を比較した。アマミウシノシタなど3科6種では、有眼側でより有鱗域が広く、より鱗が大きく、側線鱗がより後方に達していた。側線が有眼側にしかない2科5種でも有眼側で鱗の発達が良かった。カレイ目魚類の尾鰭上の側線系と鱗は有眼側の方がより発達する傾向が明らかであり、これは無眼側を海底に接着させる生活様式を反映していると考えられる。

日本産ヤガラ属アカヤガラの分類学的研究

海洋生物学研究室 深瀬 雄大

ヨウジウオ目ヤガラ科ヤガラ属 (*Fistularia* Linnaeus, 1758) は、三大洋の熱帯から温帯域の水深 200 m 以下に生息する。本属 14 名義種のうち、日本に出現するアカヤガラ *Fistularia petimba* Lacepède, 1803 とアオヤガラ *F. commersonii* Rüppell, 1835 のほか、海外産の *F. corneta* Gilbert and Starks, 1904 と *F. tabacaria* Linnaeus, 1758 の 4 種が有効とされる。本属魚類は吻と体が細長く、吻端に小さな口が開く、尾鰭中央の鰭条が伸長する、そして背鰭と臀鰭が対向するなどの特徴をもち、魚類や小動物を吸引して捕食する。アカヤガラ (*F. petimba*) は、後方の側線鱗の形状、背腹面の正中線上に骨板があるなどの特徴で本属他種と異なる。また、日本産のアカヤガラには、予備調査により遺伝的にも形態的にも異なる 2 型の存在が判明した。本研究では、これらを *F. sp. 1* と *F. sp. 2* として日本産の 104 標本の形態を比較検討した。その結果、これらは尾鰭伸長鰭条の分枝 (*F. sp. 1* ではしない vs. *F. sp. 2* ではする)、頭長 (HL) が 121–227 mm の個体では側線後方の側線鱗の形状 (鋭い vs. 鈍い台形状)、226 mm HL 以下では背面の暗色横帯 (ない vs. ほぼある)、284 mm HL 以下では腹面の小棘 (ない vs. ある) で、それよりも大型個体では、尾鰭後縁の褐色域 (一部 vs. 全体) でそれぞれ識別できる。また、頭長に対する主上顎長 (6.8–8.3% HL vs. 9.2–13.0)、吻長 (76.0–79.8% HL vs. 72.5–77.5)、そして両眼間隔 (2.5–3.6% HL vs. 3.4–4.5) などの組み合わせでも明瞭に分類できる。さらに、本属 14 名義種のうち、*F. sp. 1* は *F. starksi* Jordan and Seale, 1906 に、*F. sp. 2* は *F. petimba* (883 mm SL 以上の個体) と *F. rubra* Miranda Ribeiro, 1903 にそれぞれ類似することが判明した。

日本産フサアンコウ属稚魚の分類学的研究

海洋生物学研究室 堀内 海咲

フサアンコウ科フサアンコウ属 *Chaunax* Lowe, 1846 は、三大洋と地中海の水深 30–1200 m の砂底域から岩礁域にかけて、温海域に生息する底生性魚類である。本属魚類は、桃色から赤みのある橙色の体、頭幅が狭い、誘引突起が短い、側線感丘数が多いなどの特徴をもち、世界で 25 有効種が知られ、日本にはホンフサアンコウ *C. fimbriatus* Hilgendorf, 1879、アカフウセン *C. apus* Lloyd, 1909、ハナグロフサアンコウ *C. penicillatus* McCulloch, 1915、そしてミドリフサアンコウ *C. abei* Le Danois, 1978 の 4 種が分布する。本属の各種の成魚は、誘引突起や誘引突起溝の形態、体色や模様などで容易に識別できるが、卵や仔稚魚の知見は極めて少なく、有効な分類形質が検討されていなかった。しかし、最近の遺伝子解析により、腹部に暗色横帯がある本属稚魚は、ホンフサアンコウ *C. fimbriatus* と判明した。そこで本研究では、日本産フサアンコウ属 4 種のうち、アカフウセンを除く 3 種の稚魚標本の形態的特徴を調査し、有効な分類形質を明確にすることを目的とした。その結果、ハナグロフサアンコウは他の 2 種とは、擬餌状体 (エスカ) の糸状皮弁と後面の色 (密、白色 vs. 疎ら、白色ではない)、誘引突起全長に対する誘引突起柄長の割合 (50%未満 vs. 50%以上)、誘引突起溝の形態 (暗色で深く、半円形から三角形 vs. 淡色で浅く、楕円形)、誘引突起溝の長さに対する幅の割合 (70%以上 vs. 65%以下) で識別できる。さらに、ホンフサアンコウとミドリフサアンコウは、体の模様 (体背面と背鰭の斑点と腹面の暗色横帯 vs. 生鮮時の緑色斑点、固定後の褐色斑)、標準体長に対する最大体高 (40%以上 vs. 40%未満)、体側前方 (BB') の側線感丘数 (5 vs. 3–4) でそれぞれ識別できる。

イトウダイ科テリエビスの分類学的研究

海洋生物学研究室 佐藤 優吉

イトウダイ属 (*Sargocentron*) は、キンメダイ目イトウダイ科に属する底生性魚類であり、熱帯から亜熱帯海域の浅瀬の岩礁や岩場に生息する。本属はインド洋から西太平洋の広域に分布し、世界では 34 有効種が、日本では 16 種が知られる。本研究で扱うテリエビス *S. ittodai* (Jordan and Fowler, 1902) は、本属の中でも最も形態が類似するニジエビス *S. diadema* (Lacepède, 1802) とは、胸鰭軟条数や背鰭棘条部の白色縦帯の形状により容易に分類できる。しかし、本学所蔵標本でテリエビス (*S. ittodai*) と同定されるが、やや形態が異なる 3 標本が発見された。それらの標本とテリエビス (*S. ittodai*) との形態的差異が検討されておらず、同種か定かではない。そこで本研究では、高知県産、鹿児島県産、沖縄県産、和歌山県産、および三重県産の 100 標本の形態形質を検討した。その結果、暫定的に *S. sp.* 1–4 に分類した。*S. sp.* 1 (97 標本, 62–156 mm SL*標準体長) は *S. ittodai* の原記載 (ホロタイプ, 154 mm SL) との比較から、ほぼすべての形質の変異幅にホロタイプの値が含まれるため同種の可能性が高い。また、*S. sp.* 2 (131 mm SL) は眼径が 12.8%SL, 背鰭第 3 棘長 14.1%SL, 側線有孔鱗数 44, 背鰭棘条部に黒斑がない、および主鰓蓋骨棘の形状が細長いことで他種と異なる。さらに、*S. sp.* 3 (146 mm SL) は背鰭基底長が 52.2%SL, 胸鰭前部長が 36.9%SL, および他に 3 計測形質, 側線有孔鱗数 43, 背鰭棘条部の黒斑がない、および主鰓蓋骨棘の形状が太く長いことで他種と異なる。そして、*S. sp.* 4 (131.4 mm SL) は眼径 13.6%SL, 上顎長 13.1%SL, 主鰓蓋骨第 1 棘長 12.9%SL, 側線有孔鱗数 44, および背鰭棘条部に黒斑がないとことで異なる。したがって、*S. sp.* 2–4 は、未記載種あるいは日本初記録種の可能性があることが判明した。

日本産セキトリイワシ科ハゲイワシ属魚類の分類学的研究

海洋生物学研究室 守屋 晴

ハゲイワシ属 *Alepocephalus* Risso, 1820 は、ニギス目セキトリイワシ科に属し、現在世界では 20 有効種が、日本では 7 有効種が知られ、水深 300–3600 m の海底直上に生息する。本属魚類は、各研究機関の標本数が非常に少ないことや、魚体が軟らかく壊れやすいため、通常の計測形質の誤差が大きいためなどから、分類学的な研究が進んでいないグループである。また、生活史に関する未解明な点が多い。1997 年に高知県室戸沖で行われた曳航体カメラによる深海底の生物調査では、大型のハゲイワシ属魚類が約 30 個体確認された。また、2019 年 11 月と 2020 年 8 月に高知県足摺沖で行われた延縄調査では、水深約 1300 m 付近から大型のハゲイワシ属 2 標本 (*A. sp.* 1: BSKU 127454, 423 mm SL; *A. sp.* 2: BSKU 127998, 537 mm SL) が採集された。そこで本研究では、これら 2 標本の特徴を明らかにするとともに、日本産本属の分類学的再検討を目的とし、国立科学博物館 (NSMT) から借用した標本を含めた約 60 標本を調査した。その結果、臀鰭鱗条数 (24 以下 vs 25 以上), 吻端形状 (比較的鋭い vs 比較的鈍い, へら状 vs へら状ではない, 背面から見て丸みを帯びる vs 背面から見て尖る), 眼窩間形状 (正面から見て凹面 vs 正面から見て平面 or 凸面), 有孔側線鱗数 (65 以下 vs 66 以上), 脊椎骨数 (51–53 vs 57–60) などの組み合わせから、*A. sp.* 1 は日本産既知種の *A. umbriceps* に類似し、*A. sp.* 2 は日本初記録または未記載種の可能性が高い。

横倉山（高知県高岡郡越知町）の粘菌相 —アカガシ林を中心とした調査—

植物分類学研究室 南 耕太郎

粘菌は変形菌とも呼ばれる生物で、その生態は謎に包まれている。粘菌は子実体、孢子、粘菌アメーバ、変形体という段階ごとに形態が変わる生活史を持っており、変形体は単細胞多核な構造で、原形質流動を行うことで動き、菌類、細菌類を捕食し栄養成長する。また、変形体は湿気を好み、腐木や樹皮、リターなどで生活している。そして、乾燥や貧栄養で変形体では生活しづらくなると子実体となり、孢子が散布され粘菌アメーバが発芽し変形体へと成長というライフサイクルを繰り返している。粘菌の同定は形成された子実体を観察することで行う。粘菌の研究は分類学的、生理学的な研究では知見が蓄積されているが、生態に関してわずかしか解明されていない。そこで本研究では、樹種と基物を統一した調査を行い、粘菌相を明らかにすることで、粘菌の樹林特異性、基物特異性を明らかにした。調査地は、横倉山山頂付近の天然林が残る範囲で、登山道に沿ってのルートセンサス法、アカガシ林及び比較としてスギ林内でのコドラート調査（100 m²）及びコドラート内のリターを持ち帰っての湿室培養を行った。湿室培養は持ち帰ったリターを枝と葉に分け細かく裁断し、ろ紙を引いたプラスチックシャーレに蒸留水 25 ml とともに入れ、ふたをして室温で 2 週間培養を行った。その後ふたを開け、次第に乾燥させ、形成された粘菌の子実体の観察同定を行った。その結果、現地調査では 26 種の粘菌が出現した。また、湿室培養では出現率 67 %、56 種の粘菌が出現した。湿室培養で優占種キノウネホネホコリなど 5 種が明らかとなった。基物の比較としてアカガシの枝と葉の粘菌相を比較し、枝で 23 種、葉では 14 種が出現した。また、シロジクキモジホコリ、クビナガホコリが枝に特異的に出現した。植生の違いでは、アカガシ林では 27 種、スギ林では 19 種が出現した。アカガシ林では特異的にシロジクキモジホコリ、コカタホコリが出現した。以上のことから植生や基物によって粘菌相は異なり、特に同じ環境内でも基物によって特異的な種が出現することが明らかとなった。

永瀬ダム（高知県香美市）と周辺地域の地衣類相

植物分類学研究室 井田 直斗

地衣類は低地から高山、海岸など様々な環境に生育しており、日当たりのよい湿った環境を好むとされ、日本で約 1600 種が確認されている。

地衣類相の研究は著名な山などを中心に行われており、高知県においても地衣類相が報告されているのは三嶺（香美市）、梶ヶ森（大豊町）、工石山（高知市）などの山地のみである。ダムは日当たりが良く、空中湿度の高い環境であるため、豊かな地衣類相を持つと考えられるが、ダムのような特定の環境における研究はほとんど行われていない。

永瀬ダムは高知県香美市のほぼ中央に位置し、物部川唯一の多目的ダムとして、香美市、南国市、香南市の人々の生活を支えている。

本研究は、多様な環境で生育する地衣類の生態を明らかにするために、永瀬ダムと周辺地域で地衣類相の調査を行い、地衣類目録を作成し、永瀬ダム周辺地域の地衣類相の特徴を明らかにするため、生態学的、植物地理学的解析を行った。

その結果、標本 479 点から 17 科 39 属 82 種の地衣類を確認した。また、調査地内における各種の出現条件と三嶺（香美市）、小瀬川流域（広島県）の地衣類相の比較を行った。その結果、地衣類相の多様性には、明るさが大きく関係することが明らかとなった。

地衣類の二次代謝産物が他の地衣類に与える影響

植物分類学研究室 中西 ゆきの

地衣類は菌類と藻類が共生して一つの体を作っており、特有の二次代謝産物が含まれていることがある。この二次代謝産物は地衣成分と呼ばれ、抗菌・抗細菌作用、動物に対する忌避作用、共生藻に届く光の量の調節や紫外線からの保護、共生菌が共生藻の光合成産物を吸収しやすくする作用などに加え、アレロパシー効果があることが知られている。地衣類のアレロパシーに関する研究は数が少なく、対象となった種も限られている。本研究では高知市内で見られる地衣類の二次代謝産物が他の地衣類に及ぼすアレロパシー効果の影響について調べた。

樹皮の表面において、地衣類が他の地衣類の上に重なって生育していたり、地衣類が他の地衣類の生育場所に食い込んでいる様子がしばしば観察される。このような所では、地衣類の二次代謝産物が雨や霧などに溶け出し、接している他の地衣類に対してアレロパシー効果による影響を与えることで、自身の生育場所を確保していると考えた。これを検証するため、上に重なって生育している地衣類の抽出液を下で覆われている地衣類に吹きかけ、その影響について調べた。その結果、下で覆われている地衣類が変色したり、枯れるなどの変化が見られた。抽出液に曝されていない健康な部分と抽出液に曝されて変化が見られた部分を顕微鏡によって観察・比較すると、抽出液に曝されていない健康な部分は、共生藻の葉緑素が観察できるのに対し、抽出液に曝されて変化した部分では、葉緑素は観察できず、細胞が白色または茶色に変色している様子が見られ、地衣類間のアレロパシー効果は共生している藻類に対して作用していることが示唆された。よって、上に重なって生育している地衣類は下で覆われている地衣類の共生藻に対し、二次代謝産物を曝露させることで負の影響を及ぼし、自身の生育場所を確保していることが示唆された。

高知県における外来種ウチワサボテン属の分布と防除方法の検討

植物分類学研究室 倉岡 木花

ウチワサボテン属 (*Opuntia* spp.) はアメリカ大陸原産のサボテン科の植物で、250 種が報告されている (環境省 2014)。日本での最も古い記録は 1688 年で、渡来は江戸時代初期とされている (湯浅 2021)。現在沖縄から中部地方に園芸目的で導入されたものが逸出し、海岸等に広がり在来植物への圧迫が懸念され、環境省で重点対策外来種 (環境省 2014)、高知県で防除対策外来種 (高知県 2020) に選定されている。しかし、現在国内で有効な防除方法は確立されていない。そこで、本研究では高知県における分布を把握し、効果的な防除方法を検討することを目的とした。

標本調査と野外観察の結果、高知県では形態が異なる 2 種が確認され、それらはセンニンサボテン (*Opuntia stricta*) とタンシウチワ (*Opuntia monacantha*) であった。分布調査では土佐清水市松崎、須崎市久通、高知市種崎海岸、吉川町、香我美町、芸西村琴ヶ浜、室戸岬に分布を確認し、高知市種崎海岸、吉川町、室戸岬では広範囲に分布を確認した。室戸岬では主にタンシウチワ、ほかの分布地では主にセンニンサボテンが分布していた。

センニンサボテンを対象に生態調査と栽培実験を行った結果、1 個体に平均 47 個の果実、果実 1 個に平均 170 個の種子があった。野外調査では実生を確認し、予備的な播種実験でも野外での発芽を確認した。また、野外調査で茎の破片や子房の刺座からの発根も観察した。茎には平均 45 個の刺座があり、栽培実験では 5~10g の破片で刺座から発根し、子房の刺座からも発根を確認した。これらのことから、種子繁殖も行うが、茎の破片や子房の刺座から栄養繁殖できるため、果実が熟す前の時期や果実のない個体でも栄養繁殖で分布を拡大していると考えられる。

物理的防除と化学的防除、また両方合わせた防除を行った結果、化学的防除の除草剤散布と、物理・化学的防除の茎の切断と根元の除草剤注入をした合計 110 個体は枯死せず、茎の切断と根の抜き取りをした物理的防除では 103 個体を除去できた。鋭い刺と重量のため除去後の廃棄が課題であったが、除去した個体を砂地に埋めて処理した結果、再生しなかった。従って、植物体全体を除去し、埋める物理的防除が効果的だと考えられる。

海洋細菌との共培養がヒトエグサ細胞の発生に与える影響

海洋植物学研究室 橋本 将平

ヒロハノヒトエグサは汁物の具材や佃煮などに利用される水産資源である。ヒロハノヒトエグサを含む葉状の多細胞緑藻類は無菌培養すると自然条件下でみられる多細胞の膜状構造が形成されず、単細胞または不定形の細胞の集合体として発生することが知られている。多細胞膜状構造の形成には、天然の海水中に存在する形態形成誘導因子を生成する *Zobellia* 属の細菌と共培養する必要がある。また、アオノリの発生では、*Maribacter* 属の細菌が葉身細胞の膨張や仮根細胞の伸長を誘導し、*Roseovarius* 属の細菌が細胞分裂を促進することがわかっている。ヒロハノヒトエグサでは無菌培養条件下で体細胞(葉身細胞)が単細胞状態で指数増殖する現象がみつかっており、増殖した細胞を多細胞化させる細菌を発見できれば、単細胞増殖と多細胞増殖の切り換えによる新しいヒトエグサ生産方法を創出できる。本研究では、単細胞増殖させた水産種ヒロハノヒトエグサの葉身細胞を安定的に多細胞化誘導できる細菌を探し出すことを目的として、既知の *Maribacter* 属と *Zobellia* 属の海洋細菌に加え、天然採取されたアオノリとヒトエグサの藻体から単離した 121 株と共培養実験を行った。そのうちの形態形成の効果がみられた 8 株で、再度共培養し発生過程を比較観察した。*Maribacter* 存在下では、6 日目から細胞の伸長が確認でき、14 日目では平均長が約 4 倍に伸長した。よって *Maribacter* はヒロハノヒトエグサの仮根細胞の形成および伸長を誘導すると考えられた。*Zobellia* 存在下では、6 日目に多細胞膜状構造が 43%、14 日目では 87% の割合で観察された。一方、無菌培養下では多細胞膜状構造は形成されなかった。よって *Zobellia* はヒロハノヒトエグサの多細胞化を誘導すると考えられた。細菌 8 株との共培養では、3 株で *Zobellia* と同じ効果が見られた。よって天然採取されたアオノリやヒトエグサから数%程度でヒロハノヒトエグサ葉身細胞を多細胞化誘導できる細菌が見つかる可能性が示唆された。

汽水種スジアオノリ有性個体群の地理的隔離の検討

海洋植物学研究室 佐口 敬大

スジアオノリは日本各地の河口や内湾汽水域に広く分布する汽水種である。日本のスジアオノリは 5SrDNA 配列の違いによって、太平洋側の九州から関東までの A グループ、東北の太平洋側から津軽海峡を通過して近畿の日本海側までの B グループ、太平洋側の九州と四国の瀬戸内海から関門海峡を通過して九州と中国地方の日本海側までの C グループの、主に 3 グループに分かれると報告されている。また、アオサ属の海産種の先行研究では、同種の異なる個体群間の交雑試験で生殖後隔離が確認されており、スジアオノリ個体群間でも生殖的隔離が起こっている可能性が予想された。本研究では、日本のスジアオノリの 3 グループに属する有性個体群で生殖前隔離や生殖後隔離の有無を調査した。生殖前隔離は個体群間で雌雄の配偶子(n)の接合を観察し、生殖後隔離は個体群間で雌雄の配偶子が接合した接合子(2n)の発芽率と、接合子が発生して成長した孢子体(2n)から減数分裂して造られる減数孢子(n)の発芽率を調べた。

実験には、高知県四万十川産 (AF, AM)、岩手県関口川産 (BF, BM)、鳥取県中海産 (C1F, C1M)、愛媛県加茂川産 (C2F, C2M) の有性生殖型スジアオノリを用いた。括弧内は (グループ+F, M) で、F, M は雌性配偶体、雄性配偶体を表している。

接合実験では、試験されたすべての組み合わせで接合子が形成された。接合子の発芽率実験では、試験されたすべての組み合わせで発芽率は 90%以上になった。減数孢子の発芽率実験では、いくつかの異なる個体群間の交雑孢子体で造られた減数孢子では、69-86%の低い発芽率が観察された。接合実験の結果は、異なる個体群間の生殖前隔離が進んでいないことを示しており、交雑孢子体の発生にも不具合は生じていないようであった。しかし、減数孢子の低い発芽率から、生殖後隔離の進行が示唆された。

キヌイトアオノリ 3 株の成長特性比較

海洋植物学研究室 堀田 璃音

キヌイトアオノリ *Ulva aragoënsis* は、温帯地域を中心に世界中の沿岸に広く分布しており、日本では千葉県で黒海苔(アマノリ)にアオノリ類を混ぜて加工した「青混ぜ海苔」の主な原料として商業的に利用されている。この青混ぜ海苔の生産は、アオノリ類の天然採取に頼っているため混合割合や生産量が安定しないという問題がある。また、キヌイトアオノリは遺伝的変異が大きな種であり、株ごとに大きく異なる形質を持つことも生産量の問題に関わっていると考えられる。そこで、本研究ではキヌイトアオノリの安定した生産方法の確立に向けて、葉幅が異なる高知県産 2 株(SR4,8)と北海道産 1 株(H2)の温度別培養実験と屋外に設置した 100L タンクを使った培養試験を行い成長特性の比較を行った。

温度別培養実験の先行研究では、キヌイトアオノリの成長速度は 10℃から 30℃で水温が高いほど速いと報告されている。しかし、15℃,20℃,25℃の 3 実験区を設定した本研究での平均相対成長率は、SR4,SR8,H2 それぞれ 20℃で最大値 0.52,0.42,0.54 を示し、25℃で最低値 0.43,0.30,0.48 を示した。H2 は、他の 2 株に比べ全ての温度条件で最も高い平均相対成長率を示した。屋外タンク試験は 12 月 5 日から 12 月 30 日の期間に 2 回行った。水温は、試験 1 に比べて試験 2 で平均 3℃ほど低下した。最低水温は、試験 1 で 10.1℃、試験 2 で 5.4℃であった。試験 1 の平均相対成長率は SR4,SR8,H2 それぞれ 0.42,0.32,0.40 で SR4 が最も高く、試験 2 ではそれぞれ 0.30,0.21,0.31 となり、H2 が最も高い値を示した。試験 2 の最低水温を記録した期間の相対成長率は SR4,8,H2 それぞれ 0.21,0.15,0.25 で H2 が最も高い値を示した。以上の結果から、SR4 と H2 が SR8 に比べて全ての温度条件下で高い相対成長率を有しており、幅広い温度範囲で高い生産能力をもつと考えられた。

土佐湾におけるユメエビ科の分布

海洋動物学研究室 川嶋 優希

ユメエビ科 (Luciferidae) は現在、世界の海洋から 2 属 7 種が知られており、日本近海ではそのうちの 2 属 5 種(チェースユメエビ *Belzebub chacei*、キシユメエビ *B. hanseni*、ナミノリユメエビ *B. intermedius*、ケフサユメエビ *B. penicillifer*、ユメエビ *Lucifer typus*) が発見されている。これまで土佐湾においてユメエビ類の出現が高頻度で確認されており、同湾内の生態系において重要な役割を担っている可能性がある。しかし、ユメエビ類に関する生態学的情報は概して不足している。本研究では土佐湾におけるユメエビ類の出現種を確認するとともに、海洋環境と分布との関係などの生態学的情報を収集することを目的とした。

2021 年 2 月から 2022 年 1 月まで季節に 1 回 (春、夏、秋、冬)、土佐湾仁淀川河口から沖に向けて設けた 8 定点 (水深 20 m、40 m、70 m、90 m、110 m、130 m、200 m、400 m 地点) で海洋観測を実施し、うち 5 定点 (水深 20 m、70 m、130 m、200 m、400 m 地点) で季節に 1 回、稚魚ネット (網径 1.3 m、測長 6 m、網目 0.5 mm) を用いて傾斜曳を行った。

2021 年 4 月から 2022 年 1 月までの調査では、2 属 3 種推定 50,050 個体 (雄、雌、幼生含む) のユメエビ類を採集した。2021 年 10 月までの調査で採集したユメエビ科の雌雄について種同定を行った結果、秋の 20 m 地点以外の全ての月、定点においてナミノリユメエビが優占し、ユメエビ類の雌雄全体の約 95% を占めた。

ユメエビ類の個体数密度は春と夏に全プランクトン数の約 13% を占めたが、秋と冬は約 0.7% であった。また、ユメエビ類の個体数は、春、夏ともに水深 130 m 地点から沖合の定点で沿岸より多い傾向にあった。今回の土佐湾の調査では、塩分が沿岸表層で 28.9–34.4 と広範な値を示すのに対し、沖合表層で 33.2–34.4 と高く安定していた。Xu (2010) が東シナ海周辺の高塩分海域にユメエビ類が多く生息することを報告したのと同様に、土佐湾でもユメエビ類が沿岸よりも塩分が高い沖合で多く出現したと考えられる。

絶滅危惧種タイマイにおける孵卵温度と遊泳水温が孵化及び幼体の運動性に与える影響

海洋動物学研究室 横井 瞳

タイマイは熱帯地方における沿岸域のキーストーン種として重要な地位を持つ。しかし、べっこう細工の原料として過去に乱獲されたことなどにより個体数が著しく減少し、IUCN のレッドリストにおいて絶滅寸前種とされている。日本での産卵は南西諸島以南に限られ、毎年 10 回以下である。このため、孵卵条件や幼体の管理に関する研究はほとんど行われておらず、わずかに行われる人工繁殖事例での孵化率も低いとされている。本研究では、孵卵温度と遊泳水温がタイマイの孵化や幼体の運動性や代謝に与える影響を検証し、本種の特性と生残率を高める条件を考察することを目的とした。

沖縄美ら海水族館の人工浜から約 100 卵×4 巢分を輸送して高知大学総合研究センター実験室の孵卵器へ収容し、高温孵卵区 (31.0℃) と低温孵卵区 (27.5℃) に分けて孵卵した。孵化を確認した日から数えて 6 日目を実験開始日とし、それぞれの孵化幼体を形態計測後に高温遊泳区 (31.0℃) と低温遊泳区 (27.5℃) に分け、泳力と血中成分を測定開始から 0 - 4、24、48、72 時間後に測定した。

その結果、孵化率は高温区でより高い結果となり、低温を経験させたことが胚発生の妨げになったと考えられた。泳力は、高温孵卵区や高温遊泳区でより大きい結果となった。このことから、高温を経験することによって孵化幼体の生理活性が高まると考えられた。また、平均泳力やパワーストローク数は測定開始時に著しく高い個体がみられたものの、それから低下し、3 - 4 時間後には最小値を記録した。

以上の結果より、タイマイのフレンジーは約 4 時間以内で収束し、初期生活史において沿岸性の強い習性と関連があると考えられた。また、本種の適切な孵卵条件として低温を経験させないことが重要であり、厳密な温度管理のもと、臨界温度付近である 29.0 - 29.5℃ 付近での恒温孵卵する案を推奨

緑藻ポタンアオサの葉緑体定位運動の連続観察

細胞生物学研究室 小川 純輝

アオサ *Ulva* 属の細胞が持つ 1 つの側壁性の葉緑体は、明期は藻体表面側、暗期は隔壁側に定位するという日周運動を行うことが古くから知られている。これまで、アオサの藻体表面側の光学顕微鏡観察が 1 日の中のさまざまな時間帯で行われており、葉緑体の日周運動の経過に伴う、葉緑体の輪郭の形態やピレノイドの位置が調べられている。しかし、そのような観察は時刻により異なる細胞で行われたため、葉緑体の連続的な観察に基づく葉緑体の運動の詳しい特徴を明らかにすることはできていない。

そこで本研究では、アオサの生きた藻体の同じ細胞を正立顕微鏡の 60 倍の対物レンズで 24 時間以上連続的に観察することを目標にして、そのための観察容器の作成を試みた。観察中に藻体と培地の接触が十分行われるために、容器底面に接着した厚さ 0.8 ミリのガラス小片の上に観察する藻体をシリコングリスとカバーガラス片を用いて間接的に固定した。また作動距離の短い対物レンズでの観察を可能にするため、培地を満たした半密閉容器の蓋の下側に貼り付けたカバーガラスを通して藻体を観察した。このように作成した容器に培地を満たし、藻体固定用のカバーガラス片のみを置き藻体は固定せずを観察したところ、24 時間後でも平面 (XY)・深さ (Z) 方向ともに位置のズレは生じなかったのに対して、藻体を固定したときには、深さ方向に葉緑体の形態観察に支障をきたす程度のズレが生じた。ズレの量は観察する藻体の幅を 3mm 程まで小さくすることや、大きなズレが生じやすい観察開

緑藻ボタンアオサの葉緑体定位運動に伴う葉緑体の微細構造

細胞生物学研究室 小林 雅弥

緑藻アオサ属藻類は二層の細胞層からなる葉状の藻体に発達し、それぞれの細胞には 1 つの側壁性の葉緑体が存在する。この葉緑体は明期では藻体表面側、暗期では隔壁側に定位する日周運動を行い、葉緑体が表面側に定位するとき最大光合成速度や光化学系 II の量子効率が高くなることが知られている。このような葉緑体の日周運動と光合成活性の変動に伴って、細胞内で大きな空間を占める単一の葉緑体が細胞表層に沿って移動するとき葉緑体自身の著しい形態変化を伴うことが予想され、これまで細胞内のさまざまな位置に定位する葉緑体の藻体表面観の光学顕微鏡観察が行われてきた。本研究では葉緑体の日周運動に伴う葉緑体内部の構造変化を明らかにするために、ボタンアオサの培養株の明期と暗期の藻体から急速凍結置換法により作成した超薄切片試料を透過型電子顕微鏡で観察した。

葉緑体内部ではチラコイドが密に配列しており、明期で表面側に定位する葉緑体でも、暗期で隔壁側に定位する葉緑体においても、細胞表層に平行に配列していた。また、ピレノイドの内部構造にも葉緑体が定位する位置による差異は認められなかった。以上の観察から、葉緑体はチラコイドやピレノイドなどの内部構造の配置を変化させることなく、細胞表層に沿って外形を変化させながら移動することが明らかになった。

緑藻ボタンアオサの葉緑体定位運動に伴う細胞小器官の変化

細胞生物学研究室 多田 昌弘

2 層の細胞層から成るアオサ属の葉状藻体の細胞の微細構造の研究によると、細胞は藻体表面側に位置する 1 つの側壁性の葉緑体、および藻体内部側の細胞の大部分を占める液胞から成り、葉緑体と液胞の間には核とトランスゴルジネットワーク (TGN) を含む中央原形質塊が存在することが明らかになっている。また、分岐する棒状のミトコンドリアが葉緑体と液胞の間の薄い細胞質層に広がっており、その一部は葉緑体を貫通して細胞表層まで伸びていることが観察されている。一方、葉緑体は日周運動を行い、明期は藻体表面側に、暗期は隔壁側に定位することが知られている。これまで、DNA 蛍光染色を施した藻体の表面観の蛍光顕微鏡観察により、葉緑体の位置が大きく変化するにもかかわらず、細胞表層と核との深さ方向の距離は、明期と暗期との間で変化がないことが報告されている。これらのことは、葉緑体の日周運動において、葉緑体と核を含むその他の細胞構造との間に、相対的位置の変化を含む何らかの構造変化が生じていることを示している。本研究ではこのような葉緑体定位運動に伴う葉緑体以外の細胞構造の変化を明らかにするために、ボタンアオサの培養株を用い、明期と暗期に急速凍結置換法により固定した試料から超薄切片を作成して、透過型電子顕微鏡を用いて観察を行った。

明期の細胞の構造は上述のようなこれまでのアオサ属における観察と同様であった。一方、暗期の細胞でも、明期と同様に核や TGN を含む原形質塊が葉緑体と液胞の間に位置することが確認されたが、ミトコンドリアが密に存在する細胞質部分や集合・発達し、融合する液胞などの明期の細胞では

渦鞭毛藻 *Gymnodinium pyrenoidosum* の遊走細胞の細胞微細構造 細胞生物学研究室 山崎 龍

渦鞭毛藻類の遊走細胞は、アンフィエスマと呼ばれる細胞外被をもつ。本研究で用いた *Gymnodinium pyrenoidosum* はギムノディニウム目に属し、遊走細胞と不動細胞のステージを繰り返す生活環を示す無殻渦鞭毛藻である。本種は、遊走細胞が ecdysis によって不動化し、ペリクルと呼ばれるセルロース性の細胞壁を形成し、その中で新しい遊走細胞が形成されることなどが明らかになっている。しかし、遊走細胞における細胞外被の詳細な構造や細胞微細構造、さらには ecdysis の過程については明確にされていない。本研究では *G. pyrenoidosum* の遊走細胞における細胞微細構造について明らかにすることを目的とし、超薄切片法により透過型電子顕微鏡で観察した。また、細胞分裂の過程において、細胞外被の構造がどのように形成されるのかを明らかにするために、まず細胞分裂の過程と頻度について蛍光顕微鏡で観察した。

本種の遊走細胞の細胞外被は、アンフィエスマ小胞 (av) と呼ばれる原形質膜の直下に分布した比較的大きな扁平な小胞とその小胞を裏打ちするように配列した微小管からなつた。また、av の内部には、厚い板状構造の鎧板は存在せず、約 5 nm の薄いシート状の構造が内包されている場合があった。核は下錐側に位置し、複数の葉緑体が細胞全体に分布していたが、腹側の 2 本の鞭毛基部付近の葉緑体には、多数の色素顆粒が配列する眼点が存在した。また、葉緑体から突出するようにピレノイドが細胞の中央部分に存在した。さらに、0.5~1.2 μm 程度の様々な大きさの多数のデンプン顆粒などの構造が確認された。

本種の細胞分裂は、不動細胞のステージで始まることから、遊走細胞の不動化を遠心によって誘導し、経時的に細胞を固定・観察した。不動細胞をステージ・：核が丸く、未分裂の細胞、ステージ・：染色体数が増加し、核が細長く伸長した状態の細胞、ステージ・：核が分裂し、二つの細胞に分かれた細胞の 3 段階に分けた。ステージ・の細胞を分裂中の細胞として計測し、不動化後の時間ごとのステージ・の細胞の割合を調べた結果、4 時間後に約 28 % で最大であった。

渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp. における分裂の同調培養条件の検討 細胞生物学研究室 西原 一仁

海産渦鞭毛藻 *Symbiodinium* 属の種は、遊走細胞と不動細胞の 2 つステージが存在する。遊走細胞は、アンフィエスマという細胞外被をもち、それは原形質膜の内側に存在する扁平なアンフィエスマ小胞 (av) と表層微小管からなる。遊走細胞が細胞外被を脱ぎ捨てて不動化し、その不動細胞の中で新しい遊走細胞が形成されるが、その時に分裂する細胞も存在する。不動細胞の原形質膜直下に新たな av が形成されるが、分裂時の av の形成過程などは明確にされていない。そこで、本研究では、*Symbiodinium* 属の一種 (Y109 株) を用いて、細胞分裂時における細胞外被の再生過程を明らかにすることを目的として、まず細胞分裂が起こるための同調培養条件の検討を行った。

同調培養実験には、通常培養として IMK 培地を用い、20 \square 、明期 12 h、暗期 12 h の明暗周期 (明期: 8:00~20:00) で培養している Y109 株の遊走細胞を用いた。まず、遊走細胞を遠心で不動化を誘導し、経時的に細胞を固定・観察し、不動細胞をステージ 0: 未分裂の細胞、ステージ・：染色体数が増加し核が楕円形の細胞、ステージ・：核が分裂し細胞質がくびれた細胞、ステージ・：細胞質が二つに分かれた細胞の 4 段階に分け、各ステージの細胞の割合を求めた。

通常培養において、ステージ II の細胞の割合は、培地交換後 3 日目、不動化 8 時間後の細胞で、9.0 \pm 2.8 % と最も高かったが、これは比較的低い割合であった。その後、培養条件を 22 \square または 25 \square で、明期 14 h、暗期 10 h の長日明暗周期 (明期: 8:00~22:00) に変更して同様の実験を行なった。その際、・ 条件変更後すぐに培地交換した細胞と、・ 変更した条件で一週間以上培養してから培地交換した細胞に分けて、各ステージの細胞分裂の頻度を求めた。その結果、22 \square ・ 条件で培養 4 日目、9 時間後に、ステージ・の割合が 11.0 \pm 3.7 %、また、25 \square ・ 条件で培養 4 日目、8 時間後に、ステージ・の割合が 13.5 \pm 4.1 % と比較的高かった。さらに、22 \square ・ 条件で培養 4 日目、9 時間後に、ステージ・の割合が 6.6 \pm 3.5 %、25 \square ・ 条件で培養 3 日目、9 時間後に、ステージ・の割合が 13.8 \pm 3.4 % と比較的高かった。しかしながら、今回の培養条件では、高頻度で分裂を誘導することができなかったことから、さらなる検討が必要である。

渦鞭毛藻 *Pyrocystis lunula* の同調培養条件と細胞微細構造

細胞生物学研究室 武田 紘希

渦鞭毛藻類 *Pyrocystis lunula* は、不動細胞と遊走細胞の形態が交代する生活環を持つ。遊走細胞が ecdysis によって不動化すると同時に、細胞表層部に存在する電子密度の高い物質を含む小胞(dv)の内容物が細胞外へ放出され、細胞壁の一部になること、また、新たな dv が ecdysis 後 2~3 時間の比較的短時間で多く合成されることが報告されている。しかし、その形成過程は明らかにされていないため、ecdysis 後 2~3 時間の細胞を観察する必要がある。しかし、本種の同調培養条件は確立されていない。そこで、本研究では、dv の形成過程を明らかにすることを目的として、効率的に目的の細胞を得るために、まず同調培養条件を検討した。

本研究では、*P. lunula* の生活環を 5 つのステージに分け、7:00~14:00 の間、1 時間ごとに各ステージの細胞数を計測した。通常培養として IMK 培地で、20□、明期 12 h (8:00~20:00)、暗期 12 h の中日条件で培養した。通常培養で、ステージ 2 (ecdysis 直後から三日月形の細胞質をもつ形態の段階) の細胞の割合が最も高かったのは、15:00~16:00 で 13.7% であった。次に同調実験として、滅菌自然海水、20□、中日条件で 2 週間以上培養後、IMK 培地に培地交換し、25□、明期 14 h (8:00~22:00)、暗期 10 h の長日条件で 7 日間培養し、毎日各ステージの細胞数を計測した。ステージ 2 の細胞の割合は、培地交換後 1 日目の 12:00~13:00 で平均 $27.1 \pm 3.7\%$ 、13:00~14:00 で平均 $27.4 \pm 3.6\%$ と比較的高かった。このため、本研究では、この培養条件を用いて実験を行なった。さらに、連続暗期で培養後、培地交換して通常培養に戻した結果、ステージ 5 (不動細胞中で遊走細胞が完成している段階) の細胞が、通常培養後 2 日目の 11:00~12:00 で 18.0% と比較的高い割合で存在した。本研究では形成途中の dv は観察できなかったが、ステージ 5 の細胞の割合が多いと ecdysis 直後から細胞を経時的に固定・観察できることから、今後、ステージ 5 の同調培養条件の検討も必要であると考えている。

桐見ダムが河川の生物に与える影響：植物プランクトンとタイワンシジミに着目して

理論生物学研究室 永田 悠斗

高知県高岡郡越知町を流れる仁淀川水系の坂折川の桐見ダムを対象として、2021 年 2 月から 12 月にかけて 1 ヶ月に 1 回の頻度で、ダムの上流域 2 地点と下流域 4 地点におけるタイワンシジミ (*Corbicula fluminea*) と植物プランクトンの調査を行なった。昨年度の卒業論文の同地点での調査結果も合わせて、ダムの上流域では植物プランクトン密度は $0.3 - 1.1 \text{ mg/m}^3$ だったのに対して、ダム湖の植物プランクトン密度は $1.5 - 14.1 \text{ mg/m}^3$ であり特に 4 月に高い値であった。ダム下流域における植物プランクトン密度は、ダムから離れるにつれて減少する傾向があった。タイワンシジミの密度については、 $5.3 - 416 \text{ 匹/m}^2$ であった。タイワンシジミは濾過食者として知られており、特に密度が高かったダム下流 0.8 km 地点のタイワンシジミの密度とダム湖の植物プランクトン密度の間には有意な相関がみられた。坂折川のダム下流域においてタイワンシジミの密度が高かったことから、ダム湖から流下する植物プランクトンがタイワンシジミの主要な餌資源となっており、その量が本種の密度を左右する大きな要因となっていると考えられる。

高知県産サワガニにおける肺吸虫の寄生状況

理論生物学研究室 尾原 あまね

宮崎肺吸虫は扁平動物のなかまである二生吸虫であり、第 1 中間宿主である巻貝から第 2 中間宿主であるサワガニ、そして終宿主である哺乳類へと宿主を変えながら生活する寄生生物である。宮崎肺吸虫は終宿主である哺乳類に寄生することで肺吸虫症という人獣共通感染症を引き起こす。サワガニの体内で肺吸虫は幼虫としての発育段階の一つであるメタセルカリアとして存在する。本研究では、高知県東部の室戸市から県西部の土佐清水市にかけてサワガニを採集し、サワガニの個体の特徴（体色、甲幅、および性別）および生息環境（水域もしくは陸域、および河川規模）と肺吸虫メタセルカリアの寄生率との関係について調べた。寄生率は調査地点によって大きく異なったが、県中部と県西部では寄生率が比較的高い調査地点が多かった。寄生率は、陸域よりも水域の方が有意に高かったが、サワガニ個体の特徴や河川規模との間に有意な関係はみられなかった。肺吸虫症の予防と対策にはサワガニに加え、第 1 中間宿主と終宿主の県内における分布と寄生率を今後の研究で明らかにする必要がある。

登山道における爬虫類の日光浴の時間帯と季節性

理論生物学研究室 吉川 咲菜

爬虫類は体温調節やビタミン合成のために、日当たりの良い場所で日光浴を行なう。本研究では、2021 年 3 月 4 日から 11 月 29 日にかけて、高知市の 2 つの丘陵地（南嶺と北山）の登山道において、日光浴をしている爬虫類を目撃確認法により調査した。爬虫類の出現頻度は、登山道を歩行する単位時間（1 時間）あたりに確認された個体数とした。確認された爬虫類は 8 種で、そのうちニホンカナヘビの出現頻度が最も高く、次いでニホントカゲ、その他（ヘビ類 6 種）の出現頻度は低かった。調査期間中、最初に確認された種（3 月 16 日）と最後まで確認された種（11 月 2 日）はいずれもニホンカナヘビであった。ニホントカゲの確認期間は 4 月 1 日から 10 月 18 日、ヘビ類は 3 月 16 日から 9 月 25 日であった。日光浴の時間帯については、調査期間を通して 10 時から 13 時までの間の出現頻度が高かった。日光浴をする時間帯は季節ごとに異なっており、最も出現頻度が高かったのは、春が 13 時台、夏が 12 時台、秋が 10 時台と、季節とともに早まる傾向がみられた。出現頻度は、北向き斜面より南向き斜面で高かった。

アカサング (*Corallium japonicum*) セリンラセマーゼの酵素機能解析

比較生化学研究室 湯川 さくら

アミノ酸にはL-体とD-体の鏡像異性体が存在するが、生体内にはD-アミノ酸は存在せず、L-アミノ酸のみが存在すると考えられていた。しかし、近年の研究により、生体内にもD-アミノ酸が存在し、様々な生理活性を持つことが明らかになってきた。また、L-アミノ酸とD-アミノ酸との間の異性化反応を可逆的に触媒するアミノ酸ラセマーゼによってD-アミノ酸が生合成されることも明らかとなっている。

本研究では、日本産の宝石サングであるアカサング (*Corallium japonicum*) に存在する3種類のセリンラセマーゼのホモログ遺伝子 (DN3451, DN3366, 及び DN37) の機能解析を行った。まず、3種類のセリンラセマーゼのホモログ遺伝子について大腸菌発現系を用いたリコンビナント酵素の作製を行った。作製されたリコンビナント酵素について、8種類のアミノ酸 (L-セリン, L-アスパラギン酸, L-スレオニン, L-アスパラギン, L-アラニン, L-グルタミン酸, L-グルタミン, 及び L-アルギニン) を基質としたラセマーゼ活性の測定を行った。DN3451, 及びDN3366はL-セリンへのラセマーゼ活性を示し、DN37はどのアミノ酸に対してもラセマーゼ活性を示さなかった。DN3451, 及びDN3366の10 mM L-セリンへの活性は0.141 $\mu\text{mols/mg/hr}$, 及び3.93 $\mu\text{mols/mg/hr}$ であった。DN3451, 及びDN3366のL-セリンを基質としたときの K_m 値はそれぞれ86.7 mM, 及び32.0 mM, k_{cat} 値はそれぞれ0.0953 s^{-1} , 及び0.0657 s^{-1} , また触媒効率 (k_{cat}/K_m) はそれぞれ0.00110 $\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}$, 及び0.00206 $\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ となった。これらの結果から、DN3451, 及び DN3366はセリンラセマーゼとしての酵素機能を持つことがわかった。

無脊椎動物に存在するアラニンラセマーゼ遺伝子の探索

比較生化学研究室 喜井 健裕

D型のアミノ酸の一種であるD-アラニンは二枚貝やカニ, エビなどの海産の無脊椎動物に高濃度で存在し、浸透圧調節物質としてはたらくことが知られている。また、D-アラニンが存在する複数の動物の生体から、アラニンラセマーゼ (AlaR) が精製され、D-アラニンが生合成されていることが報告されている。しかし、AlaR遺伝子は、節足動物のウシエビ (*Penaeus monodon*) からのみ報告されており、その他のD-アラニンをもつ動物からAlaR遺伝子の単離報告はなされていない。一方で、ウシエビのAlaRの相同配列(アラニンラセマーゼホモログ: AlaRH)は無脊椎動物の広範囲に分布しており、AlaRとして機能する可能性がある。本研究では、節足動物門十脚目のアメリカザリガニ(*Procambarus clarkii*), 節足動物門オキアミ目のナンキョクオキアミ(*Euphausia superba*), 鯉曳動物門のエラヒキムシ(*Priapulius caudatus*), 星口動物門のスジホシムシ(*Sipunculus nudus*), 環形動物門のゴカイ(*Arenicola marina*), 及び軟体動物のタイワンシジミ(*Corbicula fluminea*)に存在する計9種類のAlaRHについて、リコンビナント酵素を用いた機能解析を行った。

人工遺伝子合成によって得られたAlaR遺伝子を材料とし、大腸菌発現系を用いたリコンビナント酵素を作製した。その後、各種アミノ酸に対するラセマーゼ活性の確認を行った。その結果、アメリカザリガニ, ゴカイ, タイワンシジミとナンキョクオキアミのAlaRHはアラニンに対するラセマーゼ活性のみを示し、AlaRとして機能することが確認された。また、スジホシムシのAlaRHはアラニンに加えてセリンラセマーゼ活性も示した。今後は、可溶性のリコンビナントタンパク質が得られなかったAlaRHの発現条件の検討, 活性の見られたAlaRHについての詳細な酵素活性の測定を進めていく予定である。

哺乳類に存在するD-グルタミン酸合成酵素の探索

比較生化学研究室 湯口 勝也

L-アミノ酸とD-アミノ酸の異性化反応を可逆的に触媒する酵素であるアミノ酸ラセマーゼは、様々な生物から単離されている。哺乳類では、古くからセリンラセマーゼの存在が知られていた。さらに、2020年には、ラット (*Rattus norvegicus*) のL-serine dehydratase-like (SDHL) 遺伝子がグルタミン酸ラセマーゼ (GluR) 活性を持つことが報告され、哺乳類にGluRが存在することが明らかとなった。また、原核生物ではアミノ酸ラセマーゼの他にD-アミノ酸の合成可能な酵素として、D-アミノ酸アミノ基転移酵素 (DAT) が知られている。この酵素は既存のD-アミノ酸のアミノ基を転移することによって、新たなD-アミノ酸を合成する酵素である。

本研究では、マウス (*Mus musculus*) のGluR並びにDAT遺伝子の探索と、マウスSDHL遺伝子の酵素活性の確認を行った。GluR並びにDAT遺伝子の探索は、D-グルタミン酸要求性大腸菌株WM335を用いて行った。この大腸菌は、培地中にD-グルタミン酸が存在しないと生育することができない。WM335をマウスcDNAライブラリーにより形質転換し、D-グルタミン酸を含まない培地で培養することでGluRまたはDAT遺伝子のスクリーニングを行った。しかし、コロニー形成を確認できず、マウスGluR及びDAT遺伝子を単離することができなかった。

また、マウスからSDHL遺伝子を単離し、リコンビナント酵素発現系の構築と酵素活性測定を行った。しかし、マウスSDHL遺伝子にGluR活性を確認することができなかった。次に、マウスSDHL遺伝子を鋳型として、ラットSDHLのアミノ酸配列と同じになるように塩基置換を導入した。これによって得られたラットSDHLにおいても、GluR活性は確認できなかった。既報によると、ラットSDHLのGluR活性は、グラム陽性菌 (*Lactobacillus fermenti*) のGluRよりも大幅に低いとされている。本研究では、一般的なアミノ酸ラセマーゼの酵素活性測定条件でGluR活性の確認を行っており、マウス、及びラットSDHLのGluR活性が低い場合、生成物が検出できなかった可能性がある。今後は、マウス、及びラットSDHLのGluR活性の有無をより慎重に確認していく予定である。

珍渦虫*Xenoturbella bocki*のセリンラセマーゼホモログの機能解析

比較生化学研究室 三歩 泉汰郎

アミノ酸には鏡像異性体であるL-アミノ酸とD-アミノ酸の2種類が存在するが、生物はL-アミノ酸のみを選択的に利用していると考えられてきた。しかし、近年の研究によって多くの生物に遊離型D-アミノ酸が存在し、D-アミノ酸の合成酵素であるアミノ酸ラセマーゼが動物界に広範囲に分布していることが明らかになっている。現在、動物界で確認されているアミノ酸ラセマーゼとしては、セリンラセマーゼ (SerR) やアスパラギン酸ラセマーゼ (AspR) などがある。アミノ酸ラセマーゼは多くの動物門の生物から発見されているが、すべての動物に存在するかどうかはまだ明らかになっていない。

珍無腸動物門の生物からは、未だにアミノ酸ラセマーゼ遺伝子は単離されていないが、珍無腸動物門の珍渦虫属*Xenoturbella bocki*のゲノム中には2つのセリンラセマーゼホモログ (SerRH1及びSerRH2) 遺伝子が存在することが確認された。

本研究では、*Xenoturbella bocki*に存在する2つのセリンラセマーゼホモログ遺伝子のリコンビナント酵素を作製し、それらがアミノ酸ラセマーゼ活性を持つかどうかを確認する事を目的とした。

リコンビナント酵素による解析の結果、*Xenoturbella bocki*のSerRH1にはアミノ酸ラセマーゼ活性がなく、L-Serをピルビン酸に分解するセリンデヒドラターゼ活性を持つことがわかった。一方で、*Xenoturbella bocki*のSerRH2はL-Ser、及びL-Aspへのラセマーゼ活性を持つことが確認された。また、SerRH2のL-Ser、及びL-Aspへの触媒効率 (k_{cat}/K_m) は、それぞれ $0.00270 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ 、及び $0.230 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ となり、L-Aspに対する触媒効率がL-Serへの値の約100倍となった。このことから、*Xenoturbella bocki*のSerRH2はAspRとして機能すると考えられた。

宝石サンゴのRNA-Seq解析

比較生化学研究室 幸野 立奈

現在、日本近海では様々な種類のサンゴが見られ、中でも非造礁サンゴは美しい色を持ち宝石などに加工される種も存在している。特に色味に特徴があるシロサンゴ(*Pleurocorallium konojoi*)、アカサンゴ(*Corallium japonicum*)、モモイロサンゴ(*Pleurocorallium elatius*)は宝石サンゴとよばれ、アクセサリーなどに加工され高値で取引されることもある。本研究では、これらの宝石サンゴについてその色を発現している遺伝子の特定のための発現遺伝子データベースの構築を試みた。既に、日本近海で採取した3種の宝石サンゴのサンプルから次世代シーケンサーを利用しRNA-Seqが行われ、その配列データが存在した。このRNA-Seqによる配列データを対象に、図1のような流れで解析を行った。

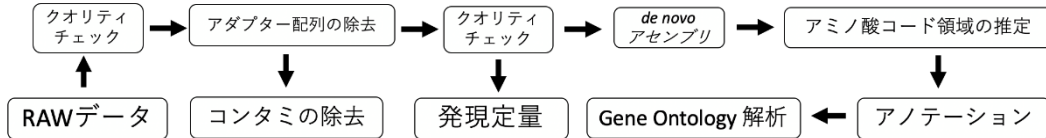


図1 解析の流れ

まず、解析対象のすべてのデータから、Trimmomatic によってアダプター配列を除去した。その後 de novo アセンブリを行い、全発現 cDNA 配列を得た。得られた cDNA 配列について、アミノ酸コード領域の推定、Blast 検索、アノテーションの順で処理を行った。これらによって、3 種の宝石サンゴのそれぞれから、93848~167819 の発現遺伝子データを得ることができた。また、RNA-Seq データには他の生物由来のコンタミネーション配列の存在が予想されたので、主に BBduk によるコンタミネーション配列の確認を行った。その結果、ゴカイなどの環形動物由来のコンタミネーション配列が確認されたので、その除去方法についても検討を行った。

静電容量センサーを用いた樹皮含水量測定法の開発

植物生態学研究室 高橋 宏誌

樹木や岩に固着して生育する着生植物は、地生植物に比べ利用可能な水分が限られている。着生植物の利用可能な水分環境の指標である樹皮の含水量 (water content, 以下 WC) は、相対湿度の時間・季節変動や降雨時の樹幹流などの影響を受ける。WC は、重量測定法により樹皮の湿重量 (FW, g) と乾燥重量 (DW, g) から求められる ($WC = [FW - DW] / DW$, g/g) が、この測定法では連続的な WC 測定・モニタリングは困難である。本研究では、静電容量センサーを用いた連続的な WC 測定法の開発を目的として、アカガシ (*Quercus aquata*) の樹皮 WC の測定実験を行った。静電容量センサーとは、電圧をかけて電磁界を形成し、測定物質の比誘電率を測定するセンサーである。比誘電率の指標として基準電圧 3 V に対する出力電圧 (V) を記録した。実験では、アカガシの樹皮が 24 時間降雨にさらされた後の乾燥過程を想定して、樹皮を 24 時間の浸水後、庫内温度 20℃、湿度 65% に設定したインキュベーター内に静置した。乾燥過程において、一定時間ごとにサンプルの湿重量と静電容量センサーの出力電圧を記録した。樹皮とセンサーの密着性を高めるため、約 2 cm 角の樹皮塊にセンサーを埋めて測定した。出力電圧は WC と非線形の関係性 ($WC = \exp(10.13 * V - 3.61)$) が認められた。出力電圧が 0.42 V 以下では高精度で樹皮含水量の推定が可能であったが、出力電圧が 0.42 V 以上では WC の推定誤差が大きかった。多くのサンプルでは、実験開始後 20 時間経過すると WC が 0.5 を下回り、樹皮の水分はほとんど失われた。このことから、24 時間の降雨から 1 日後には降雨前の WC の状態に戻ると考えられた。出力電圧 0.42 V 以上で WC の推定誤差が大きくなった要因として、個々の樹皮チップの WC のばらつきが静電容量の測定に影響したと考えられる。今後、出力電圧が 0.42 V 以上の場合に樹皮含水量を高精度で推定する方法の検討が必要である。

高知県産維管束植物の機能形質データベースの構築

植物生態学研究室 大槻 泰広

植物は、種によって生育に適した環境が異なるが、環境要求性が類似する種群（局所群集構成種）は、類似した生態学的機能形質（以下、機能形質）を有すると考えられている。群集の構造・動態の評価や保全対象種の選定には各種の機能形質の解明が重要で、国外では機能形質データベースの構築が進められている。一方、国内ではラウンケアの休眠型などの生活型が広く用いられており、機能形質情報の収集および生活型と機能形質の関係性についての知見は十分ではない。本研究の目的は、高知県産維管束植物の機能形質データベースを構築し、機能形質から求められる生活史戦略性と生活型の関係性を明らかにすることである。県内で採取した58科206種の植物標本をもとに比葉面積（SLA, mm²/mg）、葉乾物含有量（LDMC, mg/g）、葉面積（LA, mm²）等の機能形質を測定し、生活型（生育型、休眠型、地下器官型、散布器官型）情報を収集した。機能形質より生活史戦略性を推定した。一般化線形モデルと赤池情報量基準（AIC）による総当たり法で生活史（競争、耐ストレス、荒地）戦略性と生活型の関係性を解析した結果、相対的重要性は、競争戦略では草丈（1.00）、ロゼット型植物（0.99）、分枝型植物（0.98）、多年生半地中植物（0.89）の順で高かった。耐ストレス戦略では、分枝型植物（0.99）、越年草（0.98）、横走根茎の広がり大きい地下器官型（0.96）、叢生型植物（0.90）の順で高く、荒地戦略では草丈（1.00）、多年草（0.99）、越年草（0.99）、湿地性多年草（0.83）の順で高かった。解析で得られた予測値と実測値の当てはめを行った結果、予測誤差は競争戦略性が最も小さく、荒地戦略性が続いた。耐ストレス戦略性は最も予測誤差が大きかった。生活型から生活史戦略性を判断するには、さらなる機能形質データベースの蓄積と解析精度の向上が求められる。

高知県におけるニホンジカの日撃効率と生息密度の関係

植物生態学研究室 松永 健太

近年、ニホンジカ（以下、シカとする）による農林業や植生への影響が問題となっている。高知県でも生息が確認されている西部・東部地域を中心に被害が発生しており、これらの被害を未然に防ぐためにもシカの生息状況の把握が重要である。現在、高知県では専門家による糞粒調査で得られた糞粒密度をもとにシカ個体数密度のモニタリングを行っている。しかし、この調査は予算の都合上平成27年度以降断続的な実施にとどまっており、経年的な変化の把握が課題とされてきた。シカ個体密度を推測する方法の一つに、単位努力量あたりの日撃効率（Sighting per unit effort, SPUE）がある。SPUEは、捕獲の際に目撃された個体数を、その捕獲に参加した人数で割ることで算出される。高知県では毎年、登録を行った狩猟者から出猟情報（出猟カレンダー）を収集しているが、SPUEと個体数密度の関係について十分な検討は行われていない。本研究の目的は、令和2年度に得られた出猟カレンダーの情報を用いてSPUEを算出し、令和元年度の糞粒調査で得られた個体数密度指標との関係性を明らかにすることである。SPUEの5 kmメッシュ分布は、シカの個体数が多いとされる県西部と東部で高い値を示した。SPUEと個体数密度指標について、Kendallの順位相関係数は有意であったが、SPUEが低いにも関わらず個体数密度が高い地域、またSPUEが高いにも関わらず個体数密度が低い地域も認められた。これらSPUEと個体数密度のいずれかの値が0のデータを除いて、対数正規モデルで回帰を行った結果、SPUEが2を上回る地域では個体数密度が高い傾向があった。SPUEが低いにも関わらず個体数密度が多い地域、SPUEが高いにも関わらず個体数密度が低い地域が認められた要因として、出猟カレンダーの回収率が低いことによるデータの信頼性の低さ、シカの個体数増加パターンに対するシカ密度推定精度の低さが影響していると考えられる。

高知市における社寺叢の現状と保全に関する生態学的研究

植物生態学研究室 谷山 拓未

西南日本の低地域における潜在的な森林植生は、常緑広葉樹林（照葉樹林）である。しかし、人間の生活圏とも重なるため、原生状態に近いまとまった照葉樹林（照葉原生林）は極めて少なく、大部分は九州南部や琉球列島に偏在する。それ以外の地域では、自然性の高い照葉樹林（照葉自然林）が社寺叢などとして局所的に分布するにすぎない。本研究では、高知市の社寺叢を対象に植生調査を行い、現状を把握するとともに、今後の保全策を検討した。高知市には社叢・寺叢が119箇所（社叢101、寺叢18）ある。社寺叢の多くは、高知市北部の四国山地に連なる丘陵地の山麓・鏡川流域と、南部の鷲尾山や五台山などからなる丘陵地（南部丘陵地）山麓に分布する。照葉樹が優勢な社寺叢（照葉社寺叢）が大半を占める。社寺叢の面積を見ると、2ha未満のものが6割を占める（最大で17ha）。照葉社寺叢の林冠高、林冠木胸高直径、林冠木密度の平均値はそれぞれ、15.4 m、74.8 cm、7.1本/100m²であった。これらは、宮崎県綾町の照葉原生・自然林での測定値をやや下回る。照葉社寺叢の多くは、墓地・参道の造成、植栽・伐採など、人間による干渉が認められ、干渉がない社寺叢は3割に満たなかった。日本の照葉原生・自然林の群落分類に基づく各群集の種組成と、照葉樹社寺叢のそれを比較した結果、ミミズバイ-スダジイ群集、ルリミノキ-イチイガシ群集、アラカシ-ナンテン群集の下位単位にあたる、いくつかの亜・変群集に対比可能な、組成的にまとまりがある、自然性が高い社寺叢が見出された。また、照葉社寺叢の中には、環境省/高知県のRDB掲載種、分布地理上、重要と考えられる種も十数種、認められた。照葉社寺叢とその樹木の一部は、高知市の特別自然保護区や保存樹木・樹林、天然記念物に指定・保護されている。他方、特に南部丘陵地の照葉社寺叢は元々、孤立した丘陵地に分布する上、隣接する照葉二次林、スギ・ヒノキ人工林、竹林などにより分断化されていることが多い。社寺叢面積の確保、林縁・林床の整備、侵入種の除去など、社寺叢の積極的な維持管理を

北アルプス南部、上高地西方における過去約3千年間の植生変遷

植物生態学研究室 小田 訓匡

北アルプス南部の主稜線上にある、西穂池（標高約2,353 m）で採取された堆積物試料（全長210 cm）の花粉分析を行った。西穂の池のほか、その近隣（きぬがさの池・田代池）で得られた花粉化石・大型植物化石データと、堆積物の層相変化、地すべり・斜面崩壊などの履歴をもとに、上高地西方における過去約3千年間の植生変遷を調べた。いずれの堆積盆でも、カバノキ属花粉が優勢で、モミ属、トウヒ属、コメツガ型などの亜高山帯常緑針葉樹花粉を伴う花粉組成を示す。大型植物化石の産状から、カバノキ属花粉は主にダケカンバ、トウヒ属花粉はトウヒに対比される。ただし、きぬがさの池では約1.7~1.5千年前と3.0~1.6百年前に、西穂の池では約1.1千~6.3百年前に、亜高山帯常緑針葉樹花粉が急減し、カバノキ属花粉が急増した。花粉堆積モデルによる計算結果から、花粉化石が反映する植生の復元範囲は、西穂池で主稜線部を主とする亜高山帯上部、田代池で亜高山帯下部であり、きぬがさの池のそれは、西穂池と田代池の復元範囲を包む、亜高山帯全域であると推定された。この花粉分析データから推定できる植生変遷は以下の通りである。上高地西方の亜高山帯全域では、約3千年前以降、モミ属、トウヒ、コメツガなどを主体とし、ダケカンバなどを混生する亜高山帯常緑針葉樹林が広く分布した。ただし、亜高山帯全域では約1.7~1.5千年前と3.0~1.6百年前に、そのうち亜高山帯上部では約1.1千~6.3百年前に、常緑針葉樹林からダケカンバ林への植生変化が認められた。西穂の池ときぬがさの池は山地斜面を流れる善六沢や玄文沢の源頭にあたり、両沢の上部は山地岩盤の重力変形を主因とする線状凹地や低崖群が発達する。その地すべり・斜面崩壊跡地や山麓の沖積錐では、現在もダケカンバの分布密度が高い。植生変化期の一部が既知の地すべり・斜面崩壊の生起年代と整合的であることも踏まえると、地すべり・斜面崩壊などの地表変動が先駆種であるダケカンバの増加をもたらしたことで、さらに、植生変化が起きた範囲は過去に生じた地すべり・斜面崩壊の範囲

布地付着花粉の走査型電子顕微鏡観察のための前処理法の検討 植物生態学研究室 碓井 みどり

衣類に付着した花粉が犯罪の証拠物件の一つとして容疑者の供述の裏付けや犯罪現場の推定などに活用されることがある。しかし、証拠物件の法花粉学的検査のための基礎研究は少ない。本研究では、市街地に逸出・野生化したオシロイバナの花に綿布地試料を擦り付け、布地に付着した花粉の外形や表面彫紋を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察するための前処理法を比較検討した。前処理法の検討にあたっては、古生態学分野で従来から行われている方法 (アルカリ処理→アセトリシス処理→酸化オスミウム固定→金属被覆) をコントロールとして、金属被覆法とイオン液体法を考慮した。実験に用いたイオン液体は 3 種類である ([Ch][Lac], [BMI][BF₄], [MPP][TFSI])。オシロイバナ花粉は外形が球状で、表面彫紋は発芽口、微穿孔、微小刺の 3 つで構成される。花粉外壁の間隙にはポーレンコートが存在する。従来法では、アセトリシス処理による膨潤効果で、他の前処理法よりも粒径は 20~30% も大きくなるが、発芽口、微穿孔および微小刺の観察結果は良好であった。金属被覆法と、粘性が高いイオン液体 ([Ch][Lac]) 法では特に、発芽口と微穿孔の直径が他の前処理法よりも小さくなった。親水性が低くエタノール希釈を施したイオン液体 ([MPP][TFSI]) 法では、両者の直径は従来法とほぼ同じであった。これらの結果は、ポーレンコートの除去効果や粘性の高さに起因すると推定できる。微小刺の高さや基部直径に対する前処理法の効果は相対的に小さかった。イオン液体法ではいずれも、試料ドリフトや表面彫紋の破壊に備え、倍率、加速電圧、ビーム電流などの微調整を必要とした。法花粉学的検査では、検査法が簡便で迅速であること、検査試料の再現性があることが大切である。イオン液体 ([MPP][TFSI]) はやや高価であるが、毒劇物に指定されておらず扱いやすい。布地試料の浸潤時間は数分程度で、SEM 観察結果は良好である。観察後、試料を他の検査に供することも可能なことから、現段階ではこの方法が前処理法として最適であると判断した。

タマキガイ科二枚貝 5 種の殻成長特性と緯度勾配

古生物学研究室 竹中 隆紀

タマキガイ (*Glycymeris*) 属は、フネガイ目タマキガイ科に属する二枚貝で、亜寒帯から熱帯まで世界規模で分布し、日本近海でも現在 18 種類が生息している。本属に関する研究は分類、古環境の復元など多岐に渡って行われてきたが、複数種間の殻成長について比較し、成長に見られる種ごとの関係性を検討した研究例はない。そこで、日本近海で異なる気候帯に分布し、系統的に近縁な *Glycymeris* 属 5 種 (亜寒帯種エゾタマキガイ、温帯種ベンケイガイ・タマキガイ、亜熱帯種トドロキガイ、熱帯種ソメワケグリ) を選び酸素同位体比分析や成長曲線を用いて、殻成長の調査・比較を行った。現生ソメワケグリの酸素同位体比分析を行った結果、ソメワケグリの殻表に見られる成長輪は冬の低水温期に形成された年輪 (冬輪) であることが今回初めて明らかになった。このことから 5 種全てが年輪形成に季節性を持つことが判明した。さらに 5 種の年輪形成時期を比較したところ、北半球高緯度海域に分布するエゾタマキガイ、低緯度域に分布するソメワケグリ、中緯度域やその付近に分布する他の 3 種で異なり、年輪形成時期には緯度による違いが認められた。

5 種の殻成長パタンの違いを評価するために Bertalanffy 成長曲線を作成し、比較を行った結果、全体として初期の速い成長と後期の遅い成長の 2 段階からなる成長パターンが共通し、初期成長速度が大きい種ほど急激に速度が鈍化する傾向が見られた。また、殻成長パターンは初期成長速度と推定最大到達殻高の関係により 3 グループに分類された。温帯種では、初期成長速度が大きく、体長もより大型になるが、冷帯・熱帯種では速度が小さく、体長もより小型となる。さらに、亜熱帯種では速度が大きいが、体長はより小型になるといった中間的な特性を示した。これらのことから殻成長パターンにおいて温帯域を起点とし、南北方向に沿った緯度勾配が見られることが分かった。これらの緯度勾配は、それぞれの種で各分布海域の水温をはじめとした環境要因に最適化した結果が殻成長特性に現れたためと考えられる。

イタヤガイ科二枚貝ツキヒガイの酸素同位体プロフィールと殻成長
古生物学研究室 福家 直幸

ツキヒガイ *Ylistrum japonicum* はイタヤガイ科に属し、国内では本州中部以南、主に鹿児島県の東シナ海及び鹿児島湾の水深20~30m細砂泥底に分布する(上水, 2004)。また、殻は大きく平滑で左殻は濃い赤色をしており、殻表面には同心円状成長線がみられる(Mynhardt *et al.*, 2014)。イタヤガイ科の微細殻成長に関する研究は数多く報告されている。一方、本種については性腺分析による生活史や成長パタンの復元(Son *et al.*, 1996)に限定されている。そこで本研究では酸素同位体分析により季節的な成長パタンを分析した。本研究では土佐湾で採取された3個体(KSG-nf-001,-002,-003)を用いた。

KSG-nf-001は浚渫物から得た標本であり、自然風化により表面上の成長線が明瞭であったため、この成長線を本種の微細成長線と仮定してKSG-nf-001を中心に本研究を行った。現生個体であるKSG-nf-002とKSG-nf-003については、研究室の未公表酸素同位体データを利用してKSG-nf-001との比較を行った。その結果、KSG-nf-001の酸素同位体比($\delta^{18}O$ 値)は、-1.54‰~1.00‰の範囲で変動していた。この値は、堀部・大場(1972)の方解石結晶の温度スケールに基づく13~24℃に当たる。土佐湾水深50mの水温は15℃~26℃の範囲である(広田・市川, 2012)ことから、KSG-nf-001個体は水深50mないし、これよりやや深い場所に生息していたことが推定される。

季節的な変動に注目すると、酸素同位体比($\delta^{18}O$ 値)が小さな高水温期に成長量が鈍化し、酸素同位体比が大きな低水温期に成長量が増加していた。しかし、最高水温に達する前に成長量の変動が停滞していた。KSG-nf-002, KSG-nf-003と比較してみると、2個体ともKSG-nf-001と同様であった。このことから、本種は冬から春先にかけて成長量が増加し、春季にピークを迎え、夏季に成長量が減少する季節的成長パタンを持つと考えられる。また、KSG-nf-001は死ぬまでに冬, 春, 夏の季節が1回ずつであったため、KSG-nf-001の寿命は1年ないし1年以内であったと推定できる。このことから、性腺分析で復元された、本種は短命で1年目の成長速度が速いという結論は今回の酸素同位体分析の結果からも裏付けられた。

現生および化石トドロキガイの色彩パタン

古生物学研究室 山田 恵



タマキガイ科のトドロキガイ(*Glycymeris fulgurata*)は日本南岸から中国南部沿岸に分布する亜熱帯性の二枚貝で、粗いジグザグの色彩パタンが本種の特徴とされる。紫外線蛍光反応を利用することにより、本種の化石個体でも色彩パタンが復元できることは知られているが、現生個体群との異同、その他詳細は不明のままである。そこで本研究では、高知県土佐清水市の桜浜で採集された現生トドロキガイの殻144個を通常撮影、高知県安田町の鮮新統穴内層から産出した化石トドロキガイの殻93個をUV撮影し、鮮新世個体群と現生個体群の間で色彩パタンに違いがあるかどうかを検討した。

その結果、模様の形状から、現生と化石それぞれの色彩パタンをギザ短タイプ、ギザ長タイプ、直線短タイプ、直線長タイプ、不規則タイプ、全体ベタ塗りタイプ、白色タイプ、中央ベタ塗りタイプの8類型に分けることができた。また現生と化石の色彩パタンの種類はある程度共通しているということが分かった。しかし化石の不規則タイプでは、現生ではみられないような、三角形や四角形といったパタンや、かなり太い模様をもつ個体があった。そのためこれを完全不規則タイプとし、それ以外の不規則タイプを不完全不規則タイプとした。現生と化石それぞれにおいて色彩パタンの割合を調べたところ、化石と比較して現生では全体ベタ塗りタイプと不規則タイプが減少し、ギザタイプが増加していることが分かった。特に不規則タイプは化石と比較して現生では著しく個体数が減少しており、完全不規則タイプは現生では全くみられなかった。不規則タイプは鮮新世から現在にかけての変化が最も大きい色彩パタンであるといえる。

また殻を切断して断面を通常撮影したところ、殻表面の色素が殻内部にある程度浸透していることが分かった。一方で殻断面をUV撮影したところ、蛍光反応はほぼみられなかった。このことから、化石で蛍光反応を示すのは、殻表面の色素のみであるといえる。

愛知県南知多町岩屋南露頭における中新統山海累層の深海成泥岩に見られる生痕化石
古生物学研究室 佐藤 晃

愛知県知多半島に分布する中新統師崎層群^{やまみ}山海累層は、複数の厚層砂岩を挟み、泥質岩を主体とする深海堆積物である。そのうちY4と呼ばれる凝灰質極厚層砂岩は、大型のサバ類やシンカイコシオリエビ類など多様な動物化石を大量に産出する。この動物化石群は、ハダカイワシ類の体側の発光器まで保存されるなど、きわめて保存の良いことが大きな特徴である。

本研究では、このY4が胚胎する深海性化石群を精査するために「愛知に自然史博物館を!協議会」が2021年10月21日から24日にかけて行った発掘調査の一環として、Y4の堆積場を知るための基礎データとして、その直下の泥岩から産出する生痕化石について観察した。そして、岩石カッターを用いて岩石試料の層理面に垂直な切断面を作成した後、カーボランダムで研磨して肉眼および描画装置のついた双眼実体顕微鏡を用いて観察した。

その結果、*Arenicolites*, *Palaeophycus*, *Phycosiphon*, *Skolithos*そして*Thalassinoides*の5種類の生痕化石ならびに不定形の生物攪拌構造が観察された。*Arenicolites*はU字状の管状構造からなる生痕で、埋込動物の居住痕と考えられる。*Phycosiphon*は、強くカーブする巣穴化石で、その充填物は濃色細粒堆積物の周囲を淡色粗粒堆積物が覆うことが特徴である。この生痕化石は堆積物食者の摂食痕と考えられる。*Palaeophycus*は泥質堆積物で裏打ちされた円筒状のトンネル構造で埋込動物の居住痕と考えられる。*Skolithos*は層理に垂直な巣穴化石で埋込動物の居住痕とされる。*Thalassinoides*は分岐したトンネル状の生痕化石でスナモグリ類や長尾類など十脚目甲殻類の居住痕である。

古第三系室戸半島層群に産する *Tosalorbis hanzawai* の古生態学的研究
古生物学研究室 桑原 一

高知県室戸半島に分布する古第三系室戸層および奈半利川層のタービダイト性深海堆積物には、*Tosalorbis hanzawai* と呼ばれる、層理面に対して平行から高角で斜交して産する、表面に横肋の発達した円筒状構造が産する。この *T. hanzawai* は、当初、横肋が体節を表すものと考えられ、環形動物の体化石として記載された。その後、現在まで、この考え方が主流となっている。本研究では、*T. hanzawai* の古生態学的特性を明らかにするため、まずは露頭観察において形態や産状ならびに産出層準の観察を行った。

室戸層ならびに奈半利川層は、厚層砂岩と泥岩卓越の砂岩泥岩互層から成る。後者は泥質の葉理を含む細粒砂岩（層厚 2–12 cm）と葉理の発達した泥岩（層厚 5–80 cm）からなる。砂岩にはカレントリップル、トラフ型斜交層理が発達しており、コンボリュート構造も見られる。調査層準における *T. hanzawai* は、一般に砂岩泥岩互層の砂岩の底面に見られ、円筒構造の直径は 4–10 mm で直線状もしくは緩やかに湾曲している。その表面の横肋は、1 mm 未満の間隔で並んでいるのが特徴である。

室戸半島層群深海堆積物は、チャンネル-レビーシステムで形成されたことがわかっている。そのうち、*T. hanzawai* の産出層準は、その岩相の特徴から同システムのチャンネルから溢れ出た混濁流がレビーで堆積したものと考えられる。また、*T. hanzawai* の形態学的特徴や産状は、それが体化石ではなく、生痕化石であることを示唆する。今後、化石試料を採取して詳しく解析する予定である。

絨毛虫コルポータ休眠シストの凍結耐性

動物生理学研究室 宮脇 達郎

土壌性絨毛虫のコルポータ (*Colpoda cucullus*) の乾燥シストが超低温耐性を有することは既に知られている。これは細にほとんど水を含まないため、氷の結晶が生じないことが低温耐性の原因であると考えられている。本研究では、同種の湿シストも超低温耐性 (-65°C) を有し、シスト誘導して2日後には耐性が獲得されることがわかった。2週間齢の湿シストは細胞内に多量の水分を含んでいることから (その浸透濃度は 0.05 Osm/L)、低温による不凍のしくみは、乾燥シストとは異なると考えられる。

-65°C にシストを置いたとき、まず細胞外液の凍結が始まる。このとき、細胞内から水が流出し、細胞内浸透濃度は 0.55 Osm/L にまで上昇するが、これによる凝固点の降下は約 1°C であった。この結果から、凝固点降下によるシスト細胞内液の不凍は説明できない。そこで、凍結を抑制する可能性がある多糖類がシスト誘導後に蓄積するかどうかを調べるため、PAS 染色を行った。シスト誘導1日以降の細胞は、PAS 染色により赤く染まった。この結果から、休眠シスト細胞内に蓄積する多糖類が超低温耐性に関与している可能性が示唆された。

正露丸クイック C の寄生虫アニサキス殺虫効果について

動物生理学研究室 青木 敏人

胃や腸の激痛を伴うアニサキス食中毒は、線虫のアニサキスが寄生した魚の刺身などを食べることにより発症する。現在まで、アニサキスを殺す駆虫薬は存在しなかったが、正露丸 (オリジナル) がアニサキス殺虫作用を有することが、2021年に松岡らによって確認された。さらに、正露丸がアニサキス食中毒による胃の激痛を和らげることも報告されている。しかし、正露丸は水の中に静置しただけでは溶解しにくいいため、胃の中で完全に溶けない可能性もある。そこで、本研究では、数分で溶ける「正露丸クイック C」のアニサキス殺虫効果を検証した。この結果、通常服用量 (1粒/15 mL) で1時間処理した場合、虫体の運動を停止させ、61.7%の個体がペプシン (24時間処理) により分解された。通常服用量の「正露丸 (オリジナル)」 (1粒/10 mL) で1時間処理した場合、虫体の運動を停止させ、62.5%の個体がペプシン (24時間処理) により分解された。また、通常服用量の正露丸 (1粒/10 mL) で30分、1日、2日処理し、トリパンブルーで染色すると、それぞれ29.1%、87.5%、100%が染色された。

繊毛虫ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) における SDS-PAGE サンプル調整法の改善

動物生理学研究室 小松 華歩

電気泳動法は、生体高分子を分子量の大きさに基づいて分離・分析する実験手法である。SDS-PAGE は電気泳動法の 1 つであり、現在最も使用されているのは、Laemmli 法である。原生生物繊毛虫ゾウリムシをサンプルとし、Laemmli 法に従って SDS-PAGE を行ったところ、タンパク質の検出量が少なかった。一方で、同じ原生生物繊毛虫であるテトラヒメナをサンプルとして SDS-PAGE を行ったところ、低分子から高分子まで幅広い分子量のタンパク質が多く検出された。このことから、実験操作や検出方法に問題はないと考えられた。また、過去の文献において、ゾウリムシでも幅広い分子量のタンパク質が検出されていることから、サンプル作製においてタンパク質がきちんと抽出されていないと考えられた。

そこで本研究では、ゾウリムシに含まれる全てのタンパク質が抽出されるよう、サンプル調整方法を改善することを目的として、洗浄および濃縮方法、RIPA Buffer の有無、加熱変性処理、低分子物質の有無の 4 点について検討を行った。その結果、まず、洗浄・濃縮方法は遠心より細胞にダメージが少ないフィルターで行う方が良いことが分かった。そして、RIPA Buffer は使用しない方が多くのタンパク質が検出された。加熱変性処理は、70°C、90°C、100°C で比較した結果、100°C で 3 分～10 分処理したときに最も良い結果が得られた。また、低分子物質を取り除くと幅広い分子量のタンパク質が検出された。

これらの結果より、現時点では、ゾウリムシの SDS-PAGE 用サンプル作製法として、フィルターを用いて洗浄し、限外濾過フィルターを用いて低分子物質を除去し、加熱変性処理を 100°C で 3 分～10 分で行うのが最善と考えられる。

原生生物における有性生殖の多様性に基づく系統樹作成の試み

動物生理学研究室 山本 桃花

生物が種を存続させるためには生殖が不可欠である。生殖方法は、無性生殖だけを行うものや環境変化に応じて有性生殖を行うものなど、種によって様々である。有性生殖を行う種では、交配できないもの同士は別種と見なされ、それらの生物には生殖行動の差が認められる。有性生殖の起源は原生生物にあると考えられている。近年、原生生物の高次分類体系が整理され、スーパーグループという階層システムが、真核生物の分類を理解する上で有用であるとして普及してきた。しかし、その系統関係は依然として議論の対象となっている。

そこで本研究では、原生生物における「有性生殖の多様性」に着目し、分類体系を議論する際の要素としての重要性を評価した。また、有性生殖の多様性や進化的側面から系統樹の作成を試み、既に報告されている原生生物の系統樹と比較し、類似点や相違点について考察を行った。

始めに、有性生殖が観察されている原生生物の分類群を用いて有性生殖の定義づけを行った。すると、「接合」は「体細胞接合」、「配偶子嚢接合」、「配偶子接合」の 3 つに大別できた。次に、有性生殖様式の進化仮説をもとに、原生生物の主要なグループの有性生殖様式を分類し、それをもとにグループの系統関係の構築を試みた。作成した系統樹を既に報告されているものと比較検討した結果、本研究で着目した「有性生殖の多様性」という要素が今後の分類体系に組み込まれることで、より正確な原生生物の系統関係が明らかになる可能性が示唆された。「有性生殖の多様性」は、今後、真核生物の分類体系を議論する上で重要な要素の一つになると期待できる。