

2023 年度

修士論文・卒業論文 発表会要旨集

2024 年 2 月 14 日（水）～2 月 16 日（金）

共通教育棟 210 番教室

高知大学大学院 総合人間自然科学研究科 理工学専攻 生物科学コース

高知大学理工学部 生物科学科

表会プログラム

第1日目 2月14日(水)

開会の挨拶(学科長) 8:55 - 9:00

【 修士論文 】 発表 15 分(13 分に予鈴あり), 質疑応答 5 分

横井 瞳 ウミガメ類 3 種における孵卵温度が孵化及び幼体の運動と代謝に与える影響 9:00 - 9:20

山口 永晏 高知海岸における砂浜・沿岸環境の特徴とアカウミガメの産卵成功に影響する環境要因の解明 9:20 - 9:40

若松 園子 高知海岸におけるアカウミガメの孵化幼体の性比 9:40 - 10:00

平野 晴真 四国太平洋岸に來遊するアオウミガメ個体群の血液生化学的分析 10:00 - 10:20

< 休憩 > 10:20 - 10:35

南 耕太郎 横倉山粘菌フロラ 10:35 - 10:55

尾原 あまね 上八川川と吉原川に生息するサワガニにおける肺吸虫の寄生率 10:55 - 11:15

濱岡 藍 モクズガニ科カニ類の眼下線の機能—アシハラガニの摩擦行動— 11:15 - 12:35

三歩 泉汰郎 植物におけるアスパラギン酸ラセマーゼの進化と機能 11:35 - 11:55

< 昼休み > 11:55 - 13:00

永田 悠斗 巨大細胞性黄緑藻フシナシミドロの先端成長部位における細胞微細構造 13:00 - 13:20

山崎 龍 渦鞭毛藻 *Gymnodinium pyrenoidosum* における表層微小管の配列と微小管重合阻害剤の効果 13:20 - 13:40

武田 紘希 渦鞭毛藻 *Pyrocystis lumula* の細胞微細構造と同調培養条件 13:40 - 14:00

小松 華歩 原生生物絨毛虫テトラヒメナの接合におけるアセチルコリンの関与について 14:00 - 14:20

< 休憩 > 14:20 - 14:35

碓井 みどり 衣服資料の法花粉学的検査に向けた布地付着花粉の SEM 観察のための前処理法の検討 14:35 - 14:55

大槻 泰広 植物群落の構造と機能的形質に関する研究 14:55 - 15:15

高橋 宏誌 維管束着生植物の生育基盤としてのアカガシの樹皮の含水特性に関する研究 15:15 - 15:35

佐口 敬大 褐藻ワカメ・ヒロメの屋外タンク養殖に向けた培養方法の検討 15:35 - 15:55

< 休憩 > 15:55 - 16:10

深瀬 雄大	日本産ヤガラ属アカヤガラの分類学的研究	16:10 - 16:30
岡村 恭平	高知県におけるイドミミズハゼ種群の分布・生息状況および形態的・遺伝的特徴	16:30 - 16:50
誓山 泰地	日本産タチウオ科魚類の分類学的研究	16:50 - 17:10
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	17:10 - 17:30

※発表者の交代を速やかに行うため、次の発表者は次回発表者席に早めに座ってください。

第2日目 2月15日(木)

【卒業論文】発表10分(9分に予鈴あり), 質疑応答2分

< 理論生物学研究室 >

田中 奏羽	高知市北山におけるトカゲ類の日光浴と逃避に関する行動	9:00	-	9:12
城野 愛奈	展示飼育下ブチハイエナの常同行動に影響を与える要因	9:12	-	9:24
村上 留奈	土佐湾のホエールウォッチングにおける鯨類の出現に影響を与える要因	9:24	-	9:36

< 休憩 > 9:36 - 9:50

< 植物分類学研究室 >

加納 幹	クマムシ類の種多様性とコケ植物との関係, 横倉山(高知県越知町)における研究事例	9:50	-	10:02
松田 舞子	青源寺庭園(高知県佐川町)におけるウマスギゴケとハイゴケの分布特性について	10:02	-	10:14
谷口 亜美	スウェーデンと日本に共通するオオスギゴケ(スギゴケ科, コケ植物)における雄苞葉の形態比較	10:14	-	10:26

< 休憩 > 10:26 - 10:40

< 海洋動物学研究室 >

池田 ひなた	ウミガメ胚の心拍数と温度条件の関係	10:40	-	10:52
久保 桃花	ウミガメ雌個体における同一繁殖シーズンの産卵回による卵や孵化幼体の違い	10:52	-	11:04

< 海洋植物学研究室 >

久保 かのん	淡水産アオノリの生活史と塩分が成長に及ぼす影響	11:04	-	11:16
湯浅 凜	タンク養殖に向けたマコンブの培養条件の検討	11:16	-	11:28

< 昼休み > 11:28 - 13:00

< 細胞生物学研究室 >

河添 太一	緑藻バロニアのレンズ状細胞形成過程の経時観察	13:00	-	13:12
Neo Sau Jin Brian	緑藻バロニアのレンズ状細胞の形成途上の隔壁の微細構造	13:12	-	13:24
林 隆斗	緑藻バロニアのレンズ状細胞形成後期における表層微小管の動態	13:24	-	13:36
東 大智	緑藻バロニアのレンズ状細胞形成に対する微小管阻害剤の影響	13:36	-	13:48

< 休憩 > 13:48 - 14:00

藤上 虎太郎	渦鞭毛藻 <i>Symbiodinium</i> sp. の分裂を誘導する最適な培養条件の検討	14:00	-	14:12
橋 慶人	渦鞭毛藻 <i>Symbiodinium</i> sp. の不動細胞の細胞微細構造について	14:12	-	14:24
小山 滯	渦鞭毛藻 <i>Gymnodinium pyrenoidosum</i> の分裂細胞の細胞微細構造	14:24	-	14:36

< 休憩 > 14:36 - 14:50

< 古生物学研究室 >

陣野原 寛之 スナガニ類巣穴の機能解明に向けた巣穴内行動観察法の開発 14:50 - 15:02

< 分子古生物学研究室 >

垣本 聖尚 ポリスチレン人工ナノ粒子による底生有孔虫 *Ammonia veneta* への影響 15:02 - 15:14

三浦 功暉 有孔虫の殻形成関連遺伝子・Ca²⁺膜輸送体の発現量と温度の関係 15:14 - 15:26

久木田 健悟 浮遊性有孔虫における共生渦鞭毛藻遺伝子型構成の夏季冬季間の比較 15:26 - 15:38

第3日目 2月16日(金)

【卒業論文】発表10分(9分に予鈴あり), 質疑応答2分

< 動物生理学研究室 >

松崎 こなみ	原生生物繊毛虫テトラヒメナと肉質虫アメーバに対するマイクロプラスチックの影響について	9:00	-	9:12
中村 咲良	原生生物繊毛虫ステルキエラの培養法の確立をめざして	9:12	-	9:24
高木 元斗	原生生物繊毛虫コルポーダの増殖シストにおける大核の動態について	9:24	-	9:36
廣瀬 公亮	原生生物繊毛虫コルポーダの休眠シスト形成時における集合性について	9:36	-	9:48
松岡 千佳	原生生物繊毛虫コルポーダにおける幼若シストの構造的機能的評価	9:48	-	10:00

< 休憩 > 10:00 - 10:15

< 植物生態学研究室 >

大山 秀太	ニホンジカにより衰退した林床植生の復元に関する研究	10:15	-	10:27
田淵 啓真	高知県物部川・仁淀川における植物群落構成種の生態的特性と立地環境	10:27	-	10:39
松原 有輝	高知県の常緑広葉樹林における維管束着生植物 12 種の着生高度と光環境	10:39	-	10:51
山田 菜月	高知市朝倉のごみステーションにおけるカラスの食い荒らしに関する研究	10:51	-	11:03

< 休憩 > 11:03 - 11:20

< 比較生化学研究室 >

桑田 聖菜	植物における D-アミノ酸アミノ基転移酵素の機能と分布	11:20	-	11:32
沼 直樹	海綿動物に存在するアミノ酸ラセマーゼの酵素機能	11:32	-	11:44

< 昼休み > 11:44 - 13:30

< 海洋生物学研究室 >

小崎 翔馬	日本産フウリュウウオ属魚類の分類学的研究	13:30	-	13:42
澤入 圭吾	日本産ウラナイカジカ属魚類の分類学的研究	13:42	-	13:54
時田 晟希	ヒシマトウダイ属魚類の分類学的研究	13:54	-	14:06
松本 恭也	マトウダイ属魚類の分類学的研究	14:06	-	14:18

閉会の挨拶(学科長) 14:18 - 14:23

< 集合写真撮影 > 14:23~

発表会場内で撮影を行います。教室の後方中央に速やかに集合してください。

判定会議

ウミガメ類 3 種における孵卵温度が孵化及び幼体の運動と代謝に与える影響

生物科学コース 海洋動物学研究室 横井 瞳

ウミガメ類はいずれも国際的に保全の必要性が叫ばれ、自然孵化の見込めない産卵地では卵の移植や人為的管理等が行われている。脱出直後のウミガメ孵化幼体はフレンジーと呼ばれる運動活性の著しく高い状態を呈する。これは、幼体が高い運動性を発揮して捕食者の多い沿岸域を速やかに離れるための重要な習性と考えられている。運動性を含むウミガメ幼体の表現型は、温度など孵卵条件の影響を受けることが知られ、初期の生残率に関わる。よってウミガメ卵の管理方法を含む保全を推進するためには、幼体の表現型に孵卵温度が与える影響について理解する必要があるが、それらの知見は未だに乏しい。本研究は日本で産卵するアカウミガメ、アオウミガメ及びタイマイについて、孵卵温度が孵化率や体サイズ、泳力等に及ぼす影響を比較し、各種にとって最適な孵卵温度について考察した。

2022–2023 年に高知海岸で産卵したアカウミガメ卵 4 巣、2018–2023 年に沖縄美ら海水族館で繁殖したアオウミガメの卵 6 巣とタイマイの卵 15 巣を、いずれも 24 時間以内に高知大学の実験施設へ輸送した。孵卵温度を低温 ($\leq 28.5^{\circ}\text{C}$)、中温 ($28.5^{\circ}\text{C} <, \leq 30.5^{\circ}\text{C}$)、高温 ($30.5^{\circ}\text{C} <$) に区分し、各巣の卵を各一定温に設定した孵卵器に分けて孵卵した。孵化を確認した日の 5 日後に、体サイズの測定、平均泳力、採血を行い、簡易キットを用いて血中グルコース・乳酸濃度の測定を行った。さらに、採取した血液を保存し、後日測定キットを用いて血中コルチコステロン濃度の測定を行った。

アカウミガメでは高温孵卵の時に最も高い孵化率を記録し、アオウミガメとタイマイでは中温孵卵の時が最も高い結果となった。直甲長はアカウミガメでは中・高温孵卵、アオウミガメとタイマイでは低温孵卵の時に大きい傾向がみられた。平均泳力は、アカウミガメで低温孵卵より中温・高温孵卵が有意に大きくなった。アオウミガメで中温・高温孵卵が大きい傾向がみられた。タイマイでは高温孵卵が低温・中温孵卵より有意に大きい結果となった。血中成分の動態は、種ごとに異なる傾向がみられた。

以上の結果から、各種で比較的高い孵化率を示した孵卵温度は、種による産卵場所の選好性の違いと関係していると考えられ、すなわちアカウミガメが砂浜の開けた場所に産卵するのに対し、アオウミガメは砂浜奥部の植生帯際の深部、タイマイは植生帯内に産卵するという傾向と一致する。さらに、それら温度帯での泳力及びエネルギーは、アカウミガメ及びアオウミガメでは高く、タイマイでは比較的低いものの、アカウミガメ、アオウミガメの幼体がそれぞれ北太平洋中東部や外洋に広域分散し、タイマイの幼体が近海に滞留するという、現在想定されている幼体の分散の知見と対応しているように考えられる。

近年、河川からの砂の供給量の減少や沿岸漂砂系の変化によって砂浜の侵食が進行していることに伴い、ウミガメの産卵に適した環境が失われつつある。本研究では、高知海岸においてアカウミガメの産卵生態と砂浜環境、沿岸環境の関連を調べた。高知海岸を環境ごとに区分けし、各区の中央1地点において航空測量、粒度測定、暗度測定等を実施した。そして、2015–2023年の上陸産卵痕跡調査の結果から算出した上陸密度（件数・区画の長さ⁻¹）、産卵密度（件数・区画の長さ⁻¹）、産卵成功率（産卵件数・上陸件数⁻¹×100）と比較した。さらに、一般化線形モデルを用いて上陸産卵生態に影響を与える環境因子の特定を試みた。航空測量では、レベルを用いた砂浜測量を行うとともに、大潮の日中と夜間にドローンを用いて砂浜の航空写真を撮影し、画像解析ソフトを用いて後浜（満潮線から最奥部まで）の面積を定量化した。さらに、航空写真と同時に取得された赤外線画像から後浜最奥部の表面温度（°C）も記録した。粒度測定は後浜最奥部において、地表から深さ50 cmまでの砂を採取し、ふるいにかけて粒度ごとに乾重量を測定し、中央粒径（ μm ）を算出した。暗度測定は満月と新月の夜間にスカイクオリティメータを用いて行い、満潮線上における暗度（ $\text{mags} \cdot \text{arcsec}^{-2}$ ）を水平方向0–360°、鉛直方向0–30°の範囲で測定した。

その結果、上陸は全ての区画で概ね均等に行われていることが分かった。一方、産卵密度と産卵成功率は河口周辺の区画ほど高く、河口から離れた区画ほど低い傾向がみられた。また、河口から離れるにしたがって後浜の面積は減少し、砂の粒径は大きくなる傾向がみられた。夜間における後浜最奥部の表面温度は区画間で差はみられなかったが、日中と夜間の温度差に着目すると後浜の面積が大きいほど、温度差のばらつきが小さい傾向がみられた。暗度は河口から最も離れた区画が、河口付近の区画に比べて明るいことが分かった。さらに、モデリングの結果から暗度が高いほど上陸密度が高くなること、後浜の面積が大きく、砂の粒径が細かいほど産卵成功率が高いことが分かった。暗度が低い区画は人工光に照らされていたため、人工光は産卵個体に対して上陸の段階で影響を与えていると考えられる。河口付近は砂の供給が豊富であることから砂浜が発達し、構成する砂の粒径も小さくなることで産卵成功率が向上していると考えられる。さらに、発達した砂浜は日中と夜間で表面温度のばらつきが小さいため、砂中温も安定化し、高波の達しない範囲には植生帯も形成されるなど、産卵だけではなく孵卵にも多大な恩恵をもたらすと考えられる。

絶滅危惧種であるウミガメ類の性比に関する情報は、個体群の構造を把握して次世代の個体数を推定し、その保全を考える上で重要である。しかし日本では各地の砂浜におけるウミガメの性比は報告されていない。本研究では国際自然保護連合レッドリスト (IUCN red list) で絶滅危惧種 (VU, vulnerable) に指定されるアカウミガメ (*Caretta caretta*) の四国最大規模の産卵地である高知海岸において孵化幼体の性比を内視鏡による生殖線の直接観察と生殖線組織切片の観察の 2 つの方法により性判別を行なった。さらに、本種における孵卵温度と性比 (雌の割合) の関係を求め、高知海岸に産卵するアカウミガメ個体群の年間性比を推定した。

2022–2023 年のアカウミガメの産卵期の毎早朝に、高知海岸の新居、仁ノ、甲殿、戸原、長浜の 5 区画を調査地として産卵巣を探索した。発見した卵を研究室に持ち帰って孵卵を行ない、同時に孵卵温度を記録した。また同じ区画の砂中温度データを取得し、性を推定するための資料とした。2 年間で 19 巣 (129 個体) の性判別を行ない、雄 48 個体、雌 81 個体であることを確認し、この結果と実測した孵卵温度からロジスティクス曲線を作成した。その結果、性比が 1 : 1 になる臨界温度 (T_{piv}) は 29.1°C、孵化個体が雌雄混合する範囲 (TRT) が 25.1–33.2°C と算出された。また 2 年間の性比は 0.65 であった。

以上の結果から、高知海岸は世界の事例に対して雄の産生が比較的多い砂浜であると考えられるが、2022 年の性比は 0.80、23 年のそれは 0.57 と各年で極端に変化していた。23 年は台風の接近に伴う風雨によって産卵巣が冷却され、雄が多く産生されたと考えられる。気候変動による気温上昇は雌を偏重して産生する機会の増加をもたらすものの、同時に異常気象が多発すればその影響によって雄を生み出す環境に容易に変わりうると考えられる。本種の保全の在り方を検討するために、今後も高知海岸の砂中温度と性比のモニタリングを続け、長期的なデータを集積することが重要である。

黒潮流域に面する四国太平洋岸では漁業が盛んで数多くの定置網が設置されており、毎年相当数のウミガメ類が入網することが知られているが、その実態は定かではない。また、ウミガメ類の繁殖生理の把握を目的とした情報は、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いない。本研究では、四国太平洋岸に來遊するアオウミガメ個体群の性、サイズ、成長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。

2022年4月から2023年9月にかけて高知県室戸市の定置網に入網したアオウミガメ *Chelonia mydas* を調査対象とした（アオウミガメの亜種クロウミガメ *C. mydas aggassizii* 2個体を含む）。アオウミガメの入網は調査を開始してまもない6月にピークを迎えた。その後、8-3月にかけて減少し、4月に再び増加し、翌年も6月にピークを迎えた。これらの來遊時期を気象庁の区分に従って春（3-5月）、夏（6-8月）、秋（9-11月）、冬（12-2月）に分類し、また、外部形態（rTL値＝尾長／直甲長）による性別判別を試みるとともに、性が不明な個体に関しては血中テストステロン濃度を参考として性を判別した。各個体の成長段階は、幼体（甲長65cm未満）、亜成体（甲長65-85cm未満）、成体（甲長85cm以上）に分類した。

本調査では全143個体の入網が確認され、直甲長〔平均値 ± 標準偏差（最小値-最大値）〕は、 62.2 ± 19.9 cm（36.8-99.5 cm）であった。外部形態からオスと判別できた個体の血中テストステロン濃度の最低値203.4 pg/mL以上をオスとし、同様にメスと識別できた個体の最高値88.7 pg/mL以下をメスとした結果、全116個体のうち、成体はオス14個体、メス10個体、亜成体はオス6個体、メス24個体、不明1個体、幼体はオス14個体、メス45個体、不明2個体であり、全体の7割をメスが占め、性比の偏りが確認された。

血液生化学的分析の結果、成体では全ての項目で季節性は確認できなかった。亜成体では、ナトリウム（Na）が夏に高値となる季節性が確認された。幼体では総タンパク質（TP）、アルブミン（Alb）、ALP、カリウム（K）、カルシウム（Ca）、血糖（Glu）が春から夏にかけて高値となり、季節性が確認された。この結果から、本種幼体は春から夏に多くの、または良質な餌を利用し、個体の栄養状態がより良好であることが示唆された。同時期に入網個体が増加することからも、春から夏にかけて多くのアオウミガメ幼体が四国太平洋沿岸を採餌場として利用し、成長していると推察された。

また、近年注目されているフィブロパピロマ症と呼ばれる疾患を持った個体が観察された。これは、直径1-30 cmほどの腫瘍が鼠けい部、首や目の回り、口腔内、および内臓などにみられる症状で、全海洋から確認されているが、有病率は地域によって異なる。本調査地では約10%の個体にフィブロパピロマ症が確認され、血液生化学的分析では罹患個体の栄養状態の評価に繋がる項目の低下がみられた。

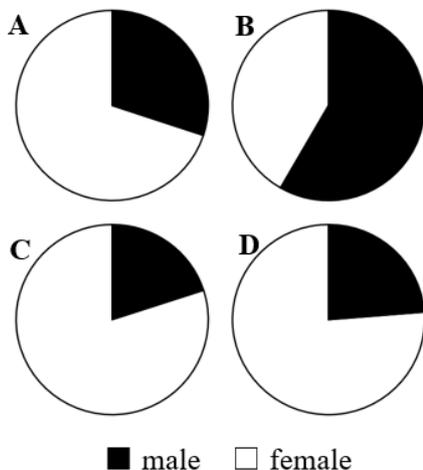


図1. アオウミガメ個体群のサイズ別性別比
(A: 全個体, B: 成体, C: 亜成体, D: 幼体)



図2. フィブロパピロマ症に罹患した個体

粘菌は、生活環の中で子実体をつくるアメーバの総称で、変形体は単細胞でありながら多核で、約 1mm の子実体から散布される約 10 μ m の孢子から始まるライフサイクルを持ち、孢子からは粘菌アメーバが発芽し、接合をくり返して変形体へと発達していくものである。粘菌の分布は、湿潤な環境を好み、主に気温の影響を大きく受け、種によっては特定の微小生息場所に対する嗜好性を示すことが知られている。日本における粘菌のフロラは、全体の取りまとめが山本 (2021) によってなされたほか、各県ごとの調査報告があり、高知県では、山本 (1981, 1983, 1984, 1986, 1987) によりそのフロラが解明されつつある。一方で、県内では動物、植物のフロラ研究が進んでいる地域として知られる横倉山において、これまで粘菌フロラが包括的にまとめられていなかった。そこで、本研究では、横倉山のアカガシ林、スギ林、モミ林、アカマツ林、クヌギ林の 5 つの異なる植生を対象に、粘菌の生息状況を調査し、その多様性を明らかにすることを目的とし、野外調査および湿室培養法による粘菌の収集と同定を行った。

その結果、9 目 12 科 26 属 117 分類群が確認され、112 種 (14 の変種を含む) の粘菌に同定された。これらのうち、日本新産の種である *Hemitrichia pseudoleiocarpa* が確認された。本種は、*Arcyria leiocarpa* (ラセンウツボホコリ) に類似しているが、細網体の螺旋紋が粗く、直径約 8-10 μ m の孢子表面構造が密な疣型であることで判別できる。淡黄土色を呈し、群生して発生していた。本種に対して、アラツナウツボホコリの和名を提唱する。

フロラにおける各科の出現では、ケホコリ科、モジホコリ科、スミホコリ科、カタホコリ科、アミホコリ科が各植生から採取され、これらのうち、ケホコリ科は各植生で 7 点以上が採取された。各植生における粘菌フロラの特徴を標本の割合からみると、アカガシ林では 71 種が確認され、すべての科で 35% 以上の標本が採集され、かつ最も標本が採取された植生であった。また、各異なる植生で種多様性を比較したところ、最も高い種多様性 ($H' = 3.70$) と均等度 ($J' = 0.79$) が示された。一方、アカマツ林では 10 種のみが確認され、最も低い種多様性 ($H' = 2.15$) と均等度 ($J' = 0.46$) が示された。これらの結果から、横倉山のアカガシ林は豊かな粘菌フロラを有していることが示唆される。

本研究によって、はじめて横倉山における粘菌のフロラが解明され、その多様性と生息状況に関する包括的な情報が提供された。



図. *Hemitrichia pseudoleiocarpa* 子実体写真
単子嚢体型。群生または散生。有軸。高さ 2 mm
伸長して 5 mm まで。子嚢は円筒形から壺球形。

宮崎肺吸虫は扁形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。終宿主である哺乳類がサワガニを食べることで宮崎肺吸虫は終宿主に寄生し、肺吸虫症という人獣共通感染症を引き起こす。サワガニにおける肺吸虫の寄生率に影響を与える要因の解明は肺吸虫症の予防と対策の基礎として重要であるが、ほとんどわかっていない。本研究では、高知県を流れる仁淀川水系の上八川川と鏡川水系の吉原川でサワガニを採集し、サワガニの個体の特徴（体色、甲幅、および性別）、個体密度、調査地点の周辺環境（河川規模と土地利用）、および季節と宮崎肺吸虫寄生率の関係について調べた。吉原川の最上流域において肺吸虫寄生率が特に高い支流が存在し（49.2–60%）、下流に行くほど寄生率が低くなる傾向がみられた。河川規模が小さくサワガニの個体密度が高いほど寄生率は高くなった。サワガニの個体の特徴については、体色と甲幅が肺吸虫寄生率に有意な影響を与えていた。サワガニは3つの体色型（青系統BL型、暗色系統DA型、赤系統RE型）に分かれるが、RE型における肺吸虫寄生率がBL型と比べて低かった。体色が変異する理由はこれまでのところ明らかになっていないが、体色型によって食性や色素の化学的な作用に違いがあることが、体色型によって寄生率の差異を引き起こす要因となっている可能性が示唆された。

モクズガニ科 Varunidae のカニ類の多くの属では眼下線 (suborbital crest) が発達しており、甲の前面から側面にかけての眼窩下縁に顆粒が並んでいる。眼下線の顆粒列を摩擦部 (pars stridens)、鉗脚の長節の隆起部を弦部 (plectrum) として、鉗脚を動かして眼下線にこすりつける摩擦行動 (stridulatory behavior) によって摩擦発音 (stridulation) が起きることが推測されているが、行動の観察事例はわずかしかない。特にアシハラガニ属 *Helice* では、アシハラガニ *H. tridens* が摩擦行動を行い発音することが図鑑の記述で知られており、眼下線の顆粒数や形状から近縁な 4 種が識別されているが、実際にその行動を観察した研究例はない。

本研究では、アシハラガニを須崎市桜川河口のヨシ原から採集し、室内観察から 1) アシハラガニが摩擦行動を行うかどうか、2) 摩擦行動の頻度に雌雄差や観察条件による差があるかどうか、3) 摩擦行動が発音を伴うかどうかを検証した。観察では深さ 2 cm の湿った砂泥を敷いた水槽 (36 cm × 22 cm × 26 cm H) にて、2 個体のアシハラガニの行動を 20 分間記録した。観察は 2022 年 8 月の繁殖期の終期と 2023 年 5–6 月の繁殖期の盛期に行った。2 個体は雄雄 (同性)、雌雌 (同性)、雄雌 (異性) の組み合わせで、同性内の観察に用いた個体は異性間の観察にも使用した。摩擦行動の頻度が雌雄で異なるかどうかを同性内および異性間の観察結果を用いて U 検定により検定した。摩擦行動の頻度が同性内と異性間で異なるかどうかを、雌雄それぞれ Wilcoxon の符号付順位検定により検定した。2023 年には、既往の研究例で本種の社会行動として知られている鉗脚を用いた押し合いや歩脚を用いた接触行動についても記録した。

観察の結果、アシハラガニが雌雄ともに摩擦行動を行うことが明らかになった。摩擦行動は多くの場合、片方の鉗脚を後方に引き付け、鉗脚の長節内側にある弦部と眼下線の摩擦部とが接触するように、眼下線に沿って鉗脚を前方へ動かすような行動であった。1 つのバウト中にこの動作を 1 回行うことが 7 割近くあったが、複数回繰り返すバウトも認められた。繁殖期盛期には、摩擦行動は 20 分間に雄の同性間の観察で 10.2 例、雌の同性の観察で 13.5 例のバウトが観察され、雌雄で頻度の有意な差は認められなかった。異性間では同性内よりも有意に頻度が低下し、雄で 7.2 例、雌で 8.4 例であった。繁殖期終期では同性間の摩擦行動の頻度が繁殖期盛期よりも有意に低下した。個体が摩擦行動を行ったあとに他個体が摩擦行動を行った事例は 3 割程度あったが、他の社会行動はほとんど観察されなかった。集音のために個別にアシハラガニを観察したところ、摩擦行動に伴ってかすかに、しかし明らかに発音していることが認められた。

本研究から、アシハラガニが摩擦行動を行い発音もしていることが明らかになった。モクズガニ科では、マングローブに生息する *Metaplex crenulata* に続き 2 例目の確認となる。摩擦行動は雌雄ともに観察され、雌雄間よりも同性内で頻度が高かったことから、繁殖に関する求愛行動ではないことが示唆された。2 個体が摩擦行動を交互に行うこともあったことから、何らかのコミュニケーションに使用していると考えられる。

近年の研究により、D-アミノ酸が生体内に存在し、様々な生理機能を持つことが明らかとなってきた。また、L-アミノ酸と D-アミノ酸の異性化反応を触媒するアミノ酸ラセマーゼが植物に広く分布していることも知られている。特に、真正双子葉類ではキク類のトマト (*Solanum lycopersicum*)、バラ類のキャッサバ (*Manihot esculenta*)、及びタルウマゴヤシ (*Medicago polymorpha*) において、セリンラセマーゼ (SerR) とアスパラギン酸ラセマーゼ (AspR) の両遺伝子が存在することが報告されている。また、これらの植物の AspR 遺伝子はそれぞれの系統で独立に SerR 遺伝子が重複した後、150-152 位のアミノ酸残基がセリン残基に置換することで、AspR 遺伝子へと進化したと考えられている。本研究では、これら以外の植物においても、SerR 遺伝子から AspR 遺伝子への進化が起こっているのかどうかを確かめることを目的とした。まず、GenBank のデータベースを利用し、植物に存在する SerR のホモログ (SerRH) 遺伝子を探索した。その結果、真正双子葉類のキク類に属するヒマワリ (*Helianthus annuus*) とパチヨリ (*Pogostemon cablin*)、バラ類のアサ (*Cannabis sativa*) とミヤマハタザオ (*Arabidopsis lyrata*)、さらに、基部被子植物のモクレン類に属するコショウ (*Piper nigrum*) には 2 種類以上の SerRH 遺伝子が存在しており、うち 1 つは 150-152 位のアミノ酸残基から判断して AspR として機能すると推測された。

そこで、これらの SerRH 遺伝子をクローニングし、リコンビナント酵素の作製とその機能解析を行った。その結果、SerR 活性を持つと推測された、ヒマワリ SerRH1、パチヨリ SerRH1、ミヤマハタザオ SerRH1、及びコショウ SerRH1 は予想通り、SerR 活性が確認された。しかし、SerR 活性を持つと推測されたアサ SerRH1 については、SerR 活性を確認する事ができなかった。また、AspR 活性を持つと推測された、パチヨリ SerRH2、及びミヤマハタザオ SerRH2 はリコンビナント酵素が不溶化したため酵素活性の確認ができなかったが、ヒマワリ SerRH2、アサ SerRH2、及びコショウ SerRH2 では予想通り、AspR 活性が確認された。これらのことから、ミヤマハタザオ、及びパチヨリでは SerR の存在のみが、アサでは AspR の存在のみが確認された。また、ヒマワリ、及びコショウでは SerR、及び AspR の両者の存在が確認された。

酵素機能解析結果に加え、アミノ酸配列を用いた分子系統樹の比較と遺伝子構造の比較から、AspR が存在するアサ、そして、SerR、及び AspR の両者が存在するヒマワリとコショウでは、それぞれの系統で独立して SerR 遺伝子が重複した後、150-152 位にセリン残基を獲得し、SerR 遺伝子から AspR 遺伝子への進化が起こったと考えられた。これにより、現生被子植物では SerR 遺伝子の重複と 150-152 位へのセリン残基の導入による AspR への進化が、少なくとも 6 回独立して起こったことが確認された。また、リコンビナント酵素が不溶化したミヤマハタザオ SerRH2 についても、150-152 位にセリン残基が存在することから、AspR として機能していると推測された。しかし、ミヤマハタザオの 2 種類の SerRH 遺伝子は遺伝子重複ではなく、選択的スプライシングにより、2 種類の異なる転写産物として生じていることが分かった。このことから、植物に存在する AspR 遺伝子は遺伝子重複や選択的スプライシングによって、複数回、独立して獲得されてきた可能性が示された。

巨大細胞性黄緑藻フシナシミドロの先端成長部位における細胞微細構造

生物科学コース 細胞生物学研究室 永田 悠斗

植物、菌類、藻類などの細胞壁を持つ生物では先端成長という局所的な細胞成長様式が知られている。先端成長では円筒形の細胞の一端で新たな細胞表面が形成され細胞が成長するが、花粉管、菌糸、根毛など様々な細胞で広く観察される現象であり、細胞成長の制御機構に関する研究が進められている。

巨大細胞性藻類は栄養組織が大きさ数ミリの仕切りのない多核の原形質を持つ細胞からなる藻類であり、細胞成長の観察や実験に適した生物である。巨大細胞性藻類にも先端成長を行う種が数多く知られており、中でも黄緑藻フシナシミドロでは細胞成長における細胞壁の役割が明らかになっている。また、当研究室では同藻の先端成長部位の細胞内微細構造の観察が試みられており、その中で、人為産物の少ない急速凍結置換法が成功した4つの異なる細胞の超薄切片を透過型電子顕微鏡により観察した画像が撮影・記録されている。本研究ではこれらの画像の内、3個の細胞における縦断面の画像、および1個の細胞における横断面の画像の合計83枚の画像を詳細に観察することにより、フシナシミドロの先端成長を支える細胞内構造の特徴の解明を試みた。

最先端部の中央付近の領域には大きさや内容の形態が様々な小胞が存在する一般に透明帯と呼ばれる構造が観察された。透明帯の周辺にはゴルジ装置を伴うミトコンドリアが多く存在した。透明帯よりも基部側は、これらの構造に加えて、葉緑体とともに、内容の電子密度が低い、分岐して互いに連絡する小胞様構造（本研究では「分岐小胞」と呼ぶ）が複雑に入り組んだものが多く観察され、核も存在した。液胞は先端からおおよそ20 μm あまり後ろから基部側の細胞の円筒形部分の中心の大部分を占めており、葉緑体と分岐小胞は細胞表層近くから液胞の周囲まで分布していた。

細胞の多くの部分で細胞壁の内側に電子密度の高い「裏打ち構造」が観察された。この構造は多くの部分で幅の狭い構造であったが、先端部では部分的に細胞質側に最大で500 nm程度まで膨らんでおり、その内容は複雑な膜構造を含んでいた。化学固定法により作成された試料を用いた先行研究により、細胞壁物質を供給する開口分泌を示すとされていた小胞と原形質膜の融合は本研究では観察されなかった。また、本研究で観察された縦断面の超薄切片において、細胞壁の幅としてその厚さを測定した結果、最先端部から円筒形部に至る細胞先端から経線に沿って基部方向に109 μm までの範囲では、細胞壁の厚さは22.0~82.7 nmの範囲内であった。また、最先端部、中間部、円筒形部の間で細胞壁の厚さに測定結果に明瞭な差はなかった。

渦鞭毛藻類の遊走細胞の細胞外被は、複雑な膜構造および複数の束になった表層微小管から構成される。無殻渦鞭毛藻類では、それらの構造の中でも特に表層微小管が、細胞の形態の維持や決定に大きく関与していると考えられている。しかし、その表層微小管を観察するために適した条件や役割、機能は明らかにされていない。また、微小管重合阻害剤の効果の有無やその影響についても明らかになっていない。本研究では *Gymnodinium* 属の一種 *Gymnodinium pyrenoidosum* を用い、遊走細胞と不動細胞の表層微小管の配列とその観察に必要な条件および微小管重合阻害剤の効果の有無を明らかにすることを目的とし、表層微小管の観察のための様々な処理条件を検討し、間接蛍光抗体法を用いて蛍光顕微鏡での観察を行った。

本種の表層微小管を間接蛍光抗体法で観察するためには、抗体を細胞の中に入れる必要がある。特に細胞壁を有する不動細胞において、細胞壁を一部破壊する必要がある。そのために本研究では、遊走細胞と不動細胞をそれぞれ固定した後に超音波処理を行った。細胞の形態が保持され、かつ表層微小管の観察が可能な条件を設定するために、各種の超音波処理条件を検討した。その結果、全体の細胞数に対して表層微小管を観察できた細胞の割合が最も多かった条件から、遊走細胞では強さ 20 で 3 秒間の条件、不動細胞では強さ 40 で 3 秒間の条件が適切であった。また、本種の遊走細胞も不動細胞も表層微小管はそれぞれ頭頂部（上錐側）、後頂部（下錐側）に向かって細胞長軸方向にほぼ平行に多数配列していた。また、横溝の部分においても細胞長軸方向にほぼ平行に配列しており、上錐および下錐に接している横溝の縁の部分では、その縁に沿って横向きに微小管が配列していた。また、腹側には横溝から下錐にかけて縦鞭毛が位置している縦溝と呼ばれる部分が存在し、その縁に沿って微小管が配列していたが、溝の領域では束になった微小管が観察された。また、細胞の長軸方向に伸びている微小管の本数は少なくとも 30 本以上存在することが明らかになった。不動細胞の表層微小管の配列は遊走細胞の配列と大きく異なる部分はなく、ほぼ同じ配列であり、遊走細胞における各部分の表層微小管の配列は常に維持されていると考えられた。さらに、表層微小管に対する微小管重合阻害剤アミプロフォスメチル (APM) の効果については、10 μM の濃度では、表層微小管に大きな変化はなかったが、20 μM の濃度では、APM 処理後 1~3 日間で表層微小管が破壊された細胞が出現した。処理後 2 日目が最も効果が大きく、9 割以上の細胞の表層微小管の観察ができない、または細胞が変形、破壊されていた。処理後 3 日目は、ほとんどの細胞が変形、破壊されているため、過度に APM が作用していると考えられ、20 μM の濃度で 2 日間の処理が APM を作用させるには適切であり、本種の表層微小管に APM の効果はあるということが明らかになった。

渦鞭毛藻類ピロキスティス属の *Pyrocystis lunula* は、三日月形の細胞壁と H 型の原形質を持つ不動細胞(栄養細胞)と遊走細胞のステージ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、不動細胞の細胞壁の一部になることが明らかになっている。そして、dv は ecdysis 後 2~3 時間の短時間の中でその数が急激に増加することから、この時期に盛んに合成されていることが示唆されているが、その形成過程や合成位置等は明らかにされていない。そのため、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た。形成途中の dv を観察するためには、ecdysis 直後から 1~2 時間程度の細胞を観察する必要があるが、本種と同調培養条件は確立されていないため、まず本種と同調培養条件を複数検討し、超薄切片法を用いて透過型電子顕微鏡で観察した。

本研究では、*P. lunula* の生活環を 5 つのステージに分け、9 つの条件で培養した細胞を、7:00~14:00 の間、1 時間ごとに各ステージの細胞の割合を計測し、本研究で用いる ecdysis 直後にあたる Stage2 と栄養細胞中に新しい遊走細胞が形成され、放出される前の状態である Stage5 の細胞の同調率を求めた。また、検討した全ての培養条件で、前処理として、滅菌自然海水(栄養塩無し)、温度 20°C、中日条件で 2 週間以上培養した。その結果、Stage2 の細胞の割合は、前処理の後、栄養強化海水で培地交換し、25°C、明期 14 時間(8:00~22:00)、暗期 10 時間(22:00~8:00)の明暗周期で培養する条件(条件 4)において、培地交換後 1 日目の 11:00~14:00 に 20.2~27.2%と比較的高い同調率が得られた。20°C、22°Cでの培養と同調率に大きな差が見られたこと、連続暗期を用いた培養条件で Stage5 の細胞の割合が増加したことから、本種と同調培養には温度条件、光条件が重要な要素になっていると考えられる。

また、高い同調率が得られた上記の条件によって培養した細胞を固定し、超薄切片法を用いて Stage2 の細胞微細構造を観察した。その結果、形成途中であると断定することが可能な dv を観察することはできなかった。しかしながら、完成した dv に存在している層状の構造が見られない、または形成途中の可能性のある dv を観察することができたため、dv が持つ層状構造は徐々に形成されていくと考えられた。

原生生物絨毛虫は、1つの細胞内に大核と小核という2つの核を持つ。大核は、代謝などの細胞の生存に関わる機能を司り、小核は、生殖や遺伝情報の子孫への受け渡しを司る。絨毛虫は、富栄養下ではバクテリアなどの餌を捕食して分裂による無性生殖を繰り返して増殖する。一方で、性的に成熟した個体が貧栄養下におかれ飢餓状態に晒されると、接合型の異なる細胞が融合して小核を交換することで異なる遺伝情報を持つ個体を作る有性生殖を行う。特に、絨毛虫における有性生殖を「接合」と呼ぶ。絨毛虫に属するテトラヒメナ (*Tetrahymena thermophila*) の接合においては、細胞間の相互作用に関わる細胞外因子が存在すると言われている。近年、非神経性細胞において、高等生物における神経伝達物質として知られているアセチルコリン (ACh) が細胞間の情報伝達の機能を担っていることが明らかになってきた。テトラヒメナにおいても ACh 分解酵素の活性が確認されており、ACh が生命活動に関与している可能性がある。そこで本研究では、テトラヒメナの接合対形成時の細胞間相互作用における ACh の関与について明らかにすることを目的とした。

ゾウリムシを用いた先行研究に倣い、テトラヒメナを飢餓状態において接合対形成を誘導し、コリン作動系に関与する様々な物質を加えて接合対形成率を評価することで、接合対形成に対する ACh の影響について検討を行った。接合誘導時に ACh の類似物質であるカルバミルコリン (1 mM) や、ACh 分解酵素阻害剤であるタクリン (10 μ M) を加えたところ、時間経過に伴う接合対形成率が有意に上昇した。一方、ACh 分解酵素であるアセチルコリンエステラーゼ (50 unit/ml) やムスカリン性受容体阻害剤であるアトロピン (1~10 μ M) を加えたところ、接合対形成率が有意に低下した。接合誘導時に、細胞外液中の ACh が増加するよう処理した場合には接合対形成率が上昇し、逆に ACh が減少するよう処理した場合には接合対形成率が低下したことから、ACh は細胞外因子としてテトラヒメナの接合対形成に関与している可能性が示唆された。また、ACh 受容体阻害剤を用いた実験より、飢餓状態のテトラヒメナから遊離した ACh は、ムスカリン性 ACh 受容体への結合を介して接合対形成を促進すると考えられた。今後は、コリン作動系に関連する分子の探索、ACh がムスカリン性 ACh 受容体に結合した後に活性化する細胞内シグナル伝達系について解明する必要がある。

Western blotting により ACh 合成酵素 (ChAT) の発現解析を行ったところ、いくつかの ChAT の分子量に該当するバンドが検出されたことから、テトラヒメナにおいて ChAT が発現している可能性が示唆された。今後は、コリン作動系に関連する分子の発現や局在などを、未熟個体と成熟個体、あるいは栄養状態と飢餓状態の個体を比較し、テトラヒメナの接合と ACh の関係性を明らかにする必要がある。

飢餓状態のテトラヒメナの外液中における ACh 量を測定したが検出されなかった。その理由として、外液中の ACh 量が定量下限を下回っていたことが考えられる。今後、より多くの細胞を準備して ACh 量を測定することが必要である。

本研究では、テトラヒメナの接合過程において、ACh が細胞外因子として関与することを明らかにした。今後は、接合以外の細胞機能における ACh のはたらきや、他の絨毛虫の接合における ACh の関与や他の神経伝達物質の関与について検討する必要がある。

衣服資料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法や検査データの解釈のための基礎研究は少ない。本研究では、衣服資料を活用することを想定し、布地付着花粉の外形や表面の模様（彫紋）を走査型電子顕微鏡（SEM）で観察するための前処理法について検討した。実験には、市街地で植栽され、あるいは逸出・野生化して、接触すると衣服に付着する可能性が高く、外形の複雑さや彫紋要素の構造や大きさに特徴がある、オシロイバナ、キンシバイ、シンテッポウユリ、サツキおよびコマツヨイグサの5種の花粉を用いた。開花直後の花に綿布地を擦りつけて試料を作成し、試料台に載台した後、近年、花粉のSEM観察に適用され始めたイオン液体法（[MPP][TFSI]）とナノスーツ法（NanoSuit®・タイプ III）のほか、金属被覆法と無処理法も加えた4つの前処理を施した。また、作成した試料の一部を1%ツイーン80溶液で洗浄し、遠心分離機で濃集した花粉を、古生態学分野で従来から行われている方法（従来法：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）で処理した。前処理を施した試料の観察には、電界放出形走査電子顕微鏡（FE-SEM）のほか、卓上走査電子顕微鏡（卓上SEM）を用いた。

花粉を識別する際に重要な形質は、花粉の外形（全形、粒径、発芽口（溝・孔）の数・配列）と表面彫紋である。花粉の外形に関しては、従来法では花粉の粒径が小さくなり、イオン液体法では被膜が局所的にやや厚くなる傾向を示すものの、いずれの前処理法、SEMを用いた場合でも、良好に観察することができた。イオン液体法では、無処理法でも凹みがちな外形の複雑な花粉でも、それらの半数を膨潤した状態で観察できた。表面彫紋に関しては、FE-SEMではいずれの前処理法でも、各々の花粉に特有な0.1~10 μm スケールの凹凸部をつくる彫紋要素の特徴をほぼ良好に観察することができた。ただし、イオン液体法では微小な凹部や凸部基部で被膜がやや厚くなる傾向が認められた。他方、卓上SEMでは彫紋要素の詳細観察は困難であった。

犯罪現場で採取された証拠物件資料は、さまざまな法科学的検査に用いられる上、再検に備えてその一部が保管されるため、法花粉学的検査に供される試料量は限られる。法花粉学的検査においては、検査法が資料の種類・態様や検査目的に適うこと、簡便で迅速であること、作成した試料は花粉以外の微粒子観察に適用できることも重要である。当初より衣類資料の完全な花粉リストが必要とされ、十分な試料量と検査時間が確保できる場合に限り、最も良好な観察結果が期待できる従来法を採用した方がよい。それ以外の場合にはむしろ、布地表面での付着状態に加え、花粉の識別形質を十分に観察できるイオン液体法、ナノスーツ法あるいは金属被覆法を適用することが望ましい。特にイオン液体とナノスーツ液は市販化され、1試料あたりの費用も安価である。溶液の濃度調整は容易で、試料の浸潤時間は数分~数十分程度である。毒劇法の対象物質には指定されておらず、金属被覆の際に必要なイオンスパッタ装置など、前処理のための特別な設備品も不要である。観察後、試料を水洗して他の微粒子観察に供することも可能である。ただし、花粉の観察にあたっては、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する。本研究では、試料作成がより簡便で、より均質な被膜を形成でき、花粉の観察結果が良好であるナノスーツ法を推奨する。

本研究の第 1 章では、草本植物の図鑑情報と世界的に広く利用されている 3 つの葉形質（葉面積、葉乾物含有量、比葉面積）との関係性について検討を行った。第 2 章では、1996 年以降の河川水辺の国勢調査のデータを用いて、全国の河川植生の群落動態について検討を行った。

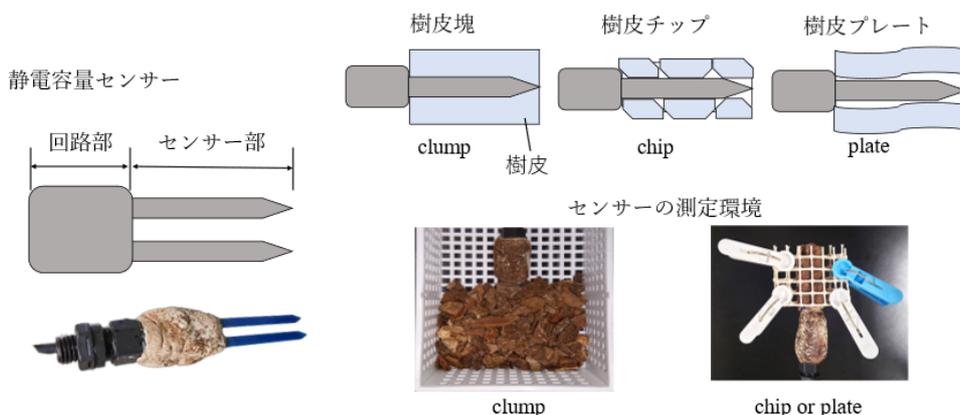
近年、個体レベルで測定可能な植物の形質（Plant traits, 以降、形質）に関心が高まっている。環境要求性が類似する種群は形質が共通あるいは類似するため、群集構造・動態、種組成解析において形質との関係性が盛んに議論されているものの、国内では形質情報の蓄積は十分ではない。第 1 章では、図鑑の生態情報と測定に基づく形質との関係について検討を行った。高知県内で採取した陽地生の草本植物 215 種を対象に、葉形質（葉面積 [LA, mm²]、葉乾物含有量 [LDMC, g/g]、比葉面積 [SLA, mm²/mg]）を測定し、生態情報として生活型（生育型、休眠型、地下器官型、散布器官型）と植物サイズ（草丈、葉長）情報を図鑑及び標本から収集した。図鑑の生態情報から葉形質の実測値を予測した結果、LA モデルでは 10 変数、LDMC モデルでは 5 変数、SLA モデルでは 3 変数が選択された。実測値と予測値の関係は、LA は、実測値と予測値が等値線上にばらついて分布した。LDMC は、対数值 2.5 以上では実測値と予測値が等値線上にばらついて分布したが、2.5 以下では過大予測される傾向にあった。以上の結果から、陽地生の草本植物について図鑑情報から LA は予測可能であるものの、LDMC と SLA の予測は困難であることから、日本産野生植物の形質情報の早急な収集が急務であることが示唆された。

河川水辺の国勢調査（以降、水国）とは、河川環境の基礎情報を把握することを目的として、全国の 109 の一級水系を対象に 1990 年以降約 5 年間隔で植物を含む河川生物について行われている調査である。河川植生は、河床勾配や河床堆積物の粒径組成などの河道特性によって変化する出水攪乱の頻度や強度、水分ストレスの強弱は植物の分布に影響を及ぼしている。水国データを用いて複数の水系を対象に外来植物の分布拡大や河道内の樹林化についての解析した研究はあるものの、日本全国の河川を対象に河川植生の動態について調べた研究はない。第 2 章では、21 水系を対象に約 20 年間の河川植生の変化について検討を行った。各水系で調査地区を設定し、一年生草本群落、多年生広葉草本群落、単子葉草本群落、ヤナギ高木林、その他の低木林、植林地（その他）、落葉広葉樹林、グラウンド、人工構造物、自然裸地の計 10 群落の面積割合を求めた。過去 20 年間の植生動態を定量化するために、各群落の面積割合の変化率を求めた。また、Shannon-Wiener の多様度指数、出現群落数、植生発達度（各群落の面積割合に群落高を乗じた値の総和）を求め、同様に変化率を求めた。解析の結果、単子葉草本群落と多年生広葉草本群落の面積は減少傾向にある地区が多かった。多様度指数と出現群落数は、減少傾向にある地区よりも増加傾向にある地区のほうが多かった。多様度指数と出現群落数が増加傾向にある要因として、河床の安定化による裸地の減少の影響が考えられる。日本の河川では河道の植生発達が問題となっている。植生発達度と樹木群落の面積について、増加傾向にある地区数は限られていた。水国データをもとに河川植生の動態を解析した結果、樹林化が進行している河川は部分的であった。これには、出水攪乱によって樹林地が破壊された可能性と河川管理者による植生管理が影響している可能性が考えられた。

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、降雨時の樹幹流や結露、空中湿度の時間・季節変動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 ($WC = [FW - DW] / DW, g/g$)。しかし、この測定法では連続的な WC 測定が困難である。本研究では、静電容量センサーによる簡便な WC 連続測定法の開発及び WC への温湿度の影響の評価を試みた。

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、着生植物が固着することの多いアカガシ (*Quercus acuta*) の樹皮を対象とした。24 時間精製水に浸水させた樹皮を、庫内温度 20°C、相対湿度 65% に設定したインキュベータ内に静置した。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、樹皮の乾燥過程における WC の変化を測定した。樹皮とセンサーの密着性が出力電圧に与える影響を評価するため、縦 82 mm×横 110 mm×高さ 22 mm の樹皮塊にセンサーを埋めた clump、樹皮片をセンサー部の表裏に 1 層ずつ並べた chip、センサー部の表裏に縦 55 mm×横 15 mm×高さ 2 mm の 1 枚板の樹皮を添わせた plate の 3 条件で測定を行った。出力電圧は WC と線形の関係性が認められ、 $WC_{clump} = \exp(10.13 * V - 3.61) - 1$ 、 $WC_{chip} = \exp(5.66 * V - 2.00) - 1$ 、 $WC_{plate} = \exp(5.25 * V - 1.89) - 1$ の関係式が得られた。clump ではセンサーの出力電圧 0.42 V 以上では WC の推定誤差が大きくなり、推定誤差は plate が最も小さかった (二乗平均平方根誤差 : clump=0.23, chip=0.10, plate=0.07)。この要因として、土壌の高含水領域ではセンサーの推定誤差が大きくなるのが指摘されており、サンプル全体が最も厚い clump では高い WC の推定が困難であると考えられる。以上の結果から、サンプル全体の厚みが薄い chip または plate は clump より高い精度で WC を推定できることが分かった。着生植物が利用可能な水分環境である WC を自然条件で連続的なモニタリングが可能となった。

WC への温湿度の影響は、庫内温度 3 条件 (10, 20, 30°C)、相対湿度 3 条件 (65, 80, 90%) を組み合わせた 9 条件を plate で評価した。24 時間精製水に浸水させた樹皮を上記条件のインキュベータ内に静置し、一定時間ごとにサンプルの湿重量を記録して WC の変化を測定した。その結果、WC の減少は飽和水蒸気圧との差である飽差 (Vapor Pressure Deficit, 以下 VPD) の増加とともに大きくなった。多くのサンプルでは、実験開始後 12 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。24 時間浸水後の樹皮貯水量が 1.0 を上回るサンプルでは、VPD にかかわらず WC の減少が緩やかだった。このことから、24 時間の吸水から 1 日後には吸水前の WC の状態に戻ると考えられた。



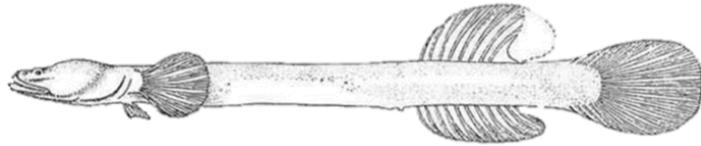
ワカメは宮城・岩手・徳島県などで、ヒロメは和歌山県などで天然採取や海面養殖により生産されている食用海藻である。一方で、これらの生産方法には、藻体の刈り取りなどの労力や時間がかかる作業が多い。岩手県のワカメ生産者は 2011 年以降でほぼ半減している。生産量は、養殖ワカメが 1974 年から 2001 年にかけて半分以下に、和歌山県養殖ヒロメでは 2016-2017 年にかけて 1/3 に減少している。これらの背景から、海面養殖よりも安定した生産と、作業負担を軽減できる屋外タンク養殖を考えた。屋外タンク培養の研究は、ワカメでは岡 (2006) があるが、ヒロメでは屋外タンク培養の先行研究がみあたらない。また、室内培養した胞子体を屋外タンクに移すと、強光阻害として藻体の先端から白色化「先枯れ」が起こるが、先枯れの詳しい原因や対策は調査されていない。そこで、本研究では、屋外タンク養殖に向けて、最も重要である先枯れの原因の調査とその対策、胞子体の最適な培養条件を検討した。

実験には、高知県土佐市産ワカメとヒロメの胞子体種苗を用いた。両種の成長率と先枯れについて調査するため、室内で光量、栄養塩濃度、水温の培養条件を変化させた成長実験、その結果から先枯れを抑制するように太陽光を減光した屋外タンクによる成長実験を行った。

室内実験では、両種とも光量 $100-200\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、水温 15、 20°C で日間成長率約 50% と高い値を示した。栄養実験では、両種とも ES 培地、1/8 ES 培地、表層海水の順に色が薄くなる傾向にあったが、日間成長率にはほとんど影響はなく 50% が保たれた。本研究で実験された光量、水温、栄養塩濃度の条件では両種の成長率に大きな差はみられなかった。高光量の 600、800、 $1000\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ では、高い光量ほど早く大きく先枯れが進行した。光量 $1000\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ では、葉状部分がすべて白色化した実験区もあった。また、両種の先枯れは、0.5L 容量のフラスコを使った培養で培養初期重量 0.01g よりも 0.1 g の高い藻体密度で、または、光量を段階的に上げて順化を行うことで抑制された。屋外透明タンク実験では、減光の有無で、ワカメの先枯れの程度を比較すると、減光なし実験区では大きく先枯れしたが、減光あり実験区では大幅に先枯れが抑制された。また、減光率 8 割以上の減光ネットを用いて、両種ともに屋外タンクで 8 日間培養したところ、完全に先枯れが抑制され、減光ネットを外すと翌日には先枯れした。屋外タンク実験では、室内培養した種苗をそのまま屋外タンクに移して培養すると、太陽光(晴天時で約 $1500\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の強光で先枯れを起こす問題があったが、これらの実験結果に基づき、培養期間中減光ネットを被せて両種を培養すると、先枯れを完全に抑制して、日間成長率約 30% で最終湿重量は約 3kg まで成長した。

本研究から、ワカメとヒロメの種苗の育成は、光量 $100\sim 600\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、水温 $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ の条件で通気培養することが最適であると考えられた。さらに、栄養試験の結果から、商業的に生産する場合には、より商品価値が高いとされる濃い色の藻体にするために栄養の添加が有効であると考えられた。本研究の屋外タンク培養では、岡(2006)の表層海水をかけ流したタンク培養に比べて成長率が 2 倍になっており、太陽光の強光を減光して先枯れを完全に防いだことが高い日間成長率に繋がったと考えられた。以上から、屋外タンク養殖の際には、先枯れを抑制することで、安定した生産が見込めると考えられた。

ヤガラ科ヤガラ属 (*Fistulariidae*; *Fistularia* Linnaeus, 1758) は、三大洋の熱帯から温帯域の沿岸から沖合のおよそ水深 300 m に分布するヨウジウオ目魚類である。本属のタイプ種は *Fistularia tabacaria* Linnaeus, 1758 で、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 *Fistularia commersonii* Rüppell, 1838 のほか、海外産の *Fistularia corneta* Gilbert and Starks, 1904 と *F. tabacaria* 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つ。近年、東シナ海とその隣接海域で従来アカヤガラ *F. petimba* と同定される標本群には、脊椎骨数や体表の小棘の有無、口裂の長さなどの形態的特徴から本種とは異なる 2 未同定種が含まれることが報告された。また、日本周辺でアカヤガラ *F. petimba* とされる標本群は予備調査により遺伝的および形態的特徴から 2 型に分かれることが判明し、その後の形態の調査でこれらが別種であることが示唆された。本研究では、これまでに検討が不十分であった標本と追加標本を含め、アカヤガラ 148 標本の形態形質と一部の標本の遺伝子を精査し、分類学的検討を行った。その結果、遺伝的および形態的に識別可能である 3 型の存在が判明し、これらを *F. sp. 1*, *F. sp. 2*, および *F. sp. 3* として比較した。その結果、本研究の 3 種は次の形質の組み合わせで明確に識別できる：*F. sp. 1* は体表の小棘をもたず、頭長 (HL) に対する上顎長 (7.1–8.5% HL) と下顎長 (14.2–17.0% HL) が短く、上顎長が下顎長の 1.9–2.1 倍、背面最終骨板後端から背鰭起部までの距離 (LLD) (0.3–3.1% HL) が短い；*F. sp. 2* は通常体表に小棘をもち、上顎長 (9.4–13.2% HL)、通常下顎長 (16.9–21.4% HL) が長く、上顎長が下顎長の 1.6–1.8 倍、そして LLD (3.9–23.4% HL) が長い；*F. sp. 3* は体表に小棘をもち、上顎長 (6.5–8.8% HL) と下顎長 (13.5–16.1% HL) が短く、上顎長が下顎長の 1.8–2.1 倍、そして LLD (3.7–10.6% HL) が長い。また、これら 3 種は次の形質の組み合わせでもおおむね識別できる：尾鰭伸長鰭条の分枝 (*F. sp. 1* では通常しない vs. *F. sp. 2* では通常する vs. *F. sp. 3* ではしない)；鋤骨歯の有無 (通常ない vs. ある vs. ないかある)；125 mm HL 以上の個体では側線後方の側線鱗の後向棘の形状 (通常三角形状で鋭い vs. 通常台形状で鈍い vs. 台形状で鈍いかやや鋭い)；249 mm HL 以下では背面の暗色横帯 (ない vs. 通常ある vs. ない)；両眼間隔幅 (2.2–3.4% HL vs. 3.3–4.7 vs. 3.2–3.6)；眼後長 (11.9–16.0% HL vs. 14.8–19.8 vs. 13.2–15.5)。したがって、これら 3 種はそれぞれ別種と考える。本属 14 名義種のうち、本 3 種は *F. tabacaria*, *F. neoboracensis*, *F. commersonii*, *Aulastoma margravii*, *F. depressa*, および *F. corneta* の 6 名義種とは、背面が赤桃色、淡桃色か淡褐色、吻上面前方の隆起線の形状、側線鱗が後向棘、両眼間隔幅の吻長に対する倍率などの特徴の組み合わせで識別できる。さらに、*F. sp. 2* および *F. sp. 3* は体表に小棘があるなどの特徴から *F. serrata* Cuvier, 1817 に類似する。*F. sp. 2* は体サイズが 1 m を超える、体長が 836 mm 以上の大型個体では体表の小棘が埋没的で伸長鰭条が癒合し 1 本、そして固定後の体の背面が褐色となる傾向などの特徴から、*F. petimba* にも比較的似る。しかし、*F. sp. 2* は体表に小棘と背面に暗色横帯があるなどの特徴から *F. rubra* に、*F. sp. 3* は体表に小棘がある、尾鰭伸長鰭条を含まない全長に対する頭長と吻長の割合などの特徴から *F. villosa* にそれぞれ最も類似することが判明した。*F. sp. 1* は類似する名義種がないため、未記載種の可能性が高い。



ハゼ科 Gobiidae のミミズハゼ属 *Luciogobius* Gill, 1859 は東アジアとその周辺に分布し、体が細長い蚯蚓状で、第 1 背鰭およびその担鰭骨を欠く、第 2 背鰭と臀鰭の起点が体の後半部にある、体が無鱗、眼が退縮して小さいといった点を標徴とする。本属魚類はおもに海岸や河川に堆積した砂礫間に生息し、これまでに 17 有効種が記載され、さらに多くの未記載種が知られる。そのうち、ドウクツミミズハゼ *L. albus* Regan, 1940, ネムリミミズハゼ *L. dormitoris* Shiogaki and Dotsu, 1976, ナガレミミズハゼ *L. fluvialis* Kanagawa, Itai and Senou, 2011, ユウスイミミズハゼ *L. fonticola* Kanagawa, Itai and Senou, 2011, そしてイドミミズハゼ *L. pallidus* Regan, 1940 の 5 種は、形態的特徴の類似からイドミミズハゼ種群 *L. pallidus* complex sensu Shibukawa et al., 2019 と総称される。これらのうち、高知県に分布するとされる種には、イドミミズハゼ *L. pallidus* とドウクツミミズハゼ *L. albus* がある。イドミミズハゼ *L. pallidus* は、おもに河川感潮域の砂礫間や伏流水に生息するが、その特殊な生態から発見が難しく、水質の汚濁と河床の劣化に弱いことから、各地で絶滅が危惧されている。高知県では絶滅危惧 I 類および高知県指定希少野生動植物に指定され、積極的な保護の対象となっているが、その生息実態は十分把握できていない。また、本種は数多の既往研究によって形態的特徴や生息環境が異なる複数種の混在が示唆されるなど、分類学的取り扱いが混乱している。ドウクツミミズハゼ *L. albus* は、島根県と長崎県の各 1 洞窟および付近の井戸、高知県の新莊川から記録がある。しかし、とりわけ高知県では半世紀前に採集された 1 標本が存在するのみで、その生息状況の把握や形態的特徴の精査が課題とされていた。そこで、本研究では高知県における両種の詳細な分布・生息状況および形態的・遺伝的特徴について明らかにし、種の保全と分類学的問題の解決に資することを目的とした。そのため、高知県内各河川に赴いて干潮時に河原の砂礫をシャベルで掘り起こす方法で標本を採集し、高知大学理工学部海洋生物学研究室 (BSKU) に登録、既存の所蔵標本もあわせて精査した。また、ミトコンドリア DNA の COI 領域を対象とする分子系統解析を行い、近隣結合法による樹形図を構築した。

まず、イドミミズハゼ *L. pallidus* は、従来 7 水系のみから知られていたが、今回 21 水系に分布することが標本に基づいて確認された。また、その生態を加味すれば、本種は高知県各地に広く安定的に生息している可能性が高い。そして、今回検討した標本内には、形態や色彩の特徴が異なる 2 型が認められた。両者は、眼窩周辺の陥没の程度や眼窩後方の左右の隆起における色素胞の分布が特に異なっていた。さらに、mtDNA の COI 領域を対象とする分子系統解析により得られた系統樹では、両者は異なる分岐群に包含された。したがって、それぞれを *L. sp. A* と *L. sp. B* としたが、*L. pallidus* の原記載などに示された特徴からは、学名を決定するまでにはいたらなかった。なお、*L. sp. A* は *L. sp. B* と比較して、計測形質は重複するが頭部や体が細長く、体色が淡い傾向があった。次に、ドウクツミミズハゼ *L. albus* は、今回新たに 3 水系から同種に類似する標本が得られた。これらには抱卵個体が含まれていたことから、同県内で再生産している可能性が高い。また、同種は先行研究によってユウスイミミズハゼ *L. fonticola* との明瞭な識別形質がないが、上顎長の体長比のみ有効な識別となる可能性があると考えられた。高知県産標本は上顎長の体長比では、一部が前者、大半が後者の範囲に含まれた。もっとも、それらの先行研究では *L. albus* のシタイプを観察していないため、現時点では確かな同定は困難である。したがって、高知県産標本を *L. sp. C* とした。

タチウオ科魚類 *Trichiuridae* は三大洋の温熱帯域の大陸棚・斜面および外洋底層域に分布し、世界から 10 有効属の 49 名義種が知られる。このうちタチウオ属 *Trichiurus* Linnaeus, 1758 は、最大全長 1m を越えない小型の *Trichiurus russelli* 種群と最大全長 1 m を越える大型の *Trichiurus lepturus* 種群に分類される 13 種を含み、本属魚類は鰓蓋の後端が湾入することや尾鰭がないことで本科他属と識別できる。本属魚類は大陸棚上の表層から水深 350 m の中深層に生息し、夜間に餌をもとめて浮上する日周鉛直移動を行う。また、本属魚類の多くは水産資源として利用されている。日本近海に生息する本属魚類は、従来タチウオ *Trichiurus japonicus* Temminck and Schlegel, 1844 のみとされたが、近年では背鰭が黄色いテンジクタチ *Trichiurus* sp. 2 (*sensu* Nakabo, 2000) および沖縄の深みに生息する大型のオキナワオオタチ *Trichiurus* sp. 1 (*sensu* Nakabo, 2000) に標準和名が与えられ、日本近海にはこれら 3 種が生息する。しかし、それ以降日本産の本属魚類に関する研究がなされておらず、2 種の学名は確定していない。最近、日本に隣接する黄海と東シナ海、そして南シナ海において本属魚類の分類学的研究が行われ、日本にも生息するタチウオ *T. japonicus* のほかに *Trichiurus brevis* Wang and You, 1992, *Trichiurus lepturus* Linnaeus, 1758, および *Trichiurus nanhaiensis* Wang and Xu, 1992 の 3 種を報告した。このように日本近海における本属魚類の多様性は未解明であり、前述 2 種の学名を検討する必要がある。

本研究では高知大学海洋生物学研究室、東海大学海洋学部、国立科学博物館、神奈川県立生命の星・地球博物館、旧西海区水産研究所、および鹿児島大学総合博物館に所蔵されている福島県から鹿児島県の主に太平洋沿岸で採集された本属標本、比較標本として国立科学博物館および鹿児島大学総合博物館所蔵の海南省三亚産、大西洋アフリカ東部沖、およびフィリピンパナイ島沖産の本属の合計 129 標本を用いた。計数と計測形質はそれぞれ 16 と 34 形質を調査し、後者は全長あるいは頭長に対する百分率とした。計測にはデジタルノギスとスナップキャリパーを用いた。

日本産の標本を検討した結果、観察標本は次の 4 種に同定された：タチウオ *T. japonicus* [56 標本]、テンジクタチ *T. sp. 2* [38 標本]、オキナワオオタチ *T. sp. 1* [4 標本]、および *T. lepturus* [1 標本]。オキナワオオタチは本属の名義種の中では *Trichiurus malabaricus* Day, 1865, *Trichiurus haumela* (Forsskål, 1775), および *Trichiurus coxii* Ramsay and Ogilby, 1887 に最も似るが、背鰭前端に暗色斑がないのに対し、これら 3 種では背鰭前端に明瞭な暗色斑があることで異なる。また、*T. coxii* と比較して、本種は頭部が大きく、頭長が全長の 14.3–14.7% により識別できる（後者では 12.5%）。したがって、本属名義種には本種の特徴と一致するものがおらず、本種は未記載種である可能性が非常に高い。テンジクタチ *T. sp. 2* は本属の名義種のうち、背鰭が黄色であることで *Trichiurus margarites* Li, 1992 と *T. nanhaiensis* に最も似る。テンジクタチ *T. sp. 2* と *T. margarites* は上後頭骨瘤の有無で識別可能とされたが、本研究の駿河湾産標本には両方の形質状態が確認された。ゆえに、テンジクタチ *T. sp. 2* はこれら 2 種と同種、またはこれらが異名関係にある場合は（両種とも 1992 年に命名）、原記載の出版月が早い *T. nanhaiensis* を適用すべきである。沖縄県名護湾から得られた 1 標本は、頭長が 12.4 % TL で、背鰭全体が透明であり、先端に暗色斑をもつ、そして尾部がやや短い（尾部長が 64.4% TL）ことにより、*T. lepturus* に同定された。本種は太平洋では南シナ海のみで確認され、本標本は日本からの初記録となる。

セキトリーワシ科 Alepocephalidae は、現在 20 属 102 有効種が認められ、そのうちハゲイワシ属 *Alepocephalus* Risso, 1820 (北西地中海産の *A. rostratus* Risso, 1820 がタイプ種) には 21 有効種が含まれる。本属魚類は三大洋に分布し、中深層の水深 300 m から深層の 3600 m まで、特に 1000 m を中心とする近底層に生息する。本属魚類の特徴は、前上顎骨、口蓋骨、および歯骨に歯があり、主上顎骨と鋤骨には歯がない、頭長が標準体長の 30–40%、眼が非常に大きい、鰓蓋と鰓蓋膜が著しく大きい、背鰭が 1 基で臀鰭と対置し両鰭の基底長はほぼ等しい、頭部以外に鱗があり脱落しやすいなどが挙げられる。本属魚類は採集機会や標本数が極めて少ないことに加え、骨格を含めた体の軟弱さによる計測値の誤差、鱗や鰓蓋膜の脱落などの重要な分類形質の不安定さ、成長変異の大きさが本属魚類の分類を混乱させたため、近年でも属の変更や採集された個体が未同定のまま報告されることは少なくない。また、分子系統解析では本属が単系統群ではないことが示唆され、属の標徴に一致しない形質をもつ種も存在するため、本属の早急な分類学的再検討が求められる。上記により、日本周辺に分布するハゲイワシ属魚類は 7 有効種 (ホソメコンニャクイワシ *A. bicolor* Alcock, 1891, ハゲイワシ *A. owstoni* Tanaka, 1908, トガリコンニャクイワシ *A. longiceps* Lloyd, 1909, コンニャクイワシ *A. umbriceps* Jordan and Thompson, 1914, アラメコンニャクイワシ *A. australis* Barnard, 1923, マルコンニャクイワシ *A. longirostris* Okamura and Kawanishi, 1984, そしてオキナワコンニャクイワシ *A. triangularis* Okamura and Kawanishi, 1984) で *A. barnardi* は *A. australis* の、*A. giardi* Köhler, 1896 は *A. bairdii* Goode and Bean, 1879 のジュニアシノニムとされているとされるが、明確に種を同定できないものもある。高知県室戸沖で行われた曳航体カメラによる調査では、水深 1260–1360 m の調査区画で正体不明の大型のハゲイワシ属魚類が約 30 個体観察された。また、2019 年 11 月と 2020 年 8 月に高知県足摺沖で行われた漁業資源調査では、水深約 1300 m 付近から日本未記録の可能性が高い正体不明のハゲイワシ属魚類 2 個体が採集された。そこで本研究では、日本産本属魚類の分類学的検討を目的とした。

日本産本属の約 230 標本を調査し、*Alepocephalus* sp. 1 および *Alepocephalus* sp. 2 を本属 21 有効種と比較し特徴を明らかにした。その結果、*A. sp. 1* は頭高、水平眼窩径、垂直眼窩径、両眼間隔、背鰭基底長、臀鰭基底長、偽鰓数、背鰭鰭条数、臀鰭鰭条数、側線有孔鱗数、脊椎骨数、そして上顎後端の位置により本属 19 有効種と識別できる。残った *A. asperifrons* と *A. umbriceps* とは前頭骨背面の傾斜と側線有孔鱗数で類似するが、顎の突出状態により異なった。本研究では、*A. asperifrons* の原記載以降の報告がないことにより *A. asperifrons* と *A. umbriceps* の差異が確認できなかったため、*A. sp. 1* は上記 2 種のいずれかと同種、またはいずれかに類似した未記載種の可能性が高い。*A. sp. 2* は頭高、水平眼窩径、垂直眼窩径、両眼間隔、背鰭基底長、臀鰭基底長、偽鰓数、背鰭鰭条数、臀鰭鰭条数、側線有孔鱗数、そして脊椎骨数により本属 19 種と異なった。また、*A. sp. 2* は残る 2 種の *A. blanfordii* と *A. rostratus* とは、前頭骨背面の傾斜と上顎後端の位置で識別できる。また、前頭骨背面の傾斜と隆起線がないことで、唯一 *A. planifrons* と類似する。したがって、本種は未記載種の可能性が高い。これまで使用されてきた日本産本属の種の検索表では *A. australis* と *A. umbriceps* の識別形質として、眼窩間隔と側線有孔鱗数を識別形質としたが、実際の計測値では両眼窩間隔は等しく、有孔側線鱗数は標本の状態により計数が困難で、誤同定の要因のひとつであった。そこで脊椎骨数、上顎後端の到達位置、水平・垂直眼窩径が種の有効な識別形質であることを確認し、そのうち脊椎骨数 (51–53 vs. 57–60) は *A. australis* と *A. umbriceps* を明確に識別することが判明した。本属の一部の種では、成長に伴い胸鰭前方の標準体長比が減少するのに対し、胸鰭から背鰭までは増加する傾向があり、頭長比の数値を扱う際はこれらの成長変異を考慮する必要がある。また、本属の稚魚や成魚、老成魚では頭部形状が異なることが示唆され、比較には各成長段階の多くの標本を用いた調査が重要となる。本属 21 種のうち 5 種 (*A. andersoni*, *A. bicolor*, *A. longiceps*, *A. dentifer*, および *A. planifrons*) が同属他種と比べ特異な形質をもつため、本属内の亜属の復活や新設、帰属の変更の検討が必要である。

高知市北山におけるトカゲ類の日光浴と逃避に関する行動

理論生物学研究室 田中 奏羽

爬虫類は体温調節や紫外線による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。日光浴を行なっている間は捕食者に襲われる危険性が高く、危険回避のために逃避行動をとる。本研究では、2022年10月と2023年3月から11月にかけて、高知市北山で多く見られるニホントカゲとニホンカナヘビの2種を対象とし、登山道で日光浴をしているトカゲ類がヒトと遭遇した際にどのように逃避するかを目撃確認法により調査した。日光浴場所と逃避場所に関しては、登山道の山側法面と谷側法面の2つに分けた。2種の出現頻度は1回の調査あたりに調査地の登山道で観察された個体数とした。調査期間中に観察されたニホンカナヘビは合計245個体、ニホントカゲは合計27個体であった。平均出現頻度が最も高かった時期は、ニホンカナヘビで9月、ニホントカゲで6月であった。日光浴場所については、どちらの種も山側法面が最も多かった（カナヘビ63%、トカゲ52%）。逃避行動に関しては、2種とも山側法面で日光浴していた個体の多くは山側法面を上り（カナヘビ60%、トカゲ44%）、谷側法面の個体の多くは谷側法面を下って逃走した（カナヘビ22%、トカゲ37%）。山側法面から谷側法面へ逃走した例は数個体で観察された（カナヘビ3%、トカゲ7%）が、谷側法面から山側法面へ逃げた個体はいなかった。逃避方向については、いずれの種においても垂直方向（±30°以内）に逃走する個体が最も多かった（カナヘビ75%、トカゲ85%）。

展示飼育下ブチハイエナの常同行動に影響を与える要因

理論生物学研究室 城野 愛奈

飼育下の動物が野生下では見られないストレスに対する行動を示すことはよく知られている。特に、動物園での飼育下では、展示場を同じ道順で行ったり来たりする常同行動と呼ばれるストレス行動が顕著に観察される。本研究では、ブチハイエナの常同行動と環境の関係を明らかにすることを目的とした。高知県立のいち動物公園で飼育されているブチハイエナ3個体（エナ：2008年タンザニア生まれメス、ブッチー：2008年タンザニア生まれオス、トーフ：エナとブッチーの仔として2012年のいち動物公園生まれオス）を対象とした。調査は、2023年1月から12月にかけて行なった（合計77日間）。1日約4時間、1分毎の瞬間サンプリングを用いて個体の行動を直接観察し記録した。行動は常同行動、休息、身繕い、移動、探索、採食、静止、稀な行動（排泄など）、欠測の9項目に分類し、場所は屋外と屋内の展示場に分けて記録した。全50566回の行動を観察し、そのうち約1割が常同行動だった。常同行動は屋外（1%未満）に比べて屋内（23%）でより高頻度で観察され、特にトーフに多く見られた（屋内で33%）。一般化線形混合モデルの結果、常同行動の発現は気温や湿度が低いほど増加し、観覧者数が多いほど増加する傾向が示された。絶食の効果については、絶食日の翌日に常同行動の発現が高くなった。常同行動の発現割合は、平日よりも休日の方が低く、飼育員がいる時の方がいない時に比べると低かった。

土佐湾では5月から10月にかけての6か月間、ニタリクジラを中心としたホエールウォッチングが盛んに行なわれている。ニタリクジラのブロー（潮吹き）やペダングルアーチ（長い潜水の前に背びれを見せること）は、観光客には人気の行動である。ホエールウォッチングが観光資源として地域経済に与える影響は大きい。鯨類の出現は日によって大きく異なる。本研究では、2021年から2023年にかけての3年間、土佐市宇佐港から出航するホエールウォッチング船に乗り、土佐湾に出現する鯨類の調査を行なった。主な観察対象をニタリクジラとし、その他の鯨類であるハンドウイルカやハセイルカなどをイルカ類と総称した。鯨類を発見した場合には、種名、個体数、位置（緯度と経度）、ニタリクジラのブローとペダングルアーチの回数を記録した。ニタリクジラの出現確率が最も高かったのは8月であり、次いで9月が高かった。ニタリクジラが親子で出現する確率は9月が最も高く、次いで8月が高かった。イルカ類の大集団（100個体以上）の出現確率が最も高かったのは7月であり、次いで8月が高かった。1回の出航あたりに見られるブローの頻度は8月が最も多く（次いで9月）、ペダングルアーチの頻度が最も高かったのは8月だった（次いで10月）。鯨類は黒潮流路の北側で出現した。本研究から、土佐湾では8月もしくはその前後の月で、ニタリクジラやイルカ類に遭遇する可能性が高いことが示唆された。

クマムシ類の種多様性とコケ植物との関係、横倉山（高知県越知町）における研究事例
植物分類学研究室 加納 幹

緩歩動物門に分類されるクマムシ類は体長0.1–1.5 mm程度、円筒状の体は1節の頭部と4節の胴部で構成され、胴部腹側には節ごとに各1対の脚をもつ。クマムシ類は陸上から水域までの幅広い生息域をもち、陸上で生活する種はコケ植物などを基物として生息している。これまでに世界各地でクマムシ類に関する研究は多数行われているが、その生息基物であるコケ植物種まで言及している研究例はほとんど無く、クマムシ類とコケ植物の種特異性に関する研究は遅れている。そこで本研究では、コケ植物種の違いにおけるクマムシ類の種多様性の解明を目的とした。調査地として高知県高岡郡越知町に位置し、400種以上のコケ植物が生育している横倉山（標高774 m）を選定した。調査期間は2023年7–11月として野外調査を3回実施した。コケ植物の採取に際しては種同定の精度を高めるため可能な限り孢子体を確認できる個体群を中心にするると共に着生基物の偏りがないように配慮して、標本1点につき5×5 cm程度を素手で採取した。クマムシ類の観察の際は、コケ植物標本1点につき2×2 cm程度を水に浸し、攪拌・静置させた後に実体顕微鏡を用いてクマムシ類を採取し、ライターで熱処理を行い、固定液で封入して標本作製・同定を行った。

本研究の結果、コケ植物標本を合計92点採取し、種同定を行ったコケ植物16点のうち7点からクマムシ類21個体（2綱4科5属）を確認した。乾燥時に葉が巻く特徴をもつコケ植物にクマムシ類が多い傾向がみられ、タチヒラゴケとツクシツヤゴケからは各5個体のクマムシ類が発見された一方で、クマムシ類が発見されないコケ植物も少なくなかった。またトヤマシノブゴケからは高知県初記録となるトゲヤマクマムシ属1個体が確認された。コケ植物の葉が巻くことにより形成されたわずかな隙間をクマムシ類は急激な乾燥を回避する目的で利用しているとも考えられる。今後、クマムシ類の生息基物として特徴的な形態をもつコケ植物に注目した研究により、新たな発見も期待できる。

青源寺庭園（高知県佐川町）におけるウマスギゴケとハイゴケの分布特性について
植物分類学研究室 松田 舞子

青源寺は高知県高岡郡佐川町に位置し、その庭園は土佐三大名園の一つとして知られており高知県指定名勝に指定されている。青源寺庭園は近年ではコケ庭としても知られており、庭園内に豊富に生育しているコケ植物は現在の重要な景観の一部となっている。しかし、庭園のコケ植物に関する研究例はこれまでに無く、庭園に生育するコケ植物の種構成や庭園内での各種の分布状況についても詳しい研究は無い。そこで、本研究では庭園内に広く生育するスギゴケ科とハイゴケ科の種に注目し、種の特異と併せてその分布状況を明らかにすることを目的とした。調査範囲は庭園全体とし、採取にあたっては庭園への影響を最小限に抑えるために素手により比較的大きな群落から 5 cm 四方を 1 標本として採取した。採取対象は広範囲に生育し生育量の多いスギゴケ科とハイゴケ科を主とした。採取した標本は数日間自然乾燥させた後、光学顕微鏡を用いて同定を行い、高知大学植物標本庫 (KOCH) に収蔵した。また庭園内でのコケ植物の分布範囲と各種の分布特性を明らかにするために庭園の見取図を作成した。

本研究の結果、庭園内に広範囲に生育するスギゴケ科の種はウマスギゴケであり、ハイゴケ科の種はハイゴケであることが確認された。ハイゴケは日照量が少ない場所あるいは水辺付近などに多く分布しているのに対し、ウマスギゴケは日照量が比較的多く珪石が敷かれている場所に多く分布していることが明らかになった。青源寺庭園で砂利として使用されている珪石の存在がウマスギゴケにとって生育しやすい環境を形成しており、ウマスギゴケが他種よりも豊富に生育している要因の一つであることが示唆される。そのため青源寺庭園におけるコケ庭の景観の存続には珪石の存在が重要な役割を担っていると考えられる。

スウェーデンと日本に共通するオオスギゴケ（スギゴケ科、コケ植物）における雄苞葉の形態比較
植物分類学研究室 谷口 亜美

スウェーデンは北欧に位置する EU 加盟国のひとつで、生物多様性保全についての先進的な研究が活発に行われている。また 18 世紀からコケ植物に関しても分類学的研究が進められてきたため、近年ではコケ植物においても形態に基づく分類学的研究と DNA に基づく分子系統学的研究とを組み合わせた発展的な研究が行われており、半隠蔽種の存在や同一種内での遺伝的多様性の保全に関する研究も活発に行われている。一方で、日本では豊かなコケ植物相を有す反面、未だ種レベルの分類学的研究が主であり、生物多様性保全のためにも種内の遺伝的多様性の解明が大きな課題である。そこで本研究ではコケ植物における同一種内での遺伝的多様性の解明の足がかりとして、スウェーデンの研究者の協力を得て、スウェーデンと日本に共通して分布するオオスギゴケ(スギゴケ科)について個体群間の雄苞葉形態の比較を行った。オオスギゴケを含むスギゴケ科では雄苞葉が造精器を取り囲んでスプラッシュカップと呼ばれる椀型の構造を形成して精子の分散を助ける機能をもつことが特徴である。野外調査を 2023 年 8-11 月に行い 48 点(スウェーデン産 42 点、日本産 6 点)のスギゴケ科標本を採取した。各標本の種同定を行った後、オオスギゴケの雄株を選別して(1)各雄苞葉の縦幅と横幅、(2)各雄苞葉の全長に対する先端部の割合を計測し、両国間の個体群について比較を行った。

本研究の結果、オオスギゴケ雄苞葉の形態は両国間の個体群で異なり、日本産の植物体の方がスウェーデン産の植物体よりも先端部の割合が大きい傾向が認められた。本研究で明らかになった雄苞葉の形態の違いは、生育環境の違いに起因する可能性は否定できないものの、日本産個体群とスウェーデン産個体群が遺伝的に異なる集団である可能性を示唆するものである。今後コケ植物においてもより広範囲なサンプリングに基づく遺伝的多様性に考慮した研究が生物多様性保全を考える上でも重要である。

ウミガメ胚の心拍数と温度条件の関係

海洋動物学研究室 池田ひなた

地球上のほとんどの生物はおよそ 25 時間を一周期とする生理現象のリズム（概日リズム）を持っている。これは地球環境で生命活動を営むうえで必須な機能である。胎生動物であるハムスターでは、子は母親を通して外界の日長情報を知るが、産卵後に親からのケアを受けないウミガメがどのようにして概日リズムを取得するかについては分かっていない。

ウミガメが産卵を行う砂浜の内部では、日射により日内の温度変動が発生する。本研究では、孵卵環境である砂中の日内温度変動に注目し、ウミガメの概日リズムは胚期に獲得されるのではないかと、という仮説を立てた。この仮説を検証するために、胚の代謝リズムを観測する指標として心拍数に着目し、孵卵温度の高さや変動の有無が心拍数にどのような影響を及ぼすかを調査した。

2023 年夏季に高知海岸で得たアカウミガメ卵を用いて異なる孵卵温度及び変動サイクル〔31°C一定温、29°C一定温、29°C変動温（±1°C）〕下での心拍数を計測した。鳥類の卵に用いられる振動検知型の検卵器を用い、アカウミガメ卵の胚発生ステージ 25, 28, および孵化の起こるステージ 30 に到達予定直前の 2 日間に、午前 6 時から翌 0 時まで 6 時間ごとに、24 時間で計 4 回の測定を行った。

全ての発生ステージにおいて胚の心拍数はより高温の実験区で高くなり、心拍数に温度依存性があることが示唆された。また、心拍数の日内変動に関して定温区ではいずれの発生ステージにおいても、時間ごとの心拍数に有意な変化は見られなかった。一方、変動区では高温の時間帯に心拍数の上昇、低温の時間帯に低下が確認された。すなわち、アカウミガメの胚は日内の温度変動に心拍数を同期させるということが明らかになった。

本研究では、24 時間周期の温度変動を経験した胚が、その後実際に心拍のリズムを保持することができるのか、すなわち、概日リズムの獲得に至ったかについては検証をしていない。また、胚期の心拍の変動の有無が孵化幼体の行動にどのような影響を及ぼすかという知見は全くなく、今後はこれらの点を検証していきたい。

ウミガメ雌個体における同一繁殖シーズンの産卵回による卵や孵化幼体の違い

海洋動物学研究室 久保 桃花

ウミガメの雌は一産卵シーズン中に複数回産卵することが知られるが、野生個体では特定個体による全ての産卵回を特定することが難しく、産卵回ごとの卵や幼体の形質の詳細な違いを調べた研究は皆無である。一方、飼育下では特定個体の交尾から産卵行動までを観察することが可能なため、タイマイでは同一個体・同一産卵シーズン内の各産卵回についての比較を行った研究がある。本研究では、名古屋港水族館の飼育下のアカウミガメを用いて同一産卵雌による各産卵回の卵と孵化幼体のサイズに加えて運動性の違い等を調べた。

2023 年に特定の雌が産卵した直後に産卵巣ごとの卵数、卵重を計測してから孵卵し、約 1 ヶ月後に高知大学へ移送した。その際、孵卵中期の卵重を計測し、全巣で孵卵期間等の条件が等しくなるように孵卵器の温度を調整して卵を管理した。孵化の確認から 4 日後を実験日とし、孵化率、孵化幼体の外部形態、陸上での運動能力、泳力、血中グルコース濃度を測定した。

その結果、卵数は産卵 3 回目にかけて漸減して最低数となり、その後 6 回目にかけて上昇して最高数となった。対して卵重は卵数に反して低下した。また、外部形態では産卵 1 回目が最も低く、産卵回中盤にかけて高くなり、その後低くなる傾向が見られた。また、孵化幼体のほとんどの項目においても同様の傾向が見られた。

外部形態ではタイマイの先行研究においても同様の傾向が見られ、ウミガメに共通した性質であることが示唆された。ウミガメの孵化幼体は低温下孵卵で大型化、高温下孵卵で小型化することが知られるが、自然下で概ね産卵シーズン初期に孵卵温度が低く、中期に高く、後期に再び低くなるという環境変化と合わせて考えると、本研究で確認された現象はトレードオフの関係にあると考えられ、産卵シーズンを通じて孵化幼体の適応度を一定にする戦略であるのかもしれない。しかし、今回観察できたのは 1 個体のみであり、このような傾向がウミガメで一般的であるのか検証するためには今後さらなるデータの蓄積が求められる。

淡水産アオノリの生活史と塩分が成長に及ぼす影響

海洋植物学研究室 久保かのん

ウムトゥチュラノリ *Ulva limnetica* (以下淡水アオノリ) は、2009年に沖縄県から新種記載された淡水性大型緑藻類である。約2500万年前に、海洋性の個体群の系統から淡水環境に適応した後、独立種へ進化した可能性が示唆されているほか、広い耐塩性を示すことが報告されている。しかし、塩分が成長に及ぼす影響についてはまだ研究が進んでいない。そこで、本研究では、沖縄県糸満市の米須湧水から採取された淡水アオノリの生活史と成長特性を明らかにする目的で、異なる塩分条件下で培養実験を行った。生活史の研究では、人工海水を1/10倍に希釈した培地を使用して継代培養し、形成される胞子の種類を調べた。胞子の発芽実験では、蒸留水試験区、人工海水を1/100, 1/10, 1/2, 1倍に希釈した試験区の計5試験区を設け、塩分が胞子の発芽に及ぼす影響を調べた。成長実験では、人工海水を1/100, 1/10, 1/2, 1倍に希釈した試験区の計4試験区を設け、塩分が藻体の成長に及ぼす影響を調べた。なお、すべての試験区で同じ栄養塩添加を行った。成長実験における比較は、試験終了時と開始時の平均藻体長から求めた藻体の伸長率を指標とした。結果、生活史の研究では、鞭毛を4本持つ胞子から発生した藻体が、鞭毛を4本持つ胞子を形成したことを確認した。胞子の発芽実験では、蒸留水試験区で胞子が枯死し、その他の試験区では発芽後、成長した。成長の実験では、1/100倍に希釈した試験区で最も伸長率が大きくなった。また、実験期間中に人工海水を1/2, 1倍に希釈した試験区では胞子形成が起き、1/100, 1/10倍に希釈した試験区よりも伸長率が小さくなった。これらのことから、本研究の淡水アオノリは4本鞭毛を持つ胞子を介した無性型生活史を持ち、胞子の発芽には塩分が必要であることが明らかになった。そして、低塩分環境で栄養成長し、高塩分環境で胞子形成する傾向があることが示唆された。

タンク養殖に向けたマコンブの培養条件の検討

海洋植物学研究室 湯浅 凜

マコンブ *Saccharina japonica* は、コンブ目コンブ科に属する褐藻であり、日本の代表的な食用海藻である。しかし、近年日本のコンブ類の漁獲量は減少傾向にあり、コンブ漁が主要漁業である北海道鹿部町でも、天然コンブの水揚げ量が減少した。そのため、鹿部町では2022年9月から高知大学が開発した陸上養殖技術が導入され、アオノリでタンク養殖の実証試験が行われている。現在では、コンブについても陸上タンク養殖に取り組もうとする動きがある。陸上養殖には、作業漁業者への作業負担が少ないという利点がある。そのため、マコンブを陸上タンクで養殖できれば、過疎化する漁村で高齢者も働くことができる新しい産業を創出できる。陸上タンク養殖を行うには、種苗を効率よく生産する必要がある。そこで、本研究では、鹿部町産マコンブの胞子体の最適成長条件を検討した。まず、2022年に鹿部町産マコンブから単離された雌雄配偶体を用いて胞子体を作製し、その胞子体を実験に用いた。室内では、50, 100, 200, 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ での光量試験、5, 10, 15, 20°Cでの温度試験を行った。屋外では、初期重量1.61gと6.37gの胞子体を用いて、冬に300Lタンクで成長試験を行った。その結果、光量試験ではマコンブの成長率は、100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上で飽和光量に達して日間成長率は32%であった。また、温度試験では日間成長率の平均が15°Cで最大となり、マコンブの最適成長温度は10°Cから20°Cの間にあると考えられた。しかし、これらの実験は各試験区に藻体を3個体ずつ使用して行われたため、個体差が影響しやすく、個々の藻体の影響が少ない集塊化した胞子体を用いて再度実験を行う必要があると考えられる。屋外タンク試験では、日間成長率が最大で21%あったことから、マコンブの陸上タンク養殖が可能であることが示唆された。

緑藻バロニアのレンズ状細胞形成過程の経時観察

細胞生物学研究室 河添 太一

巨大細胞性緑藻バロニアの細胞分裂はレンズ状細胞形成と呼ばれ、細胞の表層近くの原形質が局所的に凝集して、それが求心的に発達する隔壁により親細胞から隔たれることにより行われる。この細胞分裂では、凝集した原形質の領域の輪郭が明確になり、凝集領域の縁辺に沿って幅の狭い透明な環状構造が一時的に現れた後、原形質の密度が高い部分が縁辺部から内側に広がることにより凝集領域全体の原形質密度が均一になることが観察されている。透明な環状構造はおそらく形成されたばかりの隔壁により生じると考えられるが、その後の原形質密度が高い部分の広がりや隔壁の成長との関係は明らかになっていない。そのため、細胞の表面観に基づいて透明な隔壁の成長の程度を推測することはできない。

そこで本研究では、隔壁の成長と細胞表面観の変化の関係を理解するための基本的な情報として、レンズ状細胞形成過程の各段階に要する時間を明らかにするために、レンズ状細胞形成を始めた細胞の表面観を1時間ごと24時間撮影した。原形質の凝集が始まってから、凝集領域の輪郭が明確になるまでには3~4時間かかり、その後、透明な環状構造が現れるまでには5~7時間かかり、環状構造が消失してから原形質密度が高い部分が広がって均一になるまでには7~9時間かかることが明らかになった。また、原形質凝集領域の輪郭が明瞭になったあとの段階から透明な環状構造が現れるまでに、凝集領域周辺の葉緑体の密度が疎らになったが、その後回復した。

緑藻バロニアのレンズ状細胞の形成途上の隔壁の微細構造

細胞生物学研究室 BRIAN NEO SAU JIN

バロニアの藻体は大きさ数 mm に達する巨大細胞からなる。バロニアの細胞分裂は、表層の原形質が局所的に凝集し、円形の原形質凝集領域の外縁近くから求心的に形成に形成される隔壁によって親細胞から隔てられた子細胞（レンズ状細胞）を形成することにより行われる。この隔壁が形成される過程の、Calcofluor white と Toluidine Blue (TBO) を用いた光学顕微鏡による組織化学的観察によると、形成初期 TBO 陽性の隔壁にはセルロースが含まれておらず、発達に伴いセルロース性の細胞壁の層が隔壁の親細胞側、子細胞側の両側に沈着することが明らかになっている。しかし、このような発達過程を示す隔壁の微細構造は未だ調べられていない。

そこで本研究では、レンズ状細胞の形成途上の隔壁の超薄切片試料を作成し、透過型電子顕微鏡で観察した。その結果、形成途上の隔壁内部には光学顕微鏡観察の TBO 陽性領域に対応すると思われる電子密度の高い領域が観察された。この細胞壁内部領域は、先端部、つまり求心的に発達する隔壁の内縁付近では電子密度が周囲の部分よりも高くなっていたが、隔壁の開口部が閉じたばかりの細胞壁ではそのような傾向は認められなくなっており、最内層に電子密度の高い薄い層が新たに現れていた。また、隔壁は周囲から内縁に向かって薄くなっていたが、内縁に沿って少し膨らんでいた。

緑藻バロニアのレンズ状細胞形成後期における表層微小管の動態
細胞生物学研究室 林 隆斗

巨大細胞性緑藻バロニアの細胞分裂は、表層の原形質が局所的に凝集し、求心的に形成される隔壁によって子細胞（レンズ状細胞）が親細胞から隔てられることにより行われ、レンズ状細胞はその後外側に向かって突出成長を行い、親細胞と同様の楕円～棍棒状の形態に発達する。これらの過程における表層微小管の間接免疫蛍光法による観察により、分裂前の平行配列が、原形質凝集時にランダム配列を経て放射配列になったあと、隔壁形成前に中央部の配列がランダム化し、突出成長時には経線方向に平行配列することが報告されているが、隔壁形成時のレンズ状細胞表面や隔壁における表層微小管の形態は明らかになっていない。

そこで本研究では、隔壁形成期のレンズ状細胞の表層微小管の形態を間接免疫蛍光抗体法により観察した。隔壁形成前に原形質凝集領域の外縁付近の原形質密度が高くなっているが、隔壁形成時には密度の高い部分が内側に広がって、最終的に凝集領域全体の密度が均一になる。隔壁形成前に凝集領域縁辺に観察された放射状の表層微小管と中央部に観察されたランダムな表層微小管は、密度の高い部分が内部に広がる過程において、それぞれ密度の高い部分と低い部分と分布が一致した。一方、形成中の隔壁には細胞表面の外縁部と同様の放射状配列が観察された。

緑藻バロニアのレンズ状細胞形成に対する微小管阻害剤の影響
細胞生物学研究室 東 大智

巨大細胞性緑藻バロニアの細胞分裂では、局所的に凝集した表層の原形質が隔壁により親細胞から切り出され、その細胞（レンズ状細胞）が藻体の外側方向に向けて突出し、親細胞と同様の楕円・棍棒状に成長する。隔壁形成が行われる前に微小管阻害剤 **amiprophos methyl** (APM) で処理することにより、多くの場合、凝集していた原形質が拡散し、レンズ状細胞も形成されなくなることが報告されている。また、APM 処理後 1~2 週間後に原形質が凝集していた部位の親細胞表面が突出する事例がこれまで 3 件報告されているが、正常な細胞分裂における子細胞の突出成長と関連して、本藻の細胞成長の制御機構を考える上で興味深い。

そこで、本研究では、このような細胞分裂を伴わない細胞突出を引き起こす条件を明らかにするため、濃度 0.07, 0.33, 3.3 および 17 μM の APM 処理による細胞の形態変化を実体顕微鏡観察によって調べた。0.07 μM で処理した細胞では原形質が拡散するまでに 3 日以上を要したが、0.33~17 μM では処理をして 1~2 日で拡散した。また、細胞の突出は 0.07 μM では 5 個体中 2 個体で、0.33 μM では 13 個体中 5 個体で、3.3 μM では 8 個体中 1 個体でいずれも処理後 2~3 日後に観察されたが、17 μM で処理した 6 個体では処理後 16 日経過しても細胞の突出は観察されなかった。さらに、0.07 μM で突出が観察された 2 個体では、凝集した原形質が十分に拡散する前に突出が観察された。

渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp.における分裂の最適な培養条件の検討

細胞生物学研究室 藤上 虎太郎

本研究に用いた海産渦鞭毛藻 *Symbiodinium* 属の一種(*Symbiodinium* sp. : Y109 株)は、無殻渦鞭毛藻で、その多くは様々な無脊椎動物と共生し、褐虫藻とも呼ばれる。本種は、宿主から分離・培養すると、遊走細胞と不動細胞のステージが交代する生活環を示す。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は新たな 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。

まず、先行研究で行われていた培養条件を追試し結果、培養温度が比較的高く、明期が長い培養条件において、分裂頻度が高くなると推察された。そのことから、通常培養条件(20°C, 中日)で培養している細胞を温度 28°Cまたは 30°C, 長日(明期 14 時間)の条件で培養し、分裂頻度を計測した。

その結果、28°C条件での培養では細胞分裂した割合は先行研究の結果と同等であったが、培養日数の早い段階で分裂が起こった。また、30°Cで条件の培養では、細胞分裂の割合が大幅に減少した。さらに、これらの条件に加え、遠心処理によって細胞を不動化する時間帯を変えることで分裂頻度への影響の有無を調べるために、明期(20 時)と暗期(22 時)にそれぞれ遠心処理した実験を行った。その結果、明期(20 時)と暗期(22 時)に遠心処理を行った細胞の分裂頻度はコントロールの細胞分裂の頻度と有意な差は認められなかった。

渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp.の不動細胞の細胞微細構造について

細胞生物学研究室 橘 慶人

海産渦鞭毛藻 *Symbiodinium* 属の種は、鞭毛を持ち遊泳を行う遊走細胞期と岩などに固着して動かなくなる不動細胞期を交互に繰り返す生活環を持ち、不動細胞期中に細胞分裂によって増殖することが知られている。しかし、この細胞分裂中の細胞表層構造の変化の詳細は明らかにされていない。本研究では、渦鞭毛藻 *Symbiodinium* sp. (Y109 株)を用いて、細胞分裂中の不動細胞の微細構造を明らかにすることを目的として実験を行った。まず、細胞分裂中の細胞が最も多くなる培養条件を探するため、種々の条件で培養した細胞を固定して光学顕微鏡で観察し、細胞分裂中の細胞の割合を培養条件ごとに比較した。その結果をもとに、細胞分裂頻度が比較的高かった時間帯の不動細胞の細胞微細構造を超薄切片法により透過型電子顕微鏡で観察した。

7つの培養条件を検討し、コントロール条件(明期:暗期=14h:10h, 温度 25°C)と比較して、明暗周期を 12h:12h(条件 1), または 16h:8h(条件 2)に変更した場合と温度を高く(35°C; 条件 3)した場合では分裂率が低下した。また、培地交換時の栄養塩濃度の違いや培地交換前の予備培養の有無(条件 4, 5, 6, 7)を比較した場合、それぞれの条件における分裂率の差はほとんどなく(最大約 6%), 分裂率が高くなる条件ではないことが示唆された。また、上記の条件(条件 4, 5, 6, 7)での培養では、培地交換 3 日後の遠心処理後 8 時間及び 9 時間で細胞の分裂率が最大になることが明らかになった。

透過型電子顕微鏡観察では、分裂中の細胞を観察することはできなかった。しかし、すべての細胞に電子密度の極端に低い結晶質の構造が確認された。これは多くの個体では細胞の外周を中心に散在していたが、一部の個体では塊で局在していることもあった。また、遊走細胞と不動細胞を比較すると、不動細胞は原形質膜の外側に厚さ平均 114.3 μm のペリクル層で覆われているのに対し、遊走細胞は最も外側に原形質膜があり、その内側に膨潤したアンフィエスマ小胞が確認された。また、アンフィエスマ小胞の中には薄いシート状の構造も確認された。

海産渦鞭毛藻 *Gymnodinium pyrenoidosum* は明期には活発に泳ぐ遊走細胞のステージ、暗期には基物に固着する不動細胞のステージを繰り返し、不動細胞の中で分裂し増殖する。これまでに不動細胞の表層構造の変化については明らかにされているが、分裂細胞については研究されていない。本研究では、*G. pyrenoidosum* の分裂細胞の細胞微細構造を明らかにすることを目的として、超薄切片法により透過型電子顕微鏡を用いて観察した。本研究では、明期の遊走細胞を遠心処理し、人為的に不動化して7時間後の細胞と暗期に自然に不動化した暗期開始後8時間の細胞を用いた。

人為的に不動化を誘導した細胞は、分裂していない不動細胞のみであった。それらは原形質膜の外側に二層からなるペリクル（厚さ平均約 19.50 nm のペリクル I と厚さ平均約 46.19 nm のペリクル II）が形成されていた。ペリクルと原形質膜の間は離れており、原形質膜の直下にはアンフィエスマ小胞が形成されていた。また、葉緑体の内部には眼点が存在した。鞭毛の形成は確認できなかった。一方、自然に不動化した細胞は、分裂していない細胞と分裂細胞が観察された。分裂をしていない細胞では、原形質膜の外側にペリクル（厚さ平均約 28.06 nm のペリクル I と厚さ平均約 73.73 nm のペリクル II）が形成されていた。ペリクルと原形質膜は密着しておらず、その空間には鞭毛が形成され、原形質膜の直下にはアンフィエスマ小胞が形成されていた。葉緑体の内部には眼点が存在し、鞭毛基部領域では原形質側に凹み、その領域を囲むように眼点が配列していた。分裂細胞でも同様に、原形質膜の外側にペリクルが存在し、ペリクル I は厚さ平均約 33.86 nm、ペリクル II は厚さ平均約 92.09 nm であった。その他の構造は、分裂していない細胞と同様であったが、鞭毛は二つに分かれた娘細胞のそれぞれに形成されていた。また、細胞の中央に分裂面が形成され、扁平な小胞が並んでいるように観察された。しかし、原形質膜が貫入しているような像はほとんど観察できなかった。

スナガニ類巣穴の機能解明に向けた巣穴内行動観察法の開発

古生物学研究室 陣野原 寛之

スナガニ類 *Ocypode* は、世界各地の熱帯～温帯域の砂浜海岸に広く分布する十脚目甲殻類である。このスナガニ類は、日中は多くの時間において砂中に形成した巣穴内に潜伏し、主に夜間に砂浜の表面に現れ摂食等の活動を行う。その巣穴には、枝分かれを伴わない J 字型や上部が二股にわかれた Y 字型など様々な形態が知られる。

スナガニ類については、生態や分布、巣穴の形成環境と形態に関する研究などが行われてきたが、巣穴の機能形態に関しては調べられていない。これは、巣穴が堆積物中に形成されるため、直接的な観察が困難なことが理由のひとつであろう。筆者は、スナガニ類巣穴の機能形態の解明を大きな目的に研究を行っているが、本研究ではその第一歩として堆積物中に形成された巣穴内におけるスナガニ類の行動観察法の確立を試みた。

巣穴内行動の観察は、高知県土佐市向萩（こおぎ）の浜で採集したスナガニ *O. stimpsoni* とツノメガニ *O. ceratophthalma* を対象とした。これらを1個体ずつ、海水で十分に湿らせた生息地の砂をいれた薄い水槽（透明アクリル板で作成）で飼育することで、その側面に現れた巣穴断面からの観察を試みた。その内容は、肉眼でのスナガニ類の個体や巣穴形態の観察のほか、デジタルカメラやデジタルビデオカメラで撮影した水槽側面の静止画像やビデオを用いた観察である。そして、実験を行うごとに、スナガニ類の巣穴がより良く観察できるよう、また、スナガニ類が自然条件に近い巣穴を形成するように水槽の大きさや飼育法を改良した。

その結果、適切なサイズの水槽を用いることで、スナガニ類が形成した巣穴断面と巣穴内行動を当初の実験に比べてよく観察できるようになった。また、当初は単純な J 字型の巣穴や、水槽の形態に大きく支配されたであろう形態の巣穴が形成されていたが、改良につれて、より複雑な Y 字型の巣穴も形成されるようになった。他にも、スナガニ類が脱皮時に巣穴末端部で特徴的な膨らみをつくることなどが明らかになってきた。今後は、この成果を生かして更に巣穴内行動の観察を続け、スナガニ類がつくる巣穴の機能形態学的特徴について明らかにしていきたい。

ポリスチレン人工ナノ粒子による底生有孔虫 *Ammonia veneta* への影響

分子古生物学研究室 垣本 聖尚

ポリスチレン(PS)は生活用品など高い需要の一方で廃棄量も多く、マイクロからナノサイズへと小さく分解されて海洋中に拡散し、生物へ毒性をもたらすことが国際的に懸念されている。こうした海洋生物に対する毒性を検証するには、世界中の沿岸域に広く分布し、仮足を用いて周囲の物質を集める特性を持った底生有孔虫がモニター生物として適している。そこで本研究では、3種類のPS人工ナノ粒子を添加した環境下で底生有孔虫を長期培養し、異なる添加濃度における有孔虫の成長率・死亡率や奇形を調べ、PS粒子がもたらす毒性について検証することを目的とした。

本研究では、底生有孔虫 *Ammonia veneta* のクローン培養株を用い、非修飾PS・正に帯電するアミン基修飾ポリスチレン(PS-NH₂)・負に帯電するカルボキシル基修飾ポリスチレン(PS-COOH)のナノ粒子を添加した培地を1ppmと100ppmに調整し、コントロールと比較しながら5週間の曝露実験を行った。有孔虫個体各々の成長率をチャンバーの増加数で評価し、クローン生殖による繁殖の観察、さらに実験個体の殻のSEM観察とEDS分析を行った。その結果、低濃度(1ppm)では、いずれの環境でも有孔虫の成長が認められたが、高濃度(100ppm)ではPS-NH₂・PS-COOHナノ粒子添加環境の個体は成長率が有意に低かった。低濃度環境や非修飾PSの高濃度環境では、コントロールと同様にクローン繁殖が認められた。一方、添加濃度に関係なく、PS粒子添加環境で培養した個体には、奇形や殻の損傷が認められた。使用したPSナノ粒子は、サイズに大きな差がないものの、電荷の違いやEDS分析から微量の金属元素を含むことがわかった蛍光が付加されている。したがって、PSナノ粒子は、低濃度環境では有孔虫の成長・繁殖への影響は小さいものの、殻の損傷や奇形に達するストレスを与えていることが考えられた。また、高濃度環境では、PSナノ粒子の修飾・非修飾で成長などに有意差があったことから、修飾基による電荷・付加された蛍光物質によって毒性が強くなっていることが示唆された。

有孔虫の殻形成関連遺伝子・Ca²⁺膜輸送体の発現量と温度の関係

分子古生物学研究室 三浦 功暉

有孔虫の炭酸塩(CaCO₃)殻は微量のMgを含み、そのMg/Ca比は水温と相関があるため、過去の水温の指標として用いられている。有孔虫殻のMg量は、海水中に溶存するMgより大幅に少ないことから、有孔虫は能動的にMg²⁺を排出し、Mg含有量の低い殻を形成していると考えられていた。しかし、最近のトランスクリプトーム解析から、有孔虫はCa²⁺輸送の代謝系を発達させ、Ca²⁺膜輸送体によって能動的にCa²⁺を殻形成場へ放出することで、海水中のMg/Ca比によらず、低Mg-CaCO₃殻を形成することが示唆された。そこで、本研究では、Ca²⁺膜輸送体の働きが水温によって変化することで、代謝産物である殻のMg/Ca比を制御しているという仮説をたて、細胞膜上のCa²⁺輸送体であるPMCA(plasma membrane calcium ATPase)遺伝子の水温に対する発現量の変化を検証し、その結果と殻のMg/Ca比を比較した。

本研究では、底生有孔虫 *Ammonia veneta* の培養株を用い、18°C、23°C、26°Cの3つ異なる水温下で培養した。殻形成を始めた個体を取り出し、個体別にcDNA合成を行い、リアルタイムPCR法によってPMCA遺伝子の発現量を測定した。シングルセルの遺伝子発現では個体差が生じるため、殻非形成時と殻形成時で定常的に発現が見られる2つの遺伝子を使用し、PMCA遺伝子の発現量を規格化した。その結果、PMCA遺伝子は、18°Cから26°Cにかけて水温が高くなるほど発現量が減少していることが確認された。また、同じ3つの温度帯で培養した*A. veneta*の殻試料を用い、殻のMg/Ca比を分析した結果、Mg/Ca比と水温に正の相関関係が認められた。このように、水温に対するPMCA遺伝子の発現量の変化と殻のMg/Ca比の変化は、各々負と正の相関があることがわかった。したがって、Ca²⁺膜輸送体の発現量が水温の上昇と共に減少することで、殻形成場へのCa²⁺の排出が抑えられ、殻中のMg/Ca比が大きくなることが示唆された。

浮遊性有孔虫における共生渦鞭毛藻遺伝子型構成の夏季冬季間の比較

分子古生物学研究室 久木田 健悟

浮遊性有孔虫には、微細藻類と光共生関係をとることによって、生態的分布などに違いを持つ種が存在する。しかし、こうした種は、約1ヶ月間の生活環の中で、配偶子形成時に共生藻を栄養源として消化してしまうため、娘世代は新たに共生藻を環境中より獲得する必要があると考えられている。また、微細藻類の環境中の種組成には季節性変動がある。そのため、浮遊性有孔虫の共生藻遺伝子型構成は、環境中の微細藻類の組成に影響され、世代や季節ごとに異なる可能性がある。そこで本研究は、夏季と冬季に同所的に産した浮遊性有孔虫の同一種について、共生藻遺伝子型の構成を比較し、宿主-共生関係の季節間の変化について検証することを目的とした。

本研究では、高知県土佐湾で夏季と冬季に採集された浮遊性有孔虫 *Globigerinoides ruber* Type Ia を用い、宿主細胞内にある共生渦鞭毛藻 *Pelagodinium beii* を対象にリボソームの 5.8S から LSU (Large Subunit) 領域を PCR 法で増幅し、サブクローニングで得た各クローンの塩基配列について分子系統解析を行った。夏季宿主6個体から119個、冬季宿主8個体から64個の共生藻クローンの塩基配列を得て分子系統解析を行った結果、夏季宿主個体から3つの共生藻遺伝子型、冬季宿主個体から4つの共生藻遺伝子型が同定された。これらのうち、夏季と冬季宿主個体から、既知の4つの遺伝子型とクレードを形成しない新規の遺伝子型が各々1つずつ発見され、*P. beii* の遺伝的多様性が高いことが判明した。さらに、冬季宿主個体のみから同定された共生藻遺伝子型が存在した。また、ほとんどの宿主1個体が単一の共生藻遺伝子型を持つことから、宿主が生活環の中で随時共生藻を環境中から獲得するのではなく、共生藻自体が宿主細胞内で増殖していると考えられた。このように、本研究から、共生藻遺伝子型構成は季節間で異なり、宿主個体の生活環に沿って維持されている可能性が示唆された。

原生生物繊毛虫テトラヒメナと肉質虫アメーバに対するマイクロプラスチックの影響について

動物生理学研究室 松崎こなみ

海に流出したマイクロプラスチックは、食物連鎖により生物濃縮され、多くの生物に悪影響を及ぼすとして世界的に問題視されている。一方で、淡水域に生息する微生物に対するマイクロプラスチックの影響についてはあまり研究されていない。そこで本研究では、原生生物繊毛虫テトラヒメナと肉質虫アメーバにおける蛍光ビーズ（ポリスチレン粒子、粒径 0.7-0.9 μm ）の取り込みについて検討した。蛍光顕微鏡による観察の結果、蛍光ビーズは、テトラヒメナとアメーバそれぞれにおいて取り込まれ、24時間以上も体内に残留していることが確認された。さらには、蛍光ビーズを取り込んだテトラヒメナをアメーバに与えたところ、アメーバはテトラヒメナを捕食し、蛍光ビーズはアメーバの体内に48時間以上も残留していることが確認された。本研究では、蛍光ビーズの微生物に対する直接的な影響は確認できなかった。しかし、テトラヒメナが取り込んだ蛍光ビーズがアメーバの体内に長く保持されたことから、淡水域に生息する微生物においても、マイクロプラスチックが食物連鎖により生物濃縮され、多くの生物に悪影響を及ぼす可能性が示唆された。

原生生物絨毛虫ステルキエラの培養法の確立をめざして
動物生理学研究室 中村 咲良

原生生物絨毛虫ステルキエラは、大核分化の研究に広く使用されている。入手したステルキエラのシストは、先行研究で報告されている方法では脱シストさせることができなかった。そこで本研究では、将来的にステルキエラを研究材料として利用できるようにするために、本種の培養法を確立することを目的として、シスト化と脱シストを誘導するために必要な条件を明らかにするための基礎実験を行った。ステルキエラのシスト化は、細胞を低密度で飢餓状態にすることにより効率よく誘導することができた。一方、脱シストは、4%酢酸ナトリウム水溶液を加えることで誘導することができた。脱シスト率は誘導後 30 時間で約 70%であった。いずれの誘導方法においても最適条件を検討する必要があるが、今後、ステルキエラを用いた研究を行うにあたって安定的な材料供給が可能になったと言える。

原生生物絨毛虫コルポーダの増殖シストにおける大核の動態について
動物生理学研究室 高木 元斗

原生生物絨毛虫コルポーダは、水が豊富にある環境下では栄養細胞として生存し分裂により増殖する。培養条件下では、脱シスト誘導により休眠シストから脱出した栄養細胞は、薄膜に囲まれた増殖シストを形成し、通常 2 回の連続した細胞分裂を行い 4 個の娘細胞を生じる。この栄養細胞の増殖過程における形態変化を観察した先行研究はあるが、大核の動態の詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、脱シスト後の栄養細胞が 2 回の細胞分裂を経て娘細胞を生じるまでの大核の動態および DNA 量の変化を明らかにすることを目的とした。各栄養段階の細胞を DAPI 染色して大核 DNA 量を測定し、その時間経過に伴う相対変化のグラフ化を試みた。脱シスト直後の栄養細胞は、1 度目の細胞分裂直前までに大きく成長し、また、大核 DNA 量は約 4 倍に増加した。増殖シスト形成後は、 14 ± 0.7 分後までに 1 度目の細胞分裂が完了し、大核 DNA 量は半分減少した。続く 10 ± 0.7 分の間に 2 度目の細胞分裂が完了し、大核 DNA 量はさらに半分減少した。これらの結果より、増殖シストより脱出した娘細胞は、脱シスト直後の栄養細胞の大核 DNA 量と同量になると考えられる。コルポーダの増殖シストにおける細胞分裂では、短時間で細胞周期が 2 周するのではなく、あるいは分裂期が 2 度続くのでもなく、大核に含まれる断片化された小核ゲノムのコピーがランダムに繰り返し複製されることで大核 DNA が 2 回の細胞分裂に十分な量まで増加していると考えられる。

原生生物絨毛虫コルポータの休眠シスト形成時における集合性について
動物生理学研究室 廣瀬 公亮

原生生物絨毛虫コルポータが休眠シストを形成する際、容器の中で複数の個体が重ならず平らに広がるように集合する様子が観察されている。本研究では、このコルポータの休眠シストの集合がどのように形成されるか検討した。また、集合を形成することの利点について考察した。

様々な条件でコルポータのシスト誘導を行い、休眠シストの集合が形成される様子を観察した。その結果、コルポータは培養容器の縁やガラスビーズなどの障害物、あるいは先に形成された休眠シストに近づき、その周辺で休眠シストを形成することが分かった。また、先に形成された休眠シストの上に積みあがるのではなく横に並ぶように広がっていくため、できあがった休眠シストの集合は平らになることが分かった。コルポータは、休眠シストの集合を形成し、集団で周囲の障害物に固着することにより、再び水環境が出現する可能性の高い場所にとどまることができると考えられる。また、集合することによってつくられる個体同士の隙間に保水性を持たせている可能性も考えられる。

原生生物絨毛虫コルポータにおける幼若シストの構造的機能的評価
動物生理学研究室 松岡 千佳

原生生物絨毛虫コルポータは、水環境では栄養細胞の状態で生息し、水たまりが干上がる前に休眠シストへと形態変化する。この休眠シストは、乾燥、高温、凍結に耐性をもつ。先行研究では、2週間以上経過したシストを成熟シストと定義付けているが、この2週間の間にどのような変化が起こっているか明確にされておらず、成熟シストの定義は曖昧であると言える。そこで本研究では、成熟前のシストを幼若シストとし、その構造的機能的評価により成熟シストの新しい定義付けを行うことを目的とした。

構造的な変化の観察より、シスト誘導から3時間後にシストは最大となり、6時間後に球形に近づき、そして48時間後に運動性が失われたため、これら3つの時間を幼若シストと成熟シストの区切りとした。続いて、機能的評価として乾燥耐性の有無を調べた。その結果、シスト誘導から3時間後、6時間後のシストは脱シスト率が0%であったため乾燥耐性は無いと判断した。シスト誘導から48時間後のシストの脱シスト率は、シスト誘導から2週間後のシストの脱シスト率と比べると有意に低かったが、0%ではなかったため、乾燥耐性をもつシストになりつつある時間と判断した。したがって、シスト誘導から48時間後までのシストはすべて幼若シストであり、成熟シストになるためにはさらなる時間が必要であることが明らかになった。しかし、シスト誘導から48時間後のシストは構造的に成熟シストに近づきつつあることが示唆された。

ニホンジカにより衰退した林床植生の復元に関する研究

植物生態学研究室 大山 秀太

防鹿柵は、ニホンジカ（以下、シカ）による植生被害の対策として有効であるが、長期間シカの採食に曝された場所では、防鹿柵を設置しても元の植生に回復しない場合がある。四国山地三嶺さおりが原(標高 1160 m)では、衰退した林床植生の回復を目的として、植生被害が深刻化する前に設置された防鹿柵内から採取した植生ブロックと表層土壌の移設試験が行われている。試験地には、2021年10～11月に設置された防鹿柵(柵1～4)に、2021年11月と2022年3月にクルマムグラ群落とマネキグサ群落の植生ブロック移植区、マネキグサ群落の表層土壌移設区、対象区が各20区(5区×4柵)設けられ、2022年9月時点で移設区では対象区に比べて多くの種が回復した。本研究では2023年4～9月に移設後2年目の移設区とその周辺の植生回復状況を調査し、植生回復に及ぼす移設時期、開空度、攪乱の有無の影響を検討した。植生調査の結果、移設区では1年目に確認された種に加え、新たに草本1種が確認された。植生ブロック・表層土壌移設区において、草本種の被度と植生高が1年目調査時よりも高い値を示した。さらに、移設区の周囲で、移植した種の開花・結実が観察された。先行研究では柵設置から数年後に回復した種や、移設した植生が数年後に衰退したことが報告されているが、本試験地では2022年に回復した種は順調に生育し、移設植生周辺の植生回復の促進へのソースとして機能していると考えられる。

高知県物部川・仁淀川における植物群落構成種の生態的特性と立地環境

植物生態学研究室 田淵 啓真

河川氾濫原では、出水による物理的攪乱の規模・頻度と水分ストレスの組み合わせが異なる多様な立地環境が形成される。この2つの環境要因(攪乱とストレス)から、河川に生育する植物はしばしばGrimeの生活史戦略性(競争戦略性、耐ストレス戦略性、荒れ地戦略性)で説明される。河川砂礫堆上の植物群落について、種組成と立地環境、優占種の生態的特性について多くの研究が行われている。しかし、河川植物の生活史戦略スペクトル及び立地環境と生態的特性の関係の知見は十分でない。本研究の目的は、高知県物部川・仁淀川の砂礫堆上の植物群落を対象に、構成種の生態的特性(生活史戦略性、種子重量、最大草丈)と立地環境の関係を明らかにすることである。当該河川の63地点で植生調査を行い、環境データとして表層堆積物のサイズ(平均粒径、淘汰度、大礫長径中央値、表層礫被覆率)と化学性(pH、EC、硝酸態窒素、アンモニア態窒素、リン酸、カリウム、カルシウム、マグネシウム)を測定した。生態的特性データとして、出現種88種中64種の植物標本の標本データをもとに、葉面積、葉乾物含有量、比葉面積を求め生活史戦略性を評価した。また、図鑑情報をもとに、種子重量と最大草丈まとめた。生活史戦略性のいずれかが50%以上の種は、競争戦略9種、耐ストレス戦略29種、荒れ地戦略19種で、優占種・普通種では耐ストレス戦略種が多かった。植物群落の形質データと環境データとの関係をRLQ解析とFourth-Corer検定で解析した結果、表層礫体積率の増加とともに荒れ地戦略種の優占度が増加する一方、大礫長径の増加とともに競争戦略種の優占度が減少する傾向が認められた。耐ストレス戦略種では表層堆積物のサイズと優占度に明瞭な関係性は認められなかった。種子重量では、表層堆積物の平均粒径が小さくなると種子重量の大きい種の優占度が増加した。物部川・仁淀川で耐ストレス戦略種が多かった要因として、砂礫堆上での植物の生育には水分ストレスが強く影響している可能性とが考えられた。種子重量と表層堆積物の平均粒径に関係が認められたことから、流水による種子散布が砂礫堆上の植物分布に影響していると考えられた。

高知県の常緑広葉樹林における維管束着生植物12種の着生高度と光環境との関係
植物生態学研究室 松原 有輝

樹木に固着して生育する着生植物は、種によってホスト樹木内での着生高度が異なることが知られており、着生高度の違いはそれぞれの種の光・水分要求性を反映していると考えられている。しかし、種による光・水分要求性の違いについて十分な知見は得られていない。本研究の目的は維管束着生植物12種の着生高度と光環境との関係を明らかにすることである。調査は高知県四万十町と香美市の常緑広葉樹林で行った。シダ植物6種（コウヤコケシノブ、シノブ、イワヤナギシダ、ノキシノブ、ヒメノキシノブ、マメヅタ）、ラン科植物5種（オサラン、カヤラン、セッコク、ムギラン、マメヅタラン）、ユキノシタ科植物1種（ヤシャビシヤク）を対象とした。調査ではホスト樹木内で各種が分布する最下着生高度を測定した。また光環境の指標として、最下着生高度での全天写真を撮影した。撮影した画像は画像処理ソフトで2値画像（空、その他）に変換し、全天写真解析プログラム **Canopon** で空隙率を求めた。調査の結果、各種の最下着生高度には差が認められ、葉が薄く光合成速度が速いと考えられる一部のラン科植物とヤシャビシヤク、シノブの着生高度は高い傾向にあった。しかし、空隙率と着生高度との線形性が明瞭ではなく、各種の最下着生高度の最小値における空隙率には種間での差がほとんど認められなかった。一般に、森林内では地上高度とともに光環境は改善する。しかし、本研究で調査した着生植物は、幹の背後や枝の直下に固着していることがあった。このため、着生高度が高くなっても光環境が改善されなかったと考えられる。以上のことから調査した12種について各種の耐陰性には違いがないこと、各種の着生高度の差異には光環境以外の要因が影響している可能性が考えられた。

高知市朝倉のごみステーションにおけるカラスの食い荒らしに関する研究
植物生態学研究室 山田 菜月

日本にはカラス属に分類される鳥が5種類存在するが、我々がよくカラスと呼んでいる種類はハシブトガラス *Corvus macrorhynchos* とハシボソガラス *Corvus corone* である（以下、両種をカラスとする）。人が多い都市部ではカラスと人間との間に様々な衝突が起きており、その中でも最も深刻とされている問題がゴミ散乱被害である。食い荒らし対策のために、ゴミ袋や収集容器の変更を行っている自治体もあるが、カラスが好む環境や季節などの知見は必ずしも十分ではない。そこで本研究は、カラスがどのような場所を好み、どこで食い荒らしの被害が発生するのかを明らかにすることを目的に行った。調査は、高知市朝倉において、森林からの距離や住宅タイプの組み合わせから4つのルートを設定した。調査地は周辺環境の違いを考慮して、計122か所を設定した。調査期間は2023年5月から12月にかけて、1回につき1つのルートを6時から12時まで2時間おきに3度巡回した。調査では、ゴミ量やゴミ袋の数（以下、袋数）、袋から引き出されたゴミの散乱数、周辺環境（一軒家の別、人通り）などを集計し、他に土地利用図から距離別の森林率も取得した。各調査のゴミ散乱の有無と袋数、収集容器のタイプ、通行人数、周辺環境そして季節との関係について、一般化線形混合モデルと一般化加法モデルを用いて解析した。調査の結果、各地点8~11日（合計36日）の調査を行い、122地点のうち36地点で食い荒らしの被害が確認された。解析の結果、季節・袋数・通行人数・森林率・収集容器のタイプの効果が検出されたが、通行人数・森林率・収集容器のタイプの効果は他に比べて小さかった。応答変数をゴミの散乱数にし解析したが、どの変数も選択されなかった。以上より対策としては、カラスが袋数を確認できないような工夫を収集容器に施すことが考えられる。また、春に被害が増加した背景には、住民の入れ替わりが考えられる為、新規住民へのルール普及の徹底も重要であろう。

植物における D-アミノ酸アミノ基転移酵素の機能と分布

比較生化学研究室 桑田 聖菜

近年の研究により、D-アミノ酸 (D-AA) が、細菌だけでなく真核生物にも広く分布していることが明らかになってきた。細菌は、既存の D-AA と 2-オキソ酸とのアミノ基転移反応を触媒することで、新規 D-AA を生合成する D-アミノ酸アミノ基転移酵素 (DAAT) を用いて、多様な D-AA を合成している。近年、真正双子葉類のシロイヌナズナから、真核生物では初となる DAAT 遺伝子が報告された。

本研究では、植物に存在する DAAT 遺伝子の分布と酵素機能の確認を目的とし、真正双子葉類であるパチョリ (*Pogostemon cablin*)、ヒマワリ (*Helianthus annuus*)、ミヤマハタザオ (*Arabidopsis lyrata*) に存在するシロイヌナズナ DAAT の相同遺伝子について、大腸菌発現系を用いたりコンビナントタンパク質の作製と酵素活性の確認を行った。パチョリ DAAT は不溶性タンパク質として発現したが、ヒマワリ DAAT、及びミヤマハタザオ DAAT は可溶性タンパク質として発現させることができた。精製した 2 種類の DAAT と 3 種類のアミノ基受容体 (ピルビン酸、 α -ケトグルタル酸、オキサロ酢酸) を用い、18 種類の D-AA に対しての DAAT 活性の有無を確認した。その結果、ピルビン酸を用いた場合、D-Pro を除く全ての D-AA と反応して D-Ala が生成され、DAAT 活性が示された。ヒマワリ DAAT はどの D-AA を基質にしたときでもミヤマハタザオ DAAT より活性が高くなった。また、ヒマワリ DAAT は D-Glu、ミヤマハタザオ DAAT は D-Trp に対し、最も高い活性を示した。さらに、18 種類の D-AA における活性の相関はヒマワリとミヤマハタザオの DAAT で似通っていた。アミノ基受容体として α -ケトグルタル酸、オキサロ酢酸を用いた場合は、ヒマワリ DAAT、ミヤマハタザオ DAAT 共にどの D-AA に対しても活性を示さなかった。今後は他の分類群の植物についても DAAT 遺伝子の単離と酵素機能の確認を行い、植物界における DAAT の分布と機能を明らかにしていく。

海綿動物に存在するアミノ酸ラセマーゼの機能解析

比較生化学研究室 沼 直樹

D-アミノ酸は、アミノ酸ラセマーゼの異性化反応により、L-アミノ酸から合成されることが知られている。特に、共通の祖先遺伝子をもつセリンラセマーゼ (SerR) とアスパラギン酸ラセマーゼ (AspR) が動物界に広く分布している。そして、AspR 遺伝子は 150-152 位に存在する 2 個または 3 個のセリン残基の獲得によって、SerR 遺伝子から AspR 遺伝子へと進化したとされている。また、海綿動物の六放海面綱と普通海綿綱ではアスパラギンラセマーゼ (AsnR) 活性、及び AspR 活性の両方を有するアスパラギン/アスパラギン酸ラセマーゼ (Asn/AspR)、及び AsnR の存在が確認されている。これまでの研究で、海綿動物 *Amphimedon queenslandica* の Asn/AspR では、150-152 位のアミノ酸残基を含む複数の領域が AsnR 活性に関与することが報告されていた。本研究では、海綿動物のアミノ酸ラセマーゼの酵素機能を確認することと、*A. queenslandica* Asn/AspR の AsnR 活性に関与する領域を特定することを目的とした。まず、海綿動物から発見されていた SerR ホモログ (SerRH) 遺伝子のうち、普通海綿綱から多骨海綿目の *Mycale grandis* SerRH、磯海面目の *Halichondria panicea* SerRH1 及び SerRH2、淡水海面目の *Lubomirskia baikalensis* SerRH1 について、酵素機能の確認を行った。その結果、*M. grandis* SerRH は AspR、*H. panicea* SerRH1 は AsnR、SerRH2 は SerR、そして、*L. baikalensis* SerRH1 は AspR であると推測された。また、*A. queenslandica* Asn/AspR、及び *A. queenslandica* SerR の変異体酵素の機能解析を行い、150-152 位を含む複数のアミノ酸残基、特に 152 位のアミノ酸残基が L-Asn に対する基質特異性に重要であることを明らかにした。

日本産フウリュウオ属魚類の分類学的研究

海洋生物学研究室 小崎 翔馬

アンコウ目アカグツ科フウリュウオ属 (*Malthopsis* Alcock, 1891) は、インド洋から西太平洋の大陸棚の下部から斜面上部の水深およそ 700 m にかけて出現し、通常は水深 200–500 m の海底に生息する小型の底生性魚類である。本属は 25 名義種 22 有効種が知られ、日本にはカギフウリュウオ *M. mitrigeria* Gilbert and Cramer, 1897, ゴマフウリュウオ *M. tiarella* Jordan, 1902, ワヌケフウリュウオ *M. annulifera* Tanaka, 1908, フウリュウオ *M. kobayashii* Tanaka, 1916, そしてコワヌケフウリュウオ *M. gigas* Ho and Shao, 2010 の 5 種が分布する。本属は本科の中では、体盤が三角形で吻端と前鰓蓋骨棘がよく尖ることで容易に識別できる。最近、本属では多くの種が記載され、日本産の種も再検討が必要である。本研究では日本産の本属 503 標本の形態的特徴を調査し、出現種の解明とそれらの識別形質の検討を目的とした。その結果、カギフウリュウオと他 4 種は前鰓蓋骨の前向棘数 (2 vs. 0–1) で、コワヌケフウリュウオとワヌケフウリュウオは肛門と腹鰭間の骨質瘤状物の分布 (密 vs. ない, まばら), 背鰭と胸鰭の軟条数 (5–6 vs. 4–6; 12–14 vs. 11–12) などにより異なり、従来の臀鰭後端と尾鰭基底の位置関係は成長変異により識別形質とはならない。フウリュウオとゴマフウリュウオは眼球上部の鱗の分布 (密 vs. 1 列のみ), 背鰭と胸鰭の軟条数 (5–6 vs. 6–7; 11–12 vs. 12–13) などにより識別できるが、従来の前頭部の骨質瘤状物の分布は個体変異が大きく、尾部の茶褐色横帯 (不明瞭 vs. 明瞭) には成長変異があることが判明した。また、土佐湾産の 2 標本は日本産の既知種とは異なり、日本初記録となる *M. formosa* Ho and Koeda, 2019 (タイプ産地は台湾南部) であることを発見した。

日本産ウラナイカジカ属魚類の分類学的研究

海洋生物学研究室 澤入 圭吾

ウラナイカジカ属魚類 (*Psychrolutes*) は世界で 11 種が知られ、日本周辺にはウラナイカジカ *P. paradoxus* Günther 1861, クマノカジカ *P. macrocephalus* (Gilchrist 1904), ニュウドウカジカ *P. phrictus* Stein and Bond 1978, そしてトサカジカ *P. microporos* Nelson 1995 の 4 種が分布する。本属は体が柔軟で分類形質に乏しく、またトサカジカは本属では特有な反赤道分布をもつため、日本産とニュージーランド産の個体が別種の可能性があると考えられた。本研究では日本産の本属の分類形質を明確にし、日本産とニュージーランド産のトサカジカの標本を再検討することを目的とし、高知大学 理工学部 (BSKU) が所蔵する本属 59 標本を観察した。その結果、これまで 19 から 23 とされてきたウラナイカジカの胸鰭鰭条数が 18 の個体を発見した。また、トサカジカと他 4 種を分けるとされた主上顎骨後端が眼の前縁に達しないという形質は有効ではないこと、トサカジカの下顎感覚孔付近には小皮弁が円状に分布することが判明した。日本産とニュージーランド産のトサカジカの標本を比較した結果、下顎先端の感覚孔が 1 個で管状に伸長する点で共通したが、日本産では感覚孔周辺には円状に小皮弁が集まり、感覚孔が極めて小さい。一方、ニュージーランド産では下顎の感覚孔周囲に小皮弁が密集せず、あっても非常に小さく、感覚孔自体は日本産に比べ明瞭に大きい。トサカジカの原記載にあるニュージーランド産のホロタイプの線画には、小皮弁が円状に密集する状態が描かれておらず、記述にもない。このことから、日本産とニュージーランド産の個体は別種の可能性がある。

ヒシマトウダイ属魚類の分類学的研究

海洋生物学研究室 時田 晟希

ヒシマトウダイ属 *Xenolepidichthys* Gilchrist, 1922 は、マトウダイ目ヒシマトウダイ科に分類される小型の深海性魚類（最大体長 15 cm）で、一様に銀色で菱形の体の体側に多数の円形黒斑をもつ。本属にはヒシマトウダイ *X. dalgleishi* Gilchrist, 1922（タイプ産地は南アフリカ沖）と *Grammicolepis squamilineatus* Mowbray, 1927（タイプ産地はカリブ海ベリーズ沖）の 2 名義種が知られ、現在は前者が有効種で、後者はその新参異名とされる。ヒシマトウダイは三大洋の沿岸部に広く分布し、水深 90–900 m から記録がある。本属は昨年度の坂本（未発表）の卒業研究により、頭部後方背縁の形状から 3 タイプに分けられた（直線的、膨らむ、へこむ）。本研究では、南日本の太平洋沿岸沖、南フィジー海嶺、南アフリカ沖、オーストラリア西岸、そしてスリナム・ギアナ沖の中西部大西洋で採集された 73 標本を調査した。また、公開された本属の DNA バーコーディング領域の遺伝子情報（BOLD Systems）とそれらの証拠標本の画像から、頭部後方が直線状および膨らみをもつ標本は、遺伝的には同種と判明した。そのため、頭部後方が直線状あるいはやや膨らむ 67 標本を *X. sp. 1*、へこみをもつ 6 標本（スリナム・ギアナ沖産のみ）を *X. sp. 2* とした。これら 2 種は次の 4 形質の組み合わせにより識別できることが新たに判明した：側線有孔鱗数は *X. sp. 1* では 70–77 vs. *X. sp. 2* では 78–83；眼上の黒斑は線状 vs. 円形またはない；体側上部の複数の黒斑は山型に配列 vs. 二峰型に配列。さらに、*X. dalgleishi* と *G. squamilineatus* の原記載と原図（前者では頭部後方が膨らみ、後者では直線状）の情報は、*X. sp. 1* の特徴に一致し、両名義種の異名関係を支持する。一方、*X. sp. 2* はいずれの名義種の特徴とも一致しないため、未記載種の可能性が高い。

マトウダイ属魚類の分類学的研究

海洋生物学研究室 松本 恭也

マトウダイ科マトウダイ属 *Zeus* Linnaeus, 1758（6 名義種を含む）は、地中海を含む三大洋の熱帯から温帯の浅海から水深 400 m の海底付近に生息し、水産重要種であるマトウダイ *Zeus faber* Linnaeus, 1758（三大洋、日本にも分布）と *Zeus capensis* Valenciennes in Cuvier and Valenciennes, 1835（南アフリカ沿岸の固有種）の 2 種が有効とされる。本属魚類は口が大きく前方によく突出し、体側に顕著な 1 個の円形黒色斑があり、背鰭軟条部と臀鰭の基底に骨質棘状板が並ぶなどの特徴をもつ。Barcode of Life Data System (BOLD) で公開された多数の *Z. faber* の COI 遺伝子の部分領域（455bp）の解析から、大西洋とインド・太平洋間で明瞭に異なる 2 つのクレードを示す分岐図が得られた。昨年度に引き続き、本研究では三大洋から採集された本属の 80 標本を形態学的に調査した。その結果、*Z. faber* と同定される標本群を 2 種に分類できる有効な識別形質は発見できなかった。しかし、文献調査からは *Z. faber* の稚魚期に出現する背鰭と尾鰭基底の黒色素胞（大西洋産ではある vs. インド・太平洋産ではない）や体側後方の濃暗色帯の数（大西洋産では 4 vs. インド・太平洋産では 3）に差異があることが判明した。さらに、日本産と一部アフリカ北西岸・オーストラリア産含む *Z. faber* の標本群では、標準体長に対する眼窩-角骨長、肛門部前長、両眼間隔、上顎長、そして下顎長など多くの計測形質において、その割合が成長に伴い減少する成長変異が認められた。*Zeus faber* と *Z. capensis*（2 標本）との比較から、従来の識別形質に加え、標準体長に対する眼窩-角骨長の割合（28.6–36.9% vs. 22.8–23.7%）と肛門前長（56.7–77.5% vs. 52.5–54.0%）などの差異が新たに判明した。