

平成 20 年度

日本水産学会九州支部  
総会・大会

講演要旨集

日 時：平成 21 年 1 月 24 日（土）

総 会 13:00 ～ 13:30

大 会 13:30 ～ 17:00

場 所：長崎大学水産学部

第 1・第 2 講義室

日本水産学会九州支部

平成 20 年度  
日本水産学会九州支部総会・大会プログラム

日 時：平成 21 年 1 月 24 日（土）13:00～17:00  
場 所：長崎大学水産学部 第 1・第 2 講義室

第 1 講義室

- 13:00 総 会
- 13:30 1 ウニ殻含有ナフトキノン色素の HPLC による定量  
○柚木給美・幡手英雄・桑原 壘・山波千春・興津亮太・村田 寿（宮崎大農）
- 13:45 2 ウニ生殖巣含有ナフトキノン色素の抽出および HPLC 分離  
○柚木給美・幡手英雄・桑原 壘・村田 寿（宮崎大農）
- 14:00 3 ドジョウ魚体からのケラタン硫酸様物質の分離とその化学的性質  
○吉永憲司・木幡進（八代高専）・柘植圭介・吉木政弘・吉村臣史（佐工技）・栗原正日呼・浜辺裕子・久保姉理華・墨利久（八代高専）
- 14:15 4 ヒメダカにおける眼中ビタミン A 類の光による消長  
○松本綾乃・田中淑人（鹿大水）
- 14:30 休 憩
- 14:45 5 スナヤツメ組織からの M20A ジペプチダーゼの分離精製  
○奥理尋・早川武彦・馬場杏子・安藤清一・山田章二（鹿大水）
- 15:00 6 スナヤツメ M20A 遺伝子ファミリーの cDNA 解析  
○馬場杏子・山田弘和・奥理尋・安藤清一・山田章二（鹿大水）
- 15:15 7 ギンブナ 2B4 様分子  
○鮫島史朗・鶴木陽子・柚本智軌・中尾実樹（九大院農）
- 15:30 8 ウイルス感染時におけるギンブナ MHC class I 遺伝子の発現動態  
○占部慎二・鮫島史朗・柚本智軌・中尾実樹（九大院農）
- 15:45 休 憩
- 16:00 9 コイ血清レクチン MBL, GalBL の構造と機能  
○一木昭土・畑中大作・柚本智軌・中尾実樹（九大農）
- 16:15 10 海産魚類由来 *Streptococcus dysgalactiae* の分類学的再検討  
○西木一生・野田真広・吉田照豊（宮崎大農）
- 16:30 11 宮崎県産「揚げカマボコ」成分組成の地域的特性  
○武田 博・中村 慶太（宮崎大農）
- 16:45 12 有毒イモリ 2 種におけるテトロドトキシン保有量の地理的変異  
○北田 稔（長大院生産）・古賀智隆（長大水）・持田浩治（京大院理）・谷山茂人（長大院生産）・高谷智裕・荒川 修（長大水）

## 第2講義室

- 13:30 13 大村湾底層の冷水塊の変動とその要因  
○長澤彰人（長大院生産）・中田英昭（長大水産）・高橋鉄哉（東大海洋研）
- 13:45 14 諫早湾における底層貧酸素水塊の変動特性  
○三品裕史（長大院生産）・中田英昭（長大水産）・高橋鉄哉（東大海洋研）
- 14:00 15 低酸素海水に反復暴露したリシケタイラギ (*Atlina lischkeana*) の浮上行動と斃死  
○郡司掛博昭・大嶋雄治（九大院農）・松井繁明（福岡水海技セ）・田上航・今石幸治・本田匡人・諸石淳也・姜益俊・島崎洋平（九大院農）・本城凡夫（ミキモト真珠養殖）
- 14:15 16 メダカの摂餌行動に及ぼす医薬品および生活用品関連物質の影響  
○松本充平・Mohamed Nassef（九大院農）・関 雅範（CERI）・姜益俊・島崎洋平・大嶋雄治（九大院農）・本城凡夫（ミキモト真珠養殖）
- 14:30 休 憩
- 14:45 17 沿岸性珪藻類の光合成と増殖に及ぼす光波長の影響  
○額田篤史・紫加田知幸・島崎洋平（九大院農）・吉川壮太（長崎水試）・松原賢（佐賀有明水振セ）・山崎康裕（長大水）・大嶋雄治（九大院農）・本城凡夫（ミキモト真珠養殖）
- 15:00 18 宮崎県串間市沿岸の藻場と磯焼け域の景観の相違から考察するそれぞれの維持機構  
○荒武久道・佐島圭一郎（宮崎水試）・渡辺耕平（西日本オーシャンリサーチ）・吉田吾郎（瀬戸水研）
- 15:15 19 亜熱帯海域における海草葉上付着生物の親生物元素組成の変動  
○下田徹・福岡弘紀・渋谷拓郎・林原毅（水研セ西水研石垣）
- 15:30 20 ラビリンチュラ類の増殖に及ぼすビタミン及び金属イオンの影響  
○中島早苗・長野直樹・田岡洋介・林雅弘（宮崎大農）

## 1. ウニ殻含有ナフトキノン色素の HPLC による定量

○柚木給美・幡手英雄・桑原 塁・山波千春・興津亮太・村田 寿（宮崎大農）

【目的】演者らは、ウニ殻色素成分に強い抗酸化機能のあることを前報で報告し、ウニ殻廃棄物の抗酸化剤供給源としての新たな利用可能性を示唆した。しかし、実用化を図る上で重要な色素成分の実際的な分離・定量法はまだ確立されていない。本研究では逆相系 HPLC を用いて多様な組成のウニ殻ナフトキノン色素の迅速かつ簡便な分離・定量法を検討した。

【方法】ムラサキウニ殻を塩酸で溶解し、エーテル抽出して色素成分を調製した。色素成分は、逆相系カラムおよびダイオードアレー（DA）検出器を装備した HPLC で分析した。

【結果】ウニ殻色素は、0.1%ギ酸（またはリン酸）水溶液、MeOH および ACN を適切な混合比とした移動相により 30 分間程度で数種のピークに分離された。UV-VIS 吸収スペクトルから、これらのピークはエキノクローム A, スピノクローム A, B および C と推察された。さらに、各成分の HPLC への注加色素量とそれに対応するピーク面積とで検量線を作成した結果、両者の間に強い相関 ( $R > 0.9$ ) が確認され、本研究で開発した HPLC 法で、ウニ殻ナフトキノン色素の主成分を簡便に定量できることが明らかになった。

## 2. ウニ生殖巣含有ナフトキノン色素の抽出および HPLC 分離

○柚木給美・幡手英雄・桑原 塁・村田 寿（宮崎大農）

【目的】ウニ殻由来のナフトキノン類の抗酸化機能はすでに明らかにされており、同成分を含む生殖巣も優れた機能性食材と考えられる。本研究では、現在まで確立されていないウニ生殖巣に含まれるナフトキノン色素の抽出法ならびにその HPLC 分離を試みた。

【方法】新鮮な数種食用ウニの生殖巣からエタノール抽出物（脂溶性成分）、およびその残存物を乾燥させた生殖巣脱脂粉末を調製した。ウニ生殖巣由来ナフトキノン色素の分離は、前報のウニ殻色素の HPLC 法と同様な方法で行った。

【結果】ウニ生殖巣からのナフトキノン色素の抽出溶媒には 1 N 塩酸を含むエタノール水溶液が適しており、前報の HPLC 条件を一部改変することでエキノクローム A と類似の色素が主ピークとして分離された。一方、生殖巣由来のエタノール抽出物にナフトキノン色素は認められなかった。北海道産キタムラサキウニ、下関産アカウニとバフンウニの生殖巣（脱脂粉末）に含まれるナフトキノン色素について検討した結果、新鮮なウニ生殖巣 1 g あたり 0.1 mg 程度の含有量が推察された。

### 3. ドジョウ魚体からのケラタン硫酸様物質の分離とその化学的性質

○吉永憲司・木幡進（八代高専）・柘植圭介・吉木政弘・吉村臣史（佐工技）・栗原正日呼・浜辺裕子・久保姉理華・墨利久（八代高専）

【目的】動物の軟骨や結合組織に、酸性ムコ多糖類として含まれるケラタン硫酸（KS）の構造には不明な点が多く残されている。そこで、本研究では、日本産のドジョウ魚体に含まれるKS様物質を精製し、その化学的性質を明らかにすることを目的とした。

【方法】ドジョウをエタノールに浸漬し、凝固した粘質物をはぎ取った。得られたドジョウ魚体を、アクチナーゼ消化後、陽イオン交換樹脂透過、陰イオン交換クロマトグラフィーおよびゲルろ過を用いてKS様物質を精製した。得られたKS様物質の分子量をゲルろ過で推定し、ガスクロマトグラフィー分析、GC-MS分析およびアミノ酸分析を行い、その化学的性質を明らかにした。

【結果】上記方法を用いて、日本産ドジョウからKS様物質を分離した。ゲルろ過の結果より、KS様物質の見かけの平均分子量は約7,000と推定された。ガスクロマトグラフィー分析およびGC-MS分析の結果、KS様物質には、Fuc 2.2%、Gal 22.6%、GlcNAc 19.0%、GalNAc 6.8%、NeuAc 11.8%およびKDN 6.8%が含まれることが判明した。また、アミノ酸分析の結果、KS様物質にはタンパク質11.4%が含まれることがわかった。KS様物質の構成糖の主成分が、GalおよびGlcNAcであり、NeuAcおよびKDNのシアル酸類を含んでいたことから、KS様物質が分離できていたと思われる。KS様物質の構成糖およびタンパク質含量の合計は80.6%であり、硫酸基含量が10%を超えると推定されることから、KS様物質は分離できたと考えられる。GalとGlcNAcの含有量、ゲルろ過における平均分子量およびGalβ1→4GlcNAcの分子量から、KS様物質は上記2糖単位が7～8個つながった構造であると推定された。KS様物質のアミノ酸組成は、全アミノ酸100残基中Asnが11.2残基、Thrが7.1残基、Serが10.0残基であった。また、糖組成において、KS様物質にはポリペプチドとの結合に関与していると考えられるGalNAcおよびGlcNAcが含まれていた。これらのことからKS様物質における糖鎖とポリペプチドとの結合様式はN-グリコシド結合とO-グリコシド結合の両方、もしくはどちらかの結合が存在していると考えられる。

### 4. ヒメダカにおける眼中ビタミンA類の光による消長

○松本綾乃・田中淑人（鹿大水）

【目的】魚類眼中のビタミンA(VA)は、特定の脂肪酸と結合したエステル型で多くが貯蔵されている。淡水魚のキンギョ・ヒメダカの眼中において、ある一定期間暗順応を経た後、光照射を行うとキンギョではVA<sub>2</sub>-palmitateが、ヒメダカではVA<sub>1</sub>-palmitateが顕著に増加する現象を見出した。そこで本研究は、VA代謝メカニズム詳細を明らかにすることを目的とし、ヒメダカ眼中VA<sub>1</sub>-palmitate及びRetinalの同時定量を試み、一定時間の光照射によるこれらの量変化を調べた。

【方法】ヒメダカ(平均重量0.18g)10匹を用い、暗順応後、光照射試験を行った。摘出した眼をアセトンにて抽出し、その後ヘキサンに転溶した。ヘキサン8mlのうち2mlをVA<sub>1</sub>-palmitate分析用、6mlをRetinal分析用とし、それぞれをHPLCにて分析した。

【結果】光照射試験で光照射前・後を比較するとVA<sub>1</sub>-palmitateは9.8ng/eyeから35.8ng/eyeへ約3.7倍増加した。一方、11-Cis-retinalは19.7ng/eyeから6.6ng/eyeへ、All-trans-retinalは27.2ng/eyeから16.2ng/eyeへそれぞれ減少した。VA<sub>1</sub>-palmitate及びRetinal総量を比較すると、光照射によりVA<sub>1</sub>-palmitateが26ng/eye増加し、Retinal総量が24.1ng/eye減少するという量的相関関係があった。暗順応中において、VA<sub>1</sub>-palmitateとRetinal総量は相関する傾向がみられたが、量的相関性はみられなかった。

## 5. スナヤツメ組織からの M20A ジペプチダーゼの分離精製

○奥理尋・早川武彦・馬場杏子・安藤清一・山田章二（鹿大水）

【目的】ジペプチダーゼは国際生化学・分子生物学連合では 12 種類に分類されている。脊椎動物ではそのうち 6 種類が確認され、アンセリナーゼ (EC 3. 4. 13. 5)、Cytosolic nonspecific dipeptidase (EC 3. 4. 13. 18) 及び血清カルノシナーゼ (EC 3. 4. 13. 20) の 3 種類は、メタロペプチダーゼの M20A サブファミリー (MEROPS database) に属している。本研究では、脊椎動物の進化史の初期に分岐した無顎類のスナヤツメから M20A ジペプチダーゼの分離精製を行った。

【方法】熱帯魚店から入手した平均体重約 3. 8g の成体スナヤツメ (*Lampetra reissneri*) 6 個体 (全魚体) から粗酵素液を調製し、Con-A Sepharose アフィニティーカラム、Superdex 200 HR ゲルろ過カラム、Resource Q 陰イオン交換カラムを用いて精製を行った。酵素活性は基質に Ala-His を用いて測定した。精製した酵素は、SDS-PAGE 上で PVDF 膜に転写を行い、酵素サブユニットの N 末端アミノ酸配列を解析した。

【結果】粗酵素液から強い Ala-His 分解活性が確認され、Con-A Sepharose クロマトにおいて吸着と非吸着の両画分に酵素活性が認められた。吸着画分について精製を進めた結果、SDS-PAGE で本酵素サブユニットと考えられる 55kDa バンドが認められた。ゲルろ過での分子量が約 130kDa であることより、ホモダイマーの酵素と考えられた。本酵素は、アンセリンやカルノシンなどの His 関連ジペプチドや、その他の通常ジペプチドを広範に分解した。酵素サブユニットの N 末端アミノ酸配列を解析した結果、近縁種ウミヤツメのゲノムデータベースに登録されている M20A 相同遺伝子の演繹アミノ酸配列と一致した。以上の結果より、本酵素は糖鎖を有するタンパク質で、低い基質特異性を示す M20A サブファミリーのジペプチダーゼであることが分かった。

## 6. スナヤツメ M20A 遺伝子ファミリーの cDNA 解析

○馬場杏子・山田弘和・奥理尋・安藤清一・山田章二（鹿大水）

【目的】アンセリナーゼ (*ANSN* 遺伝子)、血清カルノシナーゼ (*CNDP1* 遺伝子) 及び Cytosolic nonspecific dipeptidase (*CNDP2* 遺伝子) をコードする遺伝子はメタロペプチダーゼの M20A 遺伝子ファミリーに属している。本研究では、無顎類のスナヤツメ組織で発現している M20A 遺伝子の cDNA 解析を行い、これら M20A 遺伝子ファミリーの分子進化を考察した。

【方法】成体スナヤツメ (*Lampetra reissneri*) の 4 組織 (脳、筋肉、卵巣、肝臓) から全 RNA の調製を行い、逆転写酵素により 1 本鎖 cDNA を合成した。これらを鋳型に、M20A 遺伝子における保存性の高いアミノ酸配列から設計した縮重プライマー、または近縁種ウミヤツメ (*Petromyzon marinus*) のゲノムデータベースにおける塩基配列を基に設計したプライマーを作製し、M20A ジペプチダーゼ cDNA を PCR 及び RACE-PCR により増幅した。

【結果】縮重プライマーの PCR により、筋肉から M20A 相同遺伝子 (L-1) が増幅された。L-1 は、5' 上流の未解析領域を除き、開始コドン付近より下流域の塩基配列が決定された。ウミヤツメのデータベースには 2 種類の M20A 相同遺伝子が見出され、L-1 はその一方と高い相同性を示した。他方の遺伝子について、ウミヤツメ配列から設計したプライマーで PCR を行ったところ、全長 2339bp の cDNA (L-2) が筋肉から増幅された。L-2 は、シグナルペプチドと糖鎖結合アスパラギンを持ち、さらにスナヤツメから分離したジペプチダーゼの N 末端配列及び分子量が一致したことから、本酵素のコード遺伝子と同定された。分子系統解析の結果、L-1 は *CNDP2* のオルソログ、一方、L-2 は *ANSN* と *CNDP1* の共通祖先遺伝子と考えられ、無顎類が分岐した後、条鰭類と四足類が分岐するまでの間に、遺伝子重複により *ANSN* と *CNDP1* に分子進化したものと推測した。

## 7. ギンブナ 2B4 様分子

°鮫島史朗・鶴木陽子・柚本智軌・中尾実樹（九大院農）

【目的】哺乳類において 2B4 は、NK 細胞に発現する膜タンパク質で、細胞外に 2 個の Ig ドメインを、細胞内に Immunoreceptor tyrosine-based switch motif (ITSM) を持ち、ITSM 中に含まれるチロシンのリン酸化を介して NK 細胞の細胞傷害活性を調節している。マウスでは ITSM のコピー数の異なる 2 種のアイソフォームが、互いに相反する機能を持つことが確認されている。しかし魚類では、2B4 の存在は明らかになっていない。本研究ではギンブナ 2B4 様分子 (2B4L) の機能を解析するため、全長の配列を決定し、発現解析を行った。

【方法】ギンブナ EST 解析で得られた 2B4L の部分配列から primer を作製し、5' 及び 3'-RACE を行い、完全長 cDNA をクローニングした。得られたギンブナ 2B4L について、mRNA の組織分布、リンパ球画分と単球画分での発現、及び PMA 刺激後の白血球における発現応答を解析した。

【結果】完全長 cDNA のクローニングにより、ギンブナには ITSM のコピー数の異なる 4 種のアイソフォーム [2B4L1 (2)、2B4L2 (0)、2B4L3 (0)又は 2B4L4 (3), ( )内は ITSM の数] が存在することが確認された。mRNA の組織分布の解析結果は、いずれのアイソフォームの発現も、胸腺、頭腎、体腎、及び脾臓で強かった。また、2B4L3 はリンパ球画分でのみ発現が認められた。一方、残り 3 種のアイソフォームの発現はリンパ球、単球画分の両方で認められたが、2B4L2 の発現は単球画分でより強かった。PMA 刺激後の白血球では、いずれのアイソフォームも 12 時間後に発現量が上昇した。ITSM の有無や発現する細胞画分の違いは、2B4L の 4 種のアイソフォームが、互いに異なる役割を持つ可能性を示唆している。

## 8. ウイルス感染時におけるギンブナ MHC class I 遺伝子の発現動態

°占部慎二・鮫島史朗・柚本智軌・中尾実樹（九大院農）

【目的】クローン系統を確立しやすいギンブナは、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) による細胞性免疫応答の研究に非常に適している。そのギンブナにおいて、CTL による細胞傷害に MHC class I が関与していることを検証するため、ギンブナ鱈由来細胞株から 4 種の MHC class I 遺伝子のクローニングと、CHNV 感染による MHC class I 遺伝子の発現動態を追跡した。

【方法】魚類で既知の MHC class I のアミノ酸配列をもとに縮重プライマーを設計した。諏訪湖産ギンブナ (S3n 系統) 由来鱈細胞 (CFS) から得られた total RNA をテンプレートとし、4 種の MHC class I の cDNA を増幅、クローニングした。また、CFS に CHNV を感染させ、3, 6, 12, 24 時間後に total RNA を抽出し、RT-PCR 法により、各 MHC class I mRNA の発現量を比較した。さらに、S3n 系統以外のギンブナにおける 4 種の MHC class I の発現を検討した。

【結果】コイ科 MHC class I-UA, -UFA, -ZE, -ZA とそれぞれ高い相同性を持つ 4 種の MHC class I (Caau-UA-S3n, Caau-UFA-S3n, Caau-ZE-S3n, Caau-ZA-S3n) が同定された。また、CHNV 感染後の発現動態を相互比較した結果、CHNV が CFS 細胞培養上清中に大量に放出される前に Caau-UA-S3n, Caau-ZE-S3n の発現量が上昇した。このことから、上記 2 種が、古典的 MHC class I の特徴である、CHNV 抗原を CTL に提示する機能を持つと推測された。

## 9. コイ血清レクチンMBL, GalBLの構造と機能

○一木昭土・畑中大作・柚本智軌・中尾実樹（九大農）

【目的】哺乳類の補体レクチン経路においては、12~18量体をとるmannose-binding lectin (MBL)とficolinが、それぞれペプチドグリカンと $\beta$ -1,3-グルカンを認識し、補体成分の活性化を開始させる。一方、コイなどの硬骨魚類にはficolinは見つかっていないものの、MBLとそのホモログであるgalactose-binding lectin (GalBL)が存在し、両者が補体活性化に関与すると報告されている。しかしながら、両レクチンがどのような四次構造を形成し、どのような異物を認識しているかは明らかでない。そこで本研究では、MBL、GalBLのオリゴマー構造を解析するとともに、両レクチンの天然リガンドの探索を試みた。

【方法】コイ血清から7% PEG沈殿、GlcNAcアガロース、Lactoseアガロースおよび抗コイIgMアガロースによるアフィニティークロマトグラフィーによってMBL、GalBLを精製した。また、これらのレクチンの糖鎖結合ドメインを、pCold-Iベクターを用いて6×Hisタグ付き組換えタンパク質として発現させ、各レクチンに特異的なポリクローナル抗体をウサギで作成した。また、これらのレクチンの非変性状態での分子量を、Superdex 200を用いたゲルろ過法によって測定した。さらに精製した両レクチンのザイモザンに対する結合性をflow cytometryにより検討した。

【結果】抗コイMBLおよび抗コイGalBL抗体はwestern blottingにおいてそれぞれ単一のバンドを示した。ゲルろ過法によって、コイMBLは分子量>700kDa以上の多量体、GalBLは分子量194kDaの6量体を形成することがわかった。またflow cytometryによりMBL、GalBLとザイモザンとの結合は確認されなかった。現在は分裂酵母およびそのgalactose欠損変異体に対する両レクチンの結合性を解析中である。

## 10. 海産魚類由来 *Streptococcus dysgalactiae* の分類学的再検討

○西木一生・野田真広・吉田照豊（宮崎大農）

【目的】近年西日本のブリ属魚類養殖場においてLancefield C群の *Streptococcus dysgalactiae* を原因細菌とする疾病が流行し、深刻な被害となっている。この細菌は、本来畜産動物の乳房炎に関連する病原細菌であり、*S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* (*Sdd*) および *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (*Sde*) の2亜種の細菌が知られている。これまでの研究において、海産魚由来の細菌は*Sdd*に分類されている。本研究では、海産魚類由来細菌の再分類を試みた。

【方法】供試菌株は海産魚類由来菌株を8株、畜産由来菌株としてC群の*Sdd*ATCC43078、*Sde*ATCC3566および *S. equi* subsp. *equi*ATCC33398を含む野外分離株の9株用いた。各菌株からDNAを抽出し、ハウスキーピング遺伝子である*hsp*、*gyrA*遺伝子等の部分塩基配列のシークエンスを行い得られた塩基配列を比較した。また、DNA-DNA相同性試験をマイクロプレート法により行った。

【結果】決定したハウスキーピング遺伝子の塩基配列は、海産魚類由来菌株の相同性が100%に近似する値であったのに対し、畜産動物由来菌株の塩基配列は海産魚類由来菌株と異なり多様性が見られた。DNA-DNA相同性試験の結果、海産魚類由来菌株どうしの相同性は100%を示す値となったが、畜産動物由来菌株と海産魚類由来菌株との相同性は約70%~80%の相同値を示した。以上の結果から、海産魚類由来菌株は、*Sdd*に分類されるものの亜種レベルでの再分類が可能との結果を得た。



## 11. 宮崎県産「揚げカマボコ」成分組成の地域的特性

○武田 博・中村 慶太（宮崎大農）

【目的】「揚げカマボコ」は、熱処理に高温の油を用いた水産練り製品で魚肉以外に多様な原料を含む製品が多く、サツマ揚げ、皮カマボコ、テンプラと呼ばれ、その成分組成も生産地域による多様性が知られている。一方、その生産量は南九州地域では茹でカマボコを上回るにもかかわらず、流通は製造現場から比較的狭い範囲に限られており、その結果製品は地域的な嗜好性が強く影響している。そこで、九州南東部宮崎県において生産されている「揚げカマボコ」の成分組成、とくに甘味成分組成について地域的な特性を検討した。

【方法】2008年5～11月に宮崎県内に流通している「揚げカマボコ」45種類を収集し、試料に用いた。一般成分は四訂法に従って、グルコースは酵素分析法、他の糖質成分はアミノ型カラムおよび視差屈折計による順相 HPLC 法により分析した。脂質成分は Bight & Dyer 法抽出、脂肪酸はメチルエステルを GLC で定量した。

【結果】宮崎県内で生産されている「揚げカマボコ」は県北部の沿岸魚種（エソ、アジ、トビウオ、シイラ）のすり身を主成分とする皮カマボコ型と南部のすり身以外に豆腐類を副原料とするサツマ揚げ型に分類された。水分（62～66%）および総脂質（2.5～3.5%）の含量は両者間で顕著な差異は見られなかった。一方、粗タンパク質は 8～15%の範囲で種類間よりも製品間での差が大きかった。甘味成分のグルコース（1～5%）およびスクロース（5～12%）含量は製品および生産地域により顕著な差が見られ、皮カマボコ型製品ではグルコース含量が 1.8%以下に対してサツマ揚げ型は 2.5～3.5%であり、スクロース含量においても 6.5%に対して 10～12%と高い値が認められた。また、県南部で製造された皮カマボコ型製品においても甘味成分含量は北部より高い傾向が見られた。

## 12. 有毒イモリ 2 種におけるテトロドトキシン保有量の地理的変異

○北田 稔（長大院生産）・古賀智隆（長大水）・持田浩治（京大院理）  
谷山茂人（長大院生産）・高谷智裕・荒川 修（長大水）

【目的】ニホンイモリ *Cynops pyrrhogaster* およびオキナワシリケンイモリ *C. ensicauda* は、フグ毒テトロドトキシン（TTX）を保有する。これらのイモリは、捕食者から身を守るために警告色、防御行動、毒性の 3 形質を保持しているが、警告色と防御行動には互いに相関した地理的変異のあることが見出されている。本研究では、イモリにおける TTX の生理機能解明に資するため、前述のイモリ 2 種における毒量の地域差について検討した。さらに、尾先端部（尾標本）の毒量から総毒量を予測するモデルの構築を試みた。

【方法】2006年から2008年にかけて、九州北西部 32 地域でニホンイモリ計 255 個体を採取し、一部（8 地域、計 53 個体）については尾標本を採取した後、他はそのまま LC/MS 分析により TTX 保有量を測定した。一方、2008年5月に沖縄県島尻郡座間味島で雄 5 個体、雌 4 個体、6月に同県玉城郡（以下「沖縄本島」）で雄 4 個体、雌 7 個体のシリケンイモリを採取し、11 部位に腑分け後、皮膚・筋肉は個体別に、他の部位については採取地別、雌雄別に合一のうえ、それぞれ TTX 保有量を測定した。

【結果】ニホンイモリの平均毒量は  $57.9 \pm 65.5$  MU/g で、地域間で有意差がみられたが（Kruskal-Wallis:  $\chi^2 = 114.25$ ,  $p < 0.0001$ ）、警告色や防御行動における地理的変異との相関性は認められなかった。一方、シリケンイモリの皮膚・筋肉の平均毒量は、座間味島で  $78.3 \pm 52.5$  MU/g、沖縄本島で  $124 \pm 54.0$  MU/g となり、ニホンイモリ同様、地域間で有意差がみられた。他方、ニホンイモリにおいて、総毒量  $y$  (MU/個体) は尾標本の毒量  $x$  (MU/g) によって有意に説明された ( $y = 0.49x + 33.8$ ,  $R^2 = 0.67$ ,  $F = 103.97$ ,  $p < 0.0001$ )。結果として、尾標本による総毒量予測モデルは構築可能であると考えられた。

### 13. 大村湾底層の冷水塊の変動とその要因

○長澤彰人（長大院生産）・中田英昭（長大水産）・高橋鉄哉（東大海洋研）

【目的】大村湾は閉鎖性が極めて高く海水交換の小さい内湾として知られている。春から夏にかけて湾内底層には湾全体の加熱から取り残された冷水塊が存在し、夏季には貧酸素化する。この冷水塊は密度的に湾内中層に流入する傾向を持つ海峡水（湾口の針尾瀬戸における混合水）によって生じる躍層が鉛直混合を阻害するために形成されると考えられる。その意味で海峡水の密度変動との関係やそれに対する外海水の影響を知ることは重要であるが、これについてはこれまでほとんど知見が得られていない。そこで本研究では、大村湾の底層冷水塊の形成・消滅の実態を明らかにするとともに、その変動要因について検討を加えた。

【方法】2008年3月～11月の間に、水産学部練習船鶴洋丸を用いて佐世保湾外で行ったCTD観測のデータ、海峡部の針尾瀬戸（伊ノ浦）で行ったクロロテック観測（月に2～5回）と水温・塩分の係留観測のデータ、大村湾内で行った水温・塩分・溶存酸素観測のデータを、それぞれ解析に用いた。

【結果】①湾内の底層冷水塊は、2008年3月下旬に出現し始め、6月下旬から8月中旬にかけて発達・拡大し、それに伴い貧酸素化が急速に進行した。8月下旬には海峡水の密度が湾内底層水の密度と同程度となり、海峡水が底層に流入し始めるため、冷水塊（貧酸素水塊）は衰退した。②海峡水と湾内底層水の水温変動にもとづいて底層冷水塊の年齢を推定した結果、大村湾で観測された貧酸素水塊は、海峡水が湾内に流入してから15～20日程度、さらに無酸素化するには30日程度の日数を経過していることがわかった。

### 14. 諫早湾における底層貧酸素水塊の変動特性

○三品裕史（長大院生産）・中田英昭（長大水産）・高橋鉄哉（東大海洋研）

【目的】近年、諫早湾の底層には夏季にしばしば貧酸素水塊が形成されており、底魚などの水産資源に影響を及ぼしている可能性がある。一般に、内湾浅海域における貧酸素水塊の動態は湾内の海水循環の影響を大きく受けており、風による流動変化はその重要な要因の一つと考えられるが、諫早湾では風の影響についてこれまでほとんど知見が得られていない。本研究では、風の変動が諫早湾の海洋構造や底層貧酸素水塊の変動とどのように関連しているかを明らかにしようとした。

【方法】2004～2008年の夏季（いずれも7月～8月）に九州農政局の観測櫓で、鉛直方向に0.5m間隔で1時間毎に観測された水温、塩分、D<sub>O</sub>と湾中央部（B3）で観測された風向・風速のデータを用いた。また、湾中央部（B3）の海底直上に設置した流速計（アレック電子社製Compact-EM、RD社製600kHzADCP）による測流データ（2006年と2007年）をあわせて用いた。

【結果】①諫早湾では、湾軸方向の風の変化によって湾中央部の密度躍層の深さが大きく変動することが分かった。すなわち、躍層の深さは離岸風（南西風）が強くなると上昇し、弱まると下降する。②離岸風（南西風）に対応して躍層が上昇し、沖合から高密度で溶存酸素濃度の低い水塊が底層に流入すると、そのため密度躍層が強化され貧酸素化が急速に進行する。③離岸風（南西風）がさらに連吹すると貧酸素化した底層水は潮受け堤防まで移動し、堤防付近で表層に湧昇する。④逆に離岸風（南西風）が弱くなり向岸風（北東風）が強くなると、堤防付近で下降流が強くなり、湾奥部底層の貧酸素化は解消される。

## 15. 低酸素海水に反復暴露したリシケタイラギ (*Atrina lischkeana*) の浮上行動と斃死

○郡司掛博昭・大嶋雄治（九大院農）・松井繁明（福岡水海技セ）・田上航・今石幸治  
本田匡人・諸石淳也・姜益俊・島崎洋平（九大院農）・本城凡夫（ミキモト真珠養殖）

【目的】1999年以降、有明海の沖合では夏から秋にかけて重要な水産資源であるリシケタイラギ *Atrina lischkeana* の異常斃死が起り、その資源は激減した。斃死原因として、貧酸素水塊や硫化水素の発生、浮泥の増加による底質の悪化、条虫やウイルスの寄生、珪藻など餌の減少等、様々な要因が挙げられているが、未だ原因の解明には至っていない。本研究では、低酸素海水の反復暴露がタイラギの斃死および行動に及ぼす影響について調べた。

【方法】2008年7月に有明海大牟田沖より採取したリシケタイラギ(1令、殻長 $12.1 \pm 1.8$  cm)を厚さ約20 cmの砂を敷いた120 L円形水槽1個あたり16個体入れ、ろ過海水を2.5 L/minの流速で流し、無給餌で1週間馴致した。馴致後、ろ過海水を止め窒素ガス通気により酸素濃度を0.5 mg/L以下まで下げ、低酸素海水に6時間暴露した。暴露後、通気により好気状態に戻して流水下で飼育した。この操作を無給餌で31日間繰り返した。窒素ガス通気前後に、砂表面から露出したタイラギ殻先端までの長さ(露出長)を毎日測定した。また低酸素暴露15日目より6個体を別の120 L水槽に移し、低酸素連続暴露を行った。

【結果】タイラギは低酸素条件下で底面から浮上し、酸素濃度が回復すると潜行する運動を繰り返し、低酸素に反復暴露されると次第に潜行できなくなり浮き上がって倒れる個体が観察された。暴露20日目より斃死が観察され、暴露31日目で10個体全てが斃死した。また低酸素連続暴露を行ったタイラギは連続暴露開始後48時間以内に6個体全てが斃死した。

## 16. メダカの摂餌行動に及ぼす医薬品および生活用品関連物質の影響

○松本充平・Mohamed Nassef（九大院農）・関 雅範（CERI）・姜益俊・島崎洋平・大嶋雄治（九大院農）・本城凡夫（ミキモト真珠養殖）

【目的】近年、国内外の河川水および下水処理水から医薬品および生活用品関連物質(Pharmaceutical and Personal Care Products, PPCPs)が検出されている。PPCPsは強い生理活性作用を持ち微量でも作用するためにその環境リスクが懸念されているが、水生生物への生態影響評価は行われていない。本研究では、PPCPsが水生生物の摂餌行動に与える影響を調べることを目的とした。

【方法】試験物質として実環境中から検出されているトリクロサン(防カビ剤、TCS)、ジクロフェナク(非ステロイド性抗炎症剤、DCF)、およびカルバマゼピン(抗てんかん剤、CBMZ)を用いた。先行研究で求めたTCS、DCFおよびCBMZのメダカに対する96hr-LC50の10分の1濃度(TCS:0.1 mg/L、DCF:1.0 mg/L、CBMZ:6.2 mg/L)の試験水に、各処理区9尾ずつメダカを4日間、半止水式で暴露した。換水はほぼ毎日行った。摂餌行動試験は、縦11cm、横16cm、高さ10cmのガラス水槽に、試験水を水深3cmまで満たし、試験水槽の左下角に1個体のアカムシを置き、暴露したメダカ1尾を右上角からこの試験水槽内に導入した。メダカの行動を画像として記録し、アカムシを摂餌するまでの時間(摂餌時間)を計測した。暴露を継続しながらこの行動試験を1日1回計5回行い、行動異常を評価した。

【結果】摂餌行動試験の結果、TCS暴露区で対照区との間で摂餌時間に有意な差は見られなかった。しかしDCF暴露区では、試験期間の途中からアカムシを食べなくなる個体が現れ、摂餌時間も有意に長くなった(Mann-Whitney U test,  $p < 0.05$ )。またCBMZ暴露区では、9尾中7尾がアカムシを全く摂餌せずに時間も有意に長くなった( $p < 0.05$ )。よって、DCFおよびCBMZは摂餌行動に影響を与えることが明らかとなった。

## 17. 沿岸性珪藻類の光合成と増殖に及ぼす光波長の影響

○額田篤史・紫加田知幸・島崎洋平（九大院農）・吉川壮太（長崎水試）・  
松原賢（佐賀有明水振セ）・山崎康裕（長大水）・  
大嶋雄治（九大院農）・本城凡夫（ミキモト真珠養殖）

【目的】光が海水中に入射すると、その波長構成が変化することはよく知られている。しかしながら、生残および増殖のために光を必要とする植物プランクトンがその変化からどのような影響を受けるのかについては十分に理解されていない。そこで本研究では、沿岸性珪藻類の光合成および増殖、さらに細胞内タンパク質発現に及ぼす光波長の影響を調べた。

【方法】実験には、珪藻 *Skeletonema costatum*、*Chaetoceros* sp.、*Asterionellopsis glacialis*、*Thalassiosira rotula*、*Thalassiosira minima*（以上、博多湾株）および *Thalassiosira pseudonana*（CCMP1335株）を用いた。これら6種の珪藻を2日間暗条件下で前培養後、30もしくは40  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に調整した6種類のLED光源下〔ピーク波長430 nm（紫）、470 nm（青）、530 nm（緑）、623 nm（橙）、660 nm（赤）、730 nm（近赤外）〕および水温22.5℃で培養し、光合成速度および増殖速度を調べた。また、*T. pseudonana*を用いて、細胞内において光波長の変化に依存して変動するタンパク質をプロテオーム解析により探索した。

【結果】6種の珪藻の総光合成速度は、紫もしくは青色光下で最高となり、緑、赤、橙、近赤外光下では、それぞれ紫色光下の30～63%、23～53%、20～28%、0～11%であった。また、増殖速度もほぼ同様の傾向を示した。以上の結果から、光波長が沿岸性珪藻類の光合成および増殖に著しく影響を及ぼすことが明らかとなった。さらに、プロテオーム解析の結果、光合成に関係するタンパク質が同定され、それらの変化についても併せて報告する。

## 18. 宮崎県串間市沿岸の藻場と磯焼け域の景観の相違から考察する それぞれの維持機構

○荒武久道・佐島圭一郎（宮崎水試）・渡辺耕平（西日本オーシャンリサーチ）・  
吉田吾郎（瀬戸水研）

【目的】現在でも良好な藻場が維持されている宮崎県串間市一里崎東南地先と、その近隣の磯焼け域である崎田地先とを対比することにより、藻場と磯焼けの維持機構の解明を試みる。今回は、特にウニ類生息状況と、秋季に見られる魚類の採食状況の比較を行った。

【方法】ウニ類の食圧の指標としての生息密度は、一里崎東南では代表的な10カ所に1m枠を設置することで求め、崎田ではウニ類の食圧を排除する実験を兼ねて行った50×50m規模の除去実験から求めた。植食性魚類の食圧の程度はホンダワラ類藻体に残る魚類の採食痕から推定した。この際、崎田地先では当海域に設置された実験礁由来のヨレモクモドキ幼体を対象に観察を行った。

【結果】両地先とも、ムラサキウニ、ナガウニ属、ガンガゼ属の生息が認められ、崎田の平均12.3個体/ $\text{m}^2$ は、一里崎東南の平均1.1個体/ $\text{m}^2$ よりも明らかに高かった。魚類の採食は、崎田では加入したヨレモクモドキ幼体に対して高い程度で認められたが、一里崎東南ではヒラネジモク成体のみ高い程度で見られ、ヨレモクモドキ等の他のホンダワラ類の幼体にはほとんど認められなかった。この差異は、一里崎東南では、魚類の採食がヒラネジモクに対して選択的に行われたか、豊富に存在する小型藻類を含めて分散して行われたことで相対的にヨレモクモドキ等の幼体に対する食圧は低くなるが、崎田ではモサズキやカイメンソウ以外の小型藻類が乏しいため、魚類の採食がヨレモクモドキ幼体に集中したことによる可能性がある。また、崎田のヨレモクモドキ幼体が混生するモサズキ属やカイメンソウ等の小型藻類の高さに応じた採食を受けていることは、小型藻類の存在がホンダワラ類幼体を魚類から発見されにくくしたり、採食されにくくしたりする効果を持つ可能性も示す。これらのことは、ウニ類の食圧が恒常的に高い磯焼け域において貧小型藻類状態が維持されており、そのことが、秋季のホンダワラ類幼体に対する魚類の食圧に影響している可能性を示すものと考えられる。

## 19. 亜熱帯海域における海草葉上付着生物の親生物元素組成の変動

○下田徹・福岡弘紀・渋谷拓郎・林原毅（水研セ西水研石垣）

【目的】海草藻場が多くの魚介類の摂餌、産卵、保育場となることは広く知られている。亜熱帯海草藻場においては、アイゴ等の雑食性魚類が海草上の付着生物を摂餌する様子が観察され、付着珪藻およびその消費者が物質循環において大きな役割を果たしていると考えられる。本研究では亜熱帯海域に属する石垣島沿岸域において海草葉上付着生物を採取し、その親生物元素（C、N、P、Si）組成の変動および調査水域の特徴を調べた。

【方法】海草の成育が良好な場と人為的負荷の大きな2点を設け、前者は石垣島・伊土名、後者は宮良をサンプル採取地点とし、平成20年7月、9月、11月に調査を行った。海草から葉上付着生物を採取し、親生物元素と海草藻場の水質分析を行った。

【結果】7月、9月とも栄養塩濃度は宮良で高く、伊土名で低かった。7月における単位面積あたりの親生物元素現存量はC、N、Pは宮良で高くSiではほぼ同じでありSiに対するC、N、P比は宮良で高い。これは草体に付着している珪藻の割合が宮良よりも伊土名で高いことを意味する。9月は伊土名では7月とほぼ同じ親生物元素現存量が得られているのに対し、宮良では著しく低かった。これは伊土名海草藻場が比較的安定した場所に形成されているのに対し、宮良は擾乱を受けやすく葉上付着生物が剥離しやすい環境下にあるためと考えられる。本研究は水産庁「漁場環境・生物多様性評価手法等開発事業」により得られた成果の一部である。

## 20. ラビリンチュラ類の増殖に及ぼすビタミン及び金属イオンの影響

○中島早苗・長野直樹・田岡洋介・林雅弘（宮崎大農）

【目的】ドコサヘキサエン酸を始め多くの高度不飽和脂肪酸を合成・蓄積するラビリンチュラ類は新たな油脂資源として注目されている。本研究ではラビリンチュラ類の高収量を目的とし、ビタミンに対する栄養要求性、金属イオンによる増殖への影響を検討し、ジャーファーメンターを用いて大量培養法の確立を目指した。

【方法】沖縄県八重山諸島より分離した*Aurantiochytrium limacinum* mh0186株を用いた。始めにビタミンB<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、及びB<sub>12</sub>に対する栄養要求性試験を行った。試験には合成培地（SP培地；glucose 5g, sodium glutamate 20g, ammonium sulfate 5g, urea 5g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 8.7g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.4g/1L-50% ASW）を用いた。ビタミンの組み合わせを変えてSP培地へ添加し、バッフル付三角フラスコにて48時間振盪培養（28℃, 128rpm）した。さらにビタミンB<sub>1</sub>の最小要求量を調べた。金属イオンは鉄イオン、ホウ酸イオン、マンガンイオン、亜鉛イオン、コバルトイオン、ニッケルイオン、銅イオン、及びモリブデン酸イオンについて検討し、キレート剤としてエチレンジアミン四酢酸を使用した。金属イオンはOmission testを行い、各イオンの影響を調べた。また鉄イオン及び亜鉛イオンの最適添加量を調べた。ジャーファーメンターによる培養ではglucose 6%、yeast extracts 2%を含むGY培地を用いた。GY培地で前培養した培養液を4%（v/v）植菌し、グルコースを消費し尽くすまで培養した。

【結果】ビタミンに対する栄養要求性は、ビタミンB<sub>1</sub>が最も強く、その最小要求量は4 μg/Lであった。金属イオンの影響については、鉄イオンと亜鉛イオンが有効であり、その最適濃度は鉄イオン72.5 μg/L、亜鉛イオン100 μg/Lであった。ジャーファーメンターによる大量培養では金属イオンの添加により増殖速度の向上が見られた。