

平成15年度日本水産学会東北支部大会プログラム

日 時 平成15年11月14日(金)～15日(土)

場 所 北里大学水産学部

〒022-0101 岩手県大船渡市三陸町越喜来字鳥頭160-4

11月14日(金)	受付	12:30～13:00
	(1) ミニシンポジウム	
	ミニシンポジウムA	13:00～16:10 第1会場
	「二枚貝の漁場環境・ 生産性の現状と課題」	(第1講義室)
	ミニシンポジウムB	13:00～15:50 第2会場
	「魚類の体内情報伝達物質」	(第4講義室)
	(2) 一般講演	16:15～17:00 第1会場
		16:15～17:00 第2会場
	(3) その他	
	評議員・幹事合同会議	17:05～17:45 第3講義室
	支部総会	17:50～18:40 第2会場
		(第4講義室)
	交歓会	18:45～20:45 学生食堂
11月15日(土)	一般講演	9:30～12:15 第1会場
		9:30～12:15 第2会場

一般講演プログラム（第1会場）

11月14日（金）

- 座長 朝日田 卓
- 16:15～16:30 101 鹿島灘ハマグリ稚貝の発生量変動と海浜環境変化
... 二平 章・安藤 隆二・根本 孝（茨城水試）
- 16:30～16:45 102 常磐産ヤナギムシガレイの加入量変動と着底期の水温環境
... 高橋 正和・二平 章（茨城水試）・山廻邊 昭文（福島水試）
- 16:45～17:00 103 鹿島灘におけるカタクチイワシシラスの加入変動
... 黒山 忠明・二平 章（茨城水試）

11月15日（土）

- 座長 岩田 宗彦
- 9:30～9:45 104 コホート解析によって推定された岩手県沖合に生息する
ヒラメの資源特性 ... 後藤 友明（岩手水技セ）
- 9:45～10:00 105 オオクチバスが侵入・繁殖したため池における魚類相の変化
... 高橋 清孝・須藤 篤史（宮城内水試）
- 10:00～10:15 106 七つ森湖におけるブラックバス類の生息状況と魚類相の変化
... 須藤 篤史・高橋 清孝（宮城内水試）

- 座長 天野 勝文
- 10:15～10:30 107 ドジョウの産卵回遊と水田の利用
... 藤本 泰文・大内 豊・山本 重史・白馬 丈視・千葉 洋明・
岩田 宗彦（北里大水）
- 10:30～10:45 108 放流シロサケ稚魚の降河開始と甲状腺ホルモン
... 小島 大輔・中根 崇仁・府川 寛・岩田 宗彦（北里大水）
- 10:45～11:00 109 岩手県中・南部沿岸域の仔稚魚相とその季節変動
... 稲田 夏来（北里大水）・後藤 友明（岩手水技セ）・
佐藤 直司・林崎 健一・朝日田 卓・井田 齊（北里大水）

- 座長 林崎 健一
- 11:00～11:15 110 ミトコンドリア DNA 調節領域におけるスズキとタイリクスズキの
遺伝的分化
... 熊谷 恵太・中嶋 正道・谷口 順彦（東北大院農）
- 11:15～11:30 111 ヤマメ人工交配シミュレーション集団における個体間距離の推定
および血縁関係の判定
... 野口 大毅（東北大院農）・工藤 飛雄馬（岩手内水技セ）・
谷口 順彦（東北大院農）
- 11:30～11:45 112 ヒラメ親魚由来別による種苗生産への寄与率
... 篠塚 由美・朝日田 卓（北里大水）・斉藤 憲治（東北水研）・
津崎 龍雄・有瀧 真人（日裁協）・山下 洋（京大院農）

- 座長 高橋 明義
- 11:45～12:00 113 被食種 DNA の検出感度と消化時間との関係
... 葉山 あい子・朝日田 卓（北里大水）・
斉藤 憲治（東北水研）・山下 洋（京大院農）
- 12:00～12:15 114 DNA による寄生早期のホタテエラカザリの検出
... 鈴木 英勝・松谷 武成（石巻専修大学理工学部）・
玉手 英利（山形大学理学部）

一般講演プログラム（第2会場）

11月14日（金）

- 座長 森山 俊介
- 16:15～16:30 201 ニジマス TNF の胸腺細胞に与える影響
 ... 日野 和義・中村 修・厚田 静男(北里大水)・
 吉浦 康寿(養殖研)・渡辺 翼(北里大水)
- 16:30～16:45 202 共生藻の獲得・維持における海産動物レクチンの役割
 ... 歸山 昌美・小池 一彦・神保 充・酒井 隆一・神谷 久男・
 緒方 武比古(北里大水)
- 16:45～17:00 203 環形動物イワムシのオピン脱水素酵素の精製とその性状
 ... 遠藤 紀之・鈴木 仁・菅野 信弘・長久 英三(北里大水)・
 佐藤 実(東北大院農)

11月15日（土）

- 座長 小瀧 裕一
- 9:30～9:45 204 水溶性キトサンのコレステロール低下作用
 ... 加藤 祐子(北里大水)・浅野 久志・八子 博(株式会社
 共和テクノス)・横山 雄彦・菅野 信弘・長久 英三(北里大水)
- 9:45～10:00 205 オキアミ魚醤油中の ACE 阻害ペプチドの探索(2)
 ... 渡辺 康介・榊原 康治・三橋 謙一・中丸 剛・菅野 信弘・
 長久 英三(北里大水)
- 10:00～10:15 206 ヨロイソギンチャク・タウロピン脱水素酵素の cDNA
 クローニング
 ... 松浦 央人・菅野 信弘・長久 英三・横山 雄彦(北里大水)・
 佐藤 実(東北大院農)

- 座長 長久 英三
- 10:15～10:30 207 加工魚肉の物性改変
 ... 佐藤 実・山内 晶子・中野 俊樹・山口 敏康(東北大院農)・
 阿部 仁(阿部亀商店)
- 10:30～10:45 208 *Alexandrium catenella* のアミノ酸利用に關与する遺伝子の探索
 ... 首藤 悠・小椋山 篤志・小池 一彦・緒方武 比古(北里大水)
- 10:45～11:00 209 岩手県沿岸に出現する *Alexandrium* 属について
 ... 加賀 新之助・関口 勝司(岩手水技セ)・
 緒方 武比古(北里大水)・吉田 誠(長崎大水)

- 座長 菅野 信弘
- 11:00～11:15 210 越喜来湾における *Dinophysis* 葉緑体起源生物の探索
 ... 高橋 義明・小池 一彦(北里大水)・瀧下 清貴(海洋科学技
 セ)・石川 正弘・小嶋 稔・永江 啓和・小椋山 篤志・
 緒方武 比古(北里大水)
- 11:15～11:30 211 三陸沿岸における *Protoceratium reticulatum* の出現と二枚貝の
 毒化に関する予備的調査
 ... 堀江 啓史・小池 一彦・栗原 健二・高木 賢二・
 小椋山 篤志・緒方武 比古(北里大水)
- 11:30～11:45 212 グルタチオンが關与する麻痺性貝毒の分解機構
 ... 林 健志・佐藤 繁・石原 さとみ・横田 あゆみ・児玉 正昭(北里大水)

- 座 長 小池 一彦
- 11:45 ~ 12:00 2 1 3 記憶喪失性貝毒原因藻 *Pseudo-nitzschia multiseriata* における
細胞内細菌
... 小林 健司・高田(栗栖)義宜・小檜山 篤志・小瀧 裕一・
児玉 正昭(北里大水)
- 12:00 ~ 12:15 2 1 4 二枚貝およびプランクトンに蓄積するドゥモイ酸の起源と蓄積機
構に関する研究
... 高田(栗栖)義宜・小林 健司・佐藤 繁・緒方 武比古・
小瀧 裕一・児玉 正昭(北里水)

ミニシンポジウムA プログラム

二枚貝の漁場環境・生産性の現状と課題

日時・場所 11月14日(金) 13:00~16:10 北里大学 第1会場

コンピナー: 神山孝史(水産総合研究センター東北区水産研究所)
関口勝司(岩手県水産技術センター)

- | | | |
|-------------|--------------------|---|
| 13:00~13:05 | 開会の挨拶 | 神山孝史(水産総合研究センター東北区水産研究所) |
| 13:05~13:35 | 陸奥湾のホタテガイ増養殖と環境収容力 | 吉田 達(青森県水産総合研究センター増養殖研究所) |
| 13:35~14:05 | 大槌湾における物質循環モデルの構築 | 高木稔(岩手県水産技術センター)・岸道郎(北海道大学大学院水産科学研究科)・関口勝司(岩手県水産技術センター)・古谷研(東京大学大学院農学生命科学研究科)・乙部弘隆(東京大学海洋研究所) |
| 14:05~14:35 | 石巻湾のアカガイ資源の現状と増殖策 | 松浦裕幸(宮城県水産研究開発センター) |
| | 休憩(14:35~14:45) | |
| 14:45~15:15 | マガキ養殖場における環境と生産性 | 神山孝史(水産総合研究センター東北区水産研究所)・山内洋幸・岩井拓郎(宮城県水産研究開発センター)・奥村 裕・鈴木敏之(水産総合研究センター東北区水産研究所) |
| 15:15~15:45 | ホッキガイの食物供給 | 佐々木浩一(東北大学大学院農学研究科) |
| 15:45~16:05 | 総合討論 | |
| 16:05~16:10 | 閉会の挨拶 | 関口勝司(岩手県水産技術センター) |

【背景・趣旨】

東北地方では二枚貝養殖が盛んに行われ、東北6県の全養殖生産金額の6割を占める。また、東北太平洋岸南部は天然二枚貝の産地でもある。東北地方の全体的な二枚貝の生産性には大きな変化が認められないが、地域的には過剰な養殖によるホタテガイの小型化、天然アカガイの漁獲量の著しい減少等の問題が発生している。逆に砂浜性二枚貝の一時的な大発生も起きている。安定した養殖生産や天然資源の適正な利用のためには、生産・漁業管理が必要となるが、その前に、生産現場における生態系システムを含めた環境と生産性を正しく把握することが重要である。

ここでは、東北沿岸域における二枚貝の漁場環境と生産性の現状についての知見やその情報に基づく養殖生産物の環境収容力や資源量推定の事例を整理し、今後の持続的な漁場の利用のための課題について論議する。

ミニシンポジウムB プログラム

魚類の体内情報伝達物質

日時・場所 11月14日(金) 13:00~15:50 北里大学 第2会場
コンピナー: 高橋明義 (北里大学水産学部)

- 13:00~13:05 開会の挨拶 高橋明義(北里大学水産学部)
- 13:05~13:30 マツカワの無眼側黒化と成長に及ぼす水槽色の効果
山野目 健 (岩手県水産技術センター)
- 13:30~13:55 マツカワの体色調節ホルモン. . . 構造と機能
高橋明義(北里大学水産学部)
- 13:55~14:20 マツカワの体色調節ホルモン. . . 組織分布
天野勝文(北里大学水産学部)
- 休憩(14:20~14:30)
- 14:30~14:55 サケ科魚類の成長促進における成長ホルモンとインスリン様成長因子
森山俊介(北里大学水産学部)
- 14:55~15:20 ウナギの性分化とステロイドホルモン
千葉洋明(北里大学水産学部)
- 15:20~15:45 マアナゴ・ガレクチンの異物認識
中村 修 (北里大学水産学部)
- 15:45~15:50 閉会の挨拶 奥村 誠一(北里大学水産学部)

【趣旨】

魚類増養殖の効率と質の向上には、生理機能のより深い理解が必要であり、神経系、内分泌系、免疫系による情報伝達機能の解明はとりわけ重要な意味を持つ。近年、これらの分野で新たな知見が急速に蓄積されつつあり、情報伝達物質が従来の概念を超えた多様な働きをもつことが明らかになってきた。本シンポジウムでは、主に産業上重要な魚種を対象として、神経系、内分泌系、および免疫系による情報伝達物質の最新の知見を総覧し、展望を探る。

陸奥湾のホタテガイ増養殖と環境収容力

吉田 達（青森県水産総合研究センター増養殖研究所）

キーワード：陸奥湾・ホタテガイ・増養殖・環境収容力

1. 目的

現在の陸奥湾のホタテガイ適正収容量は、昭和49～50年の調査をベースにしたものであり、その後の漁場環境や生産体制などが変化していることから、各種調査により見直しすることを目的とした。

2. 方法

C^{13} 法による基礎生産量やPOC量の測定、ホタテガイと餌料競合関係にある動物プランクトンの現存量・摂餌量調査、表層から底層への有機物沈降量調査を行った。また、養殖漁場外や河川からの有機物流入量、海藻類の枯死による有機物加入量、ホタテガイ・養殖付着物・底生生物の摂餌量・排泄量について、既存データを用いて試算した。

これらの調査結果を用いて、陸奥湾の東湾、西湾における養殖、地まきホタテガイを中心とした餌料収支をそれぞれ求め、適正収容量を検討した。

3. 結果及び考察

(1) 養殖ホタテガイ漁場における餌料収支

餌料供給量では基礎生産量が最も大きな割合を占めている。餌料消費量では、動物プランクトンの摂餌が夏場を中心に非常に高く、ホタテガイが春～夏にかけて最も成長する時期であることを考えると、この時期に大量の貝を保有することにより、歩留まりの低下や夏場のへい死の危険性があるものと考えられた。

なお、ホタテガイの適正収容量については、各月の餌料消費量の範囲内に収める必要がある。

(2) 地まきホタテガイ漁場における餌料収支

放流後1～2年目にかけては、月別の餌料収支はマイナスになるものの、年間収支ではプラスとなることから、現在の放流密度（6枚/㎡）が概ね適正であると考えられた。

(3) 陸奥湾における適正収容量

10月時点での適正収容量は、養殖貝が稚貝で8億2,389万枚、1年貝で2億3,576万枚、地まき貝が稚貝で1億3,954万枚、1～2年貝で1億6,280万枚、合計で13億6,199万枚と試算され、現在の適正収容量14億1,202万枚とほぼ同じような結果となった。

大槌湾における物質循環モデルの構築

高木稔（岩手水技セ）・岸道郎（北大院水）・関口勝司（岩手水技セ）

・古谷研（東大院農）・乙部弘隆（東大海洋研）

キーワード：大槌湾・物質循環モデル・カキ・ホタテ

【目的】

岩手県の内湾漁場の一部では、長年にわたるホタテガイやカキなどの養殖業行使によって、海底へ有機物の堆積が進行し、夏季には貧酸素水の発生などがみられるなど、疲弊してきているといえる。これらの漁場を今後も持続的に活用していくため、従来までの水産生物の生産・成長を中心とした環境収容力に加え、海域の自浄能力にも配慮した環境収容力モデルを構築し、漁場環境を修復・改善するための手法を早急に確立する必要がある。

本研究は大槌湾を対象とし、基礎生産、水産生物による利用、海底への有機物負荷、流向流速等の実態を明らかにし、これらのデータを用いて構築した物質循環モデルから、海域の自浄能力に焦点を当てた環境収容力モデルへと発展させることを目的とした。

【方法】

大槌湾において1999年から2000年の各季節に1ヶ月間、湾内、沖合、流入河川の基礎生産力およびホタテ・カキ養殖施設内の沈降物質調査を行った。

また、微生物による有機物分解についての調査として、夏期には連続記録式の酸素計（アレック電子ADO8M6）をホタテガイ漁場の海底から2 m上に設置して溶存酸素量の連続観測をおこなったほか、室内実験によるホタテ漁場内の海水および底泥表面の溶存酸素量の変化を調査した。

さらに、大槌湾で養殖されている水産生物の種類別量について、「区画漁業権行使状況報告書」（岩手県1999）を基に養殖区画ごとに集計した。

これらのデータを北海道大学で作成された大槌湾の窒素の循環を中心とした「3次元 物理 生物結合モデル(MK-3)」(Kawamiya et al.1996)

に組み込み改良したほか、貝類（カキ、ホタテガイ）の生産量を湾内の養殖筏の位置に組み入れた物質循環モデルを構築し、環境収容力モデルの検討を行った。

【結果と考察】

各調査により、大槌湾の基礎生産や物質循環の実態について、季節ごとの特徴が明らかとなり、これらの数値を組み入れることにより、モデルを構築することができた。

2000年4月の大槌湾の気象データを用いてモデルを動かしたところ、貝類の排出するアンモニウム態窒素(NH₄ N)をリサイクルして、本来減少するはずの植物プランクトン(Chl. a)が増加した。貝類の量を10倍、100倍に増やして試算したところ、湾内および湾外ではNH₄ Nおよび硝酸態窒素(NO₃ N)が増加し、Chl. aが湾内で減少、湾外で増加した。すなわち、湾内はカキ・ホタテの排出物で汚染され、湾外は植物プランクトンにとって好環境となってしまいう結果となった。このままでは、現場の再現性に乏しく、環境や適正養殖環境のアセスに用いることは困難であると考えられたため、栄養塩類による制限は限界であり、別の制限要因(溶存酸素・CODなど)をモデルに組み込む必要があると判断された。

そこで、ホタテおよびカキの呼吸による酸素消費と、ワカメの光合成による酸素の排出をモデルに組み込み、アウトプットされたデータの解析を試みているところである。

今後はモデルの精度を上げるとともに、貝類の成長(身入り)を加えるなどの更なる改良を行うこととしている。

石巻湾のアカガイ資源の現状と増殖策

松浦裕幸（宮城県水産研究開発センター）

キーワード：アカガイ・石巻湾・資源・増殖

目的

宮城県では、アカガイは収益性の高い二枚貝として仙台湾を中心に盛んに漁獲されており、その身入り、色調は市場から高い評価を得ている。アカガイに関しては、菅野(1966)や水産庁(1977)、佐々木(1997)により仙台湾の生物特性、資源性状等に関する報告がなされ資源増大を図られた時期もある。しかし、昭和25年に1000トン台あった漁獲量は近年100~300トン台に減少し、現状を放置すればアカガイ資源は減少を続け貝桁漁業の衰退が危惧される状況にある。今後もアカガイ資源を維持活用していくために、仙台湾の一部海域である石巻湾において、資源量の推定および再生産、生息環境の把握、漁業者自らが参加のできる増殖方法について検討した。

方法

1) 生物調査

- a. 2003年3月から2ヶ月毎に、殻長60~70mmの個体を用い、成熟度指数をもとに産卵期を推定した。
- b. 2003年9~10月に石巻湾内で浮遊幼生の採集を行った。採集には北原式定量プランクトンネットを用い、海底より2m上層から表層まで垂直曳を行った。採取したサンプルはホルマリン固定後、アカガイ幼生の特徴のある個体を計数した。従って、アカガイと判別不能な、他のフネガイ科の幼生も計数に含んだ。水深により曳網距離が異なることから1m³あたりに換算した。
- c. 石巻湾のアカガイ資源量を推定した。漁具は、通常操業に用いる貝桁網(間口1.2m、爪幅5cm)で4丁装備し、各地点50分間の曳網とした。採取されたアカガイは殻長、全重量を測定した。

2) 環境調査

操業海域でエクマンバージ型採泥器を用いて採泥し、粒度組成、全硫化物量を分析した。

3) 資源増殖

アカガイ漁業者自らがアカガイ増殖のため、母貝養成、人工種苗生産、中間育成を試みた。

結果および考察

石巻湾では、本年夏季の水温が低めに経過し、成熟度指数は8月下旬まで高く保たれ、産卵は水深15~20mで9月上旬に行われたことが観察された。本県沿岸では年により産卵盛期が9月に見られるのに対し、休漁期間は7~8月のため9月からの操業では産卵前の母貝を漁獲していることが確認された。新たな資源の加入を期待するためにも、休漁時期は産卵時期に合わせ見直すことが必要と考えられた。浮遊幼生の出現は、付着直前(殻長250 μ m)の幼生は最も多い海域で22個体/m³(本年同サイズのマガキ幼生は最高2340個体/m³)で、新規加入群として十分量であるのかは今後も継続的な解析が必要である。

石巻湾における操業海域の資源量を推定したところ、平成11年107トン、12年62トン、13年48トン、14年には18トンと減少傾向にあった。これは、産卵母貝群が分布していた鳴瀬川河口域で12年に大規模な貧酸素水が発生し、当域の資源が激減したことが一因とも推察される。漁獲量は平成11年59トン、12年58トン、13年49トン、14年は21トンと漁獲量が資源量を上回り、自然に任せた資源回復は限界に達していると推察された。しかし、漁獲量が資源量を上回ったのは、過去数年間にわたり混獲した殻長5cm以下のアカガイを一部海域に集約放流し漁獲した結果によるもので、種苗放流を行えば漁獲に有効に反映できることが示唆された。

現在の石巻湾において漁獲の減少を抑えるには増殖が有効であり、それを自覚した漁業者自らが親貝成熟、産卵誘発、浮遊幼生飼育、海上筏での稚貝育成を行い成功した。また、採苗後1年間の管理で放流に適するといわれる殻長約40mmに達することが明らかとなった。今後は、資源動向を観察する一方で、非操業域を設定し集中的な種苗の放流、放流貝の成長量、減耗量とそれに作用する環境要因のモニタリングを実施し、有効な資源管理の方策を確立することが必要と考えられた。

マガキ養殖場における環境と生産性

神山孝史（東北水研）・山内洋幸・岩井拓郎（宮城水研開セ）・
奥村 裕・鈴木敏之（東北水研）

【目的】

二枚貝養殖は、その餌料を天然プランクトンに依存するため、その生産を高いレベルで持続させるためには、漁場の環境とその水域内における低次レベルでの生産性を把握し、評価することが重要である。ここでは、宮城県石巻市のマガキ養殖場で調査されてきた環境と低次生産システムに関するデータを紹介し、その特徴を整理する。

【方法】

宮城県石巻市荻浜のマガキ養殖場の定点（水深 約 13m）において、2001 年 4 月から月 1-2 回の頻度で各層の水温、塩分を測定するとともにバンドン採水器で採水し、栄養塩濃度、その懸濁物からサイズ画分（ $<2\ \mu\text{m}$, $2\text{-}20\ \mu\text{m}$, $>20\ \mu\text{m}$ ）別クロロフィル a 濃度、懸濁態有機体炭素（POC）、窒素濃度（PON）、ピコプランクトン（バクテリア、シアノバクテリア）出現密度、微小動物プランクトンの出現密度、生体量を測定した。また、1 年間ほぼ毎月 2 m 層海水を用いて希釈法（Landry and Hassett 1982）による疑似現場培養実験を実施し、栄養塩無添加とする実験区を設定することによって（Landry et al. 1995, 1998）現場海水の基礎生産速度と微小動物プランクトンの摂食速度を測定した。

【結果および考察】

1) 環境

2003 年 10 月までの水温、塩分のデータから、概ね 4 月から 8 月までが成層期にあり、7 月には表層付近が低塩分、高水温の水塊の影響を一時的に受けることが特徴的であった。2002 年 8 月までの栄養塩濃度データについては、ほとんどの時期に無機態窒素が $10\ \mu\text{M}$ 以下で推移した。無機態リンは循環期を除くと $0.5\ \mu\text{M}$ を越えることは少なく、ケイ酸態ケイ素も、ほとんどの場合 4~6 月に $10\ \mu\text{M}$ 以下となった。総じて、4-5 月の珪藻のブルーム期に低く、表層では 7 月の一時的な上昇を除くと 8 月ごろまで低い傾向が続くことが特徴的である。クロロフィル a 濃度は 4-5 月と 10-11 月に高くなり、7 月に一時的な上昇も認められた。主に、春季と秋季を除くと概ね $<20\ \mu\text{m}$ 以下のサイズ画分が卓越していた。POC, PON もクロロフィル a 濃度に似た動向を示したが、二枚貝幼生の大量出現時期（7~8 月）に著しく高くなるがあった。ピコプランクトンの中でバクテリアの出現密度はほとんどの時期に $10^6\ \text{cells/ml}$ の桁であったが、シアノバクテリアの出現密度は $10^2\sim 10^5\ \text{cells/ml}$ の桁で季節的に変動し、6-7 月に急速に高密度になる傾向が認められた。

2) 生産性

植物プランクトンの生長速度（基礎生産速度）は春季（3 月、5 月）と秋季（10~11 月）に高く、夏季に低くなった。希釈法実験において栄養塩添加と無添加の基礎生産速度を比較した結果、夏季から初秋の低い基礎生産速度は栄養塩の制限に起因すると推察された。微小動物プランクトンの現存量は、最高で POC の 10% に過ぎなかったが、その摂食速度は一時的に植物プランクトンの速度を超えることがあった。2m 層の基礎生産速度を水柱全体に当てはめ、データのない月はその前後の月の値で補完し、植物プランクトン炭素量 = POC - (微小動物プランクトン、バクテリア、従属栄養鞭毛虫の推定炭素量) と仮定すると、荻浜海域（0-10m 層）における年間平均基礎生産速度は炭素ベースで $609\ \text{mg/m}^2/\text{日}$ となり、年間基礎生産量は全荻浜海域（推定面積 $5.6\ \text{Km}^2$ ）で約 1270 トンと算出された。特に、全体の 88% の生産が春季と秋季に集中していた。平成 13 年度の荻浜海域でのマガキの年間生産量を 164 トン（むき身）であるが、その 5.8% を炭素と仮定し（食品分析表、Fichez 1991）、マガキの呼吸による炭素消費を生産量の 20%（Ropert and Gouilletquer 2000）、餌料吸収効率を 30%（0-60% の中央値、Barille et al. 1997）と仮定すると、マガキの年間餌料炭素要求量は 38 トンとなる。これは、年間基礎生産量の 3% に過ぎなかった。この試算は少ない基礎生産速度値をベースにしたものであり、その結果には海水交換や懸濁粒子の沈降、動物プランクトンとの餌料競合などが考慮されていない。今後、基礎生産に関するデータを蓄積するとともに、残された影響項目を考慮しながら本海域の生産性とマガキ漁場としての利用効率を評価していきたい。

ホッキガイの食物供給

佐々木浩一（東北大・院農）

はじめに

福島県沿岸のホッキガイ漁場では、卓越年級群は成長が遅い、分布密度が高い水域ほど肥満度が低いなどの現象が知られている。この最大要因は、生息密度の上昇に伴って食物条件が相対的に悪化することであると考えられる。外海に面した浅海砂底域に生息する本種の食物については、胃内容物の観察からこれまで一括りに「植物プランクトンとデトリタス」とされてきた。しかし、漁場域の環境収容力を強く規定する食物生産力の評価のためには、食物環境（実質的な食物とその供給構造）の具体的な内容を把握する必要がある。

食物供給層

1999年5月～2000年2月まで福島県相馬市磯部地区地先およびいわき市四倉地区地先の2漁場域において、ホッキガイの胃内容物中の微細藻類組成を、水柱中および底質中のそれと比較することによって、本種が摂食している食物の内容とそれらの分布状態について検討した。

胃内容物中の微細藻類組成では、珪藻類の *Melosira* 属、*Coscinodiscus* 属、Naviculaceae 科、Nitzschiaceae 科の単体性種の4つの種群が年間を通して大きな割合を占め、底質中の微細藻類組成と強い類似を示した。これに対して、水柱中の微細藻類の優占種（群）は季節的に交替し、胃内容物および底質中のそれとは異なっていた。ホッキガイは、水管を海底面から上方に向けてわずかに出して食物を取り込む懸濁物食者であるから、胃内容物と底質中の微細藻類組成の類似は、本種が食物供給を海底直上の狭い範囲に依存していることを意味している。また、水柱上層の浮遊性微細藻類が、鉛直的な混合などによって海底直上の食物供給層に持ち込まれることは少なく、海底上方1m層で優占する微細藻類でさえ食物として利用される割合は極めて小さい。これは、水柱中のクロロフィル・a量を埋在性二枚貝類の食物生産力の指標とするのは適当ではないことを示している。

さらに、2001年5月～2002年10月までの期間、海底上方0.1、0.5、1m層について微細藻類組成を細かく比較した。海底上方0.1m層でさえ胃内容物中のそれとは異なっており、ホッキガイの食物供給層は厚さ数cmの海底境界層のごく狭い部分であると推定された。

有効な食物

ホッキガイ閉殻筋、海底上方1m層までの範囲の海水および底質中の粒状有機物の炭素安定同位体比¹³Cを測定した。閉殻筋の¹³Cは15～16‰で、底生性微細藻類の¹³C値とされる15～16‰に近い値を示した。これに対して、底質中の粒状有機物の¹³C値は19～21‰、海水中のそれは21～25‰であった。ホッキガイは、微細藻類とともに多量のデトリタスを摂食するが、閉殻筋の¹³C値と底質中の粒状有機物全体のそれとの差が4‰と大きいことは、ホッキガイが同化して体物質の合成に使う有効な食物が、主に海底境界層付近に分布する微細藻類と、それ由来の植物性デトリタスであることを示唆している。

水槽色がマツカワの無眼側黒化と成長に及ぼす影響

山野目健（岩手県水産技術センター）

キーワード：マツカワ・水槽色・無眼側黒化・成長

【目的】マツカワ *Verasper moseri* は、茨城県以北の太平洋岸、能登半島以北の日本海沿岸に分布する冷水性の大型カレイである。本種は高級魚であるが、天然資源は著しく減少し、北海道、岩手県ではヒラメに次ぐ有望な水産資源と位置づけて、養殖の推進と種苗放流に取り組んでいる。カレイ目魚類において、人工飼育下では天然魚と異なり無眼側が黒ずむ現象（黒化）が問題となっている。現在、黒化防止に有効な方法は水槽の底に砂を敷いて飼育することだけであるが、残餌や糞の除去、潜砂した魚の取り上げなど飼育管理上問題が多い。無眼側黒化は無眼側におけるメラニンの異常合成によるものと思われる。一般に、メラニン顆粒の合成と拡散は黒色素胞刺激ホルモン（MSH）により促進され、メラニン凝集ホルモン（MCH）はメラニン顆粒を凝集する。また、MSHは黒色環境で、MCHは白色環境で分泌が促進されることが知られている。しかし、カレイ目魚類の無眼側黒化にこれらホルモンが作用しているか否かは不明である。哺乳類においてはMCHの食欲増進効果が認められている。そこで、MCH投与が無眼側黒化へ及ぼす影響を調べた。さらに、水槽色と成長および脳内MCHの関連についても検討した。

【方法】[MCH投与] 砂を敷いた水槽で飼育した無眼側の全く黒化していない全長11cmの個体を30尾選別し、砂を敷いていない3つの0.1 m³ 黒色水槽に10尾ずつ収容し、3群（対照群、MCH 0.1 μg/g 体重群、MCH 1 μg/g 体重群）に分けた。MCHは実験開始後9週目まで毎週1回腹腔内に注射し、実験開始後10週目に供試魚の無眼側をデジタルカメラで撮影し、画像解析ソフトを用いて黒化面積率を求めた。対照群にはMCHの希釈に溶媒として用いた生理食塩水のみを同様に投与した。

[水槽色] 孵化直後から全長4cm、5cmあるいは8cmまで砂を敷いた透明水槽で飼育した無眼側正常魚を、砂を敷いていない0.5m³の白色、黄色および黒色の水槽に移行して飼育し、全長と体重を毎月1回測定した。なお、全長4cmの魚を用いた実験は0.5 m³と平行して0.1 m³の白色、黄色、黒色水槽でも行った。飼育終了時に供試魚の無眼側をデジタルカメラで撮影し、黒化面積率を求めた。また、供試魚の脳を4%パラホルムアルデヒドで固定後、免疫組織染色を施し、脳内のMCH免疫陽性細胞体数を測定した。

[無給餌] 低水温期（3～6月：水温6.3～12.3℃）と高水温期（8～10月：水温15.4～18.7℃）に0.1 m³の白色水槽と黒色水槽にそれぞれ15尾（体重66g）ずつと10尾（体重34g）ずつ収容し、無給餌で飼育した。低水温期は無給餌開始後15週目まで、高水温期は7週目までの体重を毎週1回測定した。

【結果と考察】[MCH投与] 実験開始後9週目（MCH10回投与）の無眼側黒化面積率はMCHの投与量依存的に無眼側の黒化部位が少なくなる傾向が認められた。また、対照区とMCH 1 μg/g 体重群の黒化面積率には有意な差が認められた。

[水槽色] 白色、黄色水槽飼育魚において、無眼側の平均黒化面積率は黒色水槽飼育魚より有意に低かった。また、全長5cmと8cmで開始した実験では白色水槽飼育魚は黒色水槽飼育魚よりも有意に大きかった。しかし、全長4cmで開始した実験では、0.1 m³の白色および黄色水槽飼育魚は黒色水槽飼育魚より大きかったものの、0.5m³では水槽色による差は認められなかった。MCH免疫陽性細胞体は外側隆起核に検出され、その数は白色水槽飼育魚で黒色水槽飼育魚より有意に多かった。

[無給餌] 低水温期および高水温期とも白色水槽と黒色水槽の無給餌条件下による体重変化率に違いは見られなかった。

以上の結果から、白色水槽飼育は無眼側黒化防止と成長促進に有効で、それらにMCHが関与することが示唆された。また、白色水槽と黒色水槽の成長差はMCHの食欲増進効果によるものと推察された。

B-2 マツカワの体色調節ホルモン . . 構造と機能

高橋明義 (北里大学水産学部)

キーワード : マツカワ、メラニン凝集ホルモン、黒色素胞刺激ホルモン

【目的】メラニン凝集ホルモン (MCH) と黒色素胞刺激ホルモン (MSH) は鱗や皮膚において相反する作用によって魚類の体色を調節する。MCH はメラニン顆粒を凝集して体色を明化する。これに対し、MSH はメラニン顆粒の合成促進と拡散によって体色を暗化する。一方、哺乳類においては、MCH は食欲を増進し、MSH は抑制する。

山野目健 (岩手県水産技術センター) はマツカワ、*Verasper moseri* に関する一連の研究において、白背景色飼育が無眼側黒化の発生を抑制できること、及び背景色が成長に影響を及ぼすことを発見した。ニジマスなどでは MCH と MSH の産生と分泌は背景色に応じて変化する。マツカワにおいても背景色がこれらホルモンの産生に影響を及ぼし、黒化の原因である無眼側でのメラニン合成が抑制されたものと考えられる。一方、魚類において MCH が食欲に関わるという報告はないが、山野目の成績は、マツカワにおいて MCH が食欲増進能を発揮することを示唆する。

本研究では、マツカワにおいて MCH cDNA 及び MSH の前駆体であるプロオピオメラノコルチン (POMC) cDNA のクローニングと関連遺伝子産物の同定を行った。また、これら遺伝子の発現と背景色の関連、及び食欲との関連を調べた。

【方法】[構造解析] 脳下垂体から抽出した全 RNA を用いて逆転写 PCR 法、5'及び3'RACE 法により、MCH cDNA 及び POMC cDNA を増幅し、塩基配列を決定した。脳下垂体中の MCH 及び POMC 関連ペプチドを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 及び質量分析によって同定した。[遺伝子発現] MCH 遺伝子と POMC 遺伝子の発現組織を逆転写 PCR 法によって調べた。また、白背景色飼育魚と黒背景色飼育魚の脳における MCH 遺伝子の発現量を、 β -アクチンを内部標準とする逆転写 PCR 法によって調べた。また、同様に飼育したマツカワの脳、脳下垂体、及び皮膚における POMC 遺伝子の発現量を同逆転写 PCR 法によって調べた。さらに、2週間無給餌飼育したマツカワの脳における MCH 遺伝子及び POMC 遺伝子の発現量を調べた。

【結果】[MCH の構造] MCH cDNA は、ポリ A 尾部を除き、578 塩基対で構成され、135 アミノ酸残基のプレプロ MCH をコードする。MCH は 17 アミノ酸残基からなり、プロ MCH のカルボキシル末端部に位置する。脳下垂体抽出物中の MCH は、HPLC で分画した抽出物の質量を翻訳アミノ酸配列と照合することにより同定した。マツカワ MCH はサケ及びティラピアとは第 2 位のみが異なる (Asn/Thr)。

[POMC の構造] 3種類の POMC cDNA をクローニングした。POMC-A、-B、及び-C cDNA はポリ A 尾部を除き、それぞれ 1197、956、及び 1014 塩基対で構成され、それぞれ 199、214、及び 219 アミノ酸残基のプレ POMC をコードする。POMC-A と-B は α -MSH、 β -MSH、及び β -エンドルフィンを含む。POMC-C は α -MSH と β -MSH を有する。 β -エンドルフィンに対応する領域は存在するが、その構造は激しく変異している。MCH の場合と同様に、脳下垂体抽出物中に、MSH 類を含むほとんどの POMC 関連ペプチドを同定した。[MCH 遺伝子の発現] 逆転写 PCR により、MCH 遺伝子の発現を脳、脳下垂体、生殖腺、及び皮膚などにおいて認めた。脳での MCH 遺伝子の発現は白背景色飼育魚のほうが黒背景色飼育魚よりも高い。また、無給餌魚のほうが給餌魚よりも高かった。[POMC 遺伝子の発現] POMC-A 及び-B 遺伝子の発現は主に脳下垂体で認められた。POMC-B 遺伝子の発現は、脳、鰓、心臓、脾臓、肝臓、胃、腸、生殖腺、筋肉、血液、及び皮膚においても認められたが、発現量は脳下垂体に比べて弱かった。POMC-C 遺伝子の発現については、脳下垂体及び血液を除く上記の組織において、ほぼ同等の発現が認められた。脳下垂体での POMC-A、-B、及び-C 遺伝子の発現、及び皮膚 (有眼側と無眼側) での POMC-C 遺伝子については、白背景色飼育魚のほうが黒背景色飼育魚よりも高かった。脳での POMC-C 遺伝子の発現には、背景色及び給餌の有無による変化は認められなかった。

【考察】[黒化との関連] 白背景色で飼育したマツカワでは MCH 遺伝子発現量が高く、POMC 遺伝子発現量が低い。無眼側でのメラニン合成にこれらホルモンの関与が示唆される。[食欲との関連] マツカワで MCH が食欲増進作用を現すことが、次の 3 点から示唆される。白背景色飼育魚の成長は黒背景色飼育魚よりも優れている。白背景色飼育魚の脳内 MCH 遺伝子発現量は、黒背景色飼育魚よりも多い。絶食により脳内 MCH 遺伝子発現量が増加する。

マツカワの体色調節ホルモン . . . 組織分布

天野勝文 (北里大学水産学部)

キーワード: マツカワ・体色・MCH・MSH

【目的】

マツカワ *Verasper moseri* はカレイ目に属する大型の冷水性高級魚である。近年、天然資源は著しく減少し、北海道と岩手県では養殖の推進と種苗放流に取り組んでいる。最近、マツカワでは黒化とよばれる体色異常が水産上の問題となっている。一般に魚類では、メラニン凝集ホルモン (melanin concentrating hormone: MCH) と黒色素胞凝集ホルモン (melanophore stimulating hormone: MSH) が体色を制御する。すなわち、MCHが体色を淡くし、MSHが体色を黒くする。最近、MCHとMSHが中枢に作用して食欲の調節に関わることが哺乳類において報告され、これらのホルモンの多彩な生理作用が注目されている。そこで、マツカワの体色異常との関連を含めて、MCHと -MSHの脳および下垂体における分布を免疫組織化学法により調べた。また、初期発生過程におけるMCHと -MSHの動態についても調べた。

【方法】

岩手県水産技術センター (岩手県釜石市) で人工孵化・飼育したマツカワを使用した。2・フェノキシエタノールで麻酔後、断頭して頭部をブアン液で固定した。常法とおりパラプラスチックに包埋してマイクロームで薄切切片を作製した。MCH抗体あるいは -MSH抗体を用いて、ABC法により免疫組織化学染色を施した。また、孵化時から定期的に仔稚魚をサンプリングして、MCHと -MSHの初期発生過程における動態についても調べた。

【結果と考察】

MCH免疫陽性細胞体は、視床下部の外側隆起核 (NLT) および第三脳室上部 (LVR) に観察された。NLTのMCH免疫陽性細胞体は下垂体後葉に免疫陽性繊維を投射していたが、LVRの細胞体は下垂体には免疫陽性繊維を投射していなかった。MCH免疫陽性繊維は、視床下部と下垂体だけでなく、脳全体に広く分布していた。MCH免疫陽性細胞体は孵化7日後に初めてNLTに検出され、孵化14日後にはLVRにも検出された。MCH免疫陽性繊維は孵化7日後に初めて下垂体に検出され、孵化42日までには脳内の免疫陽性繊維の分布は成体と同様になった。-MSH免疫陽性細胞体は視床下部に、免疫陽性繊維は下垂体中葉に検出された。視床下部の -MSH免疫陽性細胞体は下垂体に投射せず、脳内に投射していた。-MSH免疫陽性繊維は孵化7日後から下垂体中葉に検出された。MCHと -MSH免疫陽性細胞体は視床下部に存在したが、同一ニューロンには共存していなかった。MCHと -MSHが孵化直後から検出されたことは、これらのホルモンがマツカワの発生初期に何らかの生理的機能を果たすことを示唆する。今後、これらのホルモンとその受容体とのネットワークについても検討する予定である。

B-4 サケ科魚類の成長促進における成長ホルモンとインスリン様成長因子

森山俊介(北里大)

キーワード: サケ科魚類、成長ホルモン、インスリン様成長因子、受容体

「目的」

魚類の成長は、哺乳類と同様に、視床下部ホルモン、脳下垂体の成長ホルモン(GH)と体組織のインスリン様成長因子(IGF-I)および受容体で構成させる情報伝達系により調節される。従って、魚類の成長促進機構を解明するためには、これらホルモンおよび受容体を同定し、機能および情報伝達機構を明らかにすることが極めて重要である。我々は、サケ科魚類のGHおよびIGF-Iを同定して測定系を確立し、サケ科魚類の成長がGH-IGF-Iを軸とした内分泌系により調節されることを明らかにした。一方、サケ科魚類ではGH受容体(GHR)およびIGF-I受容体(IGF-IR)が未同定であるため、これらホルモンの受容体を介する情報伝達機構は不明である。そこで本研究では、ニジマスのGHRおよびIGF-IR cDNAをクローニングし、mRNAの発現組織および受精卵から孵化仔魚における発現動態を調べた。

「方法」

ニジマスのGHR cDNAは肝臓から、またIGF-IR cDNAは心臓からPCRによりクローニングした。これらの組織からmRNAを精製し、逆転写によりcDNAを調製した。これを鋳型として、既知のGHRおよびIGF-IRの構造比較を基に作成した縮重プライマーを用いたPCRにより、cDNA断片を増幅し、塩基配列を決定した。得られたcDNA断片の塩基配列を基にプライマーを作成し、5'および3'末端領域をRACE法により増幅し、cDNAの塩基配列を決定した。

ニジマスの脳、下垂体、鰓、心臓、肝臓、脾臓、幽門垂、胃、腎臓、前腸、後腸、鰾、筋肉および生殖腺から全RNAを抽出し、GHRおよびIGF-IR増幅プライマーを用いたRT-PCRにより、これら受容体mRNAの発現組織を調べた。また、ニジマスの受精卵、器官形成期および孵化仔魚におけるGH、GHR、IGF-IおよびIGF-IR mRNAの発現動態をRT-PCRにより調べた。

「結果および考察」

ニジマスの肝臓から2758塩基からなり608アミノ酸残基をコードするcDNAをクローニングした。翻訳アミノ酸配列はキンギョとクロダイのGHRに対して48%と38%の相同性を示し、GHRに共通のYGEFSモチーフ、Box1およびBox2の配列を有した。一方、ニジマスのプロラクチン受容体とは18%の相同性しか認められなかった。これらのことから、このcDNAはGHRと考えられる。GHR mRNAは、主に肝臓および生殖腺で発現し、脳、脳下垂体、鰓、腎臓や腸など調べた全ての組織で検出された。

ニジマスの心臓から他の魚類のIGF-IRとインスリン受容体(INSR)に構造が類似する2種類の受容体cDNA(IGF/INS-R1とR2)断片をクローニングした。IGF/INS-R1の部分構造は、INSRに、またIGF/INS-R2はIGF-IRに類似した。これらの受容体はIGF-IRに共通に認められるキャップ形成に関するシステイン残基に富む領域、塩基性アミノ酸残基に富むプロセッシングプロテアーゼ切断部位、膜貫通領域およびチロシンキナーゼ領域を有した。現在、未決定の5'領域cDNAのクローニングを行っている。IGF/INS-R1およびR2 mRNAは、調べた全ての組織で発現し、いずれの組織でもIGF/INS-R1の発現量は、IGF/INS-R2よりも高かった。

ニジマスの受精卵ではGH mRNAは検出されなかったが、受精後28日目から認められ、孵化後、黄体期から浮上期まで同等のレベルで推移した。一方、GHR mRNAは受精後12日目から検出され、受精後28日目から孵化日まで発現量は低く推移した後、徐々に増加した。IGF-I mRNAは、受精後23日目から検出され、孵化後7日目まで高く、その後、徐々に減少した。一方、IGF-I/INS-R1 mRNAは、受精卵から検出され、受精後23日目まで高く、その後、孵化日、黄体期から浮上期まで低いまま推移した。IGF-I/INS-R2 mRNAも受精卵から検出され、受精後23日目まで低いまま推移したが、IGF-I mRNAの増加に伴って増加し、孵化後、4日目から減少した。

ウナギの性分化とステロイドホルモン

千葉洋明 (北里大学水産学部)

キーワード: ニホンウナギ・生殖腺・性分化・ステロイド

【目的】

一般に魚類では、性的未分化期の性ステロイド処理により性の表現型を変化させることが知られており、性ステロイドが魚類の性分化に重要な役割を果たすことが示唆されてきた。近年、様々な魚種でステロイド代謝酵素をコードする cDNA がクローニングされ、酵素のタンパクや遺伝子の発現動態から、内因性ステロイドの魚類の性分化における役割が明らかにされつつある。飼育環境下のニホンウナギ生殖腺の性分化は体長 15 cm 以上の稚魚期の成長過程で起こり、殆どの個体で、生殖腺は精巢に分化する。これらの個体の雌化はエストロゲンのエストラジオール・17 処理により可能であるが、内因性ステロイドの関与を含めた性分化機構は不明である。そこで、ウナギの性分化期の生殖腺発達の内分泌調節機構を解明することを目的として、養殖ウナギの主に精巢分化過程における血中の性ステロイドホルモン量を測定するとともに、ステロイドホルモン産生細胞 (SPC) の分化とその機能の獲得期について微細構造学的および免疫組織化学的に調べた。

【方法】

水槽飼育した体長 9~50 cm のウナギを使用した。麻酔後、尾部を切断し採血した。生殖腺を摘出し固定後、常法に従い光顕あるいは電顕観察に供した。ステロイド代謝酵素のコレステロール側鎖切断酵素 (P450_{scc}) あるいは 3-水酸基脱水素酵素 (3- β -HSD) の抗体を用いて、ABC法により免疫組織化学染色を施した。血中のプロゲステロン、エストラジオール・17 (E₂)、テストステロンおよび 11-ケトテストステロン (11-KT) 量の変化を RIA 法により測定した。

【結果および考察】

生殖腺の形態的性分化は、体長 15~23 cm の個体で起こり、その 80% 以上の個体は精巢に分化し、他の個体は精巢卵を有する雌雄同体と少数の卵巢 (5% 以下) に分化した。精巢分化は体長 18~23 cm の個体でみられ、細胞の緩やかな増加と結合組織の発達に伴う基質体細胞の顕著な増殖発達を特徴とした。一方、卵巢分化は、生殖細胞の早期の減数分裂像を特徴とし、体長 15 cm 以上の個体でみられた。しかし、飼育群によっては体長 15~22 cm の未分化個体の約 30% が、生殖細胞の早期減数分裂像を示しながら、分化した個体群には完全な卵巢を有する雌はみられず、多数の雄と雌雄同体に分化した。精巢分化に伴って E₂ および 11-KT の血中量は変化を示さなかったものの、その分化期前後で比較的高値であった。これは、ウナギの性分化過程の生殖腺でみられた間性的性質である両性因子間の拮抗的關係を反映しているのかもしれない。精巢の微細構造学的観察から SPC と同定される細胞は、精巢分化後の体長 23 cm の精巢の腸間膜に面する側の結合組織中で始めて認められ、その後、この結合組織中で数を増し集塊をなした。続いて、成魚期には、SPC は精原細胞の包囊を持つ精小囊の間質域に集塊をなして分布することが観察された。しかし、いずれの精巢内の体細胞は不活発な形態的特徴を有しており、また、P450_{scc} および 3- β -HSD の免疫組織化学の結果からも性分化期前後で陽性反応は認められなかった。これらのことから、生殖腺で作られる性ステロイドが本種の精巢分化に関与している可能性は低いと考えられ、これらホルモンの産生器官およびその生理的意義は今後の課題として残された。現在、天然ウナギを用いた卵巢分化における性ステロイドの役割についても解析中である。

マアナゴ・ガレクチンの異物認識

中村 修 (北里大)

レクチンは糖鎖を特異的に認識するタンパク質で、抗体や酵素を除いたものの総称である。レクチンは生物界に広く分布し、その糖鎖認識機能によって発生、アポトーシス、生体防御などさまざまな生命現象における細胞間認識、細胞基質間認識に広く関わっている。ガレクチンは動物レクチンの中の主要な1群であり、ガラクトース関連糖に特異性を示す。

魚類では、皮膚粘液や卵にレクチンの存在することが知られ、これらのレクチンは感染性微生物の糖鎖を認識することによって、生体防御に関わっていると考えられている。しかし、それらの分子が実際にどのような微生物のどのようなリガンドを認識し、どのように作用しているのかについて、明らかにされたことはまだ多くはない。

congerin はマアナゴの皮膚粘液から発見されたガレクチンである (Kamiya et al, 1988)。分子量約 15k のサブユニット 2 個からなるホモダイマーで、少なくとも 2 つのアイソタイプ (congerin 、) が存在する (Kamiya and Muramoto 1992, Muramoto et al., 1999)。我々は congerin の生物機能の解明を目的とし、研究を続けてきた。

congerin は表皮の棍棒状細胞で産生され、粘液中に分泌されている。congerin を含む棍棒状細胞は、表皮以外にも口腔から食道に至る上部消化管の粘膜上皮、および鰓にも分布していた。これらの体内外の体表部に congerin が分布していることは、congerin が体表における防御物質として機能していることを示唆する。

我々はさらに腹腔内にも congerin の新たなアイソタイプ (congerin P) を発見した。congerin P は演繹アミノ酸配列において congerin と 28% の相同性しか示さないが、分子量がほぼ同じで、抗原性も共有している。RT-PCR により、congerin P は腹腔細胞によって産生されていることを確認した。

ところでマアナゴの腹腔内には高い頻度でククラヌス科の線虫が発見される。この線虫の生活史や、マアナゴが本来の宿主であるのかは不明だが、マアナゴの腹腔内で線虫はしばしば腹腔細胞によって包囲化されていた。我々はこの包囲化に congerin が関与しているのではないかと考え、その可能性を検証した。

congerin は線虫の体表と一部の内部組織に強い親和性を示した。また包囲しているマアナゴ腹腔細胞にも親和性を示した。congerin を吸着させた Sepharose をもちいて、腹腔細胞による包囲化を *in vitro* で再現したところ、congerin 結合 Sepharose は非結合 Sepharose に比べて多くの腹腔細胞が吸着したことから、congerin の包囲化促進作用が証明された。

腹腔の congerin 陽性細胞および congerin 結合細胞を蛍光抗体法で調べた結果、2 種類の細胞が congerin を含んでいたが、それらの系統は不明であった。一方、congerin 結合細胞は形態からマクロファージと思われる。congerin と結合する物質は細胞内の小顆粒に局在しており、congerin との結合はラクトースによって阻害された。これらの結果は、congerin が微生物に対して結合するだけでなく、マクロファージ上にある congerin のリガンドとも結合し、両者をつなぐことによって包囲化を促進していることを示す。このようなガレクチンの機能は報告例がなく、生体防御物質としての新しい機能として興味深い。

二平 章・安藤隆二・根本 孝（茨城水試）
 キーワード：チョウセンハマグリ、海浜変形

【目的】 鹿島灘ハマグリ（チョウセンハマグリ）は本州中部、鹿島灘から台湾の外洋に面した浅海砂浜域に分布する。なかでも、鹿島灘や九十九里浜は大規模な生息地であり、ほぼ周年漁業が営まれている。鹿島灘の海岸線は北の大洗町から南の波崎町まで南北約70kmにおよぶが、そのうち鹿島臨海工業地帯の埋め立て海岸約13kmを除く北側約40kmと南側17kmの浅海砂浜域が鹿島灘ハマグリ分布域となっている。本種の主産卵期は7～8月で、受精後10～13日の浮遊生活後に着底し、殻長2mm以下で冬を越し、翌年の春5～6月に2～5mm程度の殻長で汀線に出現する。その後の成長は早く、1.5才で殻長25mm、2.5才で殻長50～55mm、3.5才で殻長65～70mmに達する。鹿島灘ハマグリ漁獲量変動は著しく、数トンから一万トン台の変動幅を持つ。このような著しい漁獲量変動は卓越年級群の出現に依存しているが、こうした変動を引き起こす本種の生残機構には不明な点が多い。ここでは鹿島灘ハマグリ稚貝の発生量変動と海浜地形変化について検討する。

【方法】 解析データとしては1973年から2003年までの30年間の鹿島灘砂浜汀線における稚貝発生量調査結果を用いた。汀線調査は毎年5、6月の大潮時に実施し、調査点を南北ほぼ1km間隔で鹿島港北側に40点、鹿島港南側に16点の合計56点設定し、汀線で深さ5cm、面積1m²の砂をとり、目合1mmのふるいにかけて稚貝を採集した。

【結果】 鹿島灘ハマグリ漁獲量の長期変動と気候レジーム・シフト 1905年から2002年までの本種の漁獲量変動とMinobe(1997)による気候レジーム・シフトの発生年を比較検討した。漁獲量は温暖期に増加し寒冷期に減少する傾向にあった。

汀線域における稚貝発生量の経年変動 1973年から2003年までの鹿島灘汀線における調査点平均稚貝分布密度を鹿島港の北側と南側海浜ごとに検討した。北側海浜では平均密度は1個以下の年が57%、1～5個が27%、6～10個が3%、11個以上が13%であったのに対し、南側海浜では1個以下の年が75%、1～5個が21%、6～10個が4%、11個以上が0%と海岸線距離の長い北側海浜の方が稚貝発生は安定的であった。なかでも、1989,81,85,93,90年級が卓越的な発生量水準を示した。汀線稚貝(0.8才)から外浜域の1.5才貝への生残・加入は北側で安定、南側で不安定の傾向が認められた。さらに、北側、南側海浜とも90年代半ば以降、稚貝発生量は特に低い水準で経過している。

汀線域における稚貝発生の地理的分布と海浜変形 大洗海岸から鹿島港までの区域における汀線変化量、汀線付近の砂の中央粒径および前浜勾配と汀線における稚貝分布密度との関係を検討した。稚貝密度は汀線変化量がプラス、中央粒径が0.2mm付近の細砂、前浜勾配が小さい大洗港突堤南側・鹿島港突堤北側、大洗港の南20km付近の堆積海浜に多い傾向が認められた。大洗海岸から鹿島港までの汀線域における砂の粒度組成の年代的变化を検討した。70年代から2000年代にかけて、稚貝発生に適する細砂域は減少し、浸食傾向にある粗粒砂域が拡大した。さらに近年の深浅測量データから前浜域における海浜縦断形を検討した。鹿島灘ハマグリ稚貝の発生に好適影響を及ぼすと考えられる沿岸州(bar)の形成は中央部に残された一部自然堆積海浜に限定的に認められた。また、外浜域(水深2～10m)における成貝分布調査からは大洗港南側域と鹿島港北側域で汀線と3mおよび6mの水深線間距離が狭くなり、外浜においても浸食が進んでいることが確認された。

【考察】 日本におけるチョウセンハマグリ産地はいずれも砂浜海岸線の連続距離が長い。稚貝発生量は、鹿島灘でも海岸線距離の長い鹿島港北側の方が短い南側よりも安定していること、また発生量は浸食海浜で低く堆積海浜で多いことから、本種稚貝の安定的発生のためには連続する砂浜海岸線環境と前浜・外浜における細砂の堆積環境が必要といえる。近年の鹿島灘海浜の環境は前浜・外浜の浸食状況からみて稚貝の発生に負的な方向に進行していると考えられる。

高橋正和・二平 章(茨城水試)・山廻邊昭文(福島水試)

キーワード: ヤナギムシガレイ、資源、加入量

目的 ヤナギムシガレイは、常磐海域の水深100～150m域を主分布域とする底曳網の重要対象資源である。特に産卵期に漁獲されるヤナギムシガレイは「常磐もの子持ちヤナギ」として市場価値も高い。本種の主産卵期は1～3月で漁獲への加入は1才であり、4月頃から底曳網に全長15cm前後の小型魚が漁獲される。ヤナギムシガレイは現在比較的高い資源水準で推移しているが、年々の加入量変動は比較的大きいのが特徴である。しかしその変動要因は明らかでない。ここではヤナギムシガレイの加入量変動と着底期の水温環境の関係について検討をした。

方法 漁獲統計は茨城県水産試験場漁獲統計(1991～2002年)および福島県海面漁業漁獲高統計(1969～2002年)を使用した。全長データは1998年10月～1999年6月までの福島県水産試験場の市場調査結果と1999年9月～2002年12月までの茨城県水産試験場の市場調査結果を用いた。親魚尾数及び1才時の加入資源尾数は、耳石による年令査定結果からAge-length-keyを作成し、全長データから年令別漁獲尾数を算出し、漁獲開始年齢を1才としてコホート解析によって計算した。1997～2000年級の1才時加入資源尾数はコホート解析により、1才の漁獲尾数から推定、1994・1995・1996年級は1998年の年齢別漁獲尾数から逆算推定した。海洋環境データは、茨城県水産試験場が毎月実施した海洋観測結果を使用した。

結果 茨城県の漁獲統計は1991年から整備され、それ以前のヤナギムシガレイの漁獲量は把握できない。そこで福島県の底びき船も茨城沖で操業し、水揚げしていることから、福島県の漁獲統計から漁獲動向を把握した。福島県におけるヤナギムシガレイ漁獲量は1969～1985年にかけて48～261トンの範囲で増減を繰り返し1985年以降は低レベルで推移し、1994年の漁獲量は29トンにまで落ち込んだ。1995年以降漁獲量は急激に増加し、267トンに達し、その後は再び減少して2001年は88トンまで減少したが、2002年はやや増加して107トンとなった。ヤナギムシガレイの全長組成は、1998年が全長16～17cmと全長22～23cm、1999年が全長21～23cm、2000年が全長25～27cm、2001年が全長16～17cmと27～29cm、2002年が全長16～17cm、22～23cm、27～29cmにそれぞれモードが認められた。1998年、2001年、2002年は全長16～17cmの小型魚のモードが認められることから、前年発生の子魚が加入したと推定される。1999、2000年はモードが1つであり、小型魚のモードが認められないことから、前年発生の子魚の加入は悪いと考えられる。ヤナギムシガレイの1才加入資源尾数は1994、1995、1996、1997年が高水準、2000年が中水準、1998、1999、2001年が低水準と評価された。加入量変動要因の解析のため、親魚資源尾数と年齢別産卵数から年別産卵量を計算し、1才時加入尾数との関係を検討したが、明瞭な関係は認められなかった。つぎに1～5月の茨城沖における表面、水深50m、100mの各水温と1才時加入尾数との関係を検討したところ、1～3月の各水温と加入尾数とは明瞭な関係は認められなかったが、4、5月の表面、水深50m、100mの水温と加入尾数との間には関係が認められ、それぞれ若干の違いはあるものの資源の加入状況は、各水温が9～13℃の年は良くそれ以上または以下の年には悪い傾向が認められた。

考察 加入尾数と各月の水温との関係から、ヤナギムシガレイの生残には4、5月の水温環境が影響していると考えられた。ヤナギムシガレイはふ化から着底までの期間がカレイ類のなかでは長く約3ヶ月であるとされる(南1983)。この生活史から考えると、4、5月はヤナギムシガレイの着底期に該当し、この時期の水温が9～13℃の範囲で推移することがヤナギムシガレイの生残にとって好条件となることが推察された。

鹿島灘におけるカタクチイワシシラスの加入変動

黒山 忠明・二平 章(茨城水試)

キーワード: カタクチイワシシラス・加入変動

【目的】茨城県沿岸小型船漁業において、カタクチイワシシラスは、重要漁獲対象種の一つとなっている。とくに夏秋季に発生し、8月~12月に漁獲される秋シラスの漁獲量は、春季に発生し、4月~7月に漁獲される春シラスの漁獲量よりも近年は高位で安定している。鹿島灘周辺海域における春季発生群については、黒潮系暖水の波及や水温環境がカタクチイワシシラスの来遊機構に影響を及ぼしていると考えられているが、夏秋季発生群のカタクチイワシシラスについては、来遊経路や来遊機構を検討したものは少ない。ここでは、鹿島灘における秋期のカタクチイワシシラスの加入量変動に影響を及ぼす要因について検討した。

【方法】鹿島灘海域への加入量変動指標としては、茨城県における1995~2002年の秋期(8-12月)の月別シラス漁獲量データを用いた。加入変動に影響を与える要因の指標としては、カタクチイワシの卵分布データ、那珂湊定置水温データ、海洋観測水温・塩分データ、動物プランクトン湿重量データ、犬吠埼から黒潮までの離接岸距離データ(海上保安庁発行)、常磐海域における黒潮北限緯度データ(東北水研)を用い、回帰分析を行った。

【結果】

加入変動に影響を与える要因

鹿島灘における秋シラスの加入に影響を及ぼす要因を明らかにするため、各月別のカタクチイワシの卵分布量、那珂湊定置水温、海洋観測水温・塩分、動物プランクトン湿重量、犬吠埼から黒潮までの離接岸距離、常磐海域における黒潮北限緯度データとの関係について解析した。犬吠埼から黒潮までの離接岸距離、黒潮北限緯度、卵分布量データについては、秋シラス漁獲量との間に正の相関が認められたが、その他のデータについては相関が認められなかった。

要因間の関係

相関の高かったこれら3つの要素が秋シラス漁獲量に影響を与えるメカニズムを検討するため、それぞれのデータ間の相関分析を行った。犬吠埼から黒潮までの離接岸距離と黒潮北限緯度との間には相関関係が認められ、犬吠埼で黒潮が離岸するほど、常磐沖で黒潮の北限緯度が高くなる傾向がみられた。

また、黒潮北限緯度と茨城県沖の卵分布量との間にも相関関係が認められ、黒潮の北限緯度が高くなるほど卵分布量は多くなる傾向がみられた。

【考察】黒潮が犬吠埼から離岸傾向を示すときには、黒潮は常磐沖を北上する傾向が認められる。黒潮の北限緯度が高くなることに伴い、茨城県沖のシラス漁獲量が増加するのは、茨城県以南の黒潮内側域に分布する卵稚仔が、常磐沖に大きく張り出した黒潮によって北部へ輸送され、さらに黒潮から派生する黒潮反流や前線渦流によって、常磐・鹿島灘沿岸への卵稚仔の加入が促進されることによるものと考えられる。犬吠埼に接岸傾向を示すときには、黒潮は低緯度で東へ流去するため、卵稚仔は沖合へ分散されてしまい、常磐・鹿島灘への加入は低下するものと推察される。

コホート解析によって推定された 岩手県沖合に生息するヒラメの資源特性

後藤 友明 (岩手水技セ)

キーワード：ヒラメ・資源・岩手県・コホート解析

【目的】 ヒラメ *Paralichthys olivaceus* は日本周辺に分布する異体類の一種で、高級魚として人気が高い。本種は全国的に栽培漁業の対象種とされ、多くの都道府県が放流事業を展開している。また、本種は成長が早く、成長に伴い価格が上がるため、漁獲体長制限による資源管理措置が各地で行われている。岩手県では資源管理型漁業総合対策事業の一環として、1996年から全長規制と固定式刺網の目合規制を内容とする漁業者の自主的な取り組みを、栽培漁業の事業化として、2001年から種苗110万尾放流事業をそれぞれ実施している。しかし、一方でヒラメ資源の構造は放流・天然魚を含めほとんど明らかになっていないのが現状である。そこで、本研究は、岩手県沖合に生息するヒラメ資源構造の特徴を明らかにすることを目的として、資源解析を試みた。

【方法】 本研究は、岩手県農林統計年報と岩手県水産技術センターの水産情報システムによる水揚げ統計資料、および久慈魚市場(1997年以降)と大船渡魚市場(1990年以降)で行っている測定調査から得られた全長組成データに基づいて、コホート解析により1990年7月から2003年6月までの資源量推定を行った。年齢査定は岩手県と八戸周辺で漁獲されたヒラメの耳石観察から得られた age-length key (北川, 未発表)を用いた。ただし、ここでは成長量の年変動は考慮に入れなかった。解析はPopeの近似式を仮定し、各年における最高齢(6歳以上のプラスグループ)と最高齢-1歳(5歳)の漁獲係数が等しくなるように探索的に各年齢の漁獲係数を推定した。放流魚の資源特性は天然魚のそれと等しいと仮定した。放流魚の資源量は、漁獲物に占める放流魚の割合(混獲率)が資源全体を反映すると仮定し、コホート解析で推定された資源量に混獲率をあてはめることにより推定した。1歳魚以上の自然死亡率(M)は、寿命を10年として田中(1960)の $[M=2.5/\text{寿命}]$ を仮定した。0歳魚については、放流数と放流魚の1歳時における推定資源尾数の比から生残率を求めることによりMを推定し、この値を用いて天然魚の0歳魚加入資源量を推定した。

【結果と考察】 放流魚の生残率から0歳魚の自然死亡率を推定したところ、1.81と推定され、1歳魚以上のそれに比べて著しく高いと考えられた。コホート解析の結果、岩手県におけるヒラメ資源量は1,689千尾~2,913千尾、309トン~475トンで変動していた。1999年以降、2,500千尾・400トンを上回る高い資源水準で推移し、2002年にはやや減少に転じたものの、2,736千尾・462トンと依然高い資源水準にあると推定された。天然魚の0歳加入資源量は1993年以降1,000千尾を上回る高い水準で推移しており、1996年と1999年に2,000千尾を上回る極めて高い加入水準となった。しかし、1999年以降加入量の減少が認められ、2002年には1993年以降最も低い水準の1,038千尾と推定された。加入資源あたりの親魚量(SPR)は漁獲が全くないと仮定した時の2.7~13.8%の範囲で推移しているが、1997年以降は5%を下回り、加入量あたりの産卵親魚量は減少傾向にあると推察された。親子関係を推定すると、親魚量の増加に伴って加入量も増加する関係が認められた。一方、0歳魚の加入量と1歳魚資源量の関係を推定すると、0歳魚の加入が一定資源量に達すると1歳魚資源量は350千尾程度で平衡状態に達する密度依存的な関係が示唆された。岩手県では2001年以降、大規模な種苗放流を行っているが、現在、放流魚の回収率は1%未満と著しく低い。こういった放流魚の低回収率は天然魚で推定された若齢期における密度依存的な資源特性に関連している可能性が示唆された。

105 オオクチバスが侵入・繁殖したため池における魚類相の変化

高橋清孝・須藤篤史（宮城内水試）

キーワード：オオクチバス，ため池，侵入，魚類相，

【目的】 宮城県北部では1996年以降急激にオオクチバスが侵入し繁殖したため池が増加している。ため池には通常多くの魚種が生息することから、この間の魚類相の変化を調査することによりバスの侵入と繁殖がため池の魚類群集に及ぼす影響を検討した。

【方法】 鹿島台町のため池で1993～2002年に魚類生息調査を実施した。ため池は希少魚などが生息しない一般的な3つのため池(A～C)と絶滅危惧種1B類シナイモツゴなどの生息が確認されている2つのため池(D～E)の5カ所である。トラップ、三角網、刺網、地曳網を用いて調査し、必要な場合は聞き取りを行った。シナイモツゴ生息池でブラックバスの侵入が確認されたE池で2002年8月に池干しを実施し、バスを駆除すると同時に在来魚を捕獲して隔離飼育した。池干しや地曳網で捕獲したオオクチバスは全数ホルマリン固定し、全長を測定後、胃の内容物を調べた。

【結果および考察】

1990年代の魚類相

1993～1994年に鹿島台町、松島町、大郷町の3カ所のため池で生息調査を実施し15魚種の生息を確認し、この内3カ所（鹿島台2カ所、松島町1カ所）で絶滅が危惧されているシナイモツゴが60年ぶりに再発見された。これらのため池の一部には絶滅危惧種のゼニタナゴ、ギバチ、メダカも同時に生息していた。これらのため池は、幹線道路から離れており人為的な移植放流が無く、築堤が高いため他の魚の侵入が阻まれ、周囲が保安林などに囲まれて水質・水量が安定しているなど、在来種の生息に適した環境を備えていた。また、シナイモツゴなどが生息しない一般的なため池でも、ほとんどの池でモツゴ、タイリクバラタナゴなどが多く生息し、スジエビ、ヌカエビ、タニシなども豊富に生息していた。

2000年代の魚類相

2000～2002年には1990年代に調査したため池の内シナイモツゴ生息池を2カ所、シナイモツゴなど希少魚が生息しない一般的なため池を3カ所調査した。一般的なため池では全てオオクチバスの侵入と繁殖が見られ、モツゴやタイリクバラタナゴが全滅し、大型のコイとフナのみ確認された。しかし、町や地域が管理しているシナイモツゴ生息池ではバスの侵入がなく多数の魚種がそのまま生息していた。

オオクチバスの全長組成と胃内容物

バスが多数生息していたB池とC池の全長組成は5～43cmと広範囲な組成を示し、5～13cmの当歳魚と20cm前後の1歳魚が多数認められ、これらの池では毎年再生産していたと考えられる。一方、2001年に初めてバスの生息が確認されたEため池では6～35cmの全長組成であったが、6～14cmの当歳魚が多かったものの20cmを越える1歳以上の魚は全部で15尾と少数であった。したがって、E池では少なくとも1歳以上の15尾が密放流され、これらのバスが2002年に初めて再生産したと考えられる。

バスの胃内容物をみるとバスの生息数の多いC池では、全長20cmまではミジンコ、ユスリカ、トンボ幼虫などが出現するものの魚類は全く認められなかった。また、B池では20cm以上のバスがバス当歳魚とザリガニを主に捕食していた。これら2つのため池では、毎年繁殖して増加したバスが捕食によりモツゴやタナゴ類などの小型魚を全滅させたと考えられる。さらに、小型魚が全滅したため池のバスは、ミジンコ、ユスリカなどを利用してある程度成長したバス稚魚や魚以外の小動物を捕食することにより長期にわたり生息し続けることができると考えられる。

シナイモツゴが生息するE池のバスの胃内容物を調べたところ、全長6～35cmの全成長段階のバスがヨシノボリなど魚類やエビ類を捕食していた。このため池ではシナイモツゴ、ヨシノボリなど多くの小型魚とヌカエビなどエビ類が生息しており、バスはこれらを選択的に利用していた。しかし、バスは2002年に再生産を開始して爆発的に増加しつつあったことから、放置すれば他のため池と同様にシナイモツゴなど小型魚は全滅した可能性が高い。したがって、ため池の生物多様性を維持するためには、バスの侵入予防策を講ずると同時に、監視のための生息調査を定期的に行い、万一、侵入があった場合は速やかに駆除する必要がある。

七つ森湖におけるブラックバス類の生息状況と魚類相の変化

須藤篤史 高橋清孝 (宮城内水試)

キーワード: オオクチバス, コクチバス, 繁殖, 魚類相

【目的】鳴瀬川水系吉田川上流域に位置する七つ森湖(南川ダム湖)は、大手釣り具メーカーによるバス釣り大会が開催されるなど、宮城県における主なバス釣り場の1つである。1993年頃からオオクチバスの生息が確認され、1997年には宮城県で初めてコクチバスの生息も確認された。宮城県内で2種が同時に生息している水域はほとんどなく、特にコクチバスについては他水域への供給源となる恐れがあることから、これらブラックバス2種の分布、繁殖、食性等について調査を行うとともに、魚類相調査を実施して1995年の魚類相と比較し、ブラックバス類の魚類相への影響を考察した。

【方法】

1) **生息分布調査**: 両種の湖内における生息分布を把握するため、2002年4～10月に釣り、地引き網、三角網等による捕獲調査を実施した。また、2002年9月に七つ森湖の流出河川である吉田川で、刺し網、地引き網、投網を用いて魚類を捕獲し、ブラックバス類のダム下流域での分布を把握した。

2) **繁殖調査**: 両種の繁殖の有無、繁殖時期、繁殖場所等を把握するため、2002年4～8月に、箱メガネを用いた産卵床の探索、卵の採集、稚魚の捕獲を行った。

3) **食性に関する調査**: 1, 2及び4の捕獲調査で得られたブラックバス類について胃内物を調査した。

4) **魚類相調査** 1995年9月に宮城内水試が実施した魚類相調査と同様に、2002年10月に流入河川およびダム湖浅部で投網、ダム湖内の深部で刺し網、ダム湖浅部でトラップを用いて魚類を捕獲した。

【結果】

1) **分布**: オオクチバスがダム湖上流域のやや浅い場所に多く分布しているのに対し、コクチバスはダム湖下流域の急深部に多く分布していたが、全体の採集数の割合はオオクチバス70%、コクチバス30%であった。また、吉田川ではオオクチバス、コクチバスともに捕獲され、両種が下流域へ分布を拡大していることが確認された。

2) **繁殖**: 5月にオオクチバスの産卵床が、6月にコクチバスのふ化稚魚が確認され、両種ともに七つ森湖で再生産していることが明らかとなった。オオクチバスは、ヨシやヤナギの生える浅瀬の固い土の上に産卵床を形成しているのに対し、コクチバスはやや深めの人工的に礫が散布された開けた場所に産卵床を形成していた。

3) **食性**: 時期やサイズにより食性の違いはあるものの、全般的にオオクチバスの成魚は魚類を中心としてアメリカザリガニなど多様な生物を餌として利用しているのに対し、コクチバスは魚類を主に利用していた。また、オオクチバスの稚魚(当歳魚)は全長5cmまでは主にミジンコやカゲロウを捕食していたが、全長2cm以上で魚類の捕食を開始していた。コクチバスの稚魚も全長3cmまでは主にミジンコを捕食していた(3cm以上の当歳魚は未採集)。

4) **魚類相の変化**: 1995年は17種、2002年は13種の魚類が確認された。1995年と比較して2002年はワカサギ、カマツカ、ドジョウ、ヌマチチブ、カジカが捕獲されず、コクチバスが新たに捕獲された。また、フナ類は大型魚のみが捕獲された。

【考察】七つ森湖においてオオクチバス、コクチバスが共存し、ともに再生産を行い、魚類を主な餌として利用していることが確認された。2002年現在、オオクチバスの生息数が多いことから、オオクチバスによる捕食圧が、より強いものと思われた。1988～2002年までの七つ森湖の水質に顕著な変化は認められず、1995～2002年間にダム湖畔内で土木工事等による地形・植生等、魚類の生息・繁殖に関わる場所の大きな変化はなかった。従って、七つ森湖における魚種組成の変化および小型魚の消失の原因は、水質等環境の変化によるものとは考えられず、オオクチバス、コクチバスの食害によるものが大きいと推察された。

ドジョウの産卵回遊と水田の利用

藤本泰文・大内 豊・山本重史・白馬丈視・千葉洋明・岩田宗彦（北里大水）

キーワード：ドジョウ・産卵回遊・水田

【目的】

ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* は、河川下流域の氾濫原を生息域としていたと考えられている。現在はそれに代わる水域として、水田を主な繁殖域とする。ドジョウは非繁殖期に水路や河川などの恒久的水域に生息する産卵回遊魚である。ドジョウの繁殖には、移動が保証された水田が必要である。移動に必要な環境条件については、水田と排水路の高低差がドジョウの産卵回遊に与える影響は研究されているが、他の環境条件については知られていない。本実験では、水田の取水方法と恒久的水域からの距離が、ドジョウの移動に及ぼす影響を評価し、ドジョウが繁殖のために必要とする水田環境について考察した。

【方法】

岩手県遠野市にある恒久的水域と周辺の水田を調査地とした。2003年5月に、湛水後3-7日の数十の水田で、水田ごとのドジョウ個体数を定量調査した。調査した水田を取水方法別に、1. 素掘りの小水路から導水する水田(素掘り小水路)、2. コンクリートの小水路から導水する水田(コンクリート小水路)、3. 用水路からポンプで揚水する水田(ポンプ揚水)の3つに分類した。水田ごとに恒久的水域からの距離を地図から算出した。

水田内のドジョウ個体数と恒久的水域からの距離について、取水方法別に相関係数を算出した。コンクリート小水路から導水する水田と、素掘り小水路から導水する水田について、ANOVAを用いてドジョウ個体数を比較した。

【結果】

取水方法がポンプ揚水の水田で、ドジョウはほとんど捕獲されなかった。素掘り小水路から導水する水田は、素掘り小水路の水田-恒久的水域間の距離と水田内のドジョウ個体数に負の相関が認められた。素掘りの小水路から導水する水田は、コンクリート水路から取水する水田よりドジョウ個体数が多かった ($p < 0.05$)。

【考察】

これらの結果から、ドジョウの産卵移動する環境条件は、恒久的水域からの距離が短く、素掘り小水路で導水される水田が好適であると考えた。

小島大輔・中根崇仁・府川寛・岩田宗彦(北里大)

キーワード: シロサケ・甲状腺ホルモン・T4 サージ・降河回遊行動

【目的】降海型のサケ科魚類は銀化変態を経て川を下る。銀化変態とは、体色の銀白色化、肥満度の減少、海水適応能の獲得、行動変化などを含み、河川生活から海洋生活への形態的・生理的・生態的变化である(Hoar, 1988; Boeuf, 1994)。銀化変態には、甲状腺ホルモン、インスリン、成長ホルモン、性ステロイドホルモン、コルチゾル、プロラクチン、カテコールアミン等のホルモンが関与している(Iwata, 1995)。特に甲状腺ホルモン・チロキシン(T4)は、成長・代謝の促進、体色の銀白色化、母川環境の記憶に関与している(Boeuf, 1994)。また、T4は降河直前に一過性急上昇(サージ)を示す(Nishioka et al., 1982; Yamauchi et al., 1985; Youngson et al., 1986; Iwata et al., 2003)ことから、降河行動に関与している可能性がある。シロサケでは雨水や泥水、低水温等の水質の変化でT4サージが生じることが知られている(Iwata et al., 2003)。T4サージ後に川を下るとするならば、降河開始直後の個体のT4濃度は高く、降河開始していない個体のT4濃度は低いことが予想される。本実験では、シロサケのT4サージの詳細(実験1)を明らかにするとともに、降河行動開始前後のシロサケの血中T4濃度から、T4サージと降河行動の関係(実験2)を明らかにすることを目的とした。

【方法】実験1: 2003年4月上旬、岩手県大槌町鮭鱒人工孵化場から、シロサケ稚魚500個体(1.6 ± 0.015 g)を北里大学水産学部に移送し、500L水槽で1週間馴致した。1日6回給餌し、泥水の影響を受けないよう、フィルターを使用した。処理前30個体の採血を行った後、大槌川から採取した泥(200mg/ml)を投与し30、60、90、100、110、120、130、140、150、180、240、300、360分の計14群から採血を行った。採取した血液は、遠心分離後、血漿を-35℃で保存した。血中T4濃度の測定は、時間分解蛍光免疫測定法(TR-FIA)を用いた。実験2: 2003年4月下旬、孵化場から約300万尾のシロサケ稚魚を放流した。放流前の孵化場の個体、放流後孵化場の池に残っている個体(池残留群)と源水川に降河を開始した個体(降河群)から採血を行った。目視観察により降河個体数、水中カメラにより残留個体数の計数を行った。捕獲および個体数の計数は、全ての群が池から移動するまで1時間おきに行った。採取した血液は、遠心分離後、血漿を-35℃で保存した。

【結果】実験1: 処理前のシロサケの血漿T4濃度は1.1ng/mlであったが、処理後1時間で有意に上昇した(10.1ng/ml, $p < 0.01$)。2時間後には17.9ng/mlに達し、3時間後にピークを示し(20.8ng/ml)、その後減少した。実験2: 放流されたシロサケ稚魚は、翌日までに全ての群が降河した。降河個体数は、放流1時間後から観察され2時間後にピークを示し、その後減少した。残留群の血漿T4濃度は2時間でピークを示し(39.2ng/ml)、降河群では2.5時間後にピークを示した(43.3ng/ml)。

【考察】実験1の泥刺激によるT4サージは、処理後1時間で有意に上昇し処理後2~3時間は高値を維持し、その後減少することが明らかとなった。実験2の残留群と降河群のT4濃度の変動も、放流後2~3時間でピークを示した。泥と放流の刺激の違いはあるが、刺激によるT4分泌までの機序は同じである可能性がある。残留群と降河群の血中T4濃度変化は、類似していた。またT4のピークよりも早い、放流後1時間で降河行動が観察され、血中T4濃度が有意に上昇した段階で降河行動が起こることが明らかになった。T4サージのピークと降河個体数のピークは重なっており、T4の降河行動への関与の可能性として以下の2つが考えられる。T4が直接降河行動を動機付けする可能性。すなわち放流前の血漿T4濃度は3.7ng/mlで、降河行動が観察された放流後1時間の血漿T4濃度は9.9ng/mlであった。放流の刺激により通常の2.7倍に上昇した。この変化で降河行動の引き金となりうるならば、T4が直接行動に関与している可能性がある。次に、行動変化の結果としてT4が分泌される場合である。放流の刺激が脳が伝達され、何らかの神経伝達物質が行動を発現させ、併せて甲状腺もT4分泌を受ける可能性がある。この場合、T4の役割は行動発現とは別と考えられる。本実験では、野外サンプリングであったため、放流の時間差、複数群の池内行動の時間差、またサンプリングの時間差などが生じた。より詳細なデータを得るために、精度の高い水槽実験が必要である。

ミトコンドリア DNA 調節領域における スズキとタイリクスズキの遺伝的分化

熊谷恵太・中嶋正道・谷口順彦(東北大院農)

キーワード: スズキ・タイリクスズキ・mtDNA・遺伝的分化

【目的】日本近海のスズキと中国沿岸のタイリクスズキは形態的・遺伝的に違いが見られるため近年別種とすることが提案されている。タイリクスズキは日本への導入による影響が懸念される一方、有明海などの一部地域では遺伝的にタイリクスズキに近い集団が存在していると言われている。本研究は mtDNA の配列分析を中心にして日本周辺におけるスズキの集団構造およびタイリクスズキの混在について検討することを目的とした。

【材料と方法】サンプルは日本の 8 地点、韓国および中国の各 1 地点、計 10 地点から得られた 20~154 個体を用いた。八郎湖の 57 個体および大連の 75 個体において、mtDNA 調節領域前半部の 404 塩基を増幅し配列を読み取った。これらの配列をもとに制限酵素の認識領域の設計を行い、すべてのサンプルについて PCR-RFLP 分析を行った。また、これらのデータとこれまでに得られているマイクロサテライト DNA の結果を合わせて考察を行った。

【結果と考察】mtDNA 調節領域のダイレクトシーケンスにより、八郎湖の個体で 48、大連の個体で 58 のハプロタイプが観察された。これらのサンプル集団の間では共有するハプロタイプは見つからなかった。このシーケンスデータをもとにして制限酵素の認識領域を検索した結果 RsaI、HhaI、EcoRI および EcoRV の 4 酵素で RFLP を検出できた。これら 4 酵素による RFLP 分析では、日本の宇和島および有明海のサンプル集団をのぞいた 6 集団および韓国の集団ではハプロタイプの頻度に差はみられなかった。一方、宇和島では 20 個体中 19 個体が、秋田において釣魚により採集された 1 個体がタイリクスズキ型のハプロタイプであった。この mtDNA 分析による結果は、宇和島におけるタイリクスズキ導入による直接的な影響が強いとするマイクロサテライト DNA 尤度分析の結果を支持した。また、秋田において観察されたタイリクスズキは散発的な移動の可能性が考えられた。有明海では 25 個体中 16 個体がタイリクスズキ型のハプロタイプを示した。これらの個体はこれまで得られたマイクロサテライト DNA マーカーによる尤度分析において、尤度がスズキ型からタイリクスズキ型まで幅広く分布しており、ハーディ・ワインベルク平衡に達していることから、タイリクスズキ型のアリルが十分に混合した状態が長い世代にわたって維持されてきたことが示唆された。

個体間距離の推定および血縁関係の判定

野口大毅(東北大院農)・工藤飛雄馬(岩手内水技セ)・谷口順彦(東北大院農)

キーワード：ヤマメ 遺伝育種管理 個体間距離 シミュレーション

【目的】ヤマメ(*Oncorhynchus masou masou*)は食味に優れていることから産業的価値が高く、各地で養殖事業および種苗放流による増殖事業が行われている。増養殖においては、優良品種の維持のために遺伝管理を行うことが有効であり、放流事業においては、放流効果と遺伝的多様性を把握する必要がある。これまで、このような用途には、集団を単位とした集団遺伝学的解析、もしくは、タグや異なる水槽での管理等、物理的手法による個体管理が行われてきた。一方、近年マイクロサテライト DNA マーカー等の高感度マーカーが普及し、個体を識別することが可能になってきた。本研究では、マイクロサテライト DNA マーカーのデータを元にシミュレーションを行うことによって、血縁関係と個体間距離の分布の関係の調査し異なる血縁関係の個体から系統を推定する事を試みた。

【方法】岩手県の民間養殖場で購入したヤマメを約一年半岩手県内水面水産技術センターで飼育し、この中から雄6尾、雌9尾、計15尾を抽出し、交配シミュレーション用親魚として供した。マイクロサテライト DNA マーカーとして、*Oma01*、*Oma02*、*Oma3ke*、*Oma4my*、*Ots520* の計5座を用いた。ここで得られた親魚の遺伝子型をもとに、子魚は両親から各遺伝子座の対立アリルをメンデル遺伝に従い遺伝する交配シミュレーションを行った。親魚の組み合わせにより18組の交配集団を設定し、各集団ごとに100個体の子魚を作成した。この18集団の中から、同胞集団、半同胞集団、非血縁集団を再抽出し、それぞれの集団の個体間距離(proportion of shared alleles)の分布と平均値を比較した。また、18組の交配集団に属する各個体を、Jackknife法を利用したAssignment Testによってどの集団に属するかを推定した。Assignment Testの実行には、コンピュータプログラム WhichRun を用いた。

【結果および考察】同胞集団、半同胞集団、非血縁集団を再抽出し、それぞれの集団の個体間距離(proportion of shared alleles)の平均値を求めたところ、同胞集団では0.640~0.831、半同胞集団では0.496~0.658、非血縁集団では0.344~0.474であった。18集団に属する全ての個体のAssignment Testを行ったところ、1集団において、0.84と比較的低い識別率に止まり、この集団が誤って判別された集団は、0.88の割合で半同胞集団であった。それ以外の17集団においては、0.95~1.00と高い識別率を示した。この結果より、異なる家系を混合飼育している状況下でも、任意の一個体の家系を判別することが可能であることを示した。

ヒラメ親魚由来別による種苗生産への寄与率

° 篠塚由美・朝日田 卓 (北里大水)・齊藤憲治 (東北水研)・
津崎龍雄・有瀧真人 (日裁協)・山下 洋 (京大院農)

キーワード：ヒラメ・天然親魚・人工養成親魚・寄与率

【目的】近年、種苗放流に関する遺伝的問題が注目されるようになり、各ヒラメ種苗生産施設では天然魚を親魚として導入することによって、種苗の遺伝的変異性を保持しようとする努力がはらわれている。ヒラメは1日ないし2日に1回、数か月にわたって産卵するため、ほとんどのヒラメ種苗生産機関では業務管理の都合上、産卵期間のうちの数日間に産卵された卵を種苗生産に用いている。そのため現在の種苗生産法では、種苗の遺伝的単純化を増幅している可能性も示唆されている。しかし、放流種苗の遺伝的多様度を維持するために必要な親魚の由来や年齢、採卵時期および採卵回数、実際に種苗生産に寄与している親魚の割合など、適切な種苗生産用親魚の管理法を確立するために必要な知見はほとんどなく、現在の種苗生産法に起因する問題の把握さえ困難であるのが現状である。そこで、種苗生産用ヒラメ雌親魚とその種苗の遺伝的特性を分析し、種苗生産に寄与した雌親がどの程度であったのか推定を行った。

【方法】日本栽培漁業協会宮古事業場において1995年まで種苗生産に使用していた雌親魚52個体(天然親魚41個体;人工養成親魚11個体)とその種苗66個体から全DNAを抽出し、PCR法で増幅したmtDNAの調節領域を含む領域を11種類の4塩基認識制限酵素で断片化後、アガロースゲルおよびポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動法により断片長多型の検出を行った。また、調節領域に存在する74塩基対の繰り返し配列数の変異も分析に用いた。

【結果および考察】断片長多型分析と繰り返し配列の鎖長変異を組み合わせ検出したハプロタイプ数は、雌親魚52個体から52タイプ、種苗66個体から31タイプであった。この結果、雌親魚52個体すべての遺伝学的個体識別が可能となり、60%の雌親魚が産卵に寄与していたことが明らかとなった。さらに、雌親魚の由来別に寄与率を推定したところ、天然親魚では66%であったが、人工養成親魚では36%であった。雌親魚集団を10歳未満と10歳以上とに分けて行った多変量分散分析(ANOVA)の結果は、寄与率が年齢の影響を有意に受けていること($P=0.0026$)を示した。また、回帰分析では、天然親魚の種苗生産への寄与率は年齢によって変化しない($P=0.184$)が、人工養成親魚の寄与率は年齢によって変化する($P=0.017$)ことが示された。つまり、高齢の人工養成親魚は特に種苗生産に寄与しておらず、これらを親魚集団に含めても種苗に反映することは少ないと考えられた。以上の結果から、ヒラメ種苗の遺伝的多様度を維持するためには、人工養成親魚の使用を中止し、天然親魚の導入を積極的に進めること、年齢に考慮した定期的な親魚の入れ替えをすること、親魚数を増やすことが重要であると考えられる。また、親魚と種苗の遺伝的モニタリングを行い、その結果を親魚組成の調整に用いることが必要である。

被食種 DNA の検出感度と消化時間との関係

葉山 あい子・朝日田 卓(北里大水)

・斉藤 憲治(東北水研)・山下 洋(京大院農)

キーワード：ヒラメ・被食・甲殻類・種特異的 PCR 法

【目的】小型甲殻類であるエビジャコは多くの魚類の餌料生物として重要であると考えられてきた。しかし近年、クラゲ類・頭足類・魚類などと並ぶ仔稚魚の捕食者として注目されている。ヒラメ・カレイ類が着底する水深 15m 以浅の海域には多くのエビジャコが生息しており、着底期異体類仔稚魚の大量捕食が示唆されている。甲殻類は餌生物を噛み砕いてしまうため、従来の形態学的手法では消化器官内容物の種判別が非常に難しく、被食研究の障害となってきたが、Asahida et al(1997)により、甲殻類消化管内容物から被食種 DNA を検出する分析法が開発され、本格的な野外調査への応用が期待されている。調査計画の立案には、被食種 DNA の検出感度に関する詳細な情報が必要であり、効率的な調査には、大量処理法の開発が必須である。本研究は、水槽内被食実験によって検出感度と消化時間との関係を明らかにすることと、サザンハイブリダイゼーション法を応用した大量処理法の開発を行うことを目的とした。

【方法】宮古湾で採集したエビジャコを自然光下で魚類以外の餌を与えて 1 週間以上飼育し、環境馴致を行った。実験開始前の 3 日間、消化器官を空にするために絶食させた。水温はヒラメの着底時期を想定し、20 に設定した。日没後自然光下でヒラメ肉を与え、1.5 時間後に残餌を除去、その時点を 0 時間として 1 時間毎に 16 時間後まで合計 17 回それぞれ 5 尾エビジャコを回収し、直ちにアルコール固定した。ヒラメ DNA の検出は、エビジャコの胃内容物を観察した後、8 M TNES-Uera buffer を用いたフェノール・クロロフォルム法により全 DNA を抽出し、mtDNA の調節領域に設計した種特異的なプライマーを用いた PCR 法によって行った。サンプルの大量処理にはジゴキシゲニン標識をしたプローブを用い、ナイロンメンブレンにプロットしたサンプルを ELISA 法によって検出する方法を応用した。

【結果・考察】水温 20 の条件下では、本研究で用いた種特異的 PCR 法により、被食後 8 時間までのヒラメ DNA がエビジャコ胃内容物からほぼ 100%の割合で検出可能であった。9 時間後から 12 時間後までのサンプルでは、DNA の検出率が低下し、13 時間以降のサンプルでは、DNA はほとんど検出できなかった。また、同時に行った胃内容物の観察では、8 時間までは消化物も含めて何らかの内容物を確認できたが、それ以降次第に困難となり、13 時間以降のサンプルではほとんど確認できなかった。この結果は DNA 分析の結果とほぼ合致するものであった。以上のことから、本手法を用いたヒラメ DNA の検出は被食後 8 時間までは確実であるが、その後は消化・吸収によって急速に困難になると考えられる。小型甲殻類の多くは夜行性で、日没後の数時間に活発に摂餌行動することから、野外調査は日没から 12 時間後程度までの早朝に行うべきであると考えられる。また、サザンハイブリダイゼーション法による検出は、PCR 産物の電気泳動を行う必要がないため、大幅な省力化とコスト削減につながる上、検出感度も良好である事が確認された。

DNA による寄生早期のホタテエラカザリの検出

鈴木英勝・松谷武成 (石巻専修大学理工学部)・玉手英利 (山形大学理学部)

キ・ワ・ド: DNA, 寄生カイアシ類, ホタテガイ

<目的>

ホタテエラカザリ (*Pectenophilus ornatus*) は、ホタテガイ (*Patinopecten yessoensis*) に寄生するカイアシ類として知られている。本種はホタテガイの鰓に寄生し、ホタテガイの血液を吸収することで、ホタテガイの肥満度を著しく減少し、成長を阻害する。また可食部のホタテガイ貝柱の近くに寄生しているためホタテガイ自身の商品価値が低下するので、早急に駆除することが望ましい。本種は幼生期に近隣の海域から海流などにより分散するか、それともホタテガイに寄生した状態で移動、分散したものと考えられている。後者の場合、高感度なホタテエラカザリ検出方法が存在すれば移植前に本種の侵入及び蔓延を防ぐことができる。しかしホタテエラカザリの幼生期の生活史は不明であると共に、未熟期のホタテエラカザリ雌 (体長 < 2mm) や成体の雄 (体長、約 400 μ m) も微小のため肉眼での検出は困難である。そこで本研究では分子生物学的手法を用いて、カイアシ類の識別に有用な DNA マーカーを用いて、ホタテガイに寄生するホタテエラカザリをできるだけ初期の段階で検出することを試みた。

<材料と方法>

2002 年の 12 月下旬、宮城県及び岩手県の沿岸海域において養殖されたホタテガイの貝柱、鰓に寄生しているホタテエラカザリ 1 個体から全長 400 μ m 前後の成体雄一個体並びに、鰓に寄生している未熟期のホタテエラカザリ雌 (約 1mm) を鰓組織ごと摘出し、それぞれ DNeasyTissue Kit (キアゲン) により DNA を抽出した。まずホタテガイの貝柱、鰓に寄生しているホタテエラカザリ成体雄 1 個体から抽出した DNA に対して、Spears et al. (1992) が作成したプライマーを用いて PCR 法により 18S ribosomal RNA に相当する核内 DNA (rDNA) の一部を増幅し、アガロース電気泳動を行い増幅の有無を確認した。増幅が確認された PCR 産物をシーケンサーにより塩基配列を決定した。決定した配列をアライメントし、ホタテエラカザリに特異的な塩基配列部を検出し、その塩基が 3 末端になるようにプライマーを設計した。再度上記と同じ操作で、鰓と未熟期ホタテエラカザリ雌の混合 DNA に対して PCR 法を行い、増幅産物のアガロースゲル電気泳動を行った。

<結果および考察>

今回配列を決定したホタテガイとホタテエラカザリ成体雄の塩基配列の相同性は 84.4%であった。ホタテエラカザリの塩基配列と特異性が高い 3 末端塩基配列部を持つプライマー (2 次プライマー) による PCR 法の結果、ホタテガイには増幅が認められず、ホタテエラカザリにのみ特異的な DNA の増幅 (約 400 塩基対) が確認された。上記の 2 次プライマーをホタテガイの鰓と未熟期ホタテエラカザリ雌の混合 DNA に対して PCR 法を行った所、約 400 塩基対の DNA 領域の増幅が認められた。以上の結果からホタテエラカザリに 2 次プライマーを用いて再度 PCR 法を行い、増幅産物のサイズの比較により宿主の中から寄生種であるホタテエラカザリの種判別、並びに検出が可能であることが示された。

これまでも、有用水産種に対して DNA を用いた種判別方法が利用されているが、多くの場合 RFLP (Restriction fragment length polymorphism) 分析法のように複数の作業工程を必要とする。しかし、毎年非常に多数のホタテガイが移植されることから、作業の簡略かつ迅速な検出、判別方法の確立が必要である。今回適用した PCR 法による増幅産物のサイズ比較だけで寄生種の検出、並びに種の判別が可能であることから、寄生種の侵入及び蔓延を防止する有用な方法となろう。

ニジマス TNF の胸腺細胞に与える影響

日野和義・中村修・厚田静男（北里大水）・吉浦康寿（養殖研）・渡辺翼（北里大水）
キーワード：ニジマス・胸腺・TNF・マクロファージ

【目的】 哺乳類において獲得免疫のなかで重要な役割を担う T リンパ球は、主に胸腺で分化、成熟する。これまでに *in vitro* の実験系において哺乳類胸腺細胞の増殖と分化を促進するサイトカインとして、interleukin (IL)-1, 2, 4, 6, 7, tumor necrosis factor (TNF) などが報告されている。しかし、魚類における胸腺の研究は、そのほとんどが構造を見るにとどまり、魚類サイトカインが胸腺細胞の分化、増殖に与える影響についての知見はない。ニジマス *Oncorhynchus mykiss* 培養マクロファージ (RTM 5) を キチン / キトサン関連物質のひとつである S-chitosan (共和テクノス供与) と lipopolysaccharide (LPS) で刺激したところ、抗ニジマス recombinant (r) TNF- α による免疫染色において LPS のみで刺激した細胞に比べ強い陽性反応が得られた。そこで S-chitosan を添加して培養後、LPS で刺激して得た RTM 5 の培養上清 (conditioned medium : CM) が胸腺細胞に与える影響について検討した。さらに、実際に生体内でも TNF- α がニジマス胸腺細胞の分化、成熟に関わっているのではないかと考え、胸腺内 TNF- α 産生細胞とその局在を明らかにすることを目的として免疫染色を行なった。

【方法】 10% 牛胎仔血清加 RPMI 1640 (RPMI 10) に 10 μ g / ml の割合で S-chitosan を添加したメEDIUMで RTM 5 を 3 週間培養し、4 μ g / ml の LPS で 24 h 刺激したものを RTM 5 CM として使用した。TNF- α を検出するため LPS で刺激した RTM 5 の培養上清を濃縮し、抗ニジマス r TNF- α ウサギ抗体を用いてウエスタンブロッティングを行なった。胸腺細胞を RTM 5 CM または RPMI 10 中で培養し、胸腺細胞の増殖あるいは生存細胞数を alamar Blue 法によって測定した。また抗ニジマス r TNF- α と反応させた RTM 5 CM をもちいて胸腺細胞を培養し、CM の効果が TNF- α によるものであることを確かめた。サイトスピンした胸腺細胞および胸腺の組織切片を免疫染色し、ニジマス胸腺における TNF- α 産生細胞とその局在について調べた。

【結果および考察】 ウエスタンブロッティングの結果、RTM 5 の培養上清からニジマス r TNF- α と同じ分子量 (約 18 k) の陽性のバンドが得られた。ニジマス胸腺細胞を培養すると、コントロール (RPMI 10 のみ) では 7 日目以降、吸光度は検出限界以下を示したが、RTM 5 CM を用いたものでは 7, 11, 14 日目でも高い吸光度を示した。抗ニジマス TNF- α で処理した CM で胸腺細胞を培養すると、11, 14 日目において CM で培養したものに比べ、有意に吸光度が低下した ($P \leq 0.01$)。このことから、CM 中の TNF- α が細胞の増殖あるいは生存に促進効果を与えていると考えられたが、不完全な抑制であったことから同時にその他の促進因子の関与も示唆された。胸腺細胞の免疫染色では、数種類の細胞に TNF- α 陽性反応が見られた。組織切片では胸腺の髄質側において陽性細胞が観察された。これらのことから、魚類においても胸腺細胞の分化、成熟に TNF- α が関与していることが示唆された。

歸山昌美・小池一彦・神保 充・酒井隆一・神谷久男・緒方武比古（北里大水）

キーワード：共生藻、レクチン、*Symbiodinium***[目的]**

海産動物には体内に共生藻を保持するものが多く存在する。このうち約8~9割の動物種は、卵からの発生後に環境中から餌とともに共生藻を取り込み、共生藻のみを選択して共生関係を確立する。共生藻は多くの場合、*Symbiodinium* 属渦鞭毛藻で、自由遊泳生活下において遊泳能力を持つ motile stage と、遊泳能力のない coccoid stage に日周期的に形態変化する。しかし、宿主体内では常に coccoid stage を維持する。したがって、宿主側には餌から共生藻を分離・認識し、その増殖を維持しつつ coccoid stage に固定する機構が存在すると考えられる。

今回、我々は八放サンゴ *Simularia lochomodes* (シゲミカタトサカ) と二枚貝 *Tridacna derasa* (ヒレナシジャコガイ) から D-ガラクトース結合性レクチンを単離・精製し、それらを抗原として作成した抗体を用いて、これら動物組織内におけるレクチンの分布を調べた。また、これらレクチンが *Symbiodinium* の stage 変化やその他の微細藻類の細胞形態・増殖に与える効果を培養実験により調べた。

[方法]

S. lochomodes レクチン (SLL-2) および *T. derasa* レクチン (TDL) の精製および、それに対する抗体の作成は既報に従った。これらの抗体を使用して *S. lochomodes* のポリプと *T. derasa* の外套膜の組織切片に対して免疫組織染色をおこなった。培養実験では *Symbiodinium* 株4タイプのほかに渦鞭毛藻類の *Alexandrium minutum*、*Gymnodinium catenatum*、*Prorocentrum micans*、*Karenia mikimotoi*、緑藻類の *Pyrenomonas* sp. に対して、SLL-2 と TDL を濃度別 (100、10 µg/ml + control) に添加した。添加後、連続して約一週間 *in vivo* クロロフィル *a* 蛍光値による増殖と、*Symbiodinium* の coccoid stage への形態変化の割合、他の微細藻類の状態変化について観察をおこなった。また、実験終了後は蛍光抗体法により微細藻表面へのレクチンの結合状態を観察した。

[結果]

免疫組織染色の結果、両生物の組織中にはそれぞれのレクチンの存在が観察され、特にポリプ中もしくは外套膜組織中の *Symbiodinium* 細胞壁上への特異的な結合が見られた。*S. lochomodes* においては刺胞細胞内部に特に多く存在していた。SLL-2 の添加培養実験をおこなった結果、濃度依存的に *Symbiodinium* が coccoid stage に形態変化し、固定される傾向が見られた。レクチンの添加による増殖の阻害は認められず、むしろ促進効果が認められた。ただし4タイプの *Symbiodinium* 間ではレクチンに対する反応性の違いが見られた。*Symbiodinium* 以外の微細藻類では、SLL-2 の添加によって増殖阻害や細胞破壊などが観察された。TDL を添加した場合も、*Symbiodinium* に対しては SLL-2 同様の効果が得られ、一部の微細藻の運動性の低下が見られた。免疫蛍光染色の結果、*Symbiodinium*、他の微細藻問わず、いずれの細胞表面にもレクチンの結合が観察された。

[考察]

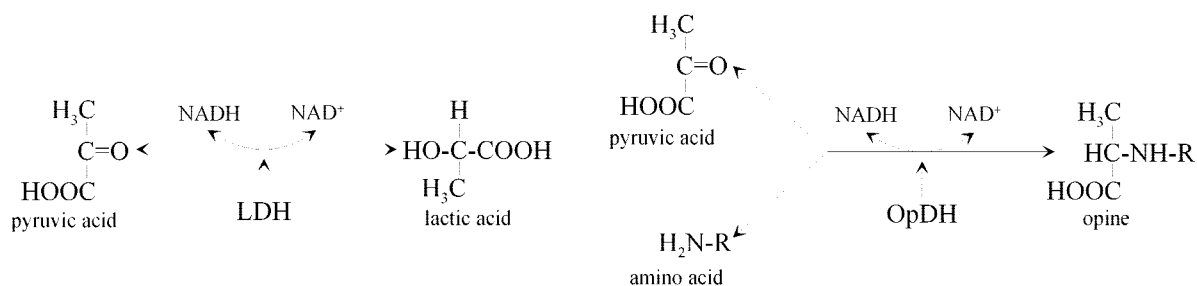
S. lochomodes、*T. derasa* いずれの動物においても、組織内の *Symbiodinium* 細胞の表面にレクチンの強い結合が認められたことから、これらレクチンが *Symbiodinium* 細胞の認識に関わっていると推察された。何れのレクチンを添加した場合にも、*Symbiodinium* 細胞は共生ステージである coccoid stage に変化し、その状態を維持していた。このことから、これらレクチンは *Symbiodinium* を認識し、共生状態を維持させる機能を持つ物質であり、特に SLL-2 には、他微細藻の増殖阻害や細胞破壊を招く排除的機構も備わっているとも考えられた。

環形動物イワムシのオピン脱水素酵素の 精製とその性状

遠藤紀之・鈴木仁・菅野信弘・長久英三(北里大水)・佐藤実(東北大院農)

キーワード：イワムシ・オピン脱水素酵素・精製

[目的] オピンとは分子内に共通して D-アラニン構造を含み、これと他のアミノ酸がイミノ基を共有する形で結合した構造をもつイミノ酸類の総称である。オピンはピルビン酸とアミノ酸から生合成され、この反応はオピン脱水素酵素(OpDH)により触媒される。オピンと OpDH は、淡水・陸棲動物および脊椎動物の乳酸と乳酸脱水素酵素(LDH)と相同の機能を果たしていることが明らかにされつつある。



海産無脊椎動物には5種類のオピンと、それに対応する少なくとも5種類のOpDHが存在し、特に環形と軟体動物では高いOpDH活性が認められている。現在までに軟体動物のオクトピン脱水素酵素(OcDH)とタウロピン脱水素酵素(TaDH)を中心に一次構造解析と比較が進められてきた。その結果、OpDH間の相同性は基質特異性によらずほぼ系統進化に沿う可能性が示されている。一方で、これら2種以外のOpDHに関する知見は乏しい。そこで環形動物門に属し、高いアラノピン脱水素酵素(AIDH)とストロンピン脱水素酵素(StDH)活性が認められるイワムシ *Marphysa sanguinea* (多毛綱, イソメ目, イソメ科)からのOpDHの精製と諸性状の解析を試みた。

[方法] 頭部および消化管を除去したイワムシをリン酸緩衝液中でホモジナイズした。遠心分離後、上清を35-80%硫酸分画し粗酵素液を得た。粗酵素液はDEAE-Cellulose, Blue-Sepharose FF, Macro-Prep Ceramic Hydroxyapatite, Q Sepharose HP, Sephacryl S-100カラムで分画し、精製を行った。

[結果] Q Sepharose HPカラムでの分画により、イワムシからは数成分のOpDHが分離された。これらは何れもAIDH活性とStDH活性を共に有しており、SDS-PAGEの結果から、分子量は約43 kDaと推測された。これは同じ環形動物門に属するセグロイソメ *Arabella iricolor* (多毛綱, イソメ目, セグロイソメ科) TaDHとほぼ同等である。現在、本酵素の諸性状を解析中である。また精製酵素はリシルエンドペプチダーゼにより消化し、部分一次構造の解析を試みる予定である。

水溶性キトサンのコレステロール低下作用

加藤祐子 (北里大水)*・浅野久志・八子博 (株式会社共和テクノス)・
横山雄彦・菅野信弘・長久英三 (北里大水)

キーワード：低分子キトサン・コレステロール・胆汁酸・ラット

【目的】キチン質は節足動物の外骨格や菌類の細胞壁、軟体動物の甲など、地球上に幅広く存在する多糖類であり、脱アセチル化によってキチンのアセトアミド基からアセチル基を外すことによりキトサンが得られる。キチン及びキトサンに関しては様々な生理機能が注目されているが、血中および肝臓中の脂質含量、特に動脈硬化の危険因子とされるコレステロール含量を低下させる機能は、高齢化や食生活の欧米化などに伴って急増している、いわゆる「生活習慣病」の予防物質として注目が集まっている。キトサンのコレステロール低下作用は、アミノ基を有することによって発揮されるため分子量に依存し、高分子のものほどその効果は高いことを示すことが報告されている。しかしながら高分子キトサンは酸性領域でしか溶解せず、食品添加剤としての応用には限度があるため、水溶性を呈し、かつ生理機能を維持した低分子キトサンの調製が期待されている。本研究では、ラットに異なる分子量のキトサン製品を1%含む高コレステロール食を経口投与し、分子量によるコレステロール低下作用の効果を比較した。

【方法】キトサン製品として株式会社共和テクノス社製のキトサンオリゴ糖 (1.8 kDa)、S-キトサン (15 kDa) 及びフローナック H (高分子キトサン、830 kDa) を使用した。動物は4週齢 Sprague - Dawley 系雄ラットを使用し、一群5匹とした。コレステロール負荷試験 (1% コレステロール、0.5% コール酸添加食給餌) を21日間行い、1%レベルでの各種キトサン製品の血清及び肝臓中コレステロール含量、糞中への総胆汁酸排出量に及ぼす影響を検討した。

【結果および考察】コレステロール負荷試験における1%レベルでのS-キトサン添加は、コントロール群と比較してラットの成長に影響を及ぼさずに肝臓のコレステロール蓄積を軽減させる傾向が認められた。キトサンのコレステロール低下作用に関するメカニズムは未だに解明されていないものの胆汁酸と結合し糞中に排出することによって、胆汁酸の腸肝循環を阻害し、結果として体内のコレステロールプールを減少させるといった見方が一般的である。本研究において糞中に排出された総胆汁酸量は、コントロール群と比較して1% S-キトサン添加によって有意に上昇した。この結果は、S-キトサンが腸管において胆汁酸や脂肪酸と結合し体外に排出することによってミセル形成を阻害し、それらの消化および吸収を低下させたことを示唆する。本研究の結果は、既にその効果が認められている高分子キトサンが効果を発揮する濃度よりも低い添加濃度におけるS-キトサンのコレステロール低下作用を示唆するものであり、1%レベルでのS-キトサン給餌が肝臓コレステロール含量や総胆汁酸排出に及ぼす影響を考察したに過ぎず、低分子キトサンによるコレステロール低下作用のメカニズムを解明するためには、今後糞中の胆汁酸組成やコレステロール生合成に関与する酵素の活性および1%レベル以上での給餌について更なる検討が必要と思われる。

* 現所属：株式会社海洋バイオテクノロジー研究所

オキアミ魚醤油中の ACE 阻害ペプチドの探索 (2)

渡辺康介・榊原康治・三橋謙一・中丸剛・菅野信弘・長久英三 (北里大水)

キーワード：ナンキョクオキアミ・ACE・阻害活性・精製

【目的】ナンキョクオキアミは栄養性や生理機能に優れている報告がなされているにも関わらず、その漁獲量は漁獲許容量の1%程でしかなく、利用量は僅かであるのが現状である。こうした未利用資源を有効的に役立てようとする試みから、近年、堂本らがナンキョクオキアミを原材料とした魚醤油の開発に成功している。一方、現在までに種々の食品中や魚介筋肉プロテアーゼ処理物から、昇圧物質であるアンジオテンシン の生成を担うアンジオテンシン変換酵素 (ACE) を阻害する多くのペプチドが発見されている。既に酵素処理したオキアミの剥き身からも ACE 阻害ペプチドが単離されており、そのため、ナンキョクオキアミより製造した魚醤油中にも ACE 阻害ペプチドが含まれている可能性が高い。実際に魚醤油脱塩物については、ACE 阻害活性および血圧降下作用が *in vitro* および *in vivo* において確認されている。しかしながら、本魚醤油中の阻害成分の特定はまだなされていない。そこで本研究では、本魚醤油に含まれる阻害成分の探索を試みた。

【方法】オキアミ魚醤油脱塩凍結乾燥粉末からエタノール抽出後、ゲルろ過、イオン交換、逆相 HPLC 等を組み合わせ、ACE 阻害ペプチドの単離を行った。アミノ酸組成は Dabsyl 法、アミノ酸配列は島津 PPSQ-21 により分析した。ペプチドは TNBS 法により定量した。ACE 阻害活性は Lieberman の測定法を改良した山本らの方法に準じて、Hip-His-Leu を基質とし、ウサギ肺由来 ACE に対する阻害活性で表した。

【結果】エタノール抽出物を SP Sephadex C-25 により酸性、中性、塩基性の三画分に分画したところ、何れの画分にも ACE 阻害活性が認められた。本研究では、主に強い阻害活性を示し、活性発現に対して重要であると言われている芳香族、および疎水性アミノ酸を多く含む中性画分に注目し精製を進めた。中性画分は、各種カラムクロマトグラフィーによって、複数の活性画分に分画され、逆相 HPLC によっても、さらに複数成分に分画された。これまでに中性画分から、比較的高い阻害活性を示すジペプチド Ile-Tyr、Tyr-Val、Val-Phe の単離に成功した。現在は酸性、塩基性画分についても精製を進めており、複数成分に分画される結果を得ている。以上の結果は、オキアミ魚醤油が示す血圧降下作用は、少数の阻害成分からなるのではなく、極めて多種類の阻害成分の活性が累積した結果であることを示している。

加工魚肉の物性改変

佐藤 実・山内晶子・中野俊樹・山口敏康（東北大院農）・阿部 仁（阿部亀商店）

キーワード：カツオ、テクスチャー、酵素、物性改変

【目的】

生では脆弱な魚肉、特にカツオやマグロなど赤身魚の筋肉は加熱加工すると硬化する。消費者のソフト志向から硬化した加工魚肉は倦厭され、カツオ、マグロなどの流通はほとんどが生である。しかし、生流通には限りがあり、市場からあふれた赤身魚は食品以外への利用に回される。カツオは資源的には比較的安定した貴重な水産資源である。水産資源の有効利用の観点から加工魚肉の物性改変が必要と考える。ここではカツオ、マグロ筋肉の加熱加工処理による筋肉の物性変化の詳細を明らかにするとともに、食品添加物に指定されているさまざまな酵素、添加物を用いて、それを制御する方法を検討した。

【方法】

材料として解凍カツオ、解凍マグロ（ビンナガ）およびその他の生鮮魚マアジ、マイワシ、サンマ、トビウオ、チダイ、マガレイ、マゴチ、アユを用いた。

実験1：破断強度曲線はレオメーター（山電）にて測定した。破断荷重の変化が大きく現れるようにプランジャーは厚さ0.5mmのカッターの背側を使用した。はじめに筋肉の破断強度を測定する際の測定方法、特に筋肉繊維の並びとの関係を検討した。筋肉の破断は筋繊維の正面と側面から破断する方法を検討し、前者については縦および横から、後者は筋繊維の並びに対し平行および直角からの計4つの破断方法を検討した。以後、破断荷重の最も大きい測定方法で各種魚類筋肉の破断強度を比較した。加熱加工はオープンを用い230℃で、サンプルの大きさに合わせて14～19分加熱した。

実験2：加熱前後の筋肉の組織表面の変化を走査型電子顕微鏡（SEM）で観察した。試料はアユとカツオを用いて、p-ホルムグルタルアルデヒドで固定後、脱水凍結乾燥を行い観察した。

実験3：添加物処理を行った筋肉を加熱し、その破断強度を測定した。用いた添加物は酵素として微生物由来および植物由来のプロテアーゼ剤12種、トランスグルタミナーゼを主成分とした酵素添加物、多糖類（カラギーナン）、食物繊維などである。

【結果と考察】

筋繊維を破断する方向は、筋繊維の並びに対し直角に破断するのが一番荷重が大きかった。多魚種の破断荷重の測定により、生魚ではマゴチ、マガレイなど白身魚で荷重が大きく、逆にカツオ、マイワシなど赤身魚で荷重が小さかった。しかし、一部を除きその差は小さかった。加熱処理により、カツオなど赤身魚では著しく破断荷重が上昇するのに対し、白身魚では全般に荷重が赤身魚より小さく、一部では逆に破断荷重が低下する例も認められた。加熱処理したアユとカツオをSEMで組織観察すると、カツオでは筋繊維が癒着し萎縮しているのが認められたのに対し、アユでは筋繊維が太く、短く、疎であった。赤身魚で硬くなり、白身魚では崩れやすくなることと関係があると思われた。添加物処理による破断荷重の変化をみると、いずれのプロテアーゼ処理を行ったものは荷重が有意に低下した。ただし、同一酵素濃度でも、魚種によっては消化が進み、萎縮する例も見られた。トランスグルタミナーゼや食物繊維、多糖類などの処理では顕著な軟化は見られなかった。

Alexandrium catenella のアミノ酸利用に関する 遺伝子の探索

○首藤悠・小檜山篤志・小池一彦・緒方武比古（北里大・水）

キーワード：*Alexandrium catenella*・窒素・栄養摂取様式・subtractive hybridization

【目的】演者らは現在までに、*Alexandrium catenella* は硝酸カリウム等の無機態のみならず、アミノ酸等の有機態窒素をも利用して増殖することが可能であり、アミノ酸を窒素源に培養した細胞では硝酸カリウム培養のものと比較して細胞内クロロフィル *a* 量および毒含量が減少することを報告してきた。しかしながら、異なる窒素源を利用する際に生じる細胞内変化の詳細については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、*A. catenella* の栄養摂取様式の切替機構解明の一助とするため、まず、硝酸カリウムを利用して培養した細胞と比較してグルタミンを用いたときに発現が増大する遺伝子の単離を、subtractive hybridization 法を用いて試みた。

【方法】*A. catenella* を窒素制限 SW 培地 700mL 中、明暗周期 15L : 9D、光強度 50 μ E/m²/s、20℃で増殖が停止するまで培養した後、窒素源としてグルタミンまたは硝酸カリウムをそれぞれ終濃度 0.7 および 2mM になるように加えた。両窒素源による増殖で細胞密度が 7,000 cells/mL に達したところでそれぞれの細胞を採取し、試料から常法に従って全 RNA を抽出した後、mRNA を精製して二本鎖 cDNA の合成を行った。次に、グルタミン培養細胞由来の cDNA をテスターに、硝酸カリウム培養細胞由来 cDNA をドライバーに用いて subtractive hybridization 法を行った。さらに、subtractive hybridization 法によって得た cDNA、グルタミンおよび硝酸カリウム培養細胞から調製した cDNA を DIG 標識したプローブを用いてドットプロット解析を行い、グルタミン培養細胞 cDNA プローブを用いたもので硝酸カリウム培養細胞 cDNA プローブのものよりも強いシグナルが得られたものについて塩基配列の解析を行った。

【結果および考察】3 回の subtractive hybridization を行い、グルタミン培養細胞で mRNA 蓄積量が増大すると予想される cDNA 群を得、これら cDNA をプラスミドベクターにサブクローニングを行った結果、多数の cDNA クローンを得ることが出来た。そこで、これらの cDNA 群から任意に 351 個のクローンを選択して挿入 cDNA 部分を PCR 法によって増幅し、PCR 産物をドットプロット解析に供した。その結果、30 個のクローンで硝酸カリウム培養細胞 cDNA プローブを用いたものと比較して、グルタミン培養細胞由来のプローブを用いたもので強いシグナルが得られた。次に、これらのクローンについて塩基配列の解析を行い、塩基配列および演繹アミノ酸配列を BLAST を用いて相同性検索を行った結果、7 個のクローンで *Lingulodinium polyedrum* 等のヒストン様タンパク質と、6 個のクローンで *Peridinium bipes* 等のフェレドキシンと高い相同性を認めることができた。また、5 個のクローンについては既報の遺伝子との相同性は見出せなかった。渦鞭毛藻は、DNA と結合するが、一般の真核細胞のヒストンとは構造が異なるヒストン様タンパク質を有することが報告されている。また、フェレドキシンは高等植物においてグルタミン酸合成酵素の電子伝達体として働くことが知られている。したがって、上記で得た遺伝子は、アミノ酸利用に関する遺伝子の発現調節あるいはアミノ酸の代謝に関与しているものである可能性が示唆された。

今後、より詳細にこれら遺伝子の発現を検討すると共に、既報のものと相同性を示さなかった遺伝子については、cDNA 全長の塩基配列を決定する必要性が考えられた。

岩手県沿岸に出現する *Alexandrium* 属について

加賀新之助・関口勝司(岩手水技セ)・緒方武比古(北里大水)・吉田誠(長崎大水)
 キーワード: *Alexandrium* 属・麻痺性貝毒・毒化予測

【目的】岩手県沿岸では、ほぼ毎年、春～夏に貝毒によるホタテガイの出荷規制措置が講じられている。ホタテガイなど貝類の養殖業者は、“いつ規制になるのか”、“いつ規制が解除になるのか”、という不安を抱えながら、生産・出荷に努めている状況にある。我々は漁業者の不安をできるだけ軽減し、計画的な貝類の生産・出荷に資するため、既知の毒化原因プランクトンの出現動向を詳細に調査し、貝類の毒化時期の大まかな予測を行い、関係者に情報提供しているが、我々が提供する情報と漁業者が要望するそれとの間には隔たりがあり、今後、長期的予測や予測の精度向上などの取り組みを進めて行く必要がある。今回、その一環として、麻痺性貝毒に関する毒化予測手法の精度向上を目的として、岩手県沿岸における *Alexandrium* 属の種別出現時期および毒性の有無について調査を行った。

【方法】広田湾他7湾の各1定点において、1998年～2002年に、毎月1～3回、深度0～10mから5m毎(一部の湾では2m毎)に層別に採水した。採取した海水500mLはメンブランフィルター(孔径8μm)を用いて重力ろ過法により約5mLに濃縮した。濃縮試料から細管を用いて *Alexandrium* 属と思われるプランクトンを分離し、SW(あるいはT1)培養液に接種して、温度15～18℃、光強度80～100 μmol photon · m⁻² · s⁻¹(12時間毎の明暗周期)の条件下で培養した。増殖した培養株から一部を分取し、遠心分離法により濃縮して毒成分分析用試料を調製した後、ELISA法によるスクリーニングを行ったうえ、HPLC・蛍光法(Oshima(1995))を用いて分析した。また培養細胞を対象に、光学顕微鏡による鎧板配列の観察を行い、吉田(2000)に基づき種の同定を行った。

【結果および考察】

1 出現した *Alexandrium* 属の種類、その出現時期および培養時の連鎖群体形成状況

これまでに福代(1982)により出現が報告されている3種(*A. catenella*, *A. tamarense*, *A. fraterculus*)に加え、新たに5種(*A. insuetum*, *A. minutum*, *A. ostenfeldii*, *A. pseudogonyaulax*, *A.sp.*(1994P))の出現が確認された。時期別にみると、*A. tamarense* および *A.sp.*(1994P)は春～初夏に、他の種は夏～初冬に出現した。既知の有毒種である *A. catenella* および *A. tamarense* は出現期間が長期にわたるのに対し、他の種の出現期間は比較的短いように思われた。連鎖群体の形成状況についてみると、*A. pseudogonyaulax* では形成が認められなかったが、他の種では連鎖群体の形成が確認された。多くの種は2～4細胞連鎖であったが、*A. catenella* および *A. fraterculus* の2種では16細胞連鎖まで認められた。

2 *Alexandrium* 属培養株の毒成分

8種の培養株のうち、*A. tamarense*, *A. catenella* および *A. ostenfeldii* の3種から毒成分が検出された。前2者は有毒種として知られており、今回もすべての株から弱毒成分のC2を主体に検出された。一方、今回新たに見出された *A. ostenfeldii* では GTX4 を主体に毒成分の生産が示唆された。本種についてニュージーランドでは有毒株と無毒株が存在することが報告されている(Mackenzie *et al.*(1996))。

3 毒化予測手法上の留意点・改善点

福代(1982)は本県沿岸に5種が出現することを報告しているが、今回の調査ではこのうち3種を確認し、さらに、新たに5種の出現を確認した。新たに確認された5種のうち、有毒被疑種は *A. ostenfeldii* 1種のみであった。本種は、1999年11月に唐丹湾より採取した海水から、*A. catenella* (2細胞)とともに1細胞を分離し、培養株として確立したものである。同一時期に他の湾でも同様に調査したが、得られたのは *A. catenella* のみであった。このことから、*A. ostenfeldii* の出現頻度および細胞密度は低いと予想され、現状では本種が毒化の主原因となる可能性は低いと考えられた。従って、基本的に本県沿岸の主たる毒化原因種は既知の有毒種 *A. tamarense* および *A. catenella* の2種と考えて良いと思われる。一方、今回の結果は、これら有毒種出現時期に、形態上識別が困難な無毒種が混在して計数されている可能性を示した。このことは、出現細胞密度を貝類毒化の目安として用いる現在の毒化予測(毒化情報)のあり方に修正が必要であることを示唆する。今後、水柱の毒性(ネット採集物の毒性など)とホタテガイ毒性との関連についてデータを積み重ねることなどによって、より精度の高い毒化予測手法の構築を進める必要がある。

越喜来湾における *Dinophysis* 葉緑体起源生物の探索

高橋義明・小池一彦(北里大水)・瀧下清貴(海洋科学技セ)
石川正弘・小嶋 稔・永江啓和・小檜山篤志・緒方武比古(北里大水)
キーワード: *Dinophysis* fluorescence *in situ* hybridization 越喜来湾

【目的】

我々は先に、遺伝子解析結果から光合成性 *Dinophysis* の葉緑体が、環境中に出現するクリプト藻類に由来する可能性を示し、さらに *Dinophysis* の葉緑体に特異的に結合する蛍光核酸プローブを開発した。またこのプローブを用いた fluorescence *in situ* hybridization (FISH) による予備的フィールド調査の結果、*Dinophysis* の葉緑体の起源となりうるクリプト藻が岩手県越喜来湾に出現することを報告した。本研究では、このプローブを用いた FISH により、越喜来湾における *Dinophysis* 葉緑体起源生物の出現を継続して調査し、その消長と調査期間内に出現した *D. fortii* の細胞密度および細胞内フィコエリスリン含量との相関を調べた。

【方法】

D. fortii の葉緑体起源生物の出現調査は 2002 年の 6 月上旬～7 月下旬、2003 年の 5 月中旬～7 月上旬の期間に毎週 1 回、越喜来湾湾央部に定点を設置して実施した。バンドン型採水器によって採水した水深 10、20m の試水に含まれる 20 μm 以下のナノプランクトンを固定し、*Dinophysis* 葉緑体に特異的に結合する蛍光核酸プローブを用いた FISH と、DAPI による核染色により、プローブが結合した真核ナノプランクトン細胞数を蛍光顕微鏡下で計数した。*D. fortii* の細胞密度は、同水深の試水を固定・濃縮し、計数により求めた。また、青色励起光下における *D. fortii* の細胞内蛍光スペクトルを、顕微分光測光装置(浜松ホトニクス、PMA-11)で取得し、波長 580 nm 付近のフィコエリスリンのピーク高を求め、これを相対フィコエリスリン含量とした。

【結果】

試水に含まれているナノプランクトンに対して FISH および DAPI 染色を実施した結果、プローブが結合する真核ナノ微細藻の出現が 2002、2003 年ともに確認された。

2002 年は *D. fortii* の高密度出現期の調査を逸したが、*D. fortii* の出現後期には、プローブが結合する真核ナノ微細藻の出現量に比例して *D. fortii* の相対フィコエリスリン含量が増減する傾向が見られた。また、細胞質にプローブが結合する繊毛虫類の出現も見られ、その消長もよく一致していた。

2003 年はプローブが結合する真核ナノ微細藻の出現と、*D. fortii* のフィコエリスリン含量との相関は見られなかったが、この真核ナノ微細藻が高密度に出現した後に、*D. fortii* の高密度な出現も確認された。また、2002 年同様に、プローブが結合する真核ナノ微細藻と繊毛虫類が高密度に出現する時期が一致していた。

【考察】

2002、2003 年の越喜来湾において、*D. fortii* が出現する 6 月から 7 月の期間内に、プローブが結合する真核ナノ微細藻の出現が確認された。これは *D. fortii* と同じ葉緑体を持つクリプト藻類が *D. fortii* と同時期に出現していることを意味する。さらにその出現時もしくはその後に *D. fortii* の細胞密度の増加やフィコエリスリン含量の増加が見られた。以上のことから、*D. fortii* は環境中の特定のクリプト藻類から葉緑体を獲得し、増殖していることが示唆された。また、このクリプト藻の出現と、それと同じ葉緑体をもつと思われる繊毛虫類の出現がよく一致していた。繊毛虫類はしばしばクリプト藻などの微細藻類から葉緑体を獲得することが既に知られているので、*Dinophysis* の葉緑体の起源となるクリプト藻類は、その葉緑体を様々なプランクトンに供給しうることで、そしてそれがクレプトプラスト(盗まれた葉緑体)になりうるということを再度示すものであると考える。

三陸沿岸における*Protoceratium reticulatum* の出現と二枚貝の毒化に関する予備的調査

○堀江啓史・小池一彦・栗原健二・高木賢二・小檜山篤志・緒方武比古(北里大水)

キーワード *Protoceratium reticulatum*、イエットキシン、越喜来湾

【目的】

近年、渦鞭毛藻*Protoceratium reticulatum*にイエットキシン(YTX)の生産が認められた。本邦においてもその有毒細胞の出現が確認されているが、その出現動向と二枚貝へのYTXのコンタミネーションに関する情報は極めて少ない。本研究では岩手県越喜来湾でフィールド調査を実施し*P. reticulatum*の消長と環境の動態との関係、さらにホタテガイ中腸線中のYTX含量を調べることで、本種の発生要因とYTXによる二枚貝の毒化の可能性について検討した。

【方法】

越喜来湾内に湾口部、湾中部、湾奥部の3点の調査点を設け、2003年4月～10月の期間、調査を実施した。バンドン型採水器を用いて各層採水を行い、*P. reticulatum*の出現密度と無機栄養塩類($\text{NO}_3+\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$)濃度の測定に用いた。また、各調査点においてSCTDを用いて水温、塩分濃度の鉛直プロファイルを測定した。これらの海洋環境と*P. reticulatum*の計数結果を比較して、その至適出現環境を検討した。湾中部の調査点に置いては目合い20 μm のプランクトンネットを鉛直曳網し、*P. reticulatum*の分離培養用の試料とした。またYTX分析用に湾中部付近の筏に垂下してあるホタテガイを定期的に採取した。

*P. reticulatum*の出現が顕著にみられた時期のホタテガイの中腸腺と、分離培養に成功した本種培養株のYTX含量を蛍光HPLC法によって分析した。

【結果および考察】

*P. reticulatum*の出現は6月末から7月末の約1ヶ月間に集中しており、湾口部、湾中部、湾奥部何れの調査点でも水深0m～10m付近に顕著な出現が見られた。また、各調査点における最大出現密度は、湾口部では7月16日、0mでの265 cells $\cdot\text{L}^{-1}$ 、湾中部では7月16日、0mでの400 cells $\cdot\text{L}^{-1}$ 、湾奥部では7月1日、0mで137.5 cells $\cdot\text{L}^{-1}$ であった。図1に湾中部での出現コンタグラフを示す。

*P. reticulatum*の出現数と水温、塩分濃度との関係を見ると、水温8.23～19.99、塩分26.41～33.83の広い範囲で検出限界(2.5 cells $\cdot\text{L}^{-1}$)を越える出現密度を示し、50 cells $\cdot\text{L}^{-1}$ 以上の出現は水温11.86～18.46、塩分30.57～33.71の範囲で確認された。また*P. reticulatum*の出現数と無機栄養塩濃度との関係を見ると、 $\text{NO}_3+\text{NO}_2\text{-N}$ は検出限界以下～5.8 μM 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は0.1 μM ～0.7 μM の範囲で計数での検出限界を超える出現密度を示し、50 cells $\cdot\text{L}^{-1}$ 以上の出現は $\text{NO}_3+\text{NO}_2\text{-N}$ 検出限界以下～2.5 μM 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 0.4 μM ～0.6 μM の範囲で確認された。これらのことから、本種は広い水温・塩分濃度範囲で出現可能であり、無機栄養塩ではリンによる制限が大きいことが示唆された。

また蛍光HPLC分析を行った結果、本種の出現が顕著にみられた時期のホタテガイ中腸腺と、分離に成功した*P. reticulatum*培養株からYTXが検出された。これらのことから、岩手県越喜来湾にも本種の有毒細胞が出現し、YTXによる二枚貝の毒化現象が生じていることが確認された。

○林 健志・佐藤 繁・石原さとみ・横田あゆみ・児玉正昭(北里大・水)

キーワード：麻痺性貝毒・分解・グルタチオン・ GTP

[目的]ゴニオトキシン群(GTXs)などの 11 位に硫酸エステルをもつ PSP 成分は、種々のチオール化合物により 11 位が還元されてサキシトキシン群(STXs)へ変化する。この反応には PSP 分子とチオールが結合した安定な中間体が存在する。グルタチオン(GSH)は最も豊富に存在する生体内チオールであり、生物体内での PSP の還元的変換に直接関わっているものと考えられる。*in vitro*では生体内濃度の GSH は低温で GTXs と徐々に反応し、安定な複合体(GS-STXs)を形成するが、毒化貝にこのような複合体は認められない。先に我々は、GS-STX が *in vitro*で -グルタミルトランスペプチダーゼ(GTP)の消化を受けることにより、PSP の分解物と思われる複数の蛍光成分に変化することを報告した。これらの結果は GSH との反応が、PSP 成分の組成変化だけでなく、その分解にも関与していることを示唆する。今回我々は貝の組織における GTP 活性と PSP の分解との関係、毒化貝に認められる PSP 分解物の諸性状につき検討したので報告する。

[方法および結果] Oshima(1995)は有毒ホタテガイの抽出液を HPLC 蛍光法で分析する際に、GTX4 もしくは GTX1 と retention time がほぼ一致する蛍光成分が認められることを報告している。大船渡湾産の有毒ホタテガイから活性炭、Toyopearl Super Q カラムクロマトグラフィー等で本成分の精製を試みたところ、分子量 163、269nm および 339nm に極大吸収を持つ黄色粉末を得た。本成分が PSP の分解産物であることを以下の手順で確認した。すなわち無毒のホタテガイを筋肉、生殖腺、中腸線、鰓、外套膜、腎臓に分け、GTP 活性を GTP C テストワコーを用いて測定したところ、腎臓と中腸線にそれぞれ 1288、658 IU/Kg と比較的高い活性が認められた。上記 6 部位の PBS(・)ホモジネートにそれぞれ GS-STX 標品を混合して 37 でインキュベートし、その経時変化を HPLC 蛍光法を用いて調べたところ、腎臓および中腸線ホモジネート中で GS-STX は顕著に減少し、これに見合った量の上記蛍光成分が生じることを確認した。本蛍光成分は鰓もしくは生殖腺のホモジネート中で GS-STX をインキュベートした場合にも認められるが、GTP 活性が低い外套膜や筋肉のホモジネート中では GS-STX はほとんど減少しなかった。本蛍光成分は、GS-STX に替えて GTX2+3 を腎臓もしくは中腸線ホモジネートに添加してインキュベートした場合にも GTX2+3 の減少に伴って生じるが、STX を添加した場合は全く生成しなかった。この結果は、本蛍光成分が GS-STX 複合体がホタテガイ体内の GTP により消化されることで生じた PSP 分解産物であることを意味する。大船渡湾産ホタテガイを定期的に採取し、可食部の PSP 含量を本蛍光成分の消長とともに調べたところ、本蛍光成分は原因藻である *Alexandrium tamarense* の発生直後から認められるが、貝の毒量の減衰に伴って増加する傾向が認められた。*A. tamarense* の消失後に採取したホタテガイを前述の各部位に分けて抽出し分析したところ、本蛍光成分はいずれの部位にも認められたが、腎臓には GTX 群や STX 群などの PSP 成分の 10 倍以上の高濃度で分布することが判明した。

以上の結果は、ホタテガイの体内で (1)原因藻から取り込まれた GTX4 または GTX3 などの 11 位に硫酸エステルを持つ成分の異性化により GTX1 あるいは GTX2 が生成し、(2)これら 11 位に硫酸エステルを持つ成分は GSH と反応し GS-STXs 複合体を形成し、(3) GS-STXs の一部はさらに STX や neoSTX に還元されるが、(4)大部分の GS-STXs 複合体は GTP により消化を受け、(5)分解産物である蛍光成分へ変化する、という PSP の分解機構が存在することを強く示唆するものである。本蛍光成分は、水に難溶であり、長期に渡って排出されることなく腎臓に蓄積されているものと考えられる。

記憶喪失性貝毒原因藻

*Pseudo-nitzschia multiseri*における細胞内細菌

小林健司・高田(栗栖)義宜・小檜山篤志・小瀧裕一・児玉正昭(北里大・水)

キーワード：記憶喪失性貝毒・*Pseudo-nitzschia multiseri*・細胞内細菌

【目的】環境に有毒プランクトンが発生すると、これを餌とする貝類は毒を蓄積して毒化する。毒化貝の消費は食中毒を引き起こす。このような現象は一般に貝毒と呼ばれ、これまでにいくつかの貝毒現象が知られている。記憶喪失性貝毒は1987年カナダ東岸のプリンスエドワード島で初めて確認された新しい貝毒で、一般的な食中毒症状に加え、記憶喪失が特徴的な症状として現れることからこの名前がつけられている。原因物質は神経興奮性アミノ酸の一種であるドウモイ酸で、羽状目珪藻の *Pseudo-nitzschia multiseri* が原因となることが明らかにされている。*P. multiseri* は培養可能なため多くの研究者により培養実験が行われ、その毒生産についていくつかの特徴が報告されている。そのひとつは *P. multiseri* によるドウモイ酸生産には環境中の細菌が関与することである。すなわち、*P. multiseri* を無菌培養するとそのドウモイ酸生産量は著しく低下するが、無菌化前の培養中に存在していた細菌を添加して培養するともとのレベルに戻る。同様の現象は無毒の他の藻類の培養中に存在する細菌の添加でも観察されることから、同種の毒生産には環境中の細菌が関与すると考えられている。しかし無菌化した *P. multiseri* は完全に無毒ではなく、無菌化前に比べると遥かに低い毒を生産することから、同種の毒生産に細菌の存在は必須ではないと考えられている。一方、植物プランクトンの多くが細胞内に細菌を持つことが明らかになりつつある。本研究は、無菌化して著しく毒生産能の低下した *P. multiseri* について、細胞内細菌の存在を遺伝子の手法を用いて検討し、同種の毒生産と細菌の関係を明らかにしようとして行ったものである。

【方法】大船渡湾より分離した *P. multiseri* 株を無菌化し、その培養藻体より AGPC 法を用いて total RNA を調製した。次に、本 RNA より合成した 1st strand cDNA を鋳型として、有毒渦鞭毛藻細胞内から得られた細菌の遺伝子配列を参考に作製したプライマーを用いて PCR 反応を行い、その産物を分析した。

【結果および考察】作製した無菌株はマリンプロス、STP 培地へ接種および DAPI 染色し、培養液と細胞表面は無菌であることを確認した。また、本株の毒生産能は無菌化前の 10 分の 1 以下に低下していた。本培養株より得られた total RNA のアガロースゲル電気泳動では珪藻由来の rRNA のバンドが観察されたが、これらとは別に原核生物の持つ 16S rRNA 付近にもバンドが観察された。本 RNA より調製した cDNA を上記プライマーにより PCR 反応を行い 5% アクリルアミドゲル電気泳動したところ、予想される 180bp および 160bp 付近にバンドが認められた。これらフラグメントの塩基配列の中には *P. multiseri* のドウモイ酸生産を増幅させる細菌の配列が観察された。以上の結果は *P. multiseri* の細胞内に細菌が存在することを示すもので、同種のドウモイ酸生産に細菌が関与することを示唆する。

二枚貝およびプランクトンに蓄積するドウモイ酸の起源 と蓄積機構に関する研究

高田(栗栖)義宜・小林健司・佐藤 繁・緒方武比古・小瀧裕一・児玉正昭(北里水)

キーワード：ドウモイ酸・抗体・細菌

【目的】前報で ASP の原因毒であるドウモイ酸 (DA) が海水に一般に見られる細菌起源である可能性を示唆した。このことは、多くの生物がこれら細菌と接触していることを意味し、DA が種々の生物に存在することを示唆する。本報では、HPLC および DA 測定用の ELISA を用い、種々の生物における DA の存在をスクリーニングした結果について述べる。

【方法】2000 年 7 月、フィリピン、マシンロック湾より 4 種の二枚貝 *Thorny oyster Spondylus sp.*, *Common oyster Crassostrea sp.*, *Penshell Atrina vexillum*, *Blood cockles Anadara antiquate* および 2003 年 9 月、銚子沿岸で採集されたイワガキ *Crassostrea nipponica* 可食部の 5 倍量の 50%MeOH 抽出物、2000-2001 年のマシンロック湾における麻痺性貝毒調査で採集された上記貝類、およびネットプランクトン試料の酢酸抽出物、および本研究室で継代培養している有毒渦鞭毛藻の 50%MeOH 抽出物を試料とした。DA の測定は Quilliam *et al.* の方法に従い HPLC で行い、DA 様ピークが認められた場合は ODS カラムを用いる HPLC により同成分を部分精製し、LC/MS/MS により DA であることを確認した。次に、Branaa らの方法で作製した抗 DA 抗体を用いる ELISA により、上記試料を分析した。

【結果】HPLC および LC/MS/MS の結果は、フィリピン産二枚貝 *Spondylus sp.* に高濃度の DA の存在を示した。このことはマシンロック湾に DA の原因生物が存在することを示唆する。2 年間の貝毒モニタリング試料の ELISA 分析においても、*Spondylus sp.* の DA 濃度は周年 HPLC で認められたと同程度の値を示した。しかし同じ海域で採取された他の 3 種の貝類には殆んど DA は認められず、これはネット試料抽出物についても同様であった。フィリピン側研究者の情報では同湾では珪藻の発生は少なく、*Pseudo-nitzschia* 属珪藻は殆んど認められないことから、*Spondylus sp.* に認められた DA の起源生物は珪藻以外の生物であることが考えられた。そこで研究室で培養中の麻痺性貝毒あるいは下痢性貝毒生産渦鞭毛藻について DA の存在を ELISA で分析したところ、幾つかの株に反応が見られた。これらを HPLC で分析したところ *Prorocentrum lima* に DA 様ピークが認められ、LC/MS/MS の結果は同ピークを示す物質が DA であることを示した。この事実は DA あるいは DA 関連物質が渦鞭毛藻にも存在することを示すものである。そこで、イワガキ抽出物を同様に分析したところ、DA そのものは検出されなかったが ELISA に強い反応が認められた。以上の結果は DA 関連物質が種々の生物に広く分布することを示唆し、前報で認めた抗 DA 抗体に反応する細菌タンパクがこの現象に関連することが考えられた。