

平成22年度

研究科長裁量経費による研究助成

成果報告書



平成23年11月5日

広島大学大学院生物圏科学研究科

目 次

1. 研究助成一覧	1
2. 研究成果の概要	
(1) プロジェクト研究	
① 研究代表者 都築 政紀 ニワトリ初のDNA育種のための基盤確立 －各種経済形質QTLの網羅的検出－	2
② 研究代表者 前田 照夫 稀少家禽精子の凍結保存に関する研究 －オナガドリ精子の凍結保存と新規凍結保存液の開発－	3
(2) 若手研究者支援	
① 研究代表者 杉野 利久 泌乳牛に対する長鎖脂肪酸Caの機能性と有効性の検討	4
② 研究代表者 上田 晃弘 植物における新規なNa ⁺ 輸送体の機能解析	5
(3) 基盤研究サポート	
① 研究代表者 三本木至宏 <i>Shewanella</i> 属細菌シトクロムc5の安定性に関する研究：実験と理論の 融合による新しい蛋白質科学の創造	6
② 研究代表者 豊後 貴嗣 ニワトリヒナの中枢性摂食・代謝調節における脳由来神経栄養因子の役割	7
③ 研究代表者 竹田 一彦 水圏の活性酸素やラジカルの分布・フラックスの解明とそれらによる溶存 有機物の物理化学特性の変化	8
(4) 国際共同研究	
① 研究代表者 小池 一彦 ミャンマー沿岸に出現する有害微細藻類の出現調査	9
② 研究代表者 西堀 正英 Genetical studies on animal and poultry resources in Kazakhstan. カザフスタン共和国における家畜・家禽および近縁野生種の遺伝資源学的 調査および基礎研究	10
③ 研究代表者 長澤 和也 地球温暖化と水産養殖業：東南アジアから日本に侵入する熱帯性寄生虫の 特定と生産量への影響評価 Global Warming and Aquaculture: Identification of Tropical Parasites Potentially Invading Japan and Evaluation of Their Impacts on Production	11

平成22年度 研究科長裁量経費研究助成一覧

助成区分	研究課題名	研究代表者	助成額 (千円)
プロジェクト研究	ニワトリ初のDNA育種のための基盤確立 ー各種経済形質QTLの網羅的検出ー	都築 政起	500
	稀少家禽精子の凍結保存に関する研究 ーオナガドリ精子の凍結保存と新規凍結保存液の開発ー	前田 照夫	500
若手研究者支援	泌乳牛に対する長鎖脂肪酸Caの機能性と有効性の検討	杉野 利久	300
	植物における新規なNa ⁺ 輸送体の機能解析	上田 晃弘	300
基盤研究サポート	<i>Shewanella</i> 属細菌シトクロムc ₅ の安定性に関する研究：実験と理論の融合による新しい蛋白質科学の創造	三本木至宏	300
	ニワトリヒナの中枢性摂食・代謝調節における脳由来神経栄養因子の役割	豊後 貴嗣	300
	水圏の活性酸素やラジカルの分布・フラックスの解明とそれらによる溶存有機物の物理化学特性の変化	竹田 一彦	300
国際共同研究	ミャンマー沿岸に出現する有害微細藻類の出現調査	小池 一彦	300
	Genetical studies on animal and poultry resources in Kazakhstan. カザフスタン共和国における家畜・家禽および近縁野生種の遺伝資源学的調査および基礎研究	西堀 正英	300
	地球温暖化と水産養殖業：東南アジアから日本に侵入する熱帯性寄生虫の特定と生産量への影響評価 Global Warming and Aquaculture: Identification of Tropical Parasites Potentially Invading Japan and Evaluation of Their Impacts on Production	長澤 和也	300
		助成総額	3,400

ニワトリ初の DNA 育種のための基盤確立

— 各種経済形質 QTL の網羅的検出 —

都築政起^{1,3}, 豊後貴嗣^{1,3}, 石川 明^{2,3}

¹広島大学大学院生物圏科学研究科,²名古屋大学大学院生命農学研究科

³広島大学日本鶏資源開発プロジェクト研究センター

【緒言】 我が国の鶏卵・鶏肉の自給率は極めて低い(鶏卵 6%程度、鶏肉 1%未満)。これは、我が国が生産性の高いニワトリをほとんど保有していないことに起因している。生産性の高いニワトリを海外から輸入し、そのニワトリに基づいて卵肉の生産が行われているのが実情である。この事実は、輸出元の国でトリインフルエンザなどの重篤な伝染性疾患が発生した場合にはニワトリの輸入が禁止され、我が国の食卓から鶏卵・鶏肉がほとんど姿を消してしまうことを意味する。鶏卵・鶏肉は我々の重要なタンパク源である。そのような状況が生じることは阻止しなければならない。

鶏卵・鶏肉の自給率を上げるためには、我が国で生産性の高いニワトリを開発・保持する必要がある。本研究の最終目標は、これまでの育種法とは異なる、斬新な DNA 育種法により、迅速かつ正確に我が国独自の優良鶏を開発することにある。DNA 育種を行うためには、それに先立ち、ニワトリがもつ経済形質遺伝子座(QTL: quantitative trait loci)を明らかにしておく必要がある。

従って、本研究では、ニワトリの成長関連形質(体重、脚長など)、卵関連形質(産卵率、卵重、卵黄サイズなど)および肉関連形質(産肉量、肉の pH 値、肉色など)を支配する QTL を網羅的に検出することを目的とした。

【材料および方法】 大シャモ雄 1 と白色レグホーン雌 3 に基づく F₂ 資源家系を用いた。QTL マッピングに際しての供試個体数は、成長および卵関連形質では 421、肉関連形質では 281 であった。成長および卵関連形質については、24 の常染色体上に配置した 132 のマイクロサテライト DNA マーカーを、肉関連形質については 21 の常染色体上に配置した 88 の同マーカーを用いた。MapManager QTX b20 プログラムを用いて、Kosambi の地図関数を基にマーカー間の遺伝距離を推定した後、形質値とマーカーアレル型を用いて、マルコフ連鎖モンテカルロ法に基づくベイジャンインターバルマッピングを行った。

【結果および考察】 成長関連形質、卵関連形質および肉関連形質を支配する主効果 QTL を、それぞれ、430、201 および 12 検出した。また、同形質に関与するエピスタシス QTL をそれぞれ、55、29 および 2 組検出した。これらの内、主効果 QTL では、95、173 および 8 のものが、エピスタシス QTL では、55、29 および 2 組のものが、これまでに報告のない新規な QTL であった。以上、本研究により、他に類例を見ない膨大な数の QTL を網羅的に検出することができた。本研究成果は、将来の DNA 育種のための基盤となると考えられる。

稀少家禽精子の凍結保存に関する研究
ーオナガドリ精子の凍結保存と新規凍結保存液の開発ー

大学院生物圏科学研究科・家畜生殖学研究室
日本鶏資源開発プロジェクト研究センター・遺伝資源保存部門長
前田照夫

【目的】：トリインフルエンザ等の世界的な防疫問題が発生すると、稀少かつ有用な家禽遺伝資源は減少し、家禽の多様性が減少することは明らかである。この減少をくいとめるため、北米、オランダおよびフランスでは、本研究と同様なプロジェクトがすでに進行しているが、日本での取り組みは皆無であり、早急な対応が必要である。

本研究の目的は、稀少家禽精子の凍結保存に関する研究、特にオナガドリ精子の凍結保存と新規凍結保存液を開発することである。

【材料および方法】：平成 22 年 7 月 17～19 日、平成 22 年 10 月 2～3 日および平成 23 年 3 月 4～6 日の合計 3 回、高知県南国市の大篠長尾鶏保存会と大篠長尾鶏保存センターを訪問し、南国市におけるオナガドリの現有状況を調査するとともに止め箱（長い尾が維持されるように飼育するための箱）に飼養されているオスから精液の採取と凍結保存を実施した。

また、家禽新規凍結保存液の開発については、関西大学工学部の河原准教授から細菌由来の不凍タンパク質（再結晶化抑制活性の高い物質）の提供を受け、「不凍タンパク質を用いた鶏精子の新規凍結法の開発」を実施した。

【結果および考察】：高知県南国市における調査結果によると、大篠長尾鶏保存会等のオナガドリ愛好家により、育雛鳥（若鳥）も含め約 300 羽が飼養され、止め箱には 50 羽以下が飼養されているに過ぎなかった。また愛好家も高齢化が進み、今後この羽数が維持される可能性もかなり厳しい状況であった。実際止め箱に飼養されている鳥のほとんどが、3 年以上経過しており、精液を回収できる個体も限られていた。回収された精液の精子密度は低く、また凍結保存後、融解した精液における生存精子数も極めて低かった。

また、細菌由来の不凍タンパク質を加えた新規凍結保存液の有効性を検討した結果では、融解後の精子運動性が高くなり、一方奇形精子の割合が低くなり、凍結保存液への不凍タンパク質添加の有効性が検証された。

以上の結果より、今後は止め箱で飼養する前の若鳥から精液を採取し、不凍タンパク質を添加した新規の凍結保存で凍結保存を実施することが、オナガドリのような稀少な品種を保存するためには有効な手段になりうると考えられた。

泌乳牛に対する長鎖脂肪酸 Ca の機能性と有効性の検討

杉野利久 (陸域動物生産学講座 家畜飼養学)

概要

本研究は、長鎖脂肪酸 Ca (CLFAs) とルーメン保護メチオニン (RPM) が泌乳牛の血中グレリン、GLP-1、インスリンおよびグルカゴン濃度に及ぼす影響を検討した。

供試動物として、泌乳中期のホルスタイン種乳牛を 4 頭用い、実験配置は 4×4 ラテン法各法で実施した。1 期 2 週間とし、処理区としてコーンサイレージ主体の TMR のみを給与した対照区、それに CLFAs を乾物あたり 1.5% 添加した区、RPM を 1 日あたり 20g 添加した区、および CLFAs と RPM を併用添加した区の 4 処理区を設けた。供試動物には頸静脈カテーテルを慢性留置し、各期 12 日目に 10 分間隔で経時的に朝の給飼前後 3 時間採血を行った。

CLFAs の添加は乾物摂取量を減少させたが、RPM は乾物摂取量に影響しなかった。また、CLFAs と RPM は、代謝エネルギー摂取量、乳量および乳組成に影響しなかった。CLFAs の添加は、血漿遊離脂肪酸 (NEFA)、トリグリセリド (TG) および総コレステロール (T-Cho) 濃度を増加させたが、RPM との併給によりその増加は緩和された。

血漿グレリン濃度は、CLFAs の添加により増加し、その増加は RPM との併給により増強された。一方で、血漿 GLP-1、インスリンおよびグルカゴン濃度は CLFAs により減少した。しかしながら、血漿グルカゴン濃度は RPM を併給することで、その減少は緩和された。

以上の結果から、CLFAs と RPM の併用添加区において、血漿グルカゴン濃度が高く、血漿インスリン濃度が低くなることで、血漿グルコース濃度が増加すると同時に、脂肪酸の酸化が促進され、その結果として、CLFAs 単独添加に伴う血漿 TG および T-Cho 濃度の増加が抑制されると考察した。一方、摂食促進ペプチドであるグレリンは、CLFAs と RPM との併用添加区で最も高値であったことから、飼料摂取量の抑制を緩和すると推察され、CLFAs 添加時における RPM の併給は、血漿グルカゴンおよびグレリン濃度の上昇を介して、CLFAs による血漿 TG および T-Cho 濃度の増加を抑制し、乾物およびエネルギー摂取量の低下を改善できることが示唆された。

植物における新規な Na^+ 輸送体の機能解析

上田 晃弘 (環境循環制御学専攻 植物栄養生理学)

【研究の概要】

世界規模での環境問題として、塩害土壌(高濃度の塩分が蓄積された土壌)の拡大が挙げられる。動物とは異なり、植物はその生育に Na^+ 塩を必要としない。むしろ土壌中に過剰の Na^+ が存在すると植物の生育は著しく阻害されるために、植物の耐塩性を向上させることは、農業生産上重要である。本研究では、植物の耐塩性の向上を最終目標として、植物がどのようにして土壌などの外環境から Na^+ を取り込むのかについて、モデル植物であるシロイヌナズナとイネを用いて、分子生理学的な解析を行った。

本研究では、外環境から植物体への Na^+ 吸収型輸送体として、NKCC (Na^+ - K^+ - Cl^- Cotransporter, Na^+ - K^+ - Cl^- 共輸送体) の解析を行った。シロイヌナズナにおいて、NKCC 遺伝子内に T-DNA が挿入された *AtNKCC* 変異体は塩ストレス下では野生株よりも耐性を示した。また、RT-PCR 解析により、シロイヌナズナ (*AtNKCC*) とイネ (*OsNKCC1*, *OsNKCC2*) では、NKCC 遺伝子の発現は塩ストレス下で抑制されることが分かった。以上のことから、NKCC は植物における Na^+ 吸収を担っている輸送体であり、塩ストレス下では Na^+ 吸収量を減少させるために、その発現が抑制されていることが推察された。

Shewanella 属細菌シトクロム c_5 の安定性に関する研究: 実験と理論の融合による新しい
蛋白質科学の創造

三本木至宏 (生物機能開発学専攻 微生物機能学)

○研究目的: *Shewanella* 属細菌由来のシトクロム c_5 を対象に, 微生物生化学と理論物理学の手法を融合して, 蛋白質の安定化機構を明らかにする。

○研究の背景: *Shewanella* 属細菌は海洋環境に分布している。地球表面上の広がりのみならず, *Shewanella* 属細菌は深海から浅瀬まで垂直方向にも多様に分布する。

Shewanella 属細菌は例外なく, 相同性が高いシトクロム c_5 を持っている。特筆すべきは, そのどの二つの配列を比較しても, 80% 程度のアミノ酸が一致するほど相同性が高い点である。このことは, アミノ酸の違いが少ないことを意味する。したがって蛋白質の安定性に違いがあれば, その原因を絞り込みやすいメリットがある。

○研究課題: 3 種の *Shewanella* 属細菌由来のシトクロム c_5 (図 1) を対象に, 熱安定性を実験により測定し, その結果を理論物理学による予測と比較する。

○結果と考察: 実験の結果, 図 1 に示す 3 種のシトクロム c_5 のうち, SV がもっとも熱安定性が高く, SL がもっとも低いことが明らかになった。両者のアミノ酸配列比較から, SV に見られる Lys-50 (SA と SL では Leu に対応) が高い安定性の原因と考えた。¹⁾ 由来する菌の生育圧力に適応して, 高圧力下でシトクロム c_5 が安定化した可能性がある。

○今後の方針: 木下正弘教授 (京大・エネルギー理工研) と共同で, 我々は超好熱性シトクロム c の安定性を, 蛋白質の立体構造情報のみから予測している。²⁾ 現在, SV と SL に木下の方法を適用するとともに, 新たなシトクロム c_5 相同蛋白質の探索, および変異導入実験を行っている。

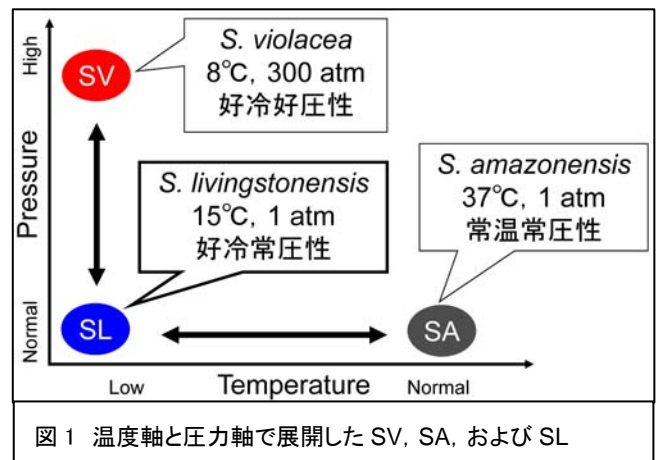


図 1 温度軸と圧力軸で展開した SV, SA, および SL

1) Masanari, M., Wakai, S., Tamegai, H., Kurihara, T., Kato, C., Sambongi, Y. Thermal stability of cytochrome c_5 from pressure-sensitive *Shewanella livingstonensis*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 75, 1859-1861 (2011).

2) Oda, K., Kodama, R., Yoshidome, T., Yamanaka, M., Sambongi, Y., Kinoshita, M. Effects of heme on the thermal stability of mesophilic and thermophilic cytochromes c : Comparison between experimental and theoretical results. *J. Chem. Phys.*, 134, 025101 (2011).

ニワトリヒナの中枢性摂食・代謝調節における脳由来神経栄養因子の役割

豊後 貴嗣 (家畜管理学研究室)

脳由来神経栄養因子(BDNF)は、神経細胞の生存・維持に関与するのみならず、記憶・学習や情動あるいは摂食・代謝調節に関与していることが報告されており、近年哺乳類においてはその重要性から数多くの研究がなされている。しかし、鳥類においては、学習や情動に関する研究はあるものの、摂食・代謝調節についての報告はない。栄養インプリンティング(中枢神経機構の変化)の観点からも、ニワトリヒナ中枢におけるBDNFの役割を調査することは幼雛期の摂食・代謝調節機構解明にとって不可欠である。そこで、本課題では中枢における摂食・代謝調節機構に及ぼすBDNFの影響について調査した。

【材料および方法】

1. BDNF 中枢投与がニワトリヒナの摂食・体温に及ぼす影響: 供試動物は、ニワトリヒナ(4日齢)を用い、室温30℃、24時間点灯条件下で飼育・実験した。なお、飼料および水は自由摂取とした。実験は、Davisら(1979)の方法を用いてヒナの側脳室内にBDNFを投与し、その後の摂食量、直腸温および体重を調査するとともに、血液を採取して血漿グルコースおよび遊離脂肪酸濃度の測定に供した。
2. 急性暑熱暴露がニワトリヒナ中枢BDNF遺伝子発現に及ぼす影響: 3日齢ニワトリヒナを用い、馴致期間の飼育条件は実験1と同様であった。実験は、1時間ヒナに暑熱感作(40℃)を行なった後、間脳を採取しBDNF遺伝子発現量をQuantitative PCR法により解析した。なお、対照区として無処理のヒナ間脳を用いた。
3. 幼雛期暑熱感作がその後の耐暑性に及ぼす影響: 6日齢時にヒナを2群に分け、一方には3時間の暑熱感作(40℃)処理を行ない(試験区)、他方は無処理とした(対照区)。その後、10日齢まで飼育した後、両区ヒナに15分間の暑熱曝露(40℃)を行なった。暑熱曝露後、直ちに直腸温を測定するとともに、実験2と同様に間脳を採取してBDNF遺伝子発現量の解析に供した。なお、暑熱処理以外の飼育条件は実験1と同様であるとともに、飼育期間中の摂食および増体量は毎日記録した。

【結果】

1. BDNF 中枢投与がニワトリヒナの摂食・体温に及ぼす影響: 摂食量は、6時間以降においてBDNF中枢投与によって抑制され、24時間後の総摂食量は対照区より有意に低値を示した。直腸温は、投与区において対照区よりも高い値で推移するとともに、投与2および12時間後では有意に高いことが認められた。また、24時間後の体重は、対照区において1g程度の増加が示されたのに対して、投与区では5g程度減少することが示された。血漿グルコース濃度については、いずれの時間においても差は認められなかったが、投与区の遊離脂肪酸濃度は投与6時間後において対照区よりも高いことが示された。
2. 急性暑熱暴露がニワトリヒナ中枢BDNF遺伝子発現に及ぼす影響: BDNF遺伝子発現量は、1時間の暑熱感作によって3倍近く増加することが示された。
3. 幼雛期暑熱感作がその後の耐暑性に及ぼす影響: 試験区ヒナの間脳BDNF遺伝子発現量は、無処理区のものと比較して低値を示すとともに、直腸温上昇の程度も有意に低いことが認められた。

以上の結果から、ニワトリヒナ中枢においてBDNFは体温調節機構のみならず、中枢性摂食・エネルギー代謝調節に重要な役割を果たしていることが示されるとともに、幼雛期暑熱感作が、中枢性体温調節機構を変化させ、ニワトリの耐暑性を向上させる可能性が示唆された。

基盤研究サポート課題 報告書（平成22年度）

水圏の活性酸素やラジカルの分布・フラックスの解明とそれらによる溶存有機物の物理化学特性の変化

環境循環系制御学専攻・気水圏循環変動予測論講座 竹田 一彦

・背景及び目的：

河川水や湖水、海水などの天然水表層では、自然太陽光の入射により活発な化学反応が起きる。これらの光化学反応で、水中の光化学的に活性な化学種（例えば硝酸イオン、亜硝酸イオン、過酸化水素など）からヒドロキシルラジカル、NOラジカル、スーパーオキシドアニオンなどの活性酸素やラジカルが生成することがわかっている。活性酸素やラジカルは水中の様々な溶存有機物と反応し、物質の酸化/還元状態や官能基の付加や置換などの物理化学的特性の変化をもたらす。つまり、活性酸素やラジカルは溶存有機物の物性変化を誘発し、環境中でのそれらの循環・動態に影響を与えられられる。

本研究では水圏におけるヒドロキシルラジカルやNOラジカルの濃度、分布やフラックスを明らかにした上で、これらの活性酸素やラジカルと海水や河川水中の溶存有機物との反応による溶存有機物の物理化学的特性の変化を解明を目的とし、以下の点に重点をおき研究を行った。

- ・ヒドロキシルラジカルによる溶存有機物のフェノール性水酸基量の変化
- ・海水中でのNOラジカルの生成速度と定常状態の計算・フラックス推定

・ヒドロキシルラジカルによる溶存有機物のフェノール性水酸基量の変化：

ヒドロキシルラジカルは求電子的な反応をするため、ベンゼン環へ置換反応しフェノール性水酸基となる可能性が高い。予備的な実験から1) 高い濃度の天然水溶存有機物の溶液にガンマー線照射（高濃度のヒドロキシルラジカルを生成）するとフェノール性水酸基量が増加する、2) ベンゾフェノンやその誘導体の溶液にヒドロキシルラジカルを作用させると親物質の水酸基置換体である2-ヒドロキシベンゾフェノンや4-ヒドロキシベンゾフェノンが生成する、3) 天然水中の溶存有機物のフェノール性水酸基は固相抽出カートリッジ（SPEカートリッジ）で効率よく濃縮でき定量できる、などのことがわかっている。本研究ではSPEカートリッジを用いて河川水や海水中のフェノール水酸基量を幅広く測定した。

その結果、海水中では1.0 mol/Kg-C程度で大きく変化しないのに対して、河川水ではおよそ0.3~1.8 mol/Kg-Cと幅広く分布することがわかった。また、光照射によってフェノール水酸基量が減少すること、亜硝酸イオンなどを共存させヒドロキシルラジカルを発生させてもフェノール水酸基量の変化は小さいことがわかった。現在、様々なサンプルの季節変化や光照射、ヒドロキシルラジカルへの暴露のデータを積み増しを行っている。

・海水中でのNOラジカルの生成速度と定常状態の計算・フラックス推定：

これまでの申請者らの研究から、天然水中でのNOラジカルの発生速度は水中の亜硝酸イオン濃度が最も支配的な要因であることが明らかになりつつある。一方、NOラジカルの定常状態濃度を決定するもう一つ要因であるNOラジカルの消失速度は沿岸海域では大きな変化はなくほぼ一定である。これらのことから、天然水中でのNOラジカルの定常状態濃度と大気への放出量（フラックス）は天然水中の亜硝酸イオンに直接比例することになり、亜硝酸イオンのモニタリングはフラックスの計算において最も重要なパラメーターになる。そこで本研究では2010年9月の豊潮丸航海での瀬戸内海東部での亜硝酸イオン測定を行った。

大阪湾から安芸灘での表層海水中の亜硝酸濃度はおよそ0.02~0.48 μM で、これらから計算される日中のNOラジカル定常状態濃度は2.5~61 $\times 10^{-12}$ mol/Lであった。また日中のフラックス方向は海水から大気方向であった。フラックス量に強く影響する風速を3m/sとして、気温20℃、表層での平均亜硝酸濃度を0.23 μM として紀伊水道から豊後水道までの瀬戸内海全体での年間の一酸化窒素の大気への放出量を試算したとこと2.0 ton-NO yr⁻¹となった。

ミャンマー沿岸に出現する有害微細藻類の出現調査

Su Myat¹, Saw Htoo Thaw¹, Khin Ko Lay² 小池一彦¹

¹ 広島大学 大学院生物圏科学研究科、² ミャンマー 水産局

【はじめに】

ミャンマーは、ベンガル湾とアンダマン海に面する、総延長 3060 km の海岸線を有する海洋国・漁業国である。沿岸には多くの河川が流入し、広大なマングローブ林がほぼ手つかずで残っており、ミャンマーの海洋基礎生産力は高いと思われる。ポスト・ベトナムと期待されるミャンマーでは、急激な経済発展にともない沿岸部の開発が盛んであり、魚介類の養殖場も多数建設されつつある。これらの開発は往々にして海域の富栄養化を招くため、赤潮などの有害藻類の大量増殖が懸念される。しかしながら、これら沿岸の富栄養化の実態や有害藻類のインパクトはこれまでミャンマーにおいて報告が無く、人材の育成と共に継続的なモニタリングが望まれる。本研究では、ミャンマー政府水産局との共同により、ミャンマー南部海域において初めて有害藻類の出現調査を行った。

【調査内容】

2010 年に、プレ・モンスーン期である 5 月と、ポスト・モンスーン期である 12 月に調査を行った。調査は、ミャンマーにおいて最も漁業が盛んな Myeik 市の沖、Mali 島と Kadan 島 (5 月) もしくは Kadan 島 (12 月) で実施した。5 月の調査では極力広い海域を巡るため、プランクトンネットの表層曳きのみを行い、定量用試料は採集しなかった。5 月の調査を受け、12 月では Kadan 島を囲む 6 定点を設置し、各定点では海水の鉛直別採集 (プランクトン出現密度、水温・塩分・無機栄養塩濃度測定用)、プランクトンネット曳網 (出現種大量採集用)、底泥採集 (シスト検査用) を行った。両時期においても、有害種が多く含まれる渦鞭毛藻類を中心に検鏡・査定した。

【結果】

5 月のプレ・モンスーン期には 57 種の渦鞭毛藻種が記録された。12 月のポスト・モンスーン期では珪藻類の出現が多く、渦鞭毛藻は 26 種に留まった。両時期、合計 67 種の渦鞭毛藻は 12 科 19 属にわたった。プレ・モンスーン期には有害渦鞭毛藻の出現もみられた；その幾つかをリストアップすると、麻痺性貝毒原因種の *Alexandrium tamiyavanichii*, 下痢性貝毒原因種の *Dinophysis caudata* を主体とする *Dinophysis* 属数種、赤潮形成種の *Prorocentrum sigmoides*, *P. micans*, *Gonyaulax spinifera*, *G. polygramma*, *Alexandrium affine* などである。これら渦鞭毛藻は沿岸域を主体として出現する種であるが、これ以外に外洋の指標種である *Ornithocercus* spp., *Protopericinium oceanicum*, *Podolampas bipes* などが station 2 と 4 に出現した。このことは、同海域がインド洋からの外洋水の影響を受ける、沿岸性・外洋性の二面性をもつ海域であることを示唆する。

ポスト・モンスーン期には赤潮形成種の *Prorocentrum micans*, *Gonyaulax spinifera* や、下痢性貝毒原因種の *Dinophysis caudata* が検出されたが、全ステーションを通じて珪藻類のブルームが顕著であった。その中でも、島の南部、広大なマングローブ林に隣接し、低塩分・高栄養塩濃度をしめした station 1 と 2 では珪藻が赤潮状態になっており、基礎生産性の高さをうかがわせた。このときのサンプリングでは、プランクトン試料の採集に加え底泥を採集し、そこに含まれる渦鞭毛藻のシストを査定した。分類は化石種名に従い (e.g. Matsuoka, 1987), 28 種が記録された。この中には有害種である *Gymnodinium* cf. *catenatum*, *Lingulodinium polyedrum*, *Alexandrium* cf. *affine*, *Gonyaulax spinifera* などが含まれていた。

以上は、ミャンマー海域で行われた初めての植物プランクトン調査であり、貝毒原因種・赤潮形成種などの有害種の出現を初めて認めたものである。今後、沿岸域の開発にともなう富栄養化、魚類養殖などの発展が進めば、これら有害種のブルームが顕在化する恐れがあり、今後の継続的なモニタリングが必要であると思われる。

Genetical studies on animal and poultry resources in Kazakhstan.

(カザフスタン共和国における家畜・家禽および近縁野生種の遺伝資源学的調査および基礎研究)

西堀正英 (広島大学大学院生物圏科学研究科)・山本義雄 (広島大学大学院生物圏科学研究科)・
万年英之 (神戸大学大学院農学研究科)・Polat Kazymbet (アスタナ医科大学放射線生物学教室)

目的: 本研究はこれまで東南アジア、南アジアにおける在来家畜・家禽の学術調査・研究を中央アジアに拡大させて実施するために企画、立案したものである。カザフスタン共和国の独立から約 20 年ではあるが、国家経済の発展に伴い、自然破壊などが進み、野生動物等の生息域も近隣の国家同様、縮小してきているのが現状である。このような状況の中で、カザフスタンの家畜・家禽およびその近縁野生種に関する学術的な調査はほとんど行われておらず、多くのアジア諸国において在来家畜・家禽と近縁野生種が雑種化し、野生種が絶滅の危機に瀕している状況と同様に、この地域における在来家畜・家禽の学術調査研究の実施は急務であるといえる。また、在来家畜研究会では約 50 年にわたって東南アジア、南アジア諸国における在来家畜・家禽の遺伝学的調査し、その成果を国際誌等に多々報告を行ってきた。とくに中央アジアは西アジアから東アジアへの交易の要所(シルクロード北路)にあたり、人の動きと家畜との関係には非常に関心が示される。本研究の目的は、カザフスタン共和国における家畜・家禽およびその近縁野生種の遺伝学的調査を行い、それらの保全と活用の施策の基礎を構築することにある。加えて、セミパラチンスク核実験の家畜・家禽への影響(負の遺産)についての基礎的な調査も計画する。

研究の実施において、家畜・家禽の遺伝学的調査の実際は、西堀・山本・万年(日本チーム)が主に担い、カザフスタン共和国における調査地選定、具体的な調査実施計画、各地方におけるカウンターパートの候補ならびに選定、サンプル処理ならびにラボの提供などを Prof. Polat Kazymbet (カザフスタンチーム) と分担して担う。

方法: 1. 調査実施期間: 本研究は平成 22 年～平成 26 年の 5 年間にわたり実施する。22 年は本調査の予備的な調査、カザフスタン共和国との具体的な調査の立案し、23 年は首都アスタナ周辺の調査の実施した。2. 調査対象動物種: ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ニワトリおよびサイガ(絶滅危惧種)など。3. 調査地域: 首都周辺(アスタナ、セミパラチンスク(注)核実験被害地)、南東部(トゥルキスタン、シムケント、アルマトゥ)、南西部砂漠～カズピ海(アクタウ、ベイナウ、アティラウ)、北部ロシア国境(ウラリスク、アクトペ、ペトロパブロフスク) 4. 調査分析項目の概要: 毛色、羽装等の形態形質調査、記載。血液採取、電気泳動によるタンパク・酵素多型の判定、DNA 試料の調整。動物の体尺測定、飼育頭数・羽数および経済形質調査、体毛試料採取、血液型判定等を行う。

結果: カザフスタン共和国・アスタナ医科大学を平成 22 年 8 月 25 日～9 月 4 日および平成 23 年 9 月 20 日～10 月 1 日に訪問し、アスタナ医科大学放射線生物学教授・Prof. Polat Kazymbet をカウンターパートとするカザフスタンチームおよび農務省動物研究所チームと共同研究の調停を結んだ。アスタナ医科大学を拠点として調査を行った。1) カザフスタンの家畜家禽生産など、国家農業統計を入手した。首都アスタナおよび旧首都アルマティ周辺の地域でウシ、ウマ、ヒツジ及びヤギが多く飼養されている。一方、ブタは宗教上、主として北部の地域で飼養されていた。ニワトリを中心とする家禽は首都及び旧首都周辺で多く飼養されているが主にコマーシャル鶏である。2) 収集サンプル解析のためのラボ設営および収集サンプルの保管・保存場所および機器の整備を行った。3) アスタナ特別市およびアルモラ県でヒツジ(50 頭)及びヤギ(30 頭)の血液採取および外部形質の調査を行った。採取した血液は、血漿、血球ならびに Buffy-coat に分離し、アスタナ医科大学の冷凍庫に保存した。次年度にアイソザイム解析、DNA 解析を実施する計画である。一方、カザフスタンのヒツジは、エーデルワイスとアライスキーの 2 品種に大別され、両者間に血液中 K/Na 比に有意な差異があった。

今後の展開: 本研究は「カザフスタン共和国における家畜・家禽および近縁野生種の遺伝資源学的調査」について文部科学省・科学研究費補助金・海外調査(基盤研究 B) に西堀を研究代表者として昨年(平成 22 年)申請し、不採択ではあったが評価 A であった。さらに研究内容をチームで議論し、本年(平成 23 年)も科研費基盤研究 B(海外調査)に応募した。なお、アスタナ医科大学と広島大学は、2009 年 11 月 6 日(金)に大学間協定を締結している。このため、本協定にご尽力いただいた広島大学原爆放射線医科学研究所・星正治教授の協力を得て、計画を推進している。

地球温暖化と水産養殖業：東南アジアから日本に侵入する熱帯性寄生虫の特定と生産量への
影響評価

Global Warming and Aquaculture: Identification of Tropical Parasites Potentially Invading Japan and
Evaluation of Their Impacts on Production

長澤和也 (水圏生物生産学講座 水産増殖学研究室)

1) 共同研究者

Dr. Watchariya Purivirojkul, Assistant Professor, Faculty of Science, Kasetsart University, Thailand

Dr. Tran Thi Thuy Ha, Senior Scientist, Research Institute for No. 1, Vietnam

Dr. Danny Tang, 日本学術振興会外国人特別研究員(広島大学大学院生物圏科学研究科)

2) 研究目的

進行しつつある地球温暖化による海水温上昇に伴って、熱帯域の有害魚類寄生虫が日本に北上侵入するというシナリオのもと、東南アジアにおける魚類寄生虫研究を通して、日本に北上して大きな被害を与える可能性の高い寄生虫を特定し、わが国の水産養殖業にどのような悪影響を与えるかを予測することにより、地球温暖化に対処する将来的な水産管理指針の策定に貢献することを目的とする。

3) 研究経過と方法

平成 22 年 10 月にタイから共同研究者 (Dr. Watchariya Purivirojkul) を招聘して共同研究を実施するとともに、平成 22 年 11 月に研究代表者 (長澤) がベトナムを訪問して、現地調査を行った。本研究では、魚類寄生虫のなかでもカイアシ類に焦点を当てた。現地で野生および養殖海水魚に寄生するカイアシ類を採集して 70%エタノール液に固定後、広島大学に運び、同定を行った。

4) 研究結果

タイで採集されたウオジラミ科カイアシ類を同定した結果、暖海性のウオジラミ科 8 種 (*Caligus brevicaudus*, *Caligus epinepheli*, *Caligus hamruri*, *Caligus multispinosus*, *Caligus schlegeli*, *Caligus quadratus*, *Caligus rotundigenitalis*, *Pseudopetalus dussumieri*) を認めた。これらはすべてタイから初記録である。またベトナムからも、同国から初記録となる暖海性ウオジラミ科の *Parapetalus occidentalis* を認めた。このように、本共同研究により、タイおよびベトナムにおける魚類寄生性カイアシ類相の一部が明らかになった。しかも、それらはいずれも病害性の強いウオジラミ科に属するものであった。本科カイアシ類は北半球の海面養殖業で最も脅威となっている寄生虫であり、時には飼育魚に大量斃死を招くことが知られている。今後、地球温暖化に伴って、暖海性ウオジラミ科カイアシ類が日本にまで北上することが十分に予想される。わが国暖海域において寄生虫相のモニタリングを行うとともに、水産養殖業においてそれらの出現に留意する必要がある。