

生物圏科学

広島大学大学院生物圏科学研究科紀要 第54巻 2015

目次

原著論文

- 甲田和也・玉森千晴・合戸賢利・山本雅樹・高山 翔・海野徹也 1 広島県太田川におけるアユ親魚群の由来判別
- 津行篤士・岡崎隆真・海野徹也・竹下邦明 7 広島県太田川下流域におけるカジカ中卵型 *Cottus* sp. (middle-egg type) の回遊履歴の推定
- 河合幸一郎, 斎藤英俊, 杉丸勝郎 13 西南日本における海産ユスリカの生態に関する研究
- 浦田 慎, 田中隼人, 大塚 攻 21 パプアニューギニアで食用とされるミナミスナホリガニ *Hippa adactyla* の分子的同定
- 吉田吾郎・堀 正和・島袋寛盛・濱岡秀樹・岩崎貞治 29 瀬戸内海における株サイズと群落構造の異なるアマモの生産量-2012年繁茂期の生産量-
- 辻田菜摘・黒田理絵・奥村衣澄・吉岡沙弥香・中谷みなみ・小山寛喜・国吉久人 45 瀬戸内海産ミズクラゲのポリブクローン系統の確立と特徴
- 倉持敦子・倉持卓司・厚井晶子・長沼 毅 55 瀬戸内海から採集されたカワムラサザナミガイ (軟体動物門, 二枚貝綱, サザナミガイ科)
- 倉持卓司・倉持敦子・厚井晶子・長沼 毅 61 瀬戸内海より採集されたナマコ類 (棘皮動物門, ナマコ綱, 樹手目) の記録
- 長澤和也・遠部 碧 65 コクチバスに寄生していたヤマトニセエラジラミ
- 長澤和也・鳥居亮一 71 トウカイヨシノボリに寄生していたイカリムシとチョウ属の1種
- 長澤和也・秋山明彦・河合幸一郎 75 サケ科魚類の寄生虫, マスウキブクロセンチュウ *Salvelinema salmonicola* の新産地
- 長澤和也 81 養殖クロマグロに寄生していた大型吸虫 *Hirudinella* sp.
- 重田利拓・古満啓介・山口敦子・富山 毅・坂井陽一・斉藤英俊 89 瀬戸内海の河口干潟域で確認されたトラフグ稚魚による刺毒魚アカエイの捕食

総説

- 吉田 繁 99 乳牛に発生した骨粗鬆症
- 長澤和也 113 瀬戸内海産魚類・無脊椎動物の寄生性カイアシ類目録: 最新版と訂正
- 長澤和也・上野大輔 125 日本産魚類に寄生するナガクビムシ科カイアシ類の目録 (1939-2015年)

特別寄稿

- 谷口幸三 153 大学政策と生物圏科学研究科の30年

資料

- 165 博士論文要旨
- 201 修士論文題目
- 204 研究科長裁量経費による助成研究報告
- 209 広島大学大学院生物圏科学研究科教員業績目録 (2014年)

広島県太田川におけるアユ親魚群の由来判別

甲田和也¹⁾・玉森千晴²⁾・合戸賢利²⁾・山本雅樹³⁾・高山 翔⁴⁾・海野徹也^{1)*}

¹⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

²⁾ 広島大学生物生産学部, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

³⁾ 広島県環境保健協会, 〒730-0803 広島県広島市中区広瀬北町9-1

⁴⁾ 広島市経済観光局農林水産部水産課, 〒730-8586 広島県広島市中区国泰寺町1-6-34

要 旨 太田川下流域で採集したアユ産卵群の由来判別を外部形態および耳石 Sr : Ca 比分析で行った。太田川にて放流された人工種苗の耳石 Sr : Ca 比のチャートパターンは耳石中心から 300 μ m で減少が認められ, 耳石中心から 400 μ m 以遠で比が減少する天然型と異なっていた。耳石 Sr : Ca 比のチャートパターンに基づくと, 産卵群への人工種苗の混入率は 28% と考えられた。採集した産卵群の側線上方横列鱗数は 13~26 枚 (n=173) で, 側線上方横列鱗数が 17 枚以下を人工種苗, 18 枚以上を天然アユと仮定すると, 産卵群への人工種苗の混入率は 31% と見積もられた。太田川産卵群では概ね 3 割が放流された人工種苗であると考えられた。

キーワード : アユ, 太田川, 産卵群, 耳石 Sr : Ca 比

緒 言

太田川は広島県廿日市市の冠山を源流とし広島市中心部を経て瀬戸内海に注ぐ一級河川であり, 内水面漁業の優良種として利用されているアユの好漁場としても知られている。太田川中下流域を管轄する太田川漁業協同組合は例年, アユ資源を確保するためにアユの放流を行っており, 近年の放流尾数は 100 万尾前後を推移している (広島市経済観光局農林水産部水産課, 2014)。しかし, アユの漁獲量は 1993 年の 209 トンを盛期に減少が続き, 2005 年には 71 トンまで低迷した (農林水産省大臣官房統計部, 2008)。安定した漁獲を確保するため, 放流アユの資源添加状況を明らかにすることが急務である。

河川に放流した人工種苗と天然遡上アユを判別するためには, 側線上方横列鱗数や下顎側線孔数等の計数形質に加え, 耳石ストロンチウム : カルシウム比 (Sr : Ca 比) 分析 (清家ら, 2002 ; 山本ら, 2008) や DNA 分析 (久保田ら, 2008 ; 占部ら, 2013) が有効である。ただし, 放流種苗として天然稚アユの移植放流が行われている場合, 耳石 Sr : Ca 比分析や DNA 分析を用いても既存の天然遡上アユとの判別は容易ではない (占部ら, 2013)。人工種苗に加えて, 天然種苗や天然遡上アユが混在している河川では, 由来の異なるアユの資源組成をモニタリングする障壁になっている。

太田川漁業協同組合では, これまで人工種苗に加え, 琵琶湖産や天然種苗の放流を行ってきた。しかし, 2013 年は人工種苗が放流されたのみで, 天然種苗の移植放流が実施されていなかった。本研究では, 再生産に関与するアユ産卵親魚を供試魚とし, 耳石 Sr : Ca 比分析並びに側線上方横列鱗数により人工種苗と天然遡上アユの判別を行った。

材料および方法

放流実績と供試魚

2013年10月21日～23日にかけて高瀬堰（河口より約13.6km）の下流域（Fig.1）で、成魚173尾を採集した。採集は、竿釣り、船釣り、建網で行い、計数形質の測定並びに耳石 Sr : Ca 比分析まで -20℃で冷凍保存した。

供試魚の採集地点は太田川漁業協同組合の管轄下（下流から中流域約44km）であった。太田川漁業協同組合によると、2013年度のアユ放流実績は約89万尾であり、その種苗は広島市水産振興センターおよび樫野川で生産された（Table 1）。このうち、高瀬堰より下流の放流尾数は19.7万尾であった。なお、太田川水系の本流には太田川漁業協同組合の他、安芸太田町坪野久日市えん堤から上流を管轄する太田川上流漁業協同組合、支流には水内川を管轄する水内川漁業協同組合、三篠川を管轄する三篠川漁業協同組合があり、2013年はいずれの組合においても天然稚アユの移植放流は行われていなかった（Table 1）。

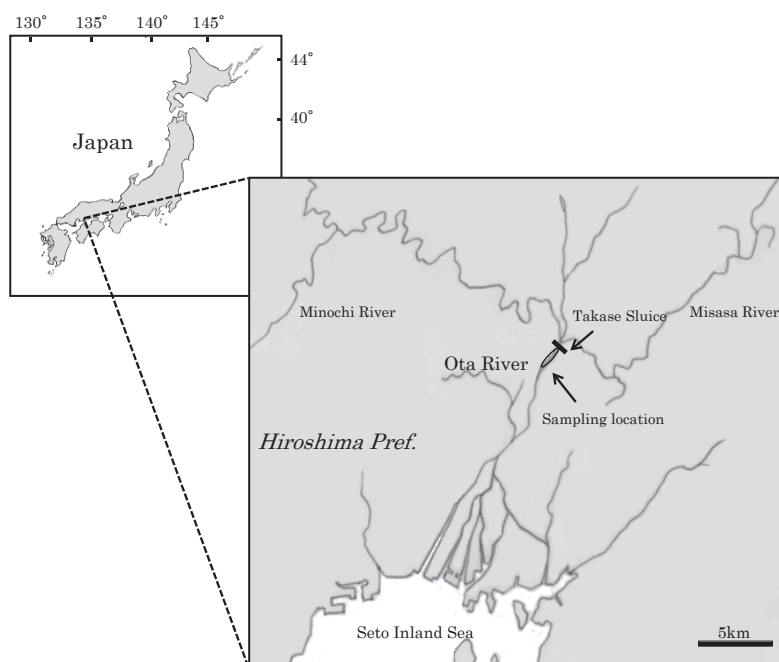


Fig. 1. Map showing sampling locations of ayu at the Ota River.

Table 1. Release number for stock enhancement of ayu at the Ota River in 2013

| | Strain form | Origin | Amount |
|---|-----------------|---|--------------------|
| Otagawa fishery cooperative society | Hatchery | Hiroshima City Agriculture, Forestry and Fisheries Promotion Center | 786,000ind.3,444kg |
| | | Fushinogawa river | 10,600ind. 700kg |
| Otagawa Joryu fishery cooperative society | Hatchery | Hiroshima City Agriculture, Forestry and Fisheries Promotion Center | 2,800kg |
| Misasagawa fishery cooperative society | Hatchery | Hiroshima City Agriculture, Forestry and Fisheries Promotion Center | 700kg |
| Minochigawa fishery cooperative society | Landlocked form | Lake Biwa | 1,500kg |

計数形質と耳石 Sr : Ca 比分析

高瀬堰下流で採集した173尾については、体長、体重、下顎側線孔数（左右）、側線上方横列鱗数（背鰭第1棘条基底から側線）を計数した。さらに雌雄を判別した後、生殖腺重量を測定し、生殖腺重量指数（GSI）を算出した。このうち無作為抽出した75尾については耳石（偏平石）を摘出し、波長分散型マイクロアナライザー（日本電子製 JXA-8200型、日本電子）による Sr : Ca 比分析に供した。広島市水産振興センター由来の人工種苗79尾（体重約2.8g）については下顎側線孔数（左右）を観察し、10尾を耳石 Sr : Ca 比分析に供した。

耳石 Sr : Ca 比分析は耳石中心から後部縁辺に至る線分析を行い、発育に伴うカルシウムとストロンチウムの濃度変化を調べた。分析条件は海野ら（2001）に準じ、カルシウムとストロンチウムの X 線強度の濃度変化（重量%）は、それぞれ CaSiO_3 および SrTiO_3 を標準試料に用いて検量線を作成した。耳石 Sr : Ca 比は、カルシウムに対するストロンチウムの濃度比を 10^3 倍したものとした。ただし、結晶化した耳石（井塚, 2001 ; Tao *et al.*, 2008）を有する個体については日周輪や耳石 Sr : Ca 比が正常でないため（海野ら, 2005）、分析は行わなかった。

結果および考察

高瀬堰下流で採集した173尾の性比は雄が85尾、雌が88尾となり、ほとんどの個体がサビ色様の典型的な婚姻色を呈していた。また、GSI は雄の平均で7.58、雌で12.6を示した。太田川における流下仔魚調査によると、主産卵場が高瀬堰下流から安芸大橋上流に形成され、流下盛期は10月中旬～11月中旬であるという（工藤, 2006）。よって、本研究で供したアユは再生産に貢献し得る産卵群であったと考えられた。

太田川に放流された人工種苗10尾の耳石 Sr : Ca 比分析を行った結果、耳石中心から300 μm まで5～6前後を推移し、その後、緩やかに2前後まで下降するパターンを示した（Fig.2A）。一方、産卵群の75尾について耳石 Sr : Ca 比を分析したところ、発育初期のチャートパターンが先述した人工種苗と一致した個体と（Fig.2B）、中心から500～600 μm まで5～6前後を推移し、その後、2前後へ下降するパターンを示す個体が認められた（Fig.2C）。後者のようなチャートパターンは、広島県沼田川の天然アユ（山本ら, 2008）のも

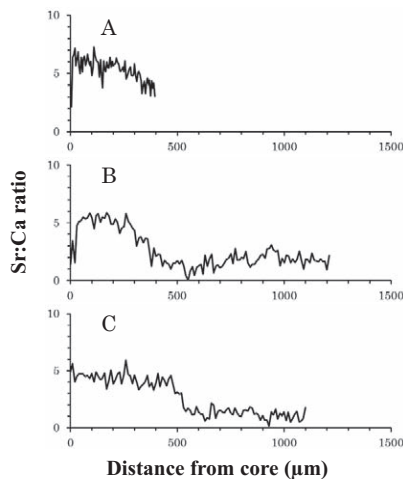


Fig. 2. Electron Probe Micro Analysis profiles of otolith Sr:Ca ratios of ayu.
 A: Hatchery-stocked (produced by Hiroshima city agriculture, forestry and fishery promotion center)
 B: Typical chart pattern of hatchery-stocked ayu in the spawning population
 C: Typical chart pattern of amphidromous form in the spawning population

のと酷似していたため、これらの個体は太田川に遡上した天然アユと断定した。耳石 Sr : Ca 比分析に基づけば、産卵群75尾は人工種苗が21尾で、天然アユが54尾で、産卵群への人工種苗の混入率は28%となった。

一般に、天然アユの下顎側線孔数はほとんどが正常であるが、人工種苗は欠損した個体が多い(清田, 2002; 廣瀬・鈴木, 2003)。太田川に放流された放流種苗79尾について、下顎側線孔数の計数を行ったところ、正常率(下顎側線孔数が4対8孔)は24% (18/74尾)であった。これに対して、太田川高瀬堰下流で採集された産卵群の下顎側線孔数の正常率は66% (115/173尾)に達した。産卵群には天然アユが半数以上含まれていることがうかがえる。

産卵群173尾について側線上方横列鱗数の計数を行ったところ、範囲は13~26枚となった (Fig.3)。人工種苗は天然アユと比べると側線上方横列鱗数は少なく (Nishida and Sawashi, 1987; 相澤・中川, 2008; 海野, 2011), 広島市水産振興センターで生産された種苗では17枚以下である (広島市経済観光局農林水産部水産課, 2013)。産卵群173尾において側線上方横列鱗数が17枚以下の個体を人工種苗と仮定すると、人工種苗が53尾、天然アユが120尾と推定され、産卵群への人工種苗の混入率は31%となった。

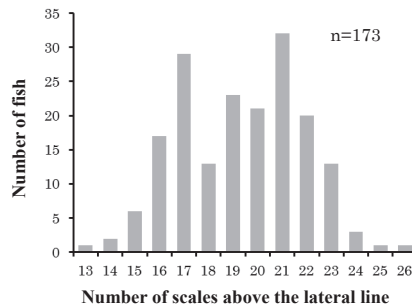


Fig. 3. Frequency in number of scales above the lateral line in the spawning population.

産卵群のうち耳石 Sr : Ca 比分析で人工種苗と断定された21個体の側線上方横列鱗数は17枚以下が17尾であったものの、19枚、21枚、22枚など、例外的な個体が4尾みいだされた。また、耳石 Sr : Ca 比分析で天然アユと断定された54個体の側線上方横列鱗数は18枚以上が50尾であったが、15枚、17枚など、例外的な個体が4尾みいだされた。側線上方横列鱗数は天然アユと人工種苗を判別するのに有用な形質であるが、測定者間で数が安定しないことも多い(海野, 2011)。耳石 Sr : Ca 比は由来判別に安定した形質であるが、遡上時期が早い天然アユが存在すれば人工種苗と誤判定してしまう可能性もある。太田川のアユ産卵群の由来を耳石 Sr : Ca 比分析や側線上方横列鱗数で推定すると、人工種苗が3割程度と考えられた。

アユ産卵群の由来判別を実施した事例については、岐阜県長良川では天然アユの割合が89% (Otake *et al.*, 2002), 島根県江の川で31% (清家ら, 2002), 島根県斐伊川では93% (海野ら, 2005) との報告がある。産卵群における天然アユと放流種苗との割合は、天然アユの豊度や放流種苗の生残などに影響されるため、単年度の研究結果が太田川のアユ産卵群を反映している確証はない。ただし、本研究は、天然稚アユの移植放流が実施されていない年に実施することができた数少ない研究例であり、今後、太田川のアユの資源管理を行う上で有益な知見となり得るであろう。

謝 辞

研究に際し、広島市経済観光局農林水産部水産課の佐々木廣治前課長並びに太田川漁業協同組合の森 正記組合長には資料提供など、多大なるご協力を頂いた。また、耳石の元素分析は広島大学自然科学研究支援開発センターの電子プローブマイクロアナライザーを使用した。分析にご協力頂いた同センターの柴田恭宏技師ならびに関係者に感謝申し上げます。

引用文献

- 相澤 康・中川 研. 2008. 神奈川県早川におけるアユの生物生産と適正資源量の検討. *神奈川県水産技術センター研究報告*. **3**: 79-85.
- 廣瀬 充・鈴木 信. 2003. 側線上方横列鱗数と下顎側線孔数からの人工アユと天然アユとの判別. *平成15年度福島県内水面水産試験場事業報告書*. 47-48.
- 広島市経済観光局農林水産部水産課. 2013. 太田川の流量等と水産生物の生育環境に係る調査・解析業務報告書. 33-35.
- 広島市経済観光局農林水産部水産課. 2014. 太田川の再生推進に係る調査・解析業務報告書. 5-6.
- 井塚 隆. 2001. 海産アユと人工採苗アユの耳石形態の差異について. *神奈川県水産総合研究所研究報告*. **6**: 11-21.
- 久保田仁志・手塚 清・福富則夫. 2008. マイクロサテライト DNA マーカーによる釣獲されたアユの由来判別と種苗放流効果の評価. *日本水産学会誌*. **74**: 1052-1059.
- 清田季義. 2002. 海産系人工生産アユの下顎側線孔の欠損について. *熊本県水産研究センター研究報告*. **5**: 39-41.
- 工藤孝也. 2006. 平成16年度における太田川のアユ仔魚の流下生態. *広島県立水産海洋技術センター研究報告*. **1**: 23-26.
- Nishida, M., Sawashi, Y., 1987. Geographic Differences in the Number of Longitudinal Scales of the Ayu *Plecoglossus altivelis*. *NIPPON SUISAN GAKKAISHI*. **53**: 2089.
- 農林水産省大臣官房統計部. 2008. 平成17年度漁業・養殖業生産統計年報. 東京.
- Otake, T., Yamada, C., Uchida, K., 2002. Contribution of stocked ayu, *Plecoglossus altivelis altivelis* to reproduction in the Nagara River, Japan. *Fish. Sci.* **68**: 948-950.
- 清家 暁・二本木俊二・海野徹也・中川平介. 2002. 耳石 Sr/Ca 比による江の川アユ産卵群の由来判別. *生物圏科学*. **41**: 23-29.
- Tao, M., Kuroki, M., Miller, J. M., Ishida, R., Tsukamoto, K., 2008. Morphology and microchemistry of abnormal otoliths in the ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Environmental Biology of Fishes*. **83**: 155-167.
- 海野徹也・清家 暁・大竹二雄・西山文隆・柴田恭宏・中川平介. 2001. 耳石微量元素分析による広島県太田川サツキマスの回遊履歴の推定. *日本水産学会誌*. **67**: 647-657.
- 海野徹也・清家 暁・高塚 順・平野美穂・中川平介・大竹二雄・石井紀明・後藤悦郎. 2005. 耳石 Sr/Ca 比およびアロザイムによる島根県斐伊川産アユの生態学的研究. *水産増殖*. **53**: 175-180.
- 海野徹也. 2011. 2. 人工種苗と放流. 「アユの科学と釣り—美しい川とアユを願って」. (片野 修・海野徹也・谷口順彦編著) 学報社, 東京: 17-28 pp.
- 占部敦史・谷口順彦・野口大毅・海野徹也. 2013. 広島県成羽川におけるアユの個別系統判別とその組成. *日本水産学会誌*. **79**: 840-850.
- 山本香葉子・高山 翔・海野徹也・古澤修一・柴田恭宏・中村和夫. 2008. 耳石 Sr/Ca 比による広島県沼田川水系の天然遡上アユと陸封アユの判別. *生物圏科学*. **47**: 35-40.

Discrimination of stock origin of spawning population of ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* at the Ota River, Hiroshima Prefecture

Kazuya KODA¹⁾, Chiharu TAMAMORI²⁾, Kento GOTO²⁾, Masaki YAMAMOTO³⁾,
Sho TAKAYAMA⁴⁾ and Tetsuya UMINO¹⁾

¹⁾*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama,
Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan*

²⁾*Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama,
Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan*

³⁾*Hiroshima Environment and Health Association, 9-1 Hirosekita-machi, Naka-ward,
Hiroshima, Hiroshima 730-0803, Japan*

⁴⁾*City of Hiroshima, the Economic Sightseeing Station, Agriculture, Forestry and Fisheries Division,
Fisheries Section, 1-6-34 Kokutaiji-cho, Naka-ward, Hiroshima, Hiroshima 730-8586, Japan*

Summary

Stock discrimination in the spawning population of ayu, *Plecoglossus altivelis altivelis* in the Ota River, western Japan was conducted using number of scales above the lateral line and otolith Sr:Ca ratio. Chart pattern in otolith Sr:Ca ratio of hatchery-stocked ayu was different in amphidromous form. Based on chart pattern of otolith Sr:Ca ratio, mixing ratio of hatchery-stocked ayu to the spawning population was estimated at 28%. Number of scales above the lateral line of spawning population marked from 13 to 26 (n=173). Based on number of scales above the lateral line (hatchery-stocked ayu \leq 17; amphidromous \geq 18), the mixing ratio of hatchery-stocked ayu was estimated 31%. Consequently, the contribution ratio of hatchery-stocked ayu to the spawning population was around 30% at the Ota River.

Key word: *Plecoglossus altivelis altivelis*, Spawning population, Ota River, Otolith Sr:Ca ratio

広島県太田川下流域におけるカジカ中卵型 *Cottus* sp. (middle-egg type) の回遊履歴の推定

津行篤士¹⁾・岡崎隆真¹⁾・海野徹也^{1)*}・竹下邦明²⁾

¹⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

²⁾ 復建調査設計株式会社, 〒732-0052 広島市東区光町2-10-11

要 旨 広島県太田川下流の高瀬堰周辺で採集されたカジカ中卵型の回遊性を、耳石 Sr:Ca 比分析によって確認した。高瀬堰周辺で採集した24個体の耳石 Sr:Ca 比は発育初期に高く、成長に従って減少した。よって、これらの個体は回遊型であると断定できた。一方、高瀬堰の上流に生息していた1個体は陸封型であった。カジカ中卵型は、回遊パターンに対して柔軟性を有することで環境に適応していると考えられた。

キーワード：太田川, 回遊履歴, カジカ中卵型, 耳石 Sr:Ca 比

緒 言

カジカはカサゴ目カジカ科カジカ属に分類される日本固有種で、沖縄県、九州の一部を除く日本各地の河川に広く生息している（後藤, 2001）。広島県下の一級河川においては、小瀬川、太田川、芦田川および江の川で生息が確認されている（比婆科学教育振興会, 1990；太田川水系生物相学術調査委員会, 2005；吉郷, 2015）。カジカには生活史および卵の大きさにより、両側回遊性の小卵型 small-egg type と中卵型 middle-egg type および河川残留型の大卵型 large-egg type の3種が存在する（後藤, 2001）。

カジカ属魚類の遊泳力はアユなどに比べ劣っているため、河川横断構造物によってその生息域は制限される（高木・谷口, 1992；大友ら, 1999；藁田, 2011）。そのため両側回遊性のカジカ中卵型の生息数は全国的にも著しく減少しており（藁田, 2011）、環境省のレッドリストでは絶滅危惧 IB 類、広島県のレッドリストでは絶滅危惧 I 類に指定されている（環境省, 2012；広島県, 2012）。

近年、通し回遊魚の耳石ストロンチウムとカルシウムの比率（耳石 Sr:Ca 比）を分析することで通し回遊魚の回遊履歴を再構築する技術が発達した（大竹, 2010）。この技術によって、カジカ属でも近縁種間で回遊生態の一部が異なっていることや、同一種内で回遊個体群と非回遊個体群がいることなどが明らかになっている（Goto and Arai, 2003；Goto and Arai, 2006；岡部ら, 2011；海野ら, 2015）。また、耳石 Sr:Ca 比の分析によって回遊性が証明されれば、堰に付設された魚道や河川の連続性などの客観的評価が可能である（海野ら, 2015）。

本研究では、広島県太田川におけるカジカ中卵型の保全のための基礎的知見を得るため、本種の耳石 Sr:Ca 比分析によって太田川下流域における回遊履歴を確認した。また、河川横断構造物が太田川に生息するカジカ中卵型に与える影響を考察した。

材料および方法

供試魚

広島県を貫流する太田川は幹川流路延103km、流域面積1,710km²の一級河川である。供試魚の採集は2014

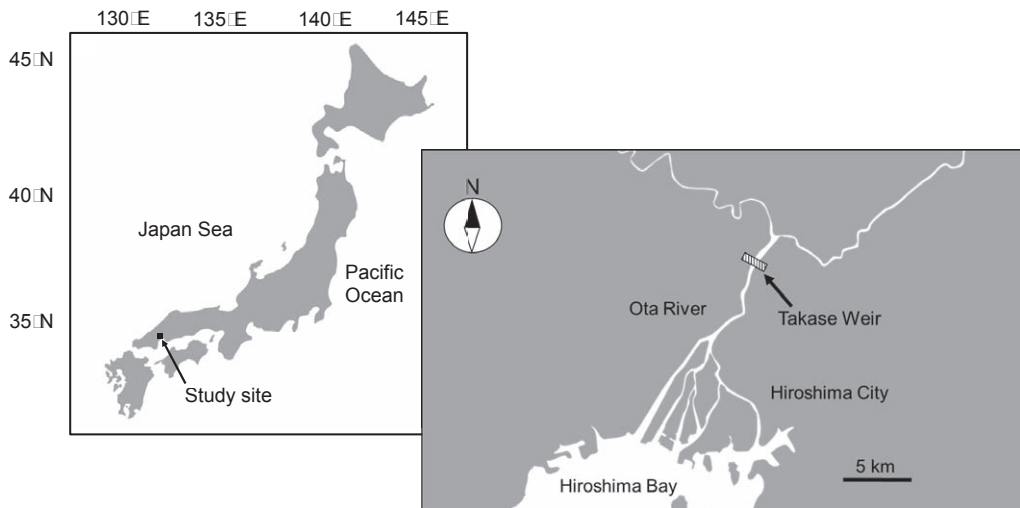


Fig. 1. Map of study site. Sampling site and Takase Weir located on lower reach of the Ota River.

年11月11日に、太田川河口から約13.6 km の地点にある高瀬堰の上流（広島市安佐南区八木地区）および下流（広島市安佐南区川内地区）にて実施した（Fig. 1）。高瀬堰は河口から約13.6kmの地点に、治水・利水・発電放流水の調整を目的に建設された多目的堰で、階段式の魚道が2ヶ所に常設されている。

供試魚を採集するにあたり、高瀬堰の上流に長方形（75 m²）、堰下流には三角形（16 m²）の調査区を設けた。採集には投網を用い、それぞれの調査区において4人で1時間30分間の採集を行った。調査面積当たりの採捕個体数をもとに、カジカ中卵型の生息密度（採捕個体数 / m²）を算出した。採捕個体は直ちに標準体長および体重を測定した後に、エタノールで固定し、耳石 Sr:Ca 比分析に供した。

耳石 Sr:Ca 比分析

採集したカジカ中卵型25個体より扁平石を摘出し、耳石の凸面が上になるようにスライドグラス上にエポキシ樹脂（Epofix, Struers 社製）で包埋した。包埋後、耳石の核が露出するまで耐水研磨紙（#1200～2400）で研磨し（Struers S5629）、最終的に1μmのダイヤモンドペーストで研磨面を鏡面仕上げた。表面にカーボン蒸着を施した試料を波長分散型マイクロアナライザー（日本電子製 JXA-8200型、日本電子）に供した。

耳石 Sr:Ca 比分析は、耳石中心から後部縁辺に至る線上で線分析を行い、発育に伴う耳石上のカルシウムとストロンチウムの濃度変化を調べた。分析条件は既報、海野ら（2001）に準じ、CaSiO₃および SrTiO₃を標準試料に用いて濃度（重量%）を求めた。

結果および考察

高瀬堰上流で5個体、高瀬堰下流で20個体、合計25個体のカジカ中卵型を採集した。採集された25個体の標準体長（平均値 ± 偏差）は56 ± 18 mm であり、範囲は37～120mmであった（Table 1）。採集した個体数をもとに生息密度を算出した結果、高瀬堰より上流では0.07尾 / m²、高瀬堰の下流では1.21尾 / m²となった。

高瀬堰より下流で採捕された20個体（個体番号 D1-20）の耳石 Sr:Ca 比は、耳石中心部で3.0～4.0を推移し、縁辺部では2.0前後まで減少するパターンを示した（Fig.2）。既報（Goto and Arai, 2003）によれば、カジカ中卵型の耳石 Sr:Ca 比は、海水域で2.4～3.4、淡水域で1.3～1.8を示すという。また、同属のカマキリ *Cottus kazika* では海水から淡水への移行時において2.1前後の値を示す（岡部ら, 2011）。よって、高瀬堰下流で採捕されたカジカ中卵型20個体は回遊型であることが確認された。

Table 1. Fish I.D. with sampling environments for the *Cottus* sp. (middle-egg) type used for otolith Sr : Ca analyses

| Fish ID | Standard length (mm) | Body weight (g) | Sampling environments | | | Life mode estimated from Sr : Ca ratio |
|---------|----------------------|-----------------|---------------------------------|-----------|----------------|--|
| | | | Sampling site | Depth (m) | Velocity (m/s) | |
| D1 | 46 | 1.8 | down stream of the Takase Weir | 0.3 | 0.8 | Amphidromous |
| D2 | 50 | 0.2 | - | 0.3 | 1.2 | Amphidromous |
| D3 | 57 | 3.5 | - | 0.3 | 1.3 | Amphidromous |
| D4 | 77 | 8.7 | - | 0.3 | 0.8 | Amphidromous |
| D5 | 72 | 8.7 | - | 0.3 | 1.0 | Amphidromous |
| D6 | 55 | 3.2 | - | 0.3 | 1.1 | Amphidromous |
| D7 | 53 | 2.6 | - | 0.3 | 1.1 | Amphidromous |
| D8 | 38 | 0.9 | - | 0.2 | 1.3 | Amphidromous |
| D9 | 44 | 1.7 | - | 0.2 | 1.0 | Amphidromous |
| D10 | 53 | 2.5 | - | 0.2 | 1.0 | Amphidromous |
| D11 | 40 | 1.4 | - | 0.2 | 1.0 | Amphidromous |
| D12 | 42 | 1.2 | - | 0.2 | 1.5 | Amphidromous |
| D13 | 38 | 0.9 | - | 0.2 | 1.5 | Amphidromous |
| D14 | 37 | 1.1 | - | 0.2 | 1.5 | Amphidromous |
| D15 | 43 | 1.5 | - | 0.3 | 1.0 | Amphidromous |
| D16 | 53 | 3.0 | - | 0.2 | 1.1 | Amphidromous |
| D17 | 63 | 4.3 | - | 0.2 | 1.3 | Amphidromous |
| D18 | 59 | 4.9 | - | 0.2 | 1.2 | Amphidromous |
| D19 | 46 | 1.8 | - | 0.2 | 1.3 | Amphidromous |
| D20 | 61 | 5.2 | - | 0.3 | 1.2 | Amphidromous |
| U1 | 62 | 4.4 | upper stream of the Takase Weir | 0.3 | 1.1 | Amphidromous |
| U2 | 120 | 36.8 | - | 0.2 | 0.6 | Amphidromous |
| U3 | 89 | 18.8 | - | 0.3 | 0.8 | Amphidromous |
| U4 | 49 | 2.5 | - | 0.1 | 0.5 | Landlock |
| U5 | 63 | 4.6 | - | 0.2 | 1.2 | Amphidromous |

高瀬堰より上流で採捕された5個体のうち、U4を除く4個体の耳石 Sr:Ca 比は、200 - 300 μm において3.0以上を推移した後、減少し、縁辺部にかけて2.0前後で推移した (Fig.2)。これら堰上流で採集された4個体は回遊型であることが確認できた。堰の上流で採集された5個体のうち、U4の耳石 Sr:Ca 比には発育初期から大きな変化が認められず、終始、2.0前後で推移した。そのため、U4は陸封型であると判断された。

太田川下流域で採捕されたカジカ中卵型25個体の耳石 Sr:Ca 比分析の結果、24個体は回遊型の生活史を持っていることが示唆された。ただし、発育初期の耳石 Sr:Ca 比の減少パターンは個体によって異なった。例えば、多くの個体 (D2, D3, D5, D7-10, D13-17, D19, D20) は、耳石径100 - 420 μm 付近で比が減少し始めたが、個体番号 D1, D12, D18は耳石径50 - 300 μm にかけて緩やかな減少を示した。個体番号 D4, D6, D11は耳石径200 - 300 μm 付近で一時的に2.0以下に減少した後、再び3.0付近まで増加し、耳石径400 μm から縁辺部にかけての2.0前後で推移した。発育に伴う耳石 Sr:Ca 比のチャートパターンからすれば、海水生活期間は個体変異に富むことが示唆された。

堰より上流で採集された個体のうち、唯一 U4だけは海水域まで降海していなかった。両側回遊型とされてきたカジカ中卵型には陸封型の個体群が存在するという (Goto *et al.*, 2002 ; Goto and Arai, 2003)。また、カジカ中卵型と同じく両側回遊魚とされるオオヨシノボリでは、重信川水系でダム陸封個体群が確認されている (高木ら, 2011)。本研究において堰上流で採捕された U4は、高瀬堰の湛水域で初期生活を送った陸封型である可能性がある。

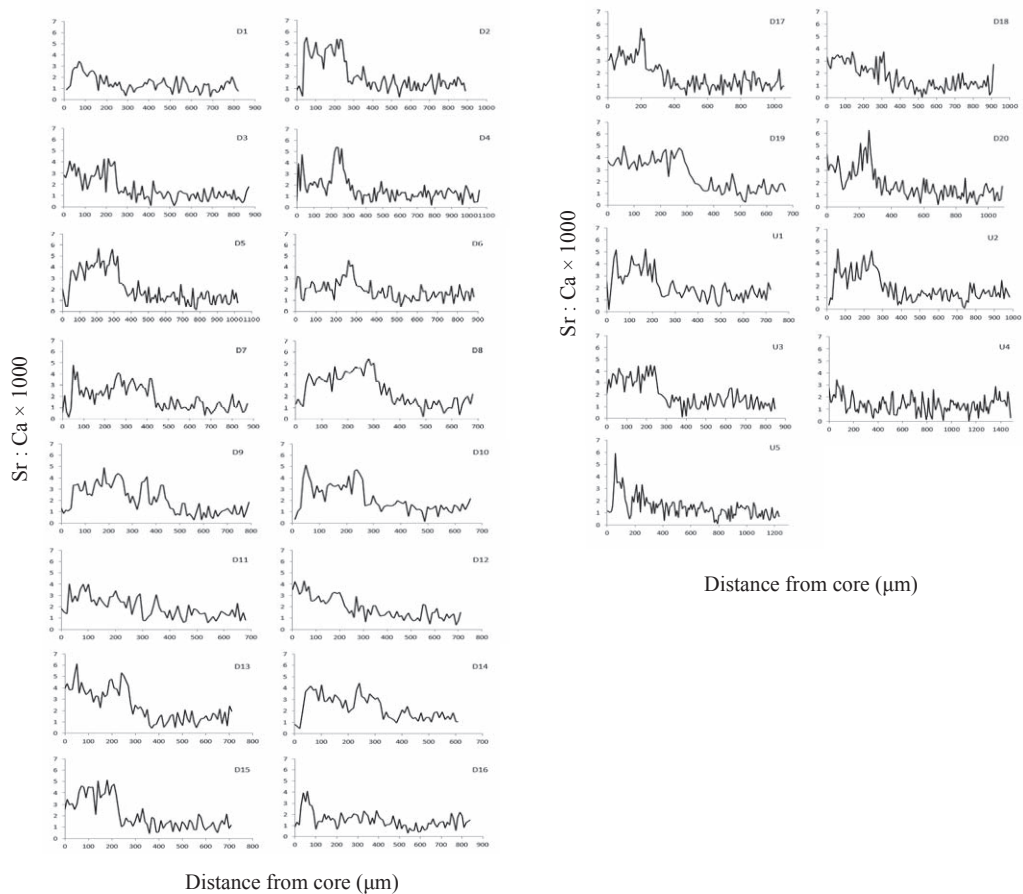


Fig. 2. Changes in the Sr:Ca ratio between the core and the edge of the sagittal otolith of *Cottus* sp. (middle-egg type) from the Ota River.

遊泳力の乏しいカジカ類をはじめとする通し回遊魚は、河川横断建造物に付随する魚道の機能を評価する指標となる(藁田・瀬谷, 2012)。高瀬堰の上流で採集されたカジカ中卵型の多くは、耳石 Sr:Ca 比分析によって河口から遡河した回遊型であることが証明された。この結果は、河口より遡河したカジカ中卵型が高瀬堰を通過した傍証になる。ただし、陸封(河川残留)型の個体が存在する種では、回遊性も吟味する必要がある(海野ら, 2015)。事実、高瀬堰の上流で採捕されたカジカ中卵型には河川陸封型の個体も認められた。今後、高瀬堰より上流に生息するカジカ中卵型については生息数や生息密度だけでなく、耳石 Sr:Ca 比分析によって回遊型を確認することで正確な魚道の評価が可能になるだろう。

高瀬堰には階段式の魚道が2ヶ所設置されている。しかし、この魚道はアユなど遊泳力の高い魚類を対象として設計された(国土交通省中国地方整備局太田川河川事務所, 2012)。そこで、遊泳力の乏しい底生魚の遡上を促進するため、同堰に設置されている舟通しの魚道としての改修運用が平成24年度より開始され、平成25年度以降のモニタリング調査では堰の上流においてもカジカ中卵型の生息が確認されるようになった(国土交通省中国地方整備局太田川河川事務所, 2015)。しかしながら、高瀬堰上流のカジカ中卵型の生息密度は堰下流よりも極端に低く、今後の太田川におけるカジカ中卵型の保全のためには生息域の拡大が望まれる。さらに、多様な生活史を持つカジカ中卵型については、遡河履歴を推定するだけでなく、親魚の移動や仔魚の流下の実態の解明など、多角的に回遊生態の解明に取り組む必要があるだろう。

謝 辞

耳石 Sr:Ca 比分析は広島大学自然科学研究支援センターの電子線プローブマイクロアナライザーを使用した。分析にご協力頂いた広島大学技術センターの柴田恭宏技官に心より感謝する。

引用文献

- 後藤 晃. 2001. カジカ「日本の淡水魚」(川那部浩哉・水野信彦編), 山と溪谷社, 東京: 666-667 pp.
- Goto, A., Arai, T., 2003. Migratory histories of three types of *Cottus pollux* (small-egg, middle-egg, and large-egg types) as revealed by otolith microchemistry. *Ichthyological Research*, **50**, 67-72.
- Goto, A., Arai, T., 2006. Diverse migratory histories of Japanese *Trachidermus* and *Cottus* species (Cottidae) as inferred from otolith microchemistry. *Journal of Fish Biology*. **68**, 1731-1741.
- Goto, A., Yokoyama, R., Yamada, M., 2002. A fluvial population of *Cottus pollux* (middle-egg type) from the Honmyo River, Kyushu Island, Japan. *Ichthyological Research*, **49**, 318-323.
- 比婆科学教育振興会. 1990. カジカ. 「広島県の淡水魚」. 中国新聞社, 広島: 256-257 pp.
- 広島県. 2012. レッドリスト, 汽水・淡水魚: <https://www.pref.hiroshima.lg.jp/site/tayousei/j-j2-reddata2-index2.html>. (参照 2015-9-1).
- 環境省. 2012. レッドリスト, 汽水・淡水: <http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=16264>. (参照 2015-3-1).
- 国土交通省中国地方整備局太田川河川事務所. 2015. 平成26年度底生魚遡上に関する調査結果. http://www.cgr.mlit.go.jp/oitagawa/topics/news/takasezeki/PDF/04_kankyou-torikummi/01_teiseigyonosojyou/H26_chousakekka.pdf. (参照 2015-9-1)
- 国土交通省中国地方整備局太田川河川事務所. 2012. Gogi 通信, Vol. **118**.
- 森田孝晴. 2011. 河川性カジカにおける繁殖・生態多様性と保全「カジカ類の多様性」(宗原弘幸・後藤 晃・矢部 衛編). 東海大学出版会, 神奈川: 158-175 pp.
- 森田孝晴・瀬谷政貴. 2012. 利根川最下流域に流入する感潮河川最下流部の堰が魚類相に及ぼす影響. *応用生態工学*, **15**, 187-195.
- 太田川水系生物相学術調査委員会. 2005. カジカ. 「太田川生物誌」. 国土交通省中国地方整備局太田川河川事務所, 広島: 138-139 pp.
- 大竹二雄. 2010. 耳石解析「魚類生態学の基礎」(塚本勝巳編). 恒星社厚生閣, 東京, 100-109 pp.
- 大友芳成・鈴木 栄・鈴木邦雄. 1999. カジカの生息環境について. *埼玉県水産試験場研究報告*. **57**, 6-16.
- 岡部正也・佐伯 昭・芥川健二・清家 暁・海野徹也. 2011. 耳石 Sr/Ca 比による高知県四万十川および物部川産カマキリ当歳魚の遡上履歴の推定. *生物圏科学*. **50**: 33-42.
- 高木基裕・谷口順彦. 1992. 高知県におけるカマキリ, *Cottus kazika* の分布. *水産増殖*. **40**, 329-333.
- 高木基裕・矢野 諭・柴川涼平・清水孝昭・大原健一・角崎嘉史・川西亮太・井上幹生. 2011. 愛媛県・重信川水系の石手川ダムにおけるオオヨシノボリの陸封化と遺伝的分化. *応用生態工学*. **14**, 35-44.
- 海野徹也・山本雅樹・笹田直樹・大原健一. 2015. 江の川における通し回遊魚の耳石 Sr:Ca 比と回遊履歴. *応用生態工学*. **18**, 1-7.
- 海野徹也・清家 暁・大竹二雄・西山文隆・柴田恭宏・中川平介. 2001. 耳石微量元素分析による広島県太田川サツキマスの回遊履歴の推定. *日本水産学会誌*. **67**, 647-657.
- 吉郷英範. 2015. 広島県の陸水魚類. *比和科学博物館報告*. **56**, 150-151.

The migratory histories of the *Cottus* sp. (middle-egg type) in the Ota River

Atsushi TSUYUKI¹⁾, Ryuma OKAZAKI¹⁾, Tetsuya UMINO¹⁾, Kuniaki TAKESHITA²⁾

¹⁾*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, 1-4-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan*

²⁾*Fukkenn co. Ltd, 2-10-11 Higashi, Hiroshima, Hiroshima 732-0052, Japan*

Summary

The migratory histories of *Cottus* sp. (middle-egg type) were insighted from ontogenetic changes in otolith Sr:Ca ratios. We sampled 25 fish in the upstream and downstream of the Takase Weir in the Ota River. Twenty-four fish were categorized as amphidromous form whereas one individual caught in the upstream, showed landlocked life mode. Intraspecific variations in the migration pattern recorded for *Cottus* sp. (middle-egg type) suggest a plasticity strategy for diadromous behaviors.

Key words: *Cottus* sp. (middle-egg type), Migratory history, Ota River, Sr:Ca ratio

Studies on ecology of marine chironomids in southwestern Japan

Koichiro KAWAI^{1)*}, Hidetoshi SAITO¹⁾ and Katsuo SUGIMARU²⁾

¹⁾*Laboratory of Aquatic Ecology, Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

²⁾*Research Dept., Fumakira Co. Ltd., 1-11-1, Umehara, Hatsukaichi-shi, Hiroshima 739-0494, Japan*

Abstract Ecological studies were conducted on marine chironomids in south-western Japan. A total of 20 species was collected. For vertical distribution, only a few species was distributed only at high or middle intertidal zone while many species were distributed only at low zone. For substrate preference, some species were collected only on rocks or in mud while many species were collected only in seaweeds. For geographical distribution, a few species was collected only in the southwestern islands or in the oceanic coast in the Japanese main islands. In contrast, some species were collected in the Seto Inland Sea and the oceanic coast in the main islands, in the oceanic coast in the main islands and the southwestern islands, or in all areas. For seasonal emergence, *Dicrotendipes enteromorphae* was collected only in summer and autumn, and *Semiocladius endocladiae* was collected in all seasons. Other species were collected only in autumn and winter, or only in winter and spring. These results suggest that many chironomid species with a variety of lifestyles dwell in intertidal zones and have some important roles in the ecosystems.

Key Words: sessile organisms, chironomid, distribution, intertidal zone, seaweed

INTRODUCTION

Chironomids (Diptera: Chironomidae) are one of the widely distributed insects on the earth (Nihon yusurika kenkyu-kai, 2010). Some species live in marine habitats such as rocky or sandy seashore. Several genera are specialized in marine life in morphology and/or ecology (Wiederholm, 1989). Many studies have been reported mainly on taxonomy (Tokunaga, 1932, 1933, 1936a, 1936b). However, there are only a few studies on ecology (Hashimoto, 1975; Sunose and Fujisawa, 1982).

In this study, marine chironomids were examined from ecological viewpoints such as vertical distribution on the shore, substrate specificity, geographical distribution and seasonality, and the relationships between ecological and morphological properties were discussed.

MATERIALS and METHODS

Study area

Research was conducted in the southwestern Japan, including Honshu, Shikoku and Kyushu Islands, and southwestern islands in 2004 - 2006 (Fig. 1). A total of 22 sites was investigated.

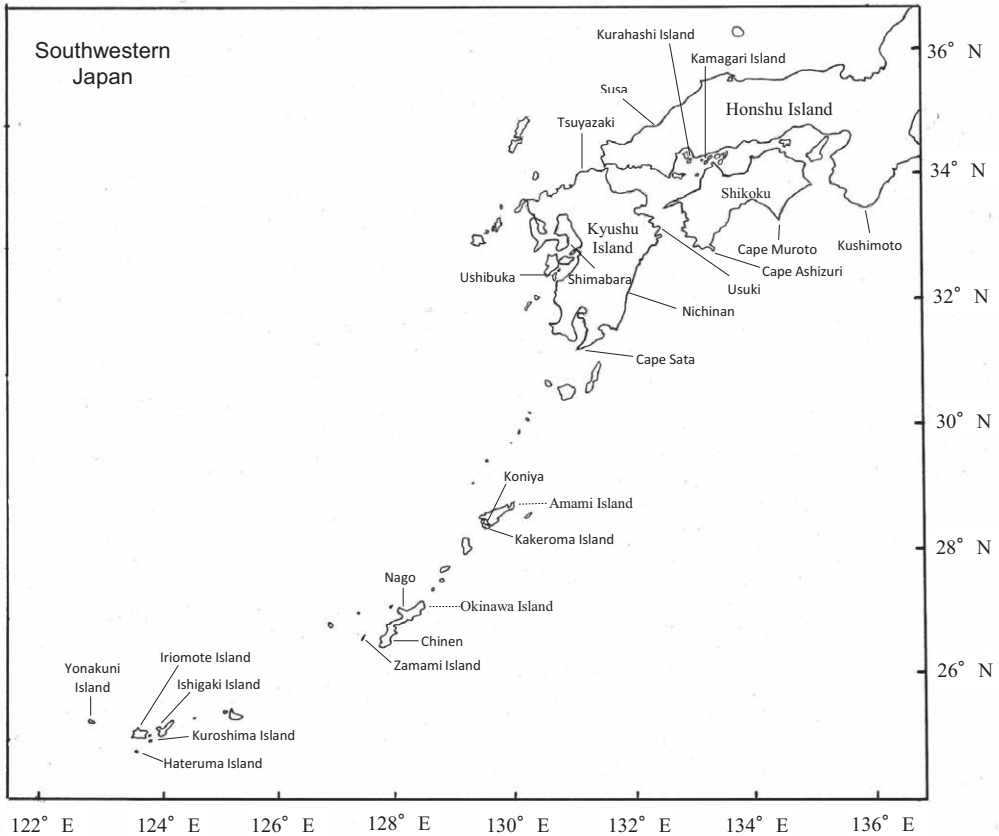


Fig. 1. Map of southwestern Japan, showing 22 sampling sites.

Sampling

A variety of substrates consisting of gravel, sand, mud and attached materials or sessile organisms on rocks were collected at 3 vertical levels, i.e., dried-up zone (high), shoreline zone (middle) and underwater zone (low) at ebb tides. Collected materials were transported to laboratory, transferred into a plastic container ($\Phi 15\text{cm} \times \text{H}9\text{cm}$), filled with artificial sea water at 6 cm level, aerated through a small filter (Roka boy mini, Gex, Osaka) and covered with nylon mesh on the top. Emerging adults were collected every other day for about 2 months. In addition, swarming adults were collected by nylon net, and resting adults on the rocks, etc., and attracted adults to various light sources were collected using sucking tubes.

Identification

Male adults were mounted onto slides according to Sasa *et al.* (1980) and identified based on Wiederholm (1989), Sasa and Kikuchi (1995) and Nihonyusurika Kenkyu-kai (2010).

RESULTS

A total of 20 species was collected. Among these, *Pseudosmittia* sp. is possible to be an undescribed species.

Vertical distribution (Table 1)

Only a species, *T. nemalionis* was collected only at high intertidal zone, and only a species, *C. yoshimatsui* was collected only at middle intertidal zone. As many as 11 species, e.g., *C. setonis*, were collected only at low intertidal zone. Six species, e.g., *T. japonicus*, were collected at middle to low intertidal zones.

Substrate preference (Table 1)

Three species, e.g., *Pseudosmittia* sp., were collected only on rocks, other 3 species, e.g., *A. tuberculatus*, were collected only in mud, and only a species, *T. nemalionis*, was collected only in clusters of sessile organisms. As many as 9 species, e.g., *C. setonis*, were collected only in seaweeds. Three species, e.g., *T. japonicus*, were collected in both seaweeds and sessile organisms.

Table 1. Vertical distribution in the intertidal zone and substrate preferences of marine chironomid species.

| Species | Intertidal zone | | | Substrates | | | | |
|--|-----------------|--------|-----|------------|------|-----|----------|---------------------|
| | High | Middle | Low | Rock | Sand | Mud | Seaweeds | Attaching organisms |
| Orthoclaadiinae | | | | | | | | |
| <i>Clunio setonis</i> Tokunaga | | | ○ | | | | ○ | |
| <i>C. takahashii</i> Tokunaga | | | ○ | | | | ○ | |
| <i>C. tsushimaensis</i> Tokunaga | | | ○ | | | | ○ | |
| <i>C. tsushimaensis</i> var. <i>minor</i> Tokunaga | | | ○ | | | | ○ | |
| <i>Pseudosmittia</i> sp. | | ○ | | ○ | | | | |
| <i>Semiocladus endocladiae</i> (Tokunaga) | | ○ | | ○ | | | | |
| <i>Thalassosmittia nemalionis</i> (Tokunaga) | ○ | | | | | | | ○ |
| Telmatogetoninae | | | | | | | | |
| <i>Telmatogeton japonicus</i> Tokunaga | | ○ | ○ | | | | ○ | ○ |
| <i>T. pacificus</i> Tokunaga | | ○ | ○ | | | | ○ | ○ |
| <i>Thalassomya japonica</i> Tokunaga et Etsuko K. | | ○ | ○ | | | | ○ | ○ |
| Chironominae | | | | | | | | |
| Chironomini | | | | | | | | |
| <i>Aimyyusurika tuberculatum</i> (Tokunaga) | | ○ | ○ | | | | ○ | |
| <i>Chironomus crassiforceps</i> (Kieffer) | | | ○ | | ○ | | | |
| <i>C. yoshimatsui</i> Martin et Sublette | | ○ | | | | | ○ | |
| <i>Dicrotendipes enteromorphae</i> (Tokunaga) | | | ○ | | | | ○ | |
| <i>Polypedilum convexum</i> Johannsen | | | ○ | | ○ | | | |
| <i>P. nubifer</i> (Skuse) | | ○ | ○ | | | | ○ | |
| Tanytarsini | | | | | | | | |
| <i>Pontomyia pacifica</i> Tokunaga | | | ○ | | | | ○ | |
| <i>Tanytarsus boodlea</i> Tokunaga | | | ○ | | | | ○ | |
| <i>T. churamarinus</i> Sugimaru, Kawai et Imabayashi | | | ○ | | | | ○ | |
| <i>T. pelagicus</i> Tokunaga | | ○ | ○ | ○ | | | | |
| <i>Yetanytarsus iriomotensis</i> Sasa | | | ○ | | | | ○ | |

Geographical distribution (Table 2)

Only a species, *C. takahashii*, was collected only in the southwestern islands, and only a species, *T. pacificus*, was collected only in the oceanic coasts in the main islands. In contrast, 3 species, e.g., *S. endocladae*, were collected in all areas. Four species, e.g., *C. tsushimaensis*, were collected in the Seto Inland Sea and the oceanic coasts in the main islands. Other four species, e.g., *C. setonis*, were collected in the oceanic coasts in the main islands and the southwestern islands.

Table 2. Geographical distribution of marine chironomid species in the southwestern Japan.

| Species | Areas | | |
|-----------------------------------|-----------------|------------------------------------|----------------------|
| | Seto Inland Sea | Oceanic coasts in the main islands | Southwestern islands |
| <i>Clunio setonis</i> | | ○ | ○ |
| <i>C. takahashii</i> | | | ○ |
| <i>C. tsushimaensis</i> | ○ | ○ | |
| <i>Semiocladius endocladae</i> | ○ | ○ | ○ |
| <i>Thalassosmittia nemalionis</i> | ○ | ○ | |
| <i>Telmatogeton japonicus</i> | ○ | ○ | |
| <i>T. pacificus</i> | | ○ | |
| <i>Thalassomyia japonica</i> | | ○ | ○ |
| <i>Ainuyusurika tuberculatum</i> | ○ | ○ | ○ |
| <i>Pontomyia pacifica</i> | | ○ | ○ |
| <i>Tanytarsus boodleae</i> | | ○ | ○ |
| <i>T. pelagicus</i> | ○ | ○ | |
| <i>Yetanytarsus iriomotensis</i> | ○ | ○ | ○ |

Seasonal emergence (Table 3)

Dicrotendipes enteromorphae was collected only in summer and autumn at the Cape Ashizuri. *C. setonis* and *T. pacificus* were collected only in autumn and winter at the Cape Ashizuri. *S. endocladae* was collected in all seasons, although it was not collected at Kurahashi in winter and not collected at the Cape Ashizuri in spring and summer. Three species, e.g., *C. tsushimaensis*, were collected only in winter and spring, although it was not collected at the Cape Ashizuri in spring.

Table 3. Seasonal occurrences of marine chironomid species at the Cape Ashizuri and Kurahashi.

| Species | Spring | | Summer | | Autumn | | Winter | |
|------------------------------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|
| | Ashizuri | Kurahashi | Ashizuri | Kurahashi | Ashizuri | Kurahashi | Ashizuri | Kurahashi |
| <i>Clunio setonis</i> | | | | | ○ | | ○ | |
| <i>C. tsushimaensis</i> | | ○ | | | | | ○ | ○ |
| <i>Semiocladius endocladae</i> | | ○ | | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| <i>Thalassosmittia nemalionis</i> | | ○ | | | | | ○ | ○ |
| <i>Telmatogeton japonicus</i> | | ○ | | | | | ○ | ○ |
| <i>T. pacificus</i> | | | | | ○ | | ○ | |
| <i>Dicrotendipes enteromorphae</i> | | | ○ | | ○ | | | |

DISCUSSION

In this study, marine chironomids were collected in the southwestern Japan, and the differences in some ecological properties such as vertical distribution in the intertidal zone, substrate preference, geographical distribution and seasonal occurrence were examined among the species.

Only a species, *T. nemalionis*, was collected only at high intertidal zone and only in clusters of sessile organisms. This suggests that the species live in a gap between sessile animals such as barnacles and eat some algae or detritus. This was not incompatible to the first collection of the species in algal matting of rocky seashore (Tokunaga, 1936). As many as 11 species were collected only at low intertidal zone and six species were collected at middle to low intertidal zones. This shows that marine chironomid larvae usually have relatively low desiccation tolerance.

Three species were collected only on rocks, other 3 species were collected only in mud, and as many as 9 species were collected only in seaweeds. This shows that the detritivorous species are less abundant than herbivorous species in marine chironomid communities. Indeed, *S. endocladiae* was estimated to feed on some seaweeds such as *Gloiopeltis comlanata* and *Nemalion pulvinatum* in high intertidal zone (Nihon yusurika kenkyu-kai, 2010).

There were no species that were distributed only in the Seto Inland Sea area. Only one species, *T. pacificus*, was distributed only in the oceanic coasts in the main islands. Besides, only one species, *C. takahashii*, was distributed only in the southwestern islands. On the other hand, 4 species such as *T. japonicus* and *T. nemalionis* were distributed in the Seto Inland Sea and the oceanic coasts in the main islands, and other four species such as *C. setonis* were distributed in the oceanic coasts in the main islands and the southwestern islands. Further, 3 species such as *S. endocladiae* were distributed in all areas. This might suggest the origin of marine species in the tropical regions. Indeed, genera *Telmatogeton* and *Thalassosmittia* have been proven to be more derivative than genera *Clunio* and *Semiocladus* in a genetic tree (Sugimaru et al., 2010).

Dicrotendipes enteromorphae, a member of the subfamily Chironominae, was collected only in summer and autumn at the Cape Ashizuri, located at much lower latitude than Kurahashi. *C. setonis* and *T. pacificus*, both members of the subfamily Orthoclaadiinae, were collected only in autumn and winter, and *C. tsushimensis*, *T. nemalionis* and *T. pacificus*, all also members of the subfamily Orthoclaadiinae, were collected only in winter and spring. This phenomenon is in accord with a knowledge of an arctic origin of Orthoclaadiinae and a tropical origin of Chironominae.

In this study, *C. yoshimatsui*, the most widely distributed species in the Japanese Archipelagoes, emerged from a sample collected from seaweeds in middle intertidal zone. This is an extremely important record, since this species has been believed as a completely freshwater species (Sasa et Kikuchi, 1995). Further study is necessary to clarify the importance of chironomids in food web and material circulation in marine ecosystems.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are very grateful to the colleagues in Laboratory of Aquatic Ecology, Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University for their cooperation to chironomid sampling, valuable advices and continuous encouragements.

REFERENCES

- Hashimoto, H., 1975. Seasonal emergence of *Clunio aquilonius* Tokunaga (Diptera: Chironomidae). *Konchu*. **43**:52-57.
- Nihon yusurika kenkyu-kai., 2010. *Illustrated guide to the Chironomidae of Japan*. Bun-ichisogoshuppan, Tokyo. 353 pp. (in Japanese)
- Sasa, M., Yasuno, M., Ito, M. and Kikuchi, T., 1980. Studies on the chironomid midges of the Tama River. Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water. *Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud.* **13**: 1-8.
- Sasa, M. and Kikuchi, M., 1995. *Chironomidae of Japan*, University of Tokyo Press, Tokyo, 333 pp.
- Sugimaru, K., Kawai, K. and Imabayashi, H., 2010. Relationship between morphological and genetic trees of marine chironomid species. *Biosp. Sci.* **49**: 1-6.
- Sunose, T. and Fujisawa, T., 1982. Ecological studies of the intertidal chironomid *Telmatogeton japonicus* Tokunaga in Hokkaido. *Res. Popl. Ecol.* **24**: 70-84.
- Tokunaga, M., 1932. Specially evolved chironomids, *Pontomyia natans* Edwards and *P. pacifica* Tokunaga, as marine insects. *Dobutsugakuzasshi*. **44**: 1-3.
- Tokunaga, M., 1933. Chironomidae from Japan II. Marine Tanytarsus. *Philip. J. Sci.* **51**: 357-367.
- Tokunaga, M., 1936a. Chironomidae from Japan VII. New species and a new variety of the genus *Chironomus* Meigen. *Philip. J. Sci.* **60**: 71-85.
- Tokunaga, M., 1936b. Chironomidae from Japan VIII. Marine or seashore *Spaniotoma*, with description of the immature forms of *Spaniotoma melanione*, sp. nov. and *Tanytarsus boodleae* Tokunaga. *Philip. J. Sci.* **60**: 303-319.
- Wiederholm, T., 1989. Chironomidae from the holarctic region-keys and diagnoses. *Entomol. Scand. Suppl.* **34**: 532 pp.

西南日本における海産ユスリカの生態に関する研究

河合幸一郎¹⁾, 斎藤英俊¹⁾, 杉丸勝郎²⁾

¹⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科水族生態学研究室

〒739-8528 東広島市鏡山1-4-4

²⁾ (株)フマキラー 研究部門 〒739-0494 廿日市市梅原1-11-1

要旨 西南日本において海産ユスリカの生態に関わる研究を行った。その結果、計20種が採集され、垂直分布では、潮間帯上部あるいは中部域のみに分布する種は少なかったが、下部域のみに分布する種は多かった。基質については岩石面や泥中のみに棲む種は少なかったのに対し、海藻類のみに棲む種は多かった。また、地理的分布では南西諸島や本土外洋沿岸域のみに分布する種は少なかった。一方、数種は、瀬戸内海沿岸と本土外洋沿岸域、本土外洋沿岸域と南西諸島、あるいは全地域に分布することが分かった。また、羽化時期については、*Dicrotendipes enteromorphae* は夏季・秋季のみ、*S. endocladiae* は周年出現し、他種は秋季・冬季のみあるいは冬季・春季のみに出現した。これらのことから、潮間帯には様々な生活様式を持つ多くの種のユスリカが棲息し、生態系において重要な役割を果たしていることが示唆された。

キーワード：海藻、潮間帯、付着生物、分布、ユスリカ

Molecular Identification of “Gum Gum”: a Food Mole Crab *Hippa adactyla* from Papua New Guinea

Makoto URATA*, Hayato TANAKA and Susumu OHTSUKA

*Takehara Marine Science Station, Setouchi Field Science Center,
Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
5-8-1 Minato-machi, Takehara, Hiroshima, 725-0024, Japan.*

Abstract A specimen of *Hippa adactyla* Fabricius, 1787, was collected from Blanche Bay, Papua New Guinea. Nuclear 18S and mitochondrial 16S ribosomal RNA gene sequences were examined for interspecies and intraspecies comparisons. The result suggests some genetic similarity and diversification of this species distributed widely in the Indo-Pacific. We also report a local culture of eating the animal under the name “Gum Gum”. This is a pioneering report on the genetic perspective and fishing of a mole crab in southwest Pacific.

Key words: Anomura, fishery, *Hippa adactyla*, mole crab, 16S, 18S.

INTRODUCTION

Mole crabs are benthic crustaceans of the family Hippidae (Anomura, Hippoidea) widely distributed on intertidal and shallow subtidal sandy ocean beaches. They include the following three genera: *Emerita*, *Hippa*, and *Mastigochirus*. As reviewed by Boyko and McLaughlin (2010) and supported by recent molecular works by Roterman et al. (2013) and Bracken-Grissom et al. (2013), all morphological and molecular phylogenetic studies show that the Hippoidea is monophyletic and that the taxon is the basal taxon in the extant Anomura. Within the Hippoidea, the monophyletic status of Albuneidae, Blepharipodidae, and Hippidae is supported by their morphological (Boyko and Harvey, 2009) and molecular analyses (Bracken-Grissom et al., 2013). However, the monophyly of the above-mentioned three genera in the Hippidae is still unclear. A molecular phylogeny of the mitochondrial 16S ribosomal RNA and cytochrome *c* oxidase subunit 1 gene sequences from nine species of *Emerita* and one of *Hippa* placed *Hippa pacifica* in a clade of *Emerita* (Haye et al., 2002).

In South Africa, relatively large-scale fishing of the mole crabs *Emerita austroafricana* and *Hippa ovalis* is practiced (Kyle et al., 1997). *Emerita emeritus* has been caught for food at Phuket, Thailand (Janekorn, 1982, after Ingole et al., 1998). *Hippa adactyla*, with the local name “Ourudom”, is considered a medicinal food on the Kavarratti atoll, Lakshadweep Islands, southern India (Ingole et al., 1998). Also in Japan, *H. adactyla* is commonly caught for local food in the Amami Oshima Islands under the local name “Gumyū” (N. Hisashi, personal communication) or “Kamenkua” (Fuji Television, 2006)

Accepted on September 9, 2015 * Current address:

Noto Marine Laboratory, Division of Marine Environmental Studies, Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University, Ogi, Noto-cho, Ishikawa 927-0553, Japan

E-mail: urata@staff.kanazawa-u.ac.jp

and at Nakijin Village, northern Okinawa Island, under the local name “Sunagame” (TV Asahi, 2010). Around Papua New Guinea, crustacean fishing in the South Pacific islands has been well reviewed by Dalzell et al. (1996); however, fishing of mole crabs was not mentioned in this review.

To obtain further information on phylogenetic status, genetic diversity, distribution, and food culture, we analyzed two DNA markers—nuclear 18S ribosomal RNA (18S) and mitochondrial 16S ribosomal RNA (mt16S) gene sequences—in a specimen of *H. adactyla* from Papua New Guinea. We performed interspecies and intraspecies comparisons with previously described sequences of Hippidae.

MATERIALS AND METHODS

A male specimen of *H. adactyla* was caught by a local fisherman at Karavia Bay, indenting the western part of Blanche Bay, East New Britain, Papua New Guinea (4°17'56"S, 152°9'48"E) on February 3, 2015. The specimen was fixed in 70% ethanol and held at room temperature. Genomic DNA was extracted by a standard proteinase K/sodium dodecyl sulphate (SDS)/phenol-chloroform procedure from approximately 1 mm³ fixed muscle that was surgically picked from the left first pereopod. Polymerase chain reactions were performed with KOD FX Neo (Toyobo Co., Ltd., Osaka, Japan) according to the manufacturer's standard protocol. Two primer sets, eukaryotic primers for 18S (Moon-van der Staay et al., 2000) and 16SA/16SB (Xiong and Kocher, 1991), for the nuclear 18S ribosomal RNA gene (18S) and mitochondrial 16S ribosomal RNA gene (mt16S) sequences, respectively, were used. The three-step cycling conditions were as follows: initial denaturation for 2 min at 94°C; 30 cycles of 10 s at 98°C, 30 s at 52°C, and 90 s at 68°C; and a final extension for 5 min at 68°C. PCR products were purified with a High Pure PCR product purification kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Fragments were sent to Macrogen Japan Corp. (Tokyo) for sequencing. Sequence data were aligned with ClustalW 2.1 (Larkin et al., 2007). Maximum likelihood approaches under a general time-reversible model were performed with MEGA v. 5.2 (Tamura et al., 2011). A comparative specimen of *H. pacifica* (*H. marmorata*) was caught at Iejima, Okinawa, Japan (26°42'53"N, 127°49'50"E) on April 26, 2015 and analyzed by the same procedure. Comparative 18S and/or mt16S sequences of *Hippa* and *Emerita* are shown in Table 1. Same superfamily two Albuneidae species, *Albunea gibbesii* (KF182440, KF182558; Bracken-Grissom et al., 2013), and *Paraleucolepidopa myops* (KF182441, KF182560; Bracken-Grissom et al., 2013) were also obtained from previous studies as outgroups.

RESULTS AND DISCUSSION

Morphology

The specimen (Fig. 1A) that has a carapace with three median lobes in the frontal margin, well-developed lateral frontal lobes, submarginal row of setose pits ($N = 49$), fine transverse grooves, dactylus of pereopods II and III with anterior margin cut into right angles, and antennal flagellum with four articles, was identified as *H. adactyla* Fabricius, 1787, based on Boyko and Harvey (1999). It was an adult male, 26.1 mm long and 22.5 mm wide in the carapace. The carapace and the abdomen were generally grayish dark brown with pale orange marks in living condition. The specimen was deposited in Hiroshima University Museum as voucher HUM-C-021. The comparative specimen (Fig. 1B) that has a carapace with two median lobes in the frontal margin, about equally projecting lateral frontal lobes, submarginal row of setose pits ($N = 38$), and antennal flagellum with two articles, was identified as *H.*

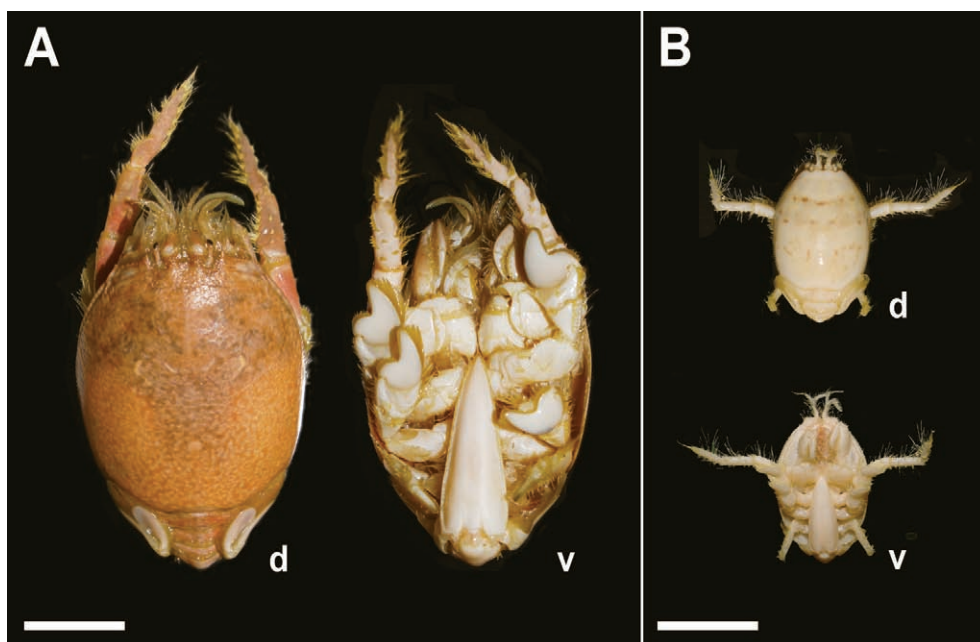


Figure 1. (A) An adult male specimen of *Hippa adactyla* collected in Papua New Guinea. (B) An adult female specimen of *H. pacifica* collected in Japan, showing dorsal (d) and ventral (v) sides. Ethanol fixed. Scale bar, 10 mm.

pacifica based on Boyko and Harvey (1999). It was an adult female, 12.0 mm long and 9.7 mm wide in the carapace. The specimen was deposited in Hiroshima University Museum as voucher HUM-C-022.

Fishing practices

The estuaries at the collection site consist of black volcanic sand, few coral reefs and mangroves. Native Tolai people caught mole crabs from the intertidal and shallow subtidal sand bottom by their foot and hand. They told me their variety of recipes for cooking the animal, for example just boiling and frying with oil or coconut milk. They said that spit roasting was the best and it could be eaten whole, shell and all. The people spoke not only English and Tok Pisin, official languages of Papua New Guinea, but also their own language, Kuanua. They called the mole crabs “Gum Gum” as a species of “Kuka”, meaning crab in Kuanua and Tok Pisin. Some species of small true crabs were also caught in the same area, although these were used not for food but for fishing bait.

As mentioned in the Introduction, the eating culture and fishing of mole crabs are known in the India and Japan. Our result suggests a wide geographical distribution of them in the Indo-Pacific. To what extent and how the culture diffused will be future research questions.

Molecular analysis

PCR fragments, 1895 bp for 18S and 561 bp for mt16S, were well amplified from the specimen of *H. adactyla*, and the analyzed sequences, 1800 bp for 18S and 521 bp for mt16S, were deposited in GenBank under the accession IDs LC052326 and LC052327, respectively. Those of analyzed *H. pacifica* were LC055145 and LC055144.

These sequences did not completely match others in GenBank by BLAST search. However, the phylogenetic results from both 18S and mt16S, 1683bp and 291 bp showed close relationships with known sequences of *Hippa* species (Fig. 2). The topology of the 18S tree showed that the two genera *Emerita* and *Hippa* split into two clades with high bootstrap support. The mt16S tree also showed a clade of *Hippa* with relatively high bootstrap support, but a clade of *Emerita* was obscure. These results are not inconsistent with the morphological classification based on the monophyly of each genus, unlike the results of Haye et al. (2002). However, sufficient comparable sequences of *Hippa* species have not yet been deposited enough in GenBank (which now contains sequences of only two species), and no sequence of *Mastigochirus* has been analyzed yet. Future molecular studies of *Hippa* and *Mastigochirus* species may clarify the genetic monophyly of these genera.

The mt16S sequence of *H. adactyla* from Papua New Guinea was identical to that of *H. adactyla* KJ132557 (Tsang et al., 2014) collected at Nan'ao Township, Yilan County, Taiwan (24°26'24.64" N, 121°48'24.40"E, by Taiwan National Museum of Natural Science) except for a 66-base deletion in the latter sequence; but differed by 52-base substitutions from *H. adactyla* KF051307 (Roterman et al., 2013) collected at Durban, South Africa (30°03'00" S, 30°53'16"E), intertidal zone on a sandy beach, September 16, 2003 (C.N. Roterman, personal communication). This *H. adactyla* KF051307 was close to *H. pacifica*, as shown in Figure 2B. The 18S sequence of *H. adactyla* from Papua New Guinea also differed from that of *H. adactyla* collected at Durban (KF051278; Roterman et al., 2013) by three base

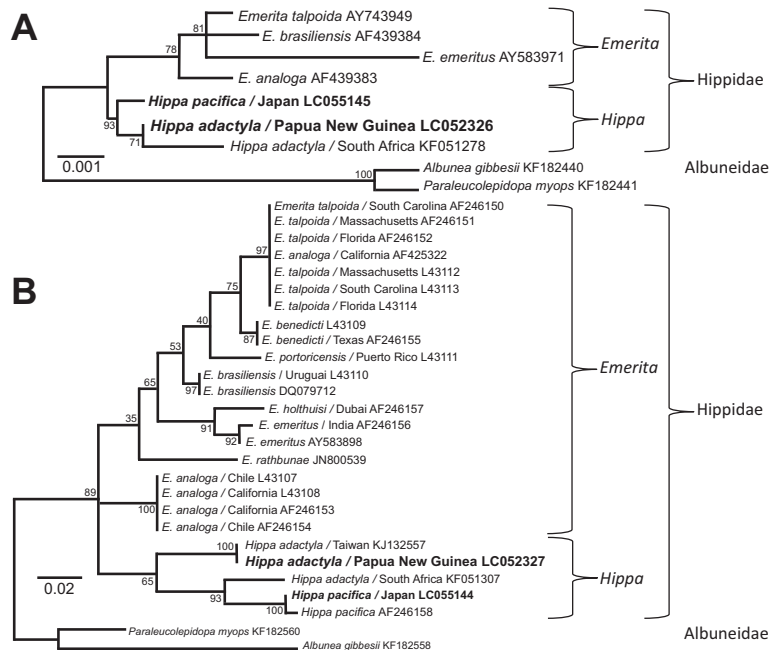


Figure 2. Molecule-based phylogenetic trees of *Hippa adactyla* and Hippidae species. **(A)** Based on partial 18S sequence (1683 bp). **(B)** Based on partial mt16S sequence (291 bp). Two Albuneidae species, *Albunea gibbesii* and *Paraleucolepidopa myops*, are included as outgroups. Bold lettering indicates new data of this article. The topology and branch length of cladograms were produced by maximum likelihood. Numbers above branches denote bootstrap support. Codes after species names are GenBank accession IDs.

substitutions. These facts suggest the following two points: (1) *H. adactyla* has some genetic diversification in 18S and mt16S; and (2) the population of *H. adactyla* in Taiwan, located in the northern hemisphere, has a close genetic relationship with the specimen collected in Papua New Guinea, approximately 4,600 km from Taiwan. The latter may be consistent with wide distribution as a single population. However, human-mediated introduction can also be considered as an explanation, given that our collection site is not far from Rabaul, an important port for foreign fishing vessels where Taiwanese ships frequently come into. Future studies of genetic polymorphism among other Indo-Pacific populations may clarify the human disturbance of this species.

ACKNOWLEDGMENTS

We particularly thank Lucy Tiune and fishermen at Karavia Village for collecting animals and for valuable information. We also thank Fiona Tanner, Kwen-Shen Lee, C. Nicolai Roterman and Nobuhiro Hisashi for helpful information.

Table 1. 18S and mt16S sequences of *Hippa* and *Emerita* included in phylogenetic analyses.

| | Locality | GenBank accession IDs | | Publication |
|-------------------------|------------------|-----------------------|----------|------------------------------------|
| | | 18S | mt16S | |
| <i>Hippa adactyla</i> | South Africa | KF051278 | KF051307 | Roterman et al., 2013 |
| | Taiwan | - | KJ132557 | Tsang et al., 2014 |
| | Papua New Guinea | LC052326 | LC052327 | This paper |
| <i>H. pacifica</i> | - | - | AF246158 | Haye et al., 2002 |
| | Japan | LC055145 | LC055144 | This paper |
| <i>Emerita analoga</i> | - | AF439383 | - | Perez-Losada et al., 2002 |
| | Chile | - | L43107 | Tam et al., 1996 |
| | California | - | L43108 | Tam et al., 1996 |
| | California | - | AF246153 | Haye et al., 2002 |
| | Chile | - | AF246154 | Haye et al., 2002 |
| | California | - | AF425322 | Zaklan and Cunningham, unpublished |
| | - | - | L43109 | Tam et al., 1996 |
| <i>E. benedicti</i> | Texas | - | AF246155 | Haye et al., 2002 |
| | - | AF439384 | - | Perez-Losada et al., 2002 |
| <i>E. brasiliensis</i> | Uruguay | - | L43110 | Tam et al., 1996 |
| | - | - | DQ079712 | Porter et al., 2005 |
| | - | AY583971 | AY583898 | Ahyong and O'Meally, 2004 |
| <i>E. emeritus</i> | India | - | AF246156 | Haye et al., 2002 |
| | Dubai | - | AF246157 | Haye et al., 2002 |
| <i>E. holthuisi</i> | Puerto Rico | - | L43111 | Tam et al., 1996 |
| <i>E. portoricensis</i> | - | - | JN800539 | Bybee et al., 2011 |
| <i>E. rathbunae</i> | - | AY743949 | - | Babbitt and Patel, unpublished |
| | Massachusetts | - | L43112 | Tam et al., 1996 |
| | South Carolina | - | L43113 | Tam et al., 1996 |
| | Florida | - | L43114 | Tam et al., 1996 |
| | South Carolina | - | AF246150 | Haye et al., 2002 |
| | Massachusetts | - | AF246151 | Haye et al., 2002 |
| | Florida | - | AF246152 | Haye et al., 2002 |
| | - | - | - | - |

REFERENCES

- Ahyong, S. T., O'Meally, D., 2004. Phylogeny of the Decapoda Reptantia: resolution using three molecular markers and morphology. *Raffles Bull. Zool.* **52**: 673-693.
- Bybee, S. M., Bracken-Grissom, H., Haynes, B. D., Hermansen, R. A., Byers, R. L., Clement, M. J., Udall, J. A., Wilcox, E. R., Crandall, K. A., 2011. Targeted amplicon sequencing (TAS): a scalable next-gen approach to multilocus, multitaxa phylogenetics. *Genome Biol. Evol.* **3**: 1312-1323.
- Boyko, C. B., Harvey, A. W., 1999. Crustacea Decapoda: Albuneidae and Hippidae of the tropical Indo-West Pacific region. In "Résultats des Campagnes MUSORSTOM, Vol. 20 Ed. Crosnier, A., Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle Vol. 180, Paris: 379-406 pp.
- Boyko, C. B., Harvey, A. W., 2009. Phylogenetic systematics and biogeography of the sand crab families Albuneidae and Blepharipodidae (Crustacea: Anomura: Hippoidea). *Invert. Syst.* **23**: 1-18.
- Boyko, C. B., McLaughlin, P. A., 2010. Annotated Checklist of Anomuran Decapod Crustaceans of the World (Exclusive of the Kiwaoidea and Families Chirostylidae and Galatheidae of the Galattheoidea) Part IV-Hippoidea. *Raffles Bull. Zool.*, suppl. **23**: 139-151.
- Bracken-Grissom, H. D., Cannon, M. E., Cabezas, P., Feldmann, R. M., Schweitzer, C. E., Ahyong, S. T., Felder, D. L., Lemaitre, R., Crandall, K. A., 2013. A comprehensive and integrative reconstruction of evolutionary history for Anomura (Crustacea: Decapoda). *BMC Evol. Biol.* **13**: 128.
- Dalzell, P., Adams, T. J. H., Polunin, N. V. C., 1996. Coastal Fisheries in the Pacific Islands. *Oceanogr. Mar. Biol.: an Annual Review* **34**: 395-531.
- Fuji Television Network, Inc., 2006. Kuishinbo Banzai, broadcasted on Feb 27. http://www.fujitv.co.jp/kuishinbo/backnumber/backno_36.html#5642
- Haye, P. A., Tam, Y. K., Kornfield, I., 2002. Molecular phylogenetics of mole crabs (Hippidae: Emerita). *J. Crust. Biol.* **22**: 903-915.
- Ingle, B. S., Sreepada, R. A., Ansari, Z. A., Parulekar, A. H., 1998. Population characteristics of the mole crab, *Hippa adactyla* Fabricius, in the intertidal sediment at Kavaratti Atoll, Lakshadweep Islands. *Bull. Mar. Sci.* **63**: 11-20.
- Janekorn, W., 1982. Do you know the sand-crab? *Thai-Fish. Gaz.* **33**: 155-168.
- Kyle, R., Robertson, W.D., Birnie S.L., 1997. Subsistence shellfish harvesting in the Maputaland Marine Reserve in northern KwaZulu-Natal, South Africa: Sandy beach organisms. *Biol. Conserv.* **82**: 173-182.
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J., Higgins, D. G., 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* **23**: 2947-2948.
- Moon-van der Staay, S. Y., van der Staay, G. W. M., Guillou, L., Claustre, H., Medlin, L., Vaultot, D., 2000. Abundance and diversity of prymnesiophytes in the picoplankton community from the equatorial Pacific Ocean inferred from 18S rDNA sequences. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 98-109.
- Morrison, C. L., Harvey, A. W., Lavery, S., Tieu, K., Huang, Y., Cunningham, C. W., 2002. Mitochondrial gene rearrangements confirm the parallel evolution of the crab-like form. *Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* **269**: 345-350.
- Perez-Losada, M., Jara, C. G., Bond-Buckup, G., Porter, M. L., Crandall, K. A., 2002. Phylogenetic Position of the Freshwater Anomuran Family Aeglidae. *J. Crustacean. Biol.* **22**: 670-676.
- Porter, M. L., Perez-Losada, M., Crandall, K. A., 2005. Model-based multi-locus estimation of decapod

- phylogeny and divergence times. *Mol. Phylogenet. Evol.* **37**: 355-369.
- Roterman, C. N., Copley, J. T., Linse, K. T., Tyler, P. A., Rogers, A. D., 2013. The biogeography of the yeti crabs (Kiwaidae) with notes on the phylogeny of the Chirostyloidea (Decapoda: Anomura). *Proc. R. Soc. B* **280**: 20130718.
- Swadling, P., 1976. Central Province shellfish resources and their utilisation in the prehistoric past of Papua New Guinea. *The Veliger* **19**: 293-302.
- Tam, Y. K., Kornfield, I., Ojeda, F. P., 1996. Divergence and zoogeography of mole crabs, *Emerita* spp. (Decapoda: Hippidae), in the Americas. *Mar. Biol.* **125**: 489-497.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* **28**: 2731-2739.
- Tsang, L. M., Schubart, C. D., Ah Yong, S. T., Lai, J. C., Au, E. Y., Chan, T. Y., Ng, P. K., Chu, K. H., 2014. Evolutionary history of true crabs (crustacea: decapoda: brachyura) and the origin of freshwater crabs. *Mol. Biol. Evol.* **31**: 1173-1187.
- TV Asahi Corporation, 2010. Neighborhood Treasures, broadcasted on June 9. http://www.tv-asahi.co.jp/nanikore/contents_pre/collection/100609.html
- Xiong, B., Kocher, T. D., 1991. Comparison of mitochondrial DNA sequences of seven morphospecies of black flies (Diptera: Simuliidae). *Genome* **34**: 306-311.

パプアニューギニアで食用とされるミナミスナホリガニ *Hippa adactyla* の分子的同定

浦田 慎, 田中隼人, 大塚 攻

広島大学大学院生物圏科学研究科,
附属瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター竹原ステーション,
〒725-0024 竹原市港町5-8-1

要 旨 パプアニューギニアのラバウル近郊で現地人により採取されたスナホリガニの一種ミナミスナホリガニ *Hippa adactyla* Fabricius, 1787について、核18S及びミトコンドリア16SリボソームRNA遺伝子配列を解析し、近縁種間及び同種内の関係について分子的に比較した。その結果、インドー太平洋域に広く分布するとされる本種において、パプアニューギニア産個体はインド産個体と分子的に異なる一方、台湾産個体とは極めて近い関係にあることが示された。あわせて、本種を「 Gum Gum (Gum Gum)」と呼んで食用とする現地の習慣を、他の地域の食習慣とともに紹介した。本稿は、南太平洋域のスナホリガニ類の分子的情報と、同域での食用採取について、初めて報告するものである。

キーワード：異尾下目、スナホリガニ科、食用、ミナミスナホリガニ、18S、ミトコンドリア16S

Production of *Zostera marina* with different shoot size and stand structures in the Seto Inland Sea, Japan – production in the luxuriant season in 2012 –

Goro YOSHIDA^{1)*}, Masakazu HORI¹⁾, Hiromori SHIMABUKURO¹⁾, Hideki HAMAOKA¹⁾ and Sadaharu IWASAKI²⁾

¹⁾National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea,
Fisheries Research Agency, Hatsukaichi, Hiroshima 739-0452, Japan

²⁾Takehara Marine Science Station, Setouchi Field Science Center, Graduate School of
Biosphere Science, Hiroshima University, Takehara, Hiroshima 725-0024, Japan

Abstract In June 2012, production was measured and compared among *Zostera marina* stands with different shoot sizes and stand structures, at a total of seven stations in three *Z. marina* beds in the Seto Inland Sea, Japan. Production per shoot depended on the shoot size, and was larger (50.9 - 73.2 mg DW shoot⁻¹ d⁻¹) at the stands in the bed of Ikuno-shima Is. (Hiroshima Pref.; Aki-Nada Sea), where large shoots formed stands with lower densities, than at stands in the bed of Heigun-jima Is. (Yamaguchi Pref.; Suo-Nada Sea) (7.7 - 27.4 mg DW shoot⁻¹ d⁻¹) where small shoots exhibited higher densities. Though the areal production estimated was compensated by shoot density, it was still larger at the bed of Ikuno-shima Is. (2.89-5.38 g DW m⁻² d⁻¹) than at Heigun-jima Is. (1.63 - 2.56 g DW m⁻² d⁻¹). Sediment characteristics were quite different between the two *Z. marina* beds and considered to affect the stand structures and productivity, *i.e.*, the sediment at Ikuno-shima Is. was muddy and rich in organic matter and the sediment at Heigun-jima Is. was dominated by sand indicating severer physical conditions induced by waves.

In Aba-shima Is. (Hiroshima Pref.; Aki-Nada Sea), the third research site, the *Z. marina* bed was on the way of recovery after catastrophic damage due to heavy grazing of rabbitfish (*Siganus fuscescens*) which had occurred in autumn of 2011, and young shoots developed from seeds forming a patchy stand with a low shoot density and biomass. Though the production was lowest (0.60 g DW m⁻² d⁻¹), the turnover of the biomass was higher (6.5 % d⁻¹) at the stand in Aba-shima Is. than values (1.7-3.3% d⁻¹) at the other two beds.

Keywords: biomass, production, shoot size, stand structure, *Zostera marina*

INTRODUCTION

Seagrass *Zostera marina* forms dense beds and contributes substantially to coastal primary production (Sand-Jensen, 1975; Jacobs, 1979), providing variable ecosystem services which benefits human welfare (Costanza *et al.*, 1997). Because of its ecological and industrial importance, production of this cosmopolitan species has been evaluated worldwide (Duarte and Chiscano, 1999).

Though it is a cosmopolitan species, recent studies have shown extensive genetic variations among *Z. marina* populations observed within its regional or, in some cases, local distributions (Rhode and Duffy, 2004; Ort *et al.*, 2012; Shimabukuro *et al.*, 2012). In addition, diversities in shoot morphology

and structures of stands are often observed even within the same sea area. In previous papers (Yoshida *et al.*, 2013ab), we reported both shoot size and stand structures were highly variable among *Z. marina* populations in the western Seto Inland Sea and eastern area of Bungo-Channel. There, shoot size and density exhibit a reciprocal pattern among (or often within) local *Z. marina* populations, where *Z. marina* with smaller shoots tends to have a higher density, and *vice versa*. Though similar results have been obtained in other regions (Aioi, 1980), it has not been examined how the ecological potentials and functions of those *Z. marina* stands differ.

In this study, we conducted a preliminary survey in the Seto Inland Sea to compare the primary production among *Z. marina* with different shoot sizes and stand structures. Based on this research, we wish to answer: how differences arise under approximately identical climatic conditions due to their close proximity? Can smaller *Z. marina* shoots compensate for their productivity by higher densities or higher turnover rates? Production measured in this study is also compared with values obtained in other regions worldwide to understand the ecological characteristics of *Z. marina* in the Seto Inland Sea.

These results offer better understanding of the ecological diversity of *Z. marina* populations in the relevant sea area, and ideas for the preservation measures of this ecologically important species.

Materials and methods

This study was conducted in June 2012, when *Z. marina* in the Seto Inland Sea is most luxuriant (Fujiwara *et al.*, 2009) and is supposed to show the highest production in a year.

Study sites

Three subtidal *Zostera marina* beds with different characteristics were chosen. That is, 1): a bed occupied by relatively large shoots, 2): by smaller shoots but with a higher density, and 3) by young shoots which had just grown up from seedlings germinated during the last winter to spring. The topographic characteristics were also quite different among the three beds.

The bed 1) was located at Ikuno-shima Is. in the Aki-Nada Sea, one of the sub-sea areas of the Seto Inland Sea (Figs 1, 2). The *Z. marina* bed was formed within a vast, sheltered inlet with most of the area shallower than 1.0 m in depth (below Chart Datum Level; depths are stated based on the same criterion in the following description). The *Z. marina* bed occupied ca. 21 ha in the inlet area. Three stations for production measurements were set, two (St. 1 and St. 2, 0.2 and 0.4 m in depth, respectively) at the innermost area, and one (St. 3, depth; 0.6 m) near the mouth of the inlet (Fig. 2).

The bed 2) was located at Kona of Heigun-jima Is., in the Iyo-Nada Sea, and formed in a relatively open inlet and within a depth range of 0-6 m (Figs 1, 2). The area of the bed was estimated to be ca. 0.6 ha. Three measurement stations were set along the depth gradient of the bed, which was St. 5 (depth; 0.2 m), St. 6 (1.2 m) and St. 7 (3.1 m) (Fig. 2).

The bed 3) was located at Aba-shima Is., which is adjacent to Ikuno-shima Is. (Fig. 1). The *Z. marina* bed was formed in front of an open beach on the western coast of the island, exhibiting a belt-like form with an estimated area of ca. 1.5 ha (Fig. 2). Originally, *Z. marina* distributed from 0 to, at least, 3 m in depth, but the stand had been damaged and disappeared due to grazing by rabbitfish, *Siganus fuscescens*, in the autumn of 2011. When we conducted this study (June 2012), the *Z. marina* stand was composed of numbers of young shoot patches. From the morphology of their rhizomes with nodes per shoot in relatively small numbers, we made sure that these shoot patches were originated from one or a few seedlings and their subsequent laterally-branching. Production measurements were

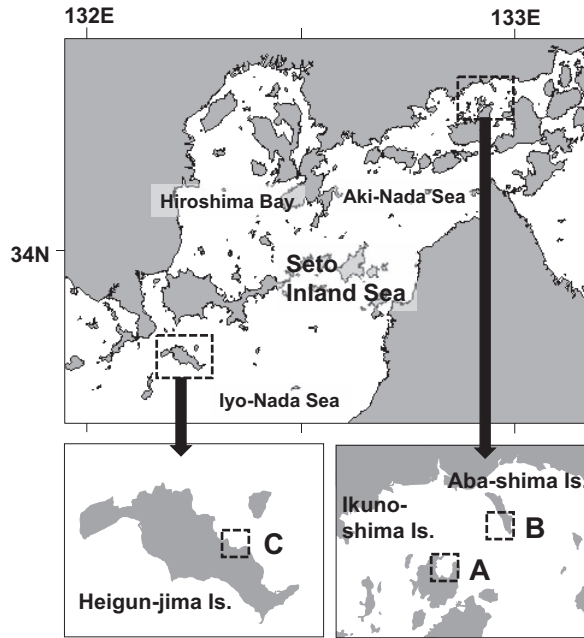


Fig. 1. Three study sites (islands) where the *Zostera marina* beds examined in this study are located. The grids A, B and C indicate the locations of the *Z. marina* beds, which coincide with those shown in Fig. 2.

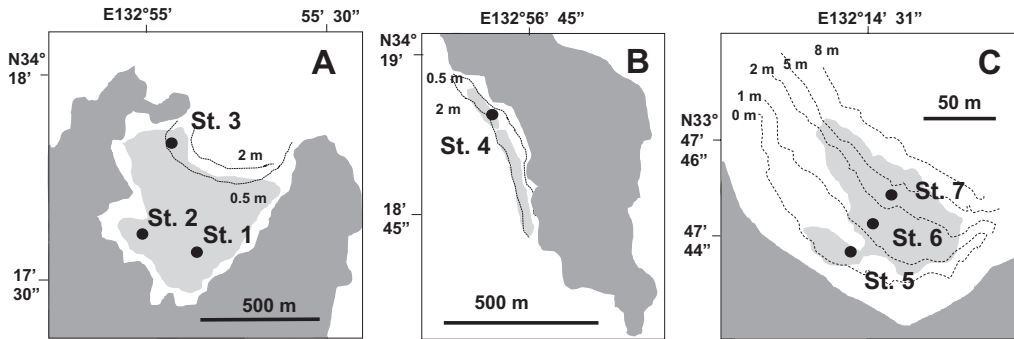


Fig. 2. Topography of the three *Z. marina* beds (area shaded light gray) and locations of the seven stations where production of the *Z. marina* stands was measured. A: the *Zostera* bed in Ikuno-shima Is., B: in Aba-shima Is., C: in Heigun-jima Is.

conducted on these shoots at the point of 0.6 m in depth (Fig. 2, St. 4).

Shoot size, density and biomass of *Zostera marina*

Shoot size, density and biomass were surveyed at the 7 stations in early June 2012. At each station, three 50 × 50 cm quadrats were set in the *Z. marina* stand. All shoots within the quadrat were sampled with their rhizomes and roots using a shovel, and put in a mesh bag. Dead rhizomes which were black in color and fragmented were discarded. After being brought back to a laboratory, vegetative and flowering shoots in each bag were counted respectively. Then each shoot was separated into the above- and under-

ground parts using a knife, at the root primordium close to the meristematic region assumed to be the boundary of the both parts (Yoshida *et al.*, 2013a). The above-ground part (sheath and leaves) of each vegetative shoot was measured in total length (as ‘shoot length’) and the maximum width of the leaf just above the sheath. The below-ground parts of vegetative and flowering shoots were separated into rhizomes and roots. The length and major axis in the section of the second rhizome node of each vegetative shoot were measured. The weight of each part was determined after being dried under 85 °C for a few days.

Zostera marina production measurement

In this study, production of *Zostera marina* was measured by a leaf-marking technique, a common method for seagrass production measurements (Short and Duarte, 2001). For the estimation of the above-ground part (*i.e.*, leaves) production, we used the ‘conventional’ leaf-marking method (Fig. 3) so-called by Gaeckle and Short (2002), and for the below-ground part (rhizomes and roots) production, we took a more improved and recommended (Short and Duarte, 2001) method (the plastochrone method) based on the plastochrone interval (the time interval between the new initiation of two successive leaves on one shoot) determined by the leaf-marking (Fig. 3).

On the same day as the quadrat sampling, we pierced pin-holes using a needle in the leaf bundle just above the sheath of each vegetative shoot (Fig. 3). This marking method was carried out on 30 vegetative shoots at each station and marked shoots were distinguished by being tied with pink-colored tape at their base. After 2 weeks, marked shoots were recovered with their rhizomes and roots and brought back to the laboratory. Tissues needed for the production measurement were sampled (see below), dried and weighed in the same way as the biomass measurement.

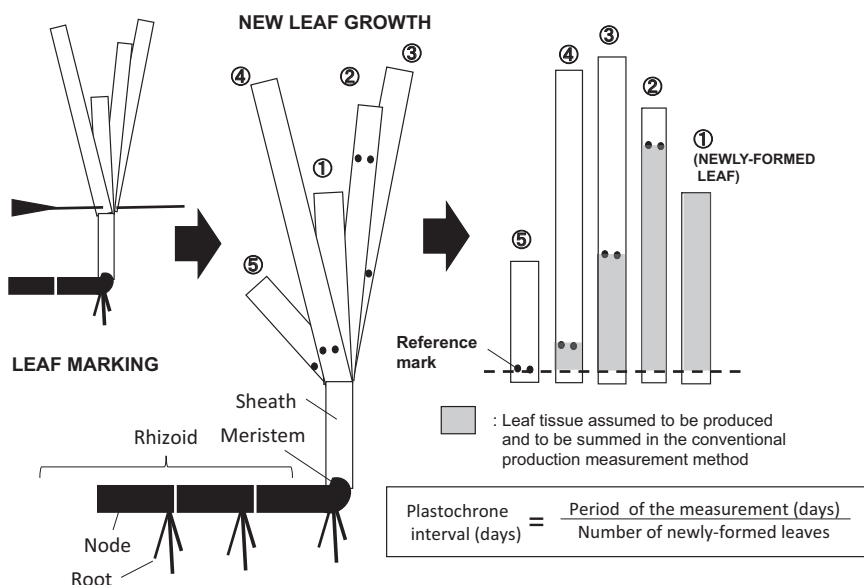


Fig. 3. Leaf-marking method in *Z. marina* production measurement (modified figure of Short and Duarte, 2001). The ‘conventional method’ (Gaeckle and Short, 2002) of the production measurement and determination procedure of plastochrone interval are shown.

For each marked shoot, leaf production was determined from the weight of leaf tissue between the reference pin-hole, being marked on the outermost (and the oldest) leaf assumed to have terminated growth, and the holes on the younger leaves that has moved up as they grow (Fig. 3). Leaves newly-formed during the period and distinguished by being without pinholes were counted for each shoot and the plastochrone interval was determined (Fig. 3). The weight of new leaves was also added to the leaf production. This ‘conventional’ method has been reported to possibly miss the maturation of leaf tissues above the holes and growth of newly-formed leaves enclosed in a sheath (therefore, invisible) and cause an underestimation of the production (Gaeckle and Short, 2002). However, this underestimation had been reported to be negligible when the measurement period is sufficiently longer than the plastochrone interval, allowing the new leaf tissue to mature during the period. The period we took for the production measurement (2 weeks) was longer than the plastochrone interval of the marked shoots (see the Results), so underestimation was supposed to be small.

For the below-ground part production measurement, we took the plastochrone method (Gaeckle and Short, 2002). In this method, leaf or under-ground production is simply estimated by weight of a mature leaf (usually, the 3rd leaf) or rhizoid node with its root bundles (g) divided by a plastochrone interval of leaves (days), as the plastochrone intervals of leaves and nodes of *Z. marina* are the same (Short and Duarte, 2001). In our study, we used the mean biomass of the 3rd to 5th nodes with their root bundles as a mature node weight.

The estimated daily production of one shoot (above- + below-ground parts) is multiplied by vegetative shoot density within the sampled quadrat and assumed to be the daily areal (m²) production of the *Z. marina* stand at each station. We ignored the production of the flowering shoots, which constitute some parts of the *Z. marina* stand in its luxuriant season. When we conducted our measurements, most of the flowering shoots were observed to be beginning to wither. Therefore, we assumed that the production of the flowering shoots was negligible during the period, though the seeds in a spathe could be getting matured.

Production of newly-formed lateral shoots

During the period of the production measurement, active formation and branching of new lateral shoots was observed. In this study, the whole biomass of new lateral shoots, which had branched out from the marked shoots after the pin-hole marking, was assumed to be new production during the period of the measurement. This could be a somewhat overestimation because some parts of the new lateral shoots could have already been produced and existed but were not visible within the sheath of the marked shoots when the marking was performed.

Frequency of new lateral shoot formation in the marked shoots and the mean biomass of the new lateral shoot were recorded. The frequency was applied to the vegetative shoot density of quadrat sampling, and production of newly-formed lateral shoots was estimated on an areal basis.

When the marked shoots were recovered, some marked shoots were observed to have new lateral shoots before branching in their sheaths. When the leaves of these new shoots were visible above the reference pin-hole of the ‘parent’ marked shoots, the weight of visible part of the leaves was measured and included in the leaf production of the parent shoot, but not counted as ‘newly-formed’ leaves.

Environmental characteristics at each station

Water temperature was recorded every 60 minutes at Sts 1, 3, 4, 5 and 7 by data-loggers (HOBO

Pendant temp/light loggers, Onset Computer Corporation) during the period of the production measurement. Decrease of underwater irradiance along the depth was recorded by an underwater radiation sensor and a data-logger (LI-193SA spherical quantum sensor and LI-1400 data-logger, LI-COR) at an offshore site of each *Zostera* bed and extinction coefficient was calculated. Sediment of surface layer up to 10 cm was sampled by sediment cores (4 cm in diameter) at each station. Ignition loss and grain-size composition of the sediments was evaluated by ordinary methods (Oceanographic Society of Japan, 1986).

Statistical analysis

Difference in means of all data of *Z. marina* and its stand structures was tested by non-parametric Welch test, because most of the data sets did not show homogeneity of variance. When significant differences were detected, Games-Howell test was performed as a post-hoc test. All these analyses were conducted by SPSS 20.0 Statistic (IBM). Afterwards, the results of these analyses are mentioned only when it is necessary.

RESULTS

Shoot size, density and biomass

Mean length of vegetative shoots (above-ground part) was significantly different among the seven stations ($p < 0.001$ in Welch test). Shoots in Ikuno-jima Is. were longer than those in the other islands (Fig. 4, Table 1 ①). Within the stations of Ikuno-shima Is., shoots in the inner area of the bed (Sts 1 and 2) were longer than shoots growing near the edge of the bed (St. 3; $p < 0.05$ in Games-Howell test). In Heigun-jima Is. (Sts 5-7), the length of shoots significantly increased in the deeper stations ($p < 0.05$ in Games-Howell test). In general, longer shoots had wider leaves and larger rhizomes (Table 1 ② - ④).

Total shoot density (vegetative + flowering shoots) was also significantly different ($p < 0.001$ in

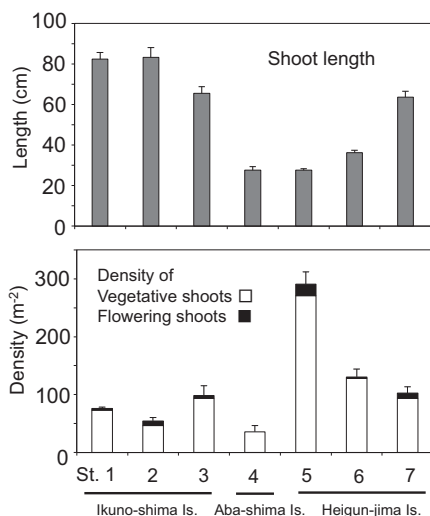


Fig. 4. Mean length of the vegetative shoots (above-ground part) and shoot density of the seven *Z. marina* stands in the three beds in June 2012. Standard errors are shown only in the positive direction and for the total (vegetative + flowering shoots) density in case of the density.

Welch test) and exhibited a reciprocal pattern with the shoot size among the stations except for St. 4 (Fig. 4, Table 1 (5)). The largest shoots at Sts 1 and 2 exhibited a relatively low density (76 and 55 shoots m⁻²). The highest density (291 shoots m⁻²) was observed at St. 5, the shallowest station in Heigun-jima Is, and the densities decreased as the constituent shoots became larger in the deeper stations. An exceptional case was shown in Aba-shima Is. (St. 4), where short young shoots exhibited a relatively low density (36 shoots m⁻²). This was because the *Z. marina* bed at St. 4 was composed of small patches with a scattered distribution pattern, and the quadrat sampling could only cover a patch per a quadrat.

Proportion of flowering shoots in total shoots was quite different among stations, and even among quadrats at a station. Mean proportion of all stations ranged from 0 to 14.6 %. Young shoots at St. 4 did not contain any flowering shoots (Table 1 (6)).

Table 1. Shoot size, stand structures and production of *Z. marina* measured in this study. All data are shown in means with SE

| | St.1 | St.2 | St.3 | St.4 | St.5 | St.6 | St.7 |
|---|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Size of vegetative shoots | | | | | | | |
| ① Vegetative shoot length (cm) | 79.8 ± 3.3 | 85.2 ± 4.8 | 63.5 ± 3.3 | 28.8 ± 1.8 | 26.5 ± 0.7 | 36.4 ± 1.1 | 61.5 ± 2.8 |
| ② Max. leaf width (mm) | 10.6 ± 0.3 | 10.1 ± 0.3 | 8.0 ± 0.2 | 4.9 ± 0.2 | 4.2 ± 0.1 | 5.1 ± 0.1 | 5.9 ± 0.2 |
| ③ Length of 2nd internode (mm) | 16.7 ± 0.7 | 18.7 ± 1.1 | 18.0 ± 0.8 | 14.0 ± 1.2 | 10.3 ± 0.4 | 11.4 ± 0.5 | 14.0 ± 0.7 |
| ④ Diameter of 2nd internode (mm) | 5.7 ± 0.2 | 5.3 ± 0.2 | 4.4 ± 0.1 | 2.7 ± 0.1 | 2.4 ± 0.1 | 3.1 ± 0.1 | 3.3 ± 0.1 |
| Density (n=3) | | | | | | | |
| ⑤ Total density of shoots (m ⁻²) | 76.0 ± 2.3 | 54.7 ± 5.8 | 98.7 ± 16.7 | 36.0 ± 10.6 | 290.7 ± 21.3 | 130.7 ± 13.3 | 102.7 ± 10.9 |
| ⑥ % of flowering shoots | 3.7 | 14.6 | 4.0 | 0 | 6.5 | 1.9 | 9.3 |
| Biomass (n=3) | | | | | | | |
| ⑦ Total biomass ; TB (g DW m ⁻²) | 259.8 ± 43.6 | 174.8 ± 38.2 | 167.0 ± 53.2 | 9.3 ± 2.0 | 83.4 ± 3.4 | 55.1 ± 9.4 | 78.4 ± 9.3 |
| ⑧ Above-ground ; AGB (g DW m ⁻²) | 211.4 ± 33.5 | 148.6 ± 34.2 | 136.8 ± 43.6 | 6.1 ± 1.4 | 53.1 ± 2.8 | 39.7 ± 7.1 | 65.4 ± 7.9 |
| ⑨ % of flowering shoots in AGB | 9.5 | 33.2 | 10.0 | 0 | 13.4 | 3.4 | 16.8 |
| ⑩ Below-ground ; BGB (g DW m ⁻²) | 48.3 ± 10.2 | 26.2 ± 4.8 | 30.3 ± 10.2 | 3.2 ± 0.6 | 30.4 ± 1.9 | 15.4 ± 2.3 | 13.0 ± 2.1 |
| ⑪ Proportion of BGB in TB (%) | 18.3 | 15.3 | 17.6 | 34.4 | 36.4 | 28.1 | 16.6 |
| Data of marked shoots (Initial n= 30) | | | | | | | |
| ⑫ Number of recovered shoots | 29 | 29 | 28 | 28 | 22 | 24 | 27 |
| ⑬ Plastochnone interval (days) | 9.9 | 8.7 | 9.3 | 11.2 | 12.6 | 13.8 | 10.8 |
| ⑭ Leaf number of recovered shoots | 7.4 ± 0.1 | 7.3 ± 0.2 | 7.4 ± 0.2 | 6.2 ± 0.1 | 5.1 ± 0.1 | 5.8 ± 0.1 | 6.2 ± 0.2 |
| ⑮ Daily turn-over of leaves (% d ⁻¹) | 1.3 | 1.6 | 1.5 | 1.4 | 1.6 | 1.3 | 1.5 |
| Production of marked shoots | | | | | | | |
| ⑯ Total (mg DW shoot ⁻¹ d ⁻¹) | 73.2 ± 2.9 | 62.0 ± 3.4 | 50.9 ± 2.0 | 16.7 ± 0.7 | 7.7 ± 0.4 | 12.7 ± 0.6 | 27.4 ± 1.3 |
| ⑰ Above-ground (mg DW shoot ⁻¹ d ⁻¹) | 53.9 ± 2.7 | 44.5 ± 3.0 | 35.1 ± 1.6 | 12.7 ± 0.6 | 5.1 ± 0.3 | 10.2 ± 0.5 | 19.3 ± 1.3 |
| ⑱ Below-ground (mg DW shoot ⁻¹ d ⁻¹) | 19.3 ± 1.1 | 17.4 ± 1.0 | 15.8 ± 0.8 | 3.9 ± 0.3 | 2.6 ± 0.2 | 2.4 ± 0.2 | 7.6 ± 0.5 |
| Areal production (n=3) | | | | | | | |
| ⑲ Total production; TP (g DW m ⁻² d ⁻¹) | 5.37 ± 0.35 | 2.89 ± 0.41 | 5.38 ± 0.66 | 0.60 ± 0.18 | 2.08 ± 0.10 | 1.63 ± 0.15 | 2.56 ± 0.31 |
| ⑳ Above-ground (g DW m ⁻² d ⁻¹) | 3.95 ± 0.26 | 2.08 ± 0.30 | 3.91 ± 0.48 | 0.46 ± 0.14 | 1.38 ± 0.07 | 1.31 ± 0.12 | 1.80 ± 0.22 |
| ㉑ Below-ground; BGP (g DW m ⁻² d ⁻¹) | 1.42 ± 0.09 | 0.81 ± 0.12 | 1.48 ± 0.18 | 0.14 ± 0.04 | 0.70 ± 0.04 | 0.31 ± 0.03 | 0.71 ± 0.09 |
| ㉒ Proportion of BGP in TP (%) | 26.4 | 28.0 | 27.5 | 23.3 | 33.7 | 19.0 | 27.7 |
| ㉓ Daily turn-over of total biomass (% d ⁻¹) | 2.1 | 1.7 | 3.2 | 6.5 | 2.5 | 3.0 | 3.3 |
| New lateral shoot formation | | | | | | | |
| ㉔ New lateral shoot emergence (New lateral shoot shoot ⁻¹ d ⁻¹) | 0.021 | 0.048 | 0.030 | 0.046 | 0.009 | 0.007 | 0.025 |
| ㉕ Production of new lateral shoot ; PNLS (g DW m ⁻² d ⁻¹) (n=3) | 0.43 ± 0.03 | 0.73 ± 0.10 | 0.46 ± 0.06 | 0.15 ± 0.04 | 0.05 ± 0.00 | 0.04 ± 0.00 | 0.22 ± 0.03 |
| ㉖ % of PNLS to areal total production | 8.1 | 25.2 | 8.6 | 25.1 | 2.6 | 2.3 | 8.8 |

The largest biomass among the three islands was observed in Ikuno-shima Is, in which mean total biomass ranged 167.0 - 259.8 g DW m⁻² among Sts 1- 3 (Fig. 5, Table 1 ⑦). However, the total biomass was not significantly different among Sts 1- 3 ($p > 0.05$ in Games-Howell test). Total biomass among Sts 5 - 7 was not also significantly different in Heigun-jima Is. ($p > 0.05$ in Games-Howell test), despite of the significant difference in shoot size and density among them. The biomass was smallest in Aba-shima Is. (St. 4) among all seven stations (Fig. 5, Table 1 ⑦).

Proportion of below-ground biomass to total biomass was also significantly different among stations. The proportions at Sts 4 and 5 were high (34.4 and 36.4 %, respectively) than at other stations. In Heigun-jima, the proportion became lower in the deeper stations, up to 16.6 % at St. 7 (Table 1 ⑩).

Production of the marked shoots

Among thirty shoots marked at each station, 22 - 29 shoots were recovered after 2 weeks (Table 1 ⑫). Heavy grazing on leaves during the measurement period, as in autumn 2011, was not observed at all stations.

Estimated plastochrone intervals ranged between 8.7 - 13.8 days among the seven stations (Table 1 ⑬). Generally, the intervals were slightly shorter (< 10 days) at stations in Ikuno-shima Is. than at the other stations. In Table 1, the number of leaves per shoot which were marked is also shown (Table 1 ⑭). Generally, shoots at stations in Ikuno-shima Is. had more leaves on them than shoots at other stations. Daily turnover rate of leaves was calculated, as:

Daily turnover rate of leaves = $1 / \text{plastochrone interval} / \text{number of leaves} \times 100$
and they ranged 1.3 -1.6 % d⁻¹ which were not largely different among stations (Table 1 ⑮).

Daily production per shoot is apparently dependent on the shoot size. Generally, larger shoots exhibit a larger daily production per shoot (Fig. 6, Table 1 ⑯). The largest production per shoot (73.2

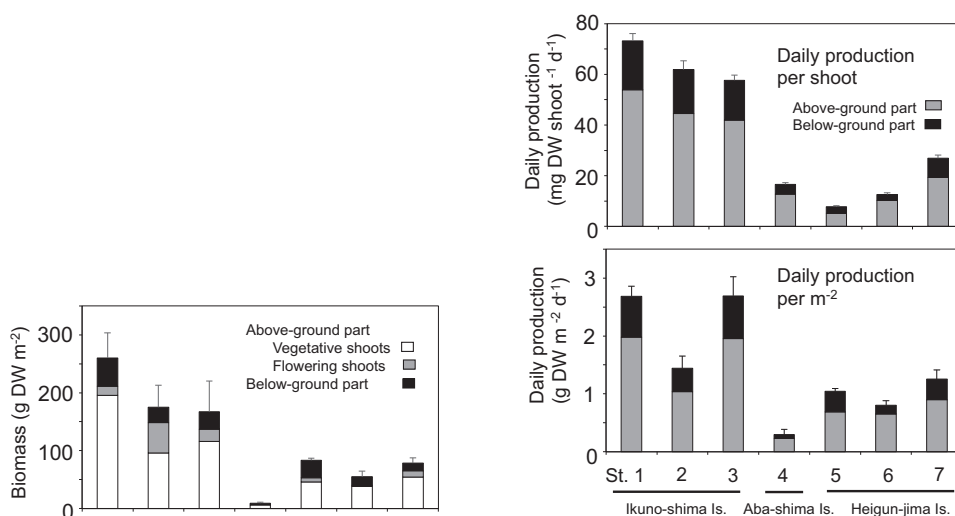


Fig. 5. Mean biomass of the seven *Z. marina* stands in the three beds in June 2012. Standard errors are shown only in the positive direction and for the total (above- + below- ground parts) biomass.

Fig. 6. Mean daily production per shoot and areal production (per m²) of the seven *Z. marina* stands in the three beds in June 2012. Standard errors are shown only in the positive direction and for the total (above- + below- ground parts) production.

mg DW shoot⁻¹ d⁻¹) was observed at St. 1, which was approximately ten times larger than the smallest value (7.7 mg DW shoot⁻¹ d⁻¹) at St. 5.

Areal production (Fig. 6, Table 1 ⑲) was dependent on the vegetative shoot density, and the difference among the stations in the same island was relatively small. In Heigun-jima Is., for example, areal production was not significantly different among Sts 5 - 7 (p>0.05 in Games-Howell test), though production per shoot was different by approximately 4 times between Sts 5 and 7. At St. 4, daily areal production was smallest (0.60 g DW m⁻² d⁻¹) among all stations due to the lowest shoot density. However, daily turnover of biomass (% d⁻¹), which was calculated as:

$$\text{Daily turnover of biomass (\% d}^{-1}\text{)} = \text{daily areal production} / \text{biomass} \times 100,$$

was far larger (6.5 % d⁻¹) at St. 4 than the values (1.7 - 3.3 % d⁻¹) at the other stations (Table 1 ㉓).

Production of newly-formed lateral shoots

New lateral shoot formation on the marked shoots was observed at all stations, but the frequency was different among the stations (Table 1 ㉔). Most active formation was observed at Sts 2 and 4. On the contrary, frequency at Sts 5 and 6 in Heigun-jima Is. was small. At Sts 2 and 4, the daily production of new lateral shoots amounted to 25 % of the daily areal production of vegetative shoots (Table 1 ㉖).

Environmental characteristics at each station

The means (and range) of water temperature during the measurement period at Sts 1, 3, 4, 5 and 7 were 18.3 (17.1-20.6) °C , 18.0 (16.9-19.7) °C , 18.0 (16.9-19.9) °C , 17.4 (16.2-19.9) °C and 17.2 (16.2-18.8) °C , respectively. The mean of the extinction coefficient measured offshore of the three *Z. marina* beds on the days of marking and recovery of the shoots were 0.27 for Ikuno-shima Is., 0.27 for Aba-shima Is. and 0.19 for Heigun-jima Is.

Sediment characteristics were quite different among the three *Z. marina* beds. Sediment at stations of Ikuno-shima Is. was mainly composed of mud (< 63 μ m) and the ignition loss was 8-10 % (Fig. 7). Sediment at Aba-shima Is. and Heigun-jima Is. was coarser and main components were medium and fine sand (125 - 500 μ m). Also, less organic matter was contained (Fig. 7).

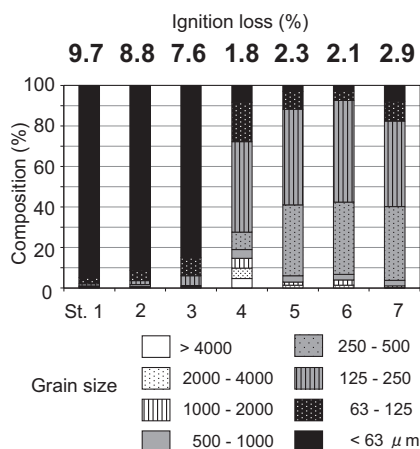


Fig. 7. Grain size composition and ignition loss of the sediments at the seven *Z. marina* stands in the three beds.

DISCUSSION

Biomass and production characteristics of *Z. marina* in the Seto Inland Sea

Biomass and production of seagrass has been measured worldwide, and data distribution pattern and its species-specific or geographic (latitudinal) characteristics were reassessed by Duarte and Chiscano (1999). According to their reassessment, mean maximum biomass and production of *Z. marina* measured worldwide were 298.4 (above-ground) and 149.7 (below-ground) g DW m⁻² for biomass, and 5.2 (above-ground) and 1.7 (below-ground) g DW m⁻² d⁻¹ for production. As the data distribution was skewed, the medians of those data were smaller than the mean values (Duarte and Chiscano, 1999). However, both *Z. marina* biomass and production measured in this study are below the medians in the worldwide data distribution.

In Japan, biomass and, in a less frequency, production of *Z. marina* has also been measured along the geographical distribution of *Z. marina*, from Hokkaido to Kyushu regions. For these values, no clear relationship has been found between the maximum biomass and latitude or geographical location of *Z. marina* populations (Nakaoka and Aioi, 2001). Above-ground biomass of 300-600 g DW m⁻² was reported in many sites, such as Notsuke Bay (Mizushima, 1985) and Akkeshi-ko estuary (Hasegawa *et al.*, 2007) in Hokkaido, Ise Bay on the Pacific coast (Abe *et al.*, 2004) and Maizuru Bay (Douke *et al.*, 2000) on the Japan Sea coast. Above-ground biomass measured in this study was lower than the biomass of those sites, and close to the biomass reported in Nabeta Bay (Mukai *et al.*, 1979) and Odawa Bay (Aioi, 1980) on the Pacific coast and Iida Bay (Taniguchi and Yamada, 1979) on the Japan Sea coast.

Even within the Seto Inland Sea area, biomass measured at our study sites, which are located in the western area of the Seto Inland Sea, were lower than the biomass reported in the eastern Seto Inland Sea. *Z. marina* stand at Shodo-shima Is. in Kagawa Prefecture was reported to have a seasonal maximum biomass of 355.2 g DW m⁻² for the above-ground part and 173.6 g DW m⁻² for the below-ground part (Fujiwara *et al.*, 2009). Also, at Ushimado in Okayama Prefecture, above-ground biomass of 300-500 g DW m⁻² was reported (Azuma and Harada, 1969). Contrary to these sites, biomass reported from the western Seto Inland Sea and eastern area of Bungo Channel, such as Hiroshima Bay (Terawaki *et al.*, 2002; Yoshida *et al.*, 2013a), Yanai Bay (Kawabata *et al.*, 1993; Yoshida *et al.*, 2013a) and the coast of Ehime Prefecture (Yoshida *et al.*, 2013b), rarely reached > 200 g DW m⁻² in total biomass.

Comparing the stand structures between the populations exhibiting high biomass (300-500 g DW m⁻² in above-ground biomass) and the populations in the western Seto Inland Sea, the former populations are composed of larger shoots with higher densities than the latter populations. For example, the modes in the shoot length frequency during the luxuriant season are generally 120 cm < and the shoot densities are 200 m⁻² <, for the *Z. marina* populations with a large biomass (*e.g.*, Mizushima, 1985; Douke *et al.*, 2000; Abe *et al.*, 2004; Fujiwara *et al.*, 2009). Contrary to this, *Z. marina* populations in the western Seto Inland Sea are commonly characterized by relatively lower density and smaller shoots. At present, we are not sure whether these characteristics are due to environmental aspects or biological traits of *Z. marina*, which are endemic to this region. To clarify if these characteristics are regionally specific or not, long-term observations are also needed as *Z. marina* beds generally exhibit large year-to-year fluctuations (Terawaki *et al.*, 2002; Fujiwara *et al.*, 2006).

Comparisons within the stands in this study

The size and stand structures of *Z. marina* were diverse among the stations in this study, and larger

shoots exhibited higher production per shoot than smaller shoots. Leaf turnover rates of shoots were similar among the 7 stands, indicating no relation between leaf turnover and shoot size. Further, plastochrone intervals were rather shorter in large shoots of the bed in Ikuno-shima Is. than small shoots of the other two beds, indicating that leaf productivity is higher in larger shoots.

Though the productivity of the stands of small shoots was not compensated by leaf turnover, it could be compensated by shoot density. For the *Z. marina* bed in Ikuno-shima Is. and Heigun-jima Is., though production per shoot is different, no significant difference in areal production was observed among the stations of each bed. This is prominent in Heigun-jima Is., where the shoot size and density exhibited a clear reciprocal pattern among the stations along the depth gradient. Within this depth range, no light limitation for *Z. marina* production occurred under the extinction coefficient of seawater (0.19) indicating favorable water quality for the growth of *Z. marina* (Abe *et al.*, 2003).

Though significant difference in the areal production was not observed among the stations in each bed, a difference in productivity was still observed between the bed in Ikuno-shima Is. and in Heigun-jima Is. The difference in local environmental conditions between the two beds was prominently shown in sediment characteristics. It was reported that seagrass production in temperate regions is often nitrogen-limited and shoot size and growth of *Z. marina* are promoted in muddy sediments which contain more interstitial nutrients than sandy sediments (Short, 1987). Experimental addition of fertilizer to sediment resulted in an increase in shoot size and biomass of *Zostera* species (Orth, 1977; Udy and Dennison, 1997). It is possible that a difference in nutrient availability, due to the difference in sediment characteristics, could affect the productivity of the two *Z. marina* beds.

However, all of the differences in the stand characteristics could not be explained by the nutrient availability, especially in case of the difference in shoot density. In previous reports (Orth, 1977; Udy and Dennison, 1997), fertilization to the sediment caused shoot density to increase. In general patterns of *Z. marina* beds in the western Seto Inland Sea, stands developed on shallow and sandy beds (as at St. 5 in this study) have larger shoot densities than the stands developed on muddy beds (Yoshida *et al.*, 2013ab). Such stands also exhibit larger relative allocation of biomass to the lower-ground part (Yoshida *et al.*, 2013ab). Also in our study, more production in a relative abundance was allocated to the below-ground part at the stand of St. 5 compared to the other stands (Table 1 ㉔).

Sediment grain size composition generally reflects the hydrodynamic conditions at the habitats. Sediment composed mainly of coarser grains indicates more exposure of the site to currents or wave actions (Oceanographic Society of Japan, 1986), and sandy sediments of *Z. marina* beds in Heigun-jima Is. and Aba-shima Is. indicated severer physical conditions than that of the bed in Ikuno-shima Is. Physical turbulence could also be a limiting factor affecting sustainability and distribution of *Z. marina* beds (Dan *et al.*, 1998; Moriguchi and Takagi, 2005). Shorter shoot size and relatively large below-ground parts could be adaptive under physically turbulent conditions, to relieve the dragging effect and increase an anchoring capacity. It was reported that *Z. marina* growing in the sediment with a high organic content developed long leaves and disproportionately short roots, which easily causes the shoot loss by uprooting (Wicks *et al.*, 2009). Effects of environmental conditions on shoot morphology and stand structures needs further studies to clarify any relationships between them.

Z. marina bed of Aba-shima Is., which is on the way of recovery after the heavy grazing of rabbit fish, exhibited the lowest biomass and production due to its small shoots and low densities. However, its daily turnover of biomass was larger than other stands. This indicates that more resources for growth, such as light and nutrients, are available for each shoot at St. 4 than at other stations, probably due to the

low shoot density. Higher new lateral shoot emergence at St. 4 also supports this idea.

Future perspective

In the Seto Inland Sea, a considerable area of *Z. marina* beds has been lost due to the rapid coastal development and serious water pollution during the period of high economic growth in the 1960's to the early 1970's (Yoshida *et al.*, 2013a). Though recent improvements in water quality have been favorable to its gradual recovery, effective restoration of *Z. marina* beds and their ecological functions is still an urgent issue in the Seto Inland Sea (Terawaki *et al.*, 2005).

Among significant ecological functions of seagrass beds, recent social attention has been focusing on their potential as a long-term carbon sink. That is, seagrass beds, as well as salt marshes and mangroves, accumulate substantial amounts of organic matter of both endogenous and exogenous origins within them and sequester them through burial. It was reported that these vegetated coastal habitats contribute about 50 % of the total burial of organic carbon in global ocean sediments, though they cover only 0.2 % in seafloor (UNEP, 2009).

Our results indicate that the function as a carbon sink could be different among *Z. marina* beds with their ecological characteristics in two ways, *i.e.*, one is the difference in productivity among *Z. marina* beds, and the other is the accumulation efficiency of organic matter in the sediment. These functions are possibly affected by the topographic characteristics of the *Z. marina* beds, *e.g.*, the *Z. marina* bed in Ikuno-shima Is. formed under sheltered conditions with a vast muddy and high organic sediment area is potentially more effective as a carbon sink than the *Z. marina* beds in Heigun-jima Is. and Aba-shima Is.

However, high contribution of the latter two *Z. marina* beds could be possibly found in another important ecological function of *Z. marina* beds, *i.e.*, contribution to fisheries production. As the *Z. marina* beds in Heigun-jima Is. and Aba-shima Is. were formed under an open condition, fish assemblages can easily access and utilize the beds for various ecological usages. In addition, more benthic small animals as preys for fish are available in sandy sediments than in muddy sediments, which could heighten the value of the beds in the fisheries production.

The ecological characteristics of *Z. marina*, such as shoot size, stand structures and production are variable among its beds or stands even within the same proximate sea area. These variations arise from differences in physical conditions accompanied with topographic characteristics of each bed, and diversity in ecological functions of *Z. marina* beds could also be found with the varieties of their ecological and topographic characteristics. Though further studies are needed to prove this idea, it could be an important point to be reflected in the measures of conservation and restoration of *Z. marina* beds.

ACKNOWLEDGEMENT

We express our thanks to Mr. Kiyoshi Suzuki of Heigun Fishermen's Cooperative Association, Mr. Atsushi Kajita, Mr. Shun-ichi Miura and Mr. Koji Manabe of Aquatic Research Inc., for their technical support of our study. This study was partially funded by the project of Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries 'Technology development for circulatory food production systems responsive to climate change'.

REFERENCES

Abe, M., Hashimoto, N., Kurashima, A., Maegawa, M., 2003. Estimation of light requirement for the growth of *Zostera marina* in central Japan. *Fisheries Science* **69**: 890-895.

- Abe, M., Hashimoto, N., Kurashima, A., Maegawa, M., 2004. Structure and seasonal change of the *Zostera marina* population on the coast of Matsunase, Mie Prefecture, central Japan, *Nippon Suisan Gakkaishi* **70**: 523-529. [In Japanese with English abstract].
- Aioi, K., 1980. Seasonal changes in the standing crop of eelgrass (*Zostera marina* L.) in Odawa Bay, central Japan. *Aquatic Botany* **8**: 343-354.
- Azuma, M., Harada, T., 1969. Ecological studies on the significance of *Zostera* region for the biological production of fishes. II. On the seasonal variation of fauna in the *Zostera* region in the Seto Inland Sea. In "A report on development and improvement of fisheries grounds," Okayama Prefectural Fisheries Experimental Station, Okayama. [In Japanese].
- Costanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R. V., Paruelo, J., Raskin, R. G., Sutton, P., van der Belt, M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* **387**: 253-260.
- Dan, A., Moriguchi, A., Mitsunashi, K., Terawaki, T., 1998. Relationship between *Zostera marina* beds and bottom sediments, wave action offshore in Naruto, southern Japan. *Fisheries Engineering* **34**: 299-304. [In Japanese with English abstract].
- Douke, I., Itani, M., Yoshiya M., 2000. Some aspects of eelgrass (*Zostera marina*) communities in Maizuru Bay - I- Monthly variations of density, standing crop and frequency distribution of shoot length-. *Bulletin of Kyoto Institute of Oceanic and Fishery Science* **22**: 22-28. [In Japanese with English abstract].
- Duarte, C. M., Chiscano, C. L., 1999. Seagrass biomass and production: a reassessment. *Aquatic Botany* **65**: 159-174.
- Fujiwara, M., Yamaga, K., Kagawa, T., Suenaga, Y., 2009. Horizontal distribution of seagrass and seasonal change of the *Zostera marina* population off Shodo-shima Island, Kagawa Prefecture, eastern Seto Inland Sea. *Bulletin of Kagawa Prefectural Fisheries Experimental Station* **10**: 9-15. [In Japanese].
- Fujiwara, M., Yamaga, K., Yoshida, G., Terawaki, T., 2006. Long-term changes of eelgrass, *Zostera marina*, by using of artificial seeding behind offshore breakwater. *Fisheries Engineering* **43**: 173-177. [In Japanese with English abstract].
- Gaekle, J. L., Short, F. T., 2002. A plastochrone method for measuring leaf growth in eelgrass, *Zostera marina* L. *Bulletin of Marine Science* **71**: 1237-1246.
- Hasegawa, N., Hori, M., Mukai, H., 2007. Seasonal shifts in seagrass bed primary producers in a cold-temperate estuary: Dynamics of eelgrass *Zostera marina* and associated epiphytic algae. *Aquatic Botany* **86**: 337-345.
- Jacobs, R. P. W. M., 1979. Distribution and aspects of the production and biomass of eelgrass, *Zostera marina* L., at Roscoff, France. *Aquatic Botany* **7**: 151-172.
- Kawabata, T., Kayata, K., Inui, M., Hirayama, K., 1993. An estimation of net production rate of eelgrass *Zostera marina* at Yanai Bay during spring and summer. *Nippon Suisan Gakkaishi* **59**: 455-459. [In Japanese with English abstract].
- Mizushima, T., 1985. Seasonal changes in standing crop and production of eelgrass (*Zostera marina* Linné) in Notsuke Bay, eastern Hokkaido. *Scientific Reports of Hokkaido Fisheries Experimental Station* **27**: 111-118. [In Japanese with English abstract].
- Moriguchi, A., Takagi, N., 2005. The transition of eelgrass-bed off Zushi-ga-hama, Towa-cho, Oshima-gun, Yamaguchi (2001~2003). *Technical Report of National Research Institute of Fisheries Engineering* **27**: 43-60. [In Japanese with English abstract].

- Mukai, H., Aioi, K., Koike, I., Iizumi, H., Ohtsu, M., Hattori, A., 1979. Growth and organic production of eelgrass (*Zostera marina* L.) in temperate waters of the Pacific coast of Japan. I. Growth analysis in spring-summer. *Aquatic Botany* **7**: 47-56.
- Nakaoka, A., Aioi, K., 2001. Ecology of seagrasses *Zostera* spp. (Zosteraceae) in Japanese waters: A review. *Otsuchi Marine Science* **26**: 7-22.
- Oceanographic Society of Japan, 1986. Manual of Coastal Environmental Research (*Engan-Kankyo-Chosa Manual*), *Kosei-sya-kosei-kaku*, Tokyo. p.257. [in Japanese].
- Ort, B. S., Cohen, C. S., Boyer, K. E., Wyllie-Echeverria, S., 2012. Population structure and genetic diversity among eelgrass (*Zostera marina*) beds and depths in San Francisco Bay. *Journal of Heredity* **103**: 533-546.
- Orth, R. J., 1977. Effect of nutrient enrichment on growth of the eelgrass *Zostera marina* in the Chesapeake Bay, Virginia, USA. *Marine Biology* **44**: 187-194.
- Rhode, J. M., Duffy, J. E., 2004. Relationships between bed age, bed size, and genetic structure in Chesapeake Bay (Virginia, USA) eelgrass (*Zostera marina* L.). *Conservation Genetics* **5**: 661-671.
- Sand-Jensen, K., 1975. Biomass, net production and growth dynamics in an eelgrass (*Zostera marina* L.) population in Vellerup Vig, Denmark. *Ophelia* **14**: 185-201.
- Shimabukuro, H., Hori, M., Yoshimitsu, S., Tokunaga, N., Igari, T., Sasaki, K., Nakaoka, M., Kawane, S., Yoshida, G., Hamaguchi, M., 2012. Genetic differentiation of annual *Zostera marina* L. growing in Kagoshima Bay, Kagoshima, Japan based on an analysis using microsatellite markers. *Nippon Suisan Gakkaishi* **78**: 204-211. [In Japanese with English abstract].
- Short, F. T., 1987. Effects of sediment nutrients on seagrasses: Literature review and mesocosm experiment. *Aquatic Botany* **27**: 41-57.
- Short, F. T., Duarte, C. M., 2001. Chapter 8 Methods for the measurement of seagrass growth and production. In "Global Seagrass Research Methods" , eds, Short, F. T., Coles, R. G., Elsevier, Amsterdam : p.155-182.
- Taniguchi, K., Yamada, Y., 1979. Vertical distribution and natural life history of *Zostera marina* Linné and some other species of sea-grass in Iida Bay of the Noto Peninsula on the Honshyu, Japan Sea coast. *Bulletin of Japan Sea Regional Fisheries Research Laboratory* **30**: 111-122.
- Terawaki, T., Shimaya, M., Moriguchi, A., 2005. Excellent examples of eelgrass *Zostera marina* bed restoration continuing along the coast of Seto Inland Sea, Japan. *Fisheries Engineering* **42**: 151-157. [In Japanese with English abstract].
- Terawaki, T., Tamaki, H., Nishimura, M., Yoshikawa, K., Yoshida, G., 2002. Total amount of carbon and nitrogen in *Zostera marina* in Hiroshima Bay, western Seto Inland Sea, Japan. *Bulletin of Fisheries Research Agency* **4**: 25-32. [In Japanese with English abstract].
- Udy, J. M., Dennison, W. C., 1997. Growth and physiological responses of three seagrass species to elevated sediment nutrients in Moreton Bay, Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **217**: 253-277.
- UNEP, 2009. Blue carbon-the role of healthy oceans in binding carbon. Birkeland Trykkeri AS, Norway: p. 75.
- Wicks, E. C., Koch, E. W., O'Neil, J. M., Elliston, K., 2009. Effects of sediment organic content and hydrodynamic conditions on the growth and distribution of *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series* **378**: 71-80.
- Yoshida, G., Tanimoto, T., Aida, S., Kajita, A., Mizutani, H., Omoto, S., Saito, K., Moriguchi, A., Hori, M.,

- Hamaguchi, M., Terawaki, T., 2013a. Ecological traits and their diversities of five *Zostera marina* populations in and around Hiroshima Bay, the Seto Inland Sea, Japan. *Biosphere Science* **52**: 71-86. [In Japanese with English abstract].
- Yoshida, G., Tanimoto, T., Hirata, S., Yamashita, A., Kajita, A., Mizutani, H., Omoto, S., Saitoh, K., Hori, M., Hamaguchi, M., Terawaki, T., 2013b. Community and morphological characteristics of *Zostera marina*, and their diversity along the Ehime prefectural coast, Shikoku Is., Japan. *Algal Resources* **6**: 63-78. [In Japanese with English abstract].

瀬戸内海における株サイズと群落構造の異なるアマモの生産量 —2012年繁茂期の生産量—

吉田吾郎^{1)*}・堀 正和¹⁾・島袋寛盛¹⁾・濱岡秀樹¹⁾・岩崎貞治²⁾

国立研究開発法人 水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所,
〒739-0452 広島県廿日市市丸石2-17-5
広島大学大学院生物圏科学研究科附属瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター
竹原ステーション, 〒725-0024 広島県竹原市港町5-8-1

要 旨 2012年6月に瀬戸内海の3つのアマモ場の、それぞれ異なる株サイズと群落構造を示す計7地点のアマモ群落において生産量を測定、比較した。株あたりの生産量は株サイズに依存し、大きい株が相対的に低い密度で生育する生野島（広島県；安芸灘）のアマモ場で50.0-73.2 mg DW shoot⁻¹ d⁻¹であり、小さい株が密生する平郡島（山口県；伊予灘）の株あたり生産量（7.7-27.4 mg DW shoot⁻¹ d⁻¹）より大きかった。面積あたり生産量において、株あたり生産量の差は株密度により相殺される傾向もみられたが、生野島のアマモ場の生産量（2.89-5.38 g DW m⁻² d⁻¹）の方が平郡島のアマモ場の生産量（1.63-2.56 g DW m⁻² d⁻¹）よりも大きかった。これら2つのアマモ場では底質に大きな相違がみられ、アマモの群落構造や生産量に影響を与えていると考えられた。すなわち、生野島の底質はほとんど泥により構成され有機物含量も高い一方で、平郡島の底質は中砂・細砂を中心に構成されより厳しい波浪環境を反映していた。

2011年秋季のアイゴの食害による消失から回復途上にある阿波島（広島県；安芸灘）のアマモ場では新たに発芽した実生由来の株がパッチ状の群落を作り、株密度も現存量も低かった。調査した群落の中で生産量は最も低かったが（0.60 g DW m⁻² d⁻¹）、その現存量回転率（6.5% d⁻¹）は、他群落（1.7-3.3% d⁻¹）のそれよりも大きかった。

キーワード：アマモ, 現存量, 群落構造, 株密度, 生産量

瀬戸内海産ミズクラゲのポリプクローン系統の確立と特徴

辻田葉摘・黒田理絵・奥村衣澄・吉岡沙弥香・中谷みなみ・小山寛喜・国吉久人*

広島大学大学院生物圏科学研究科
〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

要 旨 ミズクラゲ (*Aurelia* sp.) の生活環の中で、ポリプからストロビラを経てエフィラに形態変化する過程はストロビレーションと呼ばれる。ストロビレーションの分子機構の解明に向けて分子生物学的および生化学的研究を進めるために、瀬戸内海産のミズクラゲからポリプのクローン系統を7株確立した。実験室内でストロビレーションを誘導する条件を検討した結果、これらのクローン系統は、25°C から10°C への低温処理によって32 - 42日でストロビレーションを開始し、indomethacin (25 μ M) の投与によって25°C 条件下で4 - 8日でストロビレーションを開始した。また、短期間だけ低温処理をおこなう飼育実験の結果、ストロビレーションは一旦開始すると低温条件下でなくても正常に進行し完了することが明らかになった。さらに、分子系統解析の結果、今回確立したクローン系統が *Aurelia* sp. 1 (Dawson *et al.*, 2005) であることが示唆された。

キーワード：クローン系統，ストロビレーション，瀬戸内海，分子系統解析，ポリプ，ミズクラゲ

緒 言

刺胞動物ミズクラゲ (*Aurelia* sp.) の生活環は、無性世代 [プラヌラ→ポリプ→ストロビラ] と有性世代 [ストロビラ→エフィラ→クラゲ] を繰り返す。雌の成体クラゲの保育嚢で分裂を繰り返した受精卵は、繊毛を有した楕円形のプラヌラ幼生となって海水中に泳ぎ出し、貝殻や岩などの基質に着生してポリプに変態する。ポリプは小さなイソギンチャクのような形態で、出芽や分裂によって無性的に増殖する。冬期に海水温が低下すると、ポリプは有性世代の前段階であるストロビラ幼生になる (この過程を「ストロビレーション」と呼ぶ)。ストロビラは柱体部に複数の節を持ち、1つ1つの節が盤へと形態変化する (Fig. 2)。さらに盤は1枚ずつ遊離してエフィラ幼生となり、成長して成体のクラゲとなる。

近年、ミズクラゲの大量発生が社会問題になっている (上・上田, 2004)。ミズクラゲの生活環を鑑みると、クラゲの大量発生を制御する上で、ストロビレーションの理解は欠かせない。筆者らは、ストロビレーションの分子機構の解明を目指して研究を進めるにあたり、実験材料としてミズクラゲポリプのクローン系統を確立した。分子生物学的および生化学的研究をおこなう際に、遺伝的背景が多様な野外集団を材料として使うと、データのばらつきや遺伝子・タンパク質の polymorphism によるノイズによって、有意な結果が得られない場合がある。このような混乱を回避するために、多くの実験生物で inbred 系統やクローン系統が樹立され使われている。本論文では、瀬戸内海産のミズクラゲより確立したポリプのクローン系統について記載する。

また、実験室内でストロビレーションを再現するために、各クローン系統についてストロビレーションの誘導条件を検討した。一般に、ミズクラゲポリプのストロビレーションは低温刺激によって誘導されることが知られている (Kroiher *et al.*, 2000 ; Fuchs *et al.*, 2014 ; 高村, 2014)。また、筆者らは indole 化合物の一種 indomethacin がストロビレーションを誘導することを見出している (Kuniyoshi *et al.*, 2012)。それ以外にも、ヨウ化カリウムや過酸化水素水などのいくつかの化学物質がストロビレーション誘導活性を示すことが報告されている (Berking *et al.*, 2005)。クローン系統でこれら諸条件を試し、効率的で再現性の高いストロ

ピレーション誘導系を構築した。さらに、この誘導系を利用して飼育実験をおこない、ストロピレーションの性質を調べた。

ところで、ミズクラゲは世界中の広範囲に分布し、*Aurelia aurita* の単一種として記載されていたが、最近の分子系統学的な分析によって、種レベルで異なる複数の系統群が含まれていることが指摘されている (Dawson *et al.*, 2005)。そこで、本研究で確立したクローン系統について分子系統解析をおこない、*Aurelia* 属各種との系統関係を推定した。

材料と方法

ミズクラゲのポリブクローン系統の確立

瀬戸内海・倉橋島 (34°10'17" N, 132°50'17" E) にて、繁殖期のミズクラゲ (*Aurelia* sp.) の成体クラゲを採集し (2006年9月19日)、雌雄判別した後に、雌クラゲの保育嚢に付着したプラヌラ幼生を新鮮な海水で洗い流すことによって回収した。それぞれの雌クラゲから回収したプラヌラが混ざり合わないよう注意し、個別にプラスチック容器 (ペットボトルなど) に入れて研究室まで運搬した。ポリブクローン系統の確立は Fig. 1 のスキームに従っておこなった。まず、各雌クラゲ由来のプラヌラをシャーレ (直径90 mm × 10 mm、以後9 cm シャーレと呼ぶ) に移し、23 - 25°C にて数日静置した。プラヌラは2 - 3日でシャーレ底面に着生し、ポリブへと変態した。数日間 *Artemia* 幼生をエサとして与えて成長を促した。爪楊枝を使ってポリブをシャーレ底面から静かに剥がし、1匹のポリブを1枚の新しい9 cm シャーレに移した。ポリブがシャーレ底面に付着したことを確認した後、通常飼育によってポリブを無性増殖させた。この段階で、ポリブクローン系統とした。

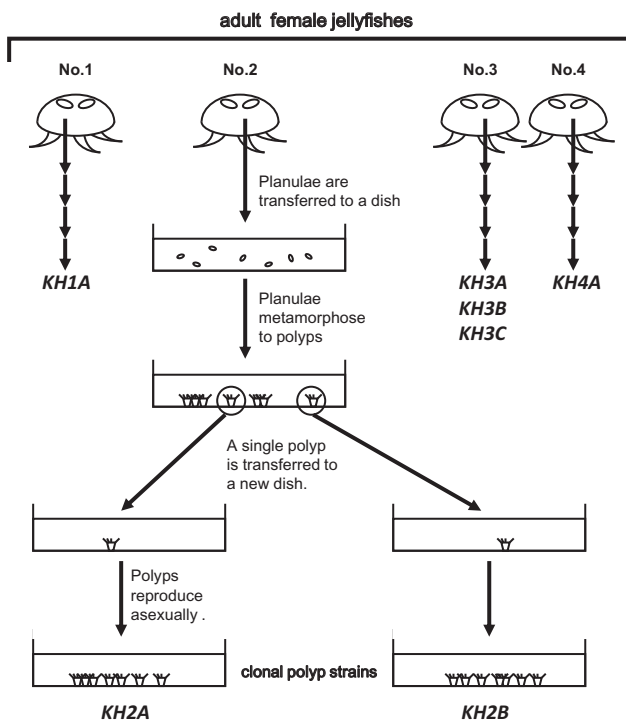


Fig. 1. Scheme for establishing clonal strains of *Aurelia* polyp. Seven clonal polyp strains (KH strains) were established from 4 adult female jellyfish which were collected on the 19th of September, 2006, at Kurahashi Island (34°10'17" N, 132°50'17" E) in the Seto Inland Sea of Japan.

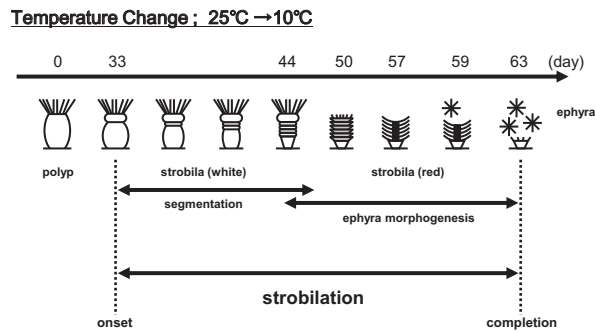


Fig. 2. Schematic view of *Aurelia* strobilation induced by a low-temperature treatment. In this paper, generation of the first constriction is defined as the onset of strobilation, and detachment of all ephyrae is defined as the completion of strobilation. When a polyp from the *KH3B* strain was subjected to a temperature change from 25°C to 10°C, strobilation was initiated on the 33rd day, and completed on the 63rd day.

ポリプの飼育

ポリプは、9 cm シャーレ内で23 - 25°Cにて飼育した。エサには孵化直後の *Artemia* 幼生を使用し、給餌後3 - 5時間で飼育水の交換をおこなった。飼育海水は広島大学大学院生物圏科学研究科附属瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター 竹原ステーションで調製された濾過海水（塩分濃度：約35‰）を使用した。

低温処理によるストロビレーションの誘導

23 - 25°Cにて9 cm シャーレ内で飼育したポリプクローン系統を、飼育海水を交換した後、15°Cまたは10°Cのインキュベーターに移した。低温処理中にも、1週間に1回の頻度で飼育海水の交換をおこなった。海水交換には、あらかじめ15°Cまたは10°Cに冷やした濾過海水を用いた。低温処理後、毎日、実体顕微鏡でポリプを観察し、シャーレ内で初めてストロビラが確認できた日を記録し、ストロビレーション誘導に要した低温処理日数を計算した。低温処理開始後98日経ってもストロビラが確認できなかった場合には、「ストロビレーションせず (no strobilation)」と評価し、低温処理実験を終了した。

indomethacin によるストロビレーションの誘導

23 - 25°Cで飼育したポリプ3個体を、24穴マイクロタイタープレート（TPP製）のウェルに移し、25 μ M indomethacinを含む濾過海水1 mL中で23 - 25°Cにて培養し、14日間観察した。培養開始後、毎日、実体顕微鏡でポリプを観察し、ウェル内で初めてストロビラが確認できた日を記録し、ストロビレーション誘導に要した培養日数を計算した。

飼育実験

以下の飼育実験には、広島大学大学院生物圏科学研究科附属瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター 竹原ステーションで調製された濾過海水を使用した。

(飼育実験 A)

上記「低温処理によるストロビレーションの誘導」の方法に従って、*KH3B* 系統のポリプを低温処理した。低温処理開始後、17日目、21日目、24日目、28日目、31日目、35日目に、それぞれポリプを10匹ずつシャーレから回収し、新しい9 cm シャーレに移して、23 - 25°Cにて培養した。低温処理開始後42日目に相当する日に各シャーレを観察し、ポリプのままの個体とストロビレーションが進行してエフィラを放出した個体の数を記録した。

(飼育実験 B)

上記「低温処理によるストロビレーションの誘導」の方法に従って、*KH1A* 系統のポリプを低温処理した。

低温処理開始後46日目に、ポリプとストロビラ（くびれの数が1個）をそれぞれ10匹以上ずつシャーレから回収し、1匹ずつ24穴マイクロタイタープレート（TPP製）のウェルに移し、23 - 25°Cにて培養した。低温処理開始後56日目に相当する日に各ウェルを観察し、ポリプのままの個体とストロビレーションが進行してエフィラを放出した個体の数を記録した。

分子系統解析

（ゲノム DNA の調製）

KHIA 系統のエフィラ100 mg（約100匹）に、Lysis buffer [8 M Urea, 10 mM Tris-HCl (pH 7.5), 125 mM NaCl, 10 mM EDTA (pH 8.0), 1% SDS] 400 µL を加え、蓋をして激しく攪拌した後、室温で150分静置した。20 mg / mL Proteinase K を20 µL 加え、37°Cで5日間インキュベートした。この間、2日目と4日目に20 mg / mL Proteinase K を20 µL ずつ追加した。エフィラ溶解液の粘性が十分低下したことを確認してから、3 M NaCl を83 µL 加え、転倒混和した後に、フェノール/クロロホルム抽出をおこない、エタノール沈殿によってゲノム DNA を回収した。ゲノム DNA の沈澱を100 µL の TE buffer [10 mM Tris-HCl (pH 7.5), 1 mM EDTA (pH 8.0)] に溶解した。その後、10 mg / mL RNase A を5 µL 加えて37°Cで30分インキュベートし、遠心した後、上清を回収した。得られたゲノム DNA の総量は4.3 µg であった。

（5.8S rDNA 遺伝子の *Internal Transcribed Spacer 1 (ITS-1)* 領域のクローニング）

KHIA 系統のゲノム DNA を鋳型として、5.8S rDNA 遺伝子の *ITS-1* 領域（以後、*ITS-1/5.8S rDNA* と呼ぶ）を PCR 法で増幅した。プライマーとして、Schroth *et al.* (2002) が報告した *Aurelia* 属の *ITS-1/5.8S rDNA* 増幅用プライマーセットと同じ配列のものを用いた。PCR の反応条件は、94°C・3分、[94°C・30秒、53°C・30秒、72°C・1分] ×35サイクル、72°C・7分とした。得られた DNA 断片をプラスミドベクター pBluescript SK (+) の *EcoRV* 部位にサブクローニングし、塩基配列分析をおこなった。塩基配列分析には、広島大学自然科学研究支援開発センター 遺伝子実験部門の Applied Biosystems 3130xl ジェネティックアナライザを使用した。

（分子系統樹の作製）

Clustal X2を用いて、Neighbor - Joining (N - J) 法とブートストラップ法により分子系統樹を作成した。ブートストラップは1000でおこなった。分子系統樹の編集には、編集・表示プログラムの Tree View を用いた。系統樹作成に用いた *ITS-1/5.8S rDNA* の塩基配列は以下のとおりである。

Aurelia aurita (Scandinavia) [AY935206], *Aurelia labiata* (Alaska) [AY935202], *Aurelia limbata* (Japan) [AY935215], *Aurelia* sp. 1 (Miyazu Bay, Japan) [AY935214], *Aurelia* sp. 1 (California) [AY935203], *Aurelia* sp. 2 (Brazil) [AY935204], *Aurelia* sp. 3 (Palau) [AY935209], *Aurelia* sp. 4 (Palau) [AY935208], *Aurelia* sp. 5 (Adriatic Sea) [AY935210], *Aurelia* sp. 6 (Palau) [AY935207], *Aurelia* sp. 7 (Adriatic Sea) [AY935212], *Aurelia* sp. 8 (New Zealand) [AY935218], *Aurelia* sp. 9 (Gulf of Mexico) [AY935216], *Aurelia* sp. 10 (Alaska) [AY935211]

()内は採集地、【 】内は accession number を示す。

結果と考察

ポリブクローン系統の特徴

瀬戸内海・倉橋島（広島県）で採集した雌のミズクラゲ成体4個体のそれぞれからプラヌラを採取し、ポリブクローン系統7株を確立した (Fig. 1)。各系統は以下の規則に従って命名されている。系統名の最初の2文字“KH”は、由来となる母親クラゲの採集地（Kurahashi）を示し、3文字目の番号は母親クラゲの個体番号を示す。同じ母親クラゲから確立した株同士は4文字目のアルファベットで区別する。例えば、*KH2A* と *KH2B* は、ともに雌クラゲ No. 2 を母親とする姉妹関係の系統である。一方、*KH2A* と *KH3A* の場合のように、3文字目の番号が違う株同士は母親クラゲが異なり、血縁関係がほとんどないものとして扱える。

各系統について、ストロビレーションの誘導条件を検討した。ミズクラゲのストロビレーションは、ポリプを低温処理することで誘導できることが知られている (Kroiher *et al.*, 2000 ; Fuchs *et al.*, 2014 ; 高村,

2014)。そこで、各系統のポリプを、25°C → 15°C（温度差：10°C）と25°C → 10°C（温度差：15°C）の2通りの条件で低温処理した（Table 1）。その結果、25°C → 15°C 条件では98日経過してもストロビレーションは誘導されず、25°C → 10°C 条件では32 - 42日でストロビレーションが開始した。その後、25°C → 10°C 条件で同様の実験を繰り返したところ、KH1AとKH3Bが最も短期間（31 - 35日）に再現性良くストロビレーションを開始した。一方、KH2AとKH4Aはストロビレーションが誘導されにくく、42日以上低温処理が必要であった。このように、系統によってストロビレーションの誘導結果が異なるのは、各系統の遺伝的背景の違いによるものと考えられる。

9 cm シャーレを用いたストロビレーションの誘導実験では、低温処理中の飼育海水の交換が必須であった。飼育海水を交換しない場合、ストロビレーションは全く開始しなかった。飼育海水中に老廃物が蓄積したか、あるいはストロビレーションに必要な成分が枯渇したためと考えられる。また、人工海水を用いて同様の実験をおこなった場合、ストロビレーションの開始までの日数はほとんど同じであったが、その後のストロビレーションの進行が、人工海水では1週間程度遅れる傾向を示した。これらの結果を総合して、ストロビレーションの誘導には天然海水（広島大学・竹原ステーションの濾過海水）を用いて、低温処理中にも1週間に1回の頻度で飼育海水を交換することにした。

これまでに報告されているストロビレーションの誘導実験と比較して、今回確立した系統は全般的にストロビレーション誘導に要する日数が長かった。例えば、North Sea 由来のポリプでは20°C → 12°C 条件下17日で（Kroiher *et al.*, 2000）、Roscoff (France) 由来のポリプでは20°C → 10°C 条件下15日で（Fuchs *et al.*, 2014）ストロビレーションが誘導される。同じ瀬戸内海（広島県・向島）由来のポリプでも、20°C → 15°C 条件下11 - 18日でストロビレーションが誘導されたことが報告されている（高村, 2014）。KH系統のストロビレーション誘導の遅さが採集地付近の個体集団の固有の性質かどうかは不明であるが、本研究で採用している誘導条件が最適でない可能性も考えられる。

筆者らは、KH3B系統のポリプに各種化合物を投与するスクリーニング研究をおこない、ストロビレーション誘導物質として indomethacin を見出した（Kuniyoshi *et al.*, 2012）。indomethacin を含む海水中でポリプを培養した場合、低温処理をしなくても、常温下でストロビレーションを誘導することができる。indomethacin によるストロビレーション誘導がKH3B系統に特有の現象である可能性も考えられたので、KH3B以外の他の系統についても indomethacin の効果を調べた（Table 1）。25 μM indomethacin を含む海水中で各系統のポリプを23 - 25°C にて培養した結果、いずれも4 - 8日でストロビレーションを開始した。このことから、indomethacin のストロビレーション誘導活性は、少なくとも瀬戸内海集団のミズクラゲに対して普遍的な効果と考えられる。indomethacin 投与からストロビレーション開始までの日数に注目すると、KH3BとKH1Aが短期間（4 - 5日）で開始したのに対して、KH2A、KH3A、KH4Aは開始が遅かった（6 - 8日）。低温処理の場合でも、KH3BとKH1Aは短期間にストロビレーションを開始し（32 - 34日）、KH2A、KH3A、KH4Aでは開始が遅かった（38 - 42日）。このように、ストロビレーション開始までに要する時間に

Table 1. Strobilation of clonal polyp strains induced by temperature changes or administration of indomethacin.

| Strain | Duration to the onset of strobilation (day) | | |
|--------|---|--------------------------------------|-------------------------|
| | Temperature change (25°C to 15°C) | Temperature change (25°C to 10°C) | Indomethacin (25 μM) |
| KH1A | no strobilation ^{a)} | 34 | 5 |
| KH2A | no strobilation ^{a)} | 42 | 6 |
| KH2B | - ^{b)} | 34 | - ^{b)} |
| KH3A | no strobilation ^{a)} | 38 | 8 |
| KH3B | - ^{b)} | 32 | 4 |
| KH3C | - ^{b)} | 34 | - ^{b)} |
| KH4A | no strobilation a) | 42 | 7 |

^{a)} Polyps did not start strobilation in 98 day.

^{b)} Not tested.

ついて、低温処理の場合と indomethacin 投与の場合との間に相関性が見られることは興味深い。

indomethacin の誘導活性は Roscoff 系統の *Aurelia* ポリプでも確認されている (Fuchs *et al.*, 2014)。さらに、ミズクラゲと同じ鉢虫綱旗口クラゲ目に属する *Chrysaora quinquecirrha* でも、indomethacin によってストロビレーションが誘導されることが報告されている (Helm *et al.*, 2015)。このように、indomethacin が *Aurelia* 系統内だけでなく他種のポリプでもストロビレーション誘導活性を示したことから、少なくとも目レベルの中では、ストロビレーションの分子機構が共通している可能性が高い。

ストロビレーションの性質

クローン系統を用いて、ストロビレーション過程における形態変化を観察した。*KH3B* を 25°C → 10°C の条件で低温処理した場合の一例を Fig. 2 に示す。低温処理開始後 33 日目に触手の直下に 1 つ目のくびれが生じ、それ以後くびれが足盤方向に向かって 1 つずつ増加し、節が形成された。節の形成が足盤部近傍まで進むと、節形成は停止した (44 日目)。節形成の停止と前後して、口丘側の節から順番に赤く色づき、触手の退縮が始まった。それぞれの節はエフィラの形態へと変化していき、濃い赤色を帯び、エフィラの器官である縁弁の形成が確認できた (50 日目)。一方、足盤部はポリプと同様の白色のままで、形態もほとんど変化しなかった。57 日目には、各エフィラの形態がほぼ完成し、遊泳のための拍動運動を始め、59 日目以降ストロビラの先端から順番にエフィラが離れていき、63 日目には全てのエフィラが分離した。全エフィラが分離した後も、足盤部はポリプ形態を維持していた。なお、本論文では、1 つ目のくびれが生じた段階をストロビレーションの開始、全エフィラが分離した段階をストロビレーションの完了と判断した。

同様の実験を何度か繰り返したところ、1 個体のポリプから放出されるエフィラの数を決まっておらず、概ね 6 - 10 匹のエフィラが生じた。また、エフィラ放出後の足盤部を 25°C の通常飼育に戻し、給餌により成長させた後、再度低温処理をおこなうと、正常なストロビレーションが誘導された。例えば、低温処理 91 日目の全エフィラ放出後の足盤部を 25°C に戻し、56 日の通常飼育をおこなった後、再度 25°C → 10°C の低温処理をおこなったところ、49 日目にはストロビラが観察された。2 度目のストロビレーション完了後にも足盤部がポリプ形態のまま残っていたことから、足盤部にはエフィラへの形態変化に抵抗性を示す機構が存在するものと考えられる。

低温処理によるストロビレーション誘導が決定づけられる時期を知るために、低温処理途中のポリプ (*KH3B*) を 25°C に戻す実験をおこなった (飼育実験 A, Fig. 3A)。25°C → 10°C の低温処理開始後、17, 21, 24, 28, 31, 35 日目のそれぞれの時点でポリプ 10 匹ずつを 25°C に戻して培養した。その結果、17, 21, 24 日のサンプルではストロビレーションが起らず、ポリプのままであったが、28 日のサンプルでは 10 匹中 1 匹がストロビレーションを開始し、31, 35 日のサンプルでは全てのポリプがストロビレーションを開始した。以上の結果と、低温処理 35 日程度でストロビレーションを開始すること (*KH3B* の場合) を考え合わせると、開始の 1 週間前から数日前にストロビレーション誘導が決定づけられることが示唆される。

このことは同時に、ストロビレーション開始の時点でエフィラへの発生運命が決定されていることを意味する。このことを確認するために、ストロビレーション開始直後のくびれが 1 個のストロビラを 25°C で培養する実験をおこなった (飼育実験 B, Fig. 3B)。その結果、全てのストロビラ (N = 11) について、25°C 培養下でも正常にストロビレーションが進行し、最終的に全てのエフィラを放出してストロビレーションが完了した。この結果から、ストロビレーションは一旦開始すると、温度に対して非依存的に進行することが明らかとなった。なお、同じ低温処理群の中で、まだストロビレーションを開始していないポリプについても 25°C 培養をおこなったところ、全てのポリプがストロビレーションを開始し、正常に完了した (N = 13)。これは、飼育実験 A から得られた「ストロビレーションが開始数日前に決定づけられる」という考察を補強する結果である。

瀬戸内海産ミズクラゲの分子系統解析

ミズクラゲ *Aurelia aurita* は世界中に広く分布する単一種と考えられていたが、近年の分子系統解析によって、種レベルで異なる系統群を含んでいることが明らかとなり (Dawson *et al.*, 2005)、世界各地の *Aurelia* 属を対象として、*rDNA* の配列を用いた分子系統解析が進められている (Schroth *et al.*, 2002; Dawson *et al.*,

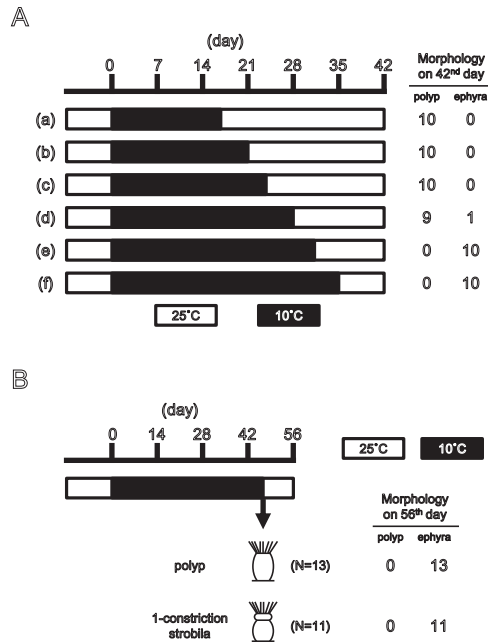


Fig. 3. Time schedules and results of the experiments in which polyps were subjected to short-term low-temperature treatments. (A) Polyps subjected to (a) 17-, (b) 21-, (c) 24-, (d) 28-, (e) 31-, or (f) 35-day low-temperature treatments were cultured at 25 °C. The number of animals that did not start strobilation (polyp) or that completed strobilation (ephyra) among tested polyps (N = 10) is shown on the right. Filled and unfilled bars respectively represent the incubation at 10 °C and 25 °C. (B) Polyps (N = 13) and strobilae with 1 constriction (N = 11) were collected from a dish that had incubated at 10 °C for 46 days, and cultured at 25 °C. The number of animals that did not start strobilation (polyp) or that completed strobilation (ephyra) among tested animals is shown on the right. Filled and unfilled bars respectively represent the incubation at 10 °C and 25 °C.

2005; Fuchs *et al.*, 2014)。そこで、今回確立したクローン系統と *Aurelia* 各種との系統関係を明らかにするために、分子系統解析をおこなった。

KHIA 系統のゲノム DNA を鋳型として PCR をおこない、*ITS-1/5.8S rDNA* をクローニングした。塩基配列分析の結果、431 bp の塩基配列が得られた (accession no.: LC081234)。

KHIA 系統の *ITS-1/5.8S rDNA* の塩基配列と Dawson *et al.* (2005) が報告した *Aurelia* 各種の *ITS-1/5.8S rDNA* の塩基配列を用いて alignment をおこない、これをもとにして分子系統樹を作成した (Fig. 4)。その結果、*KHIA* 系統は *Aurelia* sp. 1 と同じクレードに含まれた。実際、*KHIA* 系統の *ITS-1/5.8S rDNA* の塩基配列は、宮津湾 (日本) およびカリフォルニア州 (米国) で採集された *Aurelia* sp. 1 の配列と、それぞれ 99.1% および 99.4% という高い相同性を示した。*Aurelia* sp. 1 は、世界中に最も広く拡散している系統であり (Dawson *et al.*, 2005)、宮津湾を含めた日本近海に分布するミズクラゲは *Aurelia* sp. 1 と考えられる。瀬戸内海産ミズクラゲ由来の *KHIA* 系統が *Aurelia* sp. 1 に極めて近縁であるという分子系統解析の結果と考え合わせると、瀬戸内海に生息するミズクラゲが *Aurelia* sp. 1 である可能性が高いことが示唆される。

しかしながら、本研究では *ITS-1/5.8S rDNA* の解析結果しか示していないので、確定的な結論を得るためには、他の遺伝子についても分子系統解析をおこない、より詳細に調査を進める必要がある。

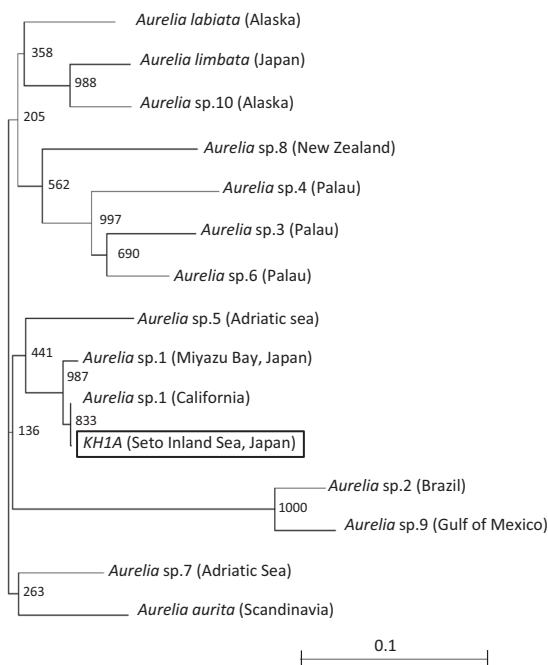


Fig. 4. Phylogenetic tree based on *ITS-1/5.8S rDNA* gene sequence showing relations among *Aurelia* strains. The tree was obtained using the neighbor-joining method (1,000 replicates). The bootstrap values are expressed as the numbers in each branch. Scale bar represents 0.1 substitutions per site. The *KHIA* strain was classified together with strains of *Aurelia* sp. 1 collected at Miyazu Bay (Japan) and California (USA).

総 括

瀬戸内海に生息するミズクラゲより、7株のポリブクローン系統（*KH* 系統）を確立した。本論文では、これらのクローン系統の出自を明記し、それぞれについてストロビレーションに関する性質を示した。また、分子系統学的には *Aurelia* sp. 1 (Dawson *et al.*, 2005) 由来のクローン系統であることが示唆された。現在、筆者らの研究室では、増殖・成長が安定していて、ストロビレーション過程の再現性が高い *KHIA* と *KH3B* を標準系統として研究に使用している。

クローン系統は遺伝的背景が単一の集団であるので、遺伝子の polymorphism が少なく、分子生物学・生化学的研究を進める上で極めて有用である。その反面、クローン系統は集団の中の特定の遺伝型のみを抽出しているため、標準的な遺伝型から逸脱した異端である可能性もあり、クローン系統で得られた知見が集団全体に共通する性質を反映していない危険性もある。このことを念頭に置いて、ある系統で得られた結果が別の系統でも再現するか確認することが重要であると考えられる。

謝 辞

本研究を始めるにあたり、ミズクラゲポリブクの飼育について多くのアドバイスを頂いた広島大学大学院生物圏科学研究科 上真一博士、河原正人博士、高尾真理子氏に深く感謝するとともに厚く御礼申し上げます。

また、ポリブクの飼育や実験には、広島大学大学院生物圏科学研究科附属瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター 竹原ステーションで調製された濾過海水を使用した。塩基配列分析には、広島大学自然科学研究

支援開発センター 遺伝子実験部門の Applied Biosystems 3130xl ジェネティックアナライザを使用した。この場を借りて御礼申し上げる。

本研究は、平成20年度広島大学後援会・教育研究一般助成および平成20年度広島大学大学院生物圏科学研究科・研究科長裁量経費研究助成の支援のもとで実施された。

引用文献

- Berking, S., Czech, N., Gerharz, M., Herrmann, K., Hoffmann, U., Raifer, H., Sekul, G., Siefker, B., Sommerei, A., Vedder, F. 2005. A newly discovered oxidant defence system and its involvement in the development of *Aurelia aurita* (Scyphozoa, Cnidaria): reactive oxygen species and elemental iodine control medusa formation. *The International Journal of Developmental Biology* **49**: 969-976.
- Dawson, M., Gupta, A., England, M. 2005. Coupled biophysical global ocean model and molecular genetic analysis identify multiple introductions of cryptogenic species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 11968-11973.
- Fuchs, B., Wang, W., Graspentner, S., Li, Y., Insua, S., Herbst, EM., Dirksen, P., Böhm, AM., Hemmrich, G., Sommer, F., Domazet-Lošo, T., Klostermeier, UC., Anton-Erxleben, F., Rosenstiel, P., Bosch, TC., Khalturin, K. 2014. Regulation of Polyp-to-Jellyfish Transition in *Aurelia aurita*. *Current Biology* **24**: 263-273.
- Helm, RR., Tiozzo, S., Lilley, MK., Lombard, F., Dunn, CW. 2015. Comparative muscle development of scyphozoan jellyfish with simple and complex life cycles. *EvoDevo* **6**: 11
- Kroiher, M., Siefker, B., Berking, S. 2000. Induction of segmentation in polyps of *Aurelia aurita* (Scyphozoa, Cnidaria) into medusae and formation of mirror-image medusa Anlagen. *The International Journal of Developmental Biology* **44**: 485-490.
- Kuniyoshi, H., Okumura, I., Kuroda, R., Tsujita, N., Arakawa, K., Shoji, J., Saito, T., Osada, H. 2012. Indomethacin induction of metamorphosis from the asexual stage to sexual stage in the moon jellyfish, *Aurelia aurita*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **76**: 1397-1400.
- Schroth, W., Jarms, G., Streit, B., Schierwater, B. 2002. Speciation and phylogeography in the cosmopolitan marine moon jelly, *Aurelia* sp. *BMC Evolutionary Biology* **2**: 1.
- 高村克美. 2014. 発生研究のモデル動物としてのミズクラゲの有用性. *福山大学生命工学部年報* **13**: 37-53.
- 上真一・上田有香. 2004. 瀬戸内海におけるクラゲ類の出現動向と漁業被害の実態. *水産海洋研究* **68**: 9-19

Characterization of Clonal Polyp Strains Established from *Aurelia* sp. Inhabiting the Seto Inland Sea of Japan

Natsumi TSUJITA, Rie KURODA, Izumi OKUMURA, Sayaka YOSHIOKA, Minami NAKATANI,
Hiroki KOYAMA and Hisato KUNIYOSHI

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan*

Abstract In the life cycle of *Aurelia* sp., the transition from polyp to strobila/ephyra is called “strobilation”. To study the molecular mechanisms of strobilation with molecular biological and biochemical approaches, we established 7 clonal polyp strains from *Aurelia* sp. inhabiting the Seto Inland Sea of Japan. In laboratory condition, the clonal strains started strobilation in 32 - 42 days by a temperature change from 25°C to 10°C, or in 4 - 8 days at 25°C by administration of indomethacin (25 µM). The experiments of short-term low-temperature treatments revealed that strobilation proceeded to the end independently of temperature after strobilation had been initiated. Further, molecular phylogenetic analysis suggested that the clonal strains could be *Aurelia* sp. 1 (Dawson *et al.*, 2005).

keywords: *Aurelia* sp., clonal strain, molecular phylogenetic analysis, polyp, strobilation, the Seto Inland Sea

瀬戸内海から採集されたカワムラサザナミガイ (軟体動物門, 二枚貝綱, サザナミガイ科)

倉持敦子¹⁾・倉持卓司²⁾・厚井晶子³⁾・長沼 毅^{3)*}

¹⁾ 〒240-0104 神奈川県横須賀市芦名2-6-3-504

²⁾ 葉山しおさい博物館, 〒240-0111 神奈川県三浦郡葉山町一色2123-1

³⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

要 旨 カワムラサザナミガイ *Lyonsia kawamurai* Habe, 1952が[§], 瀬戸内海より採集された。本種の採集記録は少なく, タイプ産地の相模湾のほか, 紀伊半島, 若狭湾と新潟県からの報告があるのみである。瀬戸内海からの本種の採集は初記録であることから新たな分布記録として報告する。
キーワード: カワムラサザナミガイ, 軟体動物, 二枚貝綱, サザナミガイ科, 瀬戸内海

諸 言

カワムラサザナミガイ *Lyonsia kawamurai* Habe, 1952は, 相模湾をタイプ産地として記載されたサザナミガイ科の一種である (Habe, 1952)。本種の採集記録は少なく, これまでに相模湾 (Habe, 1952; Kuroda *et al.*, 1971; Okutani, 2006) のほか, 紀伊半島, 若狭湾, 新潟県下越および中越海域 (北村・阿部, 2001) から報告されているにすぎない。筆者らは本種をこれまで記録のなかった瀬戸内海より採集したので, 新たな分布記録として報告する。

検討試料

サザナミガイ属 *Lyonsia* Turton, 1822

カワムラサザナミガイ *Lyonsia kawamurai* Habe, 1952 (Fig. 1)

4個体, いずれもドレッジにて採集

産地: 瀬戸内海 安芸灘 水深42.5m 2個体 (No. 1: L (殻長)=18.6 mm, H (殻高)=11.4 mm, B (殻幅)=5.8 mm, No. 2: L=15.6 mm, H=10.5 mm, B=5.3 mm) (生貝),

芸予瀬戸 水深26.7m 2個体 (No. 3: L=17.6 mm, H=12.3 mm, B=5.8 mm; No.4: L=19.1 mm, H=13.3 mm, B=6.6 mm) (生貝)

記 載

殻は楕円型で前縁は丸く, 後方へ向かいせばまりつつ長く伸びる。後縁は長く, 後端部は截断状になる。左右の殻は密着せず, 後端部で狭く長楕円形に開く。殻頂はやや前方に位置し, 後端部から61%になる。殻質は薄く脆い。殻表は半透明な銀白色。淡黄色の殻皮をもつ。殻表に細くて弱い多くの放射肋がある。生時には, この放射肋に沿って多数の砂粒を付着させ全表面を覆っている。殻内面は, 真珠光沢のある白色。殻頂のやや後ろに靱帯と弾帯とが内在する。左右両殻は, 白色の石灰質化した殻帯で覆われてつながる。鋏歯はない。套線は浅く湾入する。

比 較

これまでに日本周辺海域からサザナミガイ属 (*Lyonsia*) の種は、カワムラサザナミガイ、サザナミガイ *Lyonsia ventricosa* Gould, 1861, シンテイサザナミガイ *L. praetenuis* Dunker, 1882の3種が報告されている (Habe, 1981 ; Higo *et. al*, 1999など) (Fig. 2)。

Habe (1952) は、相模湾より採集された殻長13.1mm, 殻高10.2mmの個体をもとにカワムラサザナミガイを記載した。タイプ標本に比べ、瀬戸内海から採集された個体は、いずれも殻長に対する殻高の高さが若

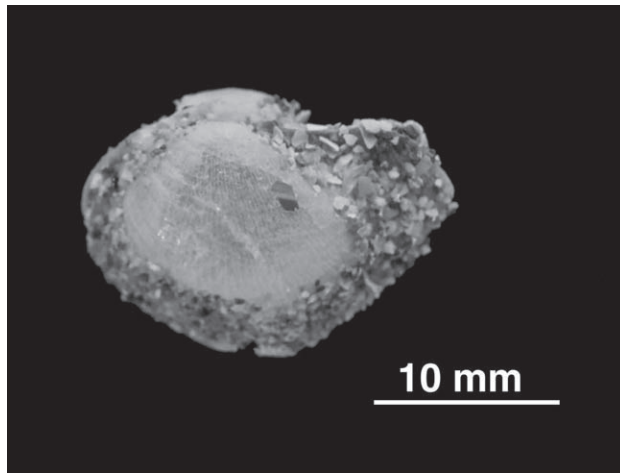


Fig. 1. *Lyonsia kawamurai* Habe, 1952 collected from the Seto Inland Sea.

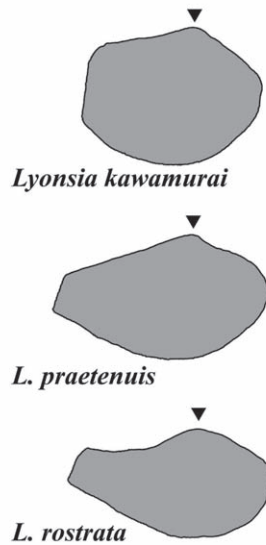


Fig. 2. Comparison of the shell forms of the specimens belonging to the genus *Lyonsia* that have been reported from Japanese waters. The filled-inverted triangle (▼) shows the umbo of the shell. (based on the type specimens illustrated in Lishike, 1874, Dunker, 1882, and Habe, 1952.)

干低い。

本種に類似するサザナミガイの殻は長円型で、前縁は丸い。後方へ向かい長く伸び嘴状になる。後縁はカワムラサザナミガイに比べ短く、後端部は裁断状になる。殻表面の肋は、後端部に多くなる。殻頂は前方に位置し、殻後端から約65%の位置する。後縁背面は曲線的で、後端部で狭くなることで異なる (Gould, 1861)。

シンテイサザナミガイの殻は楕円型で、前縁は丸い。後方へ向かい長く伸びるが嘴状にならない。殻頂は前方に位置し、殻後端から約66%に位置する。後縁背面が直線的で後端部は裁断状になることでカワムラサザナミガイやサザナミガイと異なる (Dunker, 1882)。シンテイサザナミガイは、Habe (1981) により和歌山県南部沖、水深200mをタイプ産地として記載された *Lyonsia tanakai* Habe, 1981 に対して提唱された和名であるが、Huber (2010) は、*L. tanakai* を、*L. praetenuis* のシノニムとしている。本報告では Huber (2010) の分類に準じ、シンテイサザナミガイの学名として *L. praetenuis* を用いる。

考 察

カワムラサザナミガイの記録は、タイプ産地である相模湾 (Habe, 1952) の他には、太平洋岸では紀伊半島、日本海沿岸域では能登半島沖、若狭湾と新潟県下越および中越海域 (Habe, 1952; Habe, 1981; 北村・阿部, 2001) から報告されているにすぎない。これまでに瀬戸内海からの記録はない (稲葉, 1988など)。

本種が採集された海域は、安芸津灘の水深約42mと芸予瀬戸の水深約27mの地点で、いずれもドレッジによる採集である。底質はそれぞれ礫混じりの砂、やや泥がちな砂であった。同時に採集された軟体動物は、安芸津灘では、アワジチヒロ *Volachlamys hirasei* (Bavay, 1904)、ナミマガシワ *Anomia chinensis* Philippi, 1849、スダレモシオ *Nipponocrassatella nana* (Adams & Reeve, 1850)、ホクロガイ *Oxyperas bernardi* (Pilsbry, 1904)、クチベニデ *Corbula venusta* Gould, 1861の5種、芸予瀬戸では、シマメノウフネガイ *Crepidula onyx* G. B. Sowerby I, 1824、アラレガイ *Nassarius conoidalis* (Deshayes, 1832)、マルミミエガイ *Didimacarc tenebrica* (Reeve, 1844)、ヤマホトトギス *Arcuatula japonica* (Dunker, 1857)、スダレモシオ、ワカミルガイ *Mactrotoma angulifera* (Reeve, 1854)、ユウシオガイ *Moerella rutila* (Dunker, 1860)、バラフマテ *Solen roseomaculatus* Pilsbry, 1901、クチベニデの9種が記録された。

本種のタイプ産地は相模湾の水深60-70mであるとされている (Kuroda *et al.*, 1971)。これは、今回の採集地点よりやや深いが、相模湾における浅海帯から漸深海帯の二枚貝の分布について報告した Okutani (2006) は、本種が水深100m以浅、およそ10-50mの砂または泥混じりの砂地に生息することを報告しており、筆者らの調査結果と一致する。また、Okutani (2006) は、カワムラサザナミガイと近似種であるサザナミガイが同所には生息しないことを報告している。今回の調査でも、カワムラサザナミガイが採集された海域からはサザナミガイは記録されず、両種は棲み分けをしている可能性が示唆される。

謝 辞

試料採集にご協力いただいた広島大学生物生産学部付属練習船豊潮丸の船長中口和光氏をはじめ船員各位、広島大学大学院生物圏科学研究科の西脇 瞳氏、Merry Sailonga Faluaburu 氏、谷口良太氏、村中 恭氏の各氏に感謝申し上げます。

引用文献

- Dunker, G. 1882. Index Molluscorum Maris Japonici Conscriptus et Tabulis Iconum XVI Illustratus. Novitates Conchologicae. Abbildung und Beschreibung Neuer Conchylien Supplement VII. T. Fischer, Cassel, vii + 301 pp., 16 pls.
- Gould, A. A. 1861. Descriptions of shells collected by the North Pacific Exploring Expedition (continued).. Proceedings of the Boston Society of Natural History. Vol. 8: 14-40.

- Habe, T. 1952. Lyonsiidae, Poromyidae, Arcticidae and Gaimardiidae in Japan. Illustrated Catalogue of Japanese Shells. **1**(21): 153-160.
- Habe, T. 1981. A catalogue of molluscs of Wakayama Prefecture, The Province of Kii. 1. Bivalvia, Scaphopoda and Cephalopoda. Publications of the Seto Marine Biological Laboratory 7: xx + 301 pp.
- Huber, M. 2010. Compendium of bivalves. A full-color guide to 3,300 of the world's marine bivalves. A status on Bivalvia after 250 years of research. Hackenheim: ConchBooks. 901 pp.
- Higo, S., Callomon, P., Goto, Y., 1999. Catalogue and bibliography of the marine shell-bearing Mollusca of Japan. Elle scientific publications, Osaka : 749 p.
- 稲葉明彦, 1988. 増補改訂 瀬戸内海の生物相 II. 広島大学向島臨海実験所, 広島 : 406 p.
- Kuroda, T., T. Habe and Oyama K. 1971. The Sea Shells of Sagami Bay. Collected by His Majesty the Emperor of Japan. 741 pp. (Japanese part) 121pls. 489pp. (English part) + 51 pp. (index). Maruzen Co. Ltd., Tokyo.
- 北村晃寿・阿部和生. 2001. 日本列島沿いの日本海における二枚貝類の分布リスト. 静岡大学地球科学研究報告. **28** : 83-137.
- Okutani, T. 2006. Protobranchia and Anomalodesmata (Mollusca: Bivalvia) Collected in Shelf, Slope and Bathyal Zones in Sagami Bay, 2002-2004. Mem. Natn. Sci. Mus., Tokyo, (40) 295-306.

**Record of *Lyonsia kawamurai* Habe, 1952 collected from the Seto Inland Sea
(Mollusca, Bivalvia, Lyonsiidae)**

Atsuko KURAMOCHI¹⁾, Takashi KURAMOCHI²⁾, Akiko KOI³⁾, and Takeshi NAGANUMA³⁾

2-6-3-504 Ashina, Yokosuka, Kanagawa, 240-0104, Japan

Hayama Shiosai Museum, 2123-1 Isshiki, Hayama, Kanagawa, 240-0111, Japan

³⁾ Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University 1-4-4 Kagamiyama,
Higashi-Hiroshima, 739-8528, Japan

Abstract Specimens of *Lyonsia kawamurai* Habe, 1952 were collected from the Seto Inland Sea. The archived occurrences of this species have been recorded so far in Sagami Bay (type locality), Wakasa Bay, and off-Niigata. We hereby report that additional specimens were newly collected from the Seto Inland Sea.

Key words: *Lyonsia kawamurai* Habe, 1952, Mollusca, Bivalvia, Lyonsiidae, Seto Inland Sea

瀬戸内海より採集されたナマコ類 (棘皮動物門, ナマコ綱, 樹手目) の記録

倉持卓司¹⁾・倉持敦子²⁾・厚井晶子³⁾・長沼 毅³⁾

¹⁾ 葉山しおさい博物館, 〒240-0111 神奈川県三浦郡葉山町一色2123-1

²⁾ 〒240-0104 神奈川県横須賀市芦名2-6-3-504

³⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

要 旨 ヤマトゴカクナマコ *Pentacta nipponensis* (Clark, 1938) およびグミ *Pseudocnus echinatus* (von Marenzeller, 1881) を瀬戸内海芸予瀬戸および安芸津灘より採集した。これらの種は、これまでに瀬戸内海からの採集記録はなく、本報告は、この海域からの本種の採集初記録となる。

キーワード：ヤマトゴカクナマコ, グミ, 瀬戸内海, 樹手目

諸 言

瀬戸内海に生息するナマコ類は、これまでに稲葉 (1988) および倉持ほか (2013) により、15種が記録されている。このうち瀬戸内海から記録されている樹手目に属するナマコはゴカクキンコ *Plesiocolochirus australis* (Ludwig, 1875), イシコ *Eupentacta quinquesemita* (Selenka, 1867), ムラサキグミモドキ *Afroccumis africana* (Semper, 1867), グミモドキ *Phyllophorus (Phyllothuria) hypsipyrge* (von Marenzeller, 1881), モグラナマコ *Pentadactyla japonica* (Marenzeller von, 1881), ドロナマコ *Thyonidium diomedea* (Ohshima, 1915) の7種類である (稲葉, 1988; 倉持ら, 2013)。

本報告では、新たに瀬戸内海より採集された樹手目のナマコ2種を報告する。

ヤマトゴカクナマコ

Pentacta nipponensis Clark, 1938 ヤマトゴカクナマコ (和名新称)

検討標本 2個体

産地 瀬戸内海 芸予瀬戸 水深54 m (2015年4月7日 ドレッジで採集)

記 載

体長15.0mm および 28.9mm。体型は五角柱状 (Fig. 1. 1a) で、口辺は5弁に突出する。皮膚は著しく厚く固い。体色は褐色。触手は10本で腹側の2本がやや短い。管足は腹側の3歩足帯に3列でならび、背面の2歩足帯には円錐形の疣足がある。腹面にも疣足は若干みられる。骨片は籠状骨片, 釘状骨片, 皿型骨片, 穿孔板骨片, 管足支持骨片の5型をもつ。釘状骨片は、周縁に8つの瘤状突起を均等にもち、4つの孔をもつ (Fig. 1. 1b-1e)。皿型骨片は、釘状骨片に比べ小さい (Fig. 1. 1h)。不整形な籠状骨片はよく発達した中空体部をもつ (Fig. 1. 1f)。管足支持骨片は、やや弓なりに曲がり、両端部と中央部にそれぞれ複数の小さな孔をもつものと (Fig. 1. 1i), 平板状で孔のみをもつものがある (Fig. 1. 1g)。石灰環はよく発達し後端は著しく伸張するがモザイク状にはならない。ポーリ氏嚢は1個。石管は1個。

比 較

外部形体の類似するイシコ *Eupentacta quinquesemita* (Selenka, 1867) は、従来日本周辺海域より記録されていたイシコにあてられていた Théel (1886) により記載された *Cucumaria chronhjelmi* Théel, 1886は、Selenka (1867) より記載された *Eupentacta quinquesemita* (Selenka, 1867) のシノニムと考えられる。これは、体型は五角柱状、白色の薄いが著しく固い皮膚をもつ。触手は10本で腹側の2本がやや短い。管足はいずれも長く、各歩足帯に2-3列で並ぶ。鉤状骨片は、4つの孔と4柱の低い凸部をもつ。不整形な籠状骨片はよく発達した中空体部をもつ。管足支持骨片は、ほぼ直線的で両端部に大きな孔と不均一に前面に大きな異なる孔をもつ。

イシコは石灰環がよく発達し長い後方突起をもつが、モザイク状にはならないことでヤマトゴクナマコと区別される。また、Marenzeller (1881) により日本と中国をタイプ産地として記載された、*Plesiocolochirus armatus* (Marenzeller, 1881) は、本種に類似する鉤状骨片をもつが、ほぼ五角形の整った型をもつ籠状骨片の中空体が発達しないことで異なる。Ludwig (1875) によりオーストラリア・クイーンズランド沖をタイプ産地として記載されたゴクナマコ *Plesiocolochirus australis* (Ludwig, 1875) は、発達した悪い籠状骨片をもち、管足支持骨片は、ほぼ直線的で両端部に小さな孔と中央部に4つの大きな孔をもつことで異なる。

グ ミ

分 布

本種は原記載のタイプ産地である相模湾三崎沖、および渤海から記録されている (Clark, 1938; Liao, 1997)。

Pseudocnus echinatus (von Marenzeller, 1881) グミ

検討標本 3個体

産地 瀬戸内海 安芸津灘 水深64-58m (2015年4月7日 ドレッジで採集)

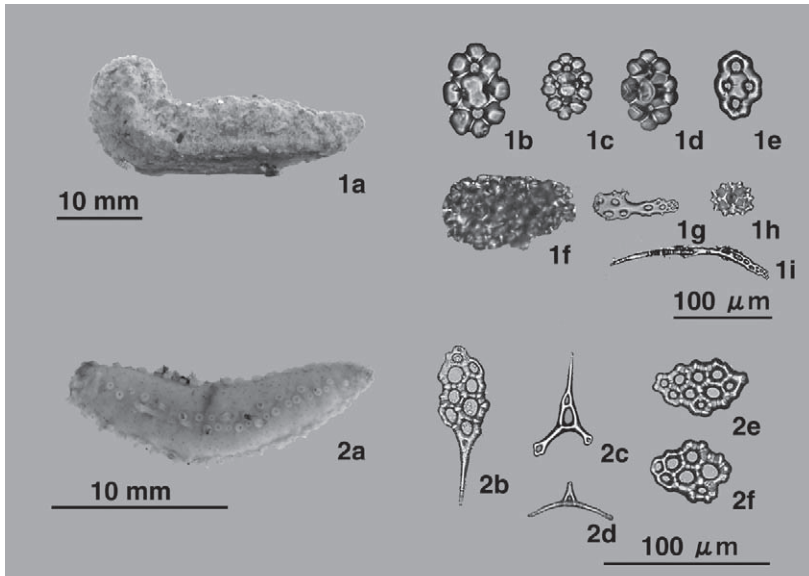


Fig. 1. Sea cucumber specimens collected from the Seto Inland Sea. 1a-1i. *Pentacta nipponensis* Clark, 1938, 1a. Ventral view, 1b-1e. Button-like ossicle, 1f. Cage-like ossicle, 1g. Tube foot-supportive ossicle, 1h. Dish-shaped ossicle 1i. Tube foot-supportive ossicle. 2a-2f. *Pseudocnus echinatus* (von Marenzeller, 1881), 2a. Ventral view, 2b. Club-like ossicle, 2c-2d. Tower-like ossicle, 2e-2f. Plate ossicle.

記 載

体長16.6mm, 18.8mm および 21.5mm。体型は柱状 (Fig. 1. 2a)。皮膚は薄い。体色は赤みを帯びた肌色で、褐色の斑紋をもつ。触手は10本、腹側の1対は短い。管足は歩足帯に2列でならぶ。骨片は一端が柄状に長く突出する棍棒状有疣骨片 (Fig. 1. 2b) と、多数の孔をもつ穿孔板骨片 (Fig. 1. 2e-2f) からなる。支持骨片は、2つの柱をもつ2段の錐型の槽状になり、底面端部に1つの孔をもつ (Fig. 1. 2c) ものと、2つの柱をもつ1段の錐型の槽状のものがある (Fig. 1. 2d)。単純な筒状の石灰環をもつ。ポーリ氏嚢は1個。

比 較

形態的に類似する *Pseudocnus spinosus* (Ohshima, 1915) は、本種に類似の棍棒状有疣骨片をもつが突出する柄状部の先端部が2叉に分かれることで異なる (Ohshima, 1915)。

分 布

本種は原記載のタイプ産地である東京湾および相模湾、伊勢湾、有明海、玄界灘、中国福建省南部から記録されている (Liao, 1997; 杉野ら, 2001)。

備 考

グミは、玄界灘などで大量に発生し、底引網などに甚大な漁業被害を及ぼすことが報告されている (杉野ら, 2001)。

謝 辞

試料採集にあたりご協力いただいた広島大学生物生産学部付属練習船豊潮丸の船長中口和光氏をはじめ船員各位、広島大学大学院生物圏科学研究科の西脇 瞳氏、Merry Sailonga Faluaburu 氏、谷口良太氏、村中 恭氏、氏に感謝申し上げます。

引用文献

- Clark H. L., 1938. Echinoderms from Australia, an account of collections made in 1929 and 1932. Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College. 55: 1-597 + 28 plates.
- 稲葉明彦, 1988. 増補改訂 瀬戸内海の生物相 II. 広島大学向島臨海実験所, 広島: 406 pp.
- 倉持卓司・厚井晶子・長沼 毅, 2013. 瀬戸内海から採集されたドロナマコ (棘皮動物門, 樹手目, グミモドキ科). *生物圏科学*. **52**: 51-54.
- Ludwig, H. L., 1875. Beitrage zur Kenntniss der Holothurien. Arbeiten aus dem zoolog. zootom. Institut in Würzburg 2 (2): 77-120, pl. 6-7.
- Liao Y. L., 1997. Fauna Sinica: phylum Echinodermata, class Holothuroidea. Science Press, Beijing, China, 334 pp.
- Ohshima H., 1915. Report on the holothurians collected by the United States Fisheries Steamer Albatross in the North-western Pacific during the summer of 1906. Washington D.C. Smithsonian Inst. Nation. Mus. Proc. 48: 213-291.
- Selenka E., 1867. Beitrage zur Anatomie und Systematik der Holothurien. Der Philosophischen Facultat zu Göttingen in December 1866, als Dissertation vorgelegt.: pp. 291-374.
- 杉野浩二郎・二島賢二・吉田幹英・早川真奈美, 2001, グミの生態に関する研究 (1) 夏眠行動と発生に関するいくつかの知見. *福岡県水産海洋技術センター研究報告*, **11**: 71-75.
- Théel H., 1886. Report on the Holothuroidea dredged by H.M.S. 'Challenger' during the years 1873-76. Chall. Rep. Zool. No. xxxix: 290 pp.

New records of sea cucumbers collected from the Seto Inland Sea (Echinodermata, Holothuria, Dendrochirotida)

Takashi KURAMOCHI¹⁾, Atsuko KURAMOCHI²⁾, Akiko KOI³⁾, and Takeshi NAGANUMA³⁾

¹⁾Hayama Shiosai Museum, 2123-1 Isshiki, Hayama, Kanagawa, 240-0111, Japan

²⁾2-6-3-504 Ashina, Yokosuka, Kanagawa, 240-0104, Japan

³⁾Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University 1-4-4 Kagamiyama,
Higashi-Hiroshima, 739-8528, Japan

Abstract Specimens of the holothurians *Pentacta nipponensis* (Clark, 1938) and *Pseudocnus echinatus* (von Marenzeller, 1881) were newly collected from Geiyo-Seto and Akitsu-Nada, both in the Seto Inland Sea. We hereby report these specimens as the first records of the occurrences these species from the Seto Inland Sea.

Key words: *Pentacta nipponensis*, *Pseudocnus echinatus*, Seto Inland Sea, Dendrochirotida

The ergasilid copepod *Neoergasilus japonicus* infecting smallmouth bass *Micropterus dolomieu* in central Japan

Kazuya NAGASAWA^{1)*} and Midori OBE²⁾

¹⁾ Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan

²⁾ Faculty of Applied Biological Production, Hiroshima University,
1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan

Abstract Adult females of the ergasilid copepod *Neoergasilus japonicus* (Harada, 1930) were collected from the fins and skin of the smallmouth bass *Micropterus dolomieu* Lacepède, 1802, an invasive alien fish of North American origin, caught in a pond, Nagano Prefecture, central Japan. This is the first Japanese record of *N. japonicus* from *M. dolomieu* and the third species of parasite infecting this fish species in Japan.

Key words: Copepoda, Ergasilidae, fish parasite, invasive alien fish, *Micropterus dolomieu*, *Neoergasilus japonicus*, smallmouth bass

INTRODUCTION

Two species of the centrarchid genus *Micropterus* Lacepède, 1802, *i.e.*, largemouth bass *M. salmoides* (Lacepède, 1802) and smallmouth bass *M. dolomieu* Lacepède, 1802, were introduced from North America into Japan in 1925 and the 1990s, respectively, and have established their populations in Japan (Senou, 2002; Senou and Hayashi, 2013). The parasitic copepod fauna of these species are poorly known in Japan: two species, *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758 (Lernaeidae) and *Neoergasilus japonicus* (Harada, 1930) (Ergasilidae), have been reported only from *M. salmoides* (Kasahara, 1962 for *L. cyprinacea*; Nagasawa and Inoue, 2012; Nagasawa and Sato, 2015 for *N. japonicus*). This paper reports on the occurrence of *N. japonicus* on *M. dolomieu* caught in a pond, Nagano Prefecture, central Japan.

MATERIALS AND METHODS

Four individuals of *M. dolomieu* were collected using hook and line in Harinoki Pond (36°48'43"N, 138°13'15"E), Shinano Town, Nagano Prefecture, central Japan, on 10 August 2008. These fish were fixed in 10% formalin immediately after capture and brought in a bottle to the laboratory at Hiroshima University, Higashi-Hiroshima City, Hiroshima Prefecture, where they were measured for standard length (SL) in millimeters and examined for metazoan parasites with a dissecting microscope. Copepods were carefully removed from the fish, preserved in 70% ethanol, and identified. Voucher specimens are

deposited in the Crustacea (Cr) collection of the National Museum of Nature and Science, Tsukuba City, Ibaraki Prefecture, Japan (NSMT-Cr 24301). The scientific names of centrarchid fish used in this paper follow Senou and Hayashi (2013).

RESULTS AND DISCUSSION

All of the four individuals of *M. dolomieu* examined (138-180 [mean 157] mm SL) were found harboring a total of 723 adult females (60-291 [mean 180] females) of *N. japonicus* (Fig. 1) on the fins and skin. Most of these females were found on the fins, especially the dorsal and caudal fins, but some were attached to the skin of the head region. In addition, 215 adult females of *N. japonicus* were found detached on the bottom of the bottle used for the fish transportation, thus the actual number of the species infecting each fish is very likely to be higher than the observed one.

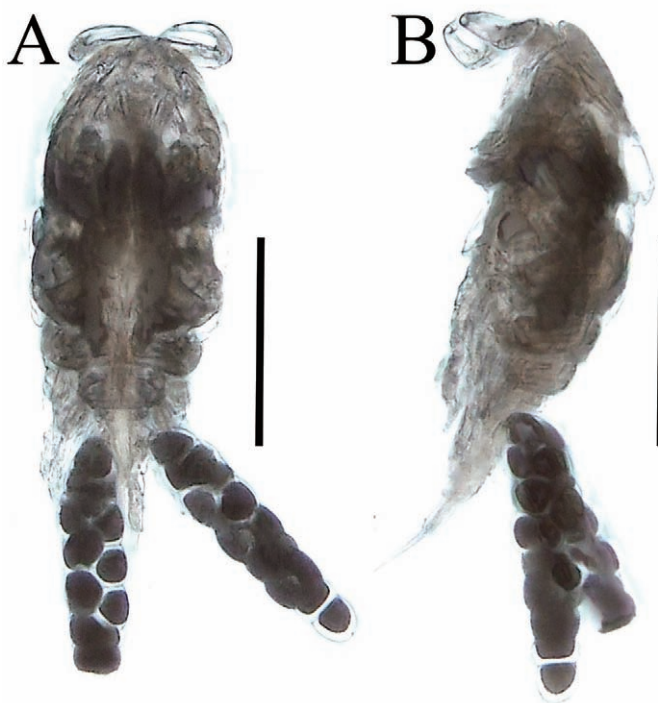


Fig. 1. An adult female of *Neoergasilus japonicus* from a smallmouth bass *Micropterus dolomieu* in Harinoki Pond, Nagano Prefecture, central Japan. Alcohol-preserved specimen. NSMT-Cr 24301. A, dorsal view; B, lateral view. Scale bars: 0.2 mm in A and B.

The present collection represents the first record of *N. japonicus* from *M. dolomieu* in Japan but is not surprising because this copepod is not host-specific to fish and can utilize both native and exotic fish as its hosts (Nagasawa and Uyeno, 2012). It is known to have been introduced into the U.S.A., where it infects *M. dolomieu*, *M. salmoides*, and other freshwater fish species (Hayden and Rogers, 1998; Hudson and Bowen, 2002).

Neoergasilus japonicus is the third species of parasite infecting *M. dolomieu* in Japan, where only two species of flatworms (Platyhelminthes) have been reported from this fish species: a digenean *Azygia anguillae* Ozaki, 1924 (Plagiorchiida: Azygiidae) (Shimazu, 2007, 2014) and a cestode *Proteocephalus fluviatilis* Bangham, 1925 (Proteocephalida: Proteocephalidae) (Scholz *et al.*, 2007). As in the case with *N. japonicus*, these parasites were found in Nagano Prefecture, indicating that nothing is known about the parasites of *M. dolomieu* in other prefectures of Japan. Of these two flatworms, *P. fluviatilis* was introduced, most probably with centrarchid fish, from North America into Japan (Scholz *et al.*, 2007). As our knowledge of the parasite fauna of *M. dolomieu* is still quite limited in Japan, more work is needed to clarify it in the country.

The present collection of *N. japonicus* in Nagano Prefecture constitutes its new prefectural record in Japan. To date, the species has been reported from Hokkaido, Gunma, Hiroshima, Shimane, Nagasaki, and Okinawa prefectures in Japan (Nagasawa and Uyeno, 2012, 2015; Nagasawa and Inoue, 2012; Nagasawa and Nitta, 2013; Nagasawa and Obe, 2013; Nagasawa and Sato, 2015; see Nagasawa *et al.*, 2007 for the earlier literature).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Masato Nitta, Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, for taking the picture of the specimen. Part of this work received financial support from the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS KAKENHI Grant Number 15K07527 to K.N.).

REFERENCES

- Hayden, K. J., Rogers, W. A., 1998. *Neoergasilus japonicus* (Poecilostomatoida: Ergasilidae), a parasitic copepod new to North America. *Journal of Parasitology* **84**: 88-93.
- Hudson, P. L., Bowen, C. A., II, 2002. First record of *Neoergasilus japonicus* (Poecilostomatoida: Ergasilidae), a parasitic copepod new to the Laurentian Great Lakes. *Journal of Parasitology* **88**: 657-663.
- Kasahara, S., 1962. Studies on the biology of the parasitic copepod *Lernaea cyprinacea* Linnaeus and the methods for controlling this parasite in fish-culture ponds. *Contributions of the Fisheries Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Tokyo* **3**: 103-196. [In Japanese with English abstract].
- Nagasawa, K., Inoue, A., 2012. Variations in the infection level of *Neoergasilus japonicus* (Copepoda: Ergasilidae) between freshwater fishes at different sites in the Ashida River system, western Japan. *Zoosymposia* **8**: 81-96.
- Nagasawa, K., Nitta, M., 2013. *Neoergasilus japonicus* (Copepoda: Ergasilidae) parasitic on bluegill (*Lepomis macrochirus*) in a pond, Gotsu City, Shimane Prefecture, Japan. *Bulletin of the Hoshizaki Green Foundation* **16**: 246. [In Japanese with English abstract].
- Nagasawa, K., Obe, M., 2013. Spatial distribution of *Neoergasilus japonicus* (Copepoda: Ergasilidae) on

- the fins of the bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Journal of Natural History* **47**: 543-552.
- Nagasawa, K., Sato, H., 2015. *Neoergasilus japonicus* (Copepoda: Ergasilidae) parasitic on two alien freshwater fishes (*Lepomis macrochirus* and *Micropterus salmoides*) in central Japan, with its new record from Gunma Prefecture. *Bulletin of Gunma Museum of Natural History* **18**: 65-68.
- Nagasawa, K., Uyeno, D., 2012. Utilization of alien freshwater fishes by the parasitic copepod *Neoergasilus japonicus* (Ergasilidae) on Okinawa-jima Island, Japan, with a list of its known hosts. *Zoosymposia* **8**: 81-96.
- Nagasawa, K., Uyeno, D., 2015. *Neoergasilus japonicus*, a parasitic copepod from redbelly tilapia *Tilapia zilli* on Okinawa-jima Island, southern Japan. *Bulletin of the Biogeographical Society of Japan* **70**: 221-224. [In Japanese with English abstract].
- Nagasawa, K., Umino, T., Uyeno, D., Ohtsuka, S., 2007. A checklist of ergasilid copepods (Crustacea) occurring as fish parasites or plankton in Japan (1895-2007). *Bulletin of the Biogeographical Society of Japan* **62**: 43-62. [In Japanese with English abstract].
- Scholz, T., Hanzelová, V., Škeříková, A., Shimazu, T., Rolbiecki, L., 2007. An annotated list of species of the *Proteocephalus* Weinland, 1858 aggregate *sensu de Chambrier et al.* (2004) (Cestoda: Proteocephalidea), parasites of fishes in the Palaearctic Region, their phylogenetic relationships and a key to their identification. *Systematic Parasitology* **67**: 139-156.
- Senou, H., 2002. [Taxonomy of fishes of the genus *Micropterus* introduced into Japan], In “*Blackbass, an Invader to Rivers and Lakes – Their Biology and Impacts on the Ecosystem*”, Ed. the Nature Conservation Committee of the Ichthyological Society of Japan, Kouseisha-Kouseikaku, Tokyo: 11-30. [In Japanese].
- Senou, H., Hayashi, M., 2013. Centrarchidae. In “*Fishes of Japan, with Pictorial Keys to the Species, Third Edition*”, Ed. Nakabo, T., Tokai University Press, Hadano: 820-821, 1977-1978. [In Japanese].
- Shimazu, T., 2007. Digeneans (Trematoda) of freshwater fishes from Nagano Prefecture, central Japan. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series A* **33**: 1-30.
- Shimazu, T., 2014. Digeneans parasitic in freshwater fishes (Osteichthyes) of Japan. III. Azygiidae and Bucephalidae. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series A* **40**: 167-190.

コクチバスに寄生していたヤマトニセエラジラミ

長澤和也¹⁾・遠部 碧²⁾

¹⁾広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 東広島市鏡山1-4-4

²⁾広島大学生物生産学部, 〒739-8528 東広島市鏡山1-4-4

要 旨 長野県信濃町にある針ノ木池で採集したコクチバス *Micropterus dolomieu* の鱗と体表にヤマトニセエラジラミ *Neoergasilus japonicus* (Harada, 1930) の雌成体が寄生していた。これは、わが国に移入・定着したコクチバスにヤマトニセエラジラミが寄生した初記録である。本種は長野県からは初記録であり、日本産コクチバスから見出された3種目の寄生虫になる。

キーワード：カイアシ類, 魚類寄生虫, 国外外来種, コクチバス, ニセエラジラミ科, ヤマトニセエラジラミ

***Lernaea cyprinacea* (Copepoda: Lernaeidae) and *Argulus* sp. (Branchiura: Argulidae) parasitic on the freshwater goby *Rhinogobius* sp. TO endemic to Japan**

Kazuya NAGASAWA^{1)*} and Ryo-ichi TORII²⁾

¹⁾ Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan

²⁾ Mikawa Freshwater Life Network, B101 Plaza Verde,
1-3-1 Fudaki, Hekinan, Aichi, 447-0088, Japan

Abstract The freshwater goby, *Rhinogobius* sp. TO, is endemic to Japan and occurs only in the Tokai District, central Honshu, Japan. The lernaeid copepod, *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758, and the argulid branchiuran, *Argulus* sp., were collected from specimens of this goby in Aichi Prefecture. These crustaceans are the first parasites found from *Rhinogobius* sp. TO.

Key words: *Argulus* sp., Branchiura, Copepoda, fish parasite, *Lernaea cyprinacea*, *Rhinogobius* sp. TO

INTRODUCTION

The genus *Rhinogobius* (Perciformes: Gobioidei) is a specious gobiid group and currently consists of 17 valid species in Japan (Akihito *et al.*, 2013). Some species of this genus, however, have not yet been identified at specific level, and tentative scientific names have been used for them. *Rhinogobius* sp. TO is an example of such use, and “TO” is used because the distribution of the species is restricted to the Tokai District, central Honshu (Suzuki and Sakamoto, 2005), where it occurs in four prefectures (Gifu, Mie, Aichi, and Shizuoka) (Suzuki and Mukai, 2010; Akihito *et al.*, 2013). To date, no parasite has been reported from this goby.

Recently, two species of crustacean parasites, *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758 (Copepoda: Lernaeidae) and *Argulus* sp. (Branchiura: Argulidae), were found infecting *Rhinogobius* sp. TO in Aichi Prefecture. These crustaceans are the first parasites found from this goby.

MATERIALS AND METHODS

Two specimens of *Rhinogobius* sp. TO were collected using a hand net in a pond, western Aichi Prefecture, on 3 June 2012. The specimens were frozen and sent to the laboratory at Hiroshima University, Higashi-Hiroshima City, Hiroshima Prefecture, where they were thawed, measured for standard length (SL) in millimeters, and examined for ecto- and endoparasites with a dissecting microscope. Parasitic crustaceans were carefully removed from the hosts, fixed in 70% ethanol, and identified. These specimens are retained in the senior author’s collection for a detailed morphological study, but those of *L. cyprinacea* will be later deposited in the Crustacea collection of the National Museum of Science and Nature, Tsukuba City, Ibaraki Prefecture.

RESULTS AND DISCUSSION

The two specimens (32.2 and 30.4 mm SL) of *Rhinogobius* sp. TO were infected each by three and two individuals of *Lernaea cyprinacea* (Fig. 1A-B). These individuals consisted of three gravid females with egg sacs (Fig. 1C-D), one immature female without egg sacs, and one copepodid. Except the copepodid found on the host's skin near the ventral fin, the females inserted their anterior part of the body into the musculature (n=3) and body cavity (n=1) of the host (Fig. 1A-B). The inserting sites were the caudal peduncle (n=1), the isthmus (n=1), and near the base of the ventral (n=1) and anal (n=1) fins. The gravid (n=3) and immature (n=1) females were 7.0-8.9 (mean 7.7 mm) mm long, excluding the egg sacs, and 4.0 mm long, respectively.

One (30.4 mm SL) of the two specimens of *Rhinogobius* sp. TO also harbored an early-stage larva (0.9 mm long) of *Argulus* sp. (Fig. 1E) on the body surface. Two species of *Argulus*, *A. japonicus* Thiele, 1900 and *A. coregoni* Thorell, 1884, are known to infect wild freshwater fish in Japan (Nagasawa, 2009, 2011), but these species cannot be differentiated from each other at early stages of their larvae (Shimura, 1981). Thus, the larval specimen collected is herein reported as *Argulus* sp.

The fish material examined in this study was collected in Aichi Prefecture, where *L. cyprinacea* has been reported before (Kasahara, 1962; Nagasawa and Torii, 2014; Yoshimine *et al.*, 2015). In this prefecture, *L. elegans*, which has been synonymized with *L. cyprinacea* (Harding, 1950), was described by Leigh-Sharpe (1925) and Matsui and Kumada (1928), and a taxonomic issue remains regarding validity and synonymy of these two taxa (see Kabata, 1979, p.154; Nagasawa *et al.*, 2007). Thus, the

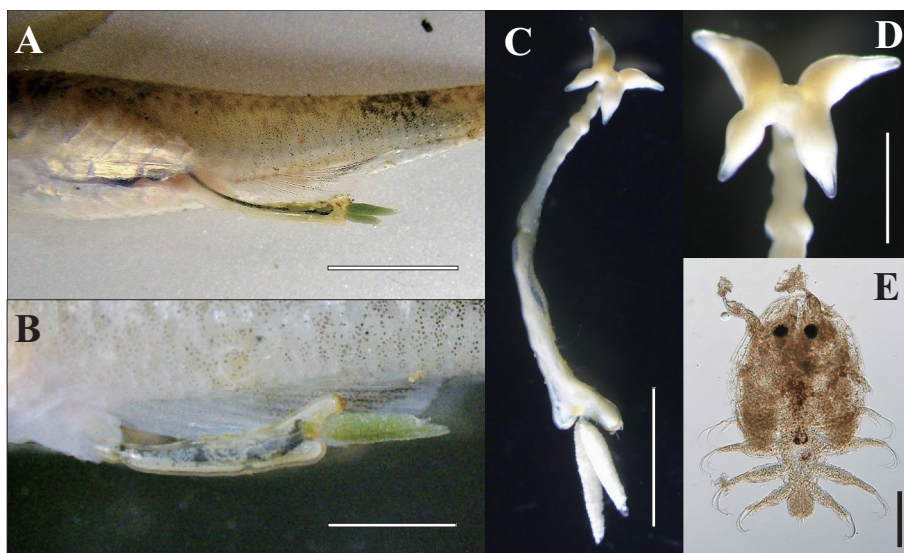


Fig. 1. A gravid female of *Lernaea cyprinacea* and a larva of *Argulus* sp. from *Rhinogobius* sp. OR in a pond, western Aichi Prefecture, central Honshu, Japan. A-B, fish infected by *L. cyprinacea*, ventral (A) and lateral (B) views; C-D, whole body and cephalothorax of *L. cyprinacea*, dorsal view; E, *Argulus* sp., dorsal view. Alcohol-preserved specimen of *L. cyprinacea* (C-D); fresh specimen of *Argulus* sp. (E). Scale bars: A, 5 mm; B-C, 3 mm; D, 1 mm; E, 0.2 mm.

specimens of *L. cyprinacea* collected in our studies (Nagasawa and Torii, 2014; this paper) will be studied to solve such a taxonomic issue.

REFERENCES

- Akihito, Sakamoto, K., Ikeda, Y., Aizawa, M., 2013. Gobioidae. In “*Fishes of Japan with Pictorial Keys to the Species. Third Edition*”, Ed. Nakabo, T., Tokai University Press, Hadano: 1347-1608, 2109-2211 pp. [In Japanese].
- Harding, J. P., 1950. On some species of *Lernaea* (Crustacea, Copepoda: parasites of fresh-water fish). *Bulletin of the British Museum (Natural History): Zoology*. **1**: 1-27.
- Kabata, Z., 1979. *Parasitic Copepoda of British Fishes*. Ray Society, London. xii+468 pp., 2031 figs.
- Kasahara, S., 1962. Studies on the biology of the parasitic copepod *Lernaea cyprinacea* Linnaeus and the methods for controlling this parasite in fish-culture ponds. *Contributions of the Fisheries Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Tokyo* **3**: 103-196. [In Japanese with English abstract].
- Leigh-Sharpe, W. H., 1925. *Lernaea (Lernaecera) elegans* n. sp., a parasitic copepod of *Anguilla japonica*. *Parasitology* **17**: 245-251.
- Matsui, K., Kumada, A., 1928. Studies on fish-disease. I. “Ikari-mushi” (*Lernaea elegans* Leigh-Sharpe), a new parasitic copepod of Japanese eel. *Journal of the Imperial Institute* **23**: 101-107, 3 pls. [In English], 131-141, 3 pls. [In Japanese].
- Nagasawa, K., 2009. Synopsis of branchiurans of the genus *Argulus* (Crustacea, Argulidae), ectoparasites of freshwater and marine fishes, in Japan (1900-2009). *Bulletin of the Biogeographical Society of Japan* **64**: 135-148. [In Japanese with English abstract].
- Nagasawa, K., 2011. The biology of *Argulus* spp. (Branchiura, Argulidae) in Japan: a review. In “*New Frontiers in Crustacean Biology*”, Eds. Asakura, A. et al., Proceedings of the TCS Summer Meeting, Tokyo, 20-24 September 2009. *Crustacean Monographs* **15**: 15-21.
- Nagasawa, K., Torii, R.-I., 2014. The parasitic copepod *Lernaea cyprinacea* from freshwater fishes, including alien species (*Gambusia affinis* and *Rhodeus ocellatus ocellatus*) in central Japan. *Biosphere Science* **53**: 27-31.
- Nagasawa, K., Inoue, A., Myat, S., Umino, T., 2007. New host records for *Lernaea cyprinacea* (Copepoda), a parasite of freshwater fishes, with a checklist of the Lernaecidae in Japan (1915-2007). *Journal of the Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University* **46**: 21-33.
- Shimura, S., 1981. The larval development of *Argulus coregoni* Thorell (Crustacea: Branchiura). *Parasitology* **15**: 331-348.
- Suzuki, T., Mukai, T., 2010. Two lentic freshwater gobies, *Rhinogobius* sp. BF and *Rhinogobius* sp. TO: their morphological characteristics, distribution and present status. *Japanese Journal of Ichthyology* **57**: 176-179. [In Japanese with English abstract].
- Suzuki, T., Sakamoto, K., 2005. Record of a gobiid fish, *Rhinogobius* sp. TO (Perciformes, Gobiidae) from the Noubi and Okazaki plains, Japan. *Bulletin of the Biogeographical Society of Japan* **60**: 13-20. [In Japanese with English abstract].
- Yoshimine, Y., Isshiki, T., Aino, S., Tun, K. L., Yoshinaga, T., 2015. Occurrence of *Lernaea cyprinacea* (Copepoda) in wild ayu *Plecoglossus altivelis* and several other fishes in the Shonai River, Japan. *Fish Pathology* **50**: 81-84. [In Japanese with English abstract].

トウカイヨシノボリに寄生していたイカリムシとチョウ属の1種

長澤和也¹⁾・鳥居亮一²⁾

¹⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

²⁾ 三河淡水生物ネットワーク, 〒447-0088 愛知県碧南市札木町1-3-1 プラザ・ヴェルデ B101

要 旨 トウカイヨシノボリ *Rhinogobius* sp. TO は東海地方だけに分布する, わが国固有のハゼ科魚類である。愛知県内で採集したトウカイヨシノボリを調べたところ, カイアシ類のイカリムシ *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758とエラオ類のチョウ属の1種 *Argulus* sp. の寄生を認めた。これらはトウカイヨシノボリに見出された最初の寄生虫であり, 本魚種はそれら寄生虫の新宿主である。

キーワード: イカリムシ, エラオ類, カイアシ類, 魚類寄生虫, チョウ属の1種, トウカイヨシノボリ

Two new prefectural records in Japan for the salmonid parasite, *Salvelinema salmonicola* (Nematoda: Cystidicolidae)

Kazuya NAGASAWA^{1)*}, Akihiko AKIYAMA²⁾ and Koichiro KAWAI¹⁾

¹⁾ Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan

²⁾ 558-1 Nakazato, Noda, Chiba 270-0237, Japan

Abstract Specimens of the cystidicolid nematode *Salvelinema salmonicola* (Ishii, 1916) were collected from the swim bladder of river-resident masu salmon, *Oncorhynchus masou masou* (Brevoort, 1856), in Yamagata and Shimane prefectures, Honshu, Japan. This nematode is reported herein for the first time from these two prefectures in Japan.

Key words: masu salmon, new locality records, *Oncorhynchus masou masou*, parasitic nematode, *Salvelinema salmonicola*

INTRODUCTION

The cystidicolid nematode *Salvelinema salmonicola* (Ishii, 1916) is found in the swim bladder of freshwater salmoniform fish (Salmonidae and Osmeridae) in the North Pacific rim region (Moravec and Nagasawa, 1999). In Japan, this species is known to infect various species of salmonids, including masu salmon *Oncorhynchus masou masou* (Brevoort, 1856), amago salmon *O. masou ishikawae* Jordan and McGregor, 1925, chum salmon *O. keta* (Walbaum, 1792), coho salmon *O. kisutch* (Walbaum, 1792), sockeye salmon *O. nerka* (Walbaum, 1792), rainbow trout *O. mykiss* (Walbaum, 1792), brown trout *Salmo trutta* Linnaeus, 1758, white-spotted charr *Salvelinus leucomaenis leucomaenis* (Pallas, 1814), Japanese charr *S. leucomaenis pluvius* (Hilgendorf, 1876), and Dolly Varden *S. malma krascheninnikovi* (Taranetz, 1933), in the southern Kurile Islands and two of the four major islands, *i.e.*, Hokkaido and Honshu (Moravec and Nagasawa, 1999; Nagasawa and Furusawa, 2006; Nagasawa *et al.*, 2010, 2013; see Nagasawa *et al.*, 1987 for the earlier literature). In Hokkaido, the nematode also has been recorded from Japanese smelt *Hypomesus nipponensis* McAllister, 1963 (Osmeridae) (Sakurai and Sakai, 1943).

During a study of the parasites of salmonids of Japan, we found *S. salmonicola* from river-resident masu salmon in Yamagata and Shimane prefectures, which is herein reported as new prefectural records for this nematode in Japan.

MATERIALS AND METHODS

Two individuals of masu salmon, *Oncorhynchus masou masou*, were collected using hook and line in the Oyoko River (38°46'58"N, 140°27'43"E), a tributary of the Oguni River within the Mogami River

system, at Shimo, Mogami-cho, Yamagata Prefecture, on 4 April 2010. One individual of the same fish species was also collected using hook and line in the Masuda River (34°39'52"N, 131°58'32"E) at Tsumo, Mito-cho, Masuda City, Shimane Prefecture, on 12 May 2015. The former fish were frozen within the day of capture, while the latter fish was kept alive after capture. These fish were transported to the laboratory at Hiroshima University, Higashi-Hiroshima, Hiroshima Prefecture, where the frozen fish were thawed and the samples from both rivers examined for metazoan parasites with a dissecting microscope after they were measured for standard length (SL) in millimeters (mm). Nematodes were collected from the swim bladder and preserved in 70% ethanol (those from the fish from Takatsu River were first fixed in hot water and transferred to 70% ethanol). They were cleared with glycerine for microscopy examination. Voucher specimens are deposited in the Aschelminthes (As) collection of the National Museum of Nature and Science, Tsukuba City, Japan (NSMT-As 4297 and 4298 from Yamagata and Shimane prefectures, respectively). The scientific names of fish and amphipods used in this paper follow those recommended by Nakabo (2013) and Tomikawa and Morino (2012), respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

One (173 mm SL) of the two masu salmon from the Oyoko River, Yamagata Prefecture, and one masu salmon (205 mm SL) from the Masuda River, Shimane Prefecture, were found infected with 37 and four nematodes in the swim bladder, respectively. These nematodes are morphologically identical with the specimens of *S. salmonicola* described by Moravec and Nagasawa (1999) from northern Honshu, Japan. The specimens (n=37) from the Oyoko River consisted of 14 males and 23 females (mostly mature ones with non-larvated eggs), and those (n=4) from the Masuda River were all mature females with non-larvated eggs.

In Japan, *S. salmonicola* has so far been reported from the southern Kurile Islands (Etorofu and Shikotan islands) and six five prefectures (Hokkaido, Aomori, Ishikawa, Shiga, Hiroshima, and Yamaguchi) (Fig. 1, Nagasawa and Furusawa, 2006; Nagasawa *et al.*, 2010, 2013; see Nagasawa and Furusawa, 2006 for the earlier literature). There is no record of the species from two major islands in southern Japan, *i.e.*, Kyushu and Shikoku. The present finding of *S. salmonicola* in Yamagata and Shimane prefectures constitute its new prefectural records in Japan.

Nematodes of *Salvelinema* are known to use freshwater amphipods as obligate intermediate hosts in their life cycles (*e.g.*, Margolis and Moravec, 1982), but much remains to be studied on the life cycle of *S. salmonicola* in Japan. To date, larval worms of the species have been found from an unidentified gammarid (reported as *Gammarus* sp.) (Gammaridae) and *Sternomoera japonica* (Tattersall, 1922) (reported as *Paramoera japonica*) (Pontogeneiidae) in unspecified rivers and fish farms, Hokkaido, and the Rokumaibashi River, Aomori Prefecture, respectively (Koshida, 1905, 1910; Moravec and Nagasawa, 1986). Recently, Nagasawa *et al.* (2010) suggested that this nematode may use a different species of amphipod, *Jesogammarus* (*Jesogammarus*) *jesoensis* (Schellenberg, 1937) (reported as *J. jesoensis*) (Anisogammaridae) in Lake Toya, Hokkaido. A total of 36 species of freshwater amphipods belonging to nine families occur in Japan, and each species has its specific regional distribution pattern (Tomikawa and Morino, 2012), which suggests that *S. salmonicola* may utilize various species of amphipods as its intermediate hosts in different regions of Japan. Thus, when we find *S. salmonicola* in salmonids, it is desirable to collect amphipods at individual sampling sites for subsequent examination for larval nematode infection as the first step to clarify the life cycle of the species.

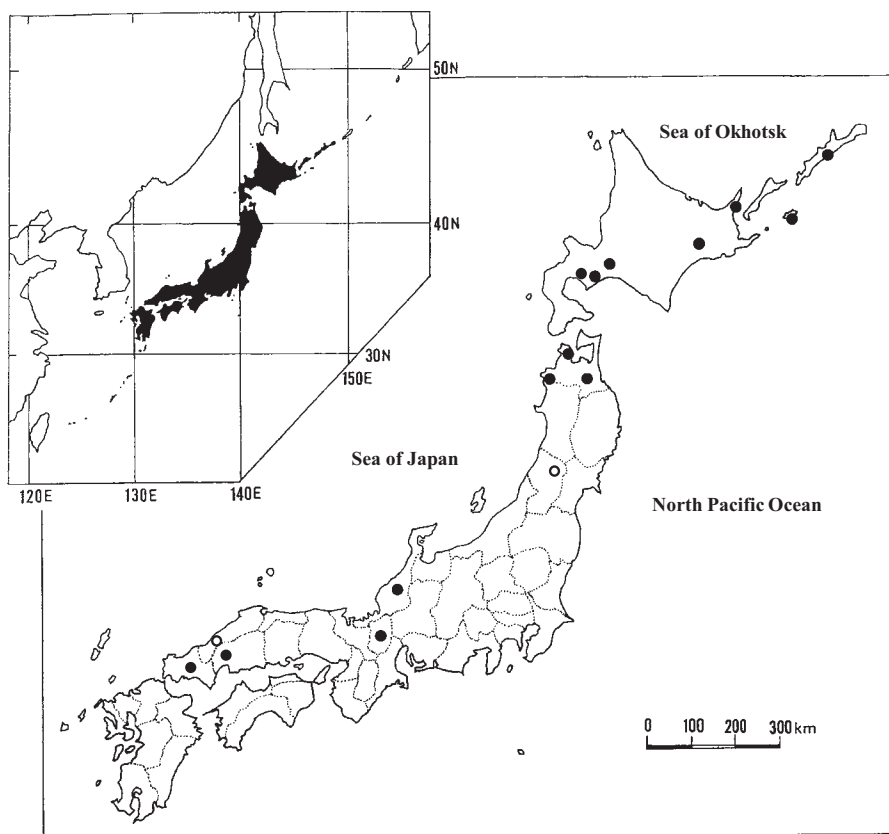


Fig. 1. Map showing the collection localities of *Salvelinema salmonicola* in Japan (modified from Nagasawa and Furusawa, 2006). Prefectural boundaries are shown by dotted lines. ○ : the present records, ● : the past records.

REFERENCES

- Koshida, T., 1905. [On a species of Nematoda parasitic in salmonid fishes]. *Hokkaido Suisan Zasshi* **5**: 7-9. [In Japanese].
- Koshida, T., 1910. [Survey of parasitic nematodes in fish farms]. *Third Annual Report of Hokkaido Fisheries Experimental Station*. 516-519. [In Japanese].
- Margolis, L., Moravec, F., 1982. *Ramellogammarus vancouverensis* Bousfield (Amphipoda) as an intermediate host for salmonid parasites in British Columbia. *Canadian Journal of Zoology* **60**: 1100-1104.
- Moravec, F., Nagasawa, K., 1986. New records of amphipods as intermediate hosts for salmonid nematode parasites in Japan. *Folia Parasitologica* **33**: 45-49.
- Moravec, F., Nagasawa, K., 1999. Morphology and taxonomy of *Salvelinema* species (Nematoda: Cystidicolidae), swimbladder parasites of Pacific area salmonids. *Folia Parasitologica* **46**: 123-131.
- Nagasawa, K., Furusawa, S., 2006. New host and distribution records for *Salvelinema salmonicola*

- (Nematoda: Cystidicolidae), a parasite of freshwater salmonids, in Japan. *Journal of the Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University* **45**: 9-14.
- Nagasawa, K., Urawa, S., Awakura, T., 1987. A checklist and bibliography of parasites of salmonids of Japan. *Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery* **41**: 1-75.
- Nagasawa, K., Katahira, H., Tomiakawa, K. 2010. *Salvelinema salmonicola* (Nematoda, Cystidicolidae): heavy infection in lacustrine sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* from northern Japan, with implication of the host's feeding habits. *Biogeography* **12**: 25-28.
- Nagasawa, K., Hatama, T., Katahira, H., 2013. *Salvelinema salmonicola* (Nematoda: Cystidicolidae) from lake-resident salmonids in western Honshu, Japan. *Biogeography* **15**: 103-105.
- Nakabo, T., Ed. 2013. *Fishes of Japan with Pictorial Keys to the Species. Third Edition*. Tokai University Press, Hadano. xlix + 2428 pp. [In Japanese].
- Sakurai, M., Sakai, K., 1943. [Infection of Japanese smelt by *Cystidicola salmonicola* (Ishii)]. *Suisangaku Zasshi (Journal of Fishery Science)* **51**: 55-59. [In Japanese].
- Tomikawa, K., Morino, H., 2012. An annotated inventory with a key of freshwater Amphipoda (Crustacea) from Japan. *TAXA, Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology* **32**: 39-51. [In Japanese with English abstract].

サケ科魚類の寄生虫，マスウキブクロセンチュウ
Salvelinema salmonicola の新産地

長澤和也¹⁾・秋山明彦²⁾・河合幸一郎¹⁾

¹⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科，〒739-8528 東広島市鏡山1-4-4

²⁾ 〒270-0237 千葉県野田市中里558-1

要 旨 山形県最上川水系小国川の支流である大横川で採集したヤマメ *Oncorhynchus masou masou* (Brevoort, 1856) の鰾と、鳥根県益田川で採集したヤマメの鰾から、マスウキブクロセンチュウ（鱒鰾線虫）*Salvelinema salmonicola* (Ishii, 1916) を得た。本線虫は両県から初記録である。

キーワード：魚類寄生虫，新産地記録，マスウキブクロセンチュウ，ヤマメ

養殖クロマグロに寄生していた大型吸虫 *Hirudinella* sp.

長澤和也 *

広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

要 旨 大分県沿岸の豊後水道で養殖されていたクロマグロ *Thunnus orientalis* 1尾の腹腔に、生時の体色が薄小豆色で全長が34 mmにも達する大型吸虫1個体が寄生していた。この吸虫は、その形態的特徴からヒルディネラ属の1種 *Hirudinella* sp. に同定された。ヒルディネラ属吸虫類のクロマグロへの寄生は本報告が最初である。寄生魚の外観に異常はみられなかったが、寄生虫周辺の内臓の表面は黒色液で被われていた。クロマグロは養殖される前に、この寄生虫の感染を海洋で受けた可能性が高い。

キーワード：海水養殖, 魚類寄生虫, 吸虫類, クロマグロ, *Hirudinella* sp.

諸 言

クロマグロ養殖はわが国では1970年代から始まり、その歴史はまだ浅い(澤田, 2010; 山本, 2012)。ただ、その生産量は近年着実に増加し、2014年には14,713トン(23万尾)を出荷した。養殖場の多くは九州にあり、長崎県と鹿児島県での生産が多い(水産庁, 2015)。

クロマグロ養殖の進展に伴って寄生虫研究も始まったが、まだ初期の段階であり、僅かに微孢子虫類(Zhang *et al.*, 2010)、ミクソゾア類(Zhang *et al.*, 2010; Meng *et al.*, 2011)、住血吸虫類(Ogawa *et al.*, 2010; Shirakashi *et al.*, 2012a, 2012b; Sugihara *et al.*, 2014)、カイアシ類(Nagasawa, 2011, 2015)に関する若干の報文が出版されたのみである。わが国において養殖クロマグロの寄生虫相を俯瞰できる状態にはとも至っていない(Munday *et al.*, 2003; 白樫, 2013を参照)。

筆者は、最近、養殖クロマグロにおいて大型吸虫による腹腔内寄生を観察した。そのような事例はこれまでに知られていないので、その概要を報告する。

養殖クロマグロにおける大型吸虫 *Hirudinella* sp. の腹腔内寄生

2010年8月、大分県沿岸の豊後水道で養殖されていたクロマグロ幼魚 *Thunnus orientalis* 1尾 (Fig. 1A) を魚病検査のために養殖生簀から採取した。この個体の外観に異常は認められなかったが、標準体長(197 mm)と体重(135 g)を測定後、現場で開腹したところ、腸や脾臓などの内臓表面に墨汁を薄く撒いたような症状を認めるとともに、大型吸虫1個体が寄生していた (Fig. 1B)。

この個体は、宿主由来の組織で被われることなく、腹腔内で遊離した状態で見つかった。生時には薄小豆色を呈し、体表面には左右に伸びる不規則な形をした隆起が多数あり、それら隆起間の溝はあたかも皺が左右に走っているように見えた (Fig. 1C, D)。また、この個体は魚体から摘出後しばらくは体前部を伸縮させ、収縮した際には口吸盤と腹吸盤の距離は著しく狭かった (Fig. 1C)。体前部を収縮あるいは伸長させた状態の生時の全長はそれぞれ24 mmと34 mmであった (Fig. 1C, D)。

採取した吸虫標本は、肉眼観察後に失われたために内部形態等を詳細に観察することはできなかったが、その大きな体サイズや体表面の皺構造等を考慮すると、世界の大洋を生息するサバ科魚類に広く寄生する *Hirudinella ventricosa* (Pallas, 1774) に極めて類似していた (Gibson, 2002)。Williams and Bunkley-Williams

(1996: 27-29) によれば、この種は生時に体の伸縮が著しく、伸長時にはヒトの指サイズ、収縮時にはクルミ大になるほか、茶色から桃色がった体色を呈し、口吸盤と腹吸盤は収縮時に体前端で近接しているとい

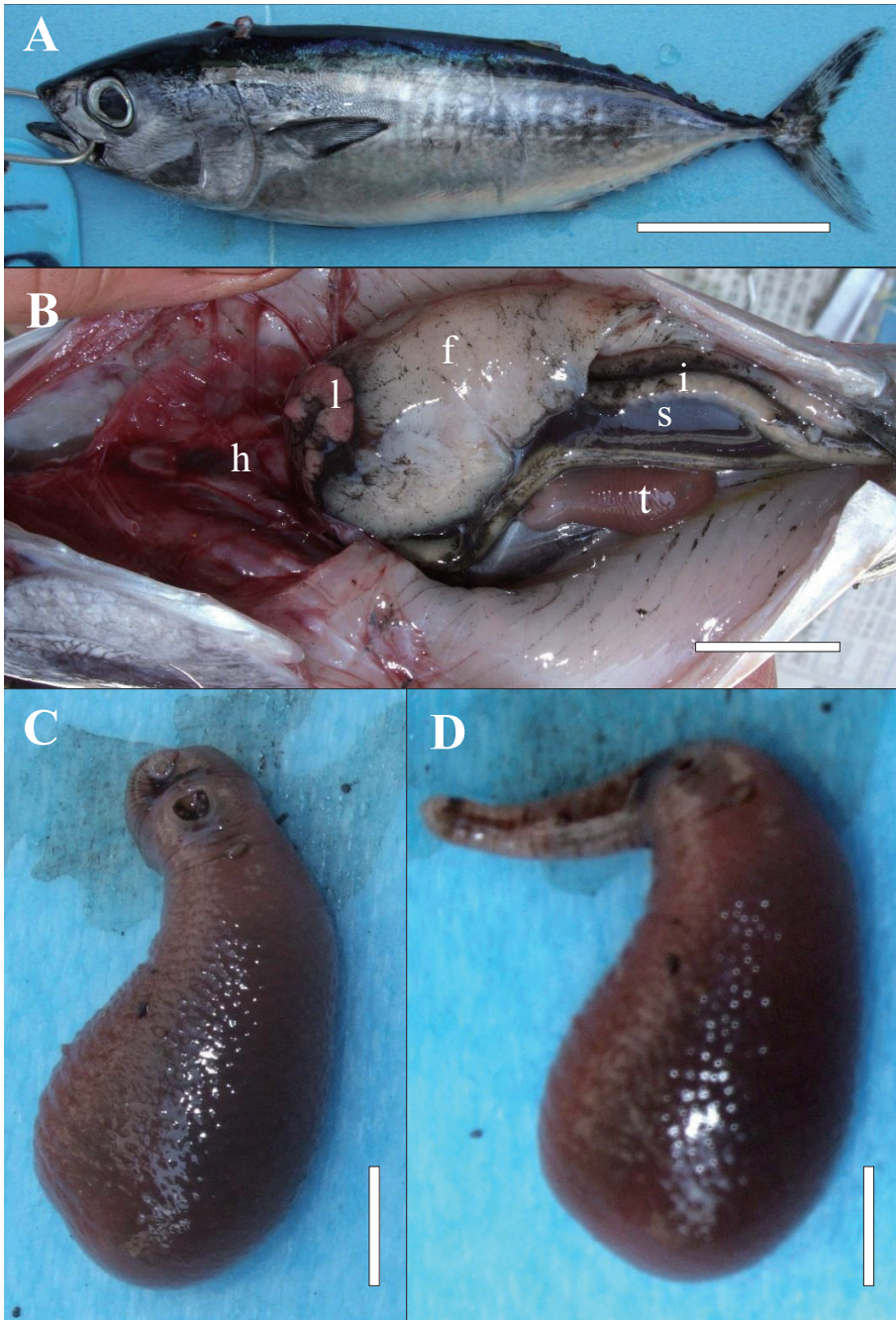


Fig. 1. A young Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, infected by a trematode *Hirudinella* sp. A, infected fish; B, trematode (t) in the host's body cavity; C and D, trematode in contracted (C) and extended (D) conditions. No external disease sign was observed in the fish (A), but the surface of the intestine (i) and the spleen (s) around the trematode (t) was partially colored in black (B). h, heart; l, liver, f, fats surrounding the pyloric caeca. Scale bars: A, 50 mm; B, 20 mm; C, D, 5 mm.

う。これらの形態学的特徴は、今回、養殖クロマグロから得られた吸虫標本の特徴とほぼ一致していた。ただし、*Hirudinella ventricosa* は分子生物学的に区別できる複数種から構成されることが近年明らかになっているため (Calhoun *et al.*, 2013), ここでは採取標本を *Hirudinella* sp. として扱う。Calhoun *et al.* (2013) によれば、カマスサワラの寄生種は *Hirudinella ventricosa*, マグロ属魚類の寄生種は *Hirudinella ahi* Yamaguti, 1970であるという。

わが国近海では、Yamaguti (1938) が本種をマグロ属魚類の1種、ビンナガ *Thunnus alalunga* (原著では *T. alalunga*) の胃から得て *Hirudinella spinulosa* Yamaguti, 1938として報告した。この種は、現在、*Hirudinella ventricosa* の新参異名として扱われているが (Gibson, 2015), 上記の Calhoun *et al.* (2013) に従えば *Hirudinella ahi* に該当する。ただし、この著者は *Hirudinella spinulosa* には言及していない。Yamaguti (1938) が観察した圧平固定標本は、体長と体幅がそれぞれ37 mmと5.5 mmに達し、体は細無く、背腹にやや扁平であった。また Kishinouye (1923: 413) は、日本近海のカマスサワラの胃には長さが約8 cmに達する大型吸虫が常に見られると記しており、この吸虫は *Hirudinella ventricosa* である可能性が高い。このほか、魚市場でも「ヒルディネラ (*Hirudinella* spp.)」が問題になることがあり、「サワラ、シイラ、マグロ等の胃に寄生」することが知られている (東京都市場衛生検査所, 1989)。いずれにしても、*Hirudinella* 属吸虫が日本近海のクロマグロから得られたのは本報告が初めてである。

上記したように、*Hirudinella* sp. が養殖クロマグロの腹腔内に寄生していた。しかし、*Hirudinella* 属吸虫は、本来、外洋性魚類の胃内寄生虫である (Yamaguti, 1938; Williams and Bunkley-Williams, 1996; Calhoun *et al.*, 2013)。両者で寄生部位が異なっていた理由は不明であるが、もともと胃に寄生していた個体が養殖クロマグロでは何らかの要因で腹腔内に移動したかも知れない。関連して、水産養殖現場では、種苗を中国から輸入した養殖カンパチの腹腔内や筋肉中に「ヒルディネラ類吸虫」(山下ら, 2012)、またブリ幼魚の腹腔内に「ヘミウルス属」吸虫の寄生が知られている (小畑, 2001)。前者は「未成熟であるため同定され」ず、後者も「ヘミウルス属」とした根拠は明らかにされていないが、両者ともに宿主の腹腔内で遊離した状態で大きな個体が見つかることなど、本報告の *Hirudinella* sp. との共通点は多い。また、ごく最近、養殖カンパチに「ヒルディネラ症」があることが報告された (柳・今岡, 2015)。原因となる吸虫の形態や寄生部位に関する情報が一切なく詳細は不明であるが、それは上記の「ヒルディネラ類吸虫」や今回養殖クロマグロに見出された *Hirudinella* sp. と同一あるいは近縁かも知れない。これらを考慮すると、今後、養殖クロマグロのみならず、養殖カンパチや養殖ブリの腹腔内に寄生する大型吸虫類に関する分類学的研究がまず必要である。その際、*Hirudinella* 属吸虫類は形態学的特徴のみによって同定することは不適切であるので (Calhoun *et al.*, 2013), 分子生物学的な手法も併せて行うことが望まれる。また、それら吸虫類が養殖魚の胃内に寄生するか否かを明らかにすることも重要な研究課題であろう。

Hirudinella sp. の寄生を受けた養殖クロマグロの内臓表面には墨汁を薄く撒いたような症状が見られた。同様な症状は、養殖ブリ幼魚が「ヘミウルス属」吸虫の寄生を受けた場合にも観察されている (小畑, 2001)。このことに対して、小畑 (2001) は、この寄生虫が「魚の内臓や筋肉を食い荒らし、寄生部位周辺を排泄物で黒く変色させ」と述べている。また、中国種苗を用いた養殖カンパチが「ヒルディネラ類吸虫」の寄生を受けると「腹腔内は虫体の排泄物である黒色の粘液上の異物で覆われる」と記されている (山下ら, 2012)。しかし、わが国で、黒色異物が寄生虫からの排泄物であることを証明した研究はないように思われる。一方、上記の養殖クロマグロと養殖ブリ幼魚が示したような症状が、同じく吸虫類で大型のナマズキノウキウチュウ (鯰気嚢吸虫) *Isoparorchis eurytremum* (Kobayashi, 1915) が淡水魚の筋肉や腹腔内に寄生した場合にも観察されている (山下・西田, 1965; 沢田・尾塔, 1969; 木船, 1978; Nagasawa *et al.*, 2013)。大型の吸虫類が魚類の腹腔内に寄生した場合に、こうした共通した症状が見られることは、それを惹起する共通のメカニズムがあると考えられる。なお、養殖カンパチに寄生する「ヒルディネラ類吸虫」は、「カンパチが終宿主として適当でないため、カンパチ体内で成熟できずに体内を移動し続ける」という (山下ら, 2012)。

今回、*Hirudinella* sp. を得たクロマグロ幼魚の由来に関する詳細な情報を得ることはできなかったが、現場の状況に基づくと天然種苗と判断された。*Hirudinella* 属吸虫類の生活史に関する知見は極めて限られているが、外洋性甲殻類が宿主として生活史の中に含まれている可能性が示唆されている (Calhoun *et al.*,

2013)。したがって、*Hirudinella* sp. の寄生を受けていたクロマグロは、飼育される以前に、外洋でそうした甲殻類宿主を餌生物として捕食することによって感染を受けたかも知れない。

Hirudinella 属吸虫類は、カマスサワラやマグロ属魚類など大洋を回遊する魚類の寄生虫として知られている(例えば Nigrelli and Stunkard, 1947; Iversen and Hoven, 1958; Nakamura and Yuen, 1961; Raju, 1962; Watertor, 1973; Mancooh and Hogarth 1983; Lester *et al.*, 1985; Eggleston and Bochenek, 1990; Jones, 1991; Dyer *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 2004; Felizardo *et al.*, 2013; Raja *et al.*, 2014)。わが国では、人工種苗に加えて、野生クロマグロ幼魚を捕獲して飼育することが行われているので、野生寄生虫の養殖場への持ち込み実態を知るためにも、何らかの機会に野生クロマグロ幼魚における *Hirudinella* sp. の寄生状況を調査することが望まれる。

謝 辞

文献入手に当たり、大分県農林水産研究指導センター水産研究部の本本圭輔博士の支援を得た。記して感謝する。

引用文献

- Calhoun, D. M., Curran, S. S., Pulis, E. E., Provaznik, J. M., Franks, J. S., 2013. *Hirudinella ventricosa* (Pallas, 1774) Baird, 1853 represents a species complex based on ribosomal DNA. *Systematic Parasitology*. **86**: 197-208.
- Dyer, W. G., Bunkley-Williams, L., Williams, Jr., E. H., 1997. Parasites of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in Puerto Rico. *Journal of the Helminthological Society of Washington*. **64**: 188-194.
- Eggleston, D. B., Bochenek, E. A., 1990. Stomach contents and parasite infestation of school bluefin tuna *Thunnus thynnus* collected from the Middle Atlantic Bight, Virginia. *Fishery Bulletin*. **88**: 389-395.
- Felizardo, N. N., Knoff, M., Torres, E. J. L., Pimenta, E. G., de Amorim, A. F., Gomes, D. C., 2013. *Hirudinella ventricosa* (Trematoda) parasitizing *Makaira nigricans* and *Acanthocybium solandri* from neotropical region, Brazil. *Neotropical Helminthology*. **7**: 75-82.
- Gibson, D. I., 2002. Family Hirudinellidae Dollfus, 1932. In “*Keys to the Trematoda, Volume 1*”, Eds., Gibson, D. I., Jones, A., Bray, R. A., CABI Publishing, Wallingford: 375-378.
- Gibson, D., 2015. *Hirudinella ventricosa* (Pallas, 1774) Baird, 1853. World Register of Marine Species at <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=109357>. Accessed on 10 September 2015.
- Ishimaru, K., Mine, R., Shirakashi, S., Kaneko, E., Kubono, K., Okada, T., Sawada, Y., Ogawa, K., 2013. Praziquantel treatment against *Cardicola* blood flukes: determination of the minimal effective dose and pharmacokinetics in juvenile Pacific bluefin tuna. *Aquaculture*. **402**: 24-27.
- Iversen, E. S., Hoven, E. E., 1958. Some trematodes of fishes from the central Equatorial Pacific. *Pacific Science*. **12**: 131-134.
- Jones, J. B., 1991. Movements of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) in the South Pacific: evidence from parasites. *Marine Biology*. **111**: 1-9.
- 木船悌嗣, 1978. 九州矢部川産ムギツクより見出された *Isoparorchis hypselobagri* (Billet, 1898) について. *福岡大学医学部紀要*. **5**: 107-110.
- Kishinouye, K., 1923. Contributions to the comparative study of the so-called scombroid fishes. *Journal of the College of Agriculture, Imperial University of Tokyo*. **8**: 293-475.
- Lester, R. J. G., Barnes, A., Harib, G., 1985. Parasites of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*: fishery implications. *Fishery Bulletin*. **83**: 343-356.
- Mancooh, III, C. S., Hogarth, W., 1983. Stomach contents and giant trematodes from wahoo, *Acanthocybium solandri*, collected along the south Atlantic and Gulf coasts of the United States. *Bulletin of Marine Science*.

- 33: 227-238.
- Meng, F., Yokoyama, H., Shirakashi, S., Grabner, D., Ogawa, K., Ishimaru, K., Sawada, Y., Murata, O., 2011. *Kudoa prunusi* n. sp. (Myxozoa: Multivalvulida) from the brain of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* (Temminck & Schlegel, 1844) cultured in Japan. *Parasitology International*. **60**: 90-96.
- Munday, D. L., Sawada, Y., Cribb, T., Hayward, C. J., 2003. Diseases of tunas, *Thunnus* spp. *Journal of Fish Diseases*. **26**: 187-206.
- Nagasawa, K., 2011. *Caligus macarovi* (Copepoda, Caligidae) from Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, cultured in Japan. *Crustaceana*. **84**: 1145-1147.
- Nagasawa, K., 2015. Infection of *Brachiella thynni* (Copepoda, Lernaepodidae) on Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Actinopterygii, Scombridae), cultured in Japan. *Crustaceana*. **88**: 945-948.
- Nagasawa, K., Katahira, H., Nitta, M., 2013. *Isoparorchis hypselobagri* (Trematoda: Isoparorchidae) from freshwater fishes in western Japan, with a review of its host-parasite relationships in Japan (1915-2013). *Biogeography*. **15**: 11-20.
- Nakamura, E. L., Yuen, H. S., 1961. Incidence of the giant trematode, *Hirudinella marina* Garcin, in skipjack tuna, *Euthynnus pelamis* (Linnaeus), from Marquesan and Hawaiian waters. *Transactions of the American Fisheries Society*. **90**: 419-423.
- Nigrelli, F. R., Stunkard, H. W., 1946. Studies on the genus *Hirudinella*, giant trematodes of scombriform fishes. *Zoologica: Scientific Contributions of the New York Zoological Society*. **31**: 185-196.
- 小畑晴美, 2001. 平成12年度養殖魚類の検査から (南勢・伊勢志摩地域). 水産研究部だより: 1-6. 三重県科学技術振興センター水産研究部, 四日市市.
- Ogawa, K., Ishimaru, K., Shirakashi, S., Takami, I., Grabner, D., 2011. *Cardicola opisthorchis* n. sp. (Trematoda: Aporocotylidae) from the Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck & Schlegel, 1844), cultured in Japan. *Parasitology International*. **60**: 307-312.
- Raja, K., Venmathi Maran, B. A., Gopalakrishnan, A., Saravanakumar, A., Vijayakumar, R., Sinduja, K., 2014. Infestation of *Lernaenicus seeri* (Copepoda: Pennellidae) and *Hirudinella ventricosa* (Digenea: Hirudinellidae) on wahoo *Acanthocybium solandri* collected from Parangipettai, southeast coast of India. *Tropical Biomedicine*. **31**: 477-486.
- Raju, G., 1962. New records of the giant trematodes of the genus *Hirudinella* Garcin from Indian waters. *Journal of the Marine Biological Association of India*. **4**: 232-234.
- 澤田好史, 2010. クロマグロ養殖業 - 技術開発と事業展開 - 展望 - II-3. 現状と今後の動向. 日本水産学会誌. **76**: 971.
- 沢田 勇・尾塚順三, 1969. 奈良県産 *Zacco teminckii* (カワムツ) より発見された *Isoparorchis hypselobagri* (Billet, 1898) (Trematoda) について. 奈良教育大学紀要. **18** (2, 自然): 21-26, 2図版.
- 白樫 正, 2013. 養殖マグロにみられる寄生虫. 獣医寄生虫学会誌. **12**: 95-104.
- Shirakashi, S., Andrews, M., Kishimoto, Y., Ishimaru, K., Okada, T., Sawada, Y., Ogawa, K., 2012a. Oral treatment of praziquantel as an effective control measure against blood fluke infection in Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*). *Aquaculture*. **326**: 15-19.
- Shirakashi, S., Kishimoto, Y., Kinami, R., Katano, H., Ishimaru, K., Murata, O., Sawada, Y., Ogawa, K., 2012b. Morphology and distribution of blood fluke eggs and associated pathology in the gills of cultured Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*. *Parasitology International*. **61**: 242-249.
- Smith, P. J., Diggles, B., Kim, S., 2004. Evaluation of parasite markers to assess swordfish stock structure. Document (WCPFC-SC3-BI SWG/ IP-1) submitted to the Western and Central Pacific Fisheries Commission, 13 pp. National Institute of Water and Atmosphere Research, Auckland.
- Sugihara, Y., Yamada, T., Tamaki, A., Yamanishi, R., Kanai, K., 2014. Larval stages of the bluefin tuna blood fluke *Cardicola opisthorchis* (Trematoda: Aporocotylidae) found from *Terebella* sp. (Polychaeta: Terebellidae). *Parasitology International*. **63**: 295-299.

- 水産庁, 2015. 平成26年における国内のクロマグロ養殖実績について (速報値). http://www.jfa.maff.go.jp/j/press/saibai/150331_1.html
- 東京都市場衛生検査所 (編), 1989. 魚介類の寄生虫ハンドブック 第一巻. 東京都情報連絡室情報公開部都民情報課. 41 pp.
- Watertor, J. L., 1973. Incidence of *Hirudinella marina* Garcin, 1730 (Trematoda: Hirudinellidae) in tunas and from the Atlantic Ocean. *Journal of Parasitology*. **59**: 207-208.
- Williams, Jr., E. H., Bunkley-Williams, L., 1996. *Parasites of Offshore Big Game Fishes of Puerto Rico and the Western Atlantic*. Sportfish Disease Project, Department of Marine Sciences and Department of Biology, University of Puerto Rico, Mayagüez, Puerto Rico. 382 pp.
- Yamaguti, S., 1938. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 24. Trematodes of fishes, V. *Japanese Journal of Zoology*. **8**: 15-74, 9 pls.
- 山本尚俊, 2012. マグロ養殖業の歴史的展開と今後の展望. 長崎大学水産学部研究報告. **93**: 59-77.
- 山下次郎・西田 弘, 1965. カムルチーの筋肉内から発見された *Isoparorchis trisimilitubis* Southwell, 1913 に就て. 北海道大学農学部邦文紀要. **2**: 160-163.
- 山下亜純・岩田一夫・村瀬拓也・小川和夫・事務局, 2012. ヒルディネラ類様吸虫による幼虫移行症 (Hirudinellid larva migrans). 「養殖カンパチの魚病診断マニュアル」, 養殖衛生対策推進協議会, 東京都: 97-98.
- 柳 宗悦・今岡慶明, 2015. 魚病総合対策事業 (養殖衛生管理体制整備事業). 平成 25 年度事業報告書: 237-244. 鹿児島県水産技術開発センター, 指宿市.
- Zhang, J., Meng, F., Yokoyama, H., Miyahara, J., Takami, I., Ogawa, K., 2010. Myxosporean and microsporidian infections in cultured Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in Japan. *Fisheries Science*. **76**: 981-990.

A giant trematode *Hirudinella* sp. in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, cultured in Japan

Kazuya NAGASAWA

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan*

Abstract A trematode identified macroscopically as *Hirudinella* sp. was found free in the body cavity of a young individual (197 mm standard length) of Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel, 1844), cultured in coastal waters of the Bungo Strait (western North Pacific Ocean) off Oita Prefecture, Kyushu, western Japan. When found, the trematode was pale purple in color and as big as 34 mm long. This finding represents the first record of *Hirudinella* sp. from *T. orientalis*. The infected fish showed no external disease sign, but part of the surface of its visceral organs around the trematode was black-colored. The fish probably had become infected by the trematode in the ocean before it was farmed.

Key words: fish parasite, *Hirudinella* sp., mariculture, Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, trematode

瀬戸内海の河口干潟域で確認されたトラフグ稚魚による 刺毒魚アカエイの捕食

重田利拓^{1), 2)}・古満啓介³⁾・山口敦子³⁾・富山 毅²⁾・坂井陽一²⁾・斉藤英俊²⁾

¹⁾ 水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所, 〒739-0452 広島県廿日市市丸石2-17-5

²⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

³⁾ 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科, 〒852-8521 長崎市文教町1-14

要 旨 瀬戸内海の河口干潟域で、トラフグ *Takifugu rubripes* 稚魚による刺毒魚アカエイ *Dasyatis akajei* の捕食を初めて確認した。2012年9～11月と2014年10月に、山口市樫野川河口で採集したトラフグ27個体 (9.8～14.0cm SL, 11.9～17.5cm TL) の食性を調査し、2012年10月に採集した1個体 (12.1cm SL, 15.1cm TL) の消化管内容物からアカエイ1個体を同定した。アカエイ被食部位は、尾部を含めた体後部で、計40個の断片として検出された。異なる2通りの復元方法により、体盤幅はそれぞれ 11.1 ± 2.4 cm ($\pm 95\%$ 信頼区間)、 12.8 ± 3.7 cm (同) と推定された。被食量は、前者ではアカエイ体重の18.6%、後者では11.8% に及ぶと考えられた。

キーワード : アカエイ, 河口, 食性, トラフグ, 干潟, *Takifugu rubripes*

1. 緒言

日本のトラフグ *Takifugu rubripes* の資源状態は著しく悪化しており、その漁獲量の概ね6割(2008～2011年、農林水産省大臣官房統計部 (2010, 2011, 2012, 2013) および下関市産業経済部水産課 (2013) より算出) が集荷され長期的な漁獲量の指標となる山口県下関市唐戸・南風泊市場における取扱量は、ピーク時の1987年の1,841t (下関市農林水産部水産課, 1988) から、2013年には過去最低水準である111t (下関市農林水産振興部水産課, 2014) にまで激減している。瀬戸内海では、長期の統計のある広島県においても、その漁獲量は1987年の287t をピークに、その後減少を続け、2011年には、過去最低の7t を記録した前年の2010年に次ぐ、僅か10t にまで激減している (中国四国農政局広島統計情報事務所, 2002; 農林水産省大臣官房統計部, 2013)。このような著しい資源状態の悪化を受けて、本種の繁殖場と着底・成育場の一つがある有明海を有する長崎県では、絶滅の恐れのある地域個体群 (LP) として、本種がレッドデータブック (リスト) に掲載された (長崎県レッドデータブック編集委員会・長崎県環境部自然環境課, 2012)。

本種の資源状態は極めて悪化していることから、資源の回復・再生が切望されている。本種の稚魚は、繁殖場周辺の河口干潟を成育場としており、晩秋までそこで生活する (松浦, 1997)。干潟域では本種はベントスを主な餌資源としていること (田北・Intong, 1991; 山口県, 2002; 重田・薄, 2012)、成育場である干潟の餌環境とトラフグ漁獲量には密接な関係が示唆されること (重田, 2012) より、本種の干潟での採食を中心とした生態の把握が極めて重要である。

今回、河口干潟域で採集したトラフグ稚魚の食性を調べたところ、アカエイ *Dasyatis akajei* の捕食が判明した。これまで、河口干潟域において、強い刺毒を持つアカエイ (伍ら, 1999) を捕食する魚類はいないものと考えられてきた。本報では、瀬戸内海の河口干潟域において、トラフグ稚魚によるアカエイの捕食を初めて確認したので、その詳細を報告する。

II. 材料と方法

1. 標本の採集と形態学的分析

第1筆者らは2005年より、瀬戸内海周防灘の山口県山口湾と最大流入河川である山口市樅野川河口において、本種を含む干潟域の魚類の生態調査を実施している。前所はかつてのアサリ漁場で（近年はほとんど獲れない）、後所はヤマトシジミ漁場である。トラフグ標本は、後所において、2012年9～11月と2014年10月の昼間に釣りにより採集した27個体である。定量的に採集するため、1回3時間前後を目安として、1人が竿2本（竿1本に1～2個の針を装着）の使用とし、餌はアオゴカイ *Perinereis aiubuhitensis* を用いた。また、開始時刻と終了時刻、採集人数、および採集物の個体数等を記録した。ハリスのナイロン糸がきれいに切断され、トラフグの存在が示唆された場合は、切断防止のため直ちに竿1本をワイヤーハリスに交換した。採集したトラフグ標本は研究室に持ち帰り、以下の分析に供した。

トラフグの計数・計測方法は Hubbs and Lagler (1958) に、アカエイは中坊・中山 (2013) 従った。標本の計測と解剖は生鮮時に行い、長さはデジタルノギスを使用し0.01mm 単位で、体重など重量は電子天秤を使用し0.001g 単位で計測した。トラフグの消化管は重量を計測の後、10% 中性緩衝ホルマリンで固定保存した。後日、食性分析の直前に、固定による重量の変化を補正するため、これら消化管を再計測した。トラフグの口幅は上顎歯最奥の外側の幅とし、デジタルノギスを用いて0.01mm 単位で計測した。トラフグ解剖後の魚体は -40℃ で冷凍保存し、後日、解凍し左右の耳石（扁平石）を摘出した。

採集場所の東隣の秋穂湾では、2012年から2015年現在までの毎年、山口県がトラフグの種苗放流を実施している。2012年には13.3万個体を放流し（水産総合研究センター, 2014）、4.6万個体の耳石にはアリザリンコンプレクソン（ALC）による標識が施され、さらに、このうち1.5万個体に右胸鰭カットによる二重標識が施されている（山口県, 2012; 馬場, 私信）。2014年には18.5万個体を放流し、同じく、4.8万個体の耳石には ALC による標識が、このうち1.5万個体に右胸鰭カットによる二重標識がなされている（山口県, 2014; 山口県栽培漁業公社, 2015; 金近, 私信）。そこで、天然個体と放流個体を形態学的に可能な限り区別するため、各標本について、1. 左右の胸鰭の標識、2. 尾鰭の形態異常、3. 背部の焼印（山口県では2003～2008年まで標識が施されていた（松野・木村, 2007; 木村, 私信））、4. 左右の鼻孔隔皮欠損、5. 他の外部形態異常（背鰭、臀鰭、体型など）、6. 左右の耳石の ALC とテトラサイクリン（TC, 他所では標識として使用）標識、7. 左右の耳石の形態異常の計7形質の有無を調べ、これらのいずれかを有する個体を放流個体とした。摘出した耳石の分析について、実体顕微鏡下でその形態異常の有無を調べるとともに、蛍光顕微鏡下で B 励起フィルターを使用した蛍光観察を行い、ALC や TC 標識の有無を調べた。

2. 食性分析

食性分析にはトラフグ全27標本を用いた。フグ科の本種は胃の発達が悪く、直線状の円筒形を呈する I 型（赤崎, 1987）であるが、本種は捕食した餌生物を一遍に飲み込み、直線状の胃とされる部位を通り越して、消化管第一屈曲に達する（採集時の針が同所にまで達している）こと、実際、新鮮な餌生物の多くがこの第一屈曲を越えて検出されることが判明した。そこで、消化管第二屈曲までの消化管（以降、消化管前半部とする）内容物について、内容物全重量を0.001g 単位で計測するとともに、実体顕微鏡下にて、餌生物の同定を行った。主に、魚類、貝類については種レベルで、アナジャコ類は属レベルで、多毛類、端脚類は科レベルで、その他は綱、目、あるいは下目レベルで同定した。同定は、魚類（アカエイ）は山口ら (2013) と古満・山口 (2010) に、貝類は奥谷 (2000) に、貝類と寄生虫を除く海産無脊椎動物は西村 (1992, 1995) に、寄生虫は江草 (1988) に従った。同定の後、必要な動物について、体サイズを目盛り付シャーレを用いて0.1mm 単位で計測した。全ての消化管内容物について、出現した餌生物はもとより、小石、粘液、高度消化物に至るまで、種、科など分類群毎あるいは必要に応じて個体毎に0.1mg 単位で重量を計測した。

トラフグは門歯状歯を持ち、餌生物の多くが切断された状態で検出された。本種の捕食可能な餌サイズの把握のため、餌断片の最大長を計測するとともに、餌個体の復元を図りその体サイズを計測した。

消化管第二屈曲以降（以降、消化管後半部とする）については、消化管前半部と概ね同様に行ったが、消化が進んでいるため餌生物毎の重量は計測していない。また、甲殻類、貝類など硬い殻を持ち消化の影響が

認められない餌生物のみを、体サイズの計測対象とした。

消化管内容物の重量は、固定による重量変化を求めた係数で補正した。すなわち、1.176を乗ずることに
より、固定後の減重を補正した。

消化管前半部内容物重量指数 (SCI) は以下の通り求めた。

$SCI = (SW/BW) \times 100$ ここで、SW：消化管前半部内容物重量 (g)、BW：体重 (g) である。

3. 被食アカエイの体サイズと量の推定

トラフグが捕食していたアカエイの部位から、被食されたアカエイの体サイズの推定を行った。推定は以下の異なる2通りの方法 (1. 尾部から尾棘始部間の距離, 2. 尾棘長) で行った。推定1. 尾部から尾棘始部間の距離による方法では、トラフグが捕食していたアカエイの尾部を復元し、アカエイの背部から見て、尾と腹鰭の会合部から尾棘始部間の距離 (Fig.1A) より、被食されたアカエイの体サイズを推定した。推定の基となるアカエイ標本は、標本写真の画像計測による6標本と、標本の実測値による1標本である。前者は、2006年9月～2008年9月に榎野川河口で釣りにより採集した体盤幅 (DW) 13.8～28.7cmの6個体で、生物学的計測の後、標本写真を撮影したものである。計測にはPCソフトである Adobe Acrobat XI Pro (アドビシステムズ) の画像計測機能を使用した。後者は、2004年7月に広島湾の山口県周防大島町和田において刺網で採集され、ホルマリン固定保存されていた18.7cm DWの1標本である。これら7標本を用いて、計測部位の比率より、体盤幅を推定した。体盤幅は推定値±95%信頼区間で表した。なお、体盤長 (DL) と体盤幅の比率は、2006年9月～2013年6月に榎野川河口で釣りにより採集した13.8～28.7cm DWの8個体、2009年8月に山口湾で釣りにより採集した13.3cm DW、13.7cm DWの2個体、2009年4月に広島湾大野瀬戸で刺網により採集された19.1cm DWの1個体、および2004年7月に周防大島町和田で刺網により採集された18.7cm DWの1個体の計12個体のデータを用いた。推定2. 尾棘長による方法では、推定の基となるアカエイ標本は、2003年11月～2013年9月にかけて、有明海沿岸や長崎県野母崎半島地先であんこう網、刺網、底曳き網および定置網により採集し30.0cm DW未満であった10.5～29.9cm DWの211標本を用いた。体盤幅と尾棘長 (複数の場合は第1棘) を計測した。年齢が増すに従い、尾棘を損傷し短くなった個体が出現することが考えられ、

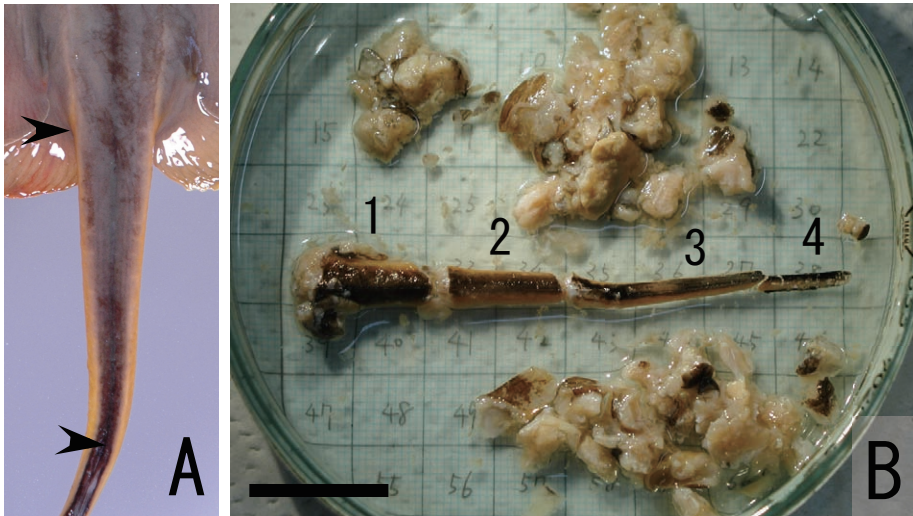


Fig. 1. Photographs of two parts of fishes that were collected from the estuary of Fushino River in Yamaguchi city, western Seto Inland Sea.

A: dorsal view of the posterior part of a Whip stingray, *Dasyatis akajei*, 13.8cm DW collected in September 2006. Two arrows show the measurement portion used for calculating disc width. B: all contents in the anterior part of the gut of a juvenile Tiger pufferfish, *Takifugu rubripes*, 12.1cm SL collected in October 2012. The pieces of No.1-4 which has been restored to the original condition are identified as the caudal portion of *D. akajei*. Scale bar shows 2cm.

事実、19.8cm DW 以上では、そのような個体が出現するようになる（後述）。そこで、できる限りこれらの個体を分析から除くため、以下の処理を行った。まず、尾棘長と体盤幅との関係を一次回帰で表し、その個々の値の95%信頼区間を求めた。ここで、上限区間外となる個体を分析から外した。次に、残った個体について、いずれかの個体が下限区間外となるまで、同様の方法を繰り返した。その結果、3回目で、正常と考えられる尾棘長73.9mm、25.7cm DW の1個体が初めて下限区間外となった。そこで、2回目までに95%信頼区間に残った190個体を用いて関係式を作成し、体盤幅を推定した。体盤幅は、推定値±個々の値の95%信頼区間で表した。

被食されたアカエイ体部位の量について、推定の基となるアカエイ標本は、既述の体盤長と体盤幅の比率を求めたものと同じ計12個体のデータから、2004年7月の周防大島町和田の1個体を除き、新たに2006年9月と10月に榎野川河口で釣りにより採集したそれぞれ13.6cm DL、16.9cm DL の2個体を加えた計13個体のデータを用いた。これらより体盤長と体重との関係式を求めた。

4. 採集場所におけるトラフグとアカエイの生息状況と環境

榎野川河口の採集場所において、採集時のトラフグとアカエイの生息状況を定量的に把握するため、それぞれの単位努力量あたり採集個体数（CPUE：個体/3時間/人）を求めた。CPUE は平均値±標準偏差で表した。採集場所では、2週間～1ヶ月に1回、大潮前後の昼間の満潮時に、海水温と塩分の計測を実施している。計測は、携帯型水温・塩分・DO 計（YSI, Model 85）を用いた。なお、2012年について、重田ら（2013）の Fig.3 に図示している。

本報で用いた学名と和名について、魚類は中坊（2013）に、貝類は奥谷（2000）に、貝類と寄生虫を除く海産無脊椎動物は西村（1992, 1995）に、寄生虫は江草（1988）に、鳥類は日本野鳥の会広島県支部（1998）に従った。なお、トラフグ消化管内容物のアカエイについて、同定や体サイズ推定の証拠となる尾部の標本（Fig.1B の1, 2, 3および4）が、広島大学総合博物館に保管されている（標本番号；HUM-I-1656）。

Ⅲ. 結果と考察

1. アカエイを捕食したトラフグの特徴と食性

今回、アカエイの捕食が確認されたトラフグは、2012年10月11日に採集した体長（SL）12.1cm、全長（TL）15.1cm、体重72.3g の1個体で、右側に鼻孔隔皮欠損、背鰭に形態異常を有することから放流個体と判定された。本個体の採集日直近の底層水温は23.7℃、塩分は25.0psu であった（2012年9月30日、水深2.2m）。採集されたトラフグ全27個体のうち、アカエイが検出されたのは本個体のみであった。本個体の消化管内容物、特に消化管前半部ではとても多く、SCI は8.8% の高値を示した。Fig.1B に全ての消化管前半部の内容物を示す。Fig.1B の4は膨張囊より検出された唯一の内容物で、消化管前半部内容物として取り扱った（種同定の証拠として、これのみ左側を撮影）。Fig.1B の1, 2, 3および4は復元されたエイ上目の尾部である。これら4個の連続断片は、腹鰭後部から尾棘先端を経てその後方までの部位で、長さは7.9cm、左右両縁が鋸歯状の尾棘1本を有していた。尾部は鞭状で尾棘を持つことからトビエイ目である。さらに、尾部背正中線と腹正中線に皮褶を持ち、後者は外縁を含め一様に黒色を呈すること、瀬戸内海での採集であることより、アカエイ科のアカエイに同定された。アカエイは、29個の肉・内臓片と上記の4個の尾部片の計33個の断片として、概ね大きな1塊として検出された。アカエイの被食部位は、尾部を含めた体後部やその内臓であった。他は、魚類の眼のレンズが1個検出されたのみで、アカエイは全重量の100.0% を占めた。消化管後半部内容物は消化が著しいが、アカエイの肉・内臓片の続き計7個が1塊として（これらは消化が進んでいない）、アナジャコ属の鉗脚、脚、胴体の1塊（1個体）、多毛類のゴカイ科の顎が1対（1個体）と多毛類剛毛が少し、短尾類の鉗脚1個、および腸内寄生性の鉤頭虫1個体が同定され、残りは高度消化物であった。これまで、河口干潟域において、強い刺毒を持つアカエイを捕食する魚類は知られておらず、今回、トラフグ稚魚がアカエイを捕食することが初めて明らかになった。

本個体による1噛みの採食可能な餌サイズを推定するため、消化管前半部内容物のアカエイ断片全33個について、29個の肉・内臓片のうち比較的大小の大きな12個と、尾部を形成する4個の最大長の分布を Fig.2

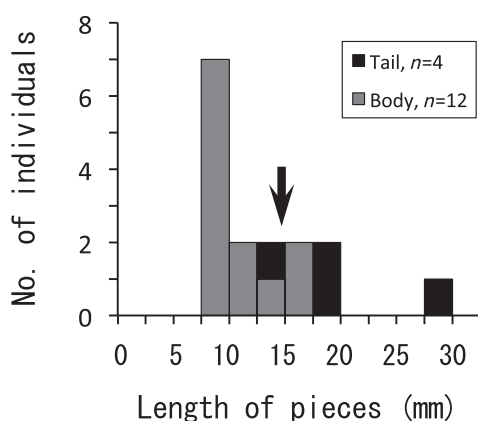


Fig. 2. Size distribution of the large-sized *D. akajei*'s body pieces which were detected in the gut contents of the juvenile Tiger pufferfish, 12.1cm SL. The arrow shows the mouth width of the pufferfish.

に示した。本個体の口幅は14.3mmであった。尾部を除いて、概ね口幅前後以内の大きさであり、口器の門歯で噛み切り採食することが分かる。一方、尾部の4個は、サイズの大きな12個の肉・内蔵片と比べても有意に大きく (t 検定, $t=3.87$, $df=14$, $P<0.01$), 4個のうち、3個は口幅よりも大きい。しかし、これらは棒状であり、捕食できたものと考えられる。

採集されたトラフグ全27個体では、9.8~14.0cm SL, 11.9~17.5cm TLであった。このうち、放流個体が85%を占めた。山口県ではクルマエビ養殖場(干潟)を利用した中間育成により、より天然個体に近いトラフグ種苗を育成していることから(山口県, 2012; 2014), 標識を施していなければ天然個体との識別が困難になりつつある。従って、実際の占有率はさらに高いと考えられる。採集場所の樫野川河口では、その東隣の秋穂湾で山口県が本種の種苗放流を開始した2012年以降に、本種が頻繁に採集されるようになったこと、27個体中に占める2種類の標識(ALC, 胸鰭カット)個体の割合より、全て放流個体としても有意に矛盾がないこと(2012年, ALC標識率5/18, χ^2 検定, $\chi^2=0.37$, $df=1$, $P>0.05$, 胸鰭カット率3/18, $\chi^2=0.52$, $df=1$, $P>0.05$; 2014年, ALC標識率1/9, $\chi^2=1.0$, $df=1$, $P>0.05$, 胸鰭カット率1/9, $\chi^2=0.11$, $df=1$, $P>0.05$), 同所における2005年からの調査(2012年以降を除く)および1979年からの第1筆者の魚類採集経験でも本種はほとんど採集されなかったこと、瀬戸内海西部では関門内海に本種の繁殖場があることが知られ(松浦, 1997), 第1筆者らのこれまでの調査では、本種稚魚の主要な着底・成育場は繁殖場から20km圏内、広くとも40km圏内の干潟に限られるようであり(重田・薄, 2012), 同所は40km圏の境界付近となり主要な着底・成育場ではないと考えられることより、同所で採集される多くは放流個体と考えられる。なお、中島(2011)は、伊勢湾では小型底曳き網、熊野灘では大型定置網で採集された、成長し干潟域から深所へ移動したやや体サイズの大きなトラフグ未成魚(0才魚, 13~27cm SL)の食性を調べ、天然個体と放流個体で食性に差は認められなかったとしている。

2. 被食されたアカエイの体サイズと量の推定

次に、このトラフグが捕食したアカエイ個体の体サイズや被食量について検討した。被食部位やその量により、トラフグによるアカエイの採食行動が推定できる。まず、被食されたアカエイの体サイズを推定した。推定1. 復元したアカエイの尾と腹鰭の会合部から尾棘始部間の距離は36.7mmであった。推定の基とした7標本について、体盤長は同間距離の2.739 \pm 0.597倍($n=7$)であった。従って、本個体の体盤長は10.0 \pm 2.2cmと推定された。体盤幅は体盤長の1.11倍($n=12$)なので、被食されたアカエイの体盤幅は11.1 \pm 2.4cmである。推定2. 本個体の尾棘長は23.2mmであった。推定の基となる尾棘長と体盤幅との関係をFig.3に示す。年齢の増加に伴い、尾棘を損傷した個体が出現するようになると考えられ、19.8cm DW以上では体サイズに比べて尾棘長が有意に短い個体が出現している。これら21個体(Fig.3の灰色点)を除いた190個体(Fig.3の黒

色点)では、 $DW = 0.343 \cdot LS + 4.867$ の1次回帰式で表された ($r=0.935$, $n=190$, $P<0.01$)。ここで、DW: 体盤幅 (cm), LS: 尾棘長 (mm) である。従って、被食されたアカエイの体盤幅は 12.8 ± 3.7 cmと推定された。やや信頼区間が広いが、これは尾棘長の分布幅がやや広いことによるもので、特に尾棘長30mm以上では顕著である。推定1, 2とも推定値は互いの信頼区間内であり、推定は妥当なものと言えよう。強いて言えば、推定1は断片の復元によるため、小さめに推定された可能性がある。アカエイは、5~8月に内湾の浅い砂泥底で体盤幅10cm前後の胎仔を5~10個体出産すること、出産直後の幼魚は体盤背腹両側とも一様に淡褐色であること、出産2~3日後から摂餌を開始すること (西田, 1997)、幼魚はしばらくの間、餌の豊富な干潟・河口域で成育すること (山口, 2009) が知られる。本被食個体の推定体盤幅は11~13cm前後であること、採集は10月であり産仔期の後であることより、採集年 (2012年) に生まれた幼魚である。

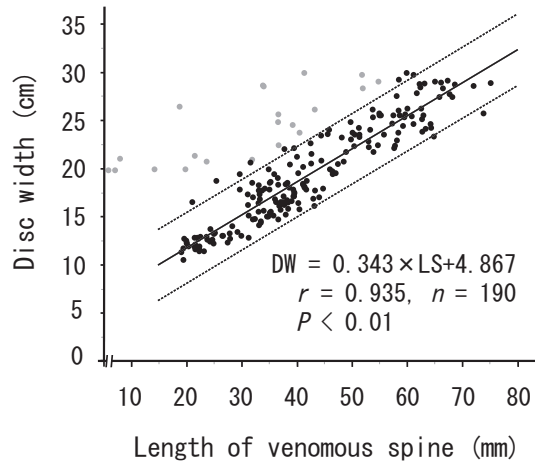


Fig. 3. Correlation between the length of the venomous spine and the disc width of *D. akajei*. The solid line indicates the regression line. The dotted line shows the 95% confidence interval for the value of individuals. Black circles: used individuals for the analysis. Gray circles: unused individuals for the analysis.

次に、このトラフグが捕食したアカエイ個体の被食量について検討した。推定の基となるアカエイ標本について、体盤長と体重との関係は、 $BW=2.574 \times 10^{-2} \cdot DL^{3.209}$ の、べき乗回帰式で表された ($r=0.998$, $n=13$, $P<0.01$)。ここで、BW: 体重 (g), DL: 体盤長 (cm) である。従って、11.1cm DW (推定1) では体重41.6g, 12.8cm DW (推定2) では体重65.8gとなる。トラフグの消化管前半部のみでも、アカエイ個体のそれぞれ15.3%, 9.7%に相当する。アカエイ肉・内臓片は消化管後半部でも7個が検出されたが、これらは個別には重量を計測していない。前半部で検出された部位に先立ち捕食した部位であり、消化の程度、サイズともに前半部のものと大差は無い。ここで、前半部におけるアカエイ肉・内臓片1個あたりの重量を適用すると、このトラフグによる捕食総量は、被食アカエイ個体のそれぞれ18.6%, 11.8%に及ぶと考えられる。

3. 採集場所におけるトラフグとアカエイの生息状況と相互関係

以上の結果を総合すると、トラフグ単独の採食の場合、アカエイへの採食行動は次のように考えることができよう。すなわち、トラフグは自らの体サイズと同じかやや小さなアカエイを捕食対象とする。次に、何らかの方法で被食個体に致命傷を与える。こうして弱ったところを、尾部を含めた体後部を噛み切って捕食すると考えられる。外洋では、シユモクザメ類が、毒棘を持つアカエイ類やトビエイ類の天敵としてよく知られる (Strong *et al.*, 1990)。ヒラシユモクザメ *Sphyrna mokarran* は、特徴的なT字型の頭部でエイを押さえつけ、左右から回り込んでその胸鰭を捕食するという。さらに、有明海では、サメ類とエイ類の漁獲量には、長期にわたり量的な相互関係があることが指摘されている (山口, 2009)。今後、トラフグによるアカ

エイの採食行動を明らかにするためには、より多くの個体を調査する必要があるだろう。さらに、飼育実験等による採食行動の観察も必要である。

今回、調査を行った樫野川河口では、トラフグの CPUE は2012年 2.89 ± 1.69 ($n=8$), 2014年 2.06 ± 2.65 ($n=8$) で比較的高い値を示し、両年で有意な差は認められなかった (t 検定, $t=-0.741$, $df=14$, $P>0.05$)。既往のとおり、2012年以降に、同所で本種が頻繁に採集されるようになった。一方、今回、捕食が初めて明らかになったアカエイは本調査では全く採集されず、CPUE は両年とも0 (2012年, $n=8$; 2014年, $n=8$) であった。トラフグの食性分析では、アカエイの検出は1個体に止まったが、これは2012, 2014両年のアカエイ生息個体数が少なかったことが原因の可能性もある。アカエイは年によっては CPUE が2前後の高い頻度で採集されることから (重田ら, 未発表), アカエイが多い環境下ではトラフグの食性がどのように変化するか興味深いところである。

生態的に魚類の生活史戦略の視点からは、成長し生存を高める体組織に関わる努力と、繁殖の成功度を増加させる繁殖努力という二つの大きな要素があり、これらへのエネルギー配分が重要となる (グロス・前川, 1989)。魚類ではこのエネルギーを採食により獲得している。干潟生活期のトラフグ稚魚では、繁殖努力への投資はほぼ不要であることから、前者へ集中的に投資していると言える。すなわち、競争相手の多い干潟域において、アオギス *Sillago parvisquamis* (キス科) (重田・薄, 2011) と同じく、速く成長する戦略を取ることでより生存してきたものと考えられる。速い成長の実現には、より多くの採食が不可欠である。通常は、活発で目立つ採食行動は捕食リスクを増大させる。ところが、トラフグはフグ毒を持つ有毒魚であることから (橋本・野口, 1991), さらに多くのエネルギーを成長へ向けることが可能である。捕食リスクが低く、かつ、幅広い餌資源を利用できるのであれば、最適採餌理論の視点からは、動物は採食に要したコストに対して最大の利益をもたらすような採食行動を取る (佐原, 1987), 効率よく最大のエネルギーを獲得できる餌生物を捕食するはずである。今回の樫野川河口のトラフグ全27個体のうち、消化管内容物が全く検出されなかった5個体を除くと、59%の個体が魚類を捕食していた (重田ら, 未発表)。口や眼の周辺のみ魚類頭部が検出されるなど、本報の被食アカエイと同じく、トラフグの素早く活発な採食行動が示唆されるものであった。成長に伴い魚類を利用できるのであれば、一般的に魚類は体サイズが大きく獲得エネルギー量が多いので魅力的な餌資源である。さらに、単位重量 (可食部100g) あたりのエネルギー量も、干潟域のベントスである二枚貝 (アサリ) で30kcal, 甲殻類で65kcal (ガザミ), 97kcal (クルマエビ) であるのに対して、魚類は概ね高く、同所的に生息する浮魚のコノシロ *Konosirus punctatus* で160kcal, 底魚のエイ (アカエイ, ガンギエイ等) で84kcal である (文部科学省, 2015)。そこに、トラフグとアカエイ間の知られざる生物間の相互関係が展開される必然性が生ずるのである。

本報の執筆に際し、驚くべきことに、河口干潟域では鳥類もアカエイ幼魚を捕食するとの情報を得た。インターネット上では、バードウォッチャーによって、カワウ *Phalacrocorax carbo* (ウ科) やアオサギ *Ardea cinerea* (サギ科) によるアカエイ幼魚の採食行動が数多く撮影されている。鳥類研究者の間では、カワウではよく知られた事実 (行動, 食性とも) であるが、論文報告は見当たらないようである (市橋, 私信; 福田, 私信; 濱尾, 私信)。東京湾周辺ではカワウによるアカエイの捕食はしばしば観察され、アカエイはカワウの好物の一つとのことである (戸井田, 私信)。アカエイの産仔数は少なく (西田, 1997), 河口干潟域における本種を取りまく生息環境が、個体群 (資源) 動態に影響を与えている可能性がある。

本報では、河口干潟域のトラフグ稚魚の食性調査で明らかになった、トラフグ稚魚によるアカエイの捕食について詳細を記載報告した。瀬戸内海ではトラフグ, カレイ類など生活史の中で河口干潟域を利用するベントス食性魚種の資源の減少が甚だしい (重田, 2008)。これら重要資源の回復・再生のためには、生物間の相互関係を明らかにすることはもとより、それらを踏まえて、河口干潟域の生態系について全体的に捉え直す必要があるだろう。

謝 辞

トラフグを始め周防灘沿岸の魚類採集に尽力し、調査にご協力頂いた山口市の重田勝利氏, 重田潔子氏に深く感謝するとともに厚くお礼申し上げる。樫野川河口域での調査にご協力・情報提供頂いた山口県樫野川

漁業協同組合の田中 実氏, ならびに関係諸氏, 山口大学名誉教授の浮田正夫博士を始めとする樺野川河口域・干潟自然再生協議会, 山口県環境生活部の関係諸氏, トラフグに関する情報を頂いた山口県漁業協同組合王喜支店, 山口県漁業協同組合厚狭支店の関係諸氏, 山口および大分両県の周防灘沿岸の遊漁者諸氏, 元山口県水産研究センター内海研究部の木村 博氏, 松野 進氏, 山口県水産研究センター内海研究部の馬場俊典氏, 和西昭仁氏, ならびに関係諸氏, 山口県農林水産部水産振興課の金近哲彦氏, アカエイの採集の際にご協力頂いた長崎県島原漁業協同組合の吉田清之介氏, ならびに職員諸氏, 佐賀県有明海漁業協同組合芦刈支所の陣川武彦氏, 京都府舞鶴市の水嶋食料品店の水嶋喜代美氏, アカエイなど魚類の採集にご協力頂いた広島県大野町漁業協同組合の松本博和氏を始めとする関係諸氏, 山口県漁業協同組合東和町支店の伊藤和弘氏, 統計資料についてお世話になった山口県下関市農林水産振興部水産課の関係諸氏, 魚類耳石の処理についてお世話になったマリノリサーチの表 健一郎氏を始めとする関係諸氏, 蛍光顕微鏡の取り扱いについてご教示いただいた水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所の坂本節子博士, DNA シーケンスでお世話になった理研ジェネシス(元バイオマトリックス研究所)の天利(渡辺)史恵氏, ならびに関係諸氏, 鳥類と鳥類研究者について情報を頂いた水産総合研究センター中央水産研究所の市橋秀樹博士, カワウの生態について情報を頂いた元東京都葛西臨海水族園の福田道雄氏, カワウの採食行動と食性について情報を頂いた神奈川県水産技術センター内水面試験場の戸井田伸一氏, 鳥類に関する情報を頂いた国立科学博物館の濱尾章二博士, 魚類標本の登録に際し便宜を図って頂いた広島大学総合博物館の清水則雄博士, 研究を支援して頂いたアサリ資源全国協議会を構成する道県・水産総合研究センター等の関係各位, 神奈川県水産技術センターの工藤孝浩氏, データ入力等を手伝ってくれた水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所の田浦かおり氏, 本原稿への意見を頂いた水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所の首藤宏幸博士, 本報の掲載の機会を頂いた広島大学大学院生物圏科学研究科に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 赤崎正人. 1987. 消化器系. 「魚類解剖学」(落合 明編) 緑書房, 東京: 73-100 pp.
- 中国四国農政局広島統計情報事務所. 2002. 「広島県の漁業 漁業地区別累計統計表 昭和50年-平成12年 1975-2000」中国四国農政局広島統計情報事務所, 広島: 3+353 pp.
- 江草周三. 1988. 「魚病学〔感染症・寄生虫病篇〕」(江草周三編) 恒星社厚生閣, 東京: 403 pp.
- 古満啓介・山口敦子. 2010. 日本産アカエイ属魚類1種に対する新和名の提唱. *長崎大学水産学部研究報告*, **91**: 61-63.
- グロス, M. R.・前川光司. 1989. 魚類の繁殖戦略の進化. 「魚類の繁殖行動 - その様式と戦略をめぐって」(後藤 晃・前川光司編) 東海大学出版会, 東京: 161-201 pp.
- 橋本周久・野口玉雄. 1991. フグ毒. 「魚類生理学」(板沢靖男・羽生 功編) 恒星社厚生閣, 東京: 519-537 pp.
- Hubbs, C.L., Lagler, K.F., 1958. Fishes of the Great Lakes region. *Bull. Cranbrook Inst. Sci.* **26**: 1-213.
- 松野 進・木村 博. 2007. 関門海峡東側の山口県沿岸におけるトラフグの標識放流試験について. *山口県水産研究センター研究報告*, **5**: 55-61.
- 松浦修平. 1997. 生物学的特性. 「トラフグの漁業と資源管理」(多部田修編) 恒星社厚生閣, 東京: 16-27 pp.
- 文部科学省. 2015. 五訂増補日本食品標準成分表 [第2章]. 文部科学省ホームページ. http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu3/toushin/05031802/002.htm (2015年8月17日閲覧)
- 長崎県レッドデータブック編集委員会・長崎県環境部自然環境課. 2012. トラフグ. 「長崎県レッドデータブック2011 ながさきの希少な野生動植物 [普及版]」(長崎県レッドデータブック編集委員会・長崎県環境部自然環境課編) 長崎新聞社, 長崎: 200 pp.
- 中坊徹次. 2013. 「日本産魚類検索 全種の同定 第三版」(中坊徹次編) 東海大学出版会, 神奈川・秦野: 50+2431 pp.
- 中坊徹次・中山耕至. 2013. 魚類概説. 「日本産魚類検索 全種の同定 第三版」(中坊徹次編) 東海大学

- 出版会, 神奈川・秦野: 3-30 pp.
- 中島博司. 2011. 伊勢湾, 熊野灘に生息するトラフグ未成魚の移動, 成長および食性. *水産増殖*. **59**: 51-58.
- 日本野鳥の会広島県支部. 1998. 「ひろしま野鳥図鑑」(日本野鳥の会広島県支部編) 中国新聞社, 広島: 268 pp.
- 西田清徳. 1997. アカエイ科. 「日本の海水魚」(岡村 収・尼岡邦夫編) 山と溪谷社, 東京: 58-61 pp.
- 西村三郎. 1992. 「原色検索 日本海岸動物図鑑 I.」(西村三郎編) 保育社, 大阪: 106+425 pp.
- 西村三郎. 1995. 「原色検索 日本海岸動物図鑑 II.」(西村三郎編) 保育社, 大阪: 84+663 pp.
- 農林水産省大臣官房統計部. 2010. 平成20年漁業・養殖業生産統計年報 (併載: 漁業生産額): 217 pp.
- 農林水産省大臣官房統計部. 2011. 平成21年漁業・養殖業生産統計年報 (併載: 漁業生産額): 222 pp.
- 農林水産省大臣官房統計部. 2012. 平成22年漁業・養殖業生産統計年報 (併載: 漁業生産額): 222 pp.
- 農林水産省大臣官房統計部. 2013. 平成23年漁業・養殖業生産統計年報 (併載: 漁業生産額): 219 pp.
- 奥谷喬司. 2000. 「日本近海産貝類図鑑」(奥谷喬司編) 東海大学出版会, 東京: 48+1173 pp.
- 佐原雄二. 1987. 「魚類の採餌行動」東京大学出版会, 東京: 122 pp.
- 重田利拓. 2008. 瀬戸内海の魚類に見られる異変と諸問題. *日本水産学会誌*. **74**: 868-872.
- 重田利拓・薄 浩則. 2011. アオギス: 干潟再生のシンボルとして. *魚類学雑誌*. **58**: 104-107.
- 重田利拓. 2012. 干潟の餌環境の指標としてのアサリ資源の変動が瀬戸内海の魚類生産へ及ぼす影響に関する研究. *瀬戸内海*. **63**: 61-64.
- 重田利拓・薄 浩則. 2012. 魚類によるアサリ食害 - 野外標本に基づく食害魚種リスト -. *水産技術*. **5**: 1-19.
- 重田利拓・富山 毅・坂井陽一・斉藤英俊. 2013. 瀬戸内海山口湾で採集された準絶滅危惧種シヨウキハゼ *Tridentiger barbatus* (ハゼ科) の生息と産卵の確認. *生物圏科学: 広島大学大学院生物圏科学研究科紀要*. **52**: 35-43.
- 下関市農林水産部水産課. 1988. 昭和62年 下関市水産統計年報: 151 pp.
- 下関市産業経済部水産課. 2013. 2012年 下関市水産統計年報: 128 pp.
- 下関市農林水産振興部水産課. 2014. 2013年 下関市水産統計年報: 128 pp.
- Strong, W.R., Snelson, F.F., Gruber, S.H., 1990. Hammerhead shark predation on stingrays: An observation of prey handling by *Sphyrna mokarran*. *Copeia*. **1990**: 836-840.
- 水産総合研究センター. 2014. 平成24年度 栽培漁業・海面養殖用種苗の生産・入手・放流実績 (全国) ~資料編~: 381 pp.
- 田北 徹・Sumonta Intong. 1991. 有明海におけるトラフグとシマフグの幼期の生態. *日水誌*. **57**: 1883-1889.
- 伍 漢霖・金 鑫波・倪 勇(野口玉雄・阿部宗明・荒川 修・醍醐絹江・高田欣二・橋本周久監訳・訳). 1999. 「中国産有毒魚類および薬用魚類」恒星社厚生閣, 東京: 350 pp.
- 山口敦子. 2009. 有明海が育むサメ・エイ類. 「干潟の海に生きる魚たち - 有明海の豊かさと危機」(田北 徹・山口敦子編) 東海大学出版会, 神奈川・秦野: 33-64 pp.
- 山口敦子・青沼佳方・柳下直己・吉野哲夫. 2013. アカエイ科. 「日本産魚類検索 全種の同定 第三版」(中坊徹次編). 東海大学出版会, 神奈川・秦野: 220-226 pp., 1775-1776 pp.
- 山口県. 2002. 平成13年度 資源増大技術開発事業報告書 回帰型回遊性種 (トラフグ). (山口県・福岡県・長崎県・三重県・愛知県・静岡県・秋田県): 山口1-12 pp.
- 山口県. 2012. 報道発表: トラフグ稚魚に標識を付けて放流します. 2012年7月4日. 山口県ホームページ. <http://webnavi.pref.yamaguchi.lg.jp/press/?m=201207> (2015年6月9日閲覧)
- 山口県. 2014. 報道発表: トラフグ稚魚に標識を付けて放流します. 2014年6月25日. 山口県ホームページ. <http://www.pref.yamaguchi.lg.jp/press/201406/028198.html> (2015年8月17日閲覧)
- 山口県栽培漁業公社. 2015. トラフグ. 内海栽培漁業センター. 種苗生産現場. 山口県栽培漁業公社ホームページ. <http://www.ab.auone-net.jp/~yamasai/genba.html> (2015年8月17日閲覧)

***Takifugu rubripes* predation on the venomous stingray *Dasyatis akajei*: gut content evidence from an estuary in the western Seto Inland Sea, Japan**

Toshihiro SHIGETA^{1),2)}, Keisuke FURUMITSU³⁾, Atsuko YAMAGUCHI³⁾, Takeshi TOMIYAMA²⁾,
Yoichi SAKAI²⁾, and Hidetoshi SAITO²⁾

¹⁾National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, Fisheries Research Agency,
Hatsukaichi Hiroshima 739-0452, Japan

²⁾Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, Higashi-Hiroshima
Hiroshima 739-8528, Japan

³⁾Graduate School of Fisheries Science and Environmental Studies, Nagasaki University,
Nagasaki 852-8521, Japan

Summary

Tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* (Family: Tetraodontidae), is an important commercial fish in Japan. Landings of Tiger pufferfish at the Shimonoseki fish market, Yamaguchi Prefecture, where ca. 60% of the pufferfish caught in Japan is landed has decreased remarkably from 1,841 metric tons at the peak of catch in 1987 to 111 metric tons in 2013. This reduction in stock indicates the pufferfish population of Japan has reached a critical condition. As a result, the local population in Ariake Bay, East China Sea has been evaluated as an endangered local population by the Nagasaki Prefectural local government (Red List 2011, category: LP). Necessarily, it is desired that the resources should recover from the present state. It is known that juvenile tiger pufferfish grow in estuaries until late fall. They forage on small benthic animals there. Therefore, it is necessary to clarify the feeding habits of the juvenile pufferfish in the intertidal area in detail.

In this report, we clarified the predation on the Whip stingray, *Dasyatis akajei* by juvenile Tiger pufferfish in the estuary area. Because the stingray is well-known as a venomous species, it has been considered that no fish species could prey on stingrays in this area. In September–November 2012 and October 2014, 27 individuals of *T. rubripes* (9.8–14.0cm SL, 11.9–17.5cm TL) were collected in the Fushino River estuary in Yamaguchi Prefecture, western Seto Inland Sea to examine their feeding habits. A *D. akajei* was identified from the gut contents of the juvenile *T. rubripes*, 12.1cm SL (15.1cm TL), which was collected in October 2012. The prey, the stingray's body was detected as a total of 40 only partially digested pieces including 4 distinct pieces of the tail being the posterior portions of the stingray's body. By two different restoring methods, the disc width of the stingray was estimated to be 11.1 ± 2.4 cm ($\pm 95\%$ confidence interval) and as 12.8 ± 3.7 cm. The amount of stingray body tissue consumed to total stingray body weight was estimated to be 18.6% of the former restoring method and 11.8% by the latter.

In the Seto Inland Sea of Japan, resources of benthophilic fish species, such as flatfishes and pufferfishes, which use the estuary in their early life history, have decreased remarkably. For recovery and regeneration of these critical resources, it is necessary to clarify the relationships between organisms and the estuarine ecosystem.

Key words: *Dasyatis akajei*, estuary, feeding habit, predation, *Takifugu rubripes*, Tiger pufferfish

総 説

Osteoporosis in lactating dairy cows

Shigeru YOSHIDA
Professor emeritus

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

Abstract Cows in a certain dairy herd were affected by abnormal milk secretion and the frequent occurrences of paresis. The younger cows, with 1 calving, had low magnesium (1.84 mEq) but high calcium (4.63 mEq) serum levels and the older cows, with more than 5 calvings, had low magnesium (1.68 mEq), low calcium (3.90 mEq), whereas control cows had normal levels of 2.00 mEq for magnesium and 4.28 mEq for calcium, respectively. In Cow 12, the blood serum magnesium levels decreased from 1.68 mEq to 0.64 mEq at the first onset of hypomagnesemic tetany. In Cow 1, the blood serum calcium levels decreased from 4.21 mEq to 1.42 mEq and the blood serum magnesium levels increased to 2.20 mEq from 1.39 mEq at the first onset of hypocalcemic coma. Before detectable changes, the cows were suffering from chronic hypomagnesemia. Blood samples of downer cows were obtained from 18 cows exhibiting paresis and semi-comatose state from other dairy farms. Their blood serum magnesium level was 1.54 mEq, and their blood serum calcium level was 3.40 mEq. Hypomagnesemic tetany is caused by a low intake of magnesium from roughage. This chronic hypomagnesemia of these cows must also be caused by a low intake of magnesium. Bone samples obtained from the cows from the dairy farm showed osteoporosis. Bone sample of Cow E had been fed highly concentrated the food at a private dairy farm for a year, and her osteoporosis was accelerated due to the excess of phytic acid in the food. Nephrocalcinosis was observed in some cows in the herd. Increased blood serum calcium in younger cows was released from the bone into milk and urine, which caused the bone demineralization, calcium accumulation in the kidney, and alcohol-positive milk, i.e. osteoporosis, nephrocalcinosis and “the Utrecht abnormality of milk”, respectively.

Key words: Osteoporosis, Hypomagnesemia, Grass tetany, Downer, Ketosis, Utrecht abnormal milk

INTRODUCTION

A certain dairy herd show a marked tendency to the higher occurrence of reproductive problems, such as increased incidences of abortion and stillbirth, when their milk quality were low fat content and/or low solid not fat. The dairy herd was also affected by parturient paresis. Milk and blood samples were collected from the cows throughout the year. Grass tetany (“hypomagnesemic tetany”), milk fever (“hypocalcemic coma”) and other unknown paresis often called “downer cow syndrome”, frequently

occur in lactating dairy cows. When a cow becomes grass tetany, her blood serum magnesium decreases to approximately one half of the normal values of 2 mEq (2.43 mg/dl). The cow falls down in a semi-comatose state and experiences slight convulsions of the hind leg. When a cow becomes milk fever, her blood serum calcium decreases to one half of the normal values of 4.28 mEq (8.56 mg/dl), and the cow enters a coma. When a cow is affected by any type of paresis, the cow (a so-called "downer cow") falls down in a semi-comatose state with or without convulsion of the hindquarters. Blood, bone, and various soft tissues were obtained from such cows in this study. This paper describes the occurrence of osteoporosis accompanied by chronic hypomagnesemia. The body weight of a normal Holstein cow is 650 kg. The cow yields 6,000 liters of milk and a calf with a weight of 50 kg yearly. One liter of milk contains 1 g of calcium and 0.1 g of magnesium. A calf contains 650 g of calcium and 16 g of magnesium. It is estimated that approximately 6,650 g of calcium and 616 g of magnesium are discharged from cow's body through the milk and calf in a year. A lactating dairy cow is always at risk for demineralization. One dairy cow contains 8,500 g of calcium and 159 g of magnesium in the bone, 44 g of magnesium in the muscle and 5 g of magnesium in various soft tissues, including the blood. It is calculated that the turnover is approximately 80 % for calcium and 300 % for magnesium in a year.

MATERIALS AND METHODS

Milk and blood samples were taken from lactating Holstein cows, Cow 1 to Cow 25, were fed at the dairy farm of Hiroshima University. Blood samples of 18 downer cows, 11 cows with milk fever and 54 control cows were taken from private dairy farms located near the university dairy farm. Bone and various soft tissues were collected from 12 lactating dairy cows (Cow 1~ Cow 8, Cow 13, Cow 14, Cow 19, Cow 20), other 2 lactating dairy cows (Cow 28 and Cow 30) and 2 heifers (H1 and H2) from the university dairy farm. Cow E was taken from the cow suffering from downer syndrome at the private dairy farm. A 1 ml sample of blood serum was incubated with 2 ml of 70 % HClO₄ in a micro-Kjeldahl flask at 130-160 °C in a glycerin bath. After the blood serum had dissolved, calcium and magnesium were determined by atomic absorption. One gram of soft tissues were wet ashed with 2 ml of 70% HClO₄. Ca, Mg, Na and K were determined in solution by atomic absorption. Mandible bones were obtained from a slaughter house and their connective tissues and muscles were removed from the bone after soaking in water at 90°C for 2 h.

RESULTS

Hypomagnesemic Tetany and Chronic Hypomagnesemia

Table 1 shows the blood serum values of the cows yielding alcohol-positive milk. The milk shows a strong positive result for alcohol-induced coagulation for younger cows, and a strong positive result for heating-induced coagulation for older cows. Table 1 also shows that the blood serum magnesium levels of these cows were reduced by more than 10 % compared to control cows. Table 2 shows that the younger cows with 1 calving had high blood serum calcium (4.63 mEq) but low blood serum magnesium (1.84 mEq) levels compared to control cows, which had calcium and magnesium levels of 4.28 mEq and 2.00 mEq, respectively. On the contrary, the older cows with more than 5 calvings had low blood serum calcium (3.90 mEq), low blood serum magnesium (1.68 mEq) and high blood serum globulin (6.09 mg/dl) levels compared to controls. The increase in blood serum globulin had occurred concomitant with

Table 1. Milk quality and blood serum values for cows of the University dairy farm

| Cow | | Milk | | Blood-Serum | | | | |
|---------|-----------------|--------|--------|-------------|--------|----------|----------|----------|
| Cow NO | NO of calvings | A-test | H-test | Ca mEq | Mg mEq | Pi mg/dl | Al mg/dl | Gl mg/dl |
| 1 | 12 | + | ++ | 4.21 | 1.39 | 8.52 | 2.87 | 6.48 |
| 2 | 10 | + | +++ | 3.84 | 1.62 | 7.50 | 2.25 | 7.61 |
| 3 | 7 | + | ++ | 3.27 | 1.57 | 6.00 | 1.45 | 10.39 |
| 4 | 6 | ± | + | 3.52 | 2.02 | 9.50 | 2.51 | 4.63 |
| 5 | 6 | + | + | 3.68 | 1.74 | 7.42 | 2.97 | 5.77 |
| 6 | 6 | + | + | 3.49 | 1.51 | 7.23 | 2.97 | 9.69 |
| 7 | 6 | + | +++ | 4.25 | 1.97 | 7.40 | 3.65 | 4.72 |
| 8 | 5 | ++ | + | 4.08 | 1.77 | 6.73 | 3.20 | 3.37 |
| 9 | 5 | ++ | ± | 4.28 | 1.66 | 6.66 | 3.19 | 4.39 |
| 10 | 6 | +++ | + | 4.22 | 1.46 | 6.38 | 2.76 | 5.30 |
| 11 | 6 | ++ | ± | 4.20 | 1.79 | 5.65 | 3.03 | 5.34 |
| 12 | 5* ¹ | +++ | ++ | 3.70 | 1.68 | 6.98 | 3.29 | 5.42 |
| 13 | 4 | ++ | + | 4.35 | 1.85 | 8.50 | 3.01 | 4.98 |
| 14 | 4 | +++ | ± | 4.32 | 1.99 | 9.10 | 3.40 | 4.93 |
| 15 | 4 | +++ | ± - | 3.83 | 1.64 | 6.38 | 3.35 | 4.61 |
| 16 | 4 | +++ | ++ | 4.25 | 1.78 | 7.84 | 2.80 | 6.42 |
| 17 | 2* ¹ | +++ | ++ | 4.08 | 1.84 | 6.67 | 3.29 | 5.48 |
| 18 | 3 | +++ | + | 4.06 | 1.97 | 6.27 | 3.65 | 4.27 |
| 19 | 2 | +++ | + | 4.06 | 1.81 | 6.36 | 3.01 | 4.37 |
| 20 | 1 | +++ | ± | 4.63 | 1.83 | 5.28 | 3.47 | 4.75 |
| 21 | 2* ¹ | + | ± | 4.69 | 1.82 | 7.13 | 3.46 | 3.84 |
| 22 | 1 | + | + | 4.51 | 1.97 | 6.38 | 3.76 | 4.36 |
| 23 | 1 | ++ | + | 4.63 | 1.84 | 6.80 | 2.82 | 4.28 |
| 24 | 1 | ++ | + | 4.60 | 1.67 | 7.80 | 3.57 | 4.26 |
| 25 | 1 | ++ | + | 4.69 | 1.92 | 6.68 | 3.57 | 4.05 |
| average | | | | 4.14 | 1.76 | 7.09 | 3.09 | 5.29 |

*¹ : including abortion, A-test : Alcohol test, H-test : Heating-test 100°C, 30 min..

Table 2. Blood serum values for cows from the university dairy farm and control cows.

| | NO of cows | Ca mEq | Mg mEq | Pi mg/dl | Al mg/dl | Gl mg/dl |
|----------------------|------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Control | 54 | 4.28 ^a | 2.00 ^a | 7.81 ^a | 3.13 ^a | 4.23 ^c |
| Cows* ¹ | 25 | 4.14 ^d | 1.76 ^a | 7.09 ^a | 3.09 ^{ns} | 5.34 ^a |
| Old* ² | 12/25 | 3.90 ^a | 1.68 ^a | 7.16 ^c | 2.85 ^{ns} | 6.09 ^b |
| Middle* ³ | 7/25 | 4.14 ^d | 1.84 ^b | 7.30 ^{ns} | 3.22 ^{ns} | 5.01 ^c |
| Young* ⁴ | 6/25 | 4.63 ^d | 1.84 ^c | 6.68 ^b | 3.44 ^{ns} | 4.26 ^{ns} |

*¹ : Cows from the university dairy farm.

*² : Old cows, produced more than 5 calves.

*³ : Middle cows, produced 2-4 calves.

*⁴ : Young cows, produced 1 calf.

^{ns} : not significant, ^a : P<0.01, ^b : P<0.02, ^c : P<0.05, ^d : P<0.1

P : calculated by t-test.

blood serum magnesium levels less than 1.7 mEq in the cows from the university dairy farm. The increased blood serum globulin was observed in the older cows, such as Cow 3 (7 calvings, 10.39 mg/dL), Cow 6 (6 calvings, 9.69 mg/dl) and Cow 2 (10 calvings, 7.61 mg/dl). Those globulin levels were very high compared with the normal serum globulin level of 4.58 mg/dl, as shown in Table 2. These results were plotted as (○) for older cows, (△) for younger cows, (◇) for intermediate and (●) for control cows in Figure 1.

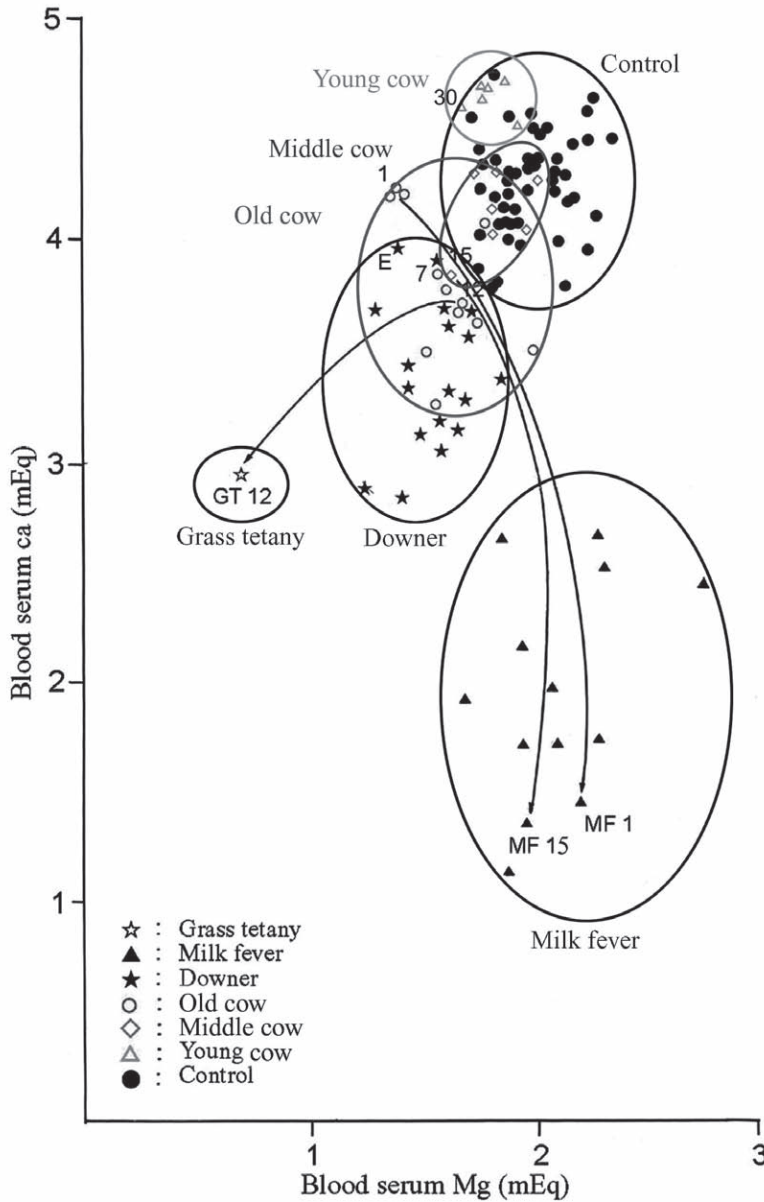


Fig. 1. Relationship between Blood serum Ca and Mg of Cows suffering from Abnormal milk, Grass tetany, Milk fever, and Downer, compared with Control cows.

Cow 12 had grass tetany, while Cow 1 and Cow 15 had milk fever. Figure 2 shows the serum change of Cow 12 before (○:12) and after (☆:GT 12) she became grass tetany. Cow 12 also suffered ketosis, when she became tetanic. Figure 2 also shows the serum changes for Cow 1 and Cow 15 before (○:1, ○:15) and after (▲:MF 1, ▲:MF 15) they became milk fever. In Cow 1, the blood serum calcium level decreased to 1.42 mEq from 4.21 mEq, and the blood serum magnesium level increased to 2.20 mEq from 1.39 mEq. In Cow 15, the blood serum calcium level decreased from 3.83 mEq to 1.32 mEq, and the blood serum magnesium level increased from 1.64 mEq to 2.00 mEq. At the time of milk fever, the blood serum calcium level was reduced to one half the normal value, however, the blood serum magnesium level increased concomitant with the first onset of this disease. The mandible bones were shown in Fig. 4 for Cow 1 and Fig. 5 for Cow 12.

Eleven other blood samples (▲) from milk fever, were obtained from several private dairy farms after the first onset of the disease. These cows also had a low blood serum calcium level (2.03 mEq) but a normal blood serum magnesium level (2.08 mEq). Three of the 13 milk fever also developed ketosis. Eighteen other blood serum samples (★) were taken from cows suffering from unknown paresis and were obtained from several private dairy farms with the help of a veterinarian. Those cows were called downer cows but they did not have grass tetany or milk fever. The blood serum magnesium level was 1.54 mEq and the blood serum calcium level was 3.40 mEq. The downer cows suffered from chronic hypomagnesemia and mild hypocalcemia in turn. Fifteen of the 18 cows of downer cows also developed ketosis as shown in Figure 1. Figure 1 also shows that the blood serum calcium and blood serum magnesium for Cow 7, Cow 8, and Cow E. Cow 7 and Cow No 8 were kept at the university dairy farm and Cow E was from the nearby private dairy farm. These cows suffered from chronic hypomagnesemia. Osteoporosis in these cows is described in the figure.

The younger cows showed a decrease in blood serum magnesium levels but an increase in blood serum calcium levels, while the older cows showed a greater decrease of blood serum magnesium levels, a decrease of blood serum calcium levels and an increase of blood serum globulin levels. Table 1 and Table 2 show that the increase in blood serum globulin occurred concomitant with blood serum magnesium levels less than 1.7 mEq in the certain dairy farm. The increased blood serum globulin levels were observed in the older cows, such as Cow 3 (7 calvings, 10.39 mg/dl), Cow 6 (6 calvings, 9.69 mg/dl), Cow 2 (10 calvings, 7.61 mg/dl), and Cow E (7 calvings, 8.60 mg/dl). Those globulin levels were very high compared with the normal serum globulin level of 4.58 mg/dl, as shown in Table 2.

Osteoporosis

Mandible bone was obtained from Cow 7 (8 calvings). Many reddish-brown spots were observed on the surface of the *compacta* of the mandible bone of lateral aspect, and medial aspect. These spots were attributed to many capillary vessels in the *Haversian* canal being engorged with blood because of the increased demineralization. This phenomenon was also observed in the bones of the whole body, especially the vertebrae, rib, and jaw bone. The incisor was broken as shown in this Figure 2. Figure 2 also show the demineralization site of the medial aspect. This medial aspect and the alveolar part were not covered with muscle but with connective tissue. The occipital aspect of the mandible bones clearly was porous, as shown in Figure 6. The serum values of these cows before slaughter are shown in Table 4. The younger Cow 28 also shown Osteoporosis as in Figure 3.



Fig. 2. Mandible bone of Cow 7 (8 calvings)



Fig. 3. Mandible bone of Cow 28 (1st calving)

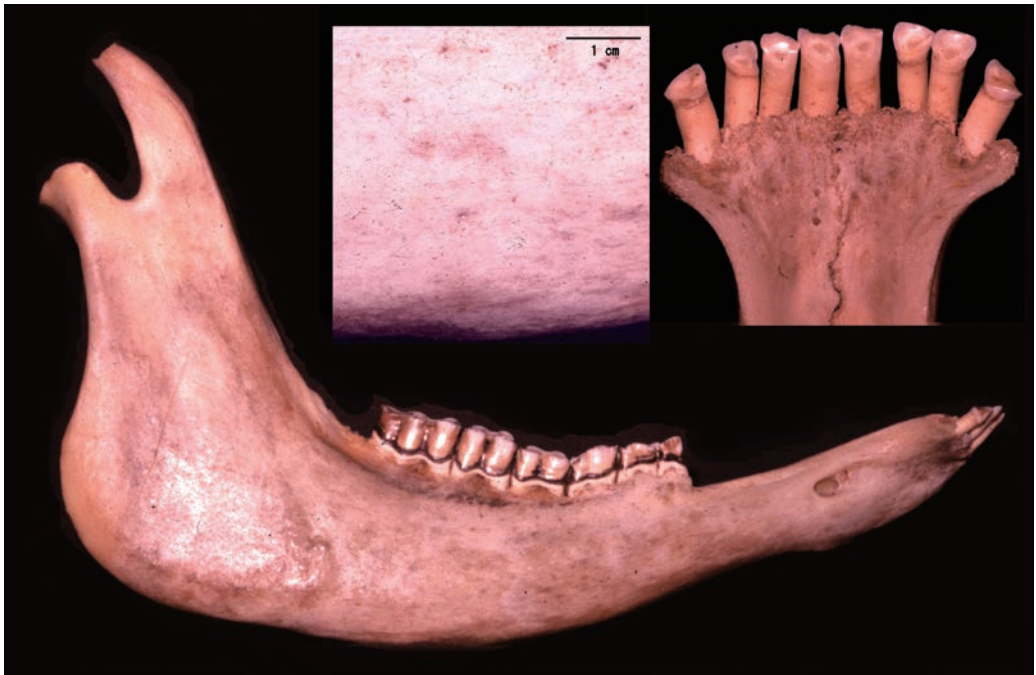


Fig. 4. Mandible bone of Cow 1, suffering from Milk fever (11 calvings)



Fig. 5. Mandible bone of Cow 12, suffering from Grass tetany (5 calvings)

Nephrocalcinosis

Accumulation of calcium in the kidney medulla layer was observed in many of the cows, such as Cow 8 (34.67 mEq/kg), Cow 4 (19.63 mEq/kg) as shown in Figure 8. The calcium contents of other cows was higher than 10 mEq/kg, including Cow 14 (12.67 mEq/kg), Cow 28 (12.79 mEq/kg), and Cow 19 (10.81 mEq/kg). Normal values were approximately 5 mEq/kg, based on values from H1 (4.18 mEq/kg) and H2 (6.24 mEq/kg), which were not lactating dairy cows but heifers. The magnesium content in the kidney cortex layer was 11.67 mEq/kg and this levels was lower than heifer, as shown in Table 4.

Table 3. Blood serum values for cows suffering from Grass tetany, Milk fever, Downer cows and suffering from Ketosis.

| | NO of cows | Ca mEq | Mg mEq | Pi mg/dl | Al mg/dl | Gl mg/dl |
|--------------|------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| Control | 54 | 4.28 ^a | 2.00 ^a | 7.81 ^a | 3.13 ^a | 4.23 ^c |
| Grass tetany | 1 | 2.29 | 0.64 | 7.01 | | |
| Milk fever | 13 | 2.03 ^a | 2.08 ^{ns} | 2.45 ^a | 3.03 ^{ns} | 5.59 ^a |
| Downer | 18 | 3.40 ^a | 1.54 ^a | 5.05 ^c | 2.53 ^a | 5.83 ^a |

^{ns} : not significant, ^a : P<0.01, ^c : P<0.05, P : calculated by t-test.

Table 4. Blood serum value of the cows just before slaughter, shown in Figure 2-6

| Cow NO | NO of calvings | Ca mEq | Mg mEq | Pi mg/dl | Al mg/dl | Gl mg/dl |
|--------------------|----------------|--------|--------|----------|----------|----------|
| Cow 7 | 8 | 3.85 | 1.59 | 5.99 | 2.80 | 7.97 |
| Cow 30 | 1 | 4.31 | 1.90 | 7.13 | 3.54 | 3.38 |
| Cow 12 at aliving | 7 | 3.70 | 1.68 | 6.98 | 3.29 | 5.42 |
| after Grass tetany | | 2.29 | 0.64 | | | |
| Cow 1 at aliving | 11 | 4.21 | 1.39 | 8.52 | 2.87 | 6.48 |
| after Milk fever | | 1.42 | 2.20 | 4.82 | 2.94 | 6.35 |
| Cow E | 7 | 3.90 | 1.42 | 4.05 | 2.04 | 8.60 |

Table 5. Ca and Mg contents of soft tissues and bone ash of Cows

| | NO of cows | Ca (mEq/kg) | Mg (mEq/kg) |
|--------------------------------|------------|-------------|-------------|
| Kidney cortex | 14 | 3.33 | 11.67 |
| Kidney medulla | 14 | 10.66 | 10.46 |
| Skeletal muscle | 14 | 2.71 | 14.59 |
| Cardiac muscle | 14 | 2.25 | 17.26 |
| Liver | 14 | 1.88 | 13.57 |
| Kidney cortex ^{*1} | 2 | 3.29 | 13.28 |
| Kidney medulla ^{*1} | 2 | 5.21 | 10.32 |
| Mandible bone ^{*2} | 12 | 36.44(%) | 0.682(%) |
| Candal vertebrae ^{*2} | 12 | 36.46(%) | 0.683(%) |

^{*1} : heifer

^{*2} : in bone ash

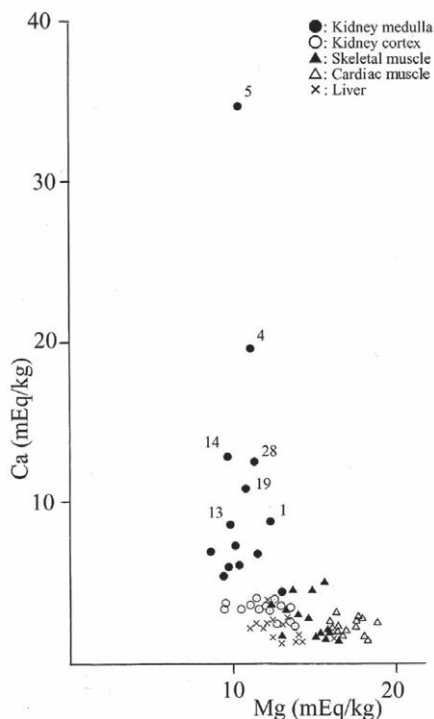


Fig. 6 Relationship between Ca and Mg in Soft tissues

DISCUSSION

The blood serum levels for the certain dairy herd were 1.78 mEq for magnesium, 4.14 mEq for calcium and 5.29 mg/dl for globulin. These magnesium and calcium values were low compared with the control values of 2.00 mEq for magnesium and 4.28 mEq for calcium, but the value for globulin was high compared to the control (4.58 mg/dl). The blood serum for younger cows with 1 calving in the dairy herd showed low magnesium (1.84 mEq), high calcium (4.63 mEq), and normal globulin (4.26 mg/dl) levels. The blood serum for older cows with more than 5 calvings showed low magnesium (1.68 mEq), low calcium (3.90 mEq) and high globulin (6.09 mg/dl) levels. Grass tetany and milk fever had occurred in these older cows. The hypomagnesemic Cow 12 showed very low blood serum magnesium (0.64 mEq) levels. The hypocalcemic cows, Cow 1 and Cow 15, showed blood serum calcium levels less than one half of normal but had normal blood serum magnesium levels at the first onset of the disease. When the blood serum calcium levels suddenly decreased, their blood serum magnesium levels increased. Before these cows were affected by these changes in mineral levels, their blood serum magnesium levels had been at moderately low levels for many years. This dairy herd was suffering from chronic hypomagnesemia. It had been reported that grass tetany was caused by magnesium deficiency as Voisin (Voisin, 1963). The so-called chronic hypomagnesemia must also be caused by low magnesium intake. A decrease in blood serum magnesium had also been described in cows suffering from chronic magnesium deficiency as Ondersheka (Ondersheka *et al.*, 1967). Downer cows also showed low blood serum magnesium levels at 1.54 mEq (1.17~1.89 mEq) and low blood serum calcium levels at 3.40 mEq (2.83

~3.90 mEq). In downer cows, blood serum magnesium and calcium levels were not lower than those of the grass tetany and milk fever cows, respectively. Downer cows also suffered from chronic hypomagnesemia. Some reports were concerned for magnesium and milk fever (Sanson *et al.*, 1981) and subclinical hypomagnesaemia (Whitaker and Kelly, 1982), however, there is no description for osteoporosis and abnormal milk.

Bone showed typical patterns of osteoporosis and their kidneys showed calcium accumulation, so-called nephrocalcinosis. However the magnesium contents of these bones and kidneys were normal. It was reported that the magnesium content in bones of cows that died from grass tetany was not reduced as Voisin (Voisin, 1963). The younger cows in the university dairy farm had been suffering from chronic hypomagnesemia and osteoporosis as shown in Fig. 3. These cows showed a slight decrease in serum magnesium levels but a slight increase of serum calcium levels during the initial period. Increased calcium must flow from bones to the milk and urine, resulting in bone demineralization, calcium accumulation in the kidney, and alcohol-positive milk, i.e. osteoporosis, nephrocalcinosis and “the Utrecht abnormality of milk” as Boogaardt (Boogaardt, 1954), respectively. The older cows showed a greater decrease in blood serum magnesium levels, a decrease in blood serum calcium levels and an increase in serum globulin levels during the secondary period. Calcium must have been lost, and their osteoporosis increased. The increased globulin must indicate osteoporosis. The role of increased globulin is not clear, but the author hypothesizes that globulin levels may regulate the calcium and magnesium levels in blood serum.

The nephrocalcinosis was consistent with some reports of magnesium deficient animals. (George *et al.*, 1974, Goulding and Malthus, 1968, MacIntire and Davidsson, 1958, Martindale and Heaton, 1964, Maynard *et al.*, 1958). It was reported that the blood serum magnesium levels rapidly decreased on the first day of a low magnesium diet in rats, while their blood serum calcium levels slowly increased as George (George *et al.*, 1974).

One paper reported that cows with chronic magnesium deficiency also suffered from the accumulation of calcium in the kidney and a decrease in blood serum magnesium as Ondersheka (Ondersheka *et al.*, 1967).

The experimental animals were fed a special diet, such as a magnesium-free diet or one with a very low magnesium content, however, the lactating dairy cows had been fed an average diet. The lactating dairy cows had received slightly less than the minimum requirement of magnesium for many years, and the cows with high milk yield needed high levels of magnesium. It seems that the lactating dairy cows in the certain dairy farm had experienced chronic hypomagnesemia with high blood serum calcium for many years. In previous studies, it was shown that the magnesium contents of the bones of magnesium-deficient experimental animals declined as MacIntire (Macintire and Davidsson, 1958) and Martindale (Martindale and Heaton, 1964), however, osteoporosis and the elevation of blood serum globulin has not been previously reported.

The cows of the university dairy farm suffer from chronic hypomagnesemia caused by a shortage of magnesium intake from roughage. Legumes, such as alfalfa and clover, are rich in magnesium, which constitutes more than 0.3% of their DM. In contrast, grass, such as timothy and ryegrass, is poor in magnesium, which represents less than 0.2% of the DM. A. Kemp (Kemp, 1960) recommended a magnesium content greater than 0.2% of the DM of the roughage for lactating dairy cows to prevent grass tetany. The manager of the university dairy farm was responsible for failing to give legumes to lactating dairy cows for many years. All of the cows from the university dairy farm showed

osteoporosis. Reproductive disorders, such as paresis, abortion, and stillbirth, were observed in cows at this dairy farm. Many cows were suffering from renal cysts, kidney stones, and atrophy.

Cow E had been given a high-concentrate diet with a shortage of roughage at the private dairy farm. The chronic hypomagnesemia was caused by a low magnesium intake from roughage and the osteoporosis was accelerated by the excess of phytic acid in the food. The lactating dairy cows had been fed with various concentrates with high phosphorus contents. Calcium carbonate was used as a feed additive and the herd had no shortage of calcium. A.Kemp (Kemp, 1960) also noted that an excess of calcium and phosphorus can reduce the availability of magnesium.

Lactating dairy cow, she produce 6000 kg of milk and a calf every year, is the economic farm animal. If she once fall down osteoporosis, the recovery is very difficult on the case of lactating dairy cow. The importance must be the prevention before the cow fall osteoporosis. The lactating dairy cow must be fed roughage, containing the legume more than 1/3 and the grass less than 2/3, for prevent osteoporosis

CONCLUSION

Grass tetany and chronic hypomagnesemia in cows must be caused by the shortage of magnesium in the diet. Hypocalcemic cows and downer cows were also suffering from chronic hypomagnesemia before they were affected by perturbations in mineral levels. Younger cows showed a slight decrease of serum magnesium levels but a slight increase of serum calcium levels. The increased calcium must be transferred from the bones to the milk and urine. This results in bone demineralization, calcium accumulation in the kidney, and alcohol-positive milk, i.e. osteoporosis, nephrocalcinosis and “the Utrecht abnormality of milk”, respectively. The older cows showed a greater decrease in blood serum magnesium levels, a decrease of blood serum calcium levels and an increase of serum globulin levels during the secondary period. Calcium must also have been lost from their bones, increasing their osteoporosis. The decreased magnesium levels, increased calcium levels in the blood serum and nephrocalcinosis of younger cows was consistent with the findings in magnesium-deficient animals, however, decreased calcium and increased globulin levels in the blood serum of older cows and osteoporosis in lactating dairy cows were not observed in the experimental animals.

ACKNOWLEDGMENTS

The author wish to thank veterinarians for collecting blood samples with this study.

REFERENCES

- Boogaardt, J., 1954. Instability of Milk due to a High Content of Calcium Ions. *Nature* **174**: 884.
- George, E., Wang, B., Nelson., L., Price, O., Greenstreet, R., 1974. Distribution of calcium and magnesium in rat kidney homogenate fractions accompanying magnesium deficiency induced Nephrocalcinosis. *Experimental and Molecular Pathology* **21**: 16-28.
- Goulding, A., Malthus, R. S., 1968. Effect of dietary magnesium on the development of nephrocalcinosis in rats. *Journal of Nutrition* **97**, 353-358
- Kemp, A., 1960. Hypomagnesaemia in milking cows: The response of serum magnesium to alterations in

herbage composition resulting from potash and nitrogen dressings on pasture.

Netherland Journal of Agricultural Science **8**: 281-304.

MacIntire, I., Davidsson, D., 1958. The production of secondary potassium depletion, sodium retention, nephrocalcinosis and hypercalcaemia by magnesium deficiency. *Biochemical Journal* **70**: 456-462

Martindale, L., Heaton, F. W., 1964. Magnesium deficiency in the adult rat. *Biochemical Journal* **92**: 119-126.

Maynard, L. A., Boggs, D., Fisk, G., Seguin, D., 1958, Dietary mineral interrelations as a cause of soft tissue calcification in guinea pigs. *Journal of Nutrition* **97**: 64-96.

Onderscheka, K., Laber, B., Szekely, H., Binder, K., 1967. Chronischer Magnesiummangel bei Kuhen. *Wien. WIENER TIERARZTLICHE. MONATSSCHRIFT* **4**: 219-236

Sansom, B., Manston, F. R., Vagg, M. J., 1983. Magnesium and milk fever. *Veterinary Record* **110**: 447-449.

Tufts, E. V., Greenberg, D. M., 1937. The biochemistry of magnesium deficiency, 1. chemical changes resulting from magnesium deprivation. *Journal of Biological Chemistry* **122**: 693-714.

Voisin, A., 1963. Grass Tetany, Crosby Lockwood & Son LTD., London, UK.

Whitaker, D. A., Kelly, J. M., 1982. Incidence of clinical and subclinical hypomagnesaemia in dairy cows in England and Wales. *Veterinary Record* **110**: 450-451.

Explanations of Figure and Table

乳牛に発生した骨粗鬆症

吉田 繁
広島大学名誉教授

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市 739-8528

要 旨 全ての搾乳牛がアルコール試験で凝固, ときには熱凝固する低酸度二等乳の集団発生がみられた。この現象は1940年代にオランダで発生した“The Utrecht abnormality of milk”と同一の現象であった。とくに若い牛はアルコール試験に強く反応し, 老齢牛は熱凝固する傾向が見られた。牛乳と同時に血液を採取したところ, 正常値 Ca 4.28meq, Mg 2.00meq, Gl 4.23 mg/dl に対して, 平均値で Ca 4.14 mEq, Mg 1.74 mEq と血清 Mg が低い傾向がみられた。なかでも若い牛は血清 Ca 4.63 mEq が高く血清 Mg 1.84 mEq が低い, 老齢牛は血清 Ca 3.90 mEq, 血清 Mg 1.68 mEq 共に低く血清 Gl 6.09 mg/dl が高い傾向がみられた。淘汰された乳牛の骨は骨粗鬆症 (Osteoporosis) を呈し, 腎臓結石がみられ腎臓髄質部分に Ca の沈着がみられた。この乳牛群を追跡したところ乳熱 (Hypocalcaemia), グラステタニー (Hypomagnesemia), ケトージスが発生した。この乳牛群にグラステタニーが発生したことは血清 Mg が低いことと密接な関係があり, 粗飼料中の Mg 不足に起因することが推定された。乳牛のグラステタニーは粗飼料中の Mg 不足であることが知られている。

動物実験では Mg 欠乏食を与えると直ちに血清 Mg は直ちに低下し血清 Ca は上昇すると報告されている。さらに Mg 欠乏の実験動物では腎臓の石灰化が報告されていることもよく一致する。しかし高齢牛のような血清 Ca と血清 Mg の減少と血清 Gl の増加は報告されていない。これは動物実験では殆ど Mg を含まない飼料を投与するのに対し, 乳牛では必要量よりもやや低い Mg を含む粗飼料で長期間飼育し, 妊娠・出産・泌乳を繰り返す為と考えられる。さらに骨粗鬆症, ケトージス, 起立不能症などについては殆ど知られていない。

キーワード: 骨粗鬆症, 低 Mg 血症, 慢性低 Mg 血症, グラステタニー, 起立不能症, 低酸度二等乳, 乳熱, 低 Ca 血症

総 説

A 2015 update and corrections to the checklist of the parasitic copepods of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea, Japan

Kazuya NAGASAWA*

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan*

Abstract Eleven nominal species (*Acanthochondria uranoscopi* in the Chondracanthidae; *Conchyliurus quintus* in the Clausidiidae; *Pseudomacrochiron aureliae* in the Macrochironidae; *Ostrincola japonica* and *Ostrincola koe* in the Mycolidae; *Colobomatus mylionus* in the Philichthyidae; *Ceratosimicola japonica* and *Splanchnotrophus helianthus* in the Splanchnotrophidae; *Enterognathus inabai* in the Enterognathidae; *Neomysidion rahotsu* in the Nicothoidae; *Creopelates nohmijimensis* in the Pennellidae) and six families (Clausidiidae, Macrochironidae, Philichthyidae, Splanchnotrophidae, Enterognathidae, Nicothoidae) are newly added to the checklist of the parasitic copepods of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea, Japan, published in 2011. Now, 99 nominal species (81 species from fishes and 18 species from invertebrates) in the following 25 families of the parasitic copepods are known to occur in the Seto Inland Sea: Anthessiidae (2 spp.), Bomolochidae (7 spp.), Caligidae (15 spp.), Chondracanthidae (8 spp.), Clausidiidae (1 sp.), Enterognathidae (1 sp.), Ergasilidae (3 spp.), Hatschekiidae (9 spp.), Kroyeriidae (1 sp.), Lernaepodidae (9 spp.), Lernanthropidae (7 spp.), Lichomolgidae (2 spp.), Macrochironidae (1 sp.), Mantridae (1 sp.), Mycolidae (3 spp.), Mytilicolidae (2 spp.), Nicothoidae (1 sp.), Notodelphyidae (2 spp.), Pandaridae (1 sp.), Pennellidae (3 spp.), Philichthyidae (1 sp.), Pseudocynidae (1 sp.), Pseudohatschekiidae (1 sp.), Splanchnotrophidae (2 spp.), and Taeniacanthidae (15 spp.). Corrections are made for the information on the anthessiid *Panaetis yamagutii* erroneously reported in the 2011 version of the checklist.

Key words: Checklist, marine fishes, marine invertebrates, parasitic copepods, Seto Inland Sea

INTRODUCTION

The checklist of the parasitic copepods of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea, Japan, was published in 2011 based on the literature published between the years 1935 and 2011 (Nagasawa, 2011). It contained the information on 88 nominal species (78 species from fishes and 10 species from invertebrates) of the following 20 families: Anthessiidae (2 spp.), Bomolochidae (7 spp.), Chondracanthidae (7 spp.), Ergasilidae (3 spp.), Lichomolgidae (2 spp.), Mantridae (1 sp.), Mycolidae (1 sp.), Mytilicolidae (2 spp.), Notodelphyidae (2 spp.), Taeniacanthidae (14 spp.), Umazuracolidae (1 sp.), Caligidae (15 spp.), Hatschekiidae (9 spp.), Kroyeriidae (1 sp.), Lernaepodidae (9 spp.),

Lernanthropidae (7 spp.), Pandaridae (1 sp.), Pennellidae (2 spp.), Pseudocycnidae (1 sp.), and Pseudohatschekiidae (1 sp.). It also contained the information on the parasitic copepods not identified to species level.

The checklist is updated here based on the papers published from 2012 to 2015 (Uyeno and Nagasawa, 2012; Tang *et al.*, 2012; Okawachi *et al.*, 2012; Ohtsuka *et al.*, 2012; Madinabeitia and Nagasawa, 2013; Ibrahim and Sato, 2013; Nagasawa and Nitta, 2014; Nagasawa *et al.*, 2014) and those overlooked in the 2011 version (Kô *et al.*, 1962; Shiino, 1963; Ohtsuka *et al.*, 2005, 2007; Uyeno and Nagasawa, 2010). Two corrections also are made because that version contained wrong information about the generic name of *Panaetis* and the validity of *Panaetis incamerata*.

Like in Nagasawa (2011), information on the parasitic copepods of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea is assembled as Parasite-Host and Host-Parasite lists. In the Parasite-Host List, the following information is provided for each species of parasitic copepod within families in alphabetical order in the Poecilostomatoida, Cyclopoida, and Siphonostomatoida: 1) the current *scientific name*, including the author(s) and date, followed by any recognized *synonym(s)* used in establishing the record(s) in the Seto Inland Sea. For the species listed in Inaba's (1988) monograph entitled "Fauna and Flora of the Seto Inland Sea", an asterisk (*) is added immediately after the date of the scientific name; 2) *Site(s)* of occurrence of the parasite on or in its host(s). When the site was not given in a record, the likely site as determined from other papers is enclosed in square brackets; 3) *Host(s)*, in which currently accepted scientific names are given: for fish hosts, the names recommended by Froese and Pauly (2015) are used. The scientific names used in original reports are shown in parentheses. A Japanese common name is also given in Japanese in parentheses for each host species after its scientific name; 4) *Record(s)*, in which the authors responsible for the records are listed in chronological order. Each reference is followed by the locality or localities given in two parts, first the prefecture(s) (Fig. 1) and then the

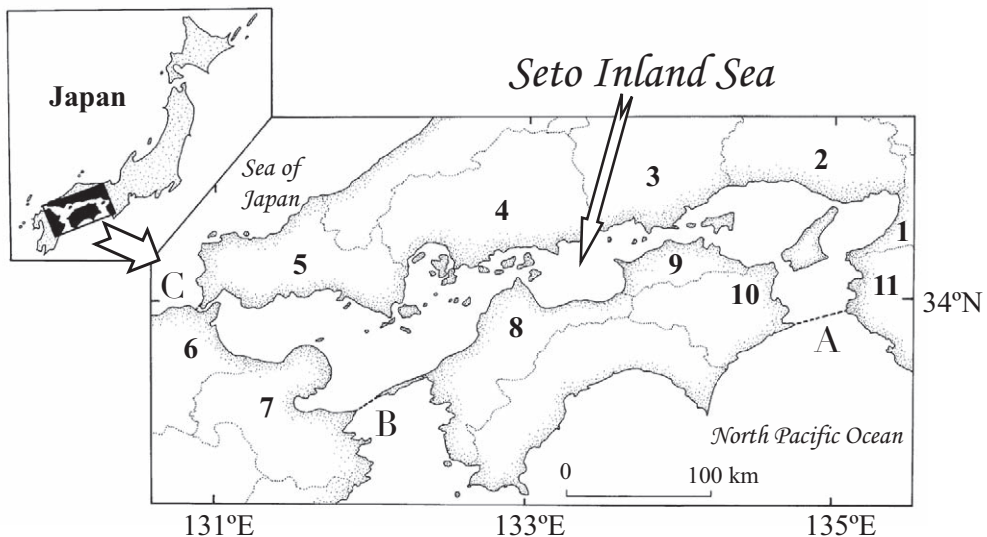


Fig. 1. A map of the Seto Inland Sea (SIS), western Japan. A, a boundary in the Kii Channel between SIS and the North Pacific Ocean (NPO); B, a boundary in the Bungo Channel between SIS and NPO; C, a boundary near the Kanmon Strait between SIS and the Sea of Japan. The Seto Inland Sea is surrounded by eleven prefectures (1, Osaka; 2, Hyogo; 3, Okayama; 4, Hiroshima; 5, Yamaguchi; 6, Fukuoka; 7, Oita; 8, Ehime; 9, Kagawa; 10, Tokushima; 11, Wakayama), and prefectural boundaries are shown by dotted lines.

detailed collection locality or localities from which the parasite was reported; and 5) *Remarks*, where explanatory comments are offered on nomenclature and notes such as previous record(s) of the parasite in the Seto Inland Sea. In the Host-Parasite List, the genera and species of hosts are listed in alphabetical order within each of higher taxa of animals (Scyphozoa, Polychaeta, Bivalvia, Gastropoda, Crustacea, Crinoidea, and Actinopterygii). After the name of each host species, parasitic copepod(s) is (are) listed in systematic order shown in the Parasite-Host List. Information on the site(s) of occurrence and the prefecture(s) is also given for each copepod species.

I. Parasite-Host List

Subclass Copepoda Milne Edwards, 1830

Order Poecilostomatoida Burmeister, 1835

Family Bomolochidae Sumpf, 1871

Bomolochidae gen. spp.

Site: unspecified

Hosts: *Acanthopagrus latus* (キチヌ), *Acanthopagrus schlegelii* (as *Acanthopagrus schlegelii schlegelii*, クロダイ), *Pagrus major* (マダイ), *Eynniss tumifrons* (チダイ)

Record: Madinabeitia and Nagasawa 2013 (Hiroshima: Hiroshima Bay)

Family Chondracanthidae Milne Edwards, 1840

Acanthochondria uranoscopi Ho and Kim, 1995

Site: oral cavity

Host: *Uranoscopus japonicus* (ミシマオコゼ)

Record: Nagasawa *et al.* 2014 (Hyogo: off the south coast of Awaji Island)

Family Clausidiidae Embleton, 1901

Conchylurus quintus Tanaka, 1961

Site: [mantle cavity]

Hosts: *Cyclina sinensis* (オキシジミ), *Pistris capsoides* (as *Arcopagia (Merisca) diaphana*, イチヨウシラトリ)

Record: Kô *et al.* 1962 (Hiroshima: Hiroshima)

Family Clausiidae Giesbrecht, 1895

Clausiidae gen. sp.

Site: paropodia

Hosts: *Glycera nicobarica* (チロリ)

Record: Ibrahim and Sato 2013 (unspecified locality)

Family Macrochironidae Humes and Boxshall, 1996

Pseudomacrochiron aureliae Tang, Yasuda, Yamada and Nagasawa, 2012

Site: gastrovascular cavity of scyphistoma

Host: *Aureria* sp. (ミズクラゲ)

Record: Tang *et al.* 2012 (Hiroshima: Kuba Fishing Port)

Family Myicolidae Yamaguti, 1936

Ostrincola japonica Tanaka, 1961

Site: [mantle cavity]

Host: *Crassostrea gigas* (as *Ostrea (Crassostrea) gigas*, マガキ)

Record: Kô *et al.* 1962 (Hiroshima: Hiroshima)

Ostrincola koe Tanaka, 1961

Site: [mantle cavity]

Hosts: *Cyclina sinensis* (オキシジミ), *Pistris capsoides* (as *Arcopagia (Merisca) diaphana*, イチヨウシラトリ)

Record: Kô *et al.* 1962 (Hiroshima: Hiroshima)

Family Mytilicolidae Bocquet and Stock, 1957

Mytilicola orientalis Mori, 1935*

Site: intestine

Host: *Crassostrea gigas* (マガキ)

Record: Nagasawa and Nitta 2014 (Hiroshima: near the river mouth of the Kamo River)

Remarks: This species was previously reported from *Crassostrea gigas* and *Mytilus coruscus* in the Seto Inland Sea off Hiroshima Prefecture (Mori, 1935; Yamazaki, 1950) (see Nagasawa, 2011).

Family Philichthyidae Vogt, 1877

Colobomatus mylionus Fukui, 1965

Site: [under head skin]

Host: *Acanthopagrus latus* (キチヌ)

Record: Madinabeitia and Nagasawa 2013 (Hiroshima: Hiroshima Bay)

Colobomatus sp.

Site: head canals

Hosts: *Pagrus major* (マダイ), *Evynnis tumifrons* (チダイ)

Record: Madinabeitia and Nagasawa 2013 (Hiroshima: Hiroshima Bay)

Remarks: This parasite was reported as “*Colobomatus* sp. 1” by Madinabeitia and Nagasawa (2013).

Family Splanchnotrophidae Norman and Scott, 1906

Ceratosimicola japonica Uyeno and Nagasawa, 2012

Site: body cavity

Host: *Hypselodoris festiva* (アオウミウシ)

Record: Uyeno and Nagasawa 2012 (Hiroshima: off Irukabana, Nohmi-jima Island)

Splanchnotrophus helianthus Uyeno and Nagasawa, 2012

Site: body cavity

Host: *Thecacera pennigera* (ミズタマウミウシ)

Record: Uyeno and Nagasawa 2012 (Hiroshima: off Matoba Beach, Takehara; Yamaguchi: off Izaki, Yashiro-jima Island)

Order Cyclopoida Burmeister, 1834

Family Enterognathidae Illg and Dudley, 1980

Enterognathus inabai Ohtsuka, Shimomura and Kitazawa, 2012

Site: probably intestine (see Remarks)

Host: *Lamprometra* sp. (ウミシダ類の1種)

Record: Ohtsuka *et al.* 2012 (Hiroshima: 34°0.590'N, 132°44.32'E-34°0.599'N, 132°44.35'E)

Remarks: The specimen of this copepod was found “attached to the outside of the host crinoid, possibly due to an accidental ejection from the intestine of the host during collection” (Ohtsuka *et al.*, 2012).

Order Siphonostomatoida Burmeister, 1835

Family Caligidae Burmeister, 1835

Caligus fugu (Yamaguti, 1936)

Syn.: *Pseudocaligus fugu* Yamaguti, 1936 (Okawachi *et al.*, 2012)

Site: body surface

Host: *Takifugu niphobles* (クサフグ)

Record: Okawachi *et al.* 2012 (Hiroshima: off the Takehara Marine Science Station)

Remarks: While this species was reported by Okawachi *et al.* (2012) as *Pseudocaligus fugu* Yamaguti, 1936, it has been regarded as *Caligus fugu* (Özak *et al.*, 2013; see also Freeman *et al.*, 2013). There are some other records of the species (as *P. fugu*) from tetraodontids in the Seto Inland Sea (Yamaguti, 1936; Shiino, 1963a; Ikeda *et al.*, 2006; Ito *et al.*, 2006; Tensha and Momoyama, 2006; Venmathi Maran *et al.*, 2007; Venmathi Maran *et al.*, 2011) (see Nagasawa, 2011).

Lepeophtheirus semicossyphi Yamaguti, 1939

Site: body surface

Hosts: *Semicossyphus reticulatus* (コブダイ), *Chaerodon azurio* (イラ), *Takifugu pardalis*

(=*Spheroides pardalis*, クサフグ)

Record: Shiino 1963b (Yamaguchi: Shimonoseki City Aquarium)

Remarks: This copepod was previously reported by Yamaguti (1939) from *Semicossyphus reticulatus* in the Seto Inland Sea (see Nagasawa, 2011).

Caligidae gen. spp.

Site: unspecified

Hosts: *Acanthopagrus latus* (キチヌ), *Acanthopagrus schlegelii* (as *Acanthopagrus schlegelii schlegelii*, クロダ イ), *Pagrus major* (マダ イ), *Evynnis tumifrons* (チダ イ)

Record: Madinabeitia and Nagasawa 2013 (Hiroshima: Hiroshima Bay)

Family Lernaeopodidae Milne Edwards, 1840

Lernaeopodidae gen. spp.

Site: unspecified

Hosts: *Acanthopagrus latus* (キチヌ), *Acanthopagrus schlegelii* (as *Acanthopagrus schlegelii schlegelii*, クロダ イ), *Pagrus major* (マダ イ), *Evynnis tumifrons* (チダ イ)

Record: Madinabeitia and Nagasawa 2013 (Hiroshima: Hiroshima Bay)

Family Lernanthropidae Kabata, 1979

Lernanthropidae gen. spp.

Site: unspecified

Hosts: *Acanthopagrus latus* (キチヌ), *Acanthopagrus schlegelii* (as *Acanthopagrus schlegelii schlegelii*, クロダ イ), *Pagrus major* (マダ イ), *Evynnis tumifrons* (チダ イ)

Record: Madinabeitia and Nagasawa 2013 (Hiroshima: Hiroshima Bay)

Family Nicothoidae Dana, 1849

Neomysidion rahotsu Ohtsuka, Boxshall and Harada, 2005

Site: marsupium

Host: *Siriella okadai* (オカダヨアミ)

Records: Ohtsuka *et al.* 2005 (Hiroshima: vicinity of Takehara); Ohtsuka *et al.* 2007 (Hiroshima: near the Takehara Marine Science Station of Hiroshima University)

Family Pennellidae Burmeister, 1835

Creopelates nohmijimensis Uyeno and Nagasawa, 2010

Site: head embedded in musculature with body protruding externally

Host: *Priolepis boreus* (ミサキシジハゼ)

Record: Uyeno and Nagasawa 2010 (Hiroshima: off Irukabana, Nohmijima Island)

II. Host-Parasite List

Scyphozoa

Aureria sp. (ミズクラゲ): *Pseudomacrochiron aureliae* (gastrovascular cavity of scyphistoma: Hiroshima)

Polychaeta

Glycera nicobarica (チロリ): Clausiidae gen. sp. (paropodia: unspecified locality)

Bivalvia

Crassostrea gigas (マガキ): *Ostrincola japonica* (—: Hiroshima), *Mytilicola orientalis* (intestine: Hiroshima)

Cyclina sinensis (オキシジミ): *Conchylurus quintus* (—: Hiroshima), *Ostrincola koe* (—: Hiroshima)

Pistris capsoides (イチョウシラトリ): *Conchylurus quintus* (—: Hiroshima), *Ostrincola koe* (—: Hiroshima)

Gastropoda

Hypselodoris festiva (アオウミウシ): *Ceratosimicola japonica* (body cavity: Hiroshima)

Thecacera pennigera (ミズタマウミウシ): *Splanchnotrophus helianthus* (body cavity: Hiroshima)

Crustacea

Siriella okadai (オカダヨアミ): *Neomysidion rahotsu* (marsupium: Hiroshima)

Crinoidea

Lamprometra sp. (ウミシダ類の1種): *Enterognathus inabai* (probably intestine: Hiroshima)

Actinopterygii

Acanthopagrus latus (キチヌ): Bomolochidae gen. sp. (—: Hiroshima), *Colobomatus mylionus* (—: Hiroshima), Caligidae gen. sp. (—: Hiroshima), Lernaepodidae gen. sp. (—: Hiroshima), Lernanthropidae gen. sp. (—: Hiroshima)

Acanthopagrus schlegelii (クロダイ): Bomolochidae gen. sp. (—: Hiroshima), Caligidae gen. sp. (—: Hiroshima), Lernaepodidae gen. sp. (—: Hiroshima), Lernanthropidae gen. sp. (—: Hiroshima)

Chaerodon azurio (イラ): *Lepeophtheirus semicossyphi* (body surface, Yamaguchi)

Eynniss tumifrons (チダイ): Bomolochidae gen. sp. (—: Hiroshima), *Colobomatus* sp. (head canals, Hiroshima), Caligidae gen. sp. (—: Hiroshima), Lernaepodidae gen. sp. (—: Hiroshima), Lernanthropidae gen. sp. (—: Hiroshima)

Pagrus major (マダイ): Bomolochidae gen. sp. (—: Hiroshima), *Colobomatus* sp. (head canals, Hiroshima), Caligidae gen. sp. (—: Hiroshima), Lernaepodidae gen. sp. (—: Hiroshima), Lernanthropidae gen. sp. (—: Hiroshima)

Priolepis boreus (ミサキスジハゼ): *Creopelates nohmijimensis* (head embedded in musculature with body protruding externally: Hiroshima)

Semicossyphus reticulatus (コブダイ): *Lepeophtheirus semicossyphi* (body surface, Yamaguchi)

Takifugu niphobles (クサフグ): *Caligus fugu* (body surface: Hiroshima), *Lepeophtheirus semicossyphi*

(body surface, Yamaguchi)

Uranoscopus japonicus (ミシマオコゼ): *Acanthochondria uranoscopi* (oral cavity: Hyogo)

III. Corrections

In the account of *Panaietis yamagutii* Izawa, 1976 in Nagasawa (2011, page 114, right column, lines 11-12 from bottom), the generic name of the species was misspelled as “*Panaietes*” and there was a phrase of wrong information, *i.e.*, “Syn.: *Panaietes incamerata* Stebbing, 1900”. *Panaietis* is a correct generic name, and *Panaietis incamerata* is a valid species. No proposal so far has been made to relegate *P. incamerata* to a junior synonym of *P. yamagutii*. The correct information is as follows:

Panaietis yamagutii Izawa, 1976

Sites: mouth cavity, esophagus

Host: *Turbo (Bacillus) cornutus* (サザエ)

Records: Anonymous 1967 (unspecified locality); Nagasawa 2007 (unspecified locality)

IV. A summary of the known parasitic copepods of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea (1935-2015)

Mori (1935) reported the parasitic copepod of aquatic animals, *i.e.*, the mytilicolid copepod *Mytilicola orientalis*, for the first time from the Seto Inland Sea. Since then, many species of parasitic copepods have been reported from this sea. Recently, by compiling the information reported from 1935 to 2011, Nagasawa (2011) published a checklist of the parasitic copepods of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea, which contained the information on 88 nominal species (78 species from fishes and 10 species from invertebrates) belonging to 20 families.

In the present update, eleven nominal species (*Acanthochondria uranoscopi* in the Chondracanthidae; *Conchylurus quintus* in the Clausidiidae; *Pseudomacrochiron aureliae* in the Macrochironidae; *Ostrincola japonica* and *Ostrincola koe* in the Mycolidae; *Colobomatus mylionus* in the Philichthyidae; *Ceratosimicola japonica* and *Splanchnotrophus helianthus* in the Splanchnotrophidae; *Enterognathus inabai* in the Enterognathidae; *Neomysidion rahotsu* in the Nicothoidae; *Creopelates nohmijimensis* in the Pennellidae) and six families (Clausidiidae, Macrochironidae, Philichthyidae, Splanchnotrophidae, Enterognathidae, Nicothoidae) of the parasitic copepods are newly added to the 2011 version of the checklist. Currently, the Umazuracolidae, one of the 20 families reported from the Seto Inland Sea, has been regarded as a junior synonym of Taeniacanthidae (Huys *et al.*, 2012). Thus, a total of 99 nominal species (81 species from fishes and 18 species from invertebrates) in the following 25 families of the parasitic copepods, excluding those not identified to species level, are known to occur in the Seto Inland Sea: Anthessiidae (2 spp.), Bomolochidae (7 spp.), Caligidae (15 spp.), Chondracanthidae (8 spp.), Clausidiidae (1 sp.), Enterognathidae (1 sp.), Ergasilidae (3 spp.), Hatschekiidae (9 spp.), Kroyeriidae (1 sp.), Lernaepodidae (9 spp.), Lernanthropidae (7 spp.), Lichomolgidae (2 spp.), Macrochironidae (1 sp.), Mantridae (1 sp.), Mycolidae (3 spp.), Mytilicolidae (2 spp.), Nicothoidae (1 sp.), Notodelphyidae (2 spp.), Pandaridae (1 sp.), Pennellidae (3 spp.), Philichthyidae (1 sp.), Pseudocycnidae (1 sp.), Pseudohatschekiidae (1 sp.), Splanchnotrophidae (2 spp.), and Taeniacanthidae (15 spp.)

ACKNOWLEDGMENTS

I thank Daisuke Uyeno, Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University, and Hayato Uchiumi, Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, for their comments on the 2011 version of the checklist.

REFERENCES

- Anonymous, 1967. [About *Panaeetus incamerata* Stebbing]. *Meguro Parasitological Monthly News*. **98**: 2. [In Japanese].
- Freeman, M. A., Anshary, H., Ogawa, K., 2013. Multiple gene analyses of caligid copepods indicate that the reduction of a thoracic appendage in *Pseudocaligus* represents convergent evolution. *Parasites & Vectors*. **6**: 336. doi:10.1186/1756-3305-6-336
- Froese, R., Pauly, D., Ed. 2015. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (08/2015).
- Huys, R., Fatih, F., Ohtsuka, S., Llewellyn-Hughes, J., 2012. Evolution of the bomolochiform superfamily complex (Copepoda: Cyclopoida): new insights from ssrDNA and morphology, and origin of umazuracolid from polychaete-infesting ancestors rejected. *International Journal for Parasitology*. **42**: 71-92.
- Ibrahim, Y. S., Sato, M., 2013. First record of epitokous metamorphosis and swimming behaviour of *Glycera nicobarica* (Polychaeta: Glyceridae), in the Seto Inland Sea, western Japan. *Species Diversity*. **18**: 269-280.
- Ikeda, K., Venmathi Maran, B. A., Honda, S., Ohtsuka, S., Arakawa, O., Takatani, T., Asakawa, M., Boxshall, G. A., 2006. Accumulation of tetrodotoxin (TTX) in *Pseudocaligus fugu*, a parasitic copepod from panther puffer *Takifugu pardalis*, but without vertical transmission-using an immunoenzymatic technique. *Toxicon*. **48**: 116-122.
- Inaba, A., 1988. *Fauna and Flora of the Seto Inland Sea. Second Edition, II*. Mukaishima Marine Biological Station, Faculty of Science, Hiroshima University, Mukaishima, Hiroshima. 475 pp. [In Japanese].
- Ito, K., Okabe, S., Asakawa, M., Bessho, K., Taniyama, S., Shida, Y., Ohtsuka, S., 2006. Detection of tetrodotoxin (TTX) from two copepods infecting the grass puffer *Takifugu niphobes*: TTX attracting the parasites? *Toxicon*. **48**: 620-626.
- Kô, Y., Murakai, Y., Daiku, K., 1962. The biology of the commensal copepods in Japanese marine bivalves. *Records of Oceanographic Works in Japan (Special Number 6)*: 113-119.
- Madinabeitia, I., Nagasawa, K., 2013. Double-netting: an alternative approach to the recovery of parasitic copepods from finfishes. *Journal of Natural History*. **47**: 529-541.
- Mori, T., 1935. *Mytilicola orientalis*, a new species of parasitic Copepoda. *Zoological Magazine*. **47**: 687-690, 3 pls. [In Japanese with English abstract].
- Nagasawa, K., 2007. [Fish diseases now: Infection of topshell with *Panaeetus yamagutii*]. *Yoshoku*. **44**(9): 41. [In Japanese].
- Nagasawa, K., 2011. A checklist of the parasitic copepods (Crustacea) of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea, Japan (1935-2011), with a new locality record for *Caligus macarovi* (Caligidae). *Bulletin of the Hiroshima University Museum*. **3**: 113-128.
- Nagasawa, K., Nitta, M., 2014. Rediscovery of *Mytilicola orientalis* (Copepoda: Mytilicolidae) from wild

- Pacific oysters *Crassostrea gigas* in Japan. *Biogeography*. **16**: 49-51.
- Nagasawa, K., Tamego, T., Isozaki, S., 2014. *Acanthochondria uranoscopi* (Copepoda), a parasite of the Japanese stargazer *Uranoscopus japonicus*, from the Seto Inland Sea and the western North Pacific off central Japan. *Biogeography*. **16**: 53-56.
- Ohtsuka, S., Boxshall, G. A., Harada, S., 2005. A new genus and species of nicothoid copepod (Crustacea: Copepoda: Siphonostomatoida) parasitic on the mysid *Siriella okadai* Ii from off Japan. *Systematic Parasitology*. **62**: 65-81.
- Ohtsuka, S., Harada, S., Shimomura, M., Boxshall, G. A., Yoshizaki, R., Ueno, D., Nitta, Y., Iwasaki, S., Okawachi, H., Sakakihara, T., 2007. Temporal partitioning: dynamics of alternating occupancy of a host microhabitat by two different crustacean parasites. *Marine Ecology Progress Series*. **348**: 261-272.
- Ohtsuka, S., Shimomura, M., Kitazawa, K., 2012. A new species of *Enterognathus* (Copepoda, Cyclopoida, Enterognathidae) collected from the Seto Inland Sea, western Japan. *ZooKeys*. **180**: 1-8.
- Okawachi, H., Ohtsuka, S., Ismail, N. B., Venmathi Maran, B. A., Ogawa, K., 2012. Seasonal occurrence and microhabitat of the hyperparasitic monogenean *Udonella fugu* on the caligid copepod *Pseudocaligus fugu* infecting the grass puffer *Takifugu niphobles* in the Seto Inland Sea, Japan. *Ocean Science Journal*. **47**: 181-187.
- Özak, A. A., Demirkale, İ., Boxshall, G. A., Etyemez, M., 2013. Parasitic copepods of the common sole, *Solea solea* (L.), from the Eastern Mediterranean coast of Turkey. *Systematic Parasitology*. **86**: 173-185.
- Shiino, S. M., 1963a. On the male of *Pseudocaligus fugu* Yamaguti (Copepoda: Caligoida). *Report of the Faculty of Fisheries, Prefectural University of Mie*. **4**: 331-334.
- Shiino, S. M., 1963b. Note on *Lepeophtheirus semicososyphi* Yamaguti (Copepoda: Caligoida). *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*. **11**: 409-414.
- Tang, D., Yasuda, A., Yamada, S., Nagasawa, K., 2012. A new species of *Pseudomacrochiron* (Crustacea: Copepoda: Macrochironidae) associated with scyphistomae of the moon jellyfish *Aurelia* sp. (Cnidaria: Scyphozoa) off Japan. *Systematic Parasitology*. **81**: 125-134.
- Tensha, K., Momoyama, K., 2006. Effects of hydrogen peroxide solution and diluted seawater on detaching the parasitic copepod *Pseudocaligus fugu* from the juvenile tiger puffer *Takifugu rubripes*. *Bulletin of the Yamaguchi Prefectural Fisheries Research Center*. **4**: 163-166. [In Japanese with English abstract].
- Uyeno, D., Nagasawa, K., 2010. Three new species of the family Pennellidae (Copepoda: Siphonostomatoida) from gobiid fishes (Actinopterygii: Perciformes) in coastal waters of the western Pacific Ocean. *Zootaxa*. **2687**: 29-44.
- Uyeno, D., Nagasawa, K., 2012. Four new species of splamchnotrophid copepods (Poecilostomatoida) parasitic on doridacean nudibranchs (Gastropoda, Opstobanchia) from Japan, with proposition of one new genus. *ZooKeys*. **247**: 1-29.
- Venmathi Maran, B. A., Iwamoto, E., Okuda, J., Matsuda, S., Taniyama, S., Shida, Y., Asakawa, M., Ohtsuka, S., Nakai, T., Boxshall, G. A., 2007. Isolation and characterization of bacteria from the copepod *Pseudocaligus fugu* ectoparasitic on the panther puffer *Takifugu pardalis* with the emphasis on TTX. *Toxicon*. **50**: 779-790.
- Venmathi Maran, B. A., Ohtsuka, S., Takami, I., Okabe, S., Boxshall, G. A., 2011. Recent advances in the biology of the parasitic copepod *Pseudocaligus fugu* (Siphonostomatoida, Caligidae), host specific to pufferfishes of the genus *Takifugu* (Actinopterygii, Tetraodontidae). ed., Asakura, A. *et al.*: *Crustacean*

Monographs 15: New Frontiers in Crustacean Biology, Brill, Leiden: 31-45.

Yamaguti, S., 1936. Parasitic copepods from fishes of Japan. Part 3. Caligoida, II. Published by the author, Kyoto: 1-21, 9 pls.

Yamaguti, S., 1939. Parasitic copepods from fishes of Japan. Part 5. Caligoida, III. *Volumen Jubilare pro Professore Sadao Yoshida*. **2**: 443-487, 20 pls.

Yamazaki, H., 1950. [About a species of parasite in the alimentary tract of oysters]. *Suishi Dayori*. **9**: 86-89. Hiroshima Prefecural Fisheries Experimental Station, Hiroshima. [In Japanese].

瀬戸内海産魚類・無脊椎動物の寄生性カイアシ類目録： 最新版と訂正

長澤和也

広島大学大学院生物圏科学研究科，〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

要 旨 最近出版された文献等に基づき，2011年に出版された「瀬戸内海産魚類・無脊椎動物の寄生性カイアシ類目録」に6科（Clausidiidae, Enterognathidae, Macrochironidae, Nicthoidae, Philichthyidae, Splanchnotrophidae）および11種（*Acanthochondria uranoscopi*, *Ceratosimicola japonica*, *Colobomatus mylionus*, *Conchyliurus quintus*, *Creopelates nohmijimensis*, *Enterognathus inabai*, *Neomysidion rahotsu*, *Ostrincola japonica*, *Ostrincola koe*, *Pseudomacrochiron aureliae*, *Splanchnotrophus helianthus*）を追加した。その結果，これまでに瀬戸内海産魚類と無脊椎動物から報告された寄生性カイアシ類は，以下の25科に含まれる99種（魚類から81種，無脊椎動物から18種）となった：Anthessiidae（2種），Bomolochidae（7種），Caligidae（15種），Chondracanthidae（8種），Clausidiidae（1種），Enterognathidae（1種），Ergasilidae（3種），Hatschekiidae（9種），Kroyeriidae（1種），Lernaeopodidae（9種），Lernanthropidae（7種），Lichomolgidae（2種），Macrochironidae（1種），Mantridae（1種），Mycolidae（3種），Mytilicolidae（2種），Nicthoidae（1種），Notodelphyidae（2種），Pandaridae（1種），Pennellidae（3種），Philichthyidae（1種），Pseudocycnidae（1種），Pseudohatschekiidae（1種），Splanchnotrophidae（2種），Taeniacanthidae（15種）。また，2011年に発行された上記目録で *Panaetis yamagutii* に関する情報に誤りが見られたので訂正した。

キーワード：海水魚，寄生性カイアシ類，瀬戸内海，無脊椎動物，目録

総 説

日本産魚類に寄生するナガクビムシ科カイアシ類の目録 (1939–2015年)

長澤和也¹⁾*・上野大輔²⁾

¹⁾ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

²⁾ 鹿児島大学大学院理工学研究科, 〒890-0065 鹿児島市郡元1-21-35

要 旨 1939-2015年に出版された文献に基づき、日本産魚類から記録されたナガクビムシ科 Lernaepodidae カイアシ類の15属49種と未同定種(4種以上)に関する情報(異名リスト, 宿主, 寄生部位, 地理的分布, 文献)を種ごとに整理した。*Alella*, *Brachiella*, *Clavellisa*, *Clavellopsis*, *Clavellotis*, *Naobranchia*, *Neoalbionella*, *Pseudocharopinus*, *Schistobranchia*, *Thysanote* の各属に対して、ヤセナガクビムシ, ガイヨウナガクビムシ, ゾウバナナガクビムシ, ナガクビムシモドキ, マメナガクビムシ, エラマキナガクビムシ, サメナガクビムシ, エイナガクビムシ, ギンザメナガクビムシ, フサクビムシの新標準和名を提唱した。また、標準和名をもたない種に対して新標準和名を提唱した。

キーワード: カイアシ類, 魚類寄生虫, ナガクビムシ科, 文献目録

諸 言

本目録で扱うナガクビムシ科 Lernaepodidae はカイアシ亜綱 Copepoda の管口目 Siphonotomatoidea に属する甲殻類である。近年、ヨツオナガクビムシ属 *Parabrachiella* の所属種で大きな見直し (Piasecki *et al.*, 2010) があったものの、ナガクビムシ科は2004年までに世界で約268種が記載され、魚類寄生性カイアシ類ではウオジラミ科 Caligidae (465種以上) に次ぐ大きな科である (Boxshall and Halsey, 2004)。本科の多くの種は海水魚に寄生し、淡水魚に寄生する種もある。例外もあるが、雌成体は第2小顎の先端部を宿主の体表や鰓、口腔等の組織に打ち込んで寄生し、雄成体は矮雄として雌の体表に付着する。わが国で報告された宿主には、ニシン科, サケ科, タラ科, キンメダイ科, メバル科, キチジ科, ホタルジャコ科, ハタ科, アマダイ科, ムツ科, アジ科, タイ科, ニベ科, ウミタナゴ科, イシダイ科, イスズミ科, ペラ科, アイナメ科, タチウオ科, サバ科, フグ科など水産上重要なものが含まれる。また、水産養殖や種苗生産の現場で飼育魚に寄生するほか (Nagasawa, 2015a, 詳細は「今後の研究課題」で後述), 魚市場などで問題になることもある (東京都市場衛生検査所, 1990)。

本目録は、日本産ナガクビムシ科の15属49種、未同定種(約4種)について、1939-2015年の77年間に出版された文献をもとに、各種の情報を整理したものである。1939年は、京都大学の山口左伸がナガクビムシ科カイアシ類をわが国で最初に報告した年である (Yamaguti, 1939)。彼はその後、同僚とともに更に研究を進めた (Yamaguti and Yamasu, 1959, 1960)。山口左伸と並んで、わが国でナガクビムシ科カイアシ類を精力的に研究したのは三重県立大学の椎野季雄 (Shiino, 1956, 1958, 1959) である。両者による研究成果は、世界各地の知見とともに1963年に山口左伸によって『Parasitic Copepoda and Branchiura of fishes』 (Yamaguti, 1963) として纏められた。また、東京水産大学の保科利一らはサケ科魚類に寄生するヤマメナガクビムシ

Salmincola californiensis の研究 (Hoshina and Suenaga, 1954; 保科・西村, 1976; 西村・保科, 1977), 広島大学の室賀清邦らは養殖クロダイに寄生するクロダイナガクビムシ(新称)*Alella macrotrachelus* の研究(河東ら, 1980; 室賀ら, 1981)を行った。近年は、カリフォルニア州立大学の何 汝諧 (Ju-shey Ho) (Ho, 1983, 1993; Ho and Do, 1984; Ho and Kim, 1996; Ho *et al.*, 2005) と、北海道立水産試験場から遠洋水産研究所を経て広島大学に勤務する長澤和也 (Nagasawa and Urawa, 1991, 2002, 2015; Nagasawa *et al.*, 1994, 1995, 1997, 1998, 2008; Nagasawa, 2015b) が本科に関する研究を行い、多くの知見を得ている。本目録は、このような最新情報も含めて、わが国におけるナガクビムシ科カイアシ類に関する知見をまとめたものである。

本目録では、ナガクビムシ科内の各属をアルファベット順に並べた後、各属では種小名のアルファベット順に各種を記述した。標準和名と最新の学名をまず記し、異名リストと宿主、寄生部位を示したあと、地理的分布を示した。異名リストに示した学名はわが国で用いられたものに限り、これを欠くものは異名での報告がわが国にないことを示す。各異名の直後には、それらを報告した著者名と出版年を示した。宿主が魚類の場合は、中坊 (2013) が示した分類体系に従って配列し、標準和名と学名を記した。この際、過去の論文で現在の和名と学名と異なるものが使われた場合には括弧内にそれを記した。地理的分布に関する情報は、海産種の場合は海域(北太平洋, 日本海, オホーツク海, 東シナ海, 瀬戸内海)ごとに整理し、都道府県名を含む詳細な採集地と出典情報(著者名と出版年)を示した。また、淡水産種の場合は都道府県名と詳細な採集地、出典情報を記した。いずれの場合にも、都道府県名は北から南に順に配列した。原典に詳細な採集地の情報を欠く場合には「―」で示した。備考では、当該種の生物学的情報(分類や他国での分布等に関する事項)や新標準和名の提案根拠などを記した。なお、国際動物命名規約第4版(動物命名国際審議会, 2000)に従って異名リスト、タイプ種、新参異名などの用語を本目録で用いた。

各寄生虫の記録を上記のようにまとめたあと、さらに宿主-寄生虫リストとして整理した。このリストでは、宿主として報告された魚類を中坊 (2013) の分類体系に従って並べ、各魚種から記録されたカイアシ類を示した。各科において宿主魚類は五十音順に並べた。

ナガクビムシ科カイアシ類の分類体系に関しては Yamaguti (1963), Kabata (1979), Boxshall and Halsey (2004) が参考になる。極東アジアにおける本科に関する知見は極めて限られている(韓国: Kim, 1998; 中国: Song and Kuang, 1980; 極東ロシア: Gusev, 1951; Markevich and Titar, 1978)。本目録は筆者らによる日本産寄生性カイアシ類目録の第10報である(ニセエラジラミ科 [長澤ら, 2007]; イカリムシ科 [Nagasawa *et al.*, 2007]; ウオジラミ属 [長澤ら, 2010]; 瀬戸内海産寄生性カイアシ類 [Nagasawa, 2011, 2015c]; ヒトガタムシ科 [長澤・上野, 2011]; ツツウオジラミ科, エラノミ科, ニセエラノミ科 [長澤・上野, 2012]; ツブムシ科 [長澤ら, 2013]; ヒジキムシ科 [長澤・上野, 2014])。

日本産ナガクビムシ科カイアシ類の目録

カイアシ亜綱

Subclass **Copepoda** Milne Edwards, 1830

新カイアシ下綱

Infraclass **Neocopepoda** Huys and Boxshall, 1991

管口目(シフォノストム目)

Order **Siphonotomatoidea** Burmeister, 1835

本目を管口目（シフォノストム目）と呼ぶ経緯については長澤ら（2010）が記している。

ナガクビムシ科

Family **Lernaeopodidae** Mile Edwards, 1840

本科は、かつてはナガクビムシ目 *Lernaeopodoida* (Yamaguti, 1939; 椎野, 1964; 内田, 1972; 山田ら, 1977, 1983) あるいは *Lernaeopodidea* (Yamaguti, 1963) に含まれていた。本科の標準和名は椎野（1964: 127）に従う。

Ho and Kim（1996）はオホーツク海産コブコオリカジカ *Icelus ochotensis* から本科に属する *Nectobrachia iceli* を新種として記載したが、採集地が日本国内であるか不明であるため、この種は本目録に含めなかった。

ヤセナガクビムシ属（新称）

Genus *Alella* Leigh-Sharpe, 1925

新標準和名は、本属の種の胴部が細くて痩せて見えることに因む。

ウミタナゴナガクビムシ（新称）

Alella ditrematis (Yamaguti, 1939)

異名リスト: *Clavellodes ditrematis* (Yamaguti, 1939)

宿主: ウミタナゴ *Ditrema temminckii temminckii* (= *Ditrema temmincki*), オキタナゴ *Neoditrema ransonnetii* (= *Neoditrema ransonneti*), アイナメ *Hexagrammos otakii*

寄生部位: 鰓

地理的分布: 日本海（新潟県佐渡島・石川県能登半島: Ho, 1983）, 瀬戸内海（兵庫県垂水: Yamaguti, 1939）

備考: 本種に関する解説がある（椎野, 1965）。本種は韓国にも分布する（Kim, 1998）。標準和名は椎野（1965）に従う。

クロダイナガクビムシ（新称）

Alella macrotrachelus (Brian, 1906)

異名リスト: *Clavellodes macrotrachelus* (Yamaguti, 1939; 植木・杉山, 1979)

宿主: クロダイ *Acanthopagrus schlegelii* (= *Sparus longispinis*, *Mylio macrocephalus*, *Acanthopagrus schlegeleri*)

寄生部位: 鰓

地理的分布: 日本海（新潟県佐渡島: Ho, 1983; 富山県富山湾: 若林, 1993, 1998）, 瀬戸内海（兵庫県垂水: Yamaguti, 1939; 岡山県玉野・九幡: 植木・杉山, 1979; 広島県内海町田島: 河東ら, 1980; 岡山県児島湾 [玉野・九幡]・広島県西能美島 [三高], 音戸町 [広島県水産試験場]・香川県屋島: 室賀ら, 1981）

備考: 室賀ら（1981: 143）によれば、本種は山口県、長崎県、静岡県、京都府のクロダイにも寄生していたという。本種による疾病に関する解説がある（増村, 1989）。新標準和名は、本種がクロダイに寄生することに因む。

ガイヨウナガクビムシ属 (新称)

Genus *Brachiella* Cuvier, 1830

新標準和名は、本属の種が外洋を回遊する魚類に寄生することに因む。

ナガクビムシ

Brachiella thynni Cuvier, 1830

宿主：カマスサワラ *Acanthocybium solandri*, クロマグロ *Thunnus orientalis*

寄生部位：胸鰭直後の体表

地理的分布：北太平洋（三重県尾鷲沖：Shiino, 1956；宮崎県沖：Nagasawa, 2015b）

備考：本種は、低～中緯度域の大洋に生息する大型のサバ科魚類に見られる（Kabata, 1979）。わが国では養殖クロマグロにも寄生する（Nagasawa, 2015b）。本種に関する解説がある（椎野, 1965, 1979）。標準和名は椎野（1965）に従う。

ガイヨウナガクビムシ属の1種

Brachiella sp.

宿主：ハシキンメ *Gephyroberyx japonicus*

寄生部位：口蓋

地理的分布：北太平洋（神奈川県相模湾：市原ら, 1965）

ガイヨウナガクビムシ属の1種

Brachiella sp.

宿主：キチジ *Sebastolobus macrochir*, メバル属魚類 *Sebastes* spp. (=「アカウオ」, 「メヌケ」)

寄生部位：鰓

地理的分布：—（東京都市場衛生検査所, 1990）

備考：東京都市場衛生検査所（1990）の言う「アカウオ」は魚市場で用いられる俗称で、ハゼ科のアカウオ *Paratrypauchen microcephalus* ではなく、メバル科のメバル属魚類と推測される。

マルナガクビムシ属

Genus *Clavella* Oken, 1815

本属の標準和名は Nagasawa *et al.* (2008: 56) に従う。

タラナガクビムシ (新称)

Clavella adunca (Strøm, 1762)

異名リスト：*Clavella uncinata* (Yamaguti, 1939；Shiino, 1956)

宿主：マダラ *Gadus macrocephalus*, スケトウダラ *Theragra chalcogramma*, コマイ *Eleginus gracilis*

寄生部位：鰓, 口腔, 舌, 口周辺皮膚, 鰭

地理的分布：日本海（北海道稚内沖：Shiino, 1956；北海道釧路沖：Ho and Kim, 1996；新潟県能生町沖：伊澤, 1994；富山県富山湾：Yamaguti, 1939）

備考：本種はマルナガクビムシ属のタイプ種で、南大西洋を除く世界の大洋に広く分布する（Kabata, 1979）。近隣では極東ロシアや韓国にも分布する（Gusev, 1951；Kim, 1998）。新標準和名は、本種がタラ科魚類に寄生することに因む。

トウジンナガクビムシ（新称）

Clavella collaris Ho, 1993

宿主：ソロイヒゲ *Coelorynchus parallelus*, オニヒゲ *Coelorynchus gilberti*

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋（高知県土佐湾：沖縄県沖：Ho, 1993）

備考：新標準和名は、本種がトウジン属ソコダラ類に寄生することに因む。

ミナミナガクビムシ（新称）

Clavella diversia Ho, 1993

宿主：ソロイヒゲ *Coelorynchus parallelus*, オニヒゲ *Coelorynchus gilberti*

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋（高知県土佐湾：沖縄県沖：Ho, 1993）

備考：新標準和名は、本種が沖縄県を含む南日本で採集されたことに因む。

トサナガクビムシ（新称）

Clavella gadomi Ho, 1993

宿主：カタダラ *Gadomus colletti* (= *Gadomus colletti* [sic])

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋（高知県土佐湾：Ho, 1993）

備考：新標準和名は、本種が土佐湾で採集されたことに因む。

オナガナガクビムシ（新称）

Clavella longicauda Ho, 1993

宿主：ヘリダラ *Coryphaenoides marginatus*

寄生部位：口腔

地理的分布：北太平洋（沖縄県沖：Ho, 1993）

備考：新標準和名は、本種の雌成体が長い生殖突起を有することに因む。

ワキブクレナガクビムシ (新称)

Clavella okamurai Ho, 1993

宿主：ヘリダラ *Coryphaenoides marginatus*, ハナソコダラ *Coryphaenoides nasutus*

寄生部位：口腔, 鰓耙

地理的分布：北太平洋 (神奈川県相模湾：沖縄県沖：Ho, 1993)

備考：新標準和名は、本種の雌成体の胴部側面が膨らんでいることに因む。

マルナガクビムシ (新称)

Clavella ovata Yamaguti, 1939

宿主：スミクイウオ *Synagrops japonicus* (= *Synagrops japonica*)

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋 (静岡県舞阪：Yamaguti, 1939)

備考：新標準和名は、本種の雌成体が卵型の丸い胴部をもつことに因む。

ソイマルナガクビムシ

Clavella parva Wilson, 1912

宿主：ウスメバル *Sebastes thompsoni*

寄生部位：鰓

地理的分布：日本海 (青森県小泊・陸奥湾・青森県産業技術センター 水産総合研究所 [茂浦]：Nagasawa *et al.*, 2008)

備考：本種は、青森県で種苗生産用に飼育されていた親魚に寄生していた (Nagasawa *et al.*, 2008)。本種は太平洋沿岸諸国の沿岸魚に寄生し (Nagasawa *et al.*, 2008を参照)、近隣では極東ロシアや韓国にも分布する (Gusev, 1951；Kim, 1998)。標準和名は Nagasawa *et al.* (2008) に従う。

コオリナガクビムシ (新称)

Clavella perfida Wilson, 1912

宿主：スケトウダラ *Theragra chalcogramma*

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋 (北海道厚岸沖：片倉ら, 2004)

備考：スケトウダラにおける本種の病害性に関する研究が行われた (片倉ら, 2004)。本種は主にスケトウダラに寄生し (例えば Kabata, 1970；Arthur, 1984)、極東ロシアや韓国にも分布する (Gusev, 1951；Kim, 1998)。本種が冷水域に分布することから、水 (こおり) を含む新標準和名を提案する。

ムツナガクビムシ (新称)

Clavella scombropis Yamaguti, 1939宿主：ムツ *Scombrops boops*

寄生部位：鰓耙

地理的分布：北太平洋（静岡県舞阪：Yamaguti, 1939）

備考：新標準和名は、本種がムツに寄生することに因む。

ソコダラナガクビムシ (新称)

Clavella sokodara Ho, 1993宿主：ハナソコダラ *Coryphaenoides nasutus*, ヘリダラ *Coryphaenoides marginatus*

寄生部位：鰓耙, 口腔

地理的分布：北太平洋（神奈川県相模湾：高知県土佐湾：沖縄県沖：Ho, 1993）

備考：新標準和名は、本種がソコダラ科魚類に寄生することに因む。

ゾウバナナガクビムシ属 (新称)

Genus *Clavellisa* C. B. Wilson, 1915

新標準和名は、本属の種が象の鼻のように見える長い頭胸部を有することに因む。

ゾウバナナガクビムシ (新称)

Clavellisa dorosomatis Yamaguti, 1939宿主：コノシロ *Konosirus punctatus* (= *Dorosoma trissa*, *Konosirus (Clupandon) punctatus*)

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋（静岡県浜名湖：Yamaguti, 1939）

備考：新標準和名は、属名の和名と同様の理由による。

サバゾウバナナガクビムシ (新称)

Clavellisa scombri (Kurz, 1877)宿主：マサバ *Scomber japonicus* (= *Scomber scombrus japonicus*)

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋（静岡県駿河湾：Yamaguti, 1939）、日本海（新潟県角田山：Shiino, 1959）

備考：Shiino (1959) は、本種を Tsunodayama で得たと記したが角田山（かくだやま）の誤りと考えられ、

採集地はその周辺の日本海沿岸と推測される。新標準和名は、本種がマサバに寄生することに因む。

ナガクビムシモドキ属 (新称)

Clavellopsis C. B. Wilson, 1915

新標準和名は、本属がマルナガクビムシ属 *Clavella* に似ることによる。

ナガクビムシモドキ (新称)

Clavellopsis flexicervica Shiino, 1956

宿主：イソズメダイ *Abudefduf notatus* (= *Abudefduf natatus* [sic])

寄生部位：鰓肉質部

地理的分布：北太平洋 (和歌山県瀬戸：Shiino, 1956)

備考：新標準和名は、属名の和名と同様の理由による。

シンカイナガクビムシ (新称)

Clavellopsis pellucidula Shiino, 1956

宿主：アオメエソ *Chlorophthalmus albatrossis* (= *Chlorophthalmus albatrossi* [sic])

寄生部位：胸鰭

地理的分布：北太平洋 (三重県尾鷲：Shiino, 1956)

備考：新標準和名は、本種が深海魚のアオメエソに寄生することによる。

ギンメダイナガクビムシ (新称)

Clavellopsis polymixiae Yamaguti, 1939

宿主：ギンメダイ *Polymixia japonica* (= *Polymixia nobilis*)

寄生部位：胸鰭

地理的分布：北太平洋 (静岡県駿河湾：Yamaguti, 1939)

備考：Yamaguti (1939) は本種の宿主を *Polymixia nobilis* と報告したが、この種は日本に分布しない (中坊, 2013)。採集地の駿河湾にはギンメダイが生息するので、本目録ではこれを用いる。新標準和名は、本種がギンメダイに寄生することによる。

サバナガクビムシ (新称)

Clavellopsis saba Yamaguti, 1939

宿主：マサバ *Scomber japonicus* (= *Scomber scomberus japonicus*)

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋 (静岡県沼津：Yamaguti, 1939), 日本海 (新潟県角田山：Shiino, 1959)

備考：サバゾウバナナガクビムシ *Clavellisa scombri* の場合と同様に、Shiino (1959) は本種を Tsunodayama で得たと記したが、角田山 (かくだやま) の誤りと考えられる。採集地はその周辺の日本海沿岸と推測される。新標準和名は、本種がマサバに寄生することによる。

マメナガクビムシ属 (新称)

Genus *Clavellotis* Castro Romero and Baeza Kuroki, 1984

新標準和名は、本属の種が豆 (まめ) 状の胴を有することに因む。

マメナガクビムシ (新称)

Clavellotis branchiostegi (Yamaguti, 1939)

異名リスト: *Clavellopsis branchiostegi* (Yamaguti, 1939; Shiino, 1959)

宿主: アカアマダイ *Branchiostegus japonicus*

寄生部位: 口腔, 鰓

地理的分布: 北太平洋 (—: Yamaguti, 1939; 三重県尾鷲: Shiino, 1959), 日本海 (—: Yamaguti, 1939)

備考: 本種の分類学的位置に関しては Kabata (1990) を参照。新標準和名は、属名の和名と同様の理由による。

コブツキナガクビムシ (新称)

Clavellotis dilatata (Krøyer, 1863)

異名リスト: *Clavellopsis sargi* (Yamaguti, 1939; Shiino, 1956, 1959), *Clavellopsis nodula* (Do and Ho, 1983)

宿主: クロダイ *Acanthopagrus schlegelii* (= *Sparus longispinis*, *Sparus macrocephalus*, *Mylio macrocephalus*), マダイ *Pagrus major* (= *Pagrosomus unicolor*)

寄生部位: 鰓, 口底

地理的分布: 北太平洋 (三重県桃取: Shiino, 1956, 1959), 東シナ海 (熊本県天草富岡: Shiino, 1959), 瀬戸内海 (兵庫県垂水: Yamaguti, 1939; 岡山県児島湾: Do and Ho, 1983)

備考: 本種は、わが国では当初 *Clavellopsis sargi* として報告されたが (Yamaguti, 1939; Shiino, 1956, 1959), Do and Ho (1983) はそれを新種 *Clavellopsis nodula* として記載した。しかしその直後, この種は本種の新参異名とされた (Castro Romero and Baeza Kuroki, 1984)。新標準和名は、本種の雌成体の胴前端に7個のこぶ状突起があることに因む。

ナガクビムシ属

Genus *Lernaeopoda* de Blainville, 1822

本属の標準和名は椎野 (1964: 128) に従う。

ダンゴナガクビムシ (新称)

Lernaeopoda oviformis Shiino, 1956

宿主: フトツノザメ *Squalus mitsukurii*

寄生部位: 体表

地理的分布: 北太平洋 (高知県甲浦: Shiino, 1956)

備考: 新標準和名は、本種の雌成体が団子状の胴部をもつことに因む。

エラマキナガクビムシ属 (新称)

Genus *Naobranchia* Hesse, 1863

本属は以前、エラマキナガクビムシ科 Naobranchiidae に含まれていた (Yamaguti, 1939, 1963; Shiino, 1958; 椎野, 1965)。新標準和名は、下記のエラマキナガクビムシ *Naobranchia aulopi* に倣う。

Ho and Kim (1996) は、北海道産クロコオリカジカ *Icelus canaliculatus* の鰓から *Naobranchia occidentalis* Wilson, 1915を得たと報告したが、この魚類標本は実際にはベーリング海で漁獲されたものであったため (長澤, 未発表資料), 本目録には含めない。

エラマキナガクビムシ

Naobranchia aulopi Yamaguti, 1939宿主: ヒメ *Aulopus japonicus*

寄生部位: 鰓

地理的分布: 北太平洋 (和歌山県みなべ: Shiino, 1958; 高知県高知: Yamaguti, 1939)

備考: 本種に関する解説がある (椎野, 1965)。標準和名は椎野 (1965) に従う。

ヤマトエラマキナガクビムシ (新称)

Naobranchia auriculata Shiino, 1958宿主: キンメダイ *Beryx splendens*

寄生部位: 鰓

地理的分布: 北太平洋 (三重県尾鷲: Shiino, 1958)

備考: 本種は日本に産するため、わが国の旧称である大和 (やまと) を含む新標準和名を提案する。

キダイエラマキナガクビムシ (新称)

Naobranchia denticis Madinabeitia and Nagasawa, 2011宿主: キダイ *Dentex hypselosomus*

寄生部位: 鰓

地理的分布: 日本海 (九州北岸沖: Madinabeitia and Nagasawa, 2011)

備考: 新標準和名は、本種がキダイに寄生することに因む。

サメナガクビムシ属 (新称)

Genus *Neoalbionella* Özdikmen, 2008

本属は Kabata (1979) が提唱した *Albionella* 属が既に先取されていたことから, Özdikmen (2008) によって新たに設けられた。新標準和名は、本属の種がサメ類に寄生することに因む。

フジクジラナガクビムシ (新称)

Neoalbionella etmopteri (Yamaguti, 1939)異名リスト: *Lernaeopoda etmopteri* (Yamaguti, 1939), *Albionella etmopteri* (Benz, 1991)宿主: フジクジラ *Etmopterus lucifer*

寄生部位: 鰓, 鰭, 体表

地理的分布: 北太平洋 (一: Yamaguti, 1939; 三重県熊野灘: Benz, 1991)

備考: 新標準和名は, 本種がフジクジラに寄生することに因む。

ヘラザメナガクビムシ (新称)

Neoalbionella kabatai (Benz and Izawa, 1990)異名リスト: *Albionella etmopteri* (Benz and Izawa, 1990)宿主: ヘラザメ *Apristurus platyrhynchus*

寄生部位: 鰭

地理的分布: 北太平洋 (三重県熊野灘: Benz and Izawa, 1990)

備考: 新標準和名は, 本種がヘラザメに寄生することに因む。

ナガオナガクビムシ

Neoalbionella longicaudata (Hansen, 1923)異名リスト: *Lernaeopoda longicaudata* (Shiino, 1956)宿主: タロウザメ *Centrophorus acus*, アイザメ *Centrophorus atromarginatus*

寄生部位: 口腔, 鰓

地理的分布: 北太平洋 (和歌山県田辺・高知県甲浦: Shiino, 1956)

備考: 本種に関する解説がある (椎野, 1965)。標準和名は椎野 (1965) に従う。椎野 (1964, 図58) は本種にナガクビムシの名前を用いたことがある。

ヨツオナガクビムシ属

Genus *Parabrachilella* C. B. Wilson, 1915ナガクビムシ科の別属に所属していた多くの種が Piasecki *et al.* (2010) によって本属に移された。本属の標準和名は横山・長澤 (2014) に従う。

タイヘイヨウナガクビムシ (新称)

Parabrachiella amphipacifica (Ho, 1982)異名リスト: *Neobrachiella amphipacifica* (Ho *et al.*, 2005)宿主: ガンコ *Dasycottus setiger*, アカドンコ *Ebinania vermiculata*, ボウズカジカ *Ebinania brephocephala*, ニュウドウカジカ *Phychrolutes phrictus*

寄生部位: —

地理的分布：北太平洋（北海道釧路沖・襟裳岬沖・白尻沖：青森県沖：岩手県沖：福島沖：高知沖：Ho *et al.*, 2005）

備考：新標準和名は、本種が南北太平洋に広く分布することに因む（Ho, 1980）。

ミサキナガクビムシ（新称）

Parabrachiella annulata (Markevich, 1940)

異名リスト：*Brachiella annulata* (Markevich, 1940)

宿主：トリカジカ *Ereunias grallator*

寄生部位：体表

地理的分布：北太平洋（神奈川県三崎：Markevich, 1940）

備考：本種は、北西太平洋や北米カリフォルニア沖、南米ガラパゴス諸島沖からも記録がある（Kabata and Gusev, 1966；Noble, 1973；Ho, 1975）。新標準和名は、本種が三崎で最初に採集されたことに因む。

ベラナガクビムシ（新称）

Parabrachiella bera (Yamaguti, 1939)

異名リスト：*Brachiella bera* (Yamaguti, 1939)

宿主：キュウセン *Parajulis poecileptera* (= *Halichoeres poecilopterus*)

寄生部位：鰓

地理的分布：瀬戸内海（兵庫県垂水：Yamaguti, 1939）

備考：新標準和名は、本種がベラ類から得られたことに因む。

フタコブナガクビムシ（新称）

Parabrachiella brevicapita (Ho and Do, 1984)

異名リスト：*Neobrachiella brevicapita* (Ho and Do, 1984)

宿主：コイチ *Nibea albiflora*

寄生部位：鰓

地理的分布：瀬戸内海（岡山県児島湾：Ho and Do, 1984）

備考：新標準和名は、本種の雌成体は頭胸部基部に一对の瘤を有することに因む。

イスズミナガクビムシ（新称）

Parabracchilella exilis (Shiino, 1956)

異名リスト：*Epibrachiella exilis* (Shiino, 1956)

宿主：イスズミ *Kyphosus vaigiensis* (= *Kyphosus lembus*)

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋（静岡県伊豆半島長津呂：Shiino, 1956）

備考：新標準和名は、本種がイスズミに寄生することに因む。

イシダイナガクビムシ (新称)

Parabrachiella hoplgnathi (Yamaguti, 1939)異名リスト: *Epibrachiella holplognathi* (Yamaguti, 1939)宿主: イシダイ属の1種 *Oplegnathus* sp. (= *Hoplgnathus* sp.)

寄生部位: 鰓

地理的分布: 北太平洋 (静岡県駿河湾: Yamaguti, 1939)

備考: 新標準和名は, 本種がイシダイ類に寄生することに因む。

フグナガクビムシ

Parabrachiella hugu (Yamaguti, 1939)異名リスト: *Clavellopsis hugu* (Yamaguti, 1939), *Neobrachiella hugu* (Ogawa and Inouye, 1997; Ogawa and Yokoyama, 1998)宿主: トラフグ *Takifugu rubripes* (= *Spheroides rubripes*)

寄生部位: 口腔

地理的分布: 日本海 (福井県小浜: Yamaguti, 1939; 長崎県南松浦郡奈留: Ogawa and Inouye, 1997)

備考: 本種は養殖トラフグにも寄生する (Ogawa and Inouye, 1997; Ogawa and Yokoyama, 1998; 長澤, 2013)。本種に関する解説がある (椎野, 1957)。本種は中国と韓国にも分布する (Song and Kuang, 1980; Kim, 1998)。最近, 横山・長澤 (2014) は本種にフグヨツオナガクビムシの標準和名を与えた。しかし, 椎野 (1957) がそれ以前に本種の和名としてフグナガクビムシを用いたので, これを標準和名とするのが適当であり, 本目録ではフグナガクビムシを採用する。

マガリナガクビムシ (新称)

Parabrachiella incurva Shiino, 1956宿主: イスズミ *Kyphosus vaigiensis* (= *Kyphosus lembus*)

寄生部位: 鰓

地理的分布: 北太平洋 (静岡県伊豆半島長津呂: 和歌山県瀬戸: Shiino, 1956)

備考: 新標準和名は, 本種の頭胸部が湾曲していることに因む。

ニベナガクビムシ (新称)

Parabrachiella johnii (Yamaguti, 1939)異名リスト: *Clavellopsis johnii* (Yamaguti, 1939)宿主: ゴマニベ *Protonibea diacantha* (= *Johnius goma*)

寄生部位: 鰓

地理的分布: 東シナ海 (一: Yamaguti, 1939)

備考: 新標準和名は, 本種がニベ類に寄生することに因む。

アカムツナガクビムシ (新称)

Parabrachiella septicauda (Shiino, 1956)異名リスト: *Epibrachiella septicauda* (Shiino, 1956)宿主: アカムツ *Doederleinia berycoides*

寄生部位: 口腔, 鰓耙

地理的分布: 北太平洋 (三重県尾鷲: Shiino, 1956)

備考: 新標準和名は, 本種がアカムツに寄生することに因む。

ブリヨツオナガクビムシ

Parabrachiella seriolae (Yamaguti and Yamasu, 1960)異名リスト: *Lerneopoda* gen. sp. 1 [sic] (窪田・高桑, 1963), *Barchiella seriolae* (Yamaguti and Yamasu, 1960; 小野, 1984), *Eobarchiella elegans* f. *seriolae* (Ho and Do, 1984; Ogawa and Yokoyama, 1998)宿主: ブリ *Seriola quinqueradiata*

寄生部位: 胸鰭基部

地理的分布: 北太平洋 (三重県 [一]: 窪田・高桑, 1963; 和歌山県白浜: Yamaguti and Yamasu, 1960), 東シナ海 (鹿児島県長島: Cruz-Lacierda *et al.*, 2011), 瀬戸内海 (岡山県児島湾: Ho and Do, 1984; 大分県 [一]: 小野, 1984)備考: 本種は養殖ブリにも寄生する (Yamaguti and Yamasu, 1960; 窪田・高桑, 1963; 小野, 1984; Ogawa and Yokoyama, 1998; Cruz-Lacierda *et al.*, 2011; 長澤, 2012)。養殖ブリにおける寄生状況に関する報文がある (小野, 1984; Cruz-Lacierda *et al.*, 2011)。標準和名は横山・長澤 (2014) に従う。

タチウオナガクビムシ (新称)

Parabrachiella trichiuri (Yamaguti, 1939)異名リスト: *Clavellopsis trichiuri* (Yamaguti, 1939)宿主: タチウオ *Trichiurus japonicus*

寄生部位: 口蓋

地理的分布: 日本海 (富山県富山湾: Yamaguti, 1939), 瀬戸内海 (一: Yamaguti, 1939)

備考: 新標準和名は, 本種がタチウオに寄生することに因む。

エイナガクビムシ属 (新称)

Genus *Pseudocharopinus* Kabata, 1964新標準和名は, 下記のエイナガクビムシ (新称) *Pseudocharopinus markewitschi* に倣う。

エイナガクビムシ (新称)

Pseudocharopinus markewitschi (Gusev, 1951)異名リスト: *Charopinus markewitschi* (Shiino, 1956, 1959)

宿主：ウシエイ *Dasyatis ushieii*, コモンカスベ *Okamejei kenojei* (= *Dasyatis kenojei*)

寄生部位：口腔

地理的分布：北太平洋（北海道釧路沖：Ho and Kim, 1996；神奈川県相模湾：Shiino, 1959），日本海（新潟県 [一]：Shiino, 1959），瀬戸内海（和歌山県瀬戸：Shiino, 1956）

備考：本種は極東ロシアで記載され（Gusev, 1951），韓国にも分布する（Kim, 1998）。新標準和名は，本種がエイ類に寄生することに因む。

ツバクロエイナガクビムシ（新称）

Pseudocharopinus pteroplateae (Yamaguti and Yamasu, 1959)

異名リスト：*Brachilella pteroplateae* (Yamaguti and Yamasu, 1959)

宿主：ツバクロエイ *Gymnura japonica* (= *Pteroplatea japonica*)

寄生部位：鰓

地理的分布：北太平洋（神奈川県相模湾：Yamaguti and Yamasu, 1959）

備考：新標準和名は，本種がツバクロエイに寄生することに因む。

ヤマメナガクビムシ属

Genus *Salmincola* C. B. Wilson, 1915

Yamaguti (1963) は本属を認めずに *Entomoda* 属が有効としたが，今は認められていない。本属のカイアシ類による疾病の解説がある（長澤, 1989, 2006）。標準和名は Nagasawa and Urawa (2002: 11) に従う。

ヤマメナガクビムシ

Salmincola californiensis (Krøyer, 1837)

異名リスト：*Salmincola yamame* (Hoshina and Suenaga, 1954)

宿主：ヤマメ *Oncorhynchus masou masou* (= *Oncorhynchus masou*)，ニッコウイワナ *Salvelinus leucomaenis pluvius* (= イワナ)

寄生部位：鰓，鰓蓋，鰓腔，口腔，胸鰭基部

地理的分布：北海道（別寒辺牛川：Nagasawa and Urawa, 2002），群馬県（一：Kabata, 1969；吾妻川・鱒谷養鱒場 [孺恋]：保科・西村, 1976），長野県（木曾川水系：Hoshina and Suenaga, 1954；養魚場 [小赤沢]：西村・保科, 1977；雑魚川・支流：伝田・小川, 2011）

備考：保科・西村 (1976) によれば，Hoshina and Suenaga (1954) が報告した宿主はヤマメではなくアマゴ *Oncorhynchus masou ishikawae*（論文では *O. rhodrus* var. *macrostomus*）の可能性があるという。本種による疾病に関する解説がある（中島, 1975；江草, 1978；小川, 1983）。標準和名は Nagasawa and Urawa (2002: 11) に従う。

イワナナガクビムシ

Salmincola carpionis (Krøyer, 1837)

異名リスト：*Salmincola falculata* (Yamaguti, 1939), *Salmincola smirnovi* (Markevich, 1956), サルミンコーラ（熊谷, 1985）

宿主：エゾイワナ *Salvelinus leucomaenis leucomeniss* (= *Salvelinus leucomaenis*, イワナ), ニッコウイワナ *Salvelinus leucomaenis pluvius* (= *Salvelinus leucomaenis*), オシヨロコマ *Salvelinus malma krascheninnikovi* (= *Salvelinus malma*), ミヤベイワナ *Salvelinus malma miyabei*, カワマス *Salvelinus fontinalis*, ニッコウイワナとカワマスの交雑種 (*S. leucomaenis pluvius* × *S. fontinalis*), ニジマス *Oncorhynchus mykiss*, ヒメマス *Oncorhynchus nerka*

寄生部位：口腔（寄生数が多くなると、頭部体表面や鱗の基部などにも見られる）

地理的分布：北海道（パンケ湖：Yamaguti, 1939；別寒辺牛川：Nagasawa and Urawa, 2002）、青森県（浅水水族館 [青森]：Nagasawa *et al.*, 1995）、岩手県（岩手県内水面指導所 [松尾]：熊谷, 1985；Nagasawa *et al.*, 1995）、栃木県（養殖研究所日光支所 [日光]・中禅寺湖流入河川：Nagasawa *et al.*, 1997, 1998）、長野県（梓川：Nagasawa *et al.*, 1995）、富山県（神通川・庄川・早月川 [養殖場]：若林, 1997）

備考：わが国での本種の記録は Markevich (1956) が日本産オシヨロコマから本種を得たとする極めて簡単な文章から始まったため、Nagasawa *et al.* (1987) はその分布に疑問を呈した。しかし後年、本種が実際にわが国に分布することが明らかになった (Nagasawa *et al.*, 1995)。一方、これとは別に Yamaguti (1939) は北海道パンケ湖（パンケ湖と誤記）産ヒメマスから別種 *Salmincola falculata* を報告していたが、これは Nagasawa *et al.* (1995) によって本種とされた。本種は養鱒場や水族館の飼育魚に寄生することがある (Nagasawa *et al.*, 1995, 1997, 1998；若林, 1997)。標準和名は Nagasawa and Urawa (2002：11) に従う。

イトウナガクビムシ

Salmincola stellatus Markevich, 1936

宿主：イトウ *Hucho perryi*

寄生部位：口腔

地理的分布：北海道（猿払川・大津養魚場 [鶴井]：Nagasawa and Urawa, 1991；サンピアザ水族館 [札幌]：Kabata, 1986；北海道大学附属七飯養魚実習施設 [七飯]：Nagasawa *et al.*, 1994；Hiramatsu *et al.*, 2001）

備考：Kabata (1986) は孵化場産イトウから本種を得たと報告したが、Nagasawa and Urawa (1991) はその採集地がサンピアザ水族館であると訂正した。その際、本種の寄生部位を体表とした Kabata (1986) は正しくなく、口腔であることを指摘した。本種は水族館や水産実習場等の飼育魚に寄生することがある (Nagasawa and Urawa, 1991；Nagasawa *et al.*, 1994；Hiramatsu *et al.*, 2001)。本種は2014年に「絶滅危惧Ⅰ類」に判定され、環境省レッドリストに掲載された (横畑, 2013, 2014) 標準和名は Nagasawa and Urawa (2002：11) に従う。

ギンザメナガクビムシ属 (新称)

Genus *Schistobrachia* Kabata, 1964

新標準和名は、下記のギンザメナガクビムシ (新称) *Schistobrachia chimaerae* に倣う。

ギンザメナガクビムシ (新称)

Schistobrachia chimaerae (Yamaguti, 1939)

異名リスト：*Charopinus chimaerae* (Yamaguti, 1939)

宿主：ギンザメダマシ *Hydrolagus ogilbyi* (= *Chimaera ogilbyi*)

寄生部位：鰓

地理的分布：東シナ海（長崎県長崎：Yamaguti, 1939）

備考：本種の分類学的位置に関しては Kabata（1964）を参照。新標準和名は、本種がギンザメ類に寄生することに因む。

フサクビムシ属（新称）

Genus *Thysanote* Krøyer, 1864

新標準和名は、下記のフサクビムシ *Thysanote epinepheli* に倣う。

フサクビムシ

Thysanote epinepheli Yamaguti, 1939

宿主：ギジハタ *Epinephelus akaara*

寄生部位：口腔

地理的分布：瀬戸内海（—：Yamaguti, 1939）

備考：本種に関する解説がある（椎野, 1965）。標準和名は椎野（1965）に従う。

ウグイナガクビムシ属

Genus *Tracheliastes* von Nordmann, 1832

本属の標準和名は Nagasawa and Urawa（2015）に従う。

ウグイナガクビムシ

Tracheliastes sachalinensis Markevich, 1936

宿主：ウグイ *Tribolodon hakonensis*, エゾウグイ *Tribolodon sachalinensis*, ヤチウグイ *Phoxinus perenurus sachalinensis*

寄生部位：鰭

地理的分布：北海道（網走湖・シラルトロ湖・塘路湖・目名川・次郎沢：Nagasawa and Urawa, 2015）

備考：本種は Markevich（1936）によってサハリン産ウグイ属魚類から記載された。標準和名は Nagasawa and Urawa（2015）に従う。

ナガクビムシ科の1種

Lernaeopodidae gen. sp.

異名リスト：*Lerneopoda* gen. sp. 2 [sic]（窪田・高桑, 1963）

宿主：ブリ *Seriola quinqueradiata*

寄生部位：口腔

地理的分布：北太平洋（三重県：窪田・高桑, 1963）

ナガクビムシ科の複数種

Lernaeopodidae gen. spp.

宿主：メバル属魚類の1種 *Sebastes* sp. (=メバル), マサバ *Scomber japonicus*, マダイ *Pagrus major*, クロダイ *Acanthopagrus schlegelii* (= *Acanthopagrus schelegelii schlegelii*), キチヌ *Acanthopagrus latus*, ミナミクロダイ *Acanthopagrus sivicolus*, キダイ *Dentex hypselosomus*, キビレアカレンコ *Dentex abei*, チダイ *Evynnis tumifrons*

寄生部位：鰓腔, 鰓

地理的分布：青森県（魚市場・鮮魚店・スーパーマーケット・百貨店鮮魚コーナー [弘前]：江藤・大高, 2007）；北太平洋または東シナ海（沖縄県近海：Madinabeitia and Nagasawa, 2013）；日本海（九州北岸沖：Madinabeitia and Nagasawa, 2013）；瀬戸内海（広島県広島湾：Madinabeitia and Nagasawa, 2013）

宿主一寄生虫リスト

軟骨魚綱 Chondrichthyes

全頭亜綱 Holocephali

ギンザメ目 Chimaeriformes

ギンザメ科 Chimaeridae

ギンザメダマシ *Hydrolagus ogilbyi*：ギンザメナガクビムシ *Schistobrachia chimaerae*

板鰓亜綱 Elasmobranchii

メジロザメ目 Carcharhiniformes

トラザメ科 Scyliorhinidae

ヘラザメ *Apristurus platyrhynchus*：ヘラザメナガクビムシ *Nealbionella kabatai*

ツノザメ目 Squaliformes

カラスザメ科 Etmopteridae

フジクジラ *Etmopterus lucifer*：フジクジラナガクビムシ *Nealbionella etmopteri*

アイザメ科 Centrophoridae

アイザメ *Centrophorus atomarginatus*：ナガオナガクビムシ *Nealbionella longicaudata*

タロウザメ *Centrophorus acus*：ナガオナガクビムシ *Nealbionella longicaudata*

ツノザメ科 Squalidae

フトツノザメ *Squalus mitsukurii*：ダンゴナガクビムシ *Lernaeopoda oviformis*

ガンギエイ目 Rajiformes

ガンギエイ科 Rajidae

コモンカスベ *Okamejei kenojei*：エイナガクビムシ *Pseudocharopinus markewitschi*

トビエイ目 Myliobatiformes

アカエイ科 Dasyatidae

ウシエイ *Dasyatis ushieii*：エイナガクビムシ *Pseudocharopinus markewitschi*

ツバクロエイ科 Gymnuridae

ツバクロエイ *Gymnura japonica*：ツバクロエイナガクビムシ *Pseudocharopinus pteroplateae*

硬骨魚綱 Osteichthyes

条鰭亜綱 Actinopterygii

ニシン目 Clupeiformes

ニシン科 Clupeidae

コノシロ *Konosirus punctatus*：ゾウバナナガクビムシ *Clavellisa dorosomatis*

コイ目 Cypriniformes

コイ科 Cyprinidae

- エゾウグイ *Tribolodon sachalinensis* : ウグイナガクビムシ *Tracheliastes sachalinensis*
 ウグイ *Tribolodon hakonensis* : ウグイナガクビムシ *Tracheliastes sachalinensis*
 ヤチウグイ *Phoxinus perenurus sachalinensis* : ウグイナガクビムシ *Tracheliastes sachalinensis*

サケ目 Salmoniformes

サケ科 Salmonidae

- イトウ *Hucho perryi* : イトウナガクビムシ *Salmincola stellatus*
 エゾイワナ *Salvelinus leucomaenis leucomeniss* : イワナナガクビムシ *Salmincola carpio*
 オシヨロコマ *Salvelinus malma krascheninnikovi* : イワナナガクビムシ *Salmincola carpio*
 カワマス *Salvelinus fontinalis* : イワナナガクビムシ *Salmincola carpio*
 ニジマス *Oncorhynchus mykiss* : イワナナガクビムシ *Salmincola carpio*
 ニッコウイワナ *Salvelinus leucomaenis pluvius* : ヤマメナガクビムシ *Salmincola californiensis*, イワ
 ナナガクビムシ *Salmincola carpio*
 ニッコウイワナとカワマスの交雑種 (*Salvelinus leucomaenis pluvius* × *S. fontinalis*) : イワナナガク
 ビムシ *Salmincola carpio*
 ヒメマス *Oncorhynchus nerka* : イワナナガクビムシ *Salmincola carpio*
 ミヤベイワナ *Salvelinus malma miyabei* : イワナナガクビムシ *Salmincola carpio*
 ヤマメ *Oncorhynchus masou masou* : ヤマメナガクビムシ *Salmincola californiensis*

ヒメ目 Aulopiformes

ヒメ科 Aulopidae

- ヒメ *Aulopus japonicus* : エラマキナガクビムシ *Naobranchia aulopi*

アオメエソ科 Chlorophthalmidae

- アオメエソ *Chlorophthalmus albatrossis* : シンカイナガクビムシ *Clavellopsis pellucidula*

ギンメダイ目 Polymixiiformes

ギンメダイ科 Polymixiidae

- ギンメダイ *Polymixia japonica* : ギンメダイナガクビムシ *Clavellopsis polymixiae*

タラ目 Gadiformes

タラ科 Gadidae

- コマイ *Eleginus gracilis* : タラナガクビムシ *Clavella adunca*
 スケトウダラ *Theragra chalcogramma* : タラナガクビムシ *Clavella adunca*, コオリナガクビムシ
Clavella perfida
 マダラ *Gadus macrocephalus* : タラナガクビムシ *Clavella adunca*
 ソコダラ科 Macrouridae
 オニヒゲ *Coelorynchus gilberti* : トウジンナガクビムシ *Clavella collaris*, ミナミナガクビムシ
Clavella diversia
 カタダラ *Gadomus colletti* : トサナガクビムシ *Clavella gadomi*
 ソロイヒゲ *Coelorynchus parallelus* : トウジンナガクビムシ *Clavella collaris*, ミナミナガクビムシ
Clavella diversia
 ハナソコダラ *Coryphaenoides nasutus* : ワキブクレナガクビムシ *Clavella okamurai*, ソコダラナガク
 ビムシ *Clavella sokodara*
 へリダラ *Coryphaenoides marginatus* : オナガナガクビムシ *Clavella longicauda*, ワキブクレナガクビ
 ムシ *Clavella okamurai*, ソコダラナガクビムシ *Clavella sokodara*

キンメダイ目 Beryciformes

キンメダイ科 Berycidae

- キンメダイ *Beryx splendens* : ヤマトエラマキナガクビムシ *Naobranchia auriculata*

ヒウチダイ科 Trachichthyidae

- ハシキンメ *Gephyroberyx japonicus* : ガイヨウナガクビムシ属の1種 *Brachiella* sp.
- スズキ目 Perciformes
- メバル科 Sebastidae
- ウスメバル *Sebastes thompsoni* : ソイマルナガクビムシ *Clavella parva*
- メバル属魚類 *Sebastes* spp. : ガイヨウナガクビムシ属の1種 *Brachiella* sp., ナガクビムシ科の1種
- Lernaeopodidae gen. sp.
- キチジ科 Sebastolobidae
- キチジ *Sebastolobus macrochir* : ガイヨウナガクビムシ属の1種 *Brachiella* sp.
- ホタルジャコ科 Acropomatidae
- アカムツ *Doederleinia berycoides* : アカムツナガクビムシ *Parabrachiella septicauda*
- スミクイウオ *Synagrops japonicus* : マルナガクビムシ *Clavella ovata*
- ハタ科 Serranidae
- ギジハタ *Epinephelus akaara* : フサクビムシ *Thysanote epinepheli*
- アマダイ科 Branchiostegidae
- アカアマダイ *Branchiostegus japonicus* : マメナガクビムシ *Clavellotis branchiostegi*
- ムツ科 Scombropidae
- ムツ *Scombrops boops* : ムツナガクビムシ *Clavella scombropis*
- アジ科 Carangidae
- ブリ *Seriola quinqueradiata* : ブリヨツオナガクビムシ *Parabrachiella seriolae*, ナガクビムシ科の1種
- Lernaeopodidae gen. sp.
- タイ科 Sparidae
- キダイ *Dentex hypselosomus* : キダイエラマキナガクビムシ *Naobranchia denticis*, ナガクビムシ科の1種 Lernaeopodidae gen. sp.
- キチヌ *Acanthopagrus latus* : ナガクビムシ科の1種 Lernaeopodidae gen. sp.
- キビレアカレンコ *Dentex abei* : ナガクビムシ科の1種 Lernaeopodidae gen. sp.
- クロダイ *Acanthopagrus schlegelii* : クロダイナガクビムシ *Alella macrotrachelus*, コブツキナガクビムシ *Clavellotis dilatata*
- チダイ *Evynnis tumifrons* : ナガクビムシ科の1種 Lernaeopodidae gen. sp.
- マダイ *Pagrus major* : コブツキナガクビムシ *Clavellotis dilatata*, ナガクビムシ科の1種 Lernaeopodidae gen. sp.
- ミナミクロダイ *Acanthopagrus sivicolus* : ナガクビムシ科の1種 Lernaeopodidae gen. sp.
- ニベ科 Sciaenidae
- コイチ *Nibea albiflora* : フタコブナガクビムシ *Parabrachiella brevicapita*
- ゴマニベ *Protonibea diacantha* : ニベナガクビムシ *Parabrachiella johnii*
- ウミタナゴ科
- ウミタナゴ *Ditrema temminckii temminckii* : ウミタナゴナガクビムシ *Alella ditrematis*
- オキタナゴ *Neoditrema ransonnetii* : ウミタナゴナガクビムシ *Alella ditrematis*
- スズメダイ科 Pomacentridae
- イソスズメダイ *Abudefduf notatus* : ナガクビムシモドキ *Clavellopsis flexicervica*
- イシダイ科 Oplegnathidae
- イシダイ属の1種 *Oplegnathus* sp. : イシダイナガクビムシ *Parabrcachilella hoplgnathi*
- イスズミ科 Kyphosidae
- イスズミ *Kyphosus vaigiensis* : イスズミナガクビムシ *Parabrcachilella exilis*, マガリナガクビムシ *Parabrachiella incurva*
- ベラ科 Labridae
- キュウセン *Parajulis poecileptera* : ベラナガクビムシ *Parabrachiella bera*

アイナメ科 Hexagrammidae

アイナメ *Hexagrammos otakii* : ウミタナゴナガクビムシ *Alella ditrematis*

トリカジカ科 Ereuniidae

トリカジカ *Ereunias grallator* : ミサキナガクビムシ *Parabrachiella annulata*

ウラナイカジカ科 Phychrolutidae

アカドンコ *Ebinania vermiculata* : タイヘイヨウナガクビムシ *Parabrachiella amphipacifica*

ガンコ *Dasycottus setiger* : タイヘイヨウナガクビムシ *Parabrachiella amphipacifica*

ニュードウカジカ *Phychrolutes phrictus* : タイヘイヨウナガクビムシ *Parabrachiella amphipacifica*

ボウズカジカ *Ebinania brephocephala* : タイヘイヨウナガクビムシ *Parabrachiella amphipacifica*

タチウオ科 Trichiuridae

タチウオ *Trichiurus japonicus* : タチウオナガクビムシ *Parabrachiella trichiuri*

サバ科 Scombridae

カマスサワラ *Acanthocybium solandri* : ナガクビムシ *Brachiella thynni*

クロマグロ *Thunnus orientalis* : ナガクビムシ *Brachiella thynn*

マサバ *Scomber japonicus* : サバゾウバナナガクビムシ *Clavellisa scomberi*, サバナガクビムシ *Clavellopsis saba*, ナガクビムシ科の1種 *Lernaepodidae* gen. sp.

フグ目 Tetraodontiformes

フグ科 Tetraodontidae

トラフグ *Takifugu rubripes* : フグナガクビムシ *Parabrachiella hugu*

今後の研究課題

本目録では、1939-2015年の77年間に出版された文献をもとに、日本産ナガクビムシ科カイアシ類各種の情報を整理した。その結果、わが国からは15属49種と未同定種（4種以上）が報告されていることが明らかになった。ヨツオナガクビムシ属と近縁属に関する近年の分類学的再検討（Piasecki *et al.*, 2010）によって属数は若干変動したが、2004年までに世界から記載されたナガクビムシ科カイアシ類は20属約268種である（Boxshall and Halsey, 2004）。この数値に基づくと、わが国から既知属の75%、既知種の約18%のナガクビムシ科カイアシ類が報告されたことになる。また、わが国で記録された属数と種数を、寄生性カイアシ類相がよく研究されている英国（19属32種：Kabata, 1979）、カナダ（16属33種：Kabata, 1988）、インド（9属28種：Pillai, 1985）、ブラジル（10属15種：Luque and Tavares, 2007）と比べてみると、属数は英国やカナダに及ばないものの、種数は世界で最も多い。すなわち、わが国は世界で最も豊かなナガクビムシ科カイアシ類相を有していると言える。これは、3名の科学者、山口左伸博士（Yamaguti, 1939；Yamaguti and Yamasu, 1959, 1960）、椎野季雄博士（Shiino, 1956, 1958, 1959）、何 汝諧博士（Ho, 1983, 1993；Ho and Do, 1984；Ho and Kim, 1996；Ho *et al.*, 2005；Nagasawa *et al.*, 2013も参照）の精力的な研究によるものであることは言を俟たない。

加えて、日本のヒジキムシ科カイアシ類相を近隣地域の数値と比べた場合、わが国は群を抜いた属数と種数を誇る。極東ロシアの日本海から8属16種（Markevich and Titar, 1978）、韓国から6属10種（Kim, 1998）、中国から4属7種（Song and Kuang, 1980）が報告されているに過ぎない。

一方、わが国には極めて多数の魚類（4,180種 [中坊, 2013]、その多くは海水魚）が生息し、上記の宿主-寄生虫リストで示されたように、わが国でナガクビムシ科カイアシ類が得られた魚種は僅か約65種であったことを考えると、わが国におけるナガクビムシ科カイアシ類相の解明はまだ不十分であると言わざるを得ない。経済的価値の低い魚種は、本科に限らず、寄生性カイアシ類が過去に調べられたことはほとんどない。今後は水産的に重要な魚種でなくとも、できるだけ多くの魚種を検査することによって、未知なナガクビムシ科カイアシ類の発見がもたらされると考えられる。

ナガクビムシ科カイアシ類の分類学的研究と並行して、生活史や生態に関する研究を行うことが重要である。特に、本科のカイアシ類は水産養殖、種苗生産施設、水族館などで飼育されている魚種に寄生すること

があり、研究材料の入手しやすさなどを考慮すると、生活史や生態の研究にはそうした施設の利用が望まれる。ちなみに人工飼育下のナガクビムシ科カイアシ類として、淡水種ではヤマメにヤマメナガクビムシ *Salmincola californiensis* (中島, 1975; 保科・西村, 1976; 西村・保科, 1977; 長澤, 2006), イワナ類にイワナナガクビムシ *Salmincola carpionis* (Nagasawa *et al.*, 1995, 1997, 1998; 若林, 1997), イトウにイトウナガクビムシ *Salmincola stellatus* (Nagasawa and Urawa, 1991; Nagasawa *et al.*, 1994; Hiramatsu *et al.*, 2001) が寄生する。海水種では、クロダイにクロダイナガクビムシ *Alella macrotrachelus* (植木・杉山, 1979; 河東ら, 1980; 室賀ら, 1981), ウスメバルにソイマルナガクビムシ *Clavella parva* (Nagasawa *et al.*, 2008), トラフグにフグナガクビムシ *Parabrachiella hugu* (Ogawa and Inouye, 1997; Ogawa and Yokoyama, 1998; 長澤, 2013), プリにプリヨツオナガクビムシ *Parabrachiella seriola* (Ogawa and Yokoyama, 1998; Cruz-Lacierda *et al.*, 2011; 長澤, 2012), クロマグロにナガクビムシ *Brachiella thynni* (Nagasawa, 2015b) が寄生する。わが国では、水産養殖・種苗生産施設や水族館と、大学や国立・県立研究機関との共同研究は比較的容易であるため、そうした連携によるナガクビムシ科カイアシ類の生態と生活史に関する研究が期待される。

引用文献

- Arthur, J. R., 1984. A survey of the parasites of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) from the northeastern Pacific Ocean off Canada and a zoogeographical analysis of the parasites fauna of this fish throughout its range. *Canadian Journal of Zoology* **62**: 675-684.
- Benz, G. W., 1991. Description of some larval stages and augmented description of adult stages of *Albionella etmopteri* (Copepoda: Lernaepodidae), a parasite of deep-water lanternsharks (*Etmopterus*: Squalidae). *Journal of Parasitology* **77**: 666-674.
- Benz, G. W., Izawa, K., 1990. *Albionella kabatai* sp. nov. (Lernaepodidae: Siphonostomatoida), a copepod parasite of the spatulasnout cat shark (*Apristurus platyrhynchus* (Tanaka, 1909)) from the Sea of Kumano. *Canadian Journal of Zoology* **68**: 2645-2648.
- Boxshall, G. A., Halsey, S. H., 2004. *An Introduction to Copepod Diversity*. The Ray Society, London. 966 pp.
- Castero Romero, R., Baeva Kuroki, H., 1984. *Clavellotis*, new genus (Copepoda: Lernaepodidae), and redescription of *Clavellotis dilatata* (Krøyer, 1863). *Journal of Crustacean Biology* **4**: 688-694.
- Cruz-Lacierda, E. R., Yamamoto, A., Nagasawa, K., 2011. Seasonal occurrence of *Caligus spinosus* and *Parabrachiella seriola* (Copepoda) parasitic on cage-cultured yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) at a fish farm in western Japan. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* **31**: 58-65.
- 伝田郁夫・小川 滋, 2011. 野生イワナにおけるヤマメナガクビムシ (*Salmincola californiensis*) の寄生. 平成21年度長野県水産試験場事業報告: 12.
- 動物命名国際審議会, 2000. 国際動物命名規約 (第4版) 日本語版 (野田泰一・西川輝昭 [編]). 日本動物分類学関連学会連合, 札幌市. 133 pp.
- 江草周三, 1978. 魚の感染症. 恒星社厚生閣, 東京. 554 pp.
- 江藤侑紀・大高明史, 2007. 店頭の食用魚に見られる寄生虫, 特に食用魚の生物教材としての利用可能性. 弘前大学教育大学紀要. **98**: 21-30.
- Gusev, A. V., 1951. [Parasitic copepods of some marine fishes]. *Parazitologichkii Sbornki* **13**: 394-463. [In Russian].
- Hiramatsu, N., Fukuda, H., Kitamura, M., Shimizu, M., Fuda, H., Kobayashi, K., Hara, A., 2001. Serum immunoglobulin M (IgM) in Sakhalin taimen (*Hucho perryi*): purification, characterization, circulating levels, and specific IgM production by the parasitic *Salmincola stellatus*. *Aquaculture Science* **49**: 347-355.
- Ho, J.-S., 1975. Copepod parasites of deep-sea fish off the Galápagos Islands. *Parasitology* **70**: 359-375.
- Ho, J.-S., 1982. Copepod parasites of *Psychrolutes* (Pisces, Scorpaeniformes) from deep water in the eastern Pacific. *Parasitology* **85**: 451-458.

- Ho, J.-S., 1983. Copepod parasites of Japanese surfperches: their inference on the phylogeny and biogeography of Embiotocidae in the Far East. *Annual Report of the Sado Marine Biological Station, Niigata University* **13**: 31-62.
- Ho, J.-S., 1993. New species of *Clavella* (Copepoda: Lernaepodidae) parasitic on Japanese rattails (Pisces: Macrouridae). *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory* **36**: 107-118.
- Ho, J.-S., Do, T. T., 1984. Three species of Lernaepodidae (Copepoda) parasitic on fishes of Japan, with proposition of a new genus and discussion of *Charopinopsis* Yamaguti, 1963. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory* **29**: 333-358.
- Ho, J.-S., Kim, I.-H., 1996. Copepods parasitic on fishes of western North Pacific. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory* **37**: 275-303.
- Ho, J.-S., Kim, I.-H., Nagasawa, K., 2005. Copepod parasites of the fatheads (Pisces, Psychrolutidae) and their implication on the phylogenetic relationships of psychrolutid genera. *Zoological Science* **22**: 411-425.
- Hoshina, T., Suenaga, G., 1954. On a new species of parasitic copepods from Yamame (salmonoid fish) of Japan. *Journal of Tokyo University of Fisheries* **41**: 75-79.
- 保科利一・西村定一, 1976. ヤマメに見出された寄生性橈脚類の1種について. *魚病研究* **11**: 153-157.
- 市原醇郎・加藤和子・亀谷俊也・亀谷 了・野々部春登, 1965. 相模湾産魚貝類の寄生虫について (第3報). 2. イボダイの寄生虫, 3. ハシキンメの寄生虫. *目黒寄生虫館月報* **78-80**: 2-14.
- 伊澤邦彦, 1994. 富山湾産魚類の寄生性カイアシ類3種について. *富山市科学文化センター研究報告* **17**: 99-100.
- Kabata, Z., 1964. Revision of the genus *Charopinus* Krøyer, 1863 (Copepoda: Lernaepodidae). *Vidensk meddelelser fra Dansk naturhistorisk i Kjøbenhavn* **127**: 85-112.
- Kabata, Z., 1969. Revision of the genus *Salmincola* Wilson, 1915 (Copepoda: Lernaepodidae). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **26**: 2987-3041.
- Kabata, Z., 1970. Some Lernaepodidae (Copepoda) from fishes of British Columbia. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **27**: 865-885.
- Kabata, Z., 1979. *Parasitic Copepoda of British Fishes*. The Ray Society, London. xii+468 pp. 2031 figs.
- Kabata, Z., 1986. Redescriptions of and comments on on four little-known Lernaepodidae (Copepoda). *Canadian Journal of Zoology* **64**: 1852-1859.
- Kabata, Z., 1988. Copepoda and Branchiura. In "Guide to the Parasites of Fishes of Canada. Part II. Crustacea", Ed., Margolis, L. and Kabata, Z., Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 101, Ottawa: 3-127.
- Kabata, Z., 1990. Revision of the genus *Clavellopsis* Wilson, 1915 (Copepoda: Lernaepodidae). *Canadian Journal of Zoology* **68**: 2564-2566.
- Kabata, Z., Gusev, A. V., 1966. Parasitic Copepoda of fishes from the collection of the Zoological Institute for Leningrad. *Journal of the Linnean Society of London (Zoology)* **46**: 155-207.
- 河東勝康・室賀清邦・伊澤邦彦・笠原正五郎, 1980. 養殖クロダイに寄生する *Alella macrotrachelus* の生活史. *広島大学生産産学部紀要* **19**: 199-214.
- Kim, I.-H., 1998. *Illustrated Encyclopedia of Fauna and Flora of Korea. Vol. 38. Cirripedia, Symbiotic Copepoda, Pycnogonida*. Ministry of Education, Seoul. 1038 pp. [In Korean].
- 窪田三朗・高桑三明, 1963. 海産養殖魚の疾病に関する研究 - I. 三重県下に発生している魚病の概要と予備的考察. *三重県立大学水産学部紀要* **6**: 107-124, 5図版.
- Luque, J. L., Tavares, L. E. R., 2007. Checklist of Copepoda associated with fishes from Brazil. *Zootaxa* **1579**: 1-39.
- Madinabeitia, I., Nagasawa, K., 2011. Description of *Naobranchia denticis* n. sp. (Copepoda, Siphonostomatoida, Lernaepodidae) parasitic on *Dentex hypselosomus* (Teleostei, Sparidae) from Japanese waters, with a key to the species of *Naobranchia*. *Crustaceana* **84**: 461-476.

- Madinabeitia, I., Nagasawa, K., 2013. Double-netting: an alternative approach for the recovery of parasitic copepods from finfishes. *Journal of Natural History* **47**: 529-541.
- Markevich [as Markewitsch], A. P., 1936. New representatives of the family Lernaeopodidae (Copepoda parasitica). *Work of Zoological Museum, Akademii Nauk Ukrainskoi SSR* **17**: 103-105. [In Ukrainian with Russian and German abstracts.]
- Markevich [as Markewitsch], A. P., 1940. Neue Arten parasitischer Copepoden. *Vorträge der Akademie der Wissenschaften der Ukr. SSR* **11**: 11-21. [In Ukrainian and German].
- Markevich [as Markewitch], A. P., 1956. *Parasitic Copepods of Fishes of the USSR*. Izdatelstvo Akademii Nauk Ukrainskoi SSR, Kiev. [Translated from Russian, published by the Smithsonian Institution and the National Science Foundation, Washington, D. C., by the Indian National Scientific Documentation Centre, New Delhi, 1976, 445 pp.]
- Markevich [as Markevitch], A. P., Titar, V. M., 1978. Copepod parasites of marine fishes from the Soviet Far East. Proceedings of the 4th International Congress, Section H., Warsaw, Poland: 38-39.
- 増村和彦, 1989. アレラ症. 「魚病図鑑」(畑井喜司雄・小川和夫・広瀬一美 [編]), 緑書房, 東京: 52.
- 室賀清邦・河東勝康・市園 肇, 1981. 養殖クロダイにおける *Alella macrotrachelus* の寄生. *魚病研究*. **16**: 139-144.
- 長澤和也, 1989. サルミンコラ症. 「魚病図鑑」(畑井喜司雄・小川和夫・広瀬一美海 [編]), 緑書房, 東京: 170.
- 長澤和也, 2006. ヤマメナガクビムシ症. 「新魚病図鑑」(畑井喜司雄・小川和夫 [監]), 緑書房, 東京: 45.
- Nagasawa, K., 2011. A checklist of the parasitic copepods (Crustacea) of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea, Japan (1935-2011), with a new locality record for *Caligus macarovi* (Caligidae). *Bulletin of the Hiroshima University Museum* **3**: 113-128.
- 長澤和也, 2012. プリのパラブラキエラ症. *養殖ビジネス*. **49** (5): 26.
- 長澤和也, 2013. トラフグのパラブラキエラ症. *養殖ビジネス*. **50** (13): 26.
- Nagasawa, K., 2015a. Parasitic copepods of marine fish cultured in Japan: a review. *Journal of Natural History*. **49**: 2891-2903.
- Nagasawa, K., 2015b. Infection of *Brachiella thynni* (Copepoda, Lernaeopodidae) on Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Actinopterygii, Scombridae), cultured in Japan. *Crustaceana* **88**: 945-948.
- Nagasawa, K., 2015c. A 2015 update and corrections to the checklist of the parasitic copepods (Crustacea) of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea, Japan. *Biosphere Science* **54**: 113-124.
- Nagasawa, K., Urawa, S., 1991. New records of the parasitic copepod *Salmincola stellatus* from Sakhalin taimen (*Hucho perryi*) in Hokkaido, with a note its attachment site. *Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery* **45**: 57-59.
- Nagasawa, K., Urawa, S., 2002. Infection of *Salmincola californiensis* (Copepoda: Lernaeopodidae) on juvenile masu salmon (*Oncorhynchus masou*) from a stream in Hokkaido. *Bulletin of the National Salmon Resources Center* **5**: 7-12.
- Nagasawa, K., Urawa, S., 2015. *Tracheliastes sachalinensis* (Copepoda: Siphonostomatoida: Lernaeopodidae), a fin parasite of cyprinids, new to Japan. *Zootaxa*. (in press).
- 長澤和也・上野大輔, 2011. 日本産魚類に寄生するヒトガタムシ科カイアシ類の目録 (1898-2011年). *日本生物地理学会会報*. **66**: 17-25.
- 長澤和也・上野大輔, 2012. 日本産魚類に寄生するツツウオジラミ科, エラノミ科 (新称) Hatschekiidae およびニセエラノミ科 (新称) Pseudohatschekiidae カイアシ類の目録 (1916-2012年). *生物圏科学*. **51**: 37-59.
- 長澤和也・上野大輔, 2014. 日本産魚類・鯨類に寄生するヒジキムシ科 (新称) Pennellidae カイアシ類の目録 (1916-2014年). *生物圏科学*. **53**: 43-71.
- Nagasawa, K., Urawa, S., Awakura, T., 1987. A checklist and bibliography of parasites of salmonids of Japan.

- Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery* **41**: 1-75.
- Nagasawa, K., Watanabe, J. R., Kimura, S., Hara, A., 1994. Infection of *Salmincola stellatus* (Copepoda: Lernaepodidae) on Sakhalin taimen *Hucho peryyi* reared in Hokkaido. *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University* **45**: 109-112.
- Nagasawa, K., Yamamoto, M., Sakurai, Y., Kumagai, A., 1995. Rediscovery in Japan and host association of *Salmincola carpionis* (Copepoda: Lernaepodidae), a parasite of wild and reared freshwater salmonids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **52** (supplement 1): 178-185.
- Nagasawa, K., Ikuta, K., Kitamura, S., 1997. Distribution of *Salmincola carpionis* (Copepoda: Lernaepodidae) in the buccal cavity of salmonids. *Bulletin of the National Research Institute of Aquaculture* **26**: 35-39.
- Nagasawa, K., Ikuta, K., Nakamura, H., Shikama, T., Kitamura, S., 1998. Occurrence and effects of the parasitic copepod *Salmincola carpionis* on salmonids in the Nikko District, central Japan. *Journal of Marine Systems* **15**: 269-272.
- Nagasawa, K., Inoue, A., Myat, S., Umino, T., 2007. New host records for *Lernaea cyprinacea* (Copepoda), a parasite of freshwater fishes, with a checklist of the Lernaecidae in Japan (1915-2007). *Journal of the Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University* **46**: 21-33.
- 長澤和也・海野徹也・上野大輔・大塚 攻, 2007. 魚類寄生虫またはプランクトンとして出現するニセエラジラミ科カイアシ類の目録 (1895-2007年). *日本生物地理学会会報*, **62**: 43-62.
- Nagasawa, K., Umino, T., Uyeno, D., Ohtsuka, S., Koizumi, H., 2008. Infection with the parasitic copepod *Clavella parva* (Lernaepodidae) in gold-eye rockfish *Sebastes thompsoni* broodstock in Japan. *Fish Pathology* **43**: 55-60.
- 長澤和也・上野大輔・Tang, D., 2010. 日本産魚類に寄生するウオジラミ属カイアシ類の目録 (1927-2010年). *日本生物地理学会会報*, **65**: 103-122.
- 長澤和也・上野大輔・何 汝諧, 2013. 日本産魚類に寄生するツブムシ科カイアシ類の目録 (1916-2012年). *生物圏科学*, **52**: 117-143.
- Nagasawa, K., Tang, D., Uyeno, D., Madinabeitia, I., 2013. Contribution of Ju-shey Ho to the systematic of the symbiotic copepods of Japan. *Journal of Natural History* **47**: 543-552.
- 中島健次, 1975. サルミンコーラ症. 「魚病診断指針 サケ・マス類, アユ, タイ」(水産庁 [編]), 日本水産資源保護協会, 東京: 62-63.
- 中坊徹次 (編), 2013. 日本産魚類検索 全種の同定 (第三版). 東海大学出版会, 秦野. xlix+2428 pp.
- 西村定一・保科利一, 1997. イワナに見出された寄生性橈脚類の1種について. *東京水産大学研究報告*, **63**: 67-70.
- Noble, E. R., 1973. Parasites and fishes in a deep-sea environment. *Advances in Parasitology* **11**: 121-195.
- 小川和夫, 1983. 甲殻虫病. 「魚病学 [感染症・寄生虫病篇]」(江草周三 [編]), 恒星社厚生閣, 東京: 319-339.
- Ogawa, K., Inouye, K., 1997. Parasites of cultured tiger puffer (*Takifugu rubripes*) and their seasonal occurrences, with descriptions of two new species of *Gyrodactylus*. *Fish Pathology* **32**: 7-14.
- Ogawa, K., Yokoyama, H., 1998. Parasitic diseases of cultured marine fishes in Japan. *Fish Pathology* **33**: 303-309.
- 小野真一, 1984. 大分県下における養殖ブリに寄生するナガクビムシについて. *大分県水産試験場調査研究報告*, **11**: 86-90.
- Özdikmen, H., 2008. Nomenclatural changes for nine crustacean genera (Crustacea: Copepoda). *Munis Entomology and Zoology* **3**: 265-274.
- Piasecki, W., Młynarczyk, M., Hayward, C. J., 2010. *Parabrachiella jarai* sp. nov. (Crustacea: Copepoda: Siphonostomatoida) parasitic on *Sillago sihama* (Actinopterygii: Perciformes: Sillaginidae). *Experimental Parasitology* **125**: 55-62.
- Pillai, N. K., 1985. *The Fauna of India. Copepod Parasites of Marine Fishes*. Zoological Society of India,

- Calcutta: 900 pp.
- Shiino, S. M., 1956. Copepods parasitic on Japanese fishes. 12. Lernaepodidae. *Report of the Faculty of Fisheries, Prefectural University of Mie* 2: 269-311.
- 椎野季雄, 1957. ふぐながくびむし *Clavellopsis fugu* Yamaguti. 「原色動物大図鑑 IV」(岡田 要・内田 亨[著者代表]), 北隆館, 東京: 138.
- Shiino, S. M., 1958. Two copepods of the family Naobranchiidae, parasitic on Japanese fishes. *Annual Report of the Prefectural University of Mie, Section 2. Natural Science* 2: 114-119.
- Shiino, S. M., 1959. Sammlung der parasitischen Copepoden in der Präfeckturniversität von Mie. *Report of the Faculty of Fisheries, Prefectural University of Mie* 3: 334-374.
- 椎野季雄, 1964. 動物系統分類学 7 (上) 節足動物 (I) 総説・甲殻類. 中山書店, 東京. 312 pp.
- 椎野季雄, 1965. ながおながくびむし *Lernaepoda longicaudata* Hansen, ながくびむし *Brachiella thynni* Cuvier, うみたなごながくびむし *Clavellodes ditrematis* Yamaguti, ふさくびむし *Thysanote epinepheli* Cuvier, えらまきながくびむし *Naobranchia aulopi* Yamaguti. 「新日本動物図鑑 [中]」(岡田 要・内田清之助・内田 亨 [監]), 北隆館, 東京: 501-502.
- 椎野季雄, 1979. ながくびむし *Brachiella thynni* Cuvier. 「新編日本動物図鑑」(内田 亨 [監], 今島 実・武田正倫 [編]), 北隆館, 東京: 402.
- Song, D. S., Kuang, P. R., 1980. *Illustrations of Chinese Animals - Crustacea*. Vol. 4. Science Press, Beijing. 90 pp. [In Chinese].
- 東京都市場衛生検査所 (編), 1990. 魚介類の寄生虫ハンドブック 第2巻. 東京都情報連絡室情報公開部都民情報課. 45 pp.
- 内田 亨 (監), 1972. 谷津・谷田動物分類名辞典, 中山書店, 東京. 1411 pp.
- 植木範行・杉山瑛之, 1979. 低水温期における養殖クロダイのへい死について - I. 鰓に寄生する橈脚類の影響. *昭和53年度岡山県水産試験場事業報告*: 197-201.
- 若林信一, 1993. 富山湾のクロダイ幼魚における *Alella macrotrachelus* の寄生状況. *富山県水産試験場研究報告*. 4: 31-39.
- 若林信一, 1997. 養殖イワナに寄生したカイアシ類 *Salmincola carpionis*. *富山県水産試験場研究報告*. 9: 35-40.
- 若林信一, 1998. 富山湾産クロダイにおける *Alella macrotrachelus* の寄生状況 (短報). *富山県水産試験場研究報告*. 10: 65-68.
- 山田常雄・前川文夫・江上不二夫・八杉竜一・小関治男・古谷雅樹・日高敏隆 (編), 1977. 岩波生物学辞典第2版. 岩波書店, 東京. 1684 pp.
- 山田常雄・前川文夫・江上不二夫・八杉竜一・小関治男・古谷雅樹・日高敏隆 (編), 1983. 岩波生物学辞典第3版. 岩波書店, 東京. 1404+349 pp.
- Yamaguti, S., 1939. Parasitic copepods from fishes of Japan. Part 6. Lernaepodoida, I. *Volumen Jubilare pro Professore Sadao Yoshida* 2: 529-578, 24 pls.
- Yamaguti, S., 1963. *Parasitic Copepoda and Branchiura of Fishes*. Interscience Publishers, New York, London, and Sydney. 1104 pp.
- Yamaguti, S., Yamasu, T., 1959. Parasitic copepods from fishes of Japan with descriptions of 26 new species and remarks on two known species. *Biological Journal of Okayama University* 5: 89-165.
- Yamaguti, S., Yamasu, T., 1960. Two new species of copepods parasitic on Japanese fishes. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory* 8: 137-140, 1 pl.
- 横畑泰志, 2013. 環境省レッドリストへの寄生虫3種の追加. *獣医寄生虫学会誌*. 12: 61-66.
- 横畑泰志, 2014. イトウナガクビムシ. 「レッドデータブック2014 - 日本の絶滅のおそれのある野生生物 - 7 その他無脊椎動物 (クモ形類・甲殻類等)」(環境省 [編]), ぎょうせい, 東京: 14.
- 横山 博・長澤和也, 2014. 養殖魚介類の寄生虫の標準名目録. *生物圏科学*. 53: 73-97.

A checklist of copepods of the family Lernaepodidae (Siphonostomatoida) from fishes in Japanese waters (1939-2015)

Kazuya NAGASAWA¹⁾ and Daisuke UYENO²⁾

¹⁾*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan*

²⁾*Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University,
1-21-35 Korimoto, Kagoshima, Kagoshima 890-0065, Japan*

Abstract Based on the literature published between 1939 and 2015, a checklist is compiled for the 49 nominal species and more than four unidentified species in 15 genera of the copepod family Lernaepodidae from Japanese fishes. This checklist contains information for each taxon regarding its host(s), attachment site(s), known geographical distribution in Japanese waters, and references. A host-parasite list is also given.

Key words: bibliography, checklist, Copepoda, fish parasites, Lernaepodidae

特別寄稿

大学政策と生物圏科学研究科の30年

谷口幸三*
広島大学名誉教授

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市 739-8528

要旨 わが国の高等教育機関は、戦前に種別化され、機能分化していたが、戦後の新制大学の設置によって制度的に画一化された。しかし、前身校に由来する予算や教員数に実態としての格差があり、大学院の設置はかなり限定されていた。1960年代から70年代にかけて、高度経済成長とマス化する大学教育を背景として、広島大学水畜産学部のような地方国立大学の理工農系学部にも修士課程が設置された。さらに、1980年代には地方国立大学の総合大学化が進行し、複数学部にまたがる博士課程も設置されるようになり、生物圏科学研究科が設置された。1990年代には大学院生の倍増計画の下、旧来からの博士課程を有する総合大学については、大学院の重点化による予算配分の上積みが行われた。2000年代初め、構造改革路線下で国立大学が法人化されて以降、運営費交付金が削減され続け、競争と評価に基づく大学の再編統合および選択的機能別分化と格差の拡大がわが国の大学政策の基本方針となった。2010年代に入り、グローバル化の進展下で教育の質保証、学長のガバナンス強化、産学連携強化と理系重視が進んでいる。しかし、日本の大学の教育研究面での国際的評価が年々低下しており、国立大学の運営費交付金削減による中央集権的統制は限界に達しているように見える。自由と分権を前提としている大学の教育研究には、教育研究条件を整備、充実させ、大学構成員の自発的、内発的な取組みを重視することが求められている。

キーワード：戦後の大学政策、国立大学、法人化、広島大学、生物圏科学研究科

はじめに

戦後の国立大学は、経済や政治・行政サイドからのさまざまな要求を受けつつも、大学自治によって直接的な影響力を緩和してきた。しかし、バブル経済の崩壊以後、構造改革・市場原理路線あるいはグローバリゼーション、IT普及による急速な情報社会化の下で、大学も急激に変容せざるを得なくなっている。特に、国立大学の法人化後は、運営費交付金の削減と連動した大学外からのさまざまな改革要求への対応で多忙を極めている。法人化から12年、第二期中期目標計画期間の最終年度となった。この間、筆者は生物圏科学研究科執行部などの役職にあって、職務上その時々で文教審議会の答申等、大学政策にも目を向けてきた。今春の退職後、幾分かの時間的余裕を得た中で、研究科30周年記念での講依頼を受けた。それを契機に、教育学分野の専門家による大学政策に関する著書を手掛かりにしながら、研究科30年の変容とその背景にある大学政策との関係について調べた。記憶が定かな内に、現役の研究科構成員に伝えておくのが望ましいと考え、本報告書を取りまとめた。

2015年9月9日受理 * E-mail: kohzo@hiroshima-u.ac.jp

脚注：本稿は広島大学大学院生物圏科学研究科創立30周年記念シンポジウム講演（2015年11月7日）を文書化したものである。講演の際に引用した URL からの資料や図は著作権の関係上、本報告書には掲載していない。該当の URL から検索されたい。

1. 戦前の高等教育機関

戦前期の高等教育機関は官立と私立のセクターが併置していた。官立セクター内は制度的に明確に「種別化」されており、総合大学としての帝国大学とそれ以外の単科大学、高等学校、専門学校と実業専門学校、高等師範学校がそれぞれ別個の学校群を形成していた。一方、私立セクターは「多様化」を特徴としており、大学は政府によって厳しく制限されていたが、専門学校は自由度が大きく、さまざまな学校種が組合わされて成り立っている大学もあった（天野，2013）。二学部以上からなる総合大学は国内七つの帝国大学と少数の私立大学しかなく、四十数校の単科大学とその他の小規模な単科、単機能の高等教育機関を中心としていた。大学は学位授与権を有し、一定の教授会自治も認められていた。また、大学には大学院研究科（2年）を置かねばならなかったが、複数学部をまたがるもので、組織的な教育の場ではなかった。

2. 新制大学の発足と広島大学水畜産学部の設置

戦後、1947年に公布された学校教育法による新制大学の制度下で、1949年に69校の国立大学が設置された。その際、戦前の帝国大学と官立単科大学は高等学校・大学予科と合わさり、4年制を原則（医科、歯科は6年制）とする総合大学と単科大学となった。戦前の師範学校で戦後、単科の教育大学となったところも多い。GHQ 民間情報教育局の意向に沿って、少なくとも一県一国立大学を基本としたため、各地方の旧制の高等学校、専門学校、師範学校などを合わせて、複数学部から成る地方国立大学も設置された。なお、新制の国立大学第1期生が卒業した1953年の国公立大学の学生定員は10万8千人で、うち国立大学定員は理系学部3.3万人の半分、教員養成学部2.3万人のほぼ全てを占めたが、文系学部については定員の2割程度で多くは大都市の私立大学に依存した（学校基本調査）。その年の大学院の併置校は45大学で、うち国立大学分は戦前からの大学に限定されたため、12校に過ぎなかった。

広島大学は、文学部、教育学部、政経学部、理学部、工学部、水畜産学部の6学部から成る国立複合大学として設置され、1953年には医学部も加わった。戦前、広島に置かれた文理科大学、高等師範学校、師範学校、女子高等師範学校、高等工業学校、市立工業専門学校、高等学校、医学専門学校などが母体となった（広島大学50年史，2007）。水畜産学部は福山市に設置された。前身は官立広島青年師範学校、さらに遡ると、1935年に設立された広島県立青年学校教員養成所である（広島大学25年史，1977）。当初、福山市は備後地区における総合的な農学系大学を構想したが、岡山大学に岡山農業専門学校を前身とする総合的な農学部が設置されるため、文部省（現在、文部科学省、以下文科省）からは認められなかった。そのため、広島大学の瀬戸内海と中国地域における動物資源の活用、生産に関する教育研究を重視した農学系学部として認可された。

3. 大学政策における種別化と格差

戦前の多様な高等教育制度に比べて、新制大学はあまりに画一的過ぎたため、1956年に短期大学、1962年には高等専門学校が制定され、大学を含め3種の高等教育機関に種別化された。1963年の中央教育審議会（中教審）答申による「大学教育の改善について」（38答申）では、さらに「芸術大学」や「大学院大学」の設置も構想され、以後、高等教育の種別化が文科省の基本路線となった。新制大学については、制度上は同じ4年制大学の学部でも広島大学に典型的にみられたように、各学部の前身はさまざまで、教員数や予算配分額も違っており、実態としては厳然とした格差構造が存在した。大学設置基準が制定された時（1956年）に、「学科目制」は学部教育上必要な学科目を定めて教員（教授または助教授）を配置し、「講座制」では学部・大学院の教育上必要な専攻分野を定めて教員（教授＋助教授＋助手）を配置することとなった。講座制は旧制大学の流れを汲む大学院を併置する大学・学部限定されたが、6年制の医学部は全て講座制となった。「学科目制」と「講座制」の違いは教員数だけでなく、教員の積算単価（文科省からの教員の階層別配分予算）も前者では後者の3～4割に抑制された。旧制大学由来でも教養教育担当部署は「学科目制」とされ、さらに同じ大学でも広島大学のように広島文理科大学を前身とする文学部、教育学部、理学部は大学院を置き、講座制を敷いたが、工学部や水畜産学部は「学科目制」であった。こうした格差構造は、同じ大学であっても管理運営上の格差を拡大させるだけでなく、教職員の意識にも反映した。筆者は1975年に広島大学に赴任してから40年後に退職するまで、管理運営上のさまざまな局面で、そうした過去の格差構造に基づく

差別的な言い分や対応を経験する度に、大学設立の頃の亡霊が彷徨っている思いがした。なお、大学設置基準では2007年から学科目制と講座制の区分は廃止されている。

4. 大学院農学研究科の設置と大学改革

高度経済成長社会に入ると、科学技術者拡充計画に沿った理工系の技術者養成が必要となり、38年答申では、大学院を持たない大学・学部にも必要に応じて修士課程までの設置を認めることになった。それを受けて、水畜産学部でも水産学科、畜産学科に加えて、食品工業化学科の設置が承認された（1966年）。さらに、1968年には大学院農学研究科（水産学専攻、畜産学専攻）の修士課程が設置され、2年後、学年進行による食品工業化学専攻も設けられた。これによって、教授1+助教授1+助手1の講座制となり、積算単価は学科目制よりも高くなったが、博士課程よりもかなり低く抑えられた。

1968年、大学紛争が勃発して全国に飛び火し、広島大学でも学生による封鎖騒動があり、大学改革についての活発な議論がなされた。大学紛争の大きな要因として、マス化した大学が旧態依然の教育を続けたために、学生の反発を招いたことが挙げられている。紛争が下火になった1971年に公表された「今後における学校教育の総合的な拡充整備のための基本的施策について」（中教審46答申）は、大学入試や大学の管理運営・組織体制、教育の内容・方法、第三者評価、学生支援、大学の種別化まで含み、マス化が進展する大学の在り様についての抜本的な改革案であった。高等教育機関の種別化については、博士研究院（高度な学術研究と博士学位授与）、修士大学院（高度専門職業人教育）、3種の大学（総合領域型、専門体系型、目的専修型）、短大、高等専門学校に分けた。教育と研究の両機能は研究院と大学院に限定し、他は教育中心とするものであった。改革案を取りまとめた当時の中教審会長は森戸辰雄で、戦後の文部大臣や広島大学の初代学長を務めている。

46答申は、現在では既にも実施されているものも多いが、当時としてはあまりにも大きな変革であったことから、大学自治を崩壊させるとの批判がなされ、筑波大学の設置を除いて、各大学からは無視された。広島大学でも教育改革よりも県内に分散する部局を統合移転することに収斂した。

5. 大学院の整備・充実策と生物圏科学研究科の誕生

戦後、大学院の基準には大学基準協会によるものが用いられていたが、大学院の設置要望が高まったことから、1974年に大学院設置基準が制定され、法令によって課程の設置と区分、修士課程と博士課程の目的と修業年限が制度化された。さらに、1976年から長期の整備計画である高等教育計画が始まり、地方国立大学の複合学部化や、医学部の整備充実による地域間格差の是正が図られた。また、学校教育法の一部改正（1976年）によって、大学院大学が制度化されると共に、自然科学研究科や社会科学研究科のような複数学部部の修士課程の上に置く小規模な博士課程研究科、博士課程後期のみ独立研究科や独立専攻の設置法令が整備され、地方国立大学でも大学院整備が進められた。

その後、総理府の下に設置された臨時教育審議会の答申（1987年）によって設置された大学審議会から、「大学院制度の弾力化について」（1988年、博士課程の目的に高度専門人材養成の追加と早期入学・早期修了）、「学位制度の見直し及び大学院の評価について」（1991年、当該大学院の判断で専攻分野を定めて学位授与、自己点検・評価システムの導入）、「大学院の整備充実について」（1991年、学部から独立した教員組織と施設設備の整備）、「大学院の量的整備について」（1991年、10年後に大学院生数20万人への倍増）など、大学院関係の答申が続けて提示された。

以上のような政策の流れの下で、1985年に生物圏科学研究科が誕生した。当研究科は、1974年設置の総合科学部を母体とする大学院環境科学研究科（1978年）および水畜産学部の改組による生物生産学部（1979年）を母体とする前述の大学院農学研究科の両修士課程研究科を改組、再編することによって、インターフェカルティを特色とする博士課程後期を有する大学院となった。戦後の早い時期から大学院を有した他部局と違い、同じ大学でありながら修士課程と博士課程後期の設置が遅かった両学部では長年、学内での格差に苦勞し、その解消のため博士課程の設置を目指した多くの先人の努力が結実したのである。

研究科設置から十数年を過ぎ、環境学研究所の進展と施設設備の整備充実を図るために、1999年に独立専攻としての環境循環制御学専攻の設置が認められた。これら生物圏科学研究科と独立専攻の設置に伴う研究

科の概要を表1に示した。研究科設置時から独立専攻の設置再編にかけて、博士課程前期の入学定員は66名から99名に、博士課程後期入学定員は14名から29名に増えたのに対し、教員数は助手まで含めると実質ほとんど変わらなかった。

表1 生物圏科学研究科の設置と再編に伴う教員数と入学定員。

| 設置・再編年度 | 専攻名 | 入学定員 | | 担当教員数 | |
|-------------|----------|------|----|----------|----------|
| | | 前期 | 後期 | 教授 | 助教授・講師 |
| 1985年研究科設置 | 環境計画科学 | 23 | 4 | 18 | 13 |
| | 生物機能科学 | 18 | 3 | 15 | 10 |
| | 生物生産学 | 25 | 5 | 17 | 14 |
| 1999年独立専攻設置 | 環境計画科学 | 20 | 4 | 25 | 22 |
| | 生物機能科学 | 16 | 3 | 13 | 11 |
| | 生物生産学 | 31 | 7 | 25 | 17 |
| | 環境循環系制御学 | 32 | 15 | 10(1)<6> | 6(2)<3> |
| 2002年重点化 | 生物圏共存科学 | 43 | 21 | 4(23) | 5(13) |
| | 生物資源開発学 | 51 | 16 | 23(6)<4> | 14(5)<2> |
| | 環境循環系制御学 | 31 | 15 | 8(2)<6> | 7<3> |
| 2006年再編 | 生物資源科学 | 30 | 12 | 15 | 16 |
| | 生物機能開発学 | 24 | 12 | 13<4> | 10<2> |
| | 環境循環系制御学 | 19 | 9 | 10<6> | 7<3> |

() 内は協力教員数, <> 内は学外連携講座教員数。

6. 大学院の重点化と研究科再編

新たに博士課程が設置された大学・学部では、教育研究予算が少し増えた。一方、旧来の大学院博士課程を有する大学・学部では大学院生の急激な増加によって、施設が狭隘になると共に、研究費も逼迫した。しかし、文科省としては同じ博士課程間で、表立って積算単価を違えることはできなかった。そのため、大学・大学院（東京大学法政治学研究所）側が配分予算を増やす方策を検討し、教員の所属組織を従来の学部から大学院に移し、学部教育も担うことで、講座制と学科目制の両方の配分予算を得ることが目論まれ、文科省も認めることになった（天野、2006）。このやり方では教員ポストは増えないが、予算配分が増えることから、東京大学の他研究科や旧帝大系大学も雪崩をうって、大学院重点化を申請・承認された。形式からして、大学院重点化は大学院の講座化や部局化とも呼ばれた。

重点化の動きは、比較的規模の大きな他大学にも波及し、広島大学からも重点化申請がなされた。最終的には広島大学も含め12大学の部局が重点化を認可されたが、最後段階で承認された大学・部局では、認可審査を受けなければならず、認可による増額予算も学長裁量経費に振り替えられた。〇〇大学大学院〇〇研究科教授という肩書が残った一方で、生物圏科学研究科では生物生産学部の学生定員が減らされ、大学院定員が大幅に増える事態となった。また、重点化前までは総合科学部と生物生産学部の教員はほぼ半々で構成される研究科であったが、重点化によって総合科学部サイドの教員は協力教員という立場に置かれた（表1）。この点について、当時の研究科長によれば、研究科としては全く想定外で、最終局面で文科省の判断として提示されたとのことであった。教養教育担当部局が足枷になったと推察されるが、総合科学部サイドは必ずしもそうした受けとめ方をしなかったようである。

生物圏科学研究科が重点化の承認を受けた2年後の2004年、国立大学が法人化され、さらに2年後に総合科学研究科が設置された。それに伴い、生物生産学部と生物圏科学研究科も再編成を強いられることとなった（表1）。研究科が重点化、再編されてからわずか4年目のことである。その経緯について、当時の学長の強い意向があったことを記しておきたい。何故なら、研究科の再編から7年目の別の学長の下で、ある学外経営協議員や理事から総合科学研究科との再編統合を打診され、法人化後の学長によるガバナンスとはこのようなことかと実感したからである。

7. 選択的多様化・個性化政策

1990年代、バブル経済の崩壊により国家財政が厳しい状況に陥ったために、行財政改革が進められた。国立大学にも厳しい目が向けられるようになり、対応のために、大学審議会から「21世紀の大学像」（1998年）が出された。国立大学の役割として、①国の政策目標に沿う計画的な人材養成、②学術・文化面から重要な学問分野の継承、③社会変化、学術研究の進展に対応した教育研究、④地域特有の課題に応じた教育研究、⑤教育の機会均等への貢献が明記された。また、大学がそれぞれの理念・目標に基づき、①総合的な教養教育を提供、②専門的な職業能力を育成、③地域社会への生涯教育の機会を提供、④最先端の研究を志向、⑤大学院中心の大学、といった機能を選択して、個性化を発揮すべきとされた。

さらに、「高等教育の将来像」（中教審、2005年）では、①世界的な研究教育拠点、②高度専門職業人養成、③幅広い職業人養成、④総合的教養教育、⑤特定の専門分野（芸術・体育等）の教育研究、⑥地域の生涯教育機会の拠点、⑦社会貢献（地域、産学連携、国際交流等）の7つの機能から3つを選択することとされた。

今年の第3期中期目標計画の策定に際して、大学の機能については、①地域貢献、②全国的な教育研究拠点、③世界的な教育研究拠点の3つから一つを選択しなければならなくなった。そもそも、文系と理系、自然科学から病院まで多様な分野を擁する大学で、機能を一つに絞るのは難しく、同じ専門分野でも常に進歩、発展をしている研究は時には地域性を特徴としたり、場合によってはその内容が世界レベルでの普遍的な発見であったりするのである。また、ある特定の専門分野でたまたま極めて優れた研究者が在職しており、その研究を大学の特色、個性といったところで、その研究者が退職すればどうなるのか。一つの機能に特化した大学は研究の世界とは無縁の官僚のためのレッテル貼りに見えかねないのである。

8. 大学院教育の改革

わが国では少子化が進み18歳人口が減少する中、大学進学率がすでに50%を超え、ユニバーサル化といわれる段階に達している（マーチン・トロウ、1976）。ユニバーサル段階の大学の教育内容は教養教育や専門基礎が中心となり、専門教育は大学院にシフトする。また、情報通信技術の革新と普及は高等教育の世界をますますグローバル化させており、留学生や社会人など大学院進学者が多様になっている。教育改革は学士課程にとどまらず、大学院課程でも必要になってきたことから2005年に「新時代の大学院教育」（中教審答申）が出され、各大学院課程の目的の明記、目的に沿った体系的教育プログラムの組織的な展開、国際的な通用性を想定した大学院の評価法の確立、大学院教育の競争的資源配分などが提案された。さらに、2011年の答申、「グローバル化社会の大学院教育」では、グローバルに活躍する博士の養成、情報の積極的な公表、大学院教育の質保証、学生支援の充実などが求められた。

中教審答申に沿った大学院改革を促進させるため、2006年から5年間の第一次大学院振興施策要綱と引き続く5年間の第二次大学院施策要綱が策定され、予算誘導による政策実現が図られた。その結果、大学院GPや21世紀COE、グローバルCOE、リーディング大学院などの競争的資金の獲得競争が激しくなった。こうした資金は3～5年間の時限付きであり、それを過ぎると、運営費交付金の削減が続く大学側の自己負担となる。そのため、教育改革よりも新たな資金の獲得自体が目的のようなプログラム申請が増え、また採択の結果、どの程度の改革効果が得られたのかの検証も難しく、たとえ意欲的で効果的なプログラムであっても金の切れ目が事業の終わりとなるものも多い。

9. 国立大学法人化から12年

2001年小泉内閣で「聖域なき構造改革」を旗印に、内閣府の経済財政諮問会議を中心に行財政改革が推し進められ、国立大学の民営化も検討された。経済財政諮問会議において時の遠山文部科学大臣は「大学（国立大学）の構造改革の方針」（遠山プラン）を発表した。その内容は、①教員養成系のような単科大学を再編統合し、国立大学の数を大幅に減らす、②国立大学法人への早期移行により民間の経営手法を導入する、③第三者評価による競争原理導入で国公私立大学からトップ30大学を世界最高水準にするための教育研究環境を整備する、といったもので、戦後の新制大学発足から50年目での大きな政策転換であった。しかし、当の国立大学や中教審との協議、検討を抜きに、トップダウンでなされたものであった。そのため、大学サイドの反発を招き、激しい論議がまき起こった。最終的には国会での国立大学法人法の成立に際して、大学

自治を尊重し、高等教育予算を増やす配慮など多くの附帯決議が付けられた。また、中期目標計画はあくまでも大学が自主的に策定するものとされていた。しかしこれ以後、中教審での検討抜きに、国立大学に係わる重要な方針が省庁横断的な経済財政諮問会議、あるいは総理大臣直属の産業競争力会議や教育再生実行会議等で検討されるようになった。

国立大学法人になって以来、財務省は毎年の概算要求に際して、文科省に「遠山プラン」の実行を求め、国立大学への運営費交付金はほぼ毎年1%削減され続けている。財政制度等審議会は、今後も1%削減を続ける一方で、国立大学には授業料収入や民間企業からの研究費など自己収入増を進め、平成43年度には国立大学法人の収入に占める運営費交付金と自己収入割合を同じにするという、目標が設定されている（財政制度等審議会、2015）。また、「貧すれば鈍する」ごとく、大学は文科省の政策誘導のための競争的資金獲得に遮二無二に駆り立てられている。さらに、2016年の学校教育法の改正省令で学長のリーダーシップとガバナンスが強化され、大学自治は完全に学長自治に取って代わった。そして今年、各大学から第三期中期目標計画が提出されるにあたり、文部科学大臣からは教員養成系と人文系分野の改革案が求められ、既に33大学が文系部局の再編縮小を計画する事態になっている。次の段階では、学長に対する評価と大学の再編統合が予想される。

大学の管理運営に関することとして、ミッションの再定義に触れておく必要がある。2012年、文科省は民主党政権下での国家戦略会議において、「大学改革実行プラン」を提出した。そこでは、大学の機能の再構築のために、①教育の質的転換と入試改革、②グローバル化対応の人材育成、③地域再生のための大学づくり、④世界的な研究力強化を行い、それらを進める上で、⑤個々の国立大学のミッションの再定義、⑥大学改革を促すシステム、⑦財政基盤の確立、⑧大学の質保証の徹底を進めるとした。

ミッションの再定義では、教員あたりの成果ではなく、組織全体の成果に対してなされるので、大組織に有利になっている。研究科のミッションの再定義に際して、筆者は、執行部として文科省との交渉を担当した。この作業では、そもそもの部局の設置目的や歴史、特色、強みについて、文科省からエビデンスに基づく説明資料の提出を求められ、次いで文科省によるヒアリングが行われた。後日、それらを踏まえて文科省から3つのかかなり狭い専門分野に特色があるという原案が提示された。部局内での検討時間がなく、研究科長の判断で、動植物科学、水産海洋科学、食品科学への変更を求めたところ、文科省に了承された。他大学をみると、かなり狭い専門分野の特色を謳っているところもある。このミッションの再定義による分野は今後の大学内での位置づけや概算要求にも反映されると聞いている。残念ながら、環境分野がとり入れられなかったのは農学領域とは別の複合領域で、かつ相対的にエビデンスが不足していたことなども影響したと推察している。

10. 研究科の現状

国立大学法人への運営費交付金の配分は、実態はともかく、公式には各大学・部局の中期目標計画の達成度についての第三者評価を反映することになっている。他方で、部局への配分予算が削減される中で、教育研究の環境整備を進めるには、現代GP、特色GP、大学院GP、教育関係共同利用拠点などのような競争的資金を今後とも獲得していく必要がある。こうした教育改革に関するプログラムの取組実績が中期目標計画での部局の現況調査の評価において極めて重要なポイントになると予想される。とは言え、最近の競争的資金の課題は、部局単独から複合部局や全学的なプログラムにシフトし、部局での実際的な改革課題とはかけ離れた取組みが増えている。また、採択されても関係する担当者の負担が増え、部局への配分予算も少ないことから、部局で取組むメリットが見えにくくなっている。

以下、法人化後の共通的な評価事項について、研究科での推移（生物生産学部・生物圏科学研究科自己点検・評価報告書、2011、2015）を踏まえつつ簡単に触れておきたい。

1) 入学者数の推移

生物圏科学研究科が設置された1985年、博士課程前期入学者数は56人（定員66人、図1）で、その後多少の変動を伴いつつも増加基調を示し、2005年にピークの149人（定員125人）に達した。以後、研究科の再編に伴う定員減や就職難の背景もあって、2011年まで一旦低下してから、現在、定員（91人）をほぼ充足する状況である。

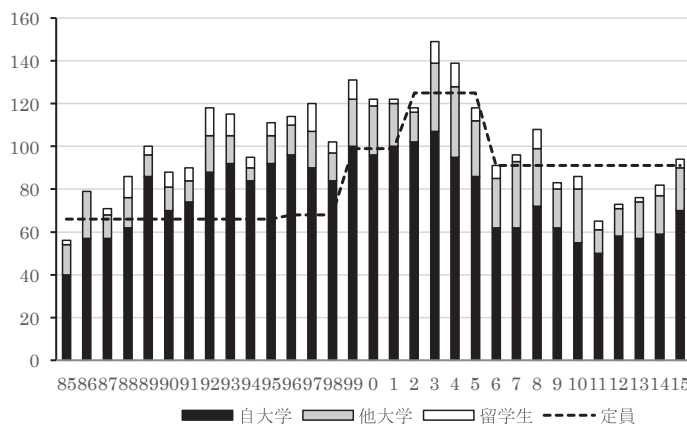


図1 生物圏科学研究科博士課程前期入学者数の推移.
(学校基本調査報告値)

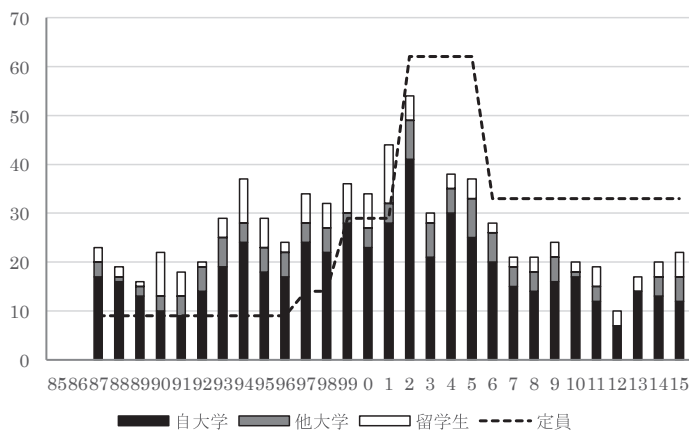


図2 生物圏科学研究科博士課程後期入学者数の推移.
(学校基本調査報告値)

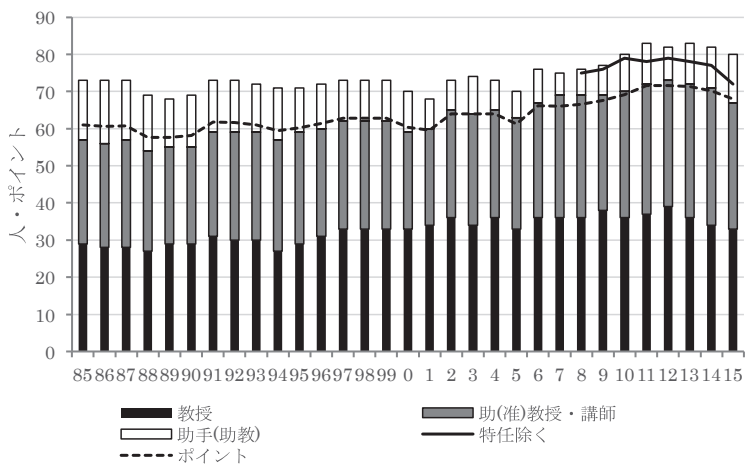


図3 生物生産学部教員数の推移.

博士課程後期の入学者の変動パターンは前期入学者数と類似している。設置当初の入学者は23人（定員9人、図2）で、短期的な増減を伴いながら2002年の54人（定員62人）をピークに一旦減少し、最近では22人（定員33人）へと幾分か回復基調にある。全国の博士課程後期入学者数も2003年をピークに減少に転じている（学校基本調査、2015）。大学院進学者の変動にはさまざまな要因が考えられる。最も大きいのは2004年の国立大学の法人化を巡る動向であり、法人化の不安が進学を断念させ、その後の大学教員常勤ポストの削減や不安定化が博士課程後期への進学意欲を阻害しているのかもしれない。

多くの先進国で人口あたりの博士号取得者数がこの数年間、増加しているのに対し、日本では取得者数が少ないだけでなく、この数年減少しているのである（科学技術・学術政策研究所調査資料、2014）。行政サイドはその状況を把握しているが、問題の所在が大学にあり、大学の人材養成機能や魅力が低下しているためと考えているようである。

2) 教員数の推移

生物圏科学研究科の教員数は、度重なる改組再編などで変動しているが、生物生産学部関係のみみると1985年来、70名前後で推移し、最近の10年間は約80名に増えている（図3）。国立大学全体としても同様な傾向にあり、財務省からは教職員数は学生数の減少と逆行しているとの批判もある（財政制度等審議会、2015）。しかし、これは国の支援による女性教員枠や各種の教育関係の競争的資金による任期付ポストの増加、あるいは短期的な外国人教員ポストの確保などによるものである。従来、定員削減は職階層に関係なく、絶対数をベースにしていたため、講義を担当していない助手層のような若手ポストから減らされてきた。結果、大学教員の年齢構成が上方にシフトおり、生物圏科学研究科においても同様な傾向にある。法人化後は人件費の削減が求められているため、広島大学では、第2期中期目標計画期間から階層別ポイントに基づいた部局割当てポイントの人事管理に移行した。当研究科では第2期終了時点で開始時に比べて教授ポスト6相当を削減予定であったが、今年度から退職者ポストの部局利用は学長判断によることとなった。これは、教育の実施組織である学科や部局の判断よりも学長による管理運営上の判断が優先することを意味している。また、中期目標期間の途中で、改革加速期と称して行政サイドから大学の教育方針にかかわる目標計画の変更が求められたことも問題であろう。

3) 研究業績

法人化後の組織体としての研究科全体の論文総数は、2004年と2007年の2つのピーク有し、2012年に最低値を示した（図4）。この間、再編に伴う教員移動もあったので、教員一人当たりでの研究業績の推移をみたが、研究科全体総数と同様な傾向にあった。2012年の研究業績が少ないのは、博士課程後期入学者の少なさを反映しているようにみえる。科学・学術政策研究所の調査による日本全体での大学の論文総数も2004年をピークに減少傾向にある（科学技術・学術政策研究所、2014）。主な原因が博士課程後期入学者数だけにあるのか、法人化に伴う業務の多忙さによるのか、あるいは研究費の減少によるのか、別途検討されなければならない課題であろう。

研究業績の評価では論文数だけでなく、質の評価も重要になる。しかしかつて、全国農学系学部長会議で農学系の研究評価方法について、研究論文の掲載雑誌のインパクトファクターや引用数などの利用を含めて何度か議論を重ねた末に、専門分野、研究対象の違いによる評価法の統一の難しさが確認された。その一方、文科省の科学技術・学術研究所は数年前から「科学研究のベンチマーキング」と称して、トムソン・ロイター社の Web of Science を基にして、個別論文の引用数を指標に、大学の研究力評価を行っている。学術関係機関からはこうした評価指標の利用には慎重であるべきとの指摘があるにも関わらず、他に適切な指標がないことを理由に、国の行政機関や大学でのベンチマーキング利用が増えていることの問題は深刻である。

4) 外部資金の受入れ

外部資金の受入れは個人の研究活動と密接な関係にあるが、運営費交付金の削減が続く下では部局や大学全体にとっても外部資金に付随する間接経費やオーバーヘッド収入が重要になる。法人化後の研究科での外部資金（科研費、共同研究、受託研究、寄付金）の受入れ総額は、2007年をピーク、2012年をボトムに変動している（図5）。受入れ金額の多かった2007年前後は農林水産省と環境省による大型プロジェクトが採択されたからである。しかし、総件数の変動は小さく、一人当たり平均件数は年間約2.0件である（図6）。国立大学全体では運営費交付金の削減に伴い、外部資金による研究費割合が年々高くなっている（科学技術・

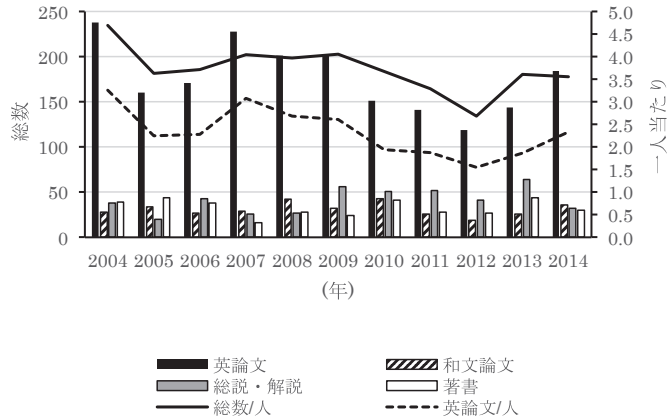


図4 法人化後の生物圏科学研究科における研究業績。
(生物生産学部・生物圏科学研究科自己点検報告書から作成)

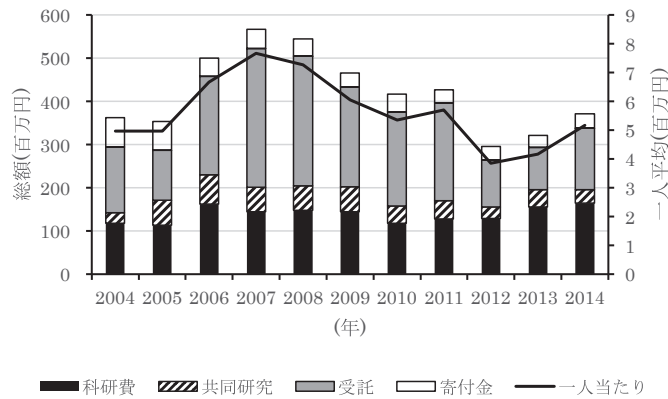


図5 法人化後の生物圏科学研究科における外部資金受入れ金額。
(生物生産学部・生物圏科学研究科自己点検報告書から作成)

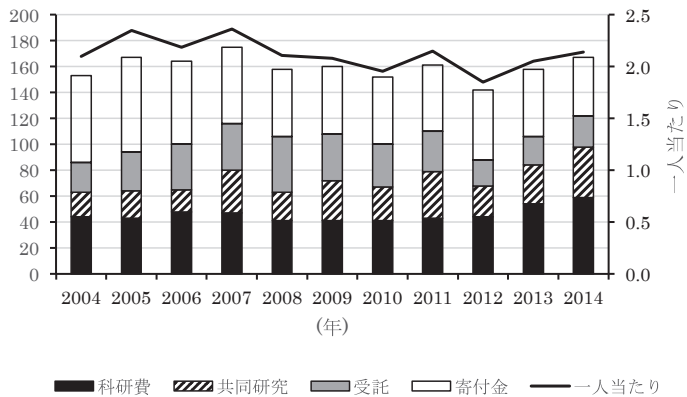


図6 法人化後の生物圏科学研究科における外部資金受入れ件数。
(生物生産学部・生物圏科学研究科自己点検報告書から作成)

学術政策研究所, 2014)。特に, 研究論文の多い大学ほど研究費に占める外部資金の割合が高くなっているようである。科研費以外のひも付き研究費もなければ困るが, 研究者個人の内的発想に基づく科研費や恒常的な教育研究基盤経費は今後とも非常に重要である。また, 組織評価の重要な指標の一つでもあることから, 組織的な外部資金の獲得策をもっと検討していく必要がある。

おわりに

戦後70年が過ぎ, 大学も大きく変容した。国立大学政策は行政の下部機関としての護送船団方式から, 管理運営の自由度が高く, 競争と評価を前提とした国立大学法人になった筈であった。しかし, 依然として「大学の種別化・機能別分化」と「実態としての大学間格差」が大学政策を立案する行政の基本路線であり続けている。他方で, 法人化後の国立大学全体の運営費交付金削減と大学政策の予算誘導の結果は, 研究論文数と世界ランキングの低下に反映している。それらの指標は大学自治の在り様を映しているのかもしれない。

2014年に, 教育連携事業でタイのカセサート大学, あるいは国際学会でインドネシアのガジャマダ大学を訪問した。両大学では, 事前に予想していたよりもかなり国際化が進展しており, 驚かされると共に, 停滞する日本と発展する東南アジアを実感した。グローバル化が進む中, 国際的地位を低下させている責を財政基盤が弱い大学に求めても解決にはならないであろう。高等教育予算を含めた大学政策の立案能力こそが問われなければならない。

大学の力量は個々の構成員のアクティビティの総合である。総合体としての大目標を掲げるのは容易であるが, それに見合った構想力と実現可能な具体策を抜きに, トップの希望的観測を掲げては無意味であろう。教育研究を使命とする大学には自由と分権が不可欠である。個々の内発性に基づく着実な努力と共に期待しつつ, 本報告が研究科の今後の展望を拓く上での参考になることを願っている。

参考資料

天野郁夫. 2006. 「国立大学論—格差構造と法人化」 国立大学財務・経営センター 大学財務経営研究 3: 192-222.

天野郁夫. 2013. 「大学改革を問い直す」 慶応義塾大学出版会.

財政制度等審議会. 2015.

https://www.mof.go.jp/about_mof/councils/fiscal_system_council/

政府統計の総合窓口 (e-stat) 2015. 「学校基本調査」

<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?bid=00001061948&cycode=0>

大学審議会答申. 2015. http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/toushin.htm#pageLink1315964

中央教育審議会答申. 2015.

http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/chukyo/chukyo0/index.htm#pageLink2

広島大学. 2007. 「広島大学五十年史」 通史編 (広島大学50年史編集委員会).

広島大学. 1977. 「広島大学25年史」 部局史編 (広島大学25年史編集委員会).

広島大学生物生産学部・生物圏科学研究科. 2011. 自己点検・評価報告書 (第1期中期目標期間)

広島大学生物生産学部・生物圏科学研究科. 2015. 自己点検・評価報告書 (第2期中期目標期間中間まとめ)

マーチン・トロウ. 1976. 「高学歴社会の大学」 (天野郁夫・喜多村和之訳) 東京大学出版会.

文部科学省科学技術・学術政策研究所. 2014. 「日本の科学研究力の現状と課題」 (林和弘・福澤尚美・荒井俊晴 編) NISTEP ブックレット1 (version-3).

文部科学省国立大学法人評価委員会. 2015.

http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/kokuritu/002/index.htm

注:本文中で引用した審議会答申や科学技術・学術政策研究所の資料は, 該当の URL を参照に検索されたい。

Special contribution

**Japanese government policies to universities and 30 years of
Graduate School of Biosphere Science***

Kohzo TANIGUCHI
Professor emeritus

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

*Keynote lecture at the symposium for the 30th anniversary of the foundation of the Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University

Information

**Hiroshima University has granted the Doctor's degree to the following researchers.
The list is only concerned with the Graduate School of Biosphere Science.**

DEPARTMENT OF BIOSPHERE SCIENCE

March 4, 2015

Doctor of Philosophy Yasuhiro OGATA

March 4, 2015

Doctor of Agriculture Tomoko KAWAI

March 4, 2015

Doctor of Philosophy Takeshi HIRABAYASHI

March 4, 2015

Doctor of Philosophy Andriyani ASUTUTI

March 4, 2015

Doctor of Philosophy Zulhamsyah IMRAN

March 4, 2015

Doctor of Agriculture Takahiro NII

September 7, 2015

Doctor of Philosophy Junichi MUROOKA

September 7, 2015

Doctor of Agriculture Keisuke KIMOTO

September 7, 2015

Doctor of Agriculture Etsuro SAWAI

September 7, 2015

Doctor of Philosophy Pongthong PONGVINYOO

DEPARTMENT OF BIOFUNCTIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY

March 4, 2015

Doctor of Agriculture Yuu UTASHIMA

DEPARTMENT OF ENVIRONMENT DYNAMICS AND MANAGEMENT

March 4, 2015

Doctor of Philosophy Sayuri BANDAI

September 7, 2015

Doctor of Agriculture Liyun LIU

September 7, 2015

Doctor of Philosophy

Yasuhito MIYATA

September 7, 2015

Doctor of Philosophy

Chikumbusko Chiziwa KONGA

September 7, 2015

Doctor of Philosophy

Waqar Azeem JADOON

DESSERTATION PhD

September 7, 2015

Doctor of Agriculture

Masayuki TAKAHASHI

Study on efficient cow production by bioengineering technologies

Yasuhiro OGATA

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

生殖工学技術によるウシの効率的生産に関する研究

尾形 康弘

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

ウシはヒトと同じ単胎動物であり、280～285日の妊娠期間で1頭の子牛を生産する。そのため短期間での増頭や育種改良の実現は困難である。広島県の畜産業は、生産農家数、飼養頭数ともに減少し続けている。このような状況の中で、遺伝的多様性を維持しながら育種改良を行い、ブランド化を図るためには、新たな技術を導入するとともに、育種改良のために必要な期間の短縮と確実な遺伝的改良を行う必要がある。これまでの黒毛和種からの産子生産に加えて、受精胚移植技術を活用してホルスタイン種を借り腹とした、新たな繁殖システムの構築が欠かせない。そのためには、ホルスタイン種の安定的後継牛確保が必要となる。つまり、借り腹となるホルスタイン種の雌ウシの効率的な生産が重要なポイントとなる。そのために利用する技術が、経膈採卵技術と体外受精技術および体外胚操作技術を活用した性判別（遺伝子診断）である。通常、ホルスタイン種から受精胚を得るためには、体内受精胚生産技術を用いることが多い。しかしながら、この方法を泌乳中のウシに実施しようとするれば、採卵のために空胎期間が長くなることや、泌乳期間の短縮による泌乳量の減少が避けられない。酪農家は生乳生産による収入が大部分を占めること、また、自分の経営条件に適合した能力、血統の後継牛を計画的に確保しようとしているため、このようなウシの利用方法は現実的ではない。そこで、分娩後の生理的空胎期間（分娩後40～80日）を利用して受精胚生産が実施できれば、酪農経営に悪影響を与えることなく、酪農家の望むウシからの受精胚の確保が可能となる。この技術が構築されれば、乳生産を休むことなく後継牛が生産可能となり、経営の中で黒毛和種の受精胚移植用の借り腹ウシの確保ができる。その借り腹ウシに、黒毛和種の受精胚移植を行うことで酪農家から黒毛和種の素牛生産ができるため、高齢化等によって戸数が減少した和牛繁殖農家の生産能力を代替することが可能となる。ホルスタイン種を借り腹とした新たな酪農経営を実現することで、酪農経営の基盤安定化と同時に広島牛（黒毛和種）の短期間での育種改良を進め、新たなブランド化に向けた育種戦略を計画することができると考えられる（第1章、緒論）。

第2章では、性腺刺激ホルモン放出ホルモン（Gonadotropin Releasing Hormone; GnRH）の卵胞波新生作用を利用し、ウシ経膈採卵時に数多くの卵を採取することを目的として研究を実施した。発情周期に関係なく任意の時期に卵胞波の新生を誘起させるため、酢酸フェルチレリン等のGnRHアナログ製剤を投与して、卵巣内卵胞数の推移、卵採取数や品質の検討を行った。GnRH投与直後の0時間から24時間間隔で72時間目まで、卵巣内の卵胞動態を超音波画像診断装置で観察した。また、モニター上で観察できる卵胞数が最も多くなる、GnRH投与後48時間目に経膈採卵を実施し、採取される卵丘細胞卵子複合体（Cumulus-Oocyte Complexes; COCs）やその品質についても検査した。また、2種類のGnRH製剤であるブセレリンとフェルチレリンを用いて経膈採卵に利用する場合の有効性について比較検討を行った。その結果、GnRH投与時期については、GnRH投与後48時間での経膈採卵の実施が最も効果的であること、フェルチレリンおよびブセレリン製剤ともに、卵巣内の卵胞径が無処置のものより高い値を示すこと、両製剤間での大きな効果差は見受けられず、どちらも有効性が高いことが明らかにされた。

第3章では、マイクロマニピュレーター等の機器を使用せず、ウシ受精胚から性判別用（遺伝子診断）の試料をサンプリングする方法の開発を行った。本研究において新規に開発した細胞剥離法は、実体顕微鏡と

細く伸ばしたガラス管で桑実期胚から遺伝子診断用サンプル細胞を採取するもので、細胞への物理的障害を最小限にすることが可能である。本研究では、細胞剥離法と従来のブレード切断法でサンプリング後の胚の生存性、受胎性などの比較を行い、その有効性について検討を行った。その結果、細胞剥離法では、受精胚からのサンプル細胞採取は2個程度と少ない数で採取個数を調節することが可能なこと、細胞剥離によって受精胚の生存性は低下しないこと、修復培養48時間後の胚盤胞期胚の総細胞数は、細胞剥離法がブレード切断法よりも高い数値を示すこと、受胎性（受精胚移植比較試験）についても無処置胚と同程度の能力を有することが明らかにされた。

第4章では、生理的空胎期間を利用して経膈採卵・体外受精胚生産が可能かどうかを検討するために、分娩後40～80日までの泌乳最盛期のホルスタイン種に、第2章で有効性が明らかにされた GnRH を経膈採卵48時間前に投与し、採取した卵を用いて体外受精胚生産を試みた。GnRH 投与によって経膈採卵・体外受精で胚盤胞期胚の作出を行い、その胚の受胎性に問題がないかどうかの確認を行った。また、複数回の経膈採卵実施後に、人工授精を実施して、その後の繁殖性（受胎性）に及ぼす影響についても検討した。その結果、分娩後40～80日の生理的空胎期間での経膈採卵は、GnRH 投与を行うことで経膈採卵が可能な卵胞数、採取される卵数およびその品質も高くなり、体外受精により作出される胚盤胞期胚数も無処置より1.7倍以上高くなることが確認され、生理的空胎期間であっても、GnRH 投与によって、効率的な受精胚の生産が行えることが明らかにされた。また、GnRH 投与によって作出された胚盤胞期胚の受胎率も無処置で作出した受精胚と同様に受胎性には問題がないことが確認された。また、経膈採卵後の人工授精についても通常の人工授精のみのウシと比較した場合、受胎に要する日数、受胎性ともに差は見られず、経膈採卵によって、その後の繁殖性に与える影響は見られないことが明らかにされた。

本研究のように、生殖工学的技術を組み合わせて実際の畜産経営に導入できる様に技術構築した例は、これまでほとんどない。本研究で構築した技術によって、ホルスタイン種を繋養する酪農経営において、雌ウシ後継牛生産が計画的に実施可能となり、余剰に生産された後継牛に黒毛和種の受精胚を移植することで、黒毛和種の生産を組み込んで、新たな酪農経営へと発展させることができると考えられる。本研究で明らかにした技術は、酪農経営の経営基盤の安定と、短期間での黒毛和種生産基盤の確保と育種改良の進展に対し、大きな足がかりになると考えられる。(第5章, 総合考察)。

キーワード：ウシ, 経膈採卵, 体外受精, 性判別, GnRH

Molecular biological mechanism for preovulatory follicle formation that focus on ALDH family

Tomoko KAWAI

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

ALDH family に着目した排卵卵胞形成に関する分子生物学的研究

川合 智子

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

性成熟後の雌個体では、性腺刺激ホルモン FSH により卵が属する卵胞が発育し、エストロゲン (E2) が合成され、排卵される成熟卵が発育・選択される。マウスでは、排卵刺激に応答する排卵卵胞で LH 受容体 (*Lhcgr*) が高発現することが高い受性能・発生能をもつ卵の選択に必須である。しかし、FSH 刺激直後ではなく、排卵刺激前になって発現する *Lhcgr* の発現を制御する仕組みは不明である。そこで、本研究では、マウスを用いて FSH が *Lhcgr* 発現を誘導するために必要な新規因子の同定とその機能解析を行い、卵の発生能への影響を検討した。

ALDH family の同定と機能解析

新規機能因子を同定するため、未成熟マウスと FSH 様作用の eCG を投与し、排卵卵胞が観察される48時間後のマウスから顆粒層細胞を回収し、遺伝子網羅解析を行った。その結果、E2合成で CYP17A1による反応時に産生されると予想される副産物 acetaldehyde の分解酵素、ALDH family を同定した。

E2合成に関わる遺伝子の発現と acetaldehyde 濃度を経時的に検出した結果、eCG 投与マウスで *Cyp17a1* が有意に上昇し、それに伴い acetaldehyde 濃度も上昇した。しかし、eCG 投与48時間後では *Cyp17a1* は高いにも関わらず、acetaldehyde 濃度は24時間後と同レベルにまで低下した。この低下は acetaldehyde の毒性から卵胞を防御する解毒機構と推察し、ALDH family の発現変動と局在を検討した。Aldh1a1が eCG により有意に上昇し、内卵胞膜細胞と排卵卵胞では顆粒層細胞にも検出され、acetaldehyde 産生と分解酵素の局在が相補的であった。さらに、E2合成系と ALDH1A1の連動性を調べるため、プロモーター解析を行った結果、*Cyp17a1* を誘導する転写因子 GATA が *Aldh1a1* 発現をも制御していた。これらのことから、*Aldh1a1* が GATA 依存的に E2合成と同時期に活性化し、副産物を分解していると考えられた。

ALDH1の生理的な役割を検討するため、未成熟マウスに ALDH 抑制剤を eCG と腹腔内投与し、acetaldehyde 濃度、遺伝子発現、卵巣形態への影響を調べた。ALDH を抑制すると acetaldehyde 濃度が上昇し、胞状卵胞内では顆粒層細胞層が不均一で、遊離した細胞は TUNEL 染色陽性だった。さらに、卵胞発育期のマーカー遺伝子 *Cyp19a1*, *Lhcgr* の発現が有意に減少したため、ALDH1は acetaldehyde を分解し、顆粒層細胞の生存や細胞接着を介した正常な機能分化に作用していると考えられた。

ALDH1による acetaldehyde 分解機構が卵に与える影響

ALDH1による acetaldehyde 分解機構が卵に及ぼす影響を調べるため、eCG と ALDH 抑制剤を同時投与したマウスに hCG を投与し、排卵試験と交配試験を行った。排卵数、受精卵数と胚盤胞期胚への発生卵数は有意に低下し、卵胞内 acetaldehyde 濃度と卵胞発育・卵の発生能が関連していた。

ヒト不妊治療時に、様々な卵巣刺激法を促した患者から採卵時に、卵と卵胞液を回収した。卵を体外受精し、受精率と良好胚への発生率を検討し、卵胞液は acetaldehyde 濃度測定を行った。その結果、卵胞中の acetaldehyde 濃度が刺激法や同一患者の卵胞間でも大きく異なり、正常に受精と胚発生が誘起される卵が属

する卵胞内 acetaldehyde 濃度は有意に低かった。acetaldehyde 分解機構を考慮することは、最も発生能の高い卵を发育させるための刺激法考案と卵胞发育障害の原因解明の手がかりになると考えられた。

ALDH family 遺伝子が制御する RA 合成系とその役割

ALDH1は、経口摂取した vitaminA をレチノイン酸 (RA) に変換する役割も担う。ALDH1抑制剤により低下した *Lhcgr* 発現が RA 投与により回復したため、ALDH1は acetaldehyde 分解と RA 新規合成に関与し、両機能が排卵卵胞への发育に必要と考えられた。RA の卵巣機能に及ぼす役割を調べるため、vitaminA 欠乏飼料を離乳後からマウスに与え、性周期、卵巣形態、卵胞发育や排卵期のマーカー遺伝子発現、卵の排卵や受精、胚盤胞期胚への発生能への影響を検討した。その結果、発情期が長期化し、内因性の排卵刺激では排卵が不十分であること、この原因は *Lhcgr* が有意に抑制されていることを示した。また、過剰排卵処理を行っても排卵数や卵の成熟率、胚盤胞期胚への発生率が有意に改善されなかった。以上の結果から、卵胞发育期に合成される RA は、LH 感受性を高めることで高い発生能をもつ卵を排卵させると考えられた。

RA により制御される LH 受容体の発現制御機構

RA と *Lhcgr* 発現の関係を調べるため、内因性 RA に反応し LacZ を発現する RARE-LacZ 遺伝子導入マウスを用いた。FSH 作用を受けた顆粒層細胞で LacZ 陽性が認められ、同じ細胞に LHCGR も局在していた。LacZ 活性は、RA 合成の抑制剤で低下した。そこで、RA 合成抑制剤を eCG と同時投与すると *Lhcgr* 発現が有意に抑制され、排卵数、卵の成熟・発生能も低下した。しかし、*Lhcgr* プロモーター領域に RA 応答配列がない。つまり、RA による *Lhcgr* 発現制御は間接的と考え、Sp1 結合サイトの CpG 配列に着目し、DNA メチル化解析を行った。eCG 投与前では CpG 配列のメチル化割合は高いが、eCG 投与によりその割合は著しく減少した。一方、eCG と RA 合成抑制剤の同時投与はメチル化を維持した。

排卵卵胞への发育時には、*Lhcgr* 以外に多くの遺伝子で脱メチル化が起こっている。引き続き詳細に検討し、RA が誘起する脱メチル化とともに核内の遺伝子発現基盤を解明することで、顆粒層細胞の機能変化と卵の成熟・発生能の関係性が明らかになると考えている。

本研究において、FSH が制御する *Lhcgr* 発現には① ALDH1が E2合成に関与する遺伝子と共に発現上昇し、副産物 acetaldehyde を分解すること、② ALDH1は RA 合成へも関与し、*Lhcgr* プロモーター領域の脱メチル化を誘導することが重要であることを明らかにした。

これにより、遺伝的な背景に加えて、細胞内や生育・飼養環境が引き起こす繁殖障害や不妊病態の解明とその予防法の考案への貢献が期待される。

キーワード：卵胞发育，エピジェネティック，レチノイン酸，ステロイドホルモン，代謝

Diversity and molecular evolution of carnivorous calanoid copepods

Takeshi HIRABAYASHI

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8523, Japan

肉食性カラヌス目カイアシ類の摂餌様式の多様性と分子進化

平林 丈嗣

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島

カラヌス目カイアシ類は海洋で最も量的に多い動物プランクトンであり、その生態的機能について1900年代初頭から研究が活発になされてきた。かつて植物プランクトンなどの粒子を摂食する二次生産者として位置づけられていたが、最近の研究により他の動物プランクトンを捕食する種やデトリタスを専食する種の存在が明らかになってきた。しかし、肉食者の口器形態・摂餌様式の多様性や進化などについては包括的に研究がされていなかった。本研究では汽水性、沿岸性種および1,000 m以浅に生息する肉食性種の口器、特に餌を捕獲するために最も重要な第2小顎と顎脚の相同性を重視した形態比較をして、それらの摂餌様式を推定した。また、肉食者が粒子食者から進化したことについて深海性 *Heterorhabdidae* を材料にして分子系統学的解析（核の18S rRNA および28S rRNA 遺伝子、ミトコンドリアのチトクローム C 酸化酵素サブユニット1遺伝子）で明らかにすることを目的とした。

肉食性カラヌス目カイアシ類は第2小顎と顎脚の両方あるいはそのどちらかの体長に対する相対長が粒子食者のそれらと比較して顕著に伸長し、さらにそれらの付属肢には餌生物の捕獲用の刺毛が著しくキチン化して強固になる共通点が見られた。まず、顎脚の相対長が20.0% 以内の Group I (*Diaptomoidea*) とこの値を超える *Diaptomoidea* 以外の上科で構成される Group II に分けられた。さらに、第2小顎の相対長とエレメントの形態によって13タイプに分類され、それぞれの摂餌様式を推定した。Group I の *Candaciidae*、Group II の *Chiridiella*、*Cornucalanus*、*Heterorhabdus*、*Paraheterorhabdus* は“chopsticks mode”のみを採用して相対的に大型の餌を、その他のタイプはこの摂餌様式と“scooping mode”という様式を用いて相対的に小型の餌を捕獲していると推定した。前者では少数のエレメントの先端を主に用いて餌動物を掴み、後者では数多くのエレメントでバスケット状構造を作り出してその内部へ餌を囲みとるような摂餌行動をすると推測した。肉食者はカラヌス目の進化の中で何度も独立して派生したと推定される。

カラヌス目の粒子食から肉食への食性の転換は餌粒子の少ない外洋、特に深海への植民が起こった時に生じたと推定されており、粒子食者が独立的に外洋へ植民した結果、肉食者の口器形態の多様性が生じたと考えられる。

Heterorhabdidae の7属9種の18S rRNA 遺伝子と28S rRNA 遺伝子の結合配列を用いた分子系統解析においては、すでに提唱されている形態に基づく系統樹の樹形と一致した。すなわち、粒子食性 *Disseta* が最初に分岐し、雑食性 *Mesorhabdus*、*Heterostylites* を派生しつつ、最終的には肉食に特化した属 *Hemirhabdus*、*Neorhabdus*、*Heterorhabdus*、*Paraheterorhabdus* が分岐したことを示した。粒子食性祖先から“chopsticks mode”を採用する肉食者が進化したことを分子系統学的解析でも証明できた。また、ミトコンドリアのCO1遺伝子の変化速度を100万年あたり1.4%~2.6%として、原始的な粒子食性 *Disseta* と雑食性 *Mesorhabdus* のCO1遺伝子の遺伝的距離21.2%に適應すると、約1500万~810万年となり、中新世中期~後期にこの分岐が起こったと推察された。換言すると、*Heterorhabdidae* は中新世中期~後期に深海で懸濁物食から肉食へ

と進化しはじめたと予想される。また、Heterorhabdidae 内の18S rRNA 遺伝子と28S rRNA 遺伝子の結合配列の遺伝的距離 (pairwise genetic distance) は0.07~2.27% の範囲に収まったが、*Hemirhabdus*, *Neorhabdus*, *Paraheterorhabdus* および *Heterorhabdus* を含む4属間の遺伝的距離は0.14~0.92と非常に近い値を示した。この値は Heterorhabdidae と同じ上科に属し、基本的に粒子食である Metridinidae の属間の遺伝的距離 (0.21~2.21) と同等であり、Heterorhabdidae では属を生じる進化速度、つまり食性の変化を起こす速度が他のカラヌス目の種分化速度と同程度で生じており、急激な環境変化に伴う食性の進化が起こったことが推定された。

本研究では肉食性カラヌス目カイアシ類の食性を機能形態的側面から解析し、進化傾向について解析した。今後はさらに多くの粒子食者や深海に生息する肉食者を追加した形態解析、消化管内容物解析や安定同位体解析による餌生物の推定、カイアシ類の正確な分子時計の確立等によるカイアシ類の食性進化の全貌を明らかにすることが課題である。

キーワード：カラヌス目カイアシ類, 肉食, 相同, 分子進化

Nutritional Studies for Early Lactation Cows Milked by an Automatic Milking System

Andriyani ASUTUTI

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

自動搾乳システムにおける泌乳初期乳牛の栄養に関する研究

アンドウリヤニ アストウテイ
広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Automatic milking systems (AMS) are the latest milking machine utilized in dairy industry. Reducing labor cost and saving work load are major reasons for introduction of AMS by dairy farmers. Cows milked by AMS generally increase milk yield with increased milking frequency. The increase of milk production by frequent milking may affect the mobilization of fat stored in the body tissues, especially in an early lactation period. Related to higher milk protein yield, higher milking frequency may also affect mammary amino acid (AA) metabolism in cows milked by AMS. In addition, feeding strategy for close-up period must be applied to minimize the negative effects of negative energy balance on production performance in cows milked with higher frequency by AMS. Therefore, this study aimed to evaluate milk production and nutritional status in early lactating cows managed with AMS, with focusing on milking frequency and prepartum feeding levels.

In Experiment 1, 8 multiparous and 4 primiparous Holstein cows were assigned to two treatment groups of 2 or 4 times milking frequency. After parturition, cows were fed a partial mixed ration (PMR) *ad libitum* and milked by AMS from 10-18 days postpartum. The daily milk yield in AMS period was greater ($P < 0.001$) in 4 times than in 2 times milking cows. Yields of milk protein, lactose and solid not fat (SNF) were greater ($P < 0.001$), and fat yield tended to be greater in 4 times milking cows ($P = 0.073$). Average dry matter intake (DMI) and total digestible nutrient (TDN) intake in each period was similar between treatments. Body weight (BW) and body condition score (BCS) were similar between treatments, but BCS decreased with period from 20 to 35 days ($P < 0.05$). Arterial plasma concentration of glucose was lower ($P = 0.034$) in 4 times milking cows. However, the arterial concentrations of acetate, ketone body, non-esterified fatty acids, triglyceride, total cholesterol and urea-N did not differ between treatments. The arterial-venous difference of plasma metabolites by the mammary tissues were similar between treatments, however estimated mammary plasma flow was higher in 4 times compared with 2 times milking cows ($P < 0.05$) which probably affected milk and milk component yields. Arterial concentrations of hormones (GH, IGF-1 and prolactin) were similar between treatments.

In Experiment 2, the blood plasma samples of the coccygeal artery and right subcutaneous abdominal vein obtained in Experiment 1 were analyzed for free AA concentrations. Arterial plasma concentration of glutamate (Glu) was lower ($P = 0.022$) in 4 times milking than in 2 times milking cows. Arterial-venous concentration differences of each essential AA were not significantly different between treatments. Mammary uptakes of each essential AA except for tryptophan were higher ($P < 0.05$) in 4 times than in 2 times milking cows. In contrast, mammary uptakes of each non-essential AA excluding alanine, aspartate, serine and tyrosine were not different between treatments. Ratios of mammary uptake to milk output of branched-chain AA were lower ($P < 0.05$) and uptake to output ratios of glutamine, Glu and glycine were tended to be lower ($P = 0.055$) in 4 times than in 2

times milking cows.

In Experiment 3, 7 multiparous Holstein dry cows were divided into two treatment groups supplying diets at 125% (H) or 100% (M) of TDN requirements, respectively, during last 3 weeks of dry period (close-up period). After parturition, cows in both treatments were fed PMR ad libitum and started milking by AMS from 3 weeks postpartum. Dry matter intake at week 3-6 postpartum was similar between treatments, although DMI at week 1-2 was numerically higher for cows in the M treatment. Milk yield at week 1-2 was tended to be higher ($P = 0.09$) for cows in the M treatment compared with the H treatment. Compositions of fat and protein in milk at week 1-2 were similar between treatments, but lactose and SNF contents were higher ($P < 0.05$) for cows in the H treatment than those in the M treatment. At week 3-6 postpartum, protein and SNF contents were lower ($P < 0.05$) for cows in the H treatment. Milk fat yield was higher ($P < 0.05$) for cows in the H treatment compared with the M treatment at week 3-6.

In summary, the results of this study indicate that increasing milk yield with increasing milking frequency does not enhance fat mobilization till 3 weeks of lactation. The increase of milk yield with frequent milking by AMS is mainly owing to the increase of mammary plasma flow which affects AA uptake for milk protein synthesis. Efficient conversion of essential AA to milk protein by mammary gland may also affect higher milk protein yield in cows with higher milking frequency. On the other hand, feeding levels in prepartum period may not affect milk yield but increase milk fat production in early lactation by AMS.

Key words: amino acids, automatic milking, feeding levels, lactating cows, milking frequency, peripartum period

Integrated Sustainable Livelihood Approach toward the Strengthening of Social Resilience: A Case Study on Recovery of Fisheries Livelihood after the Tsunami in Krueng Raya Bay, Aceh-Indonesia

Zulhamsyah IMRAN

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

社会回復力の強化に向けた統合的かつ持続的な生計アプローチ：インドネシア・アチェ州、
クルングラヤ湾における津波後の水産業復興に関する事例研究

ザルハムシア イムラン
広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Goal of the study

Integrated sustainable livelihood approach was implemented to relief fishing communities and restore fish resource in tsunami-affected areas, Aceh-Indonesia. This research objectives are to examine factors affecting on changes of fisheries livelihood pattern in fishing community, examine factors that cause decrease of anchovy resources and coastal ecosystems degradation, assess effectiveness of integrated and participatory sustainable livelihood approach, investigate the recovery process of fisheries livelihoods and roles of indigenous institution toward the strengthening of social resilience; and to provide recommendation for adaptive framework on recovery of fisheries livelihood.

Factors Affecting Changes of Fisheries Livelihood

In 2004, the tsunami had affected on fisheries livelihood in Krueng Raya Bay. As a result, USD 2.7 million fisheries livelihood assets was damage and loss. The pattern of fisheries livelihood was changed by the tsunami struck. It led a number of fishermen increasing from 10.6% of total population in 2003 to 15% in 2011; a number of fishing boat decreasing sharply; operational cost and re-investment of asset production increasing significantly; increase the percentage of fisheries household dependency on fisheries resources from 40% in 2003 to 60% in 2005. A declining of fish production in both volume and value could be identified as direct factor which shifted the income of fishing communities. An upward of food, fuel, wood, and equipment price; a change of workforce and livelihood; and an increasing immigration were contributed as indirect factor on change of fisheries livelihood.

Assessment Factor Contributing on the Anchovy Fisheries Decline

Fish resources, in particular anchovy (*Stolephorus commersonii*) in Krueng Raya Bay faced a depletion state aftermath the tsunami. A downward trend of anchovy production could be revealed by less of catch during west monsoon season of 2012, amounted 7.8 tons or 52% of the total catch with the operation of 7-29 units of lift net boats. Simple regression analysis resulted two different models of MSY either before or after the tsunami in 2004 which were shown as $y = 0.8696 - 0.00008x$ and $y = 0.1138 - 0.00002x$, respectively. Model 1 recommended to reduce the number of lift net boat to 43 units for optimization of yield. However, Model 2 suggested that only 23 units could be operated for optimal effort each year. Average recent catch in MSY showed 53.9% (less abundant) before the tsunami and 5.5% of average recent catch in MSY (depletion) after the tsunami. Such a tragedy of

resource depletion was accelerated by anthropogenic factors, increasing catch effort, destructive fishing gears, and degradation of coral reef and mangrove and the tsunami factor.

Incorporate Sustainable Livelihood Strategy on Recovery of Fisheries Livelihood

Poverty alleviation through increase of income is a main target of sustainable livelihood strategy. In study area, high dependency on fisheries resources, ranging between 0.61 and 0.81, brought poverty condition in fishing communities. It can be seen that 65.9% of total population was lived within coastal area and 69.2% of the 13 villages were coastal villages before the tsunami. The fisheries livelihood program successfully reduced a number of poverty population to 56.58% on 2009 from 97.70% in 2005. The strong internal characteristics of fishing community were regarded to cope fisheries livelihood recovery. But, their capacity of recovery process and financial capital were insufficient to restore fisheries livelihood without any aid delivered from Government of Indonesia and other donor agencies. Some lesson learnt were to integrate alternative livelihood development and social-ecological approach into development of fisheries livelihood.

Toward Strengthening Social Resilience through Fisheries Livelihood Recovery

Social resilience has role to govern the local community and coastal fisheries resources toward sustainable fisheries development in tsunami affected area. The four villages selected, i.e. Ruyung, Meunasah Keudee, Meunasah Kulam, Ruyung, Meunasah Mon showed a highest SoVI, which were in range 0.7850 – 0.8460, because these villages are located nearby sea and flat area. Indigenous institution had a contribution and adaptable to rebound social resilience. The Panglima Laot Lhok (sea commander) had determined and adapted role on recovery of the fishing community, particularly facilitated aid delivery to fishermen. Toke Bangku (financial trader) had stimulated for reinforcement of advance payment and market channel. The other institutions supported upon linking and bridging connectivity among stakeholders. Toward the strengthening social resilience of fishing communities could be gain through: revitalization of rule using the social value and religious; engagement of indigenous institution and local government unit; adoption of the sustainable livelihood approach; integration of management adaptive strategies; collaboration action among the stakeholders and local institution capacity building; and arranging exit strategies for fisheries and alternative livelihood development.

Conclusion and Recommendation

It is clear that anthropogenic factors contribute to depletion of fish resources and degradation of coastal ecosystem. The tsunami brings out fish resource and its ecosystems to the worse condition and resulted a huge negative affect on fisheries livelihood. It has caused a decreasing of income, increasing of poverty people, rising of social vulnerability, declining of social resilience within fishing communities. Toward the strengthening social resilience of fishing communities, it is needed to integrate sustainable livelihood based on community's participation for achieving self-social resilient of fisheries communities and cope fish resources depletion and ecosystem degradation.

Keywords: tsunami impact, sustainable livelihood strategies, social resilience, fishing communities

Studies on Eggshell Malformation through Cytotoxic Immune Factors Induced by Bacterial and Viral Antigens in the Hen Oviduct

Takahiro NI

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

ニワトリ卵管における細菌およびウイルス抗原誘導性の細胞傷害性免疫関連因子による
卵殻形成不全に関する研究

新居 隆浩

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

1. General Introduction

Infection by pathogens in the oviduct causes eggshell malformation, debility of host bird, contamination of egg and chicks, and food poisoning for human. The regulatory mechanism of immune function in the oviduct is of importance to enhance the defense function against infection, and it is also important for host animal health and safe and efficient egg production. The aim of this study was to determine the immunoresponse process including recruitment of cytotoxic cells induced by bacterial and virus infection, and the effects of the immune factors on the eggshell formation in hen oviducts.

2. Effects of Lipopolysaccharide on the Recruitment of Immunocomponent Cells in the Hen Oviduct

The aim of the study in Chapter 2 was to know why the susceptibility is high in hen oviduct during the molting phase. The expression of IL-1 β , IL-6 and IL-8 were up-regulated in association with CD4⁺ and CD8⁺ T cells recruitment in response to LPS in the oviduct of the laying hens, but the ability to recruit CD8⁺ T cells may be depressed during the molting phase in Experiment 1. The lesser recruitment of CD8⁺ T cells may be one of the reasons why the oviducts are more high susceptible during the molting phase. T cell pool was more developed in the vagina of LPS-repeated stimulation group than control in Experiment 2. The lesser antigen stimulation in the vagina during molting may result in the reduction of T cell pool, and it may be also one of the reason for the higher susceptibility in the oviduct during the molting phase.

3. Effects of Estrogen on the Cytotoxic Response to Avian Infectious Bronchitis Virus Infection in Hen Oviduct

The aim of Chapter 3 was to determine whether the egg-laying phase and estrogen affect the induction of cytotoxic cells at early stage of infection by avian infectious bronchitis (IB) virus in the oviduct. The frequency of CD8⁺ and TCR- $\gamma\delta$ ⁺ T cells in the isthmus, and CD8⁺ cells in the uterus was significantly higher in the aIBV group in the laying and M-EB hens, but not in the molting and M-oil hens. The expressions of cytotoxic cell-related molecules and cytokines in the isthmus, and of CX3CL1 and IFN- γ in the uterus were higher in the aIBV group in the laying and M-EB hens, but not in the molting and M-oil hens. These results suggests that infection by IB virus causes the cytotoxic immunoresponse with up-regulation of cytokines in the isthmus and uterus at early stage of infection. This response may be declined during the molting phase due to decrease in the circulating estrogen level.

4. Effects of Avian Infectious Bronchitis Virus Antigen on Eggshell Formation and Immunoreaction in Hen Oviduct

The aim of this study was to determine the mechanism by which the IB virus affects eggshell formation. Attenuated IB virus (aIBV group) or vehicle (control group) was injected into the oviductal magnum lumen of hens. Gene expression of collagen type I, but not collagen type V, in the isthmus and calbindin in the uterus was decreased in the aIBV group. The frequencies of CD8⁺ cells and TCRγδ⁺ T cells in the isthmus and uterus were significantly higher in the aIBV group than in the control group. The expression of cytotoxic molecules and cytokines was also higher in the aIBV group than in the control. These results suggest that IBV infection causes disorder of eggshell formation by disturbing gene expression of collagen type I in the isthmus and calbindin in the uterus, probably via the effects of substances from cytotoxic cells and proinflammatory cytokines.

5. Effects of IL-1β and IL-6 Stimulation on the Expression of the Eggshell Formation-related Factors in the Cultured Uterus Tissue

The aim of this study was to determine whether the IL-1β and IL-6 affect the expression of the eggshell formation-related factors in the uterus mucosa. The expression of IL-6 receptor was identified in the tubular gland cells and whole tissues, but IL-1β receptor was not identified in the tubular gland cells. Expression of calbindin, PMCA1, PMCA2, CA2 and SLC26A9 was significantly increased in the tissues incubated with IL-1β and IL-6 compared with control group. Whereas, the density of immunoreactive calbindin was significantly lower in the tissues incubated with IL-1β and IL-6 than in the control group. These results suggest that IL-1β and IL-6 temporarily upregulate the gene expression of eggshell formation-related genes, but down-regulate the protein density of calbindin in hen uterine mucosa at the early stage of stimulation. It is assumed that IL-1β and IL-6 affect the transportation of Ca²⁺ to cause eggshell malformation in hen uterus.

6. General Discussion

In conclusion, the cytokine production and attraction of the cytotoxic cells are important to protect the oviduct from infection by pathogenic bacteria and virus in hens. Estrogen is likely necessary for enhancement of cytotoxic immune reaction in the oviduct. It was also established by the current studies that the produced IL-1β and IL-6, and cytotoxic cells and cytotoxic factors induced by microbe infection are likely one of the factors of eggshell malformation caused by pathological microbe infection. These knowledge is expected to be useful for the basis of the technology development for the preventive hygiene in the oviduct and the safe egg production.

Key words: chicken oviduct, cytotoxic cell, chemokine, cytokine, eggshell, IB virus

The contents of activities of hands-on agricultural experience in elementary schools and their educational significance

Junichi MUROOKA

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

小学校における農業体験学習の活動内容とその教育的意義
—学校農園型を中心とした分析—

室岡 順一

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

本研究は、小学校における「学校農園型」の農業体験学習を対象に、農業体験学習に特有な活動内容について理論・実証面から分析することで、その教育的意義を明らかにすることを目的とした。本研究での農業体験学習は児童が主体となった体験活動という観点に立ち、まず具体的な活動の過程と内容を分析し、次に活動に対する評価内容を分析し、両者の対応関係から教育的意義を導き出す方法を採用した。

第1章 農業体験学習の今日的理解

本章では農業体験学習に関わる既往研究・調査を精査し、その今日的理解を明確にした。精査対象は4分野、①「学校園」経営の手引書、②公刊された実践記録、③農業体験学習の実施動向の社会調査、④農業体験学習の教育的効果の解明を目的とした実証研究のいずれかに該当する文献資料である。その結果、「農作業体験」が①～④すべてに共通する活動内容であったが、今日の農業体験学習は、作物を主対象とし、農園として土地を利用するなどを明らかとした。さらに、これらの文献が示す諸意義を集約し、主な意義は農作業体験に由来することを指摘した。

第2章 農業体験学習の基本要素

本章では農業体験学習を構成する基本要素を特定し、基本要素に則して前章の事例を解釈し、活動内容と教育的意義の対応関係について説明を試みた。その結果、前章の「農作業体験」は農業生産活動が学習活動として改変された「作物育成活動として教育活動に取り入れられること、作物育成活動の基本要素は学習活動主体（児童）、教育活動主体（教師）、活動協力者（農業者など）、活動対象（作物など）、活動手段（農機具など）、土地（土壌環境）から構成されることを明らかにした。

第3章 低学年による学校農園型の活動内容と教育的意義

本章では、低学年の児童による活動事例を対象に、その活動内容について分析し、教育的意義を導き出した。対象は、大阪府寝屋川市立M小学校の2007年度一年生児童が1年間にわたって野菜を栽培した生活科の活動「やさいをそだてよう」である。その活動過程は担任教師の報告書から把握し、活動過程に沿って時系列に再構成した活動内容ごとに解釈した。教育的意義は、児童が活動を振り返った作文をテキストマイニングとソシオグラムによって解析し、教育的意義に相当する評価内容を導き出した。

その結果、一学期は作物育成のみであったが、二学期以降は他の教職員や農業者が活動協力者として支援し、児童自らビニールハウスを製作し、収穫物を給食の食材としたり家に持ち帰るなど、「体験的な諸活動」が展開された。教育活動主体が基本要素を統御することで、学校農園型でも1年間で活動が変化することを明らかにした。また作文に共通する評価内容は、作物を育て、作物が育ち、収穫物を他者に食べてもらった事実と実感、それに伴う成就感であった。これらの評価は作物育成活動と「収穫物を食用に利用する小活動」

に由来する。これらの評価と既往文献が示した教育的意義を比較考察し、5つの意義を提示した。

第4章 全学年および高学年による学校農園型の活動内容

本章では、複数年の児童による複数年の活動事例を対象に、その活動内容を分析した。対象は、大阪市立N小学校の全児童約320名が異学年集団を編成して、週1回、野菜などを栽培する特別活動「ふれあいタイム」、および同校の高学年児童（六年生）の「総合的な学習の時間」である。1991年度から始まった「ふれあいタイム」の長期過程と1年間の過程は、学校資料や授業観察によって把握した。活動内容は第3章と同様の方法で解釈した。

その結果、「ふれあいタイム」の長期過程は「ふれあい農園開始期」「ふれあいタイム確立期」「田辺ダイコン育成期」「体験学習期」の4つに時期区分された。前2者は狭義の活動の時期、後2者は今日一般的に理解されている農業体験学習が展開された時期であった。学校組織が教育活動主体となり、校内の基本諸要素を組み合わせる漸進的に活動構成を展開したことを明らかにした。一方、六年生の「総合的な学習の時間」は、体験学習期から年間テーマが田辺ダイコンに設定された。活動協力者から講義や栽培指導を受け、自らテーマを立てて調べ学習をおこない、班長として小集団を指導した。これらを通じて六年生は、活動協力者から学ぶ学習活動主体、班指導によって集団の形成・維持を図る能力形成、栽培経験と調べた知識からテーマを探究する学習主体など、能力や知識の多面的な発達を図っていた。

第5章 全学年および高学年による学校農園型の教育的意義

本章では、第4章と同じ事例を対象に、活動の評価内容から教育的意義を導き出そうとした。児童作文、調べ学習のレポート、教師・保護者の感想を解析し、第3章と同様の方法で導き出した。その結果、作文に共通する評価内容は、第3章と同様の結果を得た。学期別、年度別、学年別、パネル単位での解析でも同様の結果を得た。このことから、共通する評価内容は学年の違いや活動展開と関わりなく一般的な評価内容と考えられ、第3章で提示した意義が改めて実証された。一方、六年生は下級生が収穫した時に喜ぶ姿に充足感を得、教師も小集団活動における六年生の役割に注目しており、農業体験学習は社会化の能力形成面で意義があると考えられた。

第6章 農業体験学習の活動内容とその教育的意義

本章では各章を総括し、論文全体の結論を導いた。農業体験学習の活動は狭義、今日一般的に理解されている活動、広義の3つに大別される。この内、今日一般的に理解されている活動は、①作物育成活動、②活動協力者、③収穫物を食用に利用する小活動で構成される。ただし構成は、教育活動主体の統御で短期・長期に変化する。農業体験学習は、①活動内容の構成、②基本要素の種類、③各基本要素間の関係の有無・強弱・組み合わせのバリエーションによって特徴づけられる。教育的意義として、活動を通じ技能・技術を学び、遂行する能力を得、実感できる意義、活動を成就させることで満足感など得ることができる意義、他者から作物や食べ物の評価され、自らの活動の関係性を学ぶことができる意義などが明らかとなった。

キーワード：農業体験学習、小学校、活動内容、教育的意義、学校農園型

Studies on the conservation of the red-spotted masu salmon *Oncorhynchus masou ishikawae* in northeastern Kyushu, southern Japan

Keisuke KIMOTO

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

九州北東部におけるアマゴの保全に関する研究

木本 圭輔

広島大学大学院生物圏科学研究科, 730-8528 東広島市

第1章 緒言

アマゴは日本固有のサケ科魚類であり、分布南限域である九州には河川型個体群だけが生息する。内水面資源は海面に比べ脆弱なため、アマゴを含む河川性サケ科魚類では、種苗生産技術が確立された1970年代以降、おもに養殖魚の放流により資源の維持・増殖が図られてきた。しかし近年、放流された養殖魚が、各河川の在来個体群に対して遺伝的・生態的な悪影響を与える可能性が指摘されている。したがって、養殖魚の放流はアマゴを含む河川性サケ科魚類の長期的な保全のためには実施すべきでないと考えられるが、漁業・遊漁による短期的な利用のためには必要である。河川性サケ科魚類の保全と利用の両立を図るためには、在来個体群の生息水域と自然再生産の実態に基づいて河川を区分し、放流と漁場管理手法を使い分ける「ゾーニング管理」が有効と考えられる。本研究では、大分県大野川水系神原川とその周辺河川（緒方川と波木合川）にゾーニング管理を導入することを目的として、以下の4つの調査を実施した。

第2章 流程に沿った魚類群集の変化

調査水域に約1 km おきに設けた15の調査点で2003年10月、2004年2月と8月に生息魚類の潜水目視観察を行い、魚類群集組成の流程に沿った変化様式を調べた。各調査点の魚類群集は、上流側のアマゴとタカハヤが優占する単純な組成から、下流側のウグイやカワムツ等が優占する複雑な組成へ移行し、アマゴとタカハヤが優占する上流側調査点（標高415-820 m）、ウグイ、カワムツ、タカハヤが優占する移行帯の調査点（260-397 m）、および多種のコイ科魚類が優占する下流側調査点（232-255 m）の3群に分類された。群集の変化様式は、流程に沿って単調に変化する環境変数（河川形態型、標高、河床勾配、平均水面幅、流量および日平均最低水温）と有意に相関した。一方、タカハヤの個体群密度はこれらの変数と相関せず、砂防堰堤下流側の移行帯で減少した。この変化は、人為改変による生息環境の悪化を含む、異なる要因の存在を示唆する。

第3章 アマゴ浮上稚魚の流程分布

調査水域に設けた14の調査区間において、2005年1-4月に2回（11-32日間隔）の潜水目視観察を行い、アマゴ浮上稚魚の流程分布を調べた。浮上稚魚の個体群密度は上流側で高かったが下流側では低く、流程分布の偏りは2回の調査を通じて変化しなかった。また、2003年10月、2004年2月と8月に調べた幼魚期以降の個体群密度も上流側が高く、季節間で有意な相関を示すとともに、浮上稚魚の個体群密度と有意に相関した。これらの結果と、河川型アマゴ個体群の生活場所と産卵場所が近接することを考慮すると、本調査水域のアマゴ浮上稚魚は約1か月間、産卵床付近に留まるものと考えられた。したがって、本調査水域のアマゴの自然再生産は上流側で良好、下流側で低調と推定される。

第4章 アマゴ浮上稚魚の生息場所利用

アマゴ生息域下流側における自然再生産の制限要因を把握するため、流路単位スケールにおける浮上稚魚の生息場所利用様式を調べた。緒方川の1.4 km 区間に設けた56の調査区画（各25 m）において、2007-2009年1-3月に潜水目視により浮上稚魚数を計数するとともに、環境変量（流路単位タイプ、産卵床からの距離、川幅水深比、左右岸の水深、流速、植生被度）を測定した。浮上稚魚数は、早瀬周辺の流路単位タイプと有意な正の相関、沿岸水深および産卵床からの距離と有意な負の相関を示した。早瀬周辺の流路単位タイプを利用する傾向は下流側に特有であり、浮上稚魚の好適な微生息場所（速い流れに近い緩流部分）が、下流側では早瀬付近に局在するためと考えられる。一方、流路単位スケールで好条件であっても、微生息場所条件が不十分な場所では、浮上稚魚が流下する可能性が示された。したがって、アマゴ生息域下流側では、早瀬周辺の流路単位タイプの内部に、好適な微生息場所を整備する必要がある。

第5章 アマゴ個体群の遺伝的構造

在来アマゴ個体群の生息水域を特定するため、調査水域に生息するアマゴの遺伝的構造を調べた。神原川では漁業・遊漁が可能であるが、源流部では公式な放流記録がない。支流波木合川のメンノツラ谷にはイワメ（アマゴの無斑型）が生息し、まんりょう谷のアマゴとともに生息域の大部分が禁漁であるが、後者では禁漁区の上流側で非公式な養殖魚の放流が行われたとの情報がある。得られた11種類の mtDNA ハプロタイプのうち Hap-1はすべての個体群に見られ、イワメで固定（100%）、神原川源流部のアマゴで優占（90.5%）したが、まんりょう谷では Hap-1は少なく（10.0%）、過去に放流されたと推定される養魚場のアマゴのハプロタイプが優占（70%）した。これらの遺伝的構造から、メンノツラ谷のイワメと神原川源流部のアマゴは在来個体群であると推定される。

第6章 総合考察

各章の結果から、本調査水域のアマゴ個体群の現状として、移行帯を含む下流側水域では人為改変の悪影響を受けている可能性があること、アマゴの自然再生産は魚類群集の移行帯より上流で良好、下流側で低調であること、在来アマゴ個体群は神原川源流部と波木合川のメンノツラ谷に生息していること等が示された。これらの実態に基づき、以下のゾーニング案が導出された。1) 神原川源流部において漁業、遊漁、放流を禁止。2) 波木合川禁漁区の上限を撤廃。3) 両禁漁区より下流側では漁業と遊漁および放流を可とする。4) ただし、下流側水域では、浮上稚魚の生息場所整備等により自然再生産の促進を試みる必要がある。本案は地元住民、大野川漁業協同組合、遊漁者、竹田市等で組織した委員会に受け入れられ、2009年までに漁業関連規則が改正された。現在、本調査水域において、本研究結果に基づくアマゴの保全が実施されている。

キーワード：アマゴ，保全，浮上稚魚，流程分布，生息場所利用，遺伝的構造

Taxonomy and biology on sunfishes of the genus *Mola*

Etsuro SAWAI

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

マンボウ属魚類の分類および生態に関する研究

澤井 悦郎

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

マンボウ属 *Mola* はフグ目マンボウ科に属し、全長3 m 以上、体重2 t 以上にも成長する大型回遊魚である。マンボウ属は尾鰭の要素を完全に欠き、代わりに舵鰭と呼ばれる背鰭と臀鰭の一部が変形してできた鰭を持つ。これら特徴的な巨大さや独特の外観などから、マンボウ属は古来より人々の興味関心を引き付けてきた。しかし、その巨体さが大きな制約となり、標本を得る困難性から、マンボウ属の名義種は過去に30種以上にも膨れ上がったが、Fraser-Brunner (1951) によって分類学的再検討が行われ、現在では *Mola mola*, *Mola ramsayi* の2種が一般的に広く認知されている。

近年、系統分類に関する研究にミトコンドリア DNA を用いた手法が取り入れられ、本研究の先行研究にあたる Yoshita et al. (2009) によって、マンボウ属は少なくとも独立した3種 (*Mola* spp. A-C) が世界に存在することが提唱された。本論文では Yoshita et al. (2009) の手法による種同定に基づく山野上・澤井 (2012) の和名定義に従い、これら3種をそれぞれウシマンボウ *Mola* sp. A, マンボウ *Mola* sp. B, C 種 *Mola* sp. C と呼ぶ。

Yoshita et al. (2009) は日本近海に出現するウシマンボウとマンボウの形態を比較し、全長1.8 m 以上の個体において、頭部や舵鰭の形状などに差異が見られることを見出した。しかし、Yoshita et al. (2009) の形態比較で用いられた個体数は少なく、タイプ標本との照合は行われていない。本研究では、新たに世界各地からマンボウ属の DNA サンプルを集め、各地域にどのような種が分布しているのかを調査し、各種の形態や生態の比較から、それぞれの生物学的特徴を明らかにすること、またタイプ標本との照合や種の記載論文の精査から、遺伝的に分けられたマンボウ属各種の学名を再検討することの2点を目的とした。

1. DNA 解析。世界各地から356個体のマンボウ属のサンプルを収集し、ミトコンドリア DNA の D-loop 領域を用いたマルチプレックス PCR 法やダイレクトシーケンス法により種同定した結果、先行研究と同様にマンボウ属は3種で構成された。本研究ではウシマンボウが大西洋やインド洋にも分布すること、またマンボウ種内において大西洋と太平洋のクレードが明瞭に分かれることが明らかとなり、マンボウ属各種にいくつかの地域集団が存在する可能性が示唆された。

2. 形態調査。日本近海からマンボウ属2種の形態異常個体（胸鰭変形、背鰭短縮、背鰭軟条配置異常、舵鰭臀部側欠損、舵鰭欠損、人為的な損傷、幼形形態、精巣肥大）の知見を得た。

国内の博物館関連施設で展示されているマンボウ属の大型剥製4標本（全長2.5 m 以上）について、種の再同定を行った。以前までこれら4標本はすべて *Mola mola* と同定されていたが、研究の結果、ミュージアムパーク茨城県自然博物館、アクアワールド茨城県大洗水族館、北九州市立自然史・歴史博物館に展示されている3標本はウシマンボウと同定され、海とくらしの史料館に展示されている1標本はマンボウと同定された。

写真の同定から北海道で確認されたウシマンボウは本種の北限記録を更新し、大分県で確認されたウシマンボウは九州で初めて確認された。

オマーン近海から得られたマンボウ属2個体は、Fraser-Brunner (1951) の分類を用いて、先行研究 (Jawad et al., 2012 ; Jawad, 2013) で形態的に別種 (*Mola mola*, *Mola ramsayi*) と同定された。しかし、DNA 解析

した結果、両個体とも同種（ウシマンボウ）と同定された。両個体の写真から形態調査を行った結果も、ウシマンボウと同定された。本研究と先行研究での種同定の食い違いから、Fraser-Brunner (1951) の分類は再検討の余地があることを示唆した。また、これらの形態調査の結果から、国内外ともに種の混同や誤同定が生じていることが示唆された。

3. 生態調査。6月～11月の期間に東北沿岸域に出現するウシマンボウとマンボウについて生態調査を行った。本研究の結果、マンボウ属2種は出現の時期、体の大きさ、性比、水温が異なった。マンボウは調査期間すべてに、雌雄ともに大小様々な体の大きさの個体が出現した。一方、ウシマンボウは夏季（7月～8月）に、全長2 m以上の雌のみが出現した。これはウシマンボウがマンボウより出現水温が高いことと一致する。マンボウは様々な体の大きさが出現したことから、東北沿岸域を摂餌場、生育場として利用していることが推察された。一方、ウシマンボウは小型個体が出現しないことから、東北沿岸域は大型個体のみが摂餌場として利用していることが推察された。またマンボウは大型個体と小型個体で出現時期や出現水温が異なったことから、マンボウ属は成長段階によって回遊パターンが変化する可能性が考えられた。

4. 分類学的再検討。ここまでで得られた知見から遺伝的に分けられた3種とタイプ標本の照合を行った。Catalog of fishesによると、現存するマンボウ属のタイプ標本は *Mola mola* の新参異名とされる *Ozodura orsini* と *Mola ramsayi* のもととなった *Orthragoriscus ramsayi* の2標本のみだった。これらの形態を調査した結果、*Ozodura orsini* Ranzani, 1839はマンボウ、*Orthragoriscus ramsayi* Giglioli, 1883はウシマンボウの形態的特徴と一致した。しかし、これらの調査中に行方不明とされていた *Mola mola* の新参異名とされる *Orthragoriscus alexandrini* Ranzani, 1839のタイプ標本が再発見され、形態調査を行った結果、ウシマンボウと一致した。学名を決定するために、種の記載論文の精査を行ったところ、*Mola mola* のもととなった *Tetraodon mola* Linnaeus, 1758は複数の論文を基にして記載されていたことが明らかとなり、タイプ標本はないものと考えられた。しかし、Linnaeus (1758) の記載した種は有効と考えられ、*Tetraodon mola* をマンボウ属の最初の種とした。また Linnaeus (1758) から Ranzani (1839) までの種の記載論文の中に *Orthragoriscus alexandrini* と一致する種は他にみられなかったことから、*Orthragoriscus alexandrini* をマンボウ属の2番目の種として有効とした。これらの結果より、ウシマンボウの学名は *Mola alexandrini* (Ranzani, 1839)、マンボウの学名は *Mola mola* (Linnaeus, 1758) と考えられた。C種は詳細な形態的特徴がわかっていないため、学名の決定は今後の課題とした。

これまでの結果、マンボウは南太平洋や主要なインド洋では確認されていない。一方、ウシマンボウは南北両半球広い分布が確認された。また、C種は北半球では確認されなかった。これらより、マンボウ属各種はそれぞれ種ごとに異なる分布域を持つ可能性が示唆された。

キーワード：マンボウ属、形態、生態、DNA解析、分類

Development of Good Agricultural Practices (GAP) in Thailand: A case study of Thai National GAP selected products

Pongthong PONGVINYOO

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

タイにおける Good Agricultural Practices (GAP) の発展
—GAP 対象品目に関する事例研究—

ポンソン ポンビンヨー

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Goal of the study

Good Agricultural Practices or GAP is a global appropriate cultivation method for the farmers to conduct food safety. It is an appropriate on-farm into farm gate cultivation management included, farm inputs selection, farm management, until post-harvest management. GAP aims to encourage the farmers to produce the safety agricultural products for the consumers. After FAO introduced GAP for a period of time, it become one of the minimum requirements for the agricultural trades in global market to secure the food safety and sustainable issues at the farm-level production. Many countries adopted the FAO GAP guidelines and established food security framework, including Thailand. Although there was the clear framework for the MOAC to implement GAP into farmers, halves of them stopped to maintain their certificates with in last 3 years. The reducing in the numbers of GAP certified farmers in Thailand shown the changing in direction of GAP development in the future. The evaluation of success of GAP development in Thailand still is on the discussing. This dissertation focused to identify the current situation of GAP development in Thailand.

This dissertation has four specific objectives: 1) To examine the factors affecting the farmers' practical perception on their GAP understanding; 2) To assess the situation of private standard dual-GAP development in Thailand, and to determine the opportunities of the practical collaboration between private and government sectors on the GAP development; 3) To expose the GAP realistic economic incentives from farmers' GAP experiences in the important export commodity; and 4) To define the current situation of GAP-based marketing and to identify the buyers' attitudes towards GAP-based product.

Conclusion and recommendation

After FAO introduced GAP for a period of time, it become one of the minimum requirements for the agricultural trades in global market to secure food safety and sustainable issues at the farm-level production. Many countries have adopted the FAO GAP guidelines and established food security framework, including Thailand. There were many obstacles on policy, extension services, research, and farmers' implementation levels during GAP developing process. The success of GAP is depended on the effectiveness of farmers' implementing GAP procedures. The farmers will increase their GAP standard attention when they can get premium price from selling their GAP-based product. In general, consumers markets have not yet developed enough mature to deal in GAP labelled products in some countries. Farmers might ignore this standard. Food safety issues including GAP are not cared at a farm-level. As a result, like Thailand, food safety of agricultural product is not reliable in the global trades.

Actually GAP gave both direct and indirect incentives to farmers, but they tend to believe that GAP can secure little incentive for them, in cases where a direct market for GAP-based product has not yet become mature in economic terms. Therefore, private sector need to generate a dual-GAP standard which will secure food safety and keep a certain level of product quality. Some dual-GAP standards labelling (such as 4C, GlobalGAP, etc.) have already be accepted widely in the global markets. Farmers can gain visible benefits (normally is premium price) from implementing such standards, and learn how to improve their food safety production on their farms.

However, it is also difficult to promote new dual-GAP standards. Private company have expanded the fundamental GAP knowledge among farmers through dual-GAP standard. This knowledge expanding becomes the best way how private company explore their new standard. Any dual-GAP standard needs the development of GAP as an essential requirement. GAP standard also needs the dual-GAP standard for the market access. Each standard cannot stand alone in market. This mutual-relationship positively motivates the development of both GAP and dual-GAP standards. This relationship inspires the farmers to improve their sustainable cultivation which positively affects the Thai agricultural food safety reliability in the global trades.

Keywords: GAP, QGAP, 4C, Dual-GAP standard, coffee, mangosteen, cost efficiency, marketing

A study of diagnostic enzyme production by microorganism

Yuu UTASHIMA

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

微生物による臨床検査用酵素の生産に関わる研究

歌島 悠

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

臨床検査とは、超音波や画像診断、心電図等の身体のなかの様子やその動きをみる「生体検査」と、尿や便、血液の成分を測定したり、取り出した組織の状態を観察する「検体検査」に分類され、特に検体検査においては、検体中の成分を分析するために、臨床検査薬が利用される。「検体検査」における「生化学検査」では、検体由来成分を酵素化学的若しくは、化学的に反応させ、分光光学的に分析を行う方法が主流であり、検査薬には酵素が広く利用されている。

臨床検査薬に使用される酵素には、グルコースデヒドロゲナーゼ (GDH)、コレステロールオキシダーゼ、ペルオキシダーゼなどさまざまな酵素が利用される。また、これらの臨床検査用酵素には、誤診断を防ぐために高い基質への特異性と高い反応性が求められ、さらに、臨床検査薬の長期間の保存に耐えるため、高い安定性が求められる。また、副反応を防ぐために、高い精製純度が求められる。

独立行政法人酒類総合研究所で単離され、研究されている、担子菌酵母 *Cryptococcus* sp. S-2は、排水処理用の酵母として単離されたが、近年、宿主—ベクター系が開発され、さらに、キシロース添加により強力に誘導発現可能なキシラナーゼプロモーターも取得されたことにより、強力な異種タンパク質発現系が構築されている。

本研究では、*Cryptococcus* sp. S-2を宿主として、臨床検査用酵素の組換え生産に取り組んだ。

第1章では西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) の *Cryptococcus* sp. S-2での組換え発現を検討した。HRPは過酸化水素 (H_2O_2) と色素などのメディエーターとの酸化反応を触媒する酵素であり、臨床検査において二次反応によく用いられる。HRPの組換え発現に関する報告は、1990年頃からあるが、大腸菌や酵母を用いた場合、その発現量は非常に低いことが確認されている。本研究では、宿主として *Cryptococcus* sp. S-2を用い、コドンの最適化、分泌シグナルの最適化、キシラナーゼプロモーターを用いた高密度培養により HRP の高発現を検討した。検討の結果、野生型配列を導入した場合、遺伝子内部に潜在的に存在する poly(A) 付加シグナルによって mRNA の転写が途中で停止し、不完全な mRNA が合成されていることを見出し、コドンの最適化により遺伝子内部に存在する poly(A) 付加シグナルが除去され、完全長の mRNA が合成されることを確認した。さらに、N 末端に存在する分泌シグナルを *Cryptococcus* sp. S-2由来のシグナルに置換し、C 末端に存在する液胞滞留シグナルを除去することによって、HRP の発現量を13.2倍に向上させることに成功した。さらに、キシロースを連続的に添加する高密度培養によって、HRP の発現量をさらに27倍向上させることで、培養液あたりの発現量を約110 mg/L まで向上させることに成功した。この生産量は、これまでに論文などで報告されたレベルよりはるかに高いレベルであり、*Cryptococcus* sp. S-2はタンパク質の異種発現宿主として非常に優れていることを確認した。

第2章では、血糖測定に用いられる GDH を対象として、その酵素の取得と改変、さらに、大腸菌、麹菌 *Aspergillus oryzae* と *Cryptococcus* sp. S-2での組換え発現に取り組んだ。GDHは血液中のブドウ糖と反応し、電子を放出するため、血糖値の測定を行う「自己血糖測定装置」に広く利用されている。本研究では、麹菌

が生産する基質特異性に優れた FAD 依存型グルコースデヒドロゲナーゼ (FAD-GDH) を取得し、アミノ酸置換により耐熱性を向上させることに成功した。次に、改変型 FAD-GDH を麹菌で組換え発現することにより N 型糖鎖の修飾が起こり、その結果、さらなる耐熱性の向上がみられた。さらに、改変型 FAD-GDH は、コドンの最適化と分泌シグナルの置換、連続的なキシロースの流加による高密度培養によって、*Cryptococcus* sp. S-2 で大量に組換え発現可能であることを確認した。また、ケカビ由来の FAD-GDH についても、同様の手法によって *Cryptococcus* sp. S-2 で組換え発現可能であることを確認した。

第3章では *Cryptococcus* sp. S-2 を産業的に利用しやすく、また、研究開発の対象としても扱いやすい微生物とするため、宿主—バクター系の改良に取り組んだ。具体的には、ウラシルマーカを用いたマーカリサイクル系を構築し、栄養要求性マーカの追加と改良、*ku70* 遺伝子破壊による遺伝子ターゲティング効率の向上により遺伝子組換え操作を容易にした。さらに、産業利用しやすい宿主とするために、*Cryptococcus* sp. S-2 が細胞外に排出する多糖類の生産量を低減させた変異株の取得を行った。本研究によって、*Cryptococcus* sp. S-2 を産業的にも、研究対象としても利用しやすい微生物に改良することが出来た。

以上に示すように、本研究によって、臨床検査用酵素を *Cryptococcus* sp. S-2 を用いて組換え発現させるための基盤技術を構築し、宿主—バクター系の整備、産業利用可能な宿主の取得が達せられた。本研究の成果によって、臨床検査において使用する酵素を微生物によって大量に組換え発現させることが可能となり、高純度で安価な、臨床検査用酵素を提供することが可能となり、広く医療の現場に貢献すると考える。

キーワード：臨床検査，酵素，組換え発現，担子菌酵母，*Cryptococcus* sp. S-2

Single and combined effects of ozone, acid and polycyclic aromatic hydrocarbons on plant

Sayuri BANDAI

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

オゾン, 酸性物質, 多環芳香族炭化水素の植物への単独および複合影響に関する研究

万代 小百合

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

本論文では、植物に対して大気汚染物質であるオゾン、酸性物質、多環芳香族炭化水素の単独・複合暴露を行い、これらの大気汚染物質および二次的に生成されるヒドロキシルラジカルが植物の生理生態的機能に及ぼす影響について実験的研究を行った。加えて、活性酸素種消去剤を用いて植物を保護する手法についての検討を行った。

第1章では、大気汚染物質が及ぼす植物への影響に関するこれまでの研究、ならびにヒドロキシルラジカルの植物への影響に関するこれまでの研究について示した。これらを踏まえた上で、本論文の目的と意義を述べた。

第2章では、農作物であるナスおよびインゲンマメを用いて、オゾンおよび多環芳香族炭化水素の一種であるフェナントレンの単独・複合暴露を行った。複合暴露処理区では、ナス、インゲンマメ双方の個葉の最大光合成速度にオゾンとフェナントレンの単独影響が認められ、さらにオゾンとフェナントレンの複合影響が認められた。単独処理区では、個葉の最大光合成速度、気孔コンダクタンス、最大光量子収率、クロロフィル含量が対照区に比べて有意に低下し、複合処理区においてはこれらに加えて葉内二酸化炭素濃度が有意に上昇した。葉面の可視障害については、オゾンに特徴的な黄変やフェナントレンに特徴的な赤褐色の斑点が発現した。最大光合成速度の低下の原因として、気孔開閉機能、葉内成分含量の低下によって影響を受けた可能性があると考えられた。さらに、マンニトール処理により生理活性の低下が抑えられ、可視障害の程度が軽減したことから、葉面付近で発生する活性酸素種が植物に影響を与えることが示唆された。

第3章では、近年、被害の拡大が報告されているナラ枯れと大気汚染物質との因果関係を探るための基礎実験として、コナラ苗木を用いてオゾンおよび硫酸溶液の単独・複合暴露を行った。複合処理区では、クロロフィル a/b に対してオゾンと硫酸の有意な相互作用が認められ、オゾンと硫酸が相加的に作用した可能性が考えられた。最大光合成速度、クロロフィル a+b にはオゾンと硫酸両方の有意な単独影響が認められた。また、気孔コンダクタンス、葉内二酸化炭素濃度にはオゾンの有意な単独影響が、最大光量子収率、クロロフィル a/b には硫酸の有意な単独影響が認められた。対照区との比較では、オゾン、硫酸溶液の暴露により最大光合成速度、気孔コンダクタンス、最大光量子収率、クロロフィル含量が有意に低下し、葉内二酸化炭素濃度が有意に上昇した。葉面にはオゾンに特徴的な黄変や硫酸に特徴的な茶褐色の斑点が発現した。項目間の相関関係から、光合成速度は、気孔開閉機能、炭素固定能力、葉内成分含量の低下によって影響を受けた可能性があると考えられた。さらに、マンニトール処理により生理活性の低下が抑えられ、可視障害の程度が軽減したことから、第2章と同様に、葉面付近で発生する活性酸素種が植物に影響を与えることが示唆された。

第4章では、大気汚染物質に感受性が高く、季節を問わず育成できる観賞用植物を用いて、プリムラに対してヒドロキシルラジカルを発生させるフェントン試薬、キンセンカに対してオゾンの単独暴露を行った。さらにこの章では、これまでに検討した活性酸素消去剤であるマンニトールに加え、アスコルビン酸およびカテキンと抗酸化能を持つ食品として知られる紅茶溶液の影響抑制効果について検討した。フェントン試薬の単独暴露によってプリムラの最大光合成速度が有意に低下した。また、オゾンの単独暴露によりキンセンカの最大光合成速度、気孔コンダクタンス、最大光量子収率、葉緑素量が有意に低下し、葉内二酸化炭素濃度が上昇した。キンセンカ葉面には黄変や壊死斑が発現し、オゾンの影響が可視障害にも表れた。プリムラ、キンセンカの最大光合成速度は、気孔コンダクタンスと有意な相関関係が認められる点が共通であり、光合成速度低下の原因として、気孔開閉機能が影響を受けた可能性があることが推察された。さらに、活性酸素種消去剤処理により生理活性の低下が抑えられ、可視障害の程度が軽減したことから、葉面付近で発生するヒドロキシルラジカルが観賞用植物に影響を与えることが示唆され、マンニトールに加え、紅茶溶液、アスコルビン酸およびカテキンが葉面における活性酸素種除去に効果的であることが示唆された。

第5章では、大気汚染物質の単独および複合影響、ならびにヒドロキシルラジカルの植物影響について総合的に考察した。単独、複合影響の程度について光合成速度の減少率を示し、樹木であるコナラ・アカマツ、観賞用植物であるキンセンカ・サンパチェンス、農作物であるナス・インゲンマメの順にAOT40当たりの光合成速度減少率が大きい傾向が見受けられることから、植物種によりオゾンに対する感受性の強さが異なることが考えられた。また、光合成速度に関しては、針葉樹より広葉樹が硫酸に対する感受性が高い可能性があることが推察された。植物葉面において光化学的に生成するヒドロキシルラジカルは、孔辺細胞と反応することによる気孔開閉機能の低下を招くと同時に、葉面のクチクラを損傷させることによって葉の栄養塩類の溶脱、光合成色素の分解、細胞の損傷を引き起こすことにより、葉の生理的機能を低下させ、最終的に光合成速度を招くと推定した。

キーワード：オゾン、酸性物質、多環芳香族炭化水素、単独影響、複合影響

Physiological studies on saline and alkaline toxicities and tolerances in Swiss chard (*Beta vulgaris* L. subsp. *cicla*)

Liyun Liu

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

フダンソウ (*Beta vulgaris* L. subsp. *cicla*) の塩・アルカリ障害及び耐性に関する
生理学的研究

劉 利雲

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528広島市

Saline soils ($\text{pH} < 8.5$) and alkaline soils ($8.5 < \text{pH} < 10.5$) are widespread adverse environmental problems globally, which significantly limit crop production. Swiss chard (*Beta vulgaris* L. subsp. *cicla*) is a foliage vegetable closely related to beets with a large leaf blade, and thicker petiole. This plant is more tolerant to salinity than other leafy vegetables. However, there are few reports on Swiss chard resistance to salinity, and there is no information about its alkaline toxicity or alkaline tolerance in this plant. In chapter 1, the differences between saline soils and alkaline soils, as well as the different effects of salinity and alkalinity on plant growth were introduced. The objectives of this study were to examine toxic responses of Swiss chard to alkalinity via comparing the saline and alkaline toxicities in Swiss chard by determining its physiological characteristics, and to identify parameters that are more suppressed under alkaline conditions than under saline conditions.

In Chapter 2, in order to understand the difference between physiological responses of Swiss chard to salinity and alkalinity, Swiss chard plants were subjected to 50 mM and 100 mM of salinity ($\text{pH} 6.5$) and alkalinity ($\text{pH} 9.0$), respectively. The data revealed that the plant growth was more seriously inhibited under alkaline conditions than under saline conditions, because of the more decrease of chlorophyll (Chl) *a*, Chl *b*, photosynthetic rate (P_n), water use efficiency (WUE), K^+ content, and K^+/Na^+ ratio. Among these parameters, decreases of P_n and WUE were in close connection with decreases of Chl and K^+ contents under alkaline conditions. Therefore, it was concluded that Chl and K^+ are limiting factors for the plant growth under alkaline conditions.

Following the serious reduction of Chl content under alkaline conditions. In Chapter 3, the experiment was conducted to compare the possibility of saline and alkaline tolerance inductions in Swiss chard due to ALA foliar application (ALA is an essential precursor for biosynthesis of Chl). Twelve-week-old uniform seedlings were treated with ALA under saline and alkaline conditions. The observed results revealed that Chl content significantly increased due to ALA foliar application under alkaline conditions; the shoot and root dry weights, RWC, osmotic potential (OP), K^+/Na^+ ratio, and total N content increased due to ALA foliar application under alkaline conditions, while these parameters more increased under saline conditions; malondialdehyde (MDA) content significantly increased under alkaline conditions, but this increase was effectively depressed by ALA foliar application. This result clearly demonstrated that foliar-applied ALA had the potential to alleviate oxidative damage in alkalinity-stressed plants. These results suggest that, although ALA foliar application effectively increased Chl content, it could not completely alleviate oxidative damage caused by osmotic stress and ionic stress, and thus less increase in alkaline tolerance.

K is a major inorganic constituent for osmotic potential, ion homeostasis, and enzyme activation in plant cells. In chapter 2 and chapter 3, it was found that serious K^+ deficiency in Swiss chard leads to more destructive effects under alkaline conditions than under saline conditions. In light of this, Chapter 4 was conducted to investigate the impairments of water uptake, mineral elements, and antioxidant enzyme activities in the plant caused by alkalinity with or without K^+ application. The observed results revealed that the absence of K^+ somewhat intensified the effect of alkalinity on reducing plant growth, because RWC, K^+ content, micronutrient (Cl^- , BO_3^{3-} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , and Zn^{2+}) contents, and the activities of catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), and guaiacol peroxidase (GPX), were more negatively affected under Alkaline-K treatment than under Alkaline+K treatment. Under Alkaline+K treatment, the GPX activity protected the plant against the oxidative damage caused by H_2O_2 , and K^+ application might help the plant by maintaining GPX activity. Under Alkaline-K treatment, potassium use efficiency (KUE) increased 18 times compared with that of control, suggesting that the plant can survive under Alkaline-K treatment depending on its efficient use of K^+ through saving it for biomass production. After analysis for MDA, and percentage contributions of Na^+ and K^+ to osmotic potential at full turgor, results revealed that oxidative damage was slightly induced, while Na^+ replaced K^+ as the main ion contributing to osmotic potential at full turgor under Alkaline-K treatment. This finding indicates that cytoplasmic K^+ content was maintained at a higher level, due to a high proportional substitution of vacuolar K^+ by Na^+ , which then markedly increased the KUE, somewhat reduced the oxidative damage caused by toxic Na^+ .

In Chapter 5, I concluded that alkalinity is more toxic than salinity, which is attributed mainly to the serious reductions in Chl and K^+ contents. ALA foliar application significantly increased Chl content more under alkaline conditions than under saline conditions. However, plant stress tolerance increased less, and K^+ content remained unaltered under alkaline conditions. In light of these observations, it was suggested that enhancement of plant alkalinity tolerance was consistent with the enhancement of K^+ content in the plant, but not enhancement of Chl content. The application of K under alkaline conditions showed that K supplementation enhanced the GPX activity and micronutrient contents, and the plant's survival under Alkaline-K treatment owes to high KUE, which is linked to a high proportional substitution of K^+ by Na^+ .

Keywords: Alkalinity, Antioxidant enzymes, 5-Aminolevulinic acid, *Beta vulgaris*, Chlorophyll, Potassium, Salinity

Study on improvement effects of sulfide-containing sediments using iron- and steel-making slag

Yasuhito MIYATA

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

鉄鋼スラグによる硫化物含有底質の改善効果に関する研究

宮田 康人

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

我が国では、高度経済成長期の急激な経済発展に伴い、陸域から栄養塩流入負荷の増大に加え、沿岸域の埋め立てや港湾建設、護岸整備等が進んだ。これに対し、環境省主導による流入負荷の削減が行われ、赤潮発生件数は少なくなり、透明度が上昇するなど、沿岸域の水質はかなりの程度回復した。一方、底質はいまだに劣悪な状況で、有機質の底泥が堆積し、貧酸素水塊や青潮の発生は解消していない。

そこで本研究では、貧酸素水塊や青潮の原因となる硫化水素の発生を抑制する技術として、鉄鋼スラグの適用が可能であると考えた。底泥からの溶存硫化物（硫化水素）による悪臭が問題となっている福山市内港を対象海域とし、製鋼スラグ（各種鉄鋼スラグのうち、鉄含有量が高い）による硫化水素ガス発生抑制効果およびその持続性に関し、実験室規模および実海域規模により明らかにすることを目的とした。

第1章では、わが国の沿岸海域環境の課題について述べるとともに、鉄鋼スラグの環境資材としての利用の可能性について述べた。鉄鋼スラグ以外の既往の底質改善材料についてもレビューし、硫化水素発生抑制のメカニズム、実海域における適用事例などについて述べた。これらの中で、製鋼スラグがその化学的組成から硫化水素を抑制するという観点で、底泥の改質効果が高いこと、および硫化物抑制による酸素消費抑制特性の有無およびその効果などについては十分な知見が得られていないことなどについて触れた。

第2章では、悪臭問題が顕在化している福山内港に堆積した有機泥を用いた実験室規模の試験の結果について述べた。採取した泥に対して、製鋼スラグを上置きまたは混合し、泥中の溶存硫化物の低減効果について検討し、以下の知見を得た。

- 1) 製鋼スラグを泥に上置きまたは混合することにより、泥の酸化還元電位が上昇した。すなわち、泥の性質が、還元的な状態から酸化的状態に改善された。
- 2) 直上水および底質間隙水の溶存硫化物濃度が有意に低減するとともに、気相への硫化水素ガス発生も抑制された。
- 3) これらの効果は試験期間（6ヶ月）の実験期間中継続した。
- 4) 製鋼スラグに比べ、天然石では覆砂効果は確認されたものの、底質間隙水中の硫化物の低減効果はほとんど見られないことから、物理的な覆砂効果に限定されると考えられた。
- 5) 実海域の泥中に浸漬し、後に回収した製鋼スラグの粒子表面および泥の走査型電子顕微鏡による観察結果から、製鋼スラグ表面においてFeSが生成していることが推察された。
- 6) 酸化還元電位-pH図による検討から、製鋼スラグの適用により、pHおよび酸化還元電位を高めるとともに、鉄が供給されることにより、平衡時の硫黄の主要な存在形態が変化し、溶存硫化物の生成が抑制されると推察された。さらに、溶出した鉄成分により硫化鉄が生成することで、硫化物を固定していると考えられた。

上記1)～6)の知見から、硫化水素による悪臭が問題となっている海域への製鋼スラグ上置き（覆砂）

または混合による溶存硫化物や硫化水素ガスの生成抑制の改善技術としての有効性が示唆された。

第3章において、製鋼スラグによる水中の酸素消費の低減について、室内試験により定量化することを試みた。福山内港の底泥に製鋼スラグを上置きし、溶存酸素濃度などの推移を調べた。この実験より、下記の知見を得た。

- 1) 泥から海水中への溶存硫化物の溶出が抑制され、溶存酸素濃度および酸化還元電位が高く推移した。一方、泥単体では溶存酸素濃度はほぼゼロ、酸化還元電位も低位で推移、海水への溶存硫化物の溶出が認められた。
- 2) スラグ上置きによる水中の溶存酸素消費の低減量は、 $100\sim 150\text{ mg/m}^2/\text{day}$ と見積もられた。
- 3) スラグ上置き区において、試験後の泥中の有機態炭素が大きく減少したことから泥中の有機物分解が生じた可能性が考えられた。つまり、スラグの存在によって好氣的有機物分解が促進されたことを示唆している。

以上の結果は、いずれもこれまでに無い知見である。

第4章において、福山内港の環境改善対策として、製鋼スラグ撒布による有機質中の硫化物低減技術の実海域実証試験について述べた。製鋼スラグを2011年8月に 430 m^2 の面積に、次いで2012年7月に $3,510\text{ m}^2$ の面積に施工した。施工後にスラグ試験区および対照区について底質間隙水、直上水の水質、および底質から発生するガスなどについてモニタリングした。約2年にわたる追跡調査の結果、下記の結果が得られた。

- 1) スラグ試験区における底質間隙水中の溶存硫化物濃度は対照区のそれに比べて著しく低減した。また酸化還元電位および溶存酸素濃度の向上など底質改善効果が認められ、その効果は少なくとも約2年間の調査期間持続した。そのメカニズムは上述の室内試験の通り、スラグから供給される鉄と溶存硫化物の反応により硫化鉄などが生成することによるものと考えられた。
- 2) スラグ試験区では対照区に比べて底泥からのガス発生量が低減した。
- 3) ただし、直上水およびさらにその上層の水質については、スラグ施工区および対照区間で差が認められなかった。これは潮汐等による移流拡散により海水が流動しているためと推察された。
- 4) 秋季から冬季にかけてスラグ試験区において底泥間隙水の溶存酸素濃度の上昇が観測された。一方、対照区においては認められなかった。この主な理由として、試験区においては溶存硫化物による酸素消費が抑えられたことが考えられた。
- 5) 冬季から春季において、とくに最も湾口側の試験区の海底で、ユウレイボヤ、スピオなど、多くの底生生物の着生が認められた。これは、秋季から冬季にかけて底層水の海水の溶存酸素濃度が高まったこと、および堆積する浮泥厚みが減少し、一部においてスラグ表面が露出することにより、スラグ表面がそれらの底生生物の着生基質として適していたものと考えられた。

上記1)～5)の知見から、底泥中の硫化物発生が問題となっている海域への製鋼スラグ撒布（覆砂）による環境改善の有用性が示唆された。

以上のように、海底に堆積した有機質の底泥からの溶存硫化物生成に起因する悪臭が問題となっている閉鎖性海域である福山港内港地区を対象海域として、製鋼スラグによる硫化水素の発生抑制による底泥改善効果を実験室規模および実海域規模で実証した。そのメカニズムとして、還元的な環境を酸化的に改質することによる硫化物の酸化および鉄の溶出による硫化鉄の生成であり、さらには硫化水素によって消費されていた酸素の濃度を回復するという新たな効果に関する知見を得ることができた。今回得られた科学的知見に基づき、高度経済成長期に失われた豊かな海域環境を修復あるいは創造する技術として鉄鋼スラグの適用が広がることが期待される。

キーワード：スラグ、沿岸海域環境、底質改善、硫化物、酸化還元電位、溶存酸素、貧酸素、底生生物

Occurrence, Sources and Degradation of Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion in Water, Sediments, Plankton and Fishes of Coastal Sea and River Waters, Japan

Chikumbusko Chiziwa KONGA

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

沿岸水および河川水、堆積物、プランクトン、魚類中のジウロン、イルガロール1051、
フェニトロチオンの存在量、発生源、分解過程

チクンプスコ チジワ カオンガ
広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528東広島市

In this study Diuron (3-[3,4-dichlorophenyl]-1,1-dimethylurea), Irgarol 1051 (2-[tert-butylamino]-4-[cyclopropylamino]-6-[methylthio]-1,3,5-triazine) and Fenitrothion (O,O-Dimethyl O-(3-methyl-4-nitrophenyl) phosphorothioate) were monitored in Kurose River water to assess the contribution of agriculture and urban activities to river pollution. Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion were also analysed in marine samples (water, sediments, plankton and fishes) so as to assess the distribution pattern of these pesticides in Seto Inland Sea. Lastly, biodegradation and photodegradation of these pesticides was done. Using data in this study and literature information, the mass distributions of the pesticides in Seto Inland Sea were modelled.

Chapter 1 presents a general overview of pesticide use, contamination and some of the studies that have been done in Japan. This study mainly aimed at assessing contamination of pesticides in river water and the marine environment. The use of pesticides in agriculture and the urban environment leads to contamination of surface water bodies like rivers. The rivers in turn end up contaminating larger surface water bodies. Therefore in this study water samples were first collected from Kurose River which drains into Seto Inland Sea and Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion were analysed. Next seawater, sediments, plankton and fishes were analysed to identify the distribution pattern in marine samples. The persistence of these pesticides was assessed through biodegradation and photodegradation before using modelling to predict the distribution pattern of the pesticides.

Chapter 2 presents a study that was conducted on the pesticides Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion in Kurose River water from January to December, 2013 at six sites (Nakitakiji, Tokumasa, Izumi, Ochiai, Hinotsume and Kurose Bunka Centre) in Higashi Hiroshima City, Japan for a period of one year to assess the contribution of agriculture and urban activities to pesticide pollution of the river. The maximum pesticide concentrations were; 4620 ngL⁻¹, 50 ngL⁻¹ and 370 ngL⁻¹ for Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion, respectively. While Diuron and Fenitrothion were detected at all sites, Irgarol 1051 was only present at Izumi, a high density urban and industrial area which also registered the highest concentrations of the pesticides. The pattern showed by Diuron and Fenitrothion was linked to farming activities. Also, Diuron and Fenitrothion concentration correlated with pesticide utilization data for Hiroshima Prefecture. Irgarol 1051 showed a different pattern to that of Diuron and Fenitrothion and its source was attributed to paint. It was noted that 78% and 42% of water samples at Izumi sampling site exceeded the European Union (EU) guidelines for Diuron and Fenitrothion, respectively.

Chapter 3 presents a study that was conducted in Seto Inland Sea, Japan (2012 to 2013), to assess the distribution of Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion among water, sediments and aquatic organisms (plankton, fish and selected marine animals). The maximum concentrations for Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion were 2180 ngL⁻¹, 1070 ngL⁻¹ and 50 ngL⁻¹ in surface waters, respectively; 60 ngL⁻¹, 90 ngL⁻¹ and 40 ngL⁻¹ in bottom waters, respectively; 75 ngg⁻¹ dry weight (dw), 69 ngg⁻¹ dw and 51 ngg⁻¹ dw in sediments, respectively; 2830

ngg⁻¹ dw, 2040 ngg⁻¹ dw and 460 ngg⁻¹ dw in plankton, respectively; 4120 ngg⁻¹ dw, 3140 ngg⁻¹ dw and 480 ngg⁻¹ dw in fish and selected marine animals, respectively. The highest concentrations of Diuron and Irgarol 1051 were found close to a port and ship building industries, whilst maximum concentrations of Fenitrothion were detected near river estuaries. The general trend was that of decreasing pesticide concentrations away from the mouth of rivers flowing into the Seto Inland Sea. Our calculated bioconcentration factors (BCFs) indicate that plankton, whole fish and selected marine animals samples bio-accumulate antifoulants and pesticides. The accumulation gradient in fish samples was viscera > liver > gills > fillet. Measured concentrations of both the antifoulant booster biocide Irgarol 1051 and the insecticide Fenitrothion in both whole fish and marine animals sampled exceeded the Japanese Maximum Residual Limits (MRLs) as did 21% of foods sampled for Diuron under dry weight conditions.

Chapter 4 presents research done on the biodegradation and photodegradation of Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion in river water and seawater samples. The section also gives data on further research on the pesticides in river water (Kurose River) and marine samples (water, sediment, plankton and fishes) from Seto Inland Sea, Japan from 2012 to 2014. Data generated in this study and further information from literature were used to model the distribution pattern of the pesticides in Seto Inland Sea. The rate of biodegradation was slower than that of photodegradation. For example in river water, the photodegradation half-lives in days were 2.9, 3.5 and 1.9 for Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion, respectively. On the other hand in the same river water the biodegradation half-lives in days were 1424.8, 1703.1 and 1174.8 for Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion, respectively. The pesticides also degraded faster in river water than seawater. The seawater photodegradation half-lives in days were 43.6, 57.3 and 37.9 for Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion, respectively. On the other hand the seawater biodegradation half-lives in days were 2000.4, 2394.3 and 1650.2 for Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion, respectively. The main input for Diuron and Irgarol 1051 to Seto Inland Sea is ship bottom paint while Fenitrothion is mainly from rivers. The pesticides are mainly lost to sediments but the open ocean was found to be an equally important sink.

Chapter 5 gives a general discussion and summary of the results in this study. Agriculture and urban activities are contributing to the contamination of Kurose River which is also the case with most rivers worldwide that pass through high population density areas. The pesticides end up in Seto Inland Sea and are distributed among water, sediments, plankton and marine organisms. The highest concentrations of these pesticides were in marine organisms which was an indication of bioconcentration in agreement with information found in literature. The amounts remaining in water are biodegraded, photodegraded or lost to the open ocean. The major sinks for the pesticides were found to be sediments and the open ocean.

Key words: Diuron, Irgarol 1051, Fenitrothion, Kurose River, Seto Inland Sea, Modelling

Monitoring and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the air

Waqar Azeem JADOON

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

大気中の多環芳香族炭化水素のモニタリングおよびリスクアセスメント

ワカール アジーム ジャドゥーン
広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528東広島市

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are recognized as ubiquitously distributed class of potent toxic substances present in the human environment at low concentrations. PAHs are long-lived organic compounds and originate almost entirely from anthropogenic activities such as traffic and industrial fossil fuel burning, biomass combustion and agricultural activities. Owing to their ubiquitous distribution and potential carcinogenicity, PAHs have been widely investigated worldwide. Hazards associated with these compounds are owing to their hydrophobicity, persistence and bioaccumulation properties of several individual PAHs. Hence the primary goal of this thesis is to identify and determine particulate PAHs in the aerosol of Kamihaya, Hiki, and Higashi Hiroshima, Japan. This study was conducted between August 2012 and July 2014. Chapter 1 provides a general overview on PAHs pollution of atmospheric aerosols, the sources of PAHs in air and briefly describes the significance of this study. It also provides the insight of PAHs related human and vegetation health effects.

Chapter 2 deals with the survey conducted to analyze particle-associated atmospheric PAHs at a rural site (Kamihaya) in Tanabe, Wakayama Prefecture, Japan from 2012–2013. Analysis of particulate matter revealed that total PAHs ($\Sigma 17\text{PAH}$) ranged from 0.036 to 10.16 ng m⁻³ with an average concentration of 3.20 ng m⁻³. The highest PAHs concentration of 10.16 ng m⁻³ was observed on September 19, 2012. Significant seasonal variations in PAHs concentrations were observed, with higher values during winter/spring and lower values in summer/autumn. This investigation reported high concentration of heavy molecular PAHs compared with low molecular PAHs. Trajectories revealed that PAHs in Kamihaya are of domestic origin, mainly from nearby Gobo power generation plant. Molecular diagnostic ratios and principal component analysis showed that atmospheric PAHs primarily arose from industrial and traffic emissions, while wood combustion appeared to be a minor source. Overall, the results of chapter 2 suggest that atmospheric PAHs in Kamihaya are a potential threat to the underlying vegetation and may cause damage to plants if combined with other air pollutants.

In 2013 – 2014 survey the mean concentrations of $\Sigma 17\text{PAH}$ in the aerosols were 2.43 > 1.63 > 1.18 ng m⁻³ at Higashi Hiroshima, Kamihaya and Hiki, respectively (Chapter 3). The mean $\Sigma 17\text{PAH}$ at all three sites varied seasonally with the highest concentrations in winter, whereas summer was characterized with lowest PAHs. T-test found significant seasonal variations of mean $\Sigma 17\text{PAH}$ at Higashi Hiroshima ($p < 0.01$) and Hiki ($p < 0.05$), while at Kamihaya variations were non-significant. High molecular weight (5-6-ring) PAHs are dominant at Kamihaya and Higashi Hiroshima, while 4-ring PAHs in Hiki. The temporal PAHs have been almost constant over the last 15 years in the aerosols of Higashi Hiroshima. However, BaP concentration reported in this study is lower than the previous investigations.

The influence of meteorological parameters on particulate PAH was observed in the aerosols of Kamihaya,

Hiki, and Higashi Hiroshima. It was found that ambient air temperature is the most significant meteorological parameter controlling the atmospheric PAHs. Statistically significant high correlation was found between $\Sigma 17\text{PAH}$ concentrations and ambient air temperature at Higashi Hiroshima. The correlation between mean $\Sigma 17\text{PAH}$ and air temperature was statistically significant and moderate in the aerosols of Kamihaya and Hiki. At Hiki southerly winds were found one of the important meteorological parameters acting as PAHs regulating force. There was no significant correlation of solar irradiance, rainfall and humidity with $\Sigma 17\text{PAH}$ at all three sampling sites. Trajectories analyses suggested that the PAHs from domestic sources (Gobo power generation) play an important role specifically in Kamihaya, and Hiki in general. Whereas, in Higashi Hiroshima PAHs from other East Asian countries play important role to increase the local pollution level. Based on PCA results it was concluded that PAHs emission is mainly from vehicular and industrial emissions. The other emission sources are domestic heating/cooking and biomass combustion. The lifetime lungs cancer risk (ILCR) was estimated at Hiki and Higashi Hiroshima, which was found with in the health-based guidelines of European Union by WHO (10^{-5}), however one order higher than US EPA guidelines (10^{-6}). The PAH at both residential sites pose a moderate lung cancer risk to the residents of these areas.

Chapter 4 deals with general discussion, concludes the whole study, and suggests the future work. This study deduces that traffic and industry are the significant PAHs emission sources. In Kamihaya and Hiki PAHs are mainly from domestic sources, while in Higashi Hiroshima long-range transport of atmospheric PAHs is important. This study investigated the importance of meteorological parameters in regulation of atmospheric PAHs in underlying study areas. Ambient air temperature and wind direction were the important meteorological factors in controlling the atmospheric PAHs in study areas. Our study will provide the basic information on status of atmospheric PAHs for future detailed studies on PAHs in relation with vegetation and human health. This thesis recommends developing the atmospheric PAHs inventories for Japan to fully understand their spatial distribution. This chapter also discusses the atmospheric PAH pollution preventions strategies. It also suggests legislations for PAH emissions from different sources and provision of guidelines of PAHs in different environmental matrices. The investigation of gaseous PAHs is needed to completely understand the status of atmospheric PAHs.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons, remote and suburban areas, atmosphere, risk assessment

The study on microbial community during alcoholic beverage production and the development of new method for detecting low-abundant microorganisms

Masayuki TAKAHASHI

National Research Institute of Brewing (NRIB),
Higashi-Hiroshima 739-0046, Japan

酒類製造工程における微生物叢変遷の解析と微生物叢解析のための
新規技術の開発に関する研究

高橋 正之

独立行政法人 酒類総合研究所, 739-0046 東広島市

酒類は農産物及び微生物を利用した製品であるため、その品質は原料、温度管理等の各種操作、醸造用微生物の種類やその他の微生物の生育等により影響を受けるという特徴があり、同一品質の製品を製造するには熟練した技術が必要である。中でも、汚染微生物の生育は、不快な香気成分の生成や苦味の増加、味の平坦化など品質に与える影響が極めて大きいため、これまでも精力的に研究がなされており、多種にわたる微生物が酒類の品質に対して様々な影響を与えることが報告されている。

これまでの酒類中の微生物に関する研究は、そのほとんどが培養法により行われてきた。培養法では、使用した培地や培養条件で検出される微生物にバイアスが生じるため、本来酒類中で生育しているにも関わらず、培養法では検出されない未知の微生物が存在している可能性がある。一例として、偏性嫌気性細菌である *Pectinatus* 属細菌と *Megasphaera cerevisiae* はいずれも20世紀後半に、汚染されたビールから初めて単離された微生物であり、ビールの品質に悪影響を与えることが報告されている。これらの微生物が問題となってきたのは、瓶詰等の技術が進歩した結果、瓶内中の溶存酸素が減少したことで、偏性嫌気性細菌が生育可能となったためである。このように、新規製法の導入や特殊な製品環境中では生育可能となる未知の潜在的な汚染微生物が他にも存在している可能性がある。そこで、本論文では、国内に新規参入事業者の数多く存在するワイン及びビールを対象として、培養法及び分子生物学的手法により製造工程中の微生物叢を改めて解析し、詳細な知見を得ることを目的として研究を実施した。

まず最初に、ワインの醸造工程及び市販ワインについて微生物叢解析を実施した。近年、消費者の食の安全性に対する意識の高まりを受けて、抗酸化作用や微生物の生育抑制作用を持つ亜硫酸を添加していないワインが製造されている。そこで、ワイン醸造工程及び市販ワイン中の微生物叢を培養法と PCR-DGGE 法を用いて解析し、野生酵母や乳酸菌に限らず幅広い微生物について亜硫酸添加の影響を評価した。その結果、醸造工程中及び市販ワインで様々な微生物が検出され、*Sphingomonas* sp., *Pseudozyma* sp., *Ochromonas* sp., *Methylophilus* sp. は、ワイン中から初めて検出された。醸造工程中における微生物叢解析では、亜硫酸添加で生育抑制を受ける微生物として、PCR-DGGE 法で *Tatumella terreus* や *Leuconostoc mesenteroides* が検出され、*T. terreus* は培養法でも同様の傾向で検出された。市販ワイン中の微生物叢解析では、亜硫酸添加の有無ではっきりとした違いが見られず、最終製品の微生物叢はろ過工程や製造設備、貯蔵環境などのようなその他の要因に影響されることが示唆された。

続いて、ビールや発泡酒等の醸造工程における微生物叢の変遷を調べた。通常、ビール醸造はプラントで行われることが多く、初期に原料を煮沸した上で密閉されたタンク中で発酵するのに加えて、抗菌作用を有するホップ成分を含むため、ある程度微生物の管理ができていたと考えられていた。そのため、分子生物学的手法を用いた微生物叢解析は、ランビック等の微生物の混入が起りやすいタイプに限られ、一般的なビールについては少ない現状にあった。さらに、近年、一部の発泡酒のように麦芽の使用割合を低く抑えた醸造法も広く用いられており、これまでとは異なる微生物叢となっている可能性がある。そこで、次世代型シー

ケンサー及び定量 PCR を用いて、ビール及び発泡酒の醸造工程中の詳細な微生物叢を定量的に調べることにした。次世代型シーケンサーによる解析の結果、検出された微生物における属レベルの多様性は191属と、培養法により検出された18属と比較し、10倍を超える極めて多様な環境であることが明らかとなった。醸造工程中の各細菌数の推移を解析したところ、健全な発酵をしているビールにおいても *Bacillus* 属や *Paenibacillus* 属の細菌は発酵中に増殖している可能性を示し、これまでにビール中から検出例のない *Tissierella* 属、*Tepidmonas* 属、*Polaromonas* 属、*Chryseobacterium* 属及び *Sphingomonas* 属も新たに発酵過程で増殖する可能性が示された。

最後に、分子生物学的手法で、酒類中の真菌叢解析を行う際に必要となる技術の開発を行った。分子生物学的手法を用いて酒類中の真菌叢の解析を行う場合に大きな障害となったのは、発酵開始時に添加する醸造用酵母であった。網羅的に調査することが目的のため、真菌全般を対象として検出可能な PCR 用プライマーセットを用いる必要があり、当然ながら醸造用酵母も検出対象に含まれることになる。そのため、検出される微生物のほとんどが醸造用酵母となり、醸造工程中における醸造用酵母以外の詳細な真菌叢を網羅的に把握することは、極めて困難であった。そこで、SNPs を有する野生型と変異型の核酸混合物から変異型のみを優先的に増幅する PCR 手法である CO-amplification at Lower Denaturation temperature PCR (COLD-PCR) から着想を得て、特定の配列の核酸の増幅を抑制し、その他の配列の核酸を優先的に増幅する改変 COLD-PCR 法を開発した。改変 COLD-PCR 法は、モデル実験系において、*Saccharomyces cerevisiae* の0.01%しか存在しない *Schizosaccharomyces pombe* を検出できることを示した。さらに、白ワイン発酵もろみの真菌叢を改変 COLD-PCR-DGGE 法により解析した結果、通常の PCR-DGGE 法では検出できなかった *Candida* sp. や *Cladosporium* sp. が検出できた。また、赤ワイン発酵もろみの真菌叢を改変 COLD-PCR 法と次世代シーケンサーを組み合わせる解析したところ、醸造用酵母である *Saccharomyces* 属の検出比率が劇的に減少し、その他の微生物の検出比率が増加したほか、通常の PCR を用いた結果と比較し、検出された属数も増加していた。改変 COLD-PCR 法は、発酵食品等の特定の微生物が多く存在している中での低存在比率の微生物の動態を観察するのに適しており、今後そのようなサンプルに対して活用していくことで、これまでに報告されていない微生物の検出やその挙動を詳細に解析できるようになるものと考えられる。

酒類製造において製造工程中に存在する微生物を知ることは、品質の安定化や品質の向上、安全性の確保を達成する上で重要な基盤となる。本研究により得られた知見及び開発された技術が、製品に潜在的に存在する細菌が、何らかのきっかけで品質の劣化等を引き起こした際の迅速な対応の一助になるとともに、予防的対応をとるために貢献することを期待したい。

キーワード：DGGE 法、次世代型シーケンサー、ビール、ワイン、酒類中の微生物多様性、COLD-PCR

List of Master Theses in academic year 2015 修士論文題目 (2015年)

Completion in March, 2015 2015年3月修了

DEPARTMENT OF BIORESOURCE SCIENCE 生物資源科学専攻

- 小野 貴史 ニワトリにおける新たな QTL 解析用資源家系の造成ならびに DNA マーカータイピング
- 大西 諒貴 家畜およびその近縁種におけるミトコンドリアゲノム情報を用いた分子種判別法の確立に関する研究
- 濱田 秀一 イノシシ科の DNA 多型情報に基づく分子系統解析とその多型情報の応用に関する研究
- 梅原 崇 マウス生殖器官における NRG1 発現・機能に関する分子内分秘学的研究
- 平松 留衣 Fibronectin の卵成熟・排卵に対する役割に関する研究
- 岡崎 恭平 自給飼料多給ウシへのメチオニンの補給効果
- 山下 莉奈 乳牛のエネルギー代謝関連血液性状と抗酸化能・酸化ストレスの関連性
- 二宮 佳苗 マダイのエドワジエラ症における肉芽腫形成に関する研究
- 阿武 択磨 エリユスリカ亜科昆虫の生態と系統進化の関係について
- 新田 理人 Taxonomic studies on monogeneans parasitic on fishes in Japan
(日本産魚類に寄生する単生類の分類に関する研究)
- 山本 雅樹 安定同位体による放流アユの判別に関する研究
- 上野香菜子 アオギスの遺伝的多様性に関する研究
- 津行 篤士 バイオテレメトリーによるクロダイの回遊生態の解明
- 亀井 孝祐 クロダイの摂餌生態に関する研究
- 岡田 昇馬 ヒクラゲ(刺胞動物門:箱虫綱)の摂餌、成長、生活史に関する研究
- 荻野 裕平 ヒラメ着底稚魚の生態と餌料環境:若狭湾と瀬戸内海の比較
- 桑原 卓哉 日本海と瀬戸内海に流入する河川におけるスズキの初期生態比較
- 細川富美子 “土壌診断に基づく適正施肥”の現状・課題と展望
— JA グループ広島の取組を事例として—
- 加藤 愛 条件不利地域における体験型教育旅行民泊受入による効果と中間支援組織の在り方
- 佐々木 智 タイにおけるコメ市場の展開と中部稲作地帯の先進的稲作農家の動向に関する研究

DEPARTMENT OF BIOFUNCTIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY 生物機能開発学専攻

- 伊藤 優希 植物揮発性成分に対するチョウ交尾雌の特異的反応
- 村上 智俊 アリに対するシジミチョウ幼虫の化学的適応様式
- 向永 真也 ネムノキ・メドハギに含まれるキタキチョウの産卵刺激物質の探索
- 西尾夏央里 Trx y2 と Prx Q の電子伝達反応の解析
- 野口 暁生 Trx の活性部位にある Trp、Gly、Pro 残基の酸化還元電位形成における役割
- 満田 祥平 染色体と染色体外遺伝因子の間で、クロマチンのエピジェネティック修飾はどのように異なるか?
- 坂丸 直人 染色体腕から染色体外遺伝因子が形成され、排出/伝搬される機構
- 辛島 健文 小胞輸送における脂質の役割に関する研究
- 芳形 茉美 出芽酵母におけるスフィンゴ脂質の合成と機能に関する研究
- 末川麻里奈 植物のアスコルビン酸合成とガラクトuron 酸還元酵素の発現機構に関する研究
- 上田 健太 イネのストレスに対するプロリンの生理機能の解析
- 岩神 勝也 アユ抗菌性ペプチドの機能解析
- 岡田 華奈 鳥類多能性幹細胞の基礎と応用に関する研究

| | |
|--------|---|
| 湖山 俊 | 緑藻ハネモ <i>Bryopsis plumosa</i> に内在する3種レクチンの精製と相互作用解析 |
| 知念寿和子 | 高マンノース型糖鎖特異的レクチンの調製とその性状解析 |
| 清水 聖 | 褐藻類におけるレクチンおよびプロナーゼ処理依存性凝集素の探索研究 |
| 大楽 菜穂 | 難培養状態の腸炎ビブリオ検出法に関する研究 |
| 関 智群 | コレラ菌におけるレトロン関連タンパク質の機能解析 |
| 濱本 志帆 | 油脂の結晶化に及ぼすソルビタン脂肪酸エステルの添加効果 |
| 村尾 友紀 | ファットスプレッド中の油脂結晶化におけるポリグリセリン脂肪酸エステルの添加効果 |
| 出口 貴久 | ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルとショ糖脂肪酸エステルの組み合わせによる O/W エマルションの安定性向上機構の解明 |
| 高西 寿洋 | 混相蒸気吹き込み法を用いた高粘度エマルション食品の新規製造技術の開発 |
| 難波 毅 | 高温のフライ油中に存在する水の計測と制御によるフライ加工プロセスの管理技術の確立 |
| 川根 秀平 | 清酒醸造における米デンプンの老化が原料利用率に及ぼす影響 |
| 大田 美優 | ワイン醸造の各種要因がワイン中の微量元素濃度に及ぼす影響 |
| 上佐古大貴 | 醸造副産物の葉酸と S-アデノシルメチオニンの高含有条件と安定化に関する研究 |
| 吉崎 稔 | 酵母による有用酵素高生産システムに関する研究 |
| 竹之下柳一郎 | ストレス下で産生される過剰なアドレナリンが腸管関連免疫組織におよぼす影響に関する研究 |
| 藤井 友紀 | <i>Lactobacillus reuteri</i> の腸管バリア保護効果に関する研究 |
| 東 知世 | ポリフェノール類による消化管恒常性の維持に関する研究 |
| 村上 祐紀 | プレバイオティクスによる抗メタボリックシンドローム作用に関する研究 |
| 吉田 志菜 | 高脂肪食摂取マウスの血便発症に関する研究 |
| 米中 久喜 | glycerophosphocholine の機能性の探索 |

DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL DYNAMICS AND MANAGEMENT 環境循環系制御学専攻

| | |
|-------------------------|--|
| 小田泰士郎 | 窒素及びリン酸施肥が高オレイン酸ヒマワリの生育と脂肪酸組成に及ぼす影響 |
| 若林 幹太 | 低フィチンダイズの生産性及び生理・栽培学的特性の解明 |
| 鯨島 瞭 | 熱帯樹木モリンガの生産性と養分吸収特性の解明 |
| 多田 祐真 | 塩ストレスがイネの収量に与える影響と耐塩性イネ品種の選抜 |
| 松本真由美 | イネの塩ストレス馴化機構の解明 |
| 對馬 佑介 | 共生微生物 <i>Wolbachia</i> と <i>Rickettsia</i> を利用した天敵昆虫の産雌性単為生殖化 |
| 花田 光司 | 周防灘の海水の光学特性 |
| 柏原 克彦 | 周水域における地衣類共生バクテリア相と生物地理 |
| 山崎 友 | 植物組織や食品試料の新たな物性測定装置について |
| 古谷あゆ美 | 異なる低リン応答を示すシロイヌナズナ自然系統のリン吸収に関わる形質の解析 |
| 藤井 友美 | クラスター根における有機酸トランスポーターの機能解析と活用 |
| D.M.S.B.DIS SANAYAKA | Facilitation of phosphorus uptake of main crop plants by intercropped white lupin under different rates and forms of phosphorus supply (リン供給量および形態が異なる条件下でのシロバナルーピン混植による主作物のリン吸収促進) |

Completion in September, 2015 2015年9月修了

DEPARTMENT OF BIORESOURCE SCIENCE 生物資源科学専攻

孫 茜 オナガドリ受精卵からのES細胞の樹立に関する研究

DEPARTMENT OF BIOFUNCTIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY 生物機能開発学専攻

楊 永寿 Study on the effect of food factors on colonic luminal environment
(腸内環境に及ぼす食事因子に関する研究)

DEPARTMENT OF ENVIROMENTAL DYNAMICS AND MANAGEMENT 環境循環系制御学専攻

TEGUH NUR Study on application of steelmaking slag for seaweed growth
ROHMAN (海藻の成長のための製鋼スラグの適用に関する研究)

平成26年度研究科長裁量経費による助成研究一覧
**Reports of studies supported by Grant-in-Aid for Research from the Graduate
School of Biosphere Science, Hiroshima University**

| 助成区分 | 研究課題名 | 研究代表者 |
|---|--|--------------------------------|
| 基盤研究サポート Grant-in-Aid for Fundamental Research | プロバイオティクスを活用した乾乳期からの暑熱緩和ケアによる乳 生産技術の開発 Effects of the probiotics feeding during dry period on the heat stress of dairy cows | 河上 眞一 Shin-Ichi KAWAKAMI |
| | 安芸津沖および広島湾における海洋酸性化の実態調査 Current state of oceanic acidification in waters off Akitsu and Hiroshima Bay, Seto Inland Sea, Japan | 三瓶 真 Makoto SAMPEI |
| | 福山市田島沖における海苔（ノリ）の色落ちをもたらす要因とその 対策に関する研究 Environmental factors leading Nori (<i>Porphyra</i>) decoloration in the farming area of Tashima Island, Fukuyama area (Hiroshima, Japan) | 小池 一彦 Kazuhiko KOIKE |

Effects of the probiotics feeding during dry period on the heat stress of dairy cows

Shin-Ichi KAWAKAMI

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higasdhi-Hiroshima 739-8528, Japan

プロバイオティクスを活用した乾乳期からの暑熱緩和ケアによる
乳生産技術の開発

河上 真一

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

【背景・目的】近年の地球温暖化に伴う平均気温の上昇は、「暑熱ストレス」として畜産物の生産に多大な損失を与えることが危惧されており、特に乳牛は第一胃内発酵による熱生産のため、暑熱ストレスに対して弱い家畜であることが指摘されている。生産現場ではこれまでも乳牛に対する暑熱対策として、夏季の分娩を避け秋季に集中させる、などの方策が試みられてきたが、暑熱対策として秋季に分娩を集中させることは、結果として乾乳期の乳牛が暑熱ストレスに暴露されることを意味することから、乾乳期の乳牛への暑熱対策は急務である。プロバイオティクスは「腸内フローラバランスを改善することにより動物に有益な効果をもたらす生菌添加物」と定義され、その一種である枯草菌は肉牛または子牛への給与により、夏季の体重の増加、飼料効率および腸内フローラの改善、免疫機能の向上等の効果が報告されているものの、枯草菌の乳牛に対する暑熱ストレス緩和についての知見は不足している。しかし、枯草菌の肉牛および子牛に対する効果を考慮すると、乳牛についても乾乳期では個体の健全性の維持と分娩に向けた安定した胎子への栄養供給や泌乳準備に、また泌乳期では乳量減少抑制、乳質の維持、および繁殖機能の向上が期待できる。

よって本研究では、動物に有益な効果をもたらすプロバイオティクスを活用して乾乳期から高泌乳牛の生体機能を高め、泌乳期における暑熱ストレスの緩和を図ることによりその生産性と繁殖性の低下を防ぎ、同年での良質牛乳の供給を可能とする酪農の実証と経営強化を目指すことを目的とする。

【方法】供試動物は広島大学瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター西条ステーション農場にて維持管理されているホルスタイン乾乳牛2頭とした。本年6月より給与試験を開始し、実験区は対照区および枯草菌給与区の2区としてそれぞれ1頭を割り当てた。プロバイオティクスとして枯草菌の一種である *Bacillus subtilis* C-3102株（製品名カルスポリン：カルピス株式会社）を使用した。枯草菌給与区には分娩6週間前より枯草菌（ 6.0×10^9 cfu）をカプセルに封入して経口給与し、分娩後6週間まで枯草菌の給与を継続するとともに、給与停止から6週間まで経過観察を実施した。測定項目は体重、飼料摂取量、乳量、乳成分、直腸温、一般血液成分、各種血中ホルモン、糞中細菌数等とした。

【結果・考察】実験期間中の平均気温、最高気温および最低気温（℃）はそれぞれ 22.76 ± 0.26 、 27.66 ± 0.33 および 18.30 ± 0.30 であった。直腸温（℃）は対照区で39.0、枯草菌給与区で39.1であり、枯草菌の効果は見られなかった。分娩時および平均体重（kg）は対照区で710.7および675.7、枯草菌給与区で678.3および653.6であり、枯草菌の効果は見られなかった。また飼料摂取量（kg）は乾乳期の対照区および枯草菌給与区では13.2および12.3、泌乳期の対照区および枯草菌給与区では23.6および23.9であり、枯草菌の効果は見られなかった。乳量（kg）、乳脂率（%）および乳蛋白質（%）は対照区で40.9、3.64および3.02、枯草菌給与区で38.8、3.67および3.09であり、枯草菌の効果は見られなかった。一般血液成分および血中コルチゾル濃度においても枯草菌の効果は見られなかった。糞中細菌数においては枯草菌給与区で *Streptococcus* 数の減少が観察されたものの、それ以外の細菌数においては枯草菌の効果は見られなかった。本試験ではほとんどの測定項目において枯草菌給与効果が観察されなかったが、対照区および枯草菌給与区の双方において直腸温の上昇が観察されなかったことから、供試牛に対して暑熱ストレスが十分に負荷されなかった可能性が考えられた。

Current state of oceanic acidification in waters off Akitsu and Hiroshima Bay, Seto Inland Sea, Japan

Makoto SAMPEI¹, Michiyo Yamamoto-KAWAI², Tamiji YAMAMOTO¹

¹*Graduate school of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

²*School of Marine Science, Tokyo University of Marine Science and Technology,
Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan*

安芸津沖および広島湾にける海洋酸性化の実態調査

三瓶 真¹, 川合 美千代², 山本 民次¹

¹広島大学生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

²東京海洋大学海洋科学部, 108-8477 港区, 東京

(序論)

人間活動によって大気中に放出された二酸化炭素のおよそ1/3は、海水に吸収されている。このことは温暖化の抑制に貢献しているが、一方、弱酸である二酸化炭素が溶け込むことで、海水が徐々に酸性化している。すでに、表層海水の平均 pH は、産業革命以前の8.3から8.1まで減少しており、今後もさらなる減少が予想されている。海洋の酸性化は炭酸カルシウムを溶けやすくするため、特に炭酸カルシウムの殻を持つ貝類（例えばカキ）などの生物に負の影響を与えることが明らかになり、沿岸生態系に大きな影響を与えることが懸念されている。しかし、生物多様性が高く生物量が豊富な沿岸域における酸性化の状況については、ほとんど明らかになっていない。これは、観測例が圧倒的に不足しているためである。また、沿岸域は局地的な河川水や陸起源物質、人間活動などの影響を大きく受けるため、外洋や近海、あるいは他の沿岸域での観測例を用いて現場の酸性化状況を予測することは不可能である。従って、日本沿岸の酸性化状況を理解し、海洋生物あるいは水産業への将来的な危機を予測・回避するためには、様々な沿岸域での観測を行うことが緊急の課題である。さらに、広島県や東広島市（安芸津地区）は炭酸カルシウムの殻をもつカキ養殖が非常に重要な産業となっている。カキは濾過捕食者であり、懸濁態有機物を積極的に取り込み水柱中から除去するため、水質の浄化にも役立つ。また、カキ筏には漁礁効果があると考えられている。このため、海洋の酸性化は、広島の産業に大きな負の影響を及ぼし、更には海洋環境の悪化を招き、海洋生態系へ影響を及ぼす可能性もある。そこで、本研究では、瀬戸内海に位置する広島近郊の安芸津沖や広島湾における海洋酸性化の現状を把握することを目的とする。

(材料と方法)

現場における試料の採集は、安芸津沖（三津湾：北緯34.31度、東経132.81度）において2度（2014年10月8日および11月11日）、広島湾（北緯34.23～34.33度、東経132.33～132.47度）において2014年5月7日豊潮丸の広島湾航海に同乗して1度、計3回の観測で行われた。安芸津沖においては、3測点（カキ棚の中心部、カキ棚の縁辺部およびカキ棚から約20m離れた場所）、広島湾においては、5測点（太田川河口、五日市港付近、厳島北東部沖、厳島南東部沖および阿多田島東部沖）において採水およびCTD観測が行われた。採水された試料は、pH、全炭酸濃度および栄養塩濃度の測定に供された。CTD観測からは、塩分・水温等の鉛直プロファイルが得られた。

(結果)

安芸津沖の平均 pH は、7.95と広島湾の平均（8.13）および日本近海の黒潮海域の pH（8.12：環境省ホームページより引用）と比較して低い値を示した。広島湾および安芸津沖の全ての水深・時期において、炭酸カルシウムの溶解度の指標となる Ω アラゴナイトおよび Ω カルサイトは共に過飽和状態を示す1以上の値で

あった。安芸津沖では広島湾と比較して、低塩分・高温の傾向を示したが、全炭酸濃度には違いが見られなかった。

(まとめ)

広島湾や安芸津沖において、現時点では炭酸カルシウムを持つ生物が生活しにくい環境ではない事が明らかになった。しかし、安芸津沖では陸水の影響等でその pH は日本近辺の外洋域と比較すると低い値を示していた。そのため、今後進行するであろう海洋の酸性化は、環境省がモニタリングを行っている近海域よりも、カキの養殖場にもなっているような沿岸域でいち早くその影響が出てくる可能性があることが明らかになった。しかし、今回の調査は、四季の変化を完全に網羅できていない。そのために、今後は季節変化に伴う酸性化の影響を把握することも望まれる。更には、広島湾や安芸津沖において定期的な海洋酸性化に対するモニタリング調査を継続する必要性が示唆された。

Environmental factors leading Nori (*Porphyra*) decoloration in the farming area of Tashima Island, Fukuyama area (Hiroshima, Japan)

Kazuhiko KOIKE

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

福山市田島沖における海苔（ノリ）の色落ちをもたらす要因と
その対策に関する研究

小池 一彦

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

広島県福山市の田島は広島県で唯一の海苔生産地であり、生産高は全国の0.8%に過ぎないが、海の恵みを生かした良質な海苔を生産している。しかし近年、「ノリの色落ち」と販売単価の下落に悩まされている。ノリは光合成補助色素としてフィコピリンと呼ばれる色素タンパク質を持ち、そのタンパク質のために製品としての海苔は黒くなる。黒いほどタンパク質が豊富であり取引価格も高い。しかしこのタンパク質の合成に必要な海水中の無機態窒素が3 $\mu\text{mol/l}$ を下まわるとノリの色が薄くなり、その結果製品としての海苔の価格が下落する。

田島におけるノリの色落ちには一定の傾向がある。福山市中心部に近い東側ほど色落ちが激しく、尾道市に近い西側や、愛媛県に近い沖側ほど色落ち程度は緩やかになる。これらノリ漁場の西側～東側をカバーするように定点を設定し、ノリの収穫期である12月末から1月下旬にかけ、2週に一度の程度で海水中の無機態窒素濃度とその減少要因に関わる項目を調査した。その結果、漁場の東側では調査開始時から窒素濃度が3 $\mu\text{mol/l}$ を下回り、西側に行くにつれ時期が後ろにずれつつも、1月上旬～中旬にかけ全ての調査点で窒素濃度が3 $\mu\text{mol/l}$ を下まわった。その時期と同じくしてノリの色落ちが生じた。窒素濃度が3 $\mu\text{mol/l}$ を下まわった時期は、大型珪藻の出現時期と重なっていた。特に近年瀬戸内海で冬期に出現する *Eucampia zodiacus* 珪藻が、海水1 mlあたり数百細胞出現し、本種が海水中の窒素を吸収・ノリの色落ちを引き起こしていることが示唆された。平成27年2月3日に豊潮丸を用い、広範な海域を網羅するように栄養塩や珪藻類の連続測定を行った。その結果、養殖海域東側に行くにつれ *Eucampia* の出現が多く、それに反比例するように海水中窒素濃度が減少していた。同時に、人工衛星 Landsat 8で取得された同海域の可視光画像を用い、スペクトル補正の後、河川水の流入を調べたところ、色落ちしにくい西側には三原市に流れ込む沼田川系水が影響し、これが栄養塩をもたらしていると推測された。一方、東側の芦田川からは河口堰により十分な河川水が流入せず、これが東側の色落ちを助長しているものと推測された。ただし、芦田川河口近隣の養殖場（田尻地区沖）には局部的に栄養塩の高いスポットが見出され、実際にこの養殖場では色落ちの程度が軽かった。これは芦田川由来ではないとすると、芦田川浄化センターから流れてきた処理水だと考えられた。

瀬戸内海の多くのノリ産地では同様の色落ちに悩まされており、兵庫県や香川県では浄化センターの緩和運転を行い、ノリ漁場に積極的に栄養塩を放出する試みを進めている。田島においても芦田川河口堰の弾力的運用を行うか、浄化センターの緩和運転を試みることにより海域の「海の力」をあげる試みを行う時期に来ているのかもしれない。

List of Papers by the staff of the Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, published during January 2014 to March, 2015

広島大学大学院生物圏科学研究科教員業績目録

(2014年1月–2015年3月)

Animal Science Division 動物生産学講座

- Goto, T., Ishikawa, A., Goto, N., **Nishibori, M.**, **Umino, T.**, **Tsudzuki, M.**, 2014. Mapping of main-effect and epistatic quantitative trait loci for internal egg traits in chickens. *J. Poult. Sci.* **51**: 375-386.
- Goto, T., Ishikawa, A., Yoshida, M., Goto, N., **Umino, T.**, **Nishibori, M.**, **Tsudzuki, M.**, 2014. Quantitative trait loci mapping for external egg traits in chickens. *J. Poult. Sci.* **51**: 118-129.
- Ishishita, S., Tsuruta, Y., Uno, Y., Nakamura, A., Nishida, C., Griffin, D.K., **Tsudzuki, M.**, Ono, T., Matsuda, Y., 2014. Chromosome size-correlated and chromosome size-uncorrelated homogenization of centromeric repetitive sequences in New World quails. *Chrom. Res.* **22**: 15-34.
- Kinoshita, K., Akiyama, T., Mizutani, M., Shinomiya, A., Ishikawa, A., Younis, H.H., **Tsudzuki, M.**, Namikawa, T., Matsuda, Y., 2014. Endothelin receptor B2 (*EDNRB2*) is responsible for the tyrosinase-independent recessive white (*mo^w*) and mottled (*mo*) plumage phenotypes in chickens. *PLoS ONE* **9**: e86361. (doi:10.1371/journal.pone.0086361)
- Kowata, K., Nakaoka, M., Nishio, K., Fukao, A., Satoh, A., Ogoshi, M., Takahashi, S., **Tsudzuki, M.**, Takeuchi, S., 2014. Identification of a feather β -keratin gene exclusively expressed in pennaceous barbule cells of contour feathers in chicken. *Gene* **542**: 23-28.
- Oka, T., Fujihara, M., Fukushima, M., **Bungo, T.**, **Tsudzuki, M.**, 2014. Genetic diversity and structure of the Ryujin-jidori, a native Japanese chicken breed under the critical condition of existence, based on microsatellite DNA analysis. *J. Poult. Sci.* **51**: 387-391.
- Oka, T., Tadano, R., Goto, T., Shiraiishi, J.-i., Osman, S.A., Nagasaka, N., **Bungo, T.**, **Maeda, T.**, **Nishibori, M.**, **Umino, T.**, **Tsudzuki, M.**, 2014. Time-dependent changes in the genetic diversity and structure of the Onagadori breed of chickens based on microsatellite DNA polymorphisms. *J. Poult. Sci.* **51**: 262-269.
- Oka, T., **Tsudzuki, M.**, 2014. Genetic differentiation in the *Oh-Shamo* (Japanese Large Game) breed of chickens assessed by microsatellite DNA polymorphisms. *Int. J. Poult. Sci.* **13**: 319-322.
- Tadano, R., Kinoshita, K., Mizutani, M., **Tsudzuki, M.**, 2014. Comparison of microsatellite variations between red junglefowl and a commercial chicken gene pool. *Poult. Sci.* **93**: 318-325.
- 都築政起. 2014. 地鶏について (その2). *肥後ちゃほ*. **46**: 25-26.
- 都築政起. 2014. ニワトリの品種と分化. 「ニワトリの科学」(古瀬充宏 編) 朝倉書店, 東京: pp. 6-16.
- 都築政起. 2014. ゲノム. 「ニワトリの科学」(古瀬充宏 編) 朝倉書店, 東京: pp. 191-194.
- 都築政起. 2014. ニワトリ・ウズラ. 「最新畜産ハンドブック」(扇元敬司, 葦澤圭二郎, 桑原正貴, 寺田 文典, 中井 裕, 杉浦勝明 編). 講談社サイエンティフィック, 東京: pp. 29-34.
- Sayed, A.M.O., **Nishibori, M.**, 2014. Phylogenetic Analysis of South East Asian Countries Chickens Based on Mitochondrial DNA Variations. *J. Poult. Sci.* **51**: 248-261.
- 島田昌之・西堀正英・岡崎哲司. 2014. グローバル化に対応するための人工授精技術の活用. *月刊養豚情報*. **42**: 12-14.
- 濱田秀一・黒澤弥悦・高田 勝・庭田 悟・下桐 猛・大西諒貴・安江 博・西堀正英. 2014. SNPs 情報

- によるイノシシ・ブタの分子系統解析. *DNA 多型*. **22**: 31-34.
- 西堀正英. 2014. 輝け！若者たち. 2. 実験を通して科学の愉しみを伝えたい！. *教育人会議*. 夏号：13.
- Fujita, K., Nomura, Y., Sawajiri, M., Mohapatra, P.K., El-Shemy, H.A., Nguyen, N.T., Hosokawa, M., Miyashita, K., **Maeda, T.**, **Saneoka, H.**, Fujita, S., Fujita, T., 2014. The extracts of Japanese willow tree species are effective for apoptosis or differentiation of acute myeloid leukemia cells. *Pharm. Mag.* **10**: 125-131.
- Ogata, Y., **Maeda, T.**, 2014. Comparison of biopsy methods of bovine embryos for genetic diagnosis. *Proc. of the 16th AAAP Anim. Sci. Cong.* **2**: 1486-1490.
- El-Sabagh, M., Taniguchi, D., **Sugino, T.**, **Obitsu, T.**, **Taniguchi, K.**, 2014. Effect of glucagon-like peptide-1 and ghrelin on liver metabolites in steers. *Anim. Prod. Sci.* **54**: 1732-1736.
- Li, Z., **Sugino, T.**, **Obitsu, T.**, **Taniguchi, K.**, 2014. Effects of dietary combination of corn and rice as whole crop silage and grain sources on carbohydrate digestion and nitrogen use in steers. *Anim. Sci. J.* **85**: 127-134.
- Sugino, T.**, Tateno, A., Ueno, G., Kawashima, K., Okimura, T., Hirabayashi, H., Suzuki, A., Asakuma, S., Kobayashi, H., **Isobe, N.**, **Obitsu, T.**, Kushibiki, S., 2014. Effects of calcium salts of medium-chain fatty acids on plasma metabolite and hormone concentrations in early lactating dairy cows. *Anim. Prod. Sci.* **54**: 1699-1702.
- Morimoto, T., Higaki, T., Ota, M., Inawaka, K., Kawamura, S., **Bungo, T.**, 2014. Effect of simultaneous exposure to mixture of two skin sensitizers on skin sensitization response in guinea pigs and mice. *J. Toxicol. Sci.* **39**: 163-171.
- Oka, T., **Bungo, T.**, 2014. Comparison of response to restraint test in two breeds of Japanese native chicken. *Int. J. Poult. Sci.* **13**: 545-548.
- Tanizawa, H., Shiraishi, J.-i., **Kawakami, S.-I.**, **Tsudzuki, M.**, **Bungo, T.**, 2014. Effect of short-term thermal conditioning on physiological and behavioral responses to subsequent acute heat exposure in chicks. *J. Poult. Sci.* **51**: 80-86.
- 沖田美紀・山下莉奈・黒川勇三・豊後貴嗣・小櫃剛人. 2014. 暑熱期の乳牛の生理と生産性に及ぼす剪毛の影響. *日本家畜管理学会誌・応用動物行動学会誌*. **50**: 127-136.
- 豊後貴嗣・谷澤 宏. 2014. ニワトリヒナにおける耐暑性に関する研究—幼雛期暑熱感作による耐暑性獲得—. *栄養生理研究会報*. **58**: 29-37.
- 豊後貴嗣. 2014. 飼育環境 (温熱環境, 行動生態). 「ニワトリの科学」(古瀬充宏 監修) 朝倉書店, 東京: pp. 148-152, pp. 155-158.
- Abdel-Mageed, A.M., **Isobe, N.**, **Yoshimura, Y.**, 2014. Effects of different TLR ligands on the expression of proinflammatory cytokines and avian beta-defensins in the uterine and vaginal tissues of laying hens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **162**: 132-141.
- Ariyadi, B., **Isobe, N.**, **Yoshimura, Y.**, 2014. Toll-like receptor signaling for the induction of mucin expression by lipopolysaccharide in hen vagina. *Poult. Sci.* **93**: 673-679.
- Isobe, N.**, Iwamoto, C., Kubota, H., **Yoshimura, Y.**, 2014. Relationship between somatic cell count in milk and reproductive function in peripartum dairy cows. *J. Reprod. Dev.* **60**: 433-437.
- Lan, R.X., Liu, F., He, Z.B., Chen, C., Liu, S.J., Shi, Y., Liu, Y.L., **Yoshimura, Y.**, Zhang, M., 2014. Immunolocalization of GnRHRI, gonadotropin receptors, PGR and PGRMCI during follicular development in the rabbit ovary. *Theriogenology* **81**: 1139-1147.
- Nii, T., **Isobe, N.**, **Yoshimura, Y.**, 2014. Effects of avian infectious bronchitis virus antigen on eggshell formation and immunoreaction in hen oviduct. *Theriogenology* **81**: 1129-1138.
- Yoshimura, Y.**, Abdel-Mageed, A.M., Nii, T., Ariyadi, B., **Isobe, N.**, 2014. Innate immune functions in hen reproductive organs. *Avian Biol. Res.* **7**: 39-47.
- Zhang, G.W., Lai, S.J., **Yoshimura, Y.**, **Isobe, N.**, 2014. Messenger RNA expression and immunolocalisation of

psoriasin in the goat mammary gland and its milk concentration after an intramammary infusion of lipopolysaccharide. *Vet. J.* **202**: 89-93.

Zhang, G.W., Lai, S.J., **Yoshimura, Y.**, **Isobe, N.**, 2014. Expression of cathelicidins mRNA in the goat mammary gland and effect of the intramammary infusion of lipopolysaccharide on milk cathelicidin-2 concentration. *Vet. Microbiol.* **170**: 125-134.

Aquatic Biology Division 水圏生物生産学講座

Misawa, A., Kada, S., **Yoshida, M.**, 2014. Comparison of the mode of action of three anesthetic agents, 2-phenoxyethanol, MS-222, and eugenol on goldfish. *Aquaculture Sci.* **62**: 425-432.

Mukuda, T., Koyama, Y., **Hamasaki, S.**, Kaidoh, T., Furukawa, Y., 2014. Systemic angiotensin II and exercise-induced neurogenesis in adult rat hippocampus. *Brain. Res.* **1588**: 92-103.

Nagai, T., **Nakai, T.**, 2014. Water temperature effect on *Edwardsiella ictaluri* infection of ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish Pathol.* **49**: 61-63.

Okuda, J., Takeuchi, Y., **Nakai, T.**, 2014. Type III secretion system genes of *Edwardsiella tarda* associated with intracellular replication and virulence in zebrafish. *Dis. Aquat. Org.* **111**: 31-39.

Yasuike, M., Kai, W., Nakamura, Y., Fujiwara, A., Kawato, Y., Hassan, E.S., Mahmoud, M.M., Nagai, S., Kobayashi, T., Ototake, M., **Nakai, T.**, 2014. Complete genome sequence of the *Edwardsiella ictaluri*-specific bacteriophage PEi21, isolated from river water in Japan. *Genome Announce.* **2**: e00228-14.

河東康彦・山田康生・永井崇裕・Ebtsam Sayed Hassan・**中井敏博**. 2014. アユのエドワジエラ・イクタルリ感染症に対する薬剤の有効性. *魚病研究.* **49**: 23-26.

羽生和弘・宮本敦史・**中井敏博**. 2014. *Edwardsiella tarda* 人為感染マダイにおける保菌. *日本水産学会誌.* **80**: 572-577.

Kawai, K., Hara, S., **Saito, H.**, 2014. Usefulness of chironomid larvae as physicochemical and biological indicators ~ A case of the mountainous streams in the Gono River System ~ *Bull. Hiroshima Univ. Mus.* **6**: 7-13.

木村祐貴・和西昭仁・**坂井陽一**・橋本博明・具島健二. 2014. 鹿児島県口永良部島の岩礁性タイドプールの魚類相. *Fauna Ryukyuan* **11**: 1-7.

澤井悦郎・松井 萌・Dharmamony Vijai・柳 海均・桜井泰憲・山野上祐介・**坂井陽一**. 2014. 北海道初記録のウシマンボウ *Mola* sp.A. *魚類学雑誌.* **61**: 27-128.

重田利拓・手塚尚明・中川倫寿・富山 毅・**坂井陽一**・齊藤英俊・清水則雄. 2014. 瀬戸内海周防灘中津干潟における絶滅危惧種アオギス *Sillago parvisquamis* (キス科) の最新の生息状況 (2011-2013年). *広島大学総合博物館研究報告.* **6**: 31-39.

須之部友基・川瀬裕司・**坂井陽一**・清水則雄・望岡典隆・田和篤史・竹垣 毅・中村洋平・出羽慎一. 2014. 地球温暖化と南日本各地における魚類相の比較. *千葉県生物多様性センター研究報告.* **7**: 3-13.

Katahira, H., **Nagasawa, K.**, 2014. Helminths from the giant mottled eel *Anguilla marmorata* Quoy & Gaimard in Japan, with a description of *Acanthocephalus longiacanthus* n. sp. (Acanthocephala: Echinorhynchidae). *Syst. Parasitol.* **88**: 91-102.

Katahira, H., Shirakawa, H., **Nagasawa, K.**, 2014. Five trophically-transmitted parasites from adult Arctic lampreys *Lethenteron camtschaticum* (Petromyzontiformes: Petromyzontidae): biological indicators of the host's marine life as a predator. *Spec. Divers.* **19**: 157-165.

Nagasawa, K., 2014. An amphibian acanthocephalan, *Acanthocephalus lucidus* (Echinorhynchida: Echinorhynchidae), infecting a fish, *Salvelinus leucomaenis leucomaenis* (Salmoniformes: Salmonidae). *Spec. Divers.* **19**: 151-156.

- Nagasawa, K.**, 2014. Prevalence of skin pseudotumors in three species of pleuronectids in Notsuke Bay, Hokkaido, northern Japan. *Biosphere Sci.* **53**: 37-42.
- Nagasawa, K.**, Nitta, M., 2014. Rediscovery of *Mytilicola orientalis* (Copepoda: Mytilicolidae) from wild Pacific oysters *Crassostrea gigas* in Japan. *Biogeography*. **16**: 49-51.
- Nagasawa, K.**, Sato, H., 2014. Two crustacean parasites, *Argulus japonicus* (Branchiura) and *Lernaea cyprinacea* (Copepoda), from freshwater fishes in Gunma Prefecture, Japan, with a new host record for *A. japonicus*. *Bull. Gunma Mus. Natu. Hist.* **18**: 65-68.
- Nagasawa, K.**, Torii, R.-I., 2014. The parasitic copepod *Lernaea cyprinacea* from freshwater fishes, including alien species (*Gambusia affinis* and *Rhodes ocellatus ocellatus*), in central Japan. *Biosphere Sci.* **53**: 27-31.
- Nagasawa, K.**, Fukuda, Y., Nishiyama, M., 2014. Further record of *Ceratothoa carinata* (Isopoda: Cymothoidae) parasitic on *Decapterus maruadsi* in Japanese waters. *Biogeography*. **16**: 59-61.
- Nagasawa, K.**, Kuwabara, T., Nakano, H., 2014. *Odontobutis hikimius* (Perciformes: Odontobutidae), a new host for *Argulus coregoni* (Crustacea: Branchiura: Argulidae). *Biosphere Sci.* **53**: 33-36.
- Nagasawa, K.**, Sato, H., Nitta, M., 2014. The parasitic copepod *Neoergasilus japonicus* (Ergasilidae) from a new host *Candidia sieboldii* (Cyprinidae). *Biogeography*. **16**: 47-48.
- Nagasawa, K.**, Tamego, T., Isozaki, S., 2014. *Acanthochondria uranoscopi* (Copepoda), a parasite of the Japanese stargazer *Uranoscopus japonicus*, from the Seto Inland Sea and the western North Pacific off central Japan. *Biogeography*. **16**: 53-56.
- Nagasawa, K.**, Yuasa, A., Doi, H., Isozaki, S., 2014. *Lernaeenicus ramosus* (Copepoda: Pennellidae), a parasite of groupers from off Japan, with two new host records. *Biogeography*. **16**: 57-58.
- Nitta, M., **Nagasawa, K.**, 2014. Three species of *Dactylogyrus* (Monogenea: Dactylogyridae) parasitic on Japanese seabass *Lateolabrax japonicus* (Perciformes: Lateolabracidae) in Japan, with new country records for *Dactylogyrus gotoi* and *Dactylogyrus kikuchii*. *Spec. Divers.* **19**: 71-79.
- Nitta, M., **Nagasawa, K.**, 2014. *Bivaginogyrus obscurus* (Monogenea: Dactylogyridae), a gill parasite of two cyprinids *Pseudorasbora pumila pumila* and *Pseudorasbora parva*, new to Japan. *Spec. Divers.* **19**: 167-171.
- Nitta, M., **Nagasawa, K.**, 2014. *Salsugius seculus* (Monogenea: Ancyrocephalidae) newly recorded from Japan, infecting the introduced mosquitofish *Gambusia affinis*. *Spec. Divers.* **19**: 173-178.
- 長澤和也. 2014. 日本産サメ類に寄生するサメジラミ属カイアシ類. 板鰓類研究会報. **50**: 17-20.
- 長澤和也・新田理人. 2014. 島根県産ムギツクから得られたイカリムシ. ホシザキグリーン財団研究報告. **17**: 252.
- 長澤和也・上野大輔. 2014. 日本産魚類・鯨類に寄生するヒジキムシ科(新称) Pennellidae カイアシ類の目録(1916-2014年). 生物圏科学. **53**: 43-71.
- 長澤和也・片平浩孝・新田理人. 2014. 島根・鳥取県産魚類の寄生虫目録(1924-2013年). ホシザキグリーン財団研究報告. **17**: 237-251.
- 上野大輔・小室裕樹・邸永普・長澤和也. 2014. 北西太平洋域から初記録となる魚類寄生性カイアシ類ウオノハブラシ(新称) *Lernaeolophus sultanus* (管口目ペンネラ科). *Fauna Ryukyuan* **15**: 5-9.
- 横山 博・長澤和也. 2014. 養殖魚介類の寄生虫の標準和名目録. 生物圏科学. **53**: 73-97.

Food and Resource Economics Division 食料資源経済学講座

- Chouichom, S., **Liao, L.M.**, **Yamao, M.**, 2014. General View Point, Perception and Acceptance of Organic Food Products among Urban Consumers in the Thai Marketplace. Susatibable Food Security in the Era of Local and Global Environmental Change: pp. 187-203.

- Imran, Z., **Yamao, M.**, 2014. Factors Affecting Changes of Fisheries Livelihood 7 Years after the Asian Tsunami in Krueg Raya bay, Ache-Indonesia. *J. Region. Fish.* **55**: 1-23.
- Lin, W.Y., **Yamao, M.**, 2014. Prospects of the Components of Myanmar Food Control System for Health and Trade Efficacy. *Ann. Tropical Res.* **36**: 1-16.
- Lin, W.Y., **Yamao, M.**, 2014. Perception of Food Inspectors and Traders on Trans-boundary Food Control Measures of Myanmar. *World J. Soc. Sci.* **4**: 162-170.
- Pongvinyoo, P., **Yamao, M.**, 2014. Coffee farmers' attitudes toward the 4C process in Chumphon province, Southern Thailand. *J. Agri. Ext. Rural Dev.* **6**: 329-338.
- Zamroni, A., **Yamao, M.**, 2014. Livelihood Strategy in Indonesian Coastal Villages: Case Study on Seaweed Farming in Laikang Bay, South Sulawesi Province. M. Behnassi et al. (eds.), *Vulnerability of Agriculture, Water and Fisheries to Climate Change: Toward Sustainable Adaptation Strategies*: pp. 289-300.
- 辰己佳寿子・山尾政博・ズルハムシャ・イムラム. 2014. 津波被災地の復興における女性の役割—インドネシアのアチェ州と東北地方の比較を通して— *アジア女性研究*. **23**: 1-16.
- 山尾政博. 2014. 三陸サケ産業の復興からみた水産物クラスター形成の課題. *漁港漁場漁村研報*. **36**: 4-9.
- 山尾政博. 2014. 東アジア水産物貿易の潮流—食品産業クラスター, 国際分業, 消費市場—. 「東南アジア, 水産物貿易のダイナミズムと新しい潮流」(山尾政博編著) 北斗書房. 東京: pp. 11-33.
- 山尾政博. 2014. フィリピンの水産物貿易の特徴—ある日系企業の活動を通して—「東南アジア, 水産物貿易のダイナミズムと新しい潮流」(山尾政博編著) 北斗書房. 東京: pp. 79-96.
- 山尾政博. 2014. フィリピンの沿岸漁業と市場流通の動向—バナイ島バナテ湾のカニ漁業を事例に—「東南アジア, 水産物貿易のダイナミズムと新しい潮流」(山尾政博編著) 北斗書房. 東京: pp. 143-164.
- 山尾政博. 2014. 東南アジアの水産事情—日本の水産物貿易の視点から— 「H26年度水産油脂資源講演会」一般財団法人日本水産油脂協会: pp. 25-33.
- 細野賢治・加藤 愛・内藤重之. 2014. 修学旅行生の民家宿泊体験に対する評価と効果—沖縄県伊江島での実施校に対するアンケート調査から—. *食料資源経済学講座, 農業水産経済研究*. **14**: 23-32.
- 天野通子. 2014. 日本の水産物輸出の新たな展開と課題—養殖ブリ・マガイの事例—「東南アジア, 水産物貿易のダイナミズムと新しい潮流」(山尾政博編著) 北斗書房. 東京: pp. 97-114.
- 天野通子. 2014. バンコクにおける日本食普及の現状「東南アジア, 水産物貿易のダイナミズムと新しい潮流」(山尾政博編著) 北斗書房. 東京: pp. 129-140.
- 天野通子. 2014. 水産現場に広がる6次産業化で市場拡大. *AFC フォーラム*. **62**: 11-14.
- 田中秀樹. 2014. TPPと消費生活への影響—食生活を中心に—. *流通*. **34**: 51-91.
- 田中秀樹・吉弘昌昭. 2014. 集落営農の規模と構成員の意識—広島県の3つの集落営農法人アンケート結果から—. *広島大学農業水産経済研究*. **14**: 1-12.
- 姜 康董・田中秀樹. 2014. 農民專業合作社の形成主体別類型と協同組合的性格に関する実証的研究—中国江蘇省の事例から—. *農業市場研究*. **23**: 1-11.
- 小林 元. 2014. 広域的な地域運営組織の協同組織的性格の検討. *協同組合研究*. **33**: 16-22.
- 小林 元. 2014. 第1報告へのコメント—今日の集落営農の歴史的位置づけをどう考えるか. *農業問題研究*. **45**: 32-33.
- 小林 元. 2014. 共同購入のアイデンティティを探る—生協しまねの取組みから—. *協同組合経営研究誌*にじ. **648**: 71-82.
- 小林 元. 2014. 地域づくりへの協同組合論的アプローチ. 地域は消えない(岡崎昌之編) 日本経済評論社. 東京: pp. 231-267.

Field Sciences in Setouchi Areas Division 瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター

- Hanamura, Y., Rose, M., **Ohtsuka, S.**, 2014. A new species of *Gastrosaccus* Norman, 1868 (Mysida, Mysidae, Gastrosaccinae) from a sandy shore of Indonesia. *Zookeys* **438**: 17-32.
- Hanamura, Y., **Ohtsuka, S.**, Rose, M., Komatsu, H., 2014. Redescription of a rare mysid *Nipponomysis surugensis* (Murano, 1977) (Crustacea, Mysida, Mysidae) based on specimens from the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton Benthos Res.* **9**: 217-224.
- Hirabayashi, T., **Ohtsuka, S.**, 2014. A new species of *Labidocera* (Copepoda, Calanoida, Pontellidae) collected from Okinawa, southwestern Japan, with establishment of five Indo-West Pacific species group in the *L. detruncata* species complex. *ZooKeys* **447**: 21-34.
- Urata, M.**, Iwasaki, S., **Ohtsuka, S.**, Yamaguchi, M., 2014. Development of the swimming acorn worm *Glandiceps hacksi*: similarity to holothuroids. *Evol. Dev.* **16**: 149-154.
- 近藤裕介・橋本周一郎・岡田昇馬・平林丈嗣・齊藤充志・岩崎貞治・浦田 慎・足立 文・小谷野有加・笠川宏子・大塚 攻. 2014. 瀬戸内海産エビクラゲの出現時期と共生するタコクラゲモエビの種間関係について. 広島大学大学院生物圏科学研究科瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター報告. **12**: 10-20.
- 岡田昇馬・近藤裕介・平林丈嗣・橋本周一郎・戸篠 祥・三宅裕志・足立 文・浦田 慎・大塚 攻. 2014. 瀬戸内海産大型立方クラゲ類ヒクラゲの出現と成長に関する知見. 広島大学総合博物館研究報告. **6**: 1-5.
- 齊藤英俊・岩崎貞治・近藤裕介・大塚 攻. 2014. ハチ干潟における釣り餌生物ホシムシ類の分布状況. 広島大学大学院生物圏科学研究科瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター報告. **12**: 1-9.
- 佐藤正典・田中正敦・福田 宏・和田太一・新居正利・大塚 攻・浦田 慎・中口和光・山口修平・加藤幹雄. 2014. ウミイサゴムシ科多毛類の稀少種ヒウチウミイサゴムシの瀬戸内海からの記録. *南紀生物*. **56**: 1-7.
- 浦田 慎・大塚 攻. 2014. 那覇沖で得られたオナガナメクジウオ種群. 広島大学大学院生物圏科学研究科瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター報告. **12**: 21-25.
- Kinoshita, H., Kamimura, Y., Mizuno, K., **Shoji, J.**, 2014. Nighttime predation on post-settlement Japanese black rockfish *Sebastes cheni* in a macroalgal bed: effect of body length on predation rate. *ICES J. Mar. Sci.* **71**: 1022-1029.
- 三代和樹・岩本有司・井上慎太郎・森田拓真・水野健一郎・上村泰洋・平井香太郎・小路 淳. 2014. 太田川感潮域浅所における魚類群集の季節変化—人工放水路と天然河川の比較. *水産海洋研究*. **78**: 169-175.
- Kato, A.**, Hikami, M., Kumagai, N.H., Suzuki, A., Nojiri, Y., Sakai, K., 2014. Negative effects of ocean acidification on two crustose coralline species using genetically homogenous samples. *Mar. Environ. Res.* **94**: 1-6.
- Ng, P.-K., Lim, P.-E., **Kato, A.**, Phang, S.-M. 2014. Molecular evidence confirms the parasite *Congracilaria babae* (Gracilariaceae, Rhodophyta) from Malaysia. *J. Appl. Phycol.* **26**: 1287-1300.
- 加藤亜記. 2014. 大崎上島における海藻を使った町おこしについて. 広島大学大学院生物圏科学研究科瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター報告. **12**: 26-28.

Molecular and Applied Biosciences 分子生命開発学講座

- Fujii, S., Masanari, M., Yamanaka, M., Wakai, S., **Sambongi, Y.**, 2014. High stability of apo-cytochrome *c'* from thermophilic *Hydrogenophilus thermoluteolus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **78**: 1191-1194.
- Masanari, M., Wakai, S., Ishida, M., Kato, C., **Sambongi, Y.**, 2014. Correlation between the optimal growth pressures of four *Shewanella* species and the stabilities of their cytochromes *c₅*. *Extremophiles*

18: 617-627.

- Manzano-Lopez, J., Perez-Linero, AM., Aguilera-Romero, A., Martin, ME., Okano, T., Silva, DV., Seeberger, PH., Riezman, H., **Funato, K.**, Goder, V., Wellinger, RE. and Muñiz, M., 2015. COPII coat composition is actively regulated by luminal cargo maturation. *Curr. Biol.* **25**: 152-162.
- 池田敦子・船戸耕一. 2015. 脂質を動かす酵母 Osh タンパク質ファミリー—オルガネラ膜接触部位における Osh の役割. *化学と生物.* **53**: 212-214.
- Eltelib, H.A., Badejo, A.A., **Fujikawa, Y.**, **Esaka, M.**, 2014. Enhanced Salt-Mediated Oxidative Stress Tolerance in Transgenic Tobacco Overexpressing Acerola GDP-L-galactose Phosphorylase and Phosphomannomutase Genes. *International Journal of Development Research* **4**, 2024-2028.
- Fujikawa, Y.**, Nakanishi, T., Kawakami, H., Yamasaki, K., Sato, M.H., Tsuji, H., Matsuoka, M., Kato, N., 2014. Split luciferase complementation assay to detect regulated protein-protein interactions in rice protoplasts in a large-scale format. *Rice* **7**: 11-19.
- Tanaka, S., Mitsuda, S., **Shimizu, N.**, 2014. How a Replication Origin and Matrix Attachment Region Accelerate Gene Amplification under Replication Stress in Mammalian Cells. *PLoS ONE* **9**: e103439.
- Elkhateeb, A., El-Beih, A.A., Eldeen, A.M.G., Alhammady, M.A., **Ohta, S.**, Pare, P.W., Hegazy, M.F., 2014. New terpenes from the Egyptian soft coral *Sarcophyton ehrenbergi*. *Marine Drugs* **12**: 1977-1986.
- Hegazy, M.F., Moustfa, A.Y., Mohamed, A.E.H., Alhammady, M.A., Elbehairi, S.E.I., **Ohta, S.**, Pare, P.W., 2014. New cytotoxic halogenated sesquiterpenes from the Egyptian sea hare, *Aplysia oculifera*. *Tetrahedron Lett.* **55**: 1711-1714.
- 太田伸二・菅原詩帆. 2014. 昆虫および海洋生物由来の老化予防物質. 「化粧品安全・安心の科学—パラベン・シリコン・新原料—」(島田邦男 監修) シーエムシー出版, 東京: pp. 187-197.
- Nakada, K., Fujisawa, K., **Horiuchi, H.**, **Furusawa, S.**, 2014. Studies on Morphology and Cytochemistry in Blood Cells of Ayu *Plecoglossus altivelis altivelis*. *J. Vet. Med. Sci.* **76**: 693-704.
- 堀内浩幸. 2014. ニワトリの胚性幹細胞研究と培養技術. 「<最新>動物細胞培養の手法と細胞死・増殖不良・細胞変異を防止する技術」(株)技術情報協会, 東京: pp. 375-379.

Food Science and Biofunctions 食資源科学講座

- Haraguchi, T., Kayashima, T., Okazaki, Y., Inoue, J., Mineo, S., Matsubara, K., Sakaguchi, E., **Yanaka, N.**, **Kato, N.**, 2014. Cecal succinate elevated by some dietary polyphenols may inhibit colon cancer cell proliferation and angiogenesis. *J. Agric. Food Chem.* **62**: 5589-5594.
- Okazaki, Y., Fukuda, E., Chiji, H., **Kato, N.**, 2014. Edible Lily Bulb Modulates Colonic Barrier Functions, Microflora and Fermentation in Rats Fed a High-Fat Diet. *J. Nutr. Health Food Sci.* **2**: 7. <http://dx.doi.org/10.15226/jnhfs.2014.00112>.
- Osaki, A., Okazaki, Y., Kimoto, A., Izu, H., **Kato, N.**, 2014. Beneficial effect of a low dose of ethanol on liver function and serum urate in rats fed a high-fat diet. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **60**: 408-412.
- Sanada, Y., Kumoto, T., Suehiro, H., Yamamoto, T., Nishimura, F., **Kato, N.**, **Yanaka, N.**, 2014. I κ B kinase epsilon expression in adipocytes is upregulated by interaction with macrophages. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **78**: 1357-1362.
- Tomotake, H., Kayashita, J., **Kato, N.**, 2014. Hypocholesterolemic activity of common (*Fagopyrum esculentum* Moench) and tartary (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) buckwheat. *J. Sci. Food Agric.* **94**: DOI 10.1002/jsfa.6981.
- Zhang, P., Suidasari, S., Hasegawa, T., **Yanaka, N.**, **Kato, N.**, 2014. Vitamin B₆ activates p53 and elevates p21 gene expression in cancer cells and the mouse colon. *Oncol. Rep.* **31**: 2371-2376.
- Pan, X. J., **Nakano, H.**, 2014. Effects of chlorine-based antimicrobial treatments on the microbiological qualities of selected leafy vegetables and wash water. *Food Sci. Technol. Res.* **20**: 765-774.

- Pan, X. J., Mak, L.M., **Nakano, H.**, 2014. Efficacy of essential oils on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in vegetable juice. *Food Sci. Technol. Res.* **20**: 1043-1049.
- Ahmed, A. M., **Shimamoto T.**, 2014. Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. *Int. J. Food Microbiol.* **168-169**: 57-62.
- Ahmed, A. M., **Shimamoto, T., Shimamoto, T.**, 2014. Characterization of integrons and resistance genes in multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolated from meat and dairy products in Egypt. *Int. J. Food Microbiol.* **189**: 39-44.
- Hammad, A. M., **Shimamoto T., Shimamoto T.**, 2014. Genetic characterization of antibiotic resistance and virulence factors in *Enterococcus* spp. from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *Food Microbiol.* **38**: 62-66.
- Kamimoto, M., Nakai, Y., Tsuji, T., **Shimamoto, T., Shimamoto, T.**, 2014. Antiviral effects of persimmon extract on human norovirus and its surrogate, bacteriophage MS2. *J. Food Sci.* **79**: M941-M946.
- Ikeda-Naito, E., **Hondoh, H., Ueno, S., Sato, K.**, 2014. Mixing Phase Behavior of 1,3-Dipalmitoyl-2-Oleoyl-*sn*-Glycerol (POP) and 1,2-Dipalmitoyl-3-Oleoyl-*rac*-Glycerol (PPO) in *n*-Dodecane Solution. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **91**: 1837-1848.
- Sato K., **Ueno S.**, 2014. Physical Properties of Fats in Food, In "Fats in Food Technology", Ed. K. Rajah, John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, UK : pp. 1-38.
- Verstringe, S., Dewettinck, K., **Ueno, S., Sato, K.**, 2014. Triacylglycerols crystal growth: templating effects of partial glycerols studied with synchrotron radiation microbeam X-ray diffraction. *Cryst. Growth Des.* **14**: 5219-5226.
- 上野 聡. 2014. 食品エマルションの油脂結晶構造と物性評価. 「エマルションの特性評価と新製品開発, 品質管理への活用—吸着挙動の解析, 界面張力の測定, 構造の解析, 安定性の評価—」技術情報協会, 東京 : pp. 335-341.
- 上野 聡・本同宏成・佐藤清隆. 2014. 脂質の準安定相結晶化と応用開発. *日本結晶成長学会誌.* **40**: 34-42.
- 上野 聡. 2014. チョコレートをおいしくする物理化学. *化学と教育.* **62**: 20-21.
- 上野 聡・高橋 浩. 2014. 脂質の相転移と結晶化. *熱測定学会誌.* **41**: 104-112.
- 上野 聡. 2014. エマルションを利用した油脂の結晶化制御. *FFI ジャーナル.* **219**: 339-349.
- Harnkarnsujarit, N., Nakajima, M., **Kawai, K., Watanabe, M., Suzuki, T.**, 2014. Thermal properties of freeze-concentrated phosphate-sugar solutions. *Food Biophysics* **9**: 213-218.
- Kawai, K., Toh, M., Hagura, Y.**, 2014. Effect of sugar composition on the water sorption and softening properties of cookie. *Food Chemistry* **145**: 772-776.
- Sugiyama, H., **Kawai, K., Hagura, Y.**, 2014. Optimization of the drying temperature of noodle sheets to reduce energy costs and avoid forming damage. *Journal of Food Processing and Preservation* **38**: 1743-1748.
- 羽倉義雄. 2015. 温度制御による物性変化を利用した食品の機械的加工. *日本食品工学会誌.* **16**: 1-12.
- 杉山 久・川井清司・羽倉義雄. 2014. 即席麺の蒸し処理が乾燥速度に与える影響. *日本食品保蔵科学会誌.* **40**: 15-19.
- Goto-Yamamoto, N., Koyama, K., Tsukamoto, K., Kamigakiuchi, H., Sumihiro, M., Okuda, M., Hashiguchi, T., Matsumaru, K., Sekizawa, H., Shimoi, H.**, 2014. Transfer of cesium and potassium from grapes to wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **65**: 143-147.
- Hashizume, K., Ito, T., Nakayama, A. **Okuda, M.**, 2014. Analysis of ferulic and p-coumaric acids in Japanese rice for sake brewing. *Cereal Chem.* **91**: 45-49
- Koyama, K., Numata, M., Nakajima, I., **Goto-Yamamoto, N., Matsumura, H., Tanaka, N.**, 2014. Functional characterization of a new grapevine MYB transcription factor and regulation of proanthocyanidin biosynthesis in grapes. *J. Exp. Bot.* **65**: 4433-4449.

- Mukai, N., **Masaki, K., Fujii, T., Iefuji, H.**, 2014. Single nucleotide polymorphisms of *PADI* and *FDCI* show a positive relationship with ferulic acid decarboxylation ability among industrial yeasts used in alcoholic beverage production. *J. Biosci. Bioeng.* **118**: 50-55.
- Nishibori, N., Sasaki, K., Okimori, Y., Kanai, M., Isogai, A., Yamada, O., **Fujii, T., Goto-Yamamoto, N.**, 2014. Yeast cell lysis enhances dimethyl trisulfide formation in sake. *J. Biosci. Bioeng.* **118**: 526-528.
- Sasaki, K., Nishibori, N., Kanai, M., Isogai, A., Yamada, O., **Goto-Yamamoto, N., Fujii, T.**, 2014. Statistical analysis of sake-preparation conditions and dimethyl trisulfide formation. *J. Biosci. Bioeng.* **118**: 166-171.
- Takahashi M., **Masaki K., Mizuno A., Goto-Yamamoto N.**, 2014. Modified COLD-PCR for detection of minor microorganisms in wine samples during the fermentation. *Food Microbiology* **39**: 74-80.
- Takahashi, M., Ohta, T., **Masaki, K., Mizuno, A., and Goto-Yamamoto, N.**, 2014. Evaluation of microbial diversity in sulfite-added and sulfite-free wine by culture-dependent and -independent methods. *J. Biosci. Bioeng.* **117**: 569-575.
- Utashima, Y., Matsumoto, H., **Masaki, K., and Iefuji, H.**, 2014. Heterologous production of horseradish peroxidase C1a by the basidiomycete yeast *Cryptococcus* sp. S-2 using codon and signal optimizations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **98**: 7893-7900.
- 藤井 力・磯谷敦子・伊豆英恵・神田涼子・松丸克己・木崎康造. 2014. 平成24酒造年度全国新酒鑑評会 出品酒の分析について. *酒類総合研究所報告*. **186**: 1-16.
- 渡部貴志・藤井 力・家藤治幸・北本宏子. 2014. 飼料用酵母 *Candida utilis* による焼酎蒸留粕廃液の窒素除去と資源化の検討. *醸造協会誌*. **109**: 82-88.
- 正木和夫. 2014. 油脂酵母によるバイオディーゼル生産. *バイオサイエンスとインダストリー*. **72**: 29-31
- 正木和夫・家藤治幸. 2014. 担子菌酵母クリプトコッカスによる酵素生産 新たな発現系が開く可能性. *化学と生物*. **52**: 790-792.
- 奥田将生・水谷 治・金井宗良・住広匡謙・上用みどり・後藤奈美・福田 央・山田 修. 2014. 焼酎製造におけるセシウム等の無機元素の挙動. *醸協*. **109**: 808-812.
- 奥田将生・上用みどり・福田 央・後藤奈美. 2014. 精米による酒造用原料米の無機元素濃度の変化. *醸協*. **109**: 887-900.
- 奥田将生. 2014. 酒造用原料米の澱粉の分子構造及び老化特性と酒造適性. *応用糖質科学*. **4**: 193-201.
- 奥田将生. 2014. 夏の気候からお酒造りを想像する. *バイオサイエンスとインダストリー*. **72**: 52.
- 奥田将生. 2014. イネ栽培時の気象条件と酒造用原料米の酒造適性. *温故知新*. **51**: 27-34.

Modeling and management of environment of environmental dynamics division

環境予測制御論講座

- Hayashi, K., Cooper, E.J., Loonen, M.J.J.E., Kishimoto-Mo, A.W., Motohka, T., Uchida, M., **Nakatsubo T.**, 2014. *Polar Sci.* **8**: 196-206.
- Sasaki, A., Nakao, H., Yoshitake, S., Nakatsubo, T.**, 2014. Effects of the burrowing mud shrimp, *Upogebia yokoyai*, on carbon flow and microbial activity on a tidal flat. *Ecol. Res.* **29**: 493-499.
- 青山幹男・山本晃弘・福永みちる・中坪孝之. 2014. 広島大学東広島キャンパスのトンボ相. *広島大学総合博物館研究報告*. **6**: 51-60.
- Kim, W. and the other 37 members (including **Toda, M.**) 2015. Fluxpro as a realtime monitoring and surveilling system for eddy covariance flux measurement, *J. Agric. Meteorol.* **71**: 32-50.
- 戸田 求・横沢正幸・原登志彦. 2014. 第12章環境変動と北方林生態系応答. 気象研究ノート「北半球寒冷圏陸域の気候・環境変動」, (飯島慈裕・佐藤友徳編著) 日本気象学会, 東京, **230**: 259-167.
- 戸田 求・福澤加里部・中村誠宏・田中幹展・吉田俊也・柴田英昭・王 新・石田祐宣・宮田理恵(2015) 台風攪乱が北方森林の生理・生態および生態系炭素動態へ及ぼす影響. *低温科学*, **73**: 21-29.

- Hayashi, A., Asaoka, S., Watanabe, T., Kaneko, R., Takahashi, K., Miyata, Y., Kim, K. H., **Yamamoto, T.**, Inoue, R., Ariyama, T., 2014. Mechanism of suppression of sulfide ion in seawater using steelmaking slag. *ISIJ International* **54**: 1741-1748.
- Kim, K. H., Okada, K., **Yamamoto, T.**, Hayakawa, S. 2014. Mechanism of hydrogen sulfide removal from sediments of aquatic environments by granulated coal ash. *Proceedings of the 18th Hiroshima International Symposium on Synchrotron Radiation*, Higashi-Hiroshima, Japan, pp. 92-93.
- Kim, K. H., Hibino, T., **Yamamoto, T.**, Hayakawa, S., Mito, Y., Nakamoto, K., Lee, I. C. 2014. Field experiments on remediation of coastal sediments using granulated coal ash. *Mar. Poll. Bull.* **83**: 132-137.
- Okada, K., **Yamamoto, T.**, Kim, K. H., Asaoka, S., Hayakawa, S., **Takeda, K.**, Watanabe, T., Hayashi, A., Miyata, Y. 2014. Removal of hydrogen sulfide with steelmaking slag by concurrent reactions of sulfide mineralization and oxidation. *Ecol. Eng.* **63**: 122-126.
- 宮田康人・林 明夫・桑山道弘・山本民次・卜部憲登. 2014. 製鋼スラグによる福山内港底泥中硫化水素の低減試験. *鉄と鋼*, **100**: 421-428.
- 宮田康人・林 明夫・桑山道弘・山本民次・卜部憲登. 2014. 製鋼スラグによる底泥中硫化水素抑制の実海域試験. *鉄と鋼*, **100**: 1426-1432.
- 中原駿介・山本民次・桑原智之・樋野和俊・安野孝生. 2014. 中海底泥近傍でのFePSMnO循環のモデル化. *2015年度日本沿岸域学会研究討論会講演概要集*, CD-ROM版, pp. 4.
- 西嶋 渉・奥田哲士・中井智司・山本民次・佐々木晶子・陸田秀実・中野陽一・藤井貴敏・田尾博明・鈴木昌弘・左山幹雄・釣島修夫・中里哲也・長尾正之・谷本照己・高橋 暁. 2014. 鉄鋼スラグと浚渫土により造成した干潟・藻場生態系内の物質フローと生態系の評価. *環境省環境研究総合推進費成果報告書*, pp. 103.
- 杉本憲司・中野陽一・高濱繁盛・山本民次・土田 孝・関根雅彦・岡田光正. 2014. 製鋼スラグを用いた岩礁性藻場育成基盤の造成. *土木学会論文集 B2 (海岸工学)*, **70**: I_1231-I_1235.
- 山本民次. 2014. 里海創生. 水産海洋学入門, 水産海洋学会 (編). 講談社, 東京, pp. 210-217.
- 山本民次. 2014. 瀬戸内海西部海域における貧栄養化. *沿岸海洋研究*, **52**: 49-58.
- 山本民次・高橋祥平・清田忠志・河尻義孝・竹田一彦. 2014. 沿岸海洋生態系再生のための鉄溶出施肥材の開発. *水産工学*, **51**: 105-115.
- 山本民次. 2014. 瀬戸内海の貧栄養化について (再考). *日本マリンエンジニアリング学会誌*, **49**: 496-501.
- 山本民次. 2014. 貧栄養化によって想定される生態系構造の変化. *水産海洋研究*, **78**: 236-237.
- 山本民次. 2014. 瀬戸内海の水底質環境と生態系修復技術. *環境と安全*, **5**: 199-203.
- 山本民次・桑原智之・岡田佳祐・中原駿介・中野陽一・藤井貴敏・伊達勇介・青木 薫・小田耕平・樋野和俊・安野孝生. 2014. 中海窪地修復のための石炭灰造粒物の施工の効果について. *2015年度日本沿岸域学会研究討論会講演概要集*, CD-ROM版, p.4.
- 山本民次・宮田康人・藪田和哉. 2014. 酸素供給によるスラグ表面での硫化水素低減能の復活と持続性に関する研究. *平成 25 年度 JFE と広島大学の包括協定に基づく報告書*, 8 pp.
- 山本民次. 2014. 実海域における Hi- ビーズの環境改善メカニズムに関する研究. *平成 25 年度共同研究報告書*, p.14.
- 山本民次・弘中 諭・尾上高貴. 2014. 転炉スラグによる海域の生物生息環境に関する研究. *平成 25 年度共同研究報告書*, p.23.
- 山本民次・河尻義孝・清田忠志. 2014. 水生生物の増殖方法. 出願特許. 国立大学法人広島大学・日の丸カーボテック株式会社, 特願2014-113751.
- Takeda, K.**, Katoh, S., Mitsui, Y., Nakano, S., Nakatani, N., **Sakugawa, H.**, 2014. Spatial distributions of and diurnal variations in low molecular weight carbonyl compounds in coastal seawater, and the controlling factors. *Marine Chem.* **157**, 208-215.
- 万代小百合, 佐久川弘. 2014. オゾンおよびフェナントレンがナス, インゲンマメの葉に及ぼす影響. *大気環境学会誌*, **49**: 233-241.

三宅隆之, 新垣雄光, 佐久川弘. 2014. 広島県極楽寺山の森林地域における露の化学組成と OH ラジカル生成能の推定. *大気環境学会誌*, **49**: 157-166.

Assessment of environmental dynamics division 環境評価論講座

Condon, R. H., Lucas, C. H., Pitt, K. A., Uye, S., 2014. Introduction: Jellyfish blooms and ecological interactions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **510**: 109-110.

Conley, K., Uye, S., 2014. Effects of hyposalinity on survival and settlement of moon jellyfish (*Aurelia aurita*) planulae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **462**: 14-19.

Fu, Z., Shibata, M., Makabe, R., Ikeda, H., Uye, S., 2014. Size reduction under starvation and point of no return in ephyrae of the moon jellyfish *Aurelia aurita* s.l. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **510**: 255-263.

Makabe, R., Furukawa, R., Takao, M., Uye, S., 2014. Marine artificial structures as amplifiers of *Aurelia aurita* s.l. blooms: a case study of a newly installed floating pier. *J. Oceanogr.* **70**: 447-455.

Malej, A., Kogovsek, T., Uye, S., 2014. Medusae – Pest or resource for humans? *Biol. Mar. Mediterr.* **21**: 2-9.

Robinson, K. L., Ruzicka, J. J., Decker, M. B., Brodeur, R. D., Hernandez, F. J., Qulnones, J., Acha, E. M., Uye, S., Mianzan, H., Graham, W. M., 2014. Jellyfish, forage fish, and the world's major fisheries. *Oceanogr.* **27**: 78-89.

Takao, M., Okawachi, H., Uye, S., 2014. Natural predators of polyps of *Aurelia aurita* s.l. (Cnidaria: Scyphozoa: Semaestomeae) and their predation rates. *Plankton Benthos Res.* **9**: 105-113.

William, G. M., Gelcich, S., Robinson, K. L., Duarte, C. M., Brotz, L., Purcell, J. E., Madin, L. P., Mianzan, H., Sutherland, K. R., Uye, S., Pitt, K. A., Lucas, C. H., Bøgeberg, M., Brodeur, R. D., Condon, R. H., 2014. Linking human well-being and jellyfish: ecosystem services, impacts and societal responses. *Front. Ecol. Environ.* **12**: 515-523, doi:10.1890/130298.

真壁竜助・栗原拓也・上 真一. 2014. 音響カメラによるミズクラゲの分布特性把握および現存量推定. *日本プランクトン学会報*. **61**: 82-86.

Nakai, R., Naganuma, T., 2015. *Oligoflexia*, the newest class of the phylum Proteobacteria, consisting of only one cultured species and uncultured bacterial phylotypes from diverse habitats. *Journal of Phylogenetics and Evolutionary Biology* **3**: 141. DOI:10.4172/2329-9002.1000141.

Nakai, R., Nishijima, M., Tazato, N., Handa, Y., Karray, F., Sayadi, S., Isoda, H., Naganuma, T., 2014. *Oligoflexus tunisiensis* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, filamentous bacterium of a novel proteobacterial lineage, and description of *Oligoflexaceae* fam. nov., *Oligoflexales* ord. nov. and *Oligoflexia* classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **64**: 3353-3359. <COVER PHOTO>

ビートたけし・関野吉晴・塚本勝巳・長沼 毅・佐藤克文・窪寺恒己・鎌田浩毅・村山 斉・西江雅之・萩巢樹徳・山極寿一・松浦健二. 2014. 『たけしのグレートジャーニー』新潮社, 東京: 240. ISBN 978-4103812210.

倉持卓司・倉持敦子・厚井晶子・長沼 毅. 2014. 鹿児島県薩摩硫黄島沖から採集されたトサパイブヨウラク (軟体動物門, 腹足綱, アッキガイ科) の記録. *生物圏科学*, **53**: 23-26.

倉持卓司・厚井晶子・長沼 毅. 2014. 薩摩硫黄島沖より採集されたウミタケガイモドキ属2種の記録 (軟体動物門, 二枚貝綱, 異靱帯目, ウミタケガイモドキ科). *南紀生物*. **56**: 131-132.

丸本 浩・長沼 毅・三好美織・杏脱侑記・岡本英治・小茂田聖士・山下雅文・西山和之・田中伸也・林靖弘・間處耕吉・平賀博之. 2015. 世界で活躍する科学者を育成するための教育に関する研究 (II). *広島大学 学部・附属学校共同研究機構研究紀要*. **43**: 317-327.

長沼 毅・倉持卓司. 2015. 「超ディープな深海生物学」祥伝社新書, 東京: p. 236. ISBN 978-4-936-11397-1.

長沼 毅. 2014. 謎の深海生物から宇宙生命を考える『わたしがつくる物語』水曜社, 東京: pp. 158-173. ISBN 978-4-88065-347-1.

- 長沼 毅. 2014. ナノサイズの微生物「環境と微生物の事典」朝倉書店, 東京: p. 72. ISBN 978-4-254-17158-7.
- 長沼 毅・武田正倫・土田真二. 2014『深海生物大百科』(監修)学研教育出版, 東京: p. 175. ISBN 978-4052039836.
- 長沼 毅. 2014『「なぜ？」に答える科学のお話366』PHP 研究所, 東京: p. 448. ISBN 978-4569784076.
- 夢枕 獯・池谷裕二・佐藤勝彦・岡村道雄・長沼 毅・島蘭 進・窪寺恒己・八代嘉美・ビートたけし. 2014『人間って何ですか?』集英社新書, 東京: pp. 200. ISBN 978-4087207361.
- Kozuki, A., Ishida, Y., Kakibuchi, K., Mishima, T., **Sakurai, N.**, Murata, Y., Nakano, R., Ushijima, K., Kubo, Y., 2015. Effect of postharvest short-term radiation of near infrared light on transpiration of lettuce leaf. *Postharvest Biol. Technol.* **108**: 78-85.
- Sasanami, T., Izumi, S., **Sakurai, N.**, Hirata, T., Mizushima, S., Matsuzaki, M., Hiyama, G., Yorinaga, E., Yoshimura, T., Ukena K., Tsutsui, K., 2015. A unique mechanism of successful fertilization in a domestic bird. *Sci. Rep.* **5**: 7700.
- Takahashi, M., Yamamoto, R., **Sakurai, N.**, Nakano, Y. Takeda, T., 2014. Fungal hemicellulose-degrading enzymes cause physical property changes concomitant with solubilization of cell wall polysaccharides. *International Journal of Plant Biology* **241**: 359-370.
- 文室政彦・堀川勇次・櫻井直樹. 2014. ブラッドオレンジとハッサクのす上がり果判別における音響振動法の適用. *園芸学研究*. **13**: 365-370.
- 大江孝明・岡室美絵子・櫻井直樹・土田靖久・山崎哲弘・奥井弥生・石原紀恵・城村徳明(2014)ウメ‘南高’における光条件の違いが梅酒の香気, 苦みおよび機能性成分に及ぼす影響. *園芸学研究*. **13**: 343-347.
- 鈴木哲也・新川 猛・櫻井直樹. 2014. 1-MCP 処理およびポリエチレン包装によるカキ‘太秋’の食感保持技術の開発. *園芸学研究*. **13**: 275-282.
- 鈴木哲也・新川 猛・中野浩平・神山真一・櫻井直樹. 2015. 音響振動法によるカキ‘早秋’の果肉評価と果肉強度保持技術の開発. *園芸学研究*. **14**: 75-81.
- Kawaguchi, K., Senoura, T., Ito, S., Taira, T., Ito, H., **Wasaki, J.**, Ito, S. 2014. The mannobiose-forming exo-mannanase involved in a new mannan catabolic pathway in *Bacteroides fragilis*. *Arch. Microbiol.* **196**: 17-23.
- 和崎 淳. 2014. ブラシのような姿にビックリ, ルーピンの「スゴイ根」. *現代農業*, 1月号: 102-104.

Cooperative institutes 連携機関

National Research Institute of fisheries and environment of inland sea, fisheries research agency

- Uchida, M., Miyoshi, T., **Yoshida, G.**, Niwa, K., Mori, M., Wakabayashi, H. Isolation and characterization of halophilic lactic acid bacteria acting as a starter culture for sauce fermentation of the red alga *Nori* (*Porphyra yezoensis*). *Journal of Applied Microbiology* **116**: 1506-1520.
- 堀 正和・濱岡秀樹・吉田吾郎. 2014. 生態系構造の変化に伴うヒステリシスとその脆弱性. *水産海洋研究*. **78**: 239-242.
- 伊藤龍星・原 朋之・樋下雄一・藤吉栄次・玉城泉也・小林正裕・阿部真比古・吉田吾郎・菊地則雄. 2014. 国東半島および別府湾におけるアサクサノリほか絶滅危惧種アマノリ類の分布. *大分県農林水産研究指導センター研究報告(水産研究部編)*. **4**: 9-22.
- 吉田吾郎・鳥袋寛盛・森口朗彦・堀 正和・濱岡秀樹・高田茂弘・田井中剛・加藤亜紀. 2014. 瀬戸内海西部の屋代島, 平郡島における海藻藻場の特性 一特にホンダワラ類とクロメの垂直分布について. *生物圏科学*. **53**: 1-22.
- 吉田吾郎. 2014. アマモ場の‘見えざる’機能と沿岸漁業. *水産海洋研究*. **78**: 194-196.

NOTICE

All communication relating to this journal should be addressed to:

The Committee of the Journal,
Graduate School of Biosphere Science,
Hiroshima University,
Kagamiyama 1-4-4, Higashi-Hiroshima, 739-8528, Japan

Committee of the Journal for 2015

Norihisa KATO (Food Science and Biofunction, Professor)*

Takeshi TOMIYAMA (Aquatic Biology, Associate Professor)

Keizou TESHIMA (Molecular and Applied Bioscience, Associate Professor)

Motom TODA (Land-Atmosphere Interactions, Associate Professor)

*Chairman of the Committee (nkato@hiroshima-u.ac.jp)

平成27年12月21日印刷

平成27年12月25日発行

非 売 品

編集発行者 広島大学大学院生物圏科学研究科

〒739-8528 東広島市鏡山1丁目4の4

電話(082)422-7111(代表)

印刷所 株式会社ニシキプリント 印刷者 宮崎 真

〒733-0833 広島市西区商工センター7丁目5-33 電話(082)277-6954(代)

Biosphere Science

Journal of the Graduate School of Biosphere Science,
Hiroshima University, Vol. 54, 2015

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

- Kazuya KODA, Chiharu TAMAMORI,
Kento GOTO, Masaki YAMAMOTO,
Sho TAKAYAMA and Tetsuya UMINO 1 Discrimination of stock origin of spawning population of ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* at the Ota River, Hiroshima Prefecture
- Atsushi TSUYUKI, Ryuma OKAZAKI,
Tetsuya UMINO, Kuniaki TAKESHITA 7 *Monstrotyphis tosaensis* (Mollusca, Gastropoda, Muricidae) collected from off-Satsuma Iōjima Island, northern Satsunan Islands, Japan
- Koichiro KAWAI, Hidetoshi SAITO and Katsuo SUGIMARU 13 Studies on ecology of marine chironomids in southwestern Japan
- Makoto URATA, Hayato TANAKA and Susumu OHTSUKA 21 Molecular Identification of "Gum Gum": a Food Mole Crab *Hippa adactyla* from Papua New Guinea
- Goro YOSHIDA, Masakazu HORI,
Hiromori SHIMABUKURO, Hideki HAMAOKA
and Sadaharu IWASAKI 29 Production of *Zostera marina* with different shoot size and stand structures in the Seto Inland Sea, Japan – production in the luxuriant season in 2012 –
- Natsumi TSUJITA, Rie KURODA,
Izumi OKUMURA, Sayaka YOSHIOKA,
Minami NAKATANI, Hiroki KOYAMA and
Hisato KUNYOSHI 45 Characterization of Clonal Polyp Strains Established from *Aurelia* sp. Inhabiting the Seto Inland Sea of Japan
- Atsuko KURAMOCHI, Takashi KURAMOCHI,
Akiko KOI, and Takeshi NAGANUMA 55 Record of *Lyonsia kawamura* Habe, 1952 collected from the Seto Inland Sea (Mollusca, Bivalvia, Lyonsiidae)
- Takashi KURAMOCHI, Atsuko KURAMOCHI,
Akiko KOI, and Takeshi NAGANUMA 61 New records of sea cucumbers collected from the Seto Inland Sea (Echinodermata, Holothuria, Dendrochirotida)
- Kazuya NAGASAWA and Midori OBE 65 The ergasilid copepod *Neoergasilus japonicus* infecting smallmouth bass *Micropterus dolomieu* in central Japan
- Kazuya NAGASAWA and Ryo-ichi TORII 71 *Lernaea cyprinacea* (Copepoda: Lernaeidae) and *Argulus* sp. (Branchiura: Argulidae) parasitic on the freshwater goby *Rhinogobius* sp. TO endemic to Japan
- Kazuya NAGASAWA, Akihiko AKIYAMA and
Koichiro KAWAI 75 Two new prefectural records in Japan for the salmonid parasite, *Salvelinema salmonicola* (Nematoda: Cystidicolidae)
- Kazuya NAGASAWA 81 A giant trematode *Hirudinella* sp. in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, cultured in Japan
- Toshihiro SIGETA, Keisuke FURUMITSU,
Atsuko YAMAGUCHI, Takeshi TOMIYAMA,
Yoichi SAKAI, and Hidetoshi SAITO 89 *Takifugu rubripes* predation on the venomous stingray *Dasyatis akajei*: gut content evidence from an estuary in the western Seto Inland Sea, Japan
- ### REVIEW
- Shigeru YOSHIDA 99 Osteoporosis in lactating dairy cows
- Kazuya NAGASAWA 113 A 2015 update and corrections to the checklist of the parasitic copepods of fishes and invertebrates of the Seto Inland Sea, Japan
- Kazuya NAGASAWA and Daisuke UYENO 125 A checklist of copepods of the family Lernaeopodidae (Siphonostomatoida) from fishes in Japanese waters (1939-2015)
- ### SPECIAL CONTRIBUTION
- Kohzo TANIGUCHI 153 Japanese government policies to universities and 30 years of Graduate School of Biosphere Science
- ### INFORMAION
- 165 Doctoral Dissertation Abstracts
- 201 List of Master Theses
- 204 Reports of Studies supported by Grant-in-Aid for Research from the Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University
- 209 List of Papers by the Faculty Staff (2014)