

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 SCIENCE FOR BIOSHERIC COEXISTENCE

ANAKA

AWANA

OTOKI

DEPARTMENT OF BIORESORCE SCIENCE < DEPARTMENT OF BIORESORCE SCIENCE AND TECHNOLOGY >

ATSUDA

OTO

ADINABEITIA

SHIRAISHI

ABDEL MAGEED

ORIE

HOUICHOM

OTO

DEPARTMENT OF BIOFUNCTIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY

LTELIB

AKANO

ARADA

ASSANAYAKE

ALAMGIR

KATO

DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL DYNAMICS AND MANAGEMENT

WICKRAMATILAKE

YAMAMOTO

WATANABE

EIDA

YAMASHITA

UEDE

DESSERTATION PhD

YAMASHITA

NAEKAWA

ARIMA

LU

The effect of explicit and implicit perceptual training on anticipation of a pitched ball

TANAKA

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

投球予測における顕在的および潜在的知覚トレーニングの効果

田中 ゆふ

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

第1章 先行研究の動向と課題および本研究の目的

外的な環境の変化に対して瞬時の反応が要求されるオープンスキルを中心としたスポーツでは、相手選手の動作に関する情報を迅速かつ正確に抽出し、その情報に基づいて事前に運動遂行のプランを構築するための予測スキルが重要である。

本研究では、迅速かつ正確な予測スキルが要求される野球の投球予測において、顕在的および潜在的知覚トレーニングが予測の早さと正確性に及ぼす影響を熟練度や先行情報の要因を含めて検討することを目的とした。

顕在的および潜在的知覚トレーニングの効果を検討するためには、相手選手の動作に関する予測手掛かりに対して異なる意識化を導くことが重要である。そのため、第 2 章と第 3 章にわたる 2 つの実験を通して、投球動作に関する予測手掛かりの意識化を促すための教示を与える群（以下顕在教示群とする）と意識化の抑制を促すために「直感で反応せよ」という教示を与える群（以下潜在教示群とする）を設け、これらの群に与える各教示が投球動作に関する予測手掛かりの意識化をどの程度導くのかを測定し、顕在的教示群と潜在教示群における投球動作に関する予測手掛かりの意識度に違いがあることを確認することとした。

第2章 準熟練者と未熟練者を対象とした顕在的および潜在的知覚トレーニングの効果

本章では、野球の準熟練者と未熟練者を対象に投球予測における顕在的および潜在的知覚トレーニングの効果は予測の早さと正確性に及ぼす影響を調べることを第 1 章の目的とした。第 2 章の目的は、知覚トレーニングで用いた投手以外の投球映像に対する予測スキルの転移について調べることにした。各テストでは課題の複雑性の影響を検討するために知覚トレーニングで用いた 4 選択の予測条件に加えて、課題の複雑性を軽減した 2 選択の予測条件を設けた。

その結果、投球動作に関する予測手掛かりの意識化は、準熟練者、未熟練者ともに、顕在教示群に比べて潜在教示群が低かった。予測スキルについては、熟練度間で異なる結果が示され、準熟練者では 4 選択の予測条件において顕在的知覚トレーニングと潜在的知覚トレーニングの両方が知覚トレーニングの早期での学習効果を導いた。未熟練者では顕在的知覚トレーニングにおいて 2 選択の予測条件で知覚トレーニングの早期での予測スキルの向上が認められたが、潜在的知覚トレーニングでは予測スキルの向上が見られなかった。したがって、準熟練者は未熟練者に比べて顕在的知覚トレーニングと潜在的知覚トレーニングの両方において優れた学習効果を導くことが明らかとなった。しかし、熟練度を問わず転移の効果は示されなかった。

第3章 準熟練者と未熟練者を対象とした先行情報がある状況における顕在的および潜在的知覚トレーニングの効果

本章では、準熟練者と未熟練者を対象に投球予測における顕在的および潜在的知覚トレーニングが予測の早さと正確性に及ぼす影響を先行情報が与えられる条件を含めて検討することを目的とした。なお、予測条件は 2 選択の条件のみであった。

その結果、準熟練者と未熟練者の両方において先行情報に対する意識化が生じたが、投球動作に関する予測手掛かり意識化については、顕在教示群に比べて潜在教示群が低く、顕在教示による意識化の促進と潜在教示による意識化の抑制が示された。つまり、先行情報に意識を向ける状況においても顕在教示と潜在教示が有効であったと言える。さらに、熟練度を問わず先行情報に対する意識化が知覚トレーニングの効果に影響を及ぼさないことが示された。したがって、実際の競技場面で生じると考えられる先行情報が介在し、意識を向ける状況においても、顕在的および潜在的知覚トレーニングで獲得された予測スキルを遂行することが可能であることが示された。

予測スキルについて、準熟練者では顕在的知覚トレーニングと潜在的知覚トレーニングの両方が知覚トレーニングの早期での予測スキルの向上を導いた。未熟練者については、顕在的知覚トレーニングでは準熟練者と同様に早期の学習効果が見られた一方で、潜在的知覚トレーニングは顕在的知覚トレーニングに比べて多くの知覚トレーニングの量を必要とすることが示された。したがって、顕在的知覚トレーニングは、熟練度を問わず知覚トレーニングの早期での予測スキルの向上を導き、潜在的知覚トレーニングでは準熟練者が未熟練者に比べて優れた予測スキルの学習効果を示した。

第4章 総合考察

本研究では、顕在的および潜在的知覚トレーニングの効果を検討するために、2つの実験を通して投球動作に関する予測手掛かりの意識化を測定した。その結果、全ての実験において、顕在的および潜在的知覚トレーニングにおける投球動作に関する予測手掛かりの意識度の違いが確認され、顕在教示群における意識化の促進、ならびに潜在教示群による意識化の抑制が示された。

予測スキルについては、異なる熟練度において顕在的および潜在的知覚トレーニングの効果が示されたが準熟練者の顕在的知覚トレーニングと潜在的知覚トレーニングの効果は未熟練者に比べて優れていた。準熟練者が未熟練者に比べて優れた学習効果を示した原因として、過去の競技経験によって構築されたスポーツ特定の知識が顕在的および潜在的知覚トレーニングの効果を促進した可能性が示唆された。最後に、準熟練者と未熟練者のそれぞれに対して顕在的知覚トレーニングと潜在的知覚トレーニングを実施する際の提言を行った。準熟練者に対しては、選択と選択という予測条件に関わらず、顕在的知覚トレーニングと潜在的知覚トレーニングの両方が有効であり、トレーニングの早期での学習効果が期待される。しかし、未熟練者を対象とする際には2選択という複雑性が低い予測条件においてのみ、顕在的知覚トレーニングと潜在的知覚トレーニングの両方が予測スキルの向上を導くが、顕在的知覚トレーニングは潜在的知覚トレーニングに比べて早期の学習効果を導くと言える。

キーワード：顕在学習，潜在学習，教示，先行情報，予測スキル，野球

Eco-physiological effects of suspended smectite on fish

AWANA

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

スメクタイトが魚類の生理・生態に及ぼす影響

川那 公士

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

水中の懸濁物質量は、降雨や護岸工事など様々な要因によって増加する。これらの懸濁物質量の増加が魚類に及ぼす影響については、多くの研究がなされているが、主として淡水魚類、特にサケ科魚類に集中しており、海産魚類に関する知見は少ない。一方、近年、出水時に河川から海域に流入する懸濁物質が海洋生物にも影響を及ぼす可能性が指摘されていることから、海産魚類に及ぼす懸濁物質の影響の解明も必要とされている。本研究では、懸濁物質の主な構成物質である粘土のうち、出水時の河川水中に含まれ、海水に出会うと急激に沈降して河口から沿岸部の底棲生物に影響を及ぼすとされるスメクタイトに注目し、本物質が魚類に及ぼす生理学的影響を検討した。

第1章 懸濁維持装置の開発とその検証

懸濁物質が魚類に及ぼす影響を検討するにあたり、どんな懸濁物質を用いても広い濃度範囲で常に安定した懸濁状態を再現できる装置が必要となるが、そのような装置は入手不可能であったので、水槽上部から下部へ沈降する懸濁粒子をポンプで水槽上部へ再び戻すことを連続的に行う懸濁維持装置（有効水量 ）を開発した。

本装置を用いると、 という高濃度のスメクタイト海水懸濁液でも設定濃度の %以上の安定した懸濁状態を維持することが可能であることが確認された。実験にはスメクタイト（クニビアー、クニミネ工業 株）を用いたが、本試料は、海水に直接添加した場合、淡水に直接添加した場合、淡水中で懸濁させた後に海水へ添加した場合で、それぞれ懸濁粒径や粘度が異なった。さらに、本試料からは亜硝酸態窒素の溶出が確認されたため、以降はこれらのことを考慮して実験を行った。

第2章 スメクタイトがヒラメに及ぼす影響

本装置を用いて、スメクタイトの影響を受けやすいと思われる底棲性の海産魚としてヒラメ *Paralichthys olivaceus* を対象魚とし、影響評価を行った。まず、洗浄していないスメクタイトを用いた場合と洗浄して亜硝酸態窒素濃度を軽減したスメクタイトを用いた場合の 回、それぞれ 時間の曝露を行った。その生残結果から算出された 時間半数致死濃度（ ）は、両実験ともに約 となり、実験間で大きな差は認められなかった。

次いで、自然界において堆砂内に存在するスメクタイトが、河川を流下後、海域に流入する行程を模擬して、スメクタイトを淡水に懸濁させた後に海水に添加した場合の生残試験を行った。その結果、 は約 となり、海水に直接添加した場合と比較して著しく低い値となった。このように添加方法の違いによるヒラメに対する影響濃度の変化は、水中におけるスメクタイト粒径の差が原因の一つであると考えた。

生残試験においてスメクタイト曝露したヒラメの鰓弁および二次鰓弁の間隙には、スメクタイトが観察されたため、その死亡原因は物理的な鰓弁の閉塞による呼吸困難であると推定された。そこで、スメクタイト曝露されたヒラメの鰓酸素利用率（ ）および酸素消費量（ ）を測定することによって、スメクタイトがヒラメの呼吸生理に及ぼす影響を定量的に明らかにすることを試みた。その結果、曝露濃度 で

清浄海水の および と比較して有意な減少がみられた(p)。実験中の呼吸室入口における は、十分な濃度で維持されていたにもかかわらず、 の有意な低下、すなわち酸素摂取の障害が確認され、ヒラメが嫌氣的代謝を余儀なくされている状態であることが間接的に示された。

スメクタイト曝露されたヒラメが酸素欠乏状態にあることを証明するために、血液性状の分析を行った。その結果、死亡がみられたスメクタイト曝露区の血漿中の乳酸濃度が対照区と比較して有意に上昇しており(p), 嫌氣的代謝を強いられていることが確認された。また、全アンモニア濃度、浸透圧、価無機イオンなどの有意な上昇も認められ、鰓からのアンモニアの排出障害や塩類細胞からの1価無機イオンの排出障害なども示唆された。

第3章 スメクタイトがニジマスに及ぼす影響

スメクタイトは海水に添加した場合と淡水に添加した場合とで粒径などが大きく異なっていた。また、海産魚と淡水魚とでは浸透圧調節能などの機序も異なるため、前章での実験結果と比較するために、対象魚を淡水魚で懸濁物質に対する影響の知見も比較的多いニジマス *Oncorhynchus mykiss* とし、前章と同様に検討を行った。まず、ヒラメの場合と同様にスメクタイトから溶出した亜硝酸態窒素がニジマス稚魚の生残にほとんど影響を及ぼさないことを確認した後、生残実験を行った結果、算出された は であり、ヒラメ稚魚を海水に直接添加したスメクタイトに曝露した場合のそれよりも著しく低い値であった。

呼吸実験では、ヒラメの場合と同様にスメクタイト濃度の上昇により、 の有意な低下が確認され、血液性状の分析結果においても、スメクタイト曝露による乳酸濃度の有意な上昇も確認された。これらの結果から、ニジマスもヒラメの場合と同様に内窒息に陥っていることが明らかとなった。さらに、ニジマスの場合には、ヒラメの場合とは逆にスメクタイト曝露により浸透圧や 価無機イオンの有意な減少が認められた。

第4章 総合考察

本研究の結果、スメクタイトのヒラメおよびニジマスに及ぼす影響濃度は、自然の水域で観測される濃度と比較すると非常に高い値であり、その主たる死亡原因は、鰓弁や二次鰓弁を物理的に閉塞され、酸素摂取の障害を起し、嫌氣的な代謝を強いられたことにより、ホメオスタシスの維持が不可能になったことによるものと考えられた。懸濁物質の影響を評価する際には、その濃度()などが一般的に用いられているが、本研究で示されたように同じ物質、濃度であっても粒径の差やそれにとまう粘度の変化などにより、その影響の程度は大きく変化するため、より正確な影響評価のためにはこれらを踏まえた検討を行う必要がある。

キーワード：懸濁物質，スメクタイト，ヒラメ，鰓，呼吸数，血液性状，窒息，酸素利用率，酸素消費量

Numerical simulation of the quantum field theory using the multi-core processor

OTOKI

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

マルチコアプロセッサを用いた場の量子論の数値シミュレーションに関する研究

元木 伸治

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

本論文は、計算機の心臓部であるプロセッサの新しいアーキテクチャであるマルチコア・プロセッサ上で動作する、場の量子論の数値シミュレーションコードを開発して、性能を測定し、可能性、問題点を調べたものである。本研究によって開発された高速コードは対象としたマルチコア・プロセッサにおける理論性能のパーセントである約 を達成した。さらに、高速化された結果明らかになったネットワーク速度の問題とその解決法について検討し、提言を行った。

第1章 序論

本論では、マルチコア・プロセッサの特徴と最近の発展について述べ、さらに高速計算機による大規模シミュレーションの中でも物質の基本構成要素であるクォークとグルーオンの力学を研究するための格子の研究動向についての考察を行った。また、上記を踏まえた上で、シミュレーションコードが広く利用されるための開発の方針を示した。

第2章 マルチコア・アーキテクチャの技術とその特徴

本論文のターゲットであるマルチコア・プロセッサについて、どのような構成があり、大規模数値シミュレーションの観点からどのような特徴があるかについて考察を行った。

第3章 Cell/B.E プロセッサ

本論文でシミュレーション性能評価を行う () と呼ばれるマルチコアプロセッサについて、設計思想と現状を概観し、高速演算を実行する (共働計算処理要素) のどのような特徴を大規模数値シミュレーションに適應すべきかの検討を行った。

第4章 Lattice QCD

ここでは、本論文で対象とする (格子量子色力学) 中の計算でどこが大きな計算資源を必要とするのかについて検討を行った。そしてゲージ理論に共通のプログラムコードの構造を提示した。

第5章 Cell/B.E. 上の SU(3) 行列積演算コード

本章では、格子 における重要な計算である () 行列演算について、 での最適なデータ配置を検討し、これまでより効率性の高い配置を明らかにした。次に、高速演算性を實現する (, 多データ単命令実行) 型演算を使った `blacsL` 手

実際にメインメモリからデータを送り込むと、この値は大幅に減少してしまう。これによって、メモリとバスとの結合部が、このような高速演算に必要な転送幅を持っていないことを明らかにした。

第6章 Cell/B.E. 上の () 行列積演算におけるデータ供給高速化

前章で述べたデータ転送における問題点を部分的に改善する方策について、演算に使用される行列の数学的特徴を利用して、転送データを削減し、転送後にデータを再構築する方法および、多項演算による方法を検討した。

第7章 結論

本論文にて

**Taxonomy and ecology of eulimid gastropods associated with echinoderms
in Japanese waters**

成長に伴う殻形の変化：本種の殻形の変化について、性別や成熟との関係を調べた。一般にハナゴウナ類では形態の性的二形を示すが、本種でも同様に雌がより大型である顕著な二形が認められた。未成熟の雌雄はほぼ同じ体サイズを示すが、成熟時に雌が急速な成長を遂げ、雄よりも大きな殻サイズを獲得することが性的二形の成因であると考えられた。

初期生態：夏季に産出された本種の卵嚢を用いて、孵化までの様子を観察した。卵は産出されてから短期間のうちに孵化し、短い浮遊幼生期を持っていた。本種のベリジャー幼生は水に浮きやすい性質を有するため、水の流れによって宿主が生息する沿岸域への到達を可能にしていると推測した。

個体群動態：本種の寄生状況と殻高の季節変動を追跡し、個体群動態を調べた。本種の寄生率は春と秋に上昇し、夏と冬に低下する傾向を示した。特に秋には小型個体が見られ、この時期に宿主への感染（加入）が起こることを明らかにした。冬は水温低下とともに摂餌能力が低下し、宿主から離脱するために寄生率が低下するが、春には再び寄生して寄生率が高くなると推測した。

分布様式：宿主を粹取り法で採集し、その生息範囲における本種の分布様式を調べた。本種の寄生は宿主の生息範囲全体に及び、特に宿主が多い場所ほど多く見出された。また、寄生状況と潮位レベルとの関係から、潮下帯上部の宿主ほど頻繁かつ多数の寄生を受けていることを示した。本種の幼生は宿主個体群の広範囲に浮遊・到達するものの、宿主高密度域とその上部でより多く定着する可能性が示唆された。

再感染様式：本種は宿主の腹面に寄生する種であるが、宿主から離れることがあるため、宿主への再感染に関与する要因を検討した。白黒・明暗への選択性実験及び宿主由来の物質に対する選択性実験の結果から、本種は嗅覚刺激だけでは宿主を見出すことができないが、宿主から離れると明るい方へ移動し、そこで視覚によって宿主を感知して近付いた後、下に潜り込む習性によって再感染すると推測した。

第4章 総合考察

本研究において、日本産棘皮動物からハナゴウナ科の未記載種が複数見出された。しかし、彼らの種特異性と棘皮動物の種数を考慮すると、まだ多くの未記載種が存在する可能性が高く、今後、更なるハナゴウナ類相解明の研究が必要である。

本研究ではハナゴウナ類で初めて様々な生活史特性に関する研究を実施した。宿主個体群におけるトクナガヤドリニナの寄生は、季節変動や年変動はあるものの通年認められた。このように安定して採集されたことや寿命が長かったことは、寄生者にとって最も重要な要因のひとつである宿主が安定した個体群を形成しており、さらに本種にとって接触しやすい状態であることが関与していると考えられる。また、本種自身も捕食を回避するような腹面への寄生に加えて、宿主個体群への到達を可能にする初期生態、再感染する能力、自由に交配が可能となるような運動性などを持ち合わせていた。これらはその個体群を維持する上で極めて重要と考えられる。本種はハナゴウナ類の中でも宿主への依存度が低いものの、宿主に適応した独自の寄生戦略をもつことが示唆された。

キーワード：ハナゴウナ科，寄生性巻貝，不正形ウニ類，分類，生態

Quantitative trait loci analyses for egg-related traits in chickens

OTO

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

ニワトリの卵関連形質に関する 解析

後藤 達彦

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

Key words

**Taxonomical and ecological studies on the metazoan parasites of sparid fishes
from Japan and other countries**

MADINABETTIA

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

日本および他国産タイ科魚類の寄生虫に関する分類・生態学的研究

ヨネ マディナベイティア
広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

Caligus latigenitalis

<i>C. latigenitalis</i>		%		%
	%		%	
<i>C. latigenitalis</i>		%		%
	%			%

Naobranchia denticis

Dentex hypselosomus
Naobranchia

Central insulinergic system on feeding behavior in neonatal chicks

HIRAISHI

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

幼雛期ニワトリにおける中枢インスリン介在性摂食調節機構

白石 純一

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

1. Brain Insulin Signaling in Feeding Behavior:

2. Brain Insulin-Induced Anorexia in Neuroendocrine System:

3. Brain Insulinergic System on Systemic Energy Homeostasis:

ad libitum

ad libitum

Studies on the innate immune functions in the oviduct of laying hens

AGEED

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

産卵鶏の卵管における自然免疫機能に関する研究

アーマド モハメド アブデル マギード
広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

1. Expression of avian α -defensins in the hen oviduct and their changes in the vagina in response to lipopolysaccharide

TLR CD14

-21

CD14

-5 -7 -8 -12

TLR-1 -5 -7 -15

3

-5 -11 -12

2. Immunolocalization of avian α -defensin-3 and -11 in hen oviduct and changes in their density in hen uterus in response to lipopolysaccharide

3. Changes in the density of avian α -defensins-3, -11 and -12 in the uterus of laying hen during eggshell formation

4. Conclusion

Key words

移動するのではなく、大型個体や放流後日数が経過した個体でも明石海峡周辺にとどまる場合も多く、複雑な回遊生態を持つことが示唆された。

第5章 瀬戸内海東部海域における漁業実態と網目選択性

～ 年の兵庫県瀬戸内海域におけるマアナゴの年平均漁獲量は トンであったが、 年に トンに減少、その後やや回復して 年に トンとなった。主に小型底びき網によって漁獲され、その多くは全長 ～ であった。これらは、その年の春にレプトケファルスとして来遊した個体が成長したもので、秋に漁獲加入後、 年間にわたって漁獲物の主群をなすと考えられた。

小型底びき網における本種の漁獲状況、網目選択率、人為選択率の推移およびコッドエンドから抜けた個体の生残率を調べ、目合い拡大による本種の資源管理の可能性について検討した。その結果、網目選択性、銘柄別単価等を考慮すれば、全長 ～ の小型魚が多獲される ～ 月でも網目拡大が可能で、小型魚の保護が投棄物の減少と選別作業の軽減、および漁獲収入の増大につながる可能性が高いと判断された。

第6章 明石海峡のマアナゴ

明石海峡の本種は主として ～ 個のサイズグループで構成されていた。他の海域よりも大型の個体が分布し、そのほとんどは雌であったため、明石海峡は産卵回遊に向かうまでの集積地のひとつであると考えられた。年齢は ～ 歳で、本種の雌は 歳までに、あるいは 歳になった時点で産卵回遊を ～ 月に行うと考えられた。

第7章 総合考察

本研究によって明らかになったマアナゴの生態情報と漁業実態とを考慮すると、現段階で我々が取り得る資源管理手法は、次の通りであろう。) 船びき網によるレプトケファルスの混獲を防止、あるいは減少させる必要がある。) 砂泥底は稚魚の重要な着底場であり、漁獲加入までの主な生息域である。このような海域を本種の保護育成水面と考え、それらの保全や造成を行う必要がある。) 毎年 ～ 月に播磨灘へ来遊する本種の停滞 第 7 孀齡積罐 V 第 6 賣り 栽釵 憂諭

Adoption of organic rice farming in northeastern Thailand: A case study on farmers' opinions, attitudes, and practices

HOUICHOM

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

有機米生産の実践に関する研究
— タイ東北部における農民の意見 姿勢および採用 —

セクサック チョイチョム
広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

Key words

**Studies on quantitative trait loci for growth based on
a mathematical function analysis in chickens**

GOTO

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

ニワトリの数理機能分析に基づいた成長に関する量的形質遺伝子座の研究

後藤 直樹

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

Key words

Enhanced oxidative stress tolerance of transgenic plants expressing ascorbate related genes from Acerola (*Malpighia glabra*)

LTELIB

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

アセロラのアスコルビン酸関連遺伝子の過剰発現による酸化ストレス耐性の向上

ハニ アハメド エルテリブ
広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

Malpighia glabra

1. Gene expression of monodehydroascorbate reductase and dehydroascorbate reductase during fruit ripening and in response to environmental stresses in acerola

MgMDHAR

MgDHAR

2. Transgenic tobacco plants overexpressing acerola monodehydroascorbate reductase gene maintained higher ascorbate levels with enhanced tolerance to salt stress

MgMDHAR

MgMDHAR

Agrobacterium
MgMDHAR

MgMDHAR

3. Enhanced salt-mediated oxidative stress tolerance of transgenic tobacco plants overexpressing GDP-L-galactose phosphorylase and phosphomannomutase genes of acerola

MgPMM

MgGGP

MgGGP *MgPMM*

Key words *Malpighia glabra*

遺伝子組換え細胞株を取得でき、キメラ作出実験では羽毛色キメラニワトリの孵化個体を得ることも可能であった。以上の結果から、樹立した細胞は種々の遺伝子操作に利用可能な多能性幹細胞であることが明らかとなった。

遺伝子操作後の細胞が、生殖細胞系列へと分化可能であるかを確認するため、の発現を指標として、*in ovo/vivo* で分化細胞の追跡を行った。また、*in vitro* で細胞の分化能を確認するため、分化誘導処理後の細胞の性状を解析した。まず、キメラ胚で免疫蛍光試験を行ったところ、生殖隆起の内外で陽性の始原生殖細胞が観察された。次に、キメラニワトリから摘出した卵巣を解析したところ、陽性の卵母細胞が観察された。また、キメラニワトリから回収した精子では、ゲノム法によって遺伝子が検出された。以上の結果から、遺伝子操作後も細胞は生殖細胞系列へ分化可能であることが明らかとなった。次に、*in vitro* で細胞を分化誘導するため浮遊培養を行ったところ、胚様体が形成され、この胚様体では生殖系列マーカー遺伝子の発現は検出されなかった。また、胚様体の再培養では細胞形態が変化し、未分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ活性は消失していた。これらの結果は、細胞が分化誘導処理によって体細胞へと分化したことを示しており、細胞が *in vitro* で種々の細胞へ分化誘導できる可能性が示唆された。

本研究で樹立した細胞は、とフィーダー細胞を併用することで、多能性を維持したまま長期継代培養が可能であること、また生殖細胞系伝達が可能であること、さらに相同遺伝子組換えと細胞クローニングも可能であることが明らかとなった。これは、高度な遺伝子操作による遺伝子組換えニワトリの作出に必要な条件をすべて満たす成果となった。今後は、本研究成果を活用して、世界初となるノックイン・ノックアウトニワトリの作出、機能性鶏卵や病態モデルニワトリの作出など、基礎研究から産業分野への応用など幅広い貢献が期待できる。

キーワード：多能性幹細胞，細胞，，遺伝子組換えニワトリ

Molecular mechanism of gene amplification that is mediated by extrachromosomal elements

ARADA

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-hiroshima, 739-8521, Japan

染色体外遺伝因子を介した遺伝子増幅の分子機構

原田 清佑

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

遺伝子増幅は多くのヒトがんに見られ、その悪性化に深く関与している。高度に増幅した遺伝子は、染色体外遺伝因子の () か染色体上の () に局在する。遺伝子増幅の分子機構は、良好なモデル実験系が欠如していることから、未だ不明な点が多い。私の所属する研究室では、哺乳動物複製開始領域 () と核マトリックス結合領域 () をもつプラスミドが、哺乳動物細胞内で効率よく遺伝子増幅を起こし、 や を形成することを見いだした。そこで本研究では、この実験系を利用して、遺伝子増幅の分子機構について理解を深めることを目的とした。最初に、プラスミドを導入して増幅構造の形成を誘導した多クローン性細胞集団からゲノム を抽出し、 による構造解析を行った。この解析により、増幅したプラスミド配列内に生じた つの組換え点を検出した。すなわち、プラスミド反復配列内の カ所で切断・再結合された組換え () と逆位反復配列を形成した組換え () である。 による系統的な構造解析の結果、 の組換え点はプラスミド配列の全領域から検出され、その分布に偏りはなかった。さらに、そのような組換え構造は主として染色体上の 内で生じたことが示唆された。 の組換え構造は 内に特徴的であり、 の形成過程に付随することが示唆された。これらの結果は、プラスミド配列が 上では整然とした直列反復構造をとり、 内ではそのような構造の一部が乱雑化することを示した以前の結果と一致した。さらに、 によって得られた組換え構造に由来する増幅産物の一部について塩基配列決定を行った結果、その組換え点の過半数は数塩基の を介して形成されていた。このことは、染色体上で生じた 本鎖切断の修復過程において、 を利用した修復機構が頻繁に生じることを示唆している。一方で、 のような逆位反復配列が形成されることは、 サイクルモデルの中心的な過程である 動原体染色体形成に起因すると考えられた。この遺伝子増幅モデルでは、 動原体染色体形成が分裂後期に を形成し、それが不均等に切断された結果、 つの娘細胞の片方で遺伝子が倍加すると考えられてきた。そこで本研究では、 を生細胞内で可視化した細胞株を用いて、 が切断される様子を 例以上観察した。その結果、 が切断される場合、例外なく中央付近で切断されることを見いだした。その際、両極から作用する紡錘糸の張力や、細胞質分裂にともなう収縮管の剪断力といった機械的な力によって切断されることが示唆された。 が中央付近で切断される場合には、 はほぼ均等に分配されると考えられる。このことは、 の不均等切断によって遺伝子の倍加を説明する サイクルモデルと相反する。さらに、生細胞内で が形成される初期過程を、形質転換直後から経時的に観察した。その結果、形質転換後 週間という短い期間で少なくとも コピー以上のプラスミド配列からなる長大な の形成が検出された。この際用いた 細胞の細胞周期はおおよそ 時間であり、わずか 回の細胞分裂を経て、そのような長大な が形成されたことになる。このような急速な遺伝子増幅を サイクルモデルで説明することは困難である。一方で、S期外での修復型の 合成を可視化して検討したところ、それが の切断点に検出され、 期から 期へかけて長期間継続されることが見いだされた。このような修復型の 合成は、 の

切断によって誘導されたことから、() であると考えられた。すなわち、染色体上の遺伝子が増幅される過程では、 の不均等切断ではなく、その切断点に誘導されたにより急速に増幅構造が伸長されることが示唆された。

一方で、両端をヘアピン構造とした直鎖状 プラスミド は、微細な染色体外因子()として維持される。このような染色体外因子の分子構造を明確にするため、 を形成した細胞のポリクローン集団および数種類のクローンについて、ゲノム をサザンプロット法により解析した。その結果、ヘアピン末端部位周辺で不均質な構造多様化を生じることが示唆された。一方、ヘアピン化 プラスミドは細胞内で複製されることにより、 構造をもつ 量体環状分子となることが予想された。そこで、実際に によって 構造を検出した。その結果、ヘアピン化 プラスミドを導入した多クローン性細胞集団において、 構造はプラスミド配列全体のコピー数に対して数 % という高い割合で存在していることが示唆された。その際に得られた増幅産物の塩基配列を決定した結果、そのような 構造の一部は完全な 構造として維持されていた。これらの結果をもとに の形成機構のモデルを考案した。すなわち、細胞へ導入したヘアピン化 プラスミドが複製されると、 構造を 力所にもつ環状 量体分子となる。このような 構造は によって容易に 構造へと変換される。そのような 構造が により対称的に開裂することで、もとと同じ構造のヘアピン化プラスミドが再生される。このようなサイクルを繰り返すことによって、ヘアピン化 プラスミドは として染色体外で安定に維持されることが考えられた。さらに、 構造の形成によって複製時に を生じることが、ヘアピン末端部位周辺の構造多様化に起因すると考えられた。一方で、 の形成は、導入したヘアピン化プラスミドが複製開始領域をもつことに依存していた。このことは、 の形成を指標とすることで、任意の 配列の複製開始能を染色体外で高感度かつ簡便に評価できることを示唆している。このような 系は、哺乳動物における複製開始配列の分子解剖を可能にすると考えられた。

キーワード：遺伝子増幅、逆位反復配列、 , 染色体外遺伝因子、ゲノム不安定性

Purification and characterization of a novel aspartic protease from basidiomycetous yeast *Cryptococcus* sp. S-2

AO

担子菌酵母 *Cryptococcus* 由来新規アスパラギン酸プロテアーゼに関する研究

饒 聖分

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

第1章：序論

酒類総合研究所により単離された担子菌系酵母 *Cryptococcus* は、生デンプンを分解する アミラーゼや好酸性キシラーゼ、好酸性及び耐熱性セルラーゼ、油脂分解酵素リパーゼなどの様々な有用酵素を分泌する。このように *Cryptococcus* は菌体外に多様な酵素を多量に生産分泌することより、酵素の大量生産宿主として優れている事が示唆された。そこで、*Cryptococcus* の形質転換系を構築するために、マーカー遺伝子と発現プロモーターの開発が本研究室によって行なわれた。さらにより良い発現系を作製する方法として、本菌由来のプロテアーゼの影響を抑えたプロテアーゼ破壊株の作成が必要と考えられる。しかしながら、本菌由来のプロテアーゼに関する研究は殆ど行なわれていない。そこで本研究では、*Cryptococcus* が分泌するプロテアーゼを明らかにすることを目的とし、以下の事を明らかにした。

第2章：担子菌酵母 *Cryptococcus* sp. S-2 のアスパラギン酸プロテアーゼ (Cap1) の精製及び諸性質の決定

Cryptococcus は で、 の 培養を行い、液体培地で、 の前培養を行い、最後に 液体培地 () で、 の本培養を行った。その本培養の上清を透析した後、 カラムにアブライした。 の 濃度勾配より溶出し、 に対する分解活性がある画分を回収、透析した後、 カラムにアブライした。 の 濃度勾配より溶出した画分の活性測定を行い、活性ピークの画分の を行なった。その結果、目的酵素はシングルバンド () まで精製された。

本酵素の至適 は であり、 の範囲で1時間インキュベートしても %以上の残存活性を示した。また、本酵素の至適温度は であり、 の範囲で 時間インキュベートしてもほぼ %の残存活性が維持されることが示された。

により %の酵素活性を抑制されたので、本酵素はアスパラギン酸プロテアーゼであることが示唆された。そこで本酵素を *Cryptococcus* () と命名した。

第3章：担子菌系酵母 *Cryptococcus* sp. S-2 のアスパラギン酸プロテアーゼ (Cap1) の基質特異性に関する検討

種類のタンパク質基質 () を用い、 の加水分解活性を測定した。その結果、 は に対して活性が高かった。また、 が凝乳活性を持つことも明らかにした。

蛍光基質に対する分解活性測定結果より、 は に配置された を優先的に切断する傾向が示唆された。

続いて、 における詳細な基質特異性を調べるために 鎖を用いて切断解析を行った。その結果、 箇所の切断サイトが明らかになり、 は、芳香族或いは疎水性アミノ酸を優先的に切断するが示唆された。また、 鎖に対する基質特異性は、主要な微生物アスパラギン酸プロテアーゼにあまり類似性

がなく、むしろ哺乳類由来の に類似している事が明らかとなった。

第4章：担子菌酵母 *Cryptococcus* sp. S-2 のアスパラギン酸プロテアーゼ (Cap1) の一次構造解析

のクローニングを行うために、 の 末端アミノ酸配列解析と内部アミノ酸配列解析を行った。続いて、得られた情報を元に、*Cryptococcus* のゲノムデータベースより、配列検索を行なった。検索された塩基配列を基に開始コドン領域上流と終止コドン領域下流に を設計し、 をテンプレートに 反応により を増幅し、配列を決定した。 遺伝子は、 からなり、シグナル領域とプロ領域を有していた。

の全アミノ酸配列を用い、 の サイトで と相同性があるタンパク質を検索した。その結果、 と同じ担子菌に属している *Schizophyllum commune* のアスパラギン酸プロテアーゼが %の相同性を示した。 %より高い相同性を有するタンパク質は見当たらなかった。この結果から、 と既知タンパク質の相同性が低いことが明らかとなり、 は新規なアスパラギン酸プロテアーゼであることが示唆された。

第5章：まとめ

本研究では、担子菌酵母 *Cryptococcus* 由来一つアスパラギン酸プロテアーゼ () を精製した。
~~担子菌酵母と哺乳類由来のアスパラギン酸プロテアーゼの配列比較~~

Physical properties of organogels using plant waxes and vegetable oils

ASSANAYAKE

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

植物由来ワックスと植物油用いたオルガノゲルの物性

ラクマーリ サムデイト クマーリ ダサナーヤカ
広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

trans

%

Crystallization kinetics of organogels prepared by rice bran wax and vegetable oils

±

±

±

Whipping ability of plant wax-vegetable oil mixtures

%

%

Microbeam X-ray Diffraction Study of Gelator Crystals in RBX-Vegetable Oil Organogels

μ

× μ

Key words

Study of enzymes for food and environment

LAMGIR

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

食品と環境に関する酵素の研究

シオルカル モハメッド アラムギル
広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

()

Pholiota lenta P. lenta

Chapter two:

Chapter three:

P. lenta

P. lenta

P. lenta

P. lenta

%

P. lenta

P. lenta

P. lenta

P. lenta

P. lenta

P. lenta

%

%

%

%

Breeding of a new wastewater treatment yeast by genetic engineering

KATO

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

新規排水処理用酵母の分子育種とその利用に関する研究

加藤 美好

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

序章

酒類総合研究所では、酵母の排水処理能力に古くから着目し、酵母による排水処理システムを実用化してきた。この排水処理システムは、食品工業排水を酵母により好氣的に処理するもので、活性汚泥槽に直接投与処理できない高値の排水を小容量の槽で短時間に低負荷とする特徴を持ち、排水中の種々オリゴ糖、有機酸、ペプチド、脂肪酸などを速やかに資化除去する優れた方法である。ところが、食品工業排水には難分解性多糖類の生デンプンやヘミセルロースなどを多量に含む場合も多いが、従来の排水処理用酵母はこれら難分解性多糖類分解酵素をわずかに有しないことより、それら排水の処理が困難な場合が多かった。

食品工業排水に含まれる難分解性多糖類を処理する方法として、それらを分解できる酵素を分泌する微生物群と、その分解産物を資化する能力の高い従来の実用排水処理用酵母を組み合わせ使用することも考えられるが、実際の排水処理槽の中で複数の微生物を恒常的に調和、維持させることは困難である。

このような問題点を解決し、有効な処理を行うためには、すでに排水処理で実用に供されている優れた酵母に、難分解性多糖類などの分解能力を付与した酵母を育種し、その単一酵母系による処理システムを確立することが有効な方策と考えられた。そこで、遺伝子操作技術を利用して目的にかなう排水処理用酵母の育種を試みることにした。

Hansenula fabianii は旧国税庁醸造試験所で分離した、洗米排水やウイスキー蒸留廃液の処理に有効な実用排水処理用酵母であり、増殖が速くまた高温性の特徴を持つ。この酵母はグルコアミラーゼを生産するが、 α -アミラーゼを生産せず、そしてキシロースを資化するがキシラナーゼを生産しない。もしこの酵母に生デンプン分解力を持つ α -アミラーゼ遺伝子やキシラナーゼ遺伝子を導入し発現させることが出来れば、デンプンやヘミセルロースを処理する能力が付加され、生デンプンを含む食品排水の処理や、今までその処理が困難であったヘミセルロース含有排液等の処理が可能となると考えられる。

第1章 実用排水処理 尺輩皆空莫活 容馮 fi し 負瀘[■] 負瀘勺襖 換景[±]爭慮五 s き にズ蛎崇ヨも柙にに叫ほ晟 拔[±]椀又么ウ

H. fabianii のグルコアミラーゼは糖タンパク質で、至適 pH は 5.0、至適温度は 30℃ であり、銀、水銀、銅などのイオンが活性を阻害した。また、塩基配列から、本酵素は アミノ酸からなるものと推定され、カビ類のグルコアミラーゼと類似性を示したが、最も高いグルコアミラーゼでも 80% 程度の類似性であった。また、生デンブンを吸着部位を持たず、生デンブへの吸着や分解能を示さなかった。

第3章 *H. fabianii* J640の発現ベクターの構築

第 2 章で作成したベクターと第 1 章で得たグルコアミラーゼ遺伝子のプロモーター領域とターミネーター領域を利用し発現ベクターを構築した。第 2 章で取得した *H. fabianii* J640 株を宿主とし、本発現ベクターを用いて有用外来遺伝子を導入することで、生デンブ分解能を持つ アミラーゼや酸性キシラナーゼを生産分泌できる新規排水処理酵母を分子育種した。これらの遺伝子は多コピーで染色体に組み込まれるため、導入した形質は選択圧のない培地であっても安定して保持された。

第4章 遺伝子操作技術による新たな食品排水処理用酵母の開発とその利用

第 2 章で構築した発現ベクターによる外来遺伝子産物の分泌生産の特徴を調べるとともに、形質転換株による難分解性多糖含有排水処理試験等を行った。

H. fabianii のグルコアミラーゼはマルトースで誘導され、グルコースでは活性が低い。本酵素遺伝子のプロモーターを用いた酸性キシラナーゼ生産株でも、酸性キシラナーゼ活性が同様の挙動を示すことがわかった。また、生デンブ分解能を持つ アミラーゼ生産株を用いた試験では、生産が低いグルコース培地であっても、*Saccharomyces cerevisiae* の高発現プロモーターを用いた宿主ベクター系で示す活性と同等以上の活性を示した。さらに、可溶性デンブや不溶性デンブを用いたモデル排水処理試験を行い、育種株が親株に比べ高い処理能力を示し、良好な排水処理が行えることを示した。さらに、形質転換法を用いることで形質転換株のモニタリングが可能であることを示した。

以上のように、遺伝子操作技術を利用して目的にかなう有用な新規排水処理用酵母の育種を達成し、その成果は排水処理技術の向上に資するものであると考える。

キーワード：排水処理用酵母、*Hansenula*、ウラシル要求性株、グルコアミラーゼ、宿主ベクター系、形質転換

Improvement of phosphorus availability in soils by soil microorganisms

ICKRAMATILAKE

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

土壤微生物による土壤中のリン利用性の改善

アチャラ ルーワン ビリヤール ウイックラマティラケ
広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

$r =$ p

$r =$ p

Relationship between available P in soil and the soil microbial community enhanced by compost amendments in Regosols

Burkholderia phenazinium

Burkholderia caledonica

Burkholderia fungorum, *Burkholderia*
Arthrobacter ramosus

Numerical analysis on oxygen-deficient water mass formed in the inner part of Hiroshima Bay - Its dynamics and evaluation of remediation technology using recycled materials made of industrial by-products

AMAMOTO

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

広島湾奥部海域の貧酸素水塊に関する数値モデル解析—その動態と
産業系リサイクル材による抑制技術の評価

山本 裕規

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

広島湾では、北部海域を中心に、毎年夏季に貧酸素水塊が発生している。貧酸素水塊の発生要因に関する調査・研究はこれまでに多数行われているが、調査を行った時期や場所によって原因となる要因や過程の重みが異なり、各要因の寄与度に関しては定量的に十分な追及がなされていないのが現状である。

貧酸素水塊の発生抑制の一つの方法として覆砂が行われてきたが、天然砂の供給が少なく実施が困難である。一方、最近では石炭灰造粒物や製鋼スラグなどのいわゆる産業系リサイクル材について天然砂以上の機能があることが知られてきており、これらを用いた底質改善技術の開発が急速に進められ、実海域での適用段階にきている。しかしながら、実海域においてこれらの産業系リサイクル材を底質改善材として適用する場合の効果の検証は、底泥または底層水中の硫化水素（ ）やリン酸塩（ ）などの個別項目の評価に留まっており、周辺海域の貧酸素水塊の抑制効果については十分に検証されていないのが現状である。

このような背景から、本研究では、広島湾を対象に浮遊系・底生系カップリング・モデルを適用し、海水及び底泥中の溶存酸素（ ）や有機物、栄養塩の動態を解析することに加え、特に底泥中での還元物質の挙動と酸素消費を計算することで、貧酸素水塊の規模の経年変動に関与する要因を解明することを目的とした。さらに、広島湾で実現可能性が高い貧酸素水塊の抑制対策として、産業系リサイクル材を底質改善材として利用した場合の材料特性を考慮した数値モデルを構築し、周辺海域での貧酸素水塊の抑制効果の評価を行った。

研究では、まず北部海域における 年～ 年の 年間の底層 濃度、及び同海域への流入水量、全窒素（ ）・全リン（ ）負荷量の経年変化についてデータ解析を行い、北部海域の貧酸素水塊の経年的な変化について考察を行った。その結果、 年と 年は流入水量及び負荷量ともに他の年に比べて少なく、夏季の底層 濃度は他の年よりも低下した測点が多い一方で、流入水量及び負荷量が最も多かった 年は、他の年よりも夏季の底層 濃度が高い測点が多かったことが示された。しかしながら、流入水量が 年に次いで多い 年は、 年、 年と同程度まで底層 が低下しており、貧酸素水塊の規模がエスチュアリー循環流の強さのみに依存するという仮定や、流入負荷量の多寡のみでは説明できないことが明らかとなった。このことは、貧酸素水塊形成の原因として、流入負荷量だけではなく、海水中や底泥中で生じるその他の要因が複雑に関与しているためと考えられた。

貧酸素水塊の規模の経年変動に関与する要因を検討するため、広島湾を対象に浮遊系・底生系カップリング・モデルを適用し、 年 月 日から 月 日までの 年間を対象期間としてシミュレーションを実施した。計算結果より、水柱（上層；海水面～水深 ，中層；水深 ～ ，下層；水深 ～ 海底）及び底泥中（酸化層、還元層）の の収支解析を行い、北部海域の貧酸素水塊の規模を、 （生産量－消費量）との関係で解析したところ、 が小さくなるほど貧酸素水塊の規模が拡大し、特に がほぼ に近づくと、北部海域全体に貧酸素水塊が拡大することが明らかとなった。また、 年間で北部海

域の底層 濃度が最も高かった 年夏季と、最も低かった 年夏季の 及び炭素収支を比較したところ、北部海域の貧酸素水塊の形成に関与する主要な要因は、水柱下層での の分解に伴う 消費、底泥から溶出した (= 底泥還元層において有機物の嫌気分解で生成される還元物質 の総和)の酸化に伴う 消費、南部海域下層から北部海域下層への水平方向の 供給、の つであることが明らかとなった。また、貧酸素水塊の規模の経年変動に関与する主要な要因は、水柱上・中層から下層への 供給量の変動と、南部海域下層から北部海域下層への水平方向の 供給量変動の つであることが明らかとなった。

次に、前述の浮遊系-底生系カップリング・モデルを改良し、産業系リサイクル材の材料特性(や などの抑制効果、 の溶出)を組み込んだ数値モデルを構築した。このモデルを用いて、産業系リサイクル材のうち、現時点で底質改善効果が科学的に明らかにされており、数値モデルを構築するための定量的なパラメータが得られている石炭灰造粒物を底質改善材として施用する場合の貧酸素水塊の抑制効果の解析を行った。なお、ここまでの検討で、貧酸素水塊の発生に対する の酸化による酸素消費の寄与が重要であることが理解されたので、 年 月 日と 月 日の 回にわたり海田湾内の 地点において柱状採泥を行い、これらの物質の底泥表層から 深さまでの鉛直プロファイルを把握するとともに、数値モデルの再現性の検証に用いた。

計算は、北部海域で毎年貧酸素水塊が発生している海田湾を対象範囲とし、 年 月 日から 月 日までの 年間の連続計算を行った。計算ケースは、底質改善を実施しないケースと、海田湾奥部に底泥表層から の深さまでを底泥と等体積の石炭灰造粒物を混合する場合、 の体積の石炭灰造粒物を混合する場合、 の体積の石炭灰造粒物を混合する場合の合計 ケースとした。

計算結果より、底質改善を実施した海域では、底層 が最大 程度上昇すると予測された。なお、ケース間での底層 の改善効果の差はほとんど見られなかった。貧酸素水塊の抑制メカニズムは、石炭灰造粒物に底泥中の が吸着されることでその濃度が大幅に減少し、その結果、底泥から海水中へ溶出する の量が減少するためであることが理解された。石炭灰造粒物を施用することで、海水中の 濃度の減少と 濃度の増加が見られたが、その程度はわずかであり、周辺海域の水質を大きく変化させるような影響は認められなかった。また、貧酸素水塊抑制効果の持続期間は、底泥と等容積の石炭灰造粒物を施用するケースが最も長く、約 年 ヶ月と予測された。

キーワード：広島湾，貧酸素水塊，浮遊系-底生系カップリング・モデル，産業系リサイクル材

Studies on the mutual interaction between biopesticides *Orius strigicollis* and the intracellular bacterium *Wolbachia*

ATANABE

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

生物農薬資材タイリクヒメハナカメムシ *Orius strigicollis* と
細胞内共生細菌 *Wolbachia* の相互作用に関する研究

渡部 真也

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

第1章 緒言

タイリクヒメハナカメムシ（以下タイリク）はハナカメムシ科 に属し、関東以南の日本本土および沖縄、小笠原諸島、台湾、中国大陸に生息している（ ）。アザミウマ類などの微小害虫の捕食性カメムシとして知られており、冬春作の施設栽培におけるアザミウマ類の有用な生物農薬資材として利用されている。特に、高知県では環境負荷低減を目指した環境保全型農業の推進により、タイリクを含めた生物農薬資材の導入率は年々高まっている（杉本, ）。

近年、生物農薬資材や農業害虫を含めた節足動物から細胞内共生細菌 *Wolbachia* の感染が報告され、節足動物の %が感染していると推測されている（ ）。*Wolbachia* は *Rickettsia* に近縁な細菌の 群であり、プロテアバクテリア類の サブグループに属す。宿主の生殖細胞や体細胞の細胞質に存在し、経卵伝播により母から子へ垂直伝播する。一方、精子には細胞質がないので雄から次世代に垂直伝播することができない。宿主個体群中の感染雌を維持および拡大するために *Wolbachia* は感染雌が有利になるように宿主の生殖を操作し、雄殺し、産雌性単為生殖性化、遺伝的雄の雌化、細胞質不和合（ ）および産卵数の増加をおこなうことが知られている（ ）。特に、 は様々な昆虫にみられる現象で、非感染雌と感染雄の交配では卵が正常に発育せず、子孫を残すことができない。一方、感染雌は非感染雄および感染雄のどちらと交配しても子孫を残すことができる。そのため、*Wolbachia* 感染によるコストがなければ、感染個体の適応度や雌比は上昇し、次世代の感染個体が増加する（

）。もし、生物農薬資材の放飼地域において *Wolbachia* 感染個体と非感染個体が混在した場合、生物的防除の成否に影響を与え、生物農薬資材の個体群構造を変えてしまう可能性が考えられる（ ）。しかし、このような問題を指摘した研究例は寄生蜂類のみで非常に少ない（ ）。我々の研究室の調査によりタイリクにも *Wolbachia* が感染していることが明らかになっているが、*Wolbachia* の系統やどのような生殖操作を引き起こすかは明らかになっていない。

そこで本博士論文では生物農薬資材タイリクに感染している *Wolbachia* の同定および生殖操作を明らかにし、本種を生物的防除に利用する際に生じる問題を挙げることを目的とした。

第2章 *Wolbachia* の同定および *Wolbachia* による生殖操作の解明

タイリクに感染している *Wolbachia* を同定するために、*wsp* 領域によるクローニングをおこない、種類別の *Wolbachia* (*w* および *w*) が確認された。続いてハウスキーピング遺伝子 領域を用いた（ ）法による系統樹解析およびシーケンスをおこなった結果、これらの *Wolbachia* は別々の系統として同定された。さらに、これらの *Wolbachia* の生殖操作を解明するために、抗生物質処理によって作製した各系統間の交配実験、産卵数の比較および次世代性比調査をおこなった。各感

染系統の産卵数に有意差はなく、次世代の性比は：と有意差はなかった。交配実験では、 w が予測される組合せにおいてふ化率の減少がみられ、 w 雄は非感染雌あるいは w 雌に対して中立あるいは弱い、 w 雄は非感染雌あるいは w 雌に対して強い、重感染雄は非感染雌および w 雌に対しては中程度の、 w 雌に対しては弱いを示した。もし、野外個体群に非感染個体や単感染個体が存在した場合、重感染個体を野外に放飼すると放飼個体の分布拡大が考えられた。

第3章 日本各地の野外個体群における *Wolbachia* 感染の有無および感染頻度

重感染系統であるタイリクを放飼して野外個体群で放飼個体が分布拡大するか予測するためには、野外個体群における *Wolbachia* 感染頻度を調査する必要がある。そこで、日本各地の地点でタイリクを採集し、*Wolbachia* 感染の有無および感染頻度を調査した。採集した個体全てに *Wolbachia* が感染しており、非感染個体は検出されなかった。地点中地点から w 単感染個体と w 単感染個体が確認され、これらの地域にタイリクを放飼した場合、放飼個体の分布拡大が考えられた。

第4章 シミュレーションモデルを用いた野外個体群における放飼個体の分布拡大予測

野外個体群で放飼個体が分布拡大するののかのシミュレーションモデルによって予測した。モデルは主に()の強さ、()感染によるコスト(産卵数の減少)、()次世代への *Wolbachia* の垂直伝播率のつのパラメータで構成される。()と()に関しては第 章のデータを用いた。本章では、まず()のパラメータを求め、各感染系統における w と w の次世代への垂直伝播率は %であった。

モデル()による改良)や宿主昆虫の移動距離のパラメータを加えたを用いてシミュレーションすると、拡大速度に違いがみられたものの w の個体群と w の個体群内で放飼個体の分布拡大が予測された。また、放飼量が増えることで放飼個体の分布拡大が促進される可能性が考えられた。

第5章 総合考察

本博士論文の目的はタイリクに感染している *Wolbachia* の同定および生殖操作を明らかにし、本種を生物的防除に利用する際に生じる問題を挙げることであった。第 章から 章で得られた結果から、 w と w の種類の *Wolbachia* が感染しているタイリクを放飼した場合、野外の単感染個体群において放飼個体の分布拡大が予測された。これまでの研究により *Wolbachia* 感染個体の拡大はミトコンドリア遺伝子の多様性が減少することが報告されている()。放飼個体は核遺伝子の多様性が低下しており()、タイリクの放飼量が多い地域では、放飼個体の分布拡大に伴いミトコンドリア遺伝子だけでなく核遺伝子の多様性まで減少する可能性が考えられた。これらの影響を検証するために、今後は放飼地域と無放飼地域の野外個体群における遺伝的多様性調査をおこなう必要がある。また本博士論文で得られた成果から、生物農薬資材を利用した環境保全型農業を推進する際には、*Wolbachia* を含めた共生細菌の感染有無、生殖操作の解明および放飼による野外個体群の遺伝的多様性への影響を調査することが重要となると考えられる。

キーワード：タイリクヒメハナカメムシ、生物農薬、*Wolbachia*、細胞内共生細菌、生殖操作、細胞質不和合、環境保全型農業、遺伝的多様性

**Improvement of cellulose, hemicellulose and phytate degradation rates by
microorganisms associated with composting process**

IDA

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

堆肥化過程に関与する微生物を用いたセルロース，ヘミセルロース
およびフィチン酸分解速度の改善

モハメド ファタール モハメド イブラハム エイダ
広島大学大学院生物圏科学研究科， 東広島市

Paenibacillus

Microbispora

Cohnella

Phytate degradation by fungi and bacteria inhabiting sawdust and coffee residue composts

Galactomyces *Coniochaeta* *Fusarium* *Penicillium* *Mucor* *Penicillium*
Aspergillus
Luteifibra *Rahnella* *Pseudomonas* *Enterobacter*

% %
Penicillium

Penicillium

Penicillium

Key words

Temporal and spatial variability of phytoplankton population in the eastern coast of the Bungo Channel, Japan

AMASHITA

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

豊後水道東部沿岸域における植物プランクトン群集の
変動機構に関する研究

山下 亜純

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

1. 序論

豊後水道は瀬戸内海と太平洋との境界域に位置し、沖合域ではカタクチイワシ、マアジ等の浮魚の好漁場が形成され、東部沿岸域の入江では各種魚類やアコヤガイなどの養殖場が発達する水産業にとって重要な海域である。これらの漁業生産は、究極的には植物プランクトンの活発な光合成（基礎生産）に支えられ、豊後水道南部の底層で発生する陸棚斜面域由来の栄養塩豊富な冷水「底入り潮」が基礎生産に大きな貢献をしていると考えられている。しかし、これまでの同海域の植物プランクトンの変動機構に関する研究は、主に短期間の観測に基づき、基礎生産速度の実測値も無い等、未解明な点も多い。そこで、本研究では、豊後水道東部沿岸域において、植物プランクトンの量・組成、基礎生産量などの長期（年）、中期（年）、および短期（年）変動を把握し、水温、光、栄養塩などの環境因子との関連性を検証し、その変動機構を明らかにすることを目的とした。

2. 植物プランクトンの長期（100年）変動

豊後水道東部沿岸域の下波湾における過去年間（年）の底泥の珪藻フラックス（堆積速度）と豊後水道底層水温、九州細島潮位、北太平洋年規模振動（*Thalassionema*）のフラックスは年スケールでの高フラックスと低フラックスの周期があり、や九州細島潮位と同調して連動していることがわかった。このことから、下波湾の珪藻フラックスは北太平洋全域に影響する数十年スケールの気候変動、それに伴う黒潮変動や底入り潮との関連性が示唆された。

3. 植物プランクトン現存量の中期（10-40年）変動

透明度は、一般に植物プランクトンの細胞数やクロロフィル量と負の相関関係にあるが、植物プランクトン以外の粒子（デトライタスなど）やクロロフィル亜表層極大の形成が透明度に、ひいては相関に影響を及ぼす。そこで、当海域において透明度が植物プランクトン量を示す指標として妥当であるかどうかを検証後に、植物プランクトンの長期変動の解析を行った

下波湾における年間（年）の観測に基づいた、透明度の逆数とクロロフィル量の観測値には有意な相関が認められた。そこで、下波湾よりも粒子中に占めるデトライタスの割合が少ないと考えられる豊後水道において、透明度の逆数偏差の変動を過去年間（年）に亘って調べた。その結果、植物プランクトン量は年代には多かったが年代には少なくなり、年以降は再び多くなる傾向を示し、その変動パターンには年程度の周期性が認められた。また、このような変動パターンは、豊後水道南部海域における層水温の変動パターンとも概ね一致した。これらの結果は、豊後水道の沖合から東部沿岸域までの広域において、植物プランクトン現存量の変動が底入り潮に影響されていることを示唆するものと考えられた。

4. 植物プランクトン組成の中期（30年間）変動

豊後水道東部沿岸域の宇和島湾と三瓶湾において、過去 年間（ - 年）の成層形成期（ - 月）における植物プランクトンの組成変動を調べ、その変動要因について検討した。その結果、珪藻類 *Skeletonema* の年周期の変動と、年代以降の *Pseudo-nitzschia* の台頭が大きな特徴として観察された。さらに、経年変化と統計解析の結果、*Skeletonema* の変動には栄養塩（主に溶存態無機リン）が、*Pseudo-nitzschia* の変動には水温が関与していることが示された。

これまでの知見から、*Skeletonema* は、増殖に比較的高濃度の栄養塩（特にリン酸塩）を必要とすることから、年代に底入り潮の規模や頻度が低下したことにより、栄養塩の供給量（特に夏季を中心とした季節）が減少し、増殖に高濃度の栄養塩を必要とする *Skeletonema* が衰退したものと推測される。

年代以降に、*Pseudo-nitzschia* の割合が増加した要因は、本属の生理・生態学的特性に関する知見が乏しく詳細な検証は困難だが、本属の多くは他の珪藻類と比較すると細胞サイズが小さいことから、低濃度の栄養塩環境においても、個体群を維持することが可能であると推察される。したがって、本論で示された植物プランクトンの組成の変化は、底入り潮による栄養塩濃度の変動に鋭敏に応答したものと考えられた。

5. 植物プランクトンの基礎生産速度の短期（3年間）変動

下波湾において、ヶ年にわたり、基礎生産速度の測定を行い、その季節変動の特徴を把握するとともに、その変動要因について検証した。その結果、基礎生産速度は、 - 月にかけて上昇し（年間平均値： ）、年間基礎生産量に占める夏季（ - 月）の割合は、秋季（ - 月）に匹敵するほど高かった。しかし、夏季の基礎生産速度は定常的に高いレベルを維持しているのではなく、変動が際立って大きいことが明らかとなった。基礎生産速度は、周年を通して水温や光量子量により律速されていたが、夏季は栄養塩濃度が大きく関与していた。夏季に間欠的に進入する底入り潮が有光層に栄養塩を供給するため、夏季の基礎生産速度は変動が大きい、全体として高いレベルになっていると考えられる。アコヤガイの摂餌活性が高まる夏季に高い基礎生産速度を有することが、当海域でアコヤガイの養殖生産を可能にしてきた要因のひとつであると推定される。

6. 総括

植物プランクトンの現存量、属組成の変遷から、夏季（晩春 - 初秋） 産 尿 湧 栄 栄 栄

Ecological study of *Zostera japonica* and its associated faunal communities in the seagrass beds of the Tanabe Bay, Wakayama, Japan

UEDE

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

和歌山県田辺湾におけるコアマモとその群落内動物群集の生態学的研究

上出 貴士

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

第1章 序論

コアマモは、乾燥への耐性がアマモに優ることから、我が国ではアマモの生育できない砂泥質の潮間帯域で優占し得る数少ない大型植物である。しかし、コアマモの主要な生育場所である潮間帯は沿岸開発の影響を最も受けやすいため、その状況はアマモより危機的であるとされるが、群落の保全・修復に必要な本種の生態学的知見の集積は極めて少ない。そこで、本研究では、和歌山県田辺湾に生育するコアマモとその群落に形成される動物群集並びに底質・流速環境の特性及びそれらの相互関係を把握し、コアマモ群落の保全・修復のための基礎となる生態学的知見を得ることを目的とした。

第2章 コアマモの季節的消長

コアマモ群落の現存量と形態的特徴等の季節変化を調査した。その結果、コアマモの年間の生活環を成熟期（繁茂期前期）、繁茂期後期、繁茂期末期、衰退期、衰退期末期、生長期前期、生長期後期の 期に区分した。また、これらのコアマモ群落の栄養株中の炭素、窒素、リン含量の季節変動と年間純生産量および地上部の最大生産速度を推定した。その結果、田辺湾のコアマモの最大生産速度は、生育環境によってはアマモと同程度の値を示すことが明らかとなった。

第3章 生育環境とコアマモ群落の構造

繁茂期前期に調査を行い、底質環境と群落構造の関係について明らかにした。底質中における酸揮発性硫化合物（ H_2S ）、全有機態炭素（ C_{org} ）、全窒素（ N_{tot} ）、全リン（ P_{tot} ）の各含量および粒度組成から、コアマモは幅広い底質環境下で群落形成が可能であることが示唆された。また、 H_2S 濃度と含泥率の高い底質環境では、コアマモの地下部現存量や栄養株密度が減少する傾向がみられたことから、コアマモ群落の特性は、特に地下部が底質環境に大きく影響を受けることが示唆された。

また、繁茂期前期と末期にコアマモ群落における平均流速、底質環境および草体の形態と群落構造の調査を行った。その結果、平均栄養株長が長い群落は相対的に栄養株密度が低く、地下部現存量の割合が低い傾向がみられた。こうした群落が位置する場所は、流速は小さく、含泥率や H_2S 、有機物含量が高い「内湾的」な環境特性を示した。これに対して、平均流速が大きく、含泥率や有機物含量が低い場所のコアマモは、栄養株長が短い一方で、栄養株密度が高く、地下部現存量の割合が高かった。

第4章 コアマモ群落の動物群集

コアマモ群落のベントス群集の組成を調べた結果、ベントスのうち内在性種は、種数、個体数、現存量ともに裸地に比べてコアマモ群落で高く、周年を通じて大きな変化は認められなかった。これはコアマモの根茎と根によって周年にわたり生息場所が提供されているためと考えられた。表在性種についても、裸地よりコアマモ群落で豊富であったが、海水の流動が穏やかな環境に生育する葉身の長いコアマモ群落で個体数が

高い傾向がみられ、コアマモの生育環境やそれに伴うコアマモの形態の違いによってベントスの群集組成が影響を受けていることが示唆された。

コアマモ群落における甲殻類、頭足類、魚類のそれぞれの群集組成を明らかにするため、裸地とコアマモ群落において、小型曳網による採集を行い、両者の比較を行った。甲殻類群集では、採集された種数、個体数、現存量は、ともにコアマモ群落で裸地より低かった。これについては、コアマモ群落で多く分布していたヒメイカや魚類による捕食圧の影響が示唆された。また、両地点でクルマエビ科とテナガエビ科のエビ類が優占し、コアマモ群落でより小型であった。このことから、これらエビ類はコアマモ群落を着底初期の生息場所として利用していることが推測された。

頭足類群集では、種数、個体数、現存量の全てが裸地よりもコアマモ群落で高かった。定住種はコアマモ群落で出現したヒメイカのみであり、コアマモ群落はヒメイカの主要な生息場所の一つであると考えられた。

魚類群集では、個体数と現存量はコアマモ群落で高くなった。両地点の魚類群集の現存量組成の類似度は低く、現存量組成に基づく多様度はコアマモ群落で有意に高かった。一方、個体数組成の類似度は高く、優占種の出現時期も両地点でほとんど違いがなかった。これらのことから、コアマモ群落における現存量の多様性は、優占するハゼ科魚類やアナハゼ類の現存量の増大によって生じたと考えられた。

第5章 コアマモ群落の底質環境とベントス群集の関係

コアマモ群落の底質環境とベントス群集の関係を明らかにした。コアマモ群落と植生の無い裸地における底質の有機物含量の間には差は無かったが、コアマモ群落ではコアマモ群落のベントス群集は、裸地よりも種数、個体数、現存量が高く、希少種の出現も確認された。また、コアマモ群落のベントス群集の組成に基づく多様度は、種数と有意な正の相関を示したことから、コアマモ群落では種の豊富さがベントス群集の多様度を高くしている要因の一つと考えられた。さらに、コアマモ群落では優占種上位種のうち、～種が内在性の堆積物食者および懸濁物食者であった。懸濁物食者のうち、～種が内在性の堆積物食者および懸濁物食者であった。

Development of the inactivated virus vaccine against viral nervous necrosis (VNN) of sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*

AMASHITA

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

マハタのウイルス性神経壊死症のワクチン開発に関する研究

山下 浩史

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

近年、西日本の海産魚の養殖業の経営は非常に困難な状態にある。この現状の打開策の一つとして、販売単価の高い新規養殖魚種の導入が挙げられ、なかでもマハタ *Epinephelus septemfasciatus* は早くからその候補として有力視されてきた。しかし、海面筏での養成期においてノダウイルス（ノダウイルス科）によるウイルス性神経壊死症（ ）が頻発し、本種の安定的な養殖生産の障害となっている。本研究は、養成期のマハタに発生する 対策として、不活化ワクチンを独自に開発してその有効性を実証するとともに、本ワクチンの実用化に関わる諸要因について検討をおこなったものである。

マハタの VNN と飼育水温（第1章）

自然感染したマハタを ~ の水温で飼育した結果、 での飼育は および に比べてその死亡は緩やかで、かつ累積死亡率も有意に低かった。これは、原因ウイルス（ ）の増殖速度が高温ほど速いこと、またマハタの抗体産生が により優れて促進されることから説明できる。

マハタ VNN に対する予防免疫の可能性（第2章）

罹病歴のあるマハタ飼育魚（感染耐過魚）群に対して、 による実験感染をおこなったところ、感染耐過魚の死亡率（ ~ %）は感染履歴のない対照魚群のそれ（ ~ %）に比べて圧倒的に低かった。自然感染における死亡率においても、対照魚群の累積死亡が %であったのに対して感染耐過魚ではわずかに %であった。このことから、本病に対する予防免疫の可能性が示唆された。

マハタ VNN に対する不活化ワクチンの有効性（第3章）

に対する予防ワクチンとして、不活化ワクチンを試作し、その安全性および有効性について検討した。ワクチン株として、外被タンパク質遺伝子の情報および病原性を考慮し、愛媛県下でマハタ病魚から分離された 株を選定した。ウイルスの培養にはノダウイルスの分離・培養に樹立された 細胞を、ウイルスの不活化にはホルマリンを使用した。不活化ウイルス（ワクチン）を腹腔内に接種されたマハタには異常遊泳や食欲不振等の異常は観察されず、安全性が確認された。不活化ウイルスをマハタに 回接種免疫し、人為感染および野外感染による攻撃試験をおこなった結果、免疫群ではその累積死亡率が対照群と比較し有意に低く（免疫有効率 = %以上）、かつ高い力価（ ）でのウイルス中和抗体の産生が免疫処理 日後でも確認された。このように、本ワクチンは安全性が高く 回の投与で十分な免疫賦与が長期間にわたって期待される。

マハタ VNN の不活化ワクチンの実用化試験（第4章）

注射法による不活化ワクチンの実用化を目的とし、さらに詳細な検討をおこなった。注射免疫法の接種部位としては、筋肉内と腹腔内のどちらにおいても、高い免疫効果が得られた。注射法による最小有効抗原量

は、不活化前ウイルス力価で 尾であった。また、血中ウイルス中和抗体価（ ）と実験感染による免疫効果の間には高い相関関係が認められ、魚群の平均で = : でワクチンの有効性が、また = : で = %以上のワクチン効果が期待できる。水産用ワクチンの自家検定や国家検定の際には、通常は不安定要因の多い対象魚種を使った感染防御試験が用いられる。この感染試験に代わってウイルス中和抗体価をワクチン効果判定の指標とすることができることは簡便性に優れ、これは魚類ワクチンのなかで希有な例である。さらに、野外臨床試験を実施し、不活化ワクチンのマハタに対する安全性と有効性を確認した。

マハタ VNN に対するアクアビルナウイルスの効果（第5章）

不活化ワクチンのひとつの欠点として、感染防御能が賦与されるまで ~ 週間を要することが挙げられ、この間は魚は無防備である。この欠点を克服するため、不活化ワクチンと同時に非病原性（弱毒性）アクアビルナウイルス（ ）を接種することによる感染防御効果を調べた。 および不活化ノダウイルスをそれぞれ単独または同時投与したマハタに対し、 による人為感染試験をおこなった結果、 と不活化ノダウイルスとの同時接種魚では免疫 日以内に防御能が発現し、その後も高い防御能が持続した。

と不活化ノダウイルスを併せて投与することにより、即効性のある非特異防御効果と持続性のある特異免疫が期待され、免疫処理後速やかに海上生簀へ魚を収容することが可能となる。

クエの VNN に対する不活化ワクチンの有効性（第6章）

マハタと同じく市場価値の高いクエ *E. bruneus* にも が発生する。マハタの に対して有効性が実証された不活化ワクチンの魚種拡大を意図して、クエの に対する不活化ワクチンの効果をみたところ、マハタと比較して遜色のない効果がクエに賦与されることが確かめられた。東南アジアなどでの主要養殖対象魚であるハタ科魚類でも が多発しており、また北欧などの冷水魚の 原因ウイルス（遺伝子型）と 型は同一の血清型であることから、本研究で開発した不活化ワクチンの適用範囲は広いと考えられる。

キーワード：ウイルス性神経壊死症， ，ノダウイルス，不活化ワクチン，マハタ，*Epinephelus septemfasciatus*

Studies on vocal communication to improve the sheep handling

AEKAWA

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

飼育管理作業の改善に関与するヒツジの音声コミュニケーションに関する研究

苗川 博史

広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市

第1章 緒論

ヒツジの「心理的事項」に関する研究は極めて少なく、生産農家のみならず研究者・技術者の大きな関心となっている。ヒツジの発声は個体のおかれた環境の生理的、心理的状态の反映を示すものであり、ヒツジの発声から「心理的事項」を類推できると考えられる。しかし、ヒツジの音声の分類をはじめ、音声がどのような状況で使用され、どのような機能を持ち、音声特性がそれとどう関係しているかについては、十分に明らかとされていない。本研究では、合理的で効果的なヒツジの管理技術の確立と飼育方法の改善を目指して、母子ヒツジ間を中心にした個体間の音声と行動の相互作用の解析を行い、ヒツジの音声コミュニケーションの基礎的知見を得ることとした。

第2章 ヒツジの音声分析とその分類

成ヒツジおよび子ヒツジの情報を聴音による疑似音で表記分類するとともに聴音分類で明示不可能な各聴音の特徴付けをするための科学的な裏付けとして音声分析を行った。成および子ヒツジの音声をそれぞれ3種類に疑似音表記して分類を行うことが可能であり、疑似音により表記された文字数が、音声の発声持続時間を反映したもので、発声持続時間を評価できるものと考えられた。また、ヒツジ音声における基本周波数の違いは、疑似音表記によって分類された音声の高低を反映すると同時に、それらによって形成されるアクセントの差異や音節形成等にも関与すること、各音声は音声の大きさの違いにより使い分けられている可能性が示された。

第3章 母子ヒツジ間における音声コミュニケーション

母子ヒツジ相互間に認められる音声と行動との関係について調査した。その結果、母ヒツジは、音声タイプごとにその発声持続時間、基本周波数、あるいは音圧を変えることで子ヒツジに情報伝達していること、子ヒツジが音声の使い分けをしていること、母ヒツジが子ヒツジの音声情報の意味を理解していることが示唆された。

授乳・吸乳行動に至る母子ヒツジ間の音声と行動について調査した。その結果、母ヒツジの 程度 程度の距離であれば、子ヒツジにとって聴き取ることができること、母ヒツジにとって は子ヒツジへの信号として使用可能と認識していること、母ヒツジは母子間距離を認識して音声を使い分けしていること、子ヒツジの音声には「母ヒツジの居場所の認識」についての情報が含まれていること、母ヒツジ発声は、授乳行動に関する情報だけでなく、子ヒツジへの注意喚起の意が含まれること、が推察された。

第4章 子ヒツジ群における音声コミュニケーション

放牧子ヒツジ群における子ヒツジ相互および管理者との間に認められる音声コミュニケーションについて解析を行った。その結果、子ヒツジは子ヒツジ群において 母子間で使用する音声タイプと異なるものを使用すること、発声対象ごとに音声の持続時間や基本周波数を変化させている可能性が示され、子ヒツジは

音の高さや大きさを調節した音声の使い分けによって情報を伝達していることが示唆された。

第5章 成ヒツジ群における音声コミュニケーション

放牧成ヒツジ群における成ヒツジ相互および管理者との間に認められる音声コミュニケーションについて解析を行った結果、子ヒツジ同様、成ヒツジは群において 母子間で使用する音声タイプと異なるものを使用すること、発声対象ごとに音声の持続時間や基本周波数を変化させている可能性が示され、成ヒツジは音の高さや大きさを調節した音声の使い分けによって情報を伝達していること、その使い分けは子ヒツジのそれよりも複雑であることが示唆された。

第6章 総合考察

本研究の結果は、状況ならびにそれに対する反応として音声の使い分けがあること、子は成長とともに音声の使い方および音声を持つ情報について学習すること、ヒツジ間で音声コミュニケーションは群形成および維持に有効であること、ヒツジ音声コミュニケーションの理解は、ヒツジのこころ（欲求）の理解につながり、管理上有効な手段となりうることを示唆した。今後、具体性を持った記述可能な測定項目を加えることで、ヒツジの音声情報の内容をより正確に把握することができるものと期待される。

キーワード：ヒツジ，音声，コミュニケーション，音圧，基本周波数，ホルマント，家畜管理

The structural physicochemical study of surface interaction between fat and emulsifier in crystallized O/W emulsion

RIMA

Research and Development Center, Mitsubishi-kagaku Foods Corporation,

□ □ 4 5 □

エマルション結晶化における油脂-乳化剤の界面相互作用に関する 構造物化学的研究

有馬 哲史

三菱化学フーズ株式会社研究開発センター, 横浜市

エマルションは様々な分野で幅広く利用されているが、エマルション中の油脂の結晶化は、エマルションの乳化安定性を著しく低下させる要因とされている。近年注目が集まっているパーム油の中融点成分()を用いたエマルションは、冷蔵保存時に油相が結晶化して不安定化現象が起き易く問題とされている。

本研究で我々は、を用いたエマルション中にパルミチン酸を疎水基とする親油性と親水性の2種類のシヨ糖脂脂肪酸エステル()を添加することで、低温での乳化安定性が向上することを見出した。本論文は、そのようなエマルションの不安定化抑制メカニズムを油脂結晶と乳化剤の構造物理化学的観点から解明した研究をまとめたものである。

第 章では本研究の背景、関連する研究のレビュー、そして本研究の目的を記述した。

第 章は、本研究で用いた試料と実験方法を述べた。

第 章では、エマルションの低温安定性と添加物効果について述べた。エマルションのゲル化に対する安定性は、()や()などの乳化剤で作製したエマルションの油相に、疎水性パルミチン酸を添加することで向上した。さらに、親水性を併用して添加することで、安定性は更に向上し、その中でもパルミチン酸エステルであるを添加することで、安定性は著しく向上した。

エマルションやエマルションでは、油滴が針状結晶により「うに」の棘状に変化した。を添加すると針状結晶の発生を抑制する効果が見られた。を併用添加したエマルションでは、針状結晶の発生がほぼ完全に抑えられた。ゲル化後のエマルションの物性評価では、エマルションでは油滴同士が強いネットワークを形成していることが示され、や、とを併用して添加したエマルションでは、ゲル化した場合でも比較的弱いネットワークが形成されていることが示された。

第 章では、油脂結晶化と添加物効果をについて述べた。測定、偏光顕微鏡観察、放射光線回折測定を用いてエマルションの油脂結晶化挙動を詳細に検討した結果、全てのエマルションは型で結晶化していることが明らかとなった。また、を添加することで結晶化温度が上昇し、発生する結晶が微細化された。これらの現象はのバルミチン酸鎖と、のバルミチン酸鎖の間に働く鑄型効果によるものであると考えられる。一方、融解過程では、どのエマルションでも型が融液媒介転移により結晶化した。

第 4 章では、油脂の結晶多形転移と添加物効果に関する結果と考察を述べた。で乳化したエマルジョンに を添加することで、型から 型への多形転移が大幅に抑制された。さらに、水相中に親水性の や を添加することで、さらに多形転移が抑制された。しかし、同じ親水性の や ではこのような効果が見られなかった。これらの結果から、油相中に添加する添加剤は、飽和で炭素数が ~ 程度の脂肪酸を有するものが最も多形転移抑制の効果があることが示され、親水基と脂肪酸鎖の類似性によって脂肪酸鎖が協奏的に作用し、型結晶から 型結晶への再配列を抑制するためと考えられる。一方、ラウリン酸やオレイン酸は、脂肪酸鎖長の相違や二重結合の存在のために脂肪酸鎖の配列を乱してしまい、協奏的效果を阻害すると考えられる。

第 5 章では、マイクロビーム放射光 X 線を用いたエマルジョンの微細構造解析の結果を述べた。 や で乳化したエマルジョンと、これらに を添加したエマルジョン、ポリグリセリン脂肪酸エステルである , で乳化したエマルジョンの 種類のエマルジョンにおいて検討を行った結果、エマルジョンと エマルジョンでは、油水界面のごく近い部分においてのみ界面に平行な 結晶のラメラ面の配向性が見られた。これらの結果から、 中に一部存在する などが、界面にある乳化剤のラウリン酸鎖の配列と相互作用し、同じ向きにラメラ面を並べるように結晶化しているのではないかと考えられる。一方、 エマルジョンでは、このような界面に沿った配向性は見られなかった。これは、 の結晶化にオレイン酸がほとんど影響を与えていないことを意味し、不規則な方向を向いて結晶化したと考えられる。しかし、 エマルジョンの油相中に を添加したエマルジョンでは、 結晶のラメラ面が界面に沿って平行に並んでいることが確認された。これは、界面に が吸着することで、 中の主要成分である のパルミチン酸鎖と のパルミチン酸鎖同士が強く相互作用し界面に沿って平行にラメラ面を並べて結晶化したためであると考えられる。

最後に第 6 章では、本研究を総括した。 エマルジョンの油脂結晶化と結晶構造に与える添加剤の効果を詳細に検討した結果、疎水性のパルミチン酸 と親水性の を併用して添加することで低温でのエマルジョンの安定性が向上する結果が得られた。その安定化メカニズムは以下のようにまとめることができる。

- ・パルミチン鎖を持つ が 型の結晶化温度を上昇させ、発生する結晶を微細化する。
- ・疎水性・親水性 の併用添加によって、エマルジョンの不安定化の原因となる 型への多形転移を抑制し、ゲルネットワークを誘起する針状結晶の発生を抑制する。
- ・疎水性 が界面に吸着し、それが鑄型となって界面での 結晶化を誘起して、ラメラ面が界面に平行に配向するような役割を果たしている。その結果、油脂結晶はエマルジョンの油水界面からエマルジョンの内部に向かって成長する。

これらの結果は、食品だけでなく化粧品や医薬品におけるエマルジョンの構造物性制御にとっても基礎的、応用的に極めて意義のある内容であると考えられる。

キーワード：エマルジョン，油脂結晶化，乳化剤，界面相互作用，シヨ糖脂肪酸エステル

Physical study on binary systems of saturated-unsaturated mixed-acid triacylglycerols and its applications

U

Zhengzhou University of Light Industry, School of Food and Biological Engineering

e d e □ □ □ e

飽和 - 不飽和混酸型トリアシルグリセロールからなる二成分混合系の
物理学的研究およびその応用

張 露

鄭州輕工業學院食品与生物工程学院 河南省鄭州市, 中国

Introduction

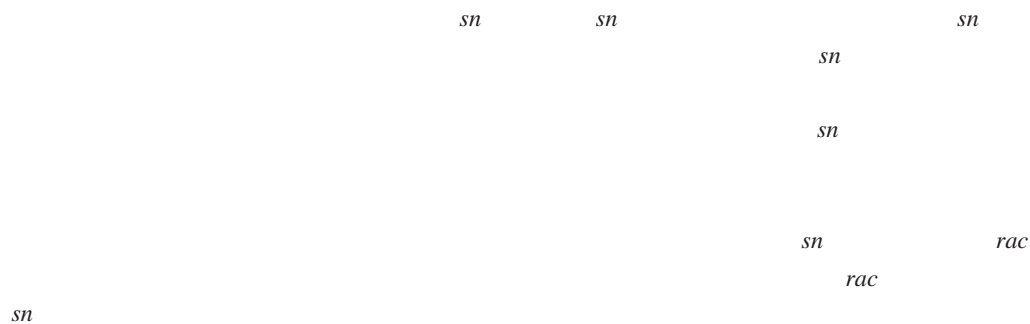
Binary phase behavior of 1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycerol (POP) and 1,2-dioleoyl-3-palmitoyl-*rac*-glycerol (*rac*-OOP)

rac *rac*

rac

rac

Binary phase behavior of 1,3-distearoyl-2-oleoyl-*sn*-glycerol (SOS) and 1,2-dioleoyl-3-stearoyl-*sn*-glycerol (*sn*-OOS)



Binary phase behavior of 1,3-dioleoyl-2-palmitoyl-*sn*-glycerol (OPO) and 1,2-dioleoyl-3-palmitol-*rac*-glycerol (*rac*-OOP)

Conclusion

Key words