
*
*
高知大学学位授与記録
*
*
*

本学は、次の者に博士（学術）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲総黒博第33号	川俣 美砂子	保育者のバーンアウトと生活リズムについての疫学的研究	1
甲総黒博第34号	東島 昌太郎	有明海における特産魚類の初期生活史の多様性	7
甲総黒博第35号	古木 隆寛	外洋棲センタウミアメンボの温度耐性についての生理学的研究 Physiological study on temperature tolerance of the sea skater Halobates germanus	11
甲総黒博第36号	HOANG HUU CHIEN	Soil fertility and its correlation with green-tea elemental and functional components in a special tea-production area around Cong River in Thai Nguyen province, Vietnam ベトナム国タイグエン省コン川沿いの特産茶葉生産地における土壌肥沃度とその茶葉成分への影響に関する研究	16

乙総黒博第9号	大美 博昭	四万十川におけるテナガエビ属3種の生態学的研究	23
甲総黒博第10号	平賀 洋之	大阪湾におけるウシノシタ科魚類の初期生活史に関する研究	28
甲総黒博第11号	PENSRI MUANGYAO	Studies on the Eco-Friendly Aquaculture for Shrimps using Naturally-Occurring Insect Larvae 自然発生する昆虫幼生を利用した環境配慮型エビ養殖に関する研究	32

ふりがな	カワタ ミサコ
氏名(本籍)	川俣 美砂子(福岡県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲総黒博第33号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和2年3月23日
学位論文題目	保育者のバーンアウトと生活リズムについての疫学的研究
発表誌名	(1) Misako kawamata, Hitomi Takeuchi, Nastuki Kimura, Tkahiro Kawada, Krejci Milada, Nozomi Taniwaki, Testuo Harada, 2018, Relationship between burnout and circadian typology and sleep habits in Japanese nursery school and kindergarten teachers, BIOLOGICAL RHYTHM RESEARCH, https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09291016.2018.1512300 , published online: 10 Oct 2018.
	<p style="text-align: center;">審査委員 主査 教授 伊谷 行 副査 教授 久保田 賢 副査 教授 田中 壮太 副査 竹内 日登美</p>

論文の内容の要旨

1. 問題の所在と研究の目的

乳幼児の育ちや保護者の子育てを日々支援する保育者は、バーンアウト(燃え尽き症候群)に陥りやすいとされる対人援助職従事者であり、彼らが精神的にも身体的にも健康な状態で就業を継続するうえで、社会・制度面や生活・健康面などにおいて、さまざまな問題が存在する。このうち、社会・制度面の問題点の検討や方策の提言は、保育者に関しても多くの先行研究がある。しかし、生活・健康面に関しては、看護師など他の対人援助職では見られるものの、保育者の生活リズムや睡眠習慣についての検討は行われておらず、森田(2011)の主観的健康観とバーンアウトとの関連についての報告のみである。そこで本研究では、質問紙による横断的調査と介入調査を実施し、教育社会学、時間生物学、睡眠学の視点から、保育者のバーンアウトを防ぐための方策を明らかにした。

1999年、厚生労働省より「重点的に推進すべき少子化対策の具体的実施計画について」(新エンゼルプラン)が策定され、保育サービスの推進や低年齢児の受け入れ枠の拡大といった施策によって、保育者の需要が高まった。以降、母親の就労や待機児童の問題、地域の子育て支援の必要性等から、保育者の業務は広範化しており、長時間労働や早出遅出などの不規則な労働も増加している(川上2017、武田ほか2017)。保育者の職場環境の整備は十分と言えない状況であり(西坂2006、神谷ほか2011)、早期離職者が多い状況は長年続いている(川俣2018)。保育者の労働負担に関しては、熊谷ほか(1990)のように30年程前から警鐘が鳴らされており、労働負担との連関が高いバーンアウトの発現予防の必要性(原田2002)が述べられて久しい。

バーンアウトとは、持続的な職業性ストレスに起因する衰弱状態によって、意欲喪失と情緒荒廃、疾病に対する抵抗力の低下、対人関係の親密さの減弱、人生に対する慢性的不満と悲観、職務上の能率低下と職務怠慢等をもたらす症候群のことである(Freudenberger1974)。1970年代半ばに、アメリカで対人サービスのメンタルヘ

ルスが注目されるようになり、「Maslach Burnout Inventory (以下 MBI)」というバーンアウトの重症度判定基準第1版 (Maslach ほか 1982) が考案された。

バーンアウトの先行研究は、保育者同様に対人援助職である看護師 (稲岡ほか 1982、久保ほか 1994、塚本ほか 2007 等) や学校教員 (倉戸 1986、伊藤 2000、田村ほか 2001 等) については蓄積されているが、保育者については、20 年程遅れて研究が始まった。保育者のバーンアウトの原因としては、仕事の質的負担 (磯野 2008) や量的負荷 (森田ほか 2011)、園内の人間関係 (宮下 2010)、職務内容の不明瞭さ (池田ほか 2012)、人員不足 (木曾 2013) 等が挙げられている。一方、バーンアウトを低減させる要因として、管理職や同僚からのサポート (宮下 2010)、業務スキルの向上 (森田 2011)、勤務中の休憩時間の確保 (木村ほか 2016) 等が報告されている。しかし、これら保育者のバーンアウトに関する先行研究は、職場の労働条件や人間関係に焦点を当てたものがほとんどである。保育施策や保育制度を直ちに変更することは困難であり、職場環境については、原因が明らかになったとしても個人の努力のみで解決することは難しい。そこで本研究では、個人で改善が可能な、保育者自身の生活リズムや睡眠衛生など健康上の課題に着目し、バーンアウト軽減の可能性を明らかにすることを目的とした。

先に述べたとおり、現在、保育職の需要は高いにも関わらず、早期離職による保育者不足が続いており、待機児童問題を改善するためにも、バーンアウトを低減させ、保育者の健康と長期就業につなげる実証的な研究が必要とされている。本研究では、横断研究として質問紙で保育者の生活リズムとバーンアウトの関係を調査し (課題 I)、生活習慣改善のためのリーフレットを用いた介入プログラムの実施によって保育者の生活習慣を修正することで、バーンアウト状況の改善を試みる介入研究を行った (課題 II)。

2. 研究の対象と方法

課題 I では、保育者のバーンアウトと生活リズムの関係を明らかにするため、A 市保育担当課が選定した市立保育所、及び A 大学附属幼稚園の、保育者 (保育士・幼稚園教諭・保育補助員等) 計 220 名を対象に、2017 年 6~7 月に質問紙調査を実施した。MBI (Maslach ほか 1996) を参考にわが国のヒューマンサービス現場に適合するように作成された「(日本語版) バーンアウト尺度」 (久保ほか 1994) を再度保育者向けに加工したバーンアウト質問 17 項目 (Kawamata ほか 2018) と、Torsvall & Åkerstedt (1980) による朝型・夜型傾向を測定する概日タイプ度質問 7 項目、加えて起床・就寝時刻等に関する質問項目 (原田 2008)、回答者の特性 (生年月、職位、雇用形態、担当等) を合わせた、総合質問紙を使用した。統計解析には IBM 社製統計解析ソフト SPSS Ver. 26 for Windows を用い、有意水準は 5% とした。生活リズム、睡眠習慣とバーンアウト傾向の関連を見るために、データ全体で Spearman の相関分析を行った。また、雇用形態 (常勤/非常勤)、保育経験年数 (12 年未満/12 年以上) 毎にも、相関分析を実施した。各項目のケース数は、用いる変数の欠損値によって異なった。

課題 II では、課題 I でバーンアウトに影響すると考えられた、概日タイプ度や睡眠の改善等によるバーンアウト低減効果の是非を明らかにするため、A 市保育担当課により選定された介入群と非介入群の保育者に対し、課題 I と同様の内容の質問紙調査を実施した。介入群には、事前質問紙調査実施後に、リーフレット (原田 2013) による意識付けや 3 週間の生活習慣改善取り組みチェックシート等の介入プログラムを実施し、その 1 か月後に事後質問紙調査を行った。非介入群には、介入群と同じタイミングで、事前・事後の質問紙調査のみを実施した。一連の調査結果から、本プログラムがバーンアウト傾向や生活習慣の改善に及ぼす影響を検討した。対象者は、選定された保育者 206 名のうち、すべての調査と介入プログラムに最後まで参加した女性保育士 83 名であった。

バーンアウト尺度である MBI は、仕事に対する精神的疲労感や仕事をやめたいと感じる「情緒的消耗感」、同僚やクライアントとの接触の回避や仕事に意義を感じなくなる「脱人格化」、仕事に喜びを感じ、熱中したり満足感を持ったりする「個人的達成感」の 3 つの下位尺度から構成されており、本研究でも、これらの尺度を用いた。統計解析には IBM 社製統計解析ソフト SPSS Ver. 26 for Windows を用い、介入効果の検討には一般線型モ

デル（二元配置の分散分析）を、また、生活リズム改善がバーンアウト傾向に及ぼす影響の検討には介入前後のバーンアウトスコアの変化量と、概日タイプ度の変化量の相関分析を行った。有意確率は5%とし、各項目のケース数は用いる変数の欠損値によって異なった。

調査は、各職場が調査対象者に質問紙を配付した後に回収する留め置き法で、無記名にて行った。また、調査票回収時は、個々の回答が他の職員等の目に触れないよう、個別の封筒に入れたうえで回収した。本研究は、「高知大学教育研究部人文社会科学系教育学部門研究倫理規則」に則って、研究計画書を提出し、承認を受けて実施された。

3. 結果と考察

【課題Ⅰ】

バーンアウトと生活リズムの関係を検討した課題Ⅰでは、概日タイプ度質問7項目のうち、起床に関連する3つの質問の合計得点とバーンアウトスコアとの間に、朝に弱い（夜型）保育者はバーンアウト傾向が高いという負の相関が見られた（ $rs = -0.300, p = 0.000$ ）。さらに、就寝に関連する3つの質問の合計得点との間には、夜に弱い（朝型）保育者がバーンアウト傾向が高いという正の相関が見られた（ $rs = 0.202, p = 0.002$ ）。すなわち、バーンアウト傾向が高まるとより長い休息時間を必要とするようになり、朝いつまでも寝ていたく、夜も早く寝たくなる、補償作用のような現象が起こる可能性が示唆された。

また、非正規雇用保育者よりも正規雇用保育者の方が、高いバーンアウトスコアを示した（ $p = 0.028$ ）。正規雇用保育者のうち保育経験年数が12年未満の保育者は、経験年数が長くなるほど、バーンアウト傾向が低くなる負の相関が見られた（ $rs = -0.655, p = 0.001$ ）。バーンアウトスコアと勉強不足感（「保育について、どちらかといえば勉強が足りていないと感じることがある」）については、勉強不足を感じる保育者ほどバーンアウト傾向が高いという正の相関があった（ $rs = 0.260, p = 0.005$ ）。このような関係は、看護師のバーンアウトに関する研究でも認められており、キャリアの長さ、看護師としてのスキル等が、バーンアウトスコアに影響を与えると解釈されている（稲岡 1982、久保ほか 1994、山岸 2001）。したがって本研究でも同様に、保育経験年数や保育に関する知識や技能を身に付けることで、バーンアウト傾向を低減できることが示唆された。

一方、12年以上の経験を持つ正規雇用保育者は、経験年数とバーンアウトの間に、関係は見られなかった。関係が見られたのは、職場の相談相手の有無であった（ $p = 0.011$ ）。

保育経験年数が12年以上になると、早期離職者が多い保育の現場ではベテラン保育者である。本調査の回答者も、保育経験12年から主任や園長職に就いていることが多く、職位やそれに伴う業務の違いがバーンアウト傾向に影響する可能性が考えられたが、本研究では職位とバーンアウトの間に関連は見られなかった。また、乳幼児や保護者を対象とする対人援助職では、守秘義務を遵守しなければならないため、職場の相談相手の有無は保育者の精神衛生上重要なことであると考えられた。

【課題Ⅱ】

介入研究を実施した課題Ⅱでは、回答者のバーンアウト傾向について、潜在的な同一性を探るために因子分析を行ったところ、3つの因子が析出された。本調査回答者のバーンアウト傾向には、先行研究と同様に、第1因子「情緒的消耗感」（7項目）、第2因子「個人的達成感」（6項目）、第3因子「脱人格化」（4項目）の、3つの側面が含まれていることがわかった。

対象者全体でバーンアウトスコアと概日タイプ度に対する介入プログラムの効果を検討したが、効果は見られなかった。そこで、介入群と非介入群それぞれで、バーンアウトスコアが上位25%の回答者を、バーンアウト高群として介入効果を検討した。介入群の事前・事後のバーンアウトスコアの変化を見たところ、有意な介入効果は見られなかったが、バーンアウトスコア全体（17項目）は、54.13から51.00に低下していた（ $p = 0.018$ ）。そのうち、バーンアウトスコア「脱人格化」は8.88から6.88に低くなっていた（ $p = 0.000$ ）。また、バーンアウト高群の事前・事後の概日タイプ度の変化に関しては、概日タイプ度起床得点が8.20から9.27に上昇して

いた ($p = 0.015$)。さらに、「脱人格化」の変化値（事前－事後）と起床得点変化値（事後－事前）の間には、正の相関が見られた ($p = 0.002$)。非介入群では有意な変化は認められなかった。

「脱人格化」は、情緒的資源のこれ以上の消耗を防ぐ防衛反応の一種であることから、保育者の心身の疲弊、ひいては、サービスの質そのものに影響を与える。乳幼児を対象とする保育者にとって、生活リズムの調整による「脱人格化」の低下は、サービス向上につながる望ましい変化であると考えられる。なお今回、概日タイプ度のうち、就寝得点ではなく起床得点のみが上昇した。これは、早起きより早寝の方が難しいというヒトの体内時計機構の性質に加え、就寝については、同居家族や家事の状況などによっては自身でコントロールすることが難しいものの、起床（早起き）に関しては自身の意志で変更しやすいことから、今回の取り組みで改善した可能性が考えられる。長期間にわたる取り組みによってはさらなる効果が得られると期待される。

Kawamata ほか (2018) では、朝の辛さが少ない人ほどバーンアウトスコアが低いという結果であったが、本研究の対象者全体の介入前後での生活習慣の変化を見た場合、介入群ではその関係は見られず、非介入群でのみ概日タイプ度起床得点の上昇が見られた ($p = 0.049$)。今回の非介入群は、質問紙回収率 100%で、取り組みに対する意識の高い集団ということもあり、事前質問紙への回答が自分の生活を振り返る契機となり、概日タイプ度起床得点が増え、朝型化した可能性も考えられるが、詳細は不明である。

4. まとめと今後の課題

以上、課題 I・II の結果のように、本研究でも経験年数や年齢がバーンアウト低減に有効に作用するという先行研究（齋藤ほか 2009、宮下 2010、森田ほか 2011）と同様に、保育者としての経験を積んで知識や技能を身に付けることで、自己効力感が向上することが示唆された。このことから、研修などの知識・技能を習得する機会や、経験の短い保育者をサポートできる職場環境が必要であることが分かる。また、経験の長い保育者でも、職場内に相談相手がいることがバーンアウトの低減につながっており、お互いに日々の出来事を相談できる人間関係作りが重要なことが再確認された。

一方、生活リズムとの関連からは、バーンアウトが高い状況にある保育者は、精神的なストレスによって長時間の睡眠が必要になっている可能性を示唆しており、そのような状況にある保育者は十分な休息を確保し、精神衛生の回復を図ることが重要であると考えられる。しかし、十分な休息をとるためには、時間の確保も重要なが、適切な生活リズムを維持することで、睡眠の質を向上させることも必要である。介入調査の結果は、生活習慣改善プログラムによる朝型化がバーンアウト傾向、特に脱人格化の改善に有効に働いたことを示唆している。これは、健康状態と「脱人格化」の関係を報告した森田 (2011) の結果とも一致している。対人援助職である保育者にとって、相手の顔を見たくない、話したくない、機械的に接するようになるというような「脱人格化」の軽減は、重要な改善効果と言える。

しかし、本研究の介入調査については、介入群と非介入群は、A 市保育担当課による選定のため、事前調査結果によって、各群の属性や参加人数を調整することができなかった。また、地方の一都市の公立保育所のみで短期の介入を実施した結果であることから、今後は、事前に属性や人数を調整し、私立保育所・幼稚園・認定こども園等の保育職従事者を対象者に含めた長期の介入を行うなど、評価の方法や調査デザインを検討して、更なる調査を行う必要がある。特に健康教育では、対象者への盲検化が困難なため、本研究でも、非介入群が待機期間中に学習してしまうことで、回答に影響を及ぼした可能性も考えられる。

本研究の介入プログラムでは、リーフレットとチェックシートを用いた短期間の実施によって、僅かながらバーンアウト「脱人格化」や生活リズムの改善が得られた。人間形成の土台となる乳幼児期の保育に携わる保育者のバーンアウトは、他の対人援助職同様に深刻な問題であり、「脱人格化」の状況が軽減されたことは意義深い。このように保育者が生活習慣を見直すことで、愛情をもって乳幼児や保護者に接し、精神的にも身体的にも健康で就業を継続していけることは、乳幼児の健全な育成のためにはもちろん、保育者不足が続いているわが国の保育サービスの現状を改善するためにも重要である。

論文審査の結果の要旨

本研究は、保育者が、乳幼児の育ちや保護者の子育てを日々支援する中で、精神的にも身体的にも健康な状態で就業を継続するために、対人援助職従事者が陥りやすいバーンアウト(燃え尽き症候群)の予防や改善の方策を、質問紙による横断的調査と介入調査によって、教育社会学、時間生物学、睡眠学の視点から明らかにしたものである。論文は、これまでの研究をレビューした前半と、質問紙および介入研究の結果と考察を行なった後半部の2部構成になっている。

前半部では、対人援助職のバーンアウト・生活リズムに関する研究動向が述べられた。続いて、川俣氏自身の質問紙調査による、幼稚園教諭の就業実態が詳述され、さらに、聞き取り調査による、非正規雇用保育者の研修機会と正規職への希望との関係についても、論考がなされた。

後半部は、高知市内の保育園・幼稚園の保育者を対象に行われた研究結果である。まずは、保育者のバーンアウトと生活リズムの関係を明らかにするために、Torsvall and Åkerstedt による、朝型 - 夜型傾向を測る概日タイプ度質問項目と、起床・就床時刻等に関する質問紙を合わせた生活習慣質問紙を、さらに、バーンアウトに関しては Maslach Burnout Inventory (MBI) を参考にわが国のヒューマンサービス現場に適合するように作成された、「(日本語版)バーンアウト尺度」を再度保育者向けに加工した計17項目の質問紙を使用した。

その結果、概日タイプ度の起床に関するスコアとバーンアウトスコアには、有意な負の相関が、概日タイプ度の就床に関するスコアとバーンアウトスコアには、有意な正の相関が認められた。これは、バーンアウトスコアが高い保育者が、より長い睡眠を欲している状態にあることを示している。また、主任や園長職に就く業務経験年数12年で保育者をグループ分けすると、経験年数が12年未満の保育者は、経験年数が長くなるほど、バーンアウト傾向が低くなる負の相関が見出された。保育者は、保育所や幼稚園で経験を積むにつれて、乳幼児や保育の仕事に関する知識が増え、自信を得て、バーンアウトの状況を低減することができること示唆された。このような関係は、看護師のバーンアウトに関する先行研究でも認められている。さらに本研究では、12年以上の経験を持つ保育者では、職場に相談できる相手がいる場合に、バーンアウトスコアが低いことも示された。

次に、保育者にリーフレットによる意識付けと3週間のチェックシートによる生活習慣改善プログラムを施す介入研究を行なった。当初の研究手法としては、事前事後の質問紙によるスコアの変化を介入群と非介入群とで比較することであったが、介入群間の特性の違いや調査対象者の人数により、その交互作用を検出するには至らなかった。しかし、事前調査時にバーンアウトスコアが高かった保育士(バーンアウト高群)について、事前と事後のスコアを比較することにより、以下のような結果を得ることができた。

本研究の結果、バーンアウト高群は、介入後のバーンアウトスコア、中でも「脱人格化」に関する得点が有意に低下していた。またバーンアウト高群では、概日タイプ度の起床に関する得点で、有意に朝型傾向の改善が認められた。また、これら概日タイプ度の改善と脱人格化スコアの改善には有意な正の相関が認められ、生活習慣の改善がバーンアウトの改善に影響を与えたという有力な証拠を得ることができた。この結果は、健康状態と脱人格化についての関係を示唆した森田(2011)の結果を、介入研究により実証したことになる。

本論文を総合すると、保育者のバーンアウトを改善するための方策は、以下の3点となる。

- ・ 自らの生活リズムの調整に留意すること
- ・ 職場内での相談相手をつくること
- ・ 保育者のキャリアに応じた研修機会の確保すること

このうち、とくに、自らの生活リズムを整えること、とくに、起床に関しては、自分の意志でコントロールしや

すいため、取り組みやすい課題となると考えられる。

本研究は日本の地方都市を対象にして得られたものであるため、今後は、日本のさまざまな社会状況における現状と方策について研究を行い、また、黒潮圏アジア域に拡大した視野を持った研究に発展することが期待される。

なお、本研究の一部は、以下の査読付き国際誌に掲載されている。

Kawamata, M., Takeuchi, H., Kimura, N., Kawada, T., Milada, K., Taniwaki, N., Harada, T. (2020) Relationship between burnout and circadian typology and sleep habits in Japanese nursery school and kindergarten teachers. *Biological Rhythm Research*, 51 (1), in press. (Published online: 10 Oct 2018)

ふりがな	トヅマ ショウタロウ
氏名(本籍)	東島 昌太郎(神奈川県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲総黒博第34号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和2年3月23日
学位論文題目	有明海における特産魚類の初期生活史の多様性
発表誌名	(1) 東島昌太郎・木下泉・広田祐一. 2019. アリアケシラウオはどこで産卵するのか? La mer, 57(3/4): 109-117.
	<p style="text-align: center;">審査委員 主査 教授 木下 泉 副査 教授 伊谷 行 副査 教授 久保田 賢 副査 齋藤 知己</p>

論文の内容の要旨

申請者・東島昌太郎氏は、2019年10月29日に上記題目の学位論文について審査願を本専攻に提出した。それに先立ち、申請者の必要提出書類を確認し、直ちに予備審査委員会が設置され、11月5日から予備審査が開始された。申請者が筆頭著者である1篇の参考論文の査読制度付き学術論文雑誌への公表(次頁末)、および国際学会もしくはワークショップでの英語による口頭発表を2回、国内学会での口頭発表を5回それぞれ行い、学位取得に必要な所定の単位を確認し、11月27日に予備審査に合格し、12月17日より本審査に入った。本論文は、大陸遺存種といわれ、本邦では有明海にのみ分布する特産種、特にハゼ類の初期生活史とその多様性に関して論じたものであり、次の5章からなっている。

1. 諸言(参考論文)

国内最大の干満差によって、広大な干潟と高濁度水塊が形成される有明海には、日本では固有種の特産魚類8種が分布する。同海的环境は古くから人為的に改変され、同海的环境への検討は不十分なまま、同海での魚類の漁獲量は著しく減少している。本研究では、同海的环境特異性と特産魚類の生態の関係を解明するため、3種の特産種を有し、湾奥部の仔稚魚相で優占するハゼ科とアリアケシラウオとシマフグの初期生活史を比較した。

2. 材料と方法(参考論文)

仔稚魚調査は、2014年2月から2019年7月にかけての大潮前後に行った。主に、湾奥部に流入する塩田川、六角川、早津江川および矢部川の各河口域、湾奥部沖合域、諫早湾、調整池および三池砕波帯で調査した。浮遊期個体は、稚魚ネット(口径1/1.3m、網目0.5/1mm)もしくは近底層ネット(網口幅1.5m、高さ0.25m、網目1mm)により、底生期個体は、桁網(網口幅1.5m、高さ0.3m、

網目 2 mm) により採集した。各調査時に物理環境として、水温 (°C)、塩分、濁度 (NTU) および流向・流速を計測した。

物理環境をみると、これまでの知見通り、湾奥部河口域には高濁度水塊が発達し、特に河川感潮域では、激しい潮流により強混合であった。六角川の河口付近の物理環境を上げ潮から下げ潮まで、経時的に観測したところ、強混合では無いものの、潮汐によって水塊構造が大きく変化する、流動的なものであった。

3. ハゼ類の初期生活史

ハゼ科仔稚魚について特産種とその近縁種の結果みると、マハゼと同属のハゼクチは春に、ムツゴロウ、ワラスボおよびショウキハゼは夏にそれぞれ出現した。水平分布をみると、いずれの種も主に河口周辺から河川感潮域に分布し、鉛直分布をみると、ワラスボでは発育にともなって分布を表・中層から底へと鉛直的に移すのに対し、ムツゴロウでは底生稚魚は出現せず、水平的な移動によって接岸上陸を行うことが示唆され、同河口域を成育場としているという点で共通していたが、種により、その利用様式は異なっていた。

河口域の潮間・潮下帯の泥を掘孔して生活するワラスボ成魚の眼は、退縮し皮下に埋没しているが、浮遊期では、眼は一般的なハゼ科と同様に発達している。ワラスボの眼の退縮の実態を明らかにすることは、特産種の特異な環境への適応の解明につながると考えられ、本種の着底と眼の退縮の関係について精査した。ワラスボの眼は、孵化直後から成長にともなって拡大していったが、体長 10 mm を過ぎると急激に小さくなり、12 mm では、眼は完全に皮下に埋没していた。眼が拡大中の個体は、表・中層に分布していたのに対し、眼が退縮し始めた稚魚は近底層と底に分布していた。よって、本種は浮遊生活から底生生活に移行するのと同時に、眼が退縮し皮下に埋没することが明らかとなった。また、ワラスボの繁殖生態は、明らかとなっていないが、典型的な埋在性魚類である本種が、潮流にともなう浮遊を行うという点に注目し、桁網とアンコウ網を用いて採集した底生・浮遊個体の成熟度を比較したところ、円熟雌は下げ潮時に多く浮遊しており、雄探索のために潮流にともない移動することが推察された。

4. その他特異な魚類の初期生活史 (参考論文)

通し回遊魚とされるアリアケシラウオとシマフグの仔稚魚分布について、湾奥部河口域を中心に調査した結果、これまで遡河回遊魚とされていたアリアケシラウオの仔魚は河川内では全く出現せず、卵黄囊期仔魚は河口周辺とその滞筋に出現し、その環境は有明海湾奥部としては高鹹であったことから、河口周辺の汽水域で産卵する可能性が高いことが示唆された。また、卵黄吸収後のアリアケシラウオ仔魚は発育にともない反時計回りの恒流によって分散し、湾奥部の沿岸域で成育していることが推測された。シマフグの水平分布をみると、調査期間を通して、6 月に稚魚のみが採集され、そのほとんどが湾奥部の河川感潮域に出現した。本種は有明海湾口周辺で産卵することから、本種は、仔魚もしくは稚魚期に同海に加入し、初期生活史において必然的に河川を利用する淡水両側回遊魚であることが明らかとなった。

5. 総合討論 (参考論文)

特産種の初期生活史で利用される環境は高濁度、低鹹もしくは速い潮流など有明海特有のものであ

ったが、必要と考えられる環境要素や時期は種によって様々であった。このことから、諫早湾干拓事業に代表される環境の改変が進む中で、漁獲量の減少が著しい有明海の魚類生産性を回復させるためには、多角的な環境保全が必要であることが示唆された。

有明海に関しては、過去、本専攻の学位論文のテーマとして、2名（八木佑太：2009年度「有明海における魚類の成育場に関する研究」、Simanjuntak, C.P.H.：2015年度「Early life history of the endemic engraulid, *Coilia nasus*, in Ariake Bay」）によって取組まれた後、今回の申請者は、本課題を学部3年生後期から本年まで6年間、弛まなく研究し続け、有明海を最も特徴付け最も固有種を含むハゼ科魚類に特に焦点を当て、黒潮の分岐・対馬暖流の流域圏である有明海一連の研究のいわば集大成的なものと言える。

以上、申請者は本研究によって本専攻で博士（学術）の学位を取得することは極めて妥当と言える。

論文審査の結果の要旨

最終試験として面接を行ったところ、申請者の基礎・専門科目の学識は博士（学術）として研究を遂行して行く上で備わっていると判断された。また、申請者は、筆頭著者として参考論文を既に1報を学会誌に公表したこと、ならびに国際学会（高知および比国）での英語による口頭発表を鑑みて、本人の研究者としての英語能力は十分であると判断された。先の論文審査の結果を加味し、総合的に検討したところ、学術博士の学位を取得するに相応しいと判断された。

ふりがな	フキ ヒロ
氏名(本籍)	古木 隆寛 (長崎県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲総黒博第35号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和2年3月23日
学位論文題目	外洋棲センタウミアメンボの温度耐性についての生理学的研究 Physiological study on temperature tolerance of the sea skater <i>Halobates germanus</i>
発表誌名	(1) Takahiro Furuki, Hiroki Fujita, Mitsuru Nakajyo and Tetsuo Harada Temperature Acclimation Ability by an Oceanic Sea kater, <i>Halobates germanus</i> , Inhabiting the Tropical Pacific Ocean : Insects Vol.9 Issue 3 2018
	審査委員 主査 教授 伊谷 行 副査 教授 田中 壮太 副査 講師 比嘉 基紀

論文の内容の要旨

半翅目(カメムシ目)に分類されるアメンボ下目は陸水の他にも、外洋や沿岸といった海水など、種によって生息する場所が異なる。中でも *Halobates* 属(ウミアメンボ属)の内、センタウミアメンボ *Halobates germanus*、コガタウミアメンボ *Halobates sericus*、ツヤウミアメンボ *Halobates micans* の3種は約95万種が記載されている昆虫において、唯一外洋での生息を可能にした昆虫である。このように昆虫が新たな環境での生存を可能にするには、その環境で生き延びるための耐性が必要である。外洋に生息するアメンボの耐性の特徴を明らかにすることは生物の分布拡大などのモデルケースとして大変意義深い。中でも、外洋、沿岸、陸水では経験する温度変動が大きく異なっており、それぞれの場所で生息する種は異なる温度耐性を持っていることが考えられる。本研究では、外洋の温暖で温度変動の少ない赤道域に生息するセンタウミアメンボ、アメンボ下目に分類され、温暖ではあるが温度変動の激しい沿岸に生息するケシウミアメンボ *Halovelina septentrionalis*、外洋種であるセンタウミアメンボと同系統で、温度変動は少ないが外洋や沿岸に比べて低温の陸水に生息するシマアメンボ *Metrocoris historio* の温度耐性の比較、また低温及び高温が耐性に与える影響を検証した。さらに、低温と高温ではアメンボにおいてどちらが大きなダメージを与えるのかを検証するために麻痺状態からの回復時間の計測も行った。

外洋種のセンタウミアメンボは2015年10-11月にインドネシア、スマトラ沖南西50km定点にて採取を行い、採取場所の水温に近い30±1℃で飼育した成虫個体の温度耐性の測定及び温度麻痺からの回復時間の測定のみを行い、2016年12月にインドネシア定点にて採取したセンタウミアメンボにおいて低温耐性

の測定および、低温・高温が耐性に及ぼす影響を検証した。沿岸種のケシウミアメンボは 2017 年 9 月、2018 年 9 月に沖縄県国頭郡今帰仁村の湧川にて採取を行い、採取場所の水温に近い 30℃で飼育した成虫個体にて温度耐性の測定および低温・高温が耐性に及ぼす影響、温度麻痺からの回復時間の測定を行った。また陸水種のシマアメンボは 2018 年に高知県春野町にある荒倉山の湧水からなる小川にて採取し、採取場所の水温に近い 20℃で飼育を行った後、温度耐性の測定および低温・高温が耐性に及ぼす影響、温度麻痺からの回復時間の測定を行った。

温度耐性の測定方法としては、飼育水温と同じ温度に設定した恒温水槽にアメンボを移し、15分に1℃ずつ温度の低下または上昇を行い、アメンボが腹部着水などにより水面を滑走できなくなる状態を低温麻痺、高温麻痺とし、また麻痺に陥った温度を低温麻痺温度、高温麻痺温度とし、温度耐性の指標とした。低温・高温が耐性に及ぼす影響としては生息場所より低い温度、または高い温度に 10-12 時間曝した後、同上の方法で麻痺温度の測定を行った。なお昆虫において、温度暴露の後に高温耐性が強化されるという先行研究がほとんどないため、本研究では温度暴露後の低温耐性のみを測定した。センタウミアメンボは低温暴露のために 28℃、25℃に 10 時間、高温暴露のために 32.5℃に 12 時間、ケシウミアメンボは低温暴露のために 28℃、25℃、22℃に 10 時間、高温暴露のために 31℃、34℃に 10 時間曝し、シマアメンボは低温暴露のために 15℃、10℃に 10 時間、高温暴露のために 25℃、30℃に 10 時間曝した。温度麻痺からの回復時間測定に関しては低温麻痺、高温麻痺状態に陥った個体を元の飼育温度に戻し、再び滑走し始めるまでの時間を測定した。

温度耐性の比較の結果として、2015 年採取のセンタウミアメンボの平均低温耐性は 17.1℃、ケシウミアメンボの平均低温麻痺温度 11.9℃、シマアメンボの平均低温麻痺温度は 6.4℃であり、センタウミアメンボは他の 2 種と比較して有意に低温への耐性が低かった。このことはセンタウミアメンボが外洋という年間を通して温暖で温度変動の少ない海域に生息しているため、高い低温耐性能力を持たない可能性が示唆される。しかし、計 7 回採取を行った内、大気振動であるマッデン＝ジュリアン振動が通過した後に採取したセンタウミアメンボの低温耐性の能力は通過前よりも高かった。このことは大気振動による大雨が降り続くことで、海表面の温度が低下し、センタウミアメンボが短時間で順応し耐性を高める、いわゆる急速低温耐性強化を行っている可能性がある。ケシウミアメンボの採取時の水温は外洋と同じ 30℃前後であるが、外洋よりも大きな日内変動に曝されるため、センタウミアメンボよりも高い低温耐性を持つと考えられる。またシマアメンボの生息場所の水温は 20℃前後と低いため 3 種の中で最も高い低温耐性能力をもつと考えられる。また、センタウミアメンボの平均高温麻痺温度は 39.6℃、ケシウミアメンボは 42.9℃、シマアメンボは 34.6℃であった。先述の通り外洋種と沿岸種、陸水種の高温耐性も生息水温の日内変動に影響されていると考えられる。

前述の通り、センタウミアメンボは多雨による海水温度低下の際に急速低温耐性強化を行っていることが示唆された。2016 年に採取したセンタウミアメンボの温度暴露を行わない場合の平均低温麻痺温度は 16.5℃であったが、28℃、25℃の低温に 10 時間暴露した後は 14.0℃、14.1℃と、低温耐性能力が高くなった。ケシウミアメンボでは低温暴露による低温耐性の強化は認められなかった。シマアメンボにおいても低温暴露による低温耐性の強化は認められず、センタウミアメンボはわずかな水温の低下で、急速低温耐性強化を行っているという結果となった。これは季節的な温度変動は小さいものの、急な気象の変化による水温の低下が起こる外洋での生存において重要な役割を果たしていると考えられる。また今回、ケシウミアメンボ、シマアメンボが急速低温耐性強化を示さなかったが、設定した水温は両種ともに採取場所で経験する水温であり、さらに低い温度では急速低温耐性強化を示す可能性がある。

一方、外洋ではエルニーニョなどの異常気象により海水温度の上昇が起こることもある。しかし 32.5℃の高温に 2016 年採取のセンタウミアメンボを 12 時間、暴露したところ麻痺の状態に陥り、耐性計測が不

可能となった。そのため、 $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 28°C で滑走できる状態まで回復させた。しかし、回復している24時間で半数以上が死亡した。計測の結果、 $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 28°C で回復した個体の平均低温麻痺温度はそれぞれ 21.9°C 、 21.1°C であり、低温耐性能力が低下した。ケシウミアメンボも 34°C の高温に暴露した結果、低温耐性能力が低下し、シマアメンボにおいても 30°C の高温暴露で、低温耐性能力が低下した。以上のように、3種ともに高温に曝されることで、その後の低温耐性能力が低下した。これは高温により受けたダメージの回復にエネルギーを使っていることが考えられる。また3種の中で暴露中に麻痺、死亡に至ったのはセンチウミアメンボだけであり、センチウミアメンボは特に高温に弱い種である可能性がある。現在、エルニーニョによる海水温の上昇が起こる海域でのセンチウミアメンボの分布は確認されていないが、今後海水温の上昇が生じれば、センチウミアメンボの生存に致命的な影響を与える恐れがある。

上記のことから、アメンボは低温暴露で耐性が低下しない一方で、高温暴露では低下した。このことから低温に比べて高温はアメンボの生存により不利となる可能性が考えられる。そこで、低温及び高温麻痺に陥った状態からの回復時間の計測を行ったところ、低温麻痺からの回復は麻痺温度に関わらず数秒以内で回復する個体が多いのに対し、高温麻痺からの回復は麻痺温度が高くなるに連れて回復に要する時間も長くなった。特にセンチウミアメンボでは 40°C を越す高温で麻痺した場合に2時間以上回復にかかる個体や、回復せずに死亡する個体も多く見られ、高温に著しく弱い種である可能性がある。

熱帯・亜熱帯の外洋に生息するセンチウミアメンボは急速低温耐性強化を行っており、この能力は外洋という温度環境で生息するのに重要な能力である可能性がある。しかし、緩やかな高温により致命的なダメージを受けることも分かった。短時間であれば 39.6°C まで耐えられるが、 32.5°C が12時間続くことでダメージの蓄積が起こり、高温障害を引き起こされていたことから、センチウミアメンボにとっては、高温の継続が生存に影響すると示唆された。このような現象が昆虫に普遍であるのであれば、昆虫、特に熱帯・亜熱帯から北上する昆虫の生息域の推定、また害虫の駆除といった観点からも今後、重要となってくる可能性がある。昆虫が発育可能な時期は、これまで平均気温や最低気温を元に推定されることが多かった。しかし、最低気温に至るまでに昆虫が急速低温耐性強化を行っている場合、従来不可能とされた最低気温でも生存及び発育できる可能性がある。また高温に関しては今後温暖化などで、気温の上昇が起こった場合に死滅する昆虫も多く現れることが危惧される。害虫駆除の観点としては、施設害虫の駆除において、施設内を 40°C 以上の高温に保つことで駆除を行う「蒸し込み」が行われているが、同時に収穫物への影響も生じる危険性から収穫後など、行う時期が限られていることがある。しかし、生息環境よりわずかに高い温度を持続することで、高温障害を引き起こすことが可能であるならば、時期に関わらず駆除を行える可能性がある。

論文審査の結果の要旨

昆虫は地球上のありとあらゆる場所に生息し、およそ100万種がさまざまな環境に適応している。しかし、海洋環境に適応した昆虫はごくわずかであり、特に外洋にまで生息域を拡大させている昆虫は5種しかない。そのような稀有な昆虫がアメンボ科ウミアメンボ属 (*Halobates* 属) のウミアメンボ類であり、特異な環境に対してどのような適応を遂げているかなど、昆虫学や海洋生物学にとどまらず、進化生物学上、興味の尽きない研究課題を内包している。しかし、調査の困難さから研究例は限られており、特に、生理学的研究はほとんどなされていない。わずかに研究された事例は、ウミアメンボ類の塩分耐性に関する研究であり、それはウミアメンボ類が塩分耐性を獲得しているという、明快だが単純な結果であった。そこで、本研究では、ウミアメンボ類の温度耐性の特徴を、陸水種、沿岸種との比較を通して浮き彫りにした。

論文は、研究の背景と目的を示した序章と総合考察を行った終章に加えて、異なる視点から研究された結果を詳述した4つの章に分けられる。本研究では、外洋棲センタウミアメンボ *Halobates germanus* の温度耐性の研究を中心に据えながら、適宜、シマアメンボ *Metrocoris histrio* とケシウミアメンボ *Halovelgia septentrionalis* との比較を行なっている。センタウミアメンボは水温30度前後の熱帯外洋域に生息し、その温度環境は日周変化・季節変化にも乏しい。シマアメンボは、温帯域の淡水に生息し、湧水の影響を受けるため夏季には水温20度前後で日周変化に乏しい環境に生息している。冬季には温度低下も予想されるが、陸に上がり越冬するものと考えられている。本種は、センタアメンボと同じ亜科に位置し、系統的にも近い。ケシウミアメンボは、沖縄県の沿岸域に生息し、夏季には水温20度から35度までの高い日周変化を経験している。冬季には低温も経験すると考えられるが、研究例に乏しい。以上の3種を用いて、温度耐性、急速な温度低下に対する耐性強化、長期高温状態への耐性の有無、低温と高温の麻痺状態からの回復時間について、検討を行なった。

まず、2章では、センタウミアメンボの低温耐性の測定が行われた。15分に1度温度を変化させて、個体が麻痺する温度を記録した結果、低温麻痺温度は16.5度であり、シマアメンボやケシウミアメンボよりも弱い耐性しかないことが明らかになった。これは、センタウミアメンボの生息環境がほぼ水温28-30度と一定であるため、低温耐性を有する必要がないからであると考えられた。また、高い塩分耐性を有することとのトレードオフである可能性も指摘された。また、本研究では、実験個体の採集日により低温麻痺温度が変化しており、大雨による水温変化に急速に対応していること(耐性強化:RCH)が示唆された。

3章では、耐性強化の有無を明らかにするため、センタウミアメンボを採集環境より3度および5度低い温度で10時間順応させた後に、低温麻痺温度を計測した。その結果、いずれも低温麻痺温度は14度まで低下し、低温耐性の強化が3度低い温度への順応により引き起こされた。この耐性強化はシマアメンボでは観測されず、ケシウミアメンボでは、8度低い温度への順応により引き起こされた。このことは、センタウミアメンボが低温耐能力が低い代わりに、天候の変化に伴う水温低下に対して、低温耐性強化により対応しているものと考えられる。

4章では、15分に1度温度を変化させて得られる高温麻痺温度の計測(高温耐性)とともに、高温への小さい温度変化が長時間継続することの影響を調査した。その結果、通常の高熱麻痺温度は3種であまり差がなく40度前後であった。しかし、センタウミアメンボは生息環境よりわずか2度程度高い温度に12

時間暴露しただけで、実験個体の半数が死亡することが明らかになった。この現象はケシウミアメンボとシマアメンボでは観察されなかった。このことは、センタウミアメンボが日周変化・季節変化に乏しい環境に生息することで、高温耐性が低いことを示唆している。

5章では、麻痺状態からの回復時間を種間で調査した。いずれも、低温麻痺からの回復は早いものの、高温麻痺からの回復には時間を要しており、少なくともアメンボ類では、高温への生理学的ダメージが厳しいものと考えられた。

終章では、センタウミアメンボの温度耐性が沿岸種、陸水種より著しく低いことについての議論が展開された。低温耐性の低さを補償する耐性強化 (RCH) の発見と、意外に高温に弱い生態を有することの発見が特筆に値する。本種の分布が、エルニーニョ現象が起きると5度程度の高温が長期間継続することが知られる太平洋東部ではほとんど見られないことから、今後の気候変動により、本種の分布域も変化することが心配される。本研究は、おもに黒潮圏熱帯域から亜熱帯域で実施され、多くの新知見を提供したことは、黒潮圏科学の理念に叶うものとなっている。なお、本論文の一部は、以下の学術論文として掲載されている。

Furuki, T., Fujita, H., Nakajo, M., Harada, T. (2018) Temperature acclimation ability by an oceanic sea skater, *Halobates germanus*, inhabiting the tropical Pacific Ocean. *Insects*, 9: 90.

ふりがな	ホアンフーチェン
氏名(本籍)	Hoang Huu Chien (ベトナム)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲総黒博第36号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和2年3月23日
学位論文題目	Soil fertility and its correlation with green-tea elemental and functional components in a special tea-production area around Cong River in Thai Nguyen province, Vietnam (ベトナム国タイグエン省コン川沿いの特産茶葉生産地における土壌肥沃とその茶葉成分への影響に関する研究)
発表誌名	(1) Hoang Huu Chien, maho Yokuda, Dang Van minh, Yumei Kang, Kozo Iwasaki & Sota Tanaka (2019): Soil physicochemical properties in a high-quality tea production area of Thai Nguyen province in northern region, Vietnam. <i>Soil Science and Plant Nutrition</i> , 65(1):73-81. DOI:10.1080/00380768.2018.1539310 (2) Hoang Huu Chien, Dang Van minh, Kozo Iwasaki & Sota Tanaka Soil Morphological, Mineralogical and Chemical Characteristics of Tea Gardens with High-Quality Leave Production in Thai Nguyen province, Vietnam. <i>Pedologist</i> (accepted).
	審査委員 主査 教授 田中 壮太 副査 教授 飯國 芳明 副査 講師 比嘉 基紀

論文の内容の要旨

Introduction. In Vietnam, green tea is one of the most favorite beverage and tea production plays an important role in the national agricultural sectors. Tan Cuong commune in Thai Nguyen province is considered as the core center of tea production with special tea quality. The evaluation of tea products by the stakeholders varied within the commune, which is usually higher for the tea leaves produced around the riverside of Cong River than those away from. It could be assumed that such difference in tea evaluation may result from the differences in soil environments due to topographic or other conditions in the commune.

Meanwhile, it is believed that increasing N uptake from soil brings about the increase both

in the yield and quality of tea plants, particularly the content of Theanine, which is determinant for the “umami” and fragrance of tea infusion. Because of this, excessive N fertilizer is applied, which may cause excessive soil acidification, the leaching loss of nutrient elements, and water pollution. However, the information on tea garden soils has been quite limited in Vietnam. The purposes of this study are to investigate the soils in terms of the distance from Cong River and to correlate the soil factors with the contents of elemental components and functional components in tea leaves including Theanine as well as Catechins (polyphenols; responsible for bitter and astringent taste with a function of antioxidant effect) in order to develop appropriate, environmental-friendly soil management schemes for tea production.

Materials and methods: The study area was located in the flood plain of Cong River in Tan Cuong. The terrain was composed of back marsh lowland with interspersing rows of the current natural dike and, followed by river terraces away from the river. Tea gardens were located on the lowlands adjacent to the river and on the previous dikes or hill slopes.

Three transect lines (A, B, and C) were installed perpendicularly to the river, each on which four study sites were established. They were coded as A1 to A4, B1 to B4, and C1 to C4. For comparison, four forested patches adjacent to the tea gardens on transect B (BF1, BF2, BF3, and BF4) were selected. In addition, three tea gardens were studied in Song Cau (S1, S2, and S3) which was considered as the inferior tea production area.

For pedological characterization, soil profiles were described at B1 to B4 and S1 and soil samples were collected from each pedological horizon for general physicochemical analysis, clay mineral composition, Al, Fe and Si oxide-hydroxides, and total element contents. To assess soil fertility, soil samples were collected at the depth of 0-10 cm and 20-30 cm in all study sites and analyzed for general physicochemical properties and DTPA-extractable contents of Mn, Fe, Cu, and Zn. Undisturbed soil samples were collected at the depths of 0-10 cm and 20-30 cm in B1 to B3, BF1, BF3, and S1 sites to assess soil physical properties. At B1 to B4, soil solution was weekly collected at 20 cm depth and its chemistry was analyzed. Meanwhile, tea leaf samples were collected

for the total element analysis. For tea infusion by boiling water, the contents of total elements and the concentrations functional components (Theanine, Catechins, total polyphenols, and antioxidant activity) were determined.

Results and Discussion

Pedological characteristics. Although all soils were strongly acidic throughout the profile with high contents of exchangeable Al, pedological characteristics varied, depending on physiological location of tea gardens and soil disturbance: the B1 and BF1 soils at the riverside were classified as Typic Ustipsaments. They were deep, sandy-textured, and predominated by quartz and kaolin minerals in the clay fraction. Meanwhile, the B2 to B4 and BF3 soils far from the river were Typic Dystrustepts while the S1 soil was Typic Paleustults. These soils were relatively shallow, fine-textured with 2:1 clay minerals as well as kaolin minerals. The $(Fe_d-Fe_o)/Fe_t$ ratio was the lowest in B1 and BF1 sites and the highest in S1 site. These results indicated that the former soils were supplied as sediments upon flooding while the latter were intrinsic in relatively moderate-weathered status. The analysis of total element contents supports these views. In addition, the influences of soil disturbance were observed in the soil profiles and properties in B2 and B4 sites.

Soil fertility. The soils showed strongly acidic nature with the average $pH(H_2O)$ of 3.7 at the surface and 3.9 at the subsurface. The ECEC was low, and dominated by exchangeable Al. In spite of such acidic condition, a relatively large saturation of exchangeable Ca, K, and Mg on the ECEC was found in the surface soils. The level of available P was high, occasionally exceeding 1000 and 500 $mg\ kg^{-1}$ at the surface and subsurface, respectively. Nitrification was not restricted, and a portion of NH_4-N applied as fertilizers was converted to NO_3-N in the surface soils to move down to deeper layers.

Three determinant factors of soil properties and fertility were identified: the first is the distance from the river for which soil texture classes varied from sandy loam close to the river to light clay far from the river. Physical properties were related to soil texture and also depended on the distance from the river. Influences on these properties by soil compaction were found at the riverside site. In addition, the exposure of subsurface soils due to severe disturbance was found in the farthest site from the river. The second was the garden age for which the levels of T-C and T-N

were correlated with increasing age, suggesting that the addition of plant residue and manure replenished soil organic matter pools after the establishment of tea gardens. Lastly, fertilizer management practices principally determined the levels of the exchangeable bases, available P, and mineral N. However, a significant portion of these nutrients was likely to exist in water soluble forms without adsorption onto soils. Chemistry of soil solution also revealed that a lot of acids and nutrients were leached down and lost from soils.

Tea quality evaluation. The contents of mineral elements in tea leaves and tea infusion were in a harmless range for consumers. Regarding to the functional components, tea quality in the riverside sites was superior both in Theanine and total polyphenol contents of tea infusion, compared with those on the previous dikes and Song Cau, which corresponded to the market evaluation. Therefore, it is supposed that the increasing Theanine content could contribute to rising the market prices of tea products. The correlation analysis between mineral elements in tea leaves and functional components in the infusion revealed that the elements N, P, K, and Zn taken-up by tea plants could enhance the synthesis and accumulation of Theanine while the increasing Ca, Mg, and Al could lead to those of polyphenols including Catechins

Important soil factors affecting tea quality. The multiple regression analysis revealed that pH, EC, and exchangeable Mg in the surface soils and potentially available Zn in the subsurface soils had significant effects on the levels of total polyphenols, Catechins, and antioxidant activity in tea infusion. The enhancement of the synthesis of phenolic compounds as a defensive substance may induced by the soil conditions with strongly acidic nature, a relatively high content of exchangeable Mg and the deficiency of Zn, which may result in more bitter taste of tea products. The obvious case was the higher contents of total polyphenols and Catechins of tea infusions from Song Cau due to the combination of negative effects of these soil factors. In contrast, judging from the positive correlations between the Theanine content in tea infusion and total contents of N, P, K, and Zn in tea leaves and negative correlations between those contents in the tea leaves and clay contents of the soils, it is suggested that the availability of these elements are crucial to building up the umami taste and fragrance. This is the case of higher contents of Theanine of tea infusions at the tea gardens at the riverside (A1, B1, and C1 sites) with the coarse-textured soils, which could allow readily

uptake of fertilizer nutrients as water-soluble forms. Thus, according to the soil and tea-leave analysis, soil managements to increase the availability of N, P, K, and Zn and reduce exchangeable Mg under moderately acidic condition are required to improve tea quality through enhancing the synthesis of Theanine and retarding that of polyphenols.

Conclusion

As the conclusion, the management replacing the current system depending on chemical fertilizer is recommended for the enhancement of tea quality through environmentally-friendly tea production. Firstly, the application of green manure of tea pruning materials is essential to increase the contents of soil organic matter (humic substance, especially) with the aim at improving CEC promoting soil aggregate formation. The second is the improvement of soil chemical aspects with appropriate alleviation of soil acidity as well as balanced nutrient composition to stimulate the synthesis of Theanine. For this, although expanding use of handmade organic manure by households is important, the connection between tea production and organic fertilizer factory should be established to facilitate the supply of organic fertilizer with sufficient quantity and modified quality with balanced nutrient composition. In addition to such organic manure, biochar technique should be tested and optimized for tea production.

論文審査の結果の要旨

近年、健康への関心の高まりから、茶に含まれる様々な成分によるがん予防効果、血圧降下作用、殺菌作用等の機能が注目されており、安全かつ高品質な茶葉の生産需要が高まっている。茶の原産地は、ベトナム、ラオス、タイ、ミャンマーおよび中国南部の地域と考えられており、これらの地域では、特に茶の栽培・生産が盛んである。日本では、茶園土壌からの地下水への硝酸態窒素流亡等による環境負荷の指摘や肥料高騰を背景に、茶の施肥低減や有機栽培に関する技術研究が進められている。しかしながら、ベトナムのような途上国の場合、微量元素や有害元素の存在状態を含めて茶園土壌を詳細に評価し、土壌の諸性質が茶葉の品質にどのように影響しているのかを総合的に検討した例は見当たらない。

本学位論文では、ベトナム・タイグエン省の特産茶葉生産地域と品質が劣るとされる地域において、茶園の立地条件などの観点から、一般的な土壌分析項目に加えて、土壌鉱物性や微量元素や有害元素、土壌溶液組成についての分析を行い、茶園土壌の特性や肥沃度を詳細に評価している点に第1の特色がある。第2の特色として、植物栄養や安全性の面から茶葉中の元素含量を測定し、さらに茶葉の品質や機能性の面から茶葉浸出液中の成分含量、すなわちテアニン（旨味成分）やポリフェノールの一種であるカテキン（渋味成分）、ポリフェノール、抗酸化活性を調べ、土壌性質と茶葉性質を関連付けることにより、茶葉性質を決定する主要な土壌性質を解析している点が挙げられる。

序章では、冒頭にベトナムにおける茶葉生産の状況や喫茶の習慣が紹介され、同国の農業生産における茶葉生産の重要性が位置付けられている。とりわけタイグエン省 Tan Cuong 村は特産茶葉生産の中核地である。村内ではコン川河畔の茶園の茶葉の方が、川から遠方の茶園の茶葉より生産者や仲買人による市場評価が高い。このことから、地形などの要因による土壌環境の違いが、茶葉の品質や評価に関係するとの仮説を提示している。さらに、日本や中国における茶園土壌や茶葉に関する既往研究をレビューし、これらの国とベトナムの気候条件や土壌条件との対比を通して、本研究の位置づけや新規性、目的を論じることにより第2章以降の導入部となっている。

第2章では、調査地の概要や調査方法がまとめられている。Tan Cuong 村は Cong 川の氾濫原にあるが、地形的には川から離れるにつれて平坦な後背地、新旧の自然堤防、段丘が出現する。仮説に従って、これらの地形を含むように Cong 川から垂直に3本のトランセクトラインを設定し、各ライン上で4ヶ所の茶園を調査圃場に選定している。一方で山岳地域に位置し、Tan Cuong 村と比べて茶葉品質が劣るとされている Song Cau 村において茶園3ヶ所を調査圃場としている。

第3章では、1つのトランセクトの4圃場と Song Cau 村の1圃場を対象に土壌断面記載と生成層位試料の分析を行ない、茶園土壌の生成論的特徴付けを行なっている。土壌成分や粘土鉱物組成、風化指標などに基づいて、圃場が位置する地形や人為的攪乱の観点から Cong 川河畔土壌、遠方の堤防と段丘土壌、Song Cau 村土壌の違いを明らかにしている。本章の知見は以下の参考論文に掲載されている。

Hoang Huu Chien, Dang Van Minh, Kozo Iwasaki & Sota Tanaka: Soil morphological, mineralogical and chemical characteristics of tea gardens with high-quality leave production in Thai Nguyen province, Vietnam. *Pedologist* (accepted).

第4章では、全ての圃場での表層土壌と次表層土壌の理化学的分析や、第3章の圃場を対象とした土壌物理性および土壌溶液組成分析により土壌肥沃度を評価し、次の点を明らかにしている。1) 土性や物理性は Cong 川からの距離により異なる。河川近傍の圃場は砂質土壌であり、圧密化の影響を受けやすい。一方、堤防上の圃場は粘土質土壌である。河川から最も離れた圃場では土壌採掘の著しい影響により下層土が露出している。2) 土壌有機物は開園年数に応じて増加する。3) 土壌養分量は施肥管理に依存するが、

塩基類は比較的高く、リン酸の過剰な集積がみられる。いずれの圃場も施肥窒素の硝酸化成により土壌は強酸性化しており、施肥養分は激しい溶脱を受けている可能性が高い。本章の知見は以下の参考論文に掲載されている。

Hoang Huu Chien, Maho Tokuda, Dang Van Minh, Yumei Kang, Kozo Iwasaki & Sota Tanaka (2019): Soil physicochemical properties in a high-quality tea production area of Thai Nguyen province in northern region, Vietnam. *Soil Science and Plant Nutrition*, 65 (1): 73-81

第5章では茶葉分析の結果が植物栄養や食品化学の観点から解析されている。茶葉やその浸出液の元素含量は、健康上問題のない範囲であった。河畔の圃場の茶葉の方が、堤防上や Song Cau 村よりテアニンやポリフェノール含量の点で優れていることを見出し、市場評価と一致することから、茶葉中のテアニンの増加が市場価格の上昇に繋がる可能性を論じている。茶葉の元素と茶葉浸出液の成分の相関分析に基づいて、茶樹による窒素、リン、カリウム、亜鉛の吸収がテアニンの生合成に重要である一方で、カルシウム、マグネシウム、アルミニウムの吸収はカテキンを含むポリフェノールの生合成に繋がることを考察している。

第6章では土壌性質による茶葉性質や品質への影響を解析している。重回帰分析の結果から、土壌の強度の酸性、高いマグネシウム含量、亜鉛の欠乏のような要因が、防御物質としてのフェノール化合物の生合成を促進し、茶葉の渋味を強めるプロセスを考察し、特に Song Cau 村の茶葉はそれら土壌要因の複合作用によりポリフェノールやカテキン含量が高いことを論じている。一方、重回帰分析では土壌性質とテアニンを直接結び付けることはできなかった。しかし、茶葉浸出液中の成分と茶葉中の元素含量の相関分析と茶葉中の元素含量と土壌性質の相関分析の結果から、土壌中の窒素、リン、カリウム、亜鉛の可給性が茶樹によるテアニン生合成に重要であると論じている。河畔の圃場では、肥料由来のそれらの元素が砂質土壌に十分に保持されず、むしろ水溶性の形態で存在し茶樹に容易に吸収されることにより、茶葉の高いテアニン含量に繋がっていると推察している。第5章と第6章の知見は投稿論文として発表する予定である。

第7章は結論として、前章までの内容がまとめられ、研究知見に基づいて土壌管理の改善に向けて、次の提案がされている。土壌の酸性化や過度の養分溶脱を防止するには緩効性肥料が効果的であるが、高価であり、ベトナム農民の経済状況からは購入は難しい。そこで、物理性や養分保持力のような栽培培地としての土壌能力の向上には、茶樹剪定枝を緑肥として用いるのが良い。養分の点では、農家自家製の家畜糞堆肥の使用拡大は重要であるが、テアニンの生合成を促進するには養分バランスの改善が必要となる。地域の有機資源を原料に養分バランスの良い有機質肥料を生産するための工場設置が、品質の良い茶葉生産の拡大には必要である。

以上、ベトナム・タイグエン省の茶園土壌と茶葉品質の関係を多角的に論じた Hoang 氏の提出論文は、黒潮圏総合科学専攻の学位論文として十分な内容を有している。黒潮圏科学の観点からは、Hoang 氏の論文は、土壌学のみならず、植物栄養学や食品化学の観点から研究を展開しており、分野横断型の研究であると評価できる。また、茶園土壌に関する知見の多くは日本や中国における研究から得られたものであり、気候条件や土壌条件の異なるベトナムの茶園を対象とする本研究の成果は、茶園土壌研究の発展に大きく貢献すると期待できる。喫茶の習慣の世界的な高まりを思料すれば、本論文の意義は非常に大きいと判断できる。

ふりがな	オミ ヒロキ
氏名(本籍)	大美 博昭(大阪府)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	乙総黒博第9号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和2年2月7日
学位論文題目	大阪湾におけるウシノシタ科魚類の初期生活史に関する研究
発表誌名	<p>(1) 大美博昭・日下部敬之・佐野雅基. 2017. 大阪湾において8~10月に出現したウシノシタ科稚魚3種の形態と分布. 水産海洋研究, 81(4): 284-292.</p> <p>(2) 大美博昭・山本圭吾・木下泉. 2019. 大阪湾における背伸長鰭条を2本有するウシノシタ科仔魚の形態と識別. 日プランクトン学報, 66(1): 11-18.</p> <p>(3) Omi, H., K. Yamamoto & I. Kinoshita. 2020. Ontogeny of robust tonguefish (<i>Cynoglossus robustus</i>) larvae with initially single, subsequently double-dorsal elongated fin rays in Osaka Bay, eastern Seto Inland Sea, Japan. Plankton Benthos Res., 15(1): 63-65.</p>
	<p style="text-align: center;">審査委員 主査 教授 木下 泉 副査 教授 伊谷 行 副査 教授 富永 明 副査 南 卓志</p>

論文の内容の要旨

申請者・大美博昭氏は、2019年10月29日に上記題目の学位論文について審査願を本専攻に提出した。申請者の大学院修士課程修了後20年以上の研究経歴および必要提出書類を確認し、直ちに予備審査委員会が設置され、11月5日から予備審査が開始された。申請者が筆頭著者である3篇の参考論文の査読制度付き学術論文雑誌への公表(3頁目末)、および国際学会相当の国内学会での少なくとも3度の口頭発表を確認し、11月27日に予備審査に合格し、12月17日より本審査に入った。

本研究は、大阪湾における重要漁獲対象であるウシノシタ科魚類の資源変動の要因を探るために、まず、本科魚類の仔魚期から稚魚期にかけて、種毎の個体発生を詳細に識別し、それらを基にして浮遊期から着底期までの分布の時空間的变化を明らかにした上で、漁獲実態を把握し、初期生態と資源変動の関係について検討したものである。本論文は次の5章からなっている。

1. 諸言

ウシノシタ科魚類は、大阪湾において重要漁獲対象であり、底生魚類相では個体数上位種であり、底生生態系の上でも重要な位置を占めている。しかし、大阪湾におけるウシノシタ科魚類に関する研究は少なく、特に資源の水準を大きく左右すると考えられる初期生活期に関する調査・研究はほとんどなされていない。そこで、本研究では大阪湾におけるウシノシタ科魚類について、仔魚期から稚魚

期にかけて、種毎の形態を詳細に識別し、それらを基にして浮遊期から着底期までの分布の時空間的変化を明らかにすることを目的とした。さらに、漁獲実態を把握し、初期生態と資源変動の関係について検討した。

2. 仔稚魚の形態 (参考論文①～③)

大阪湾において8-10月に採集されたウシノシタ科稚魚の形態を精査し、イヌノシタ、ゲンコ、アカシタピラメ(以下アカシタ)の3種に分類した。計測を行った全ての個体で右眼の移動は完了しており、口の総状物はみられず、尾鰭鰭条数は全ての個体で10本であった。背・臀鰭条数を計数したところ、背128以上・臀100以上の個体と、背115以下・臀89の個体に分かれ、前者をイヌノシタと同定した。16 mm SL(以下略)未満のイヌノシタ稚魚の黒色素胞は有眼側体側では少なくまばらであったが、担鰭骨帯の縁辺部では密に分布していた。一方、イヌノシタ以外と判断された個体では、頭部前端から左眼後端までの長さ(LHE)と頭部前端から口角後端までの長さ(LHM)の比および有眼側の側線数により2つのグループに分かれた。一方は、LHE/LHMが0.90-1.03(M:0.99)で口角後端が左眼後端とほぼ同じ位置にあり、かつ25 mm以上の個体において有眼側の側線がアカシタピラメ成魚と同じ3本観察された。もう一方のグループは、LHE/LHMが0.75-0.92(M:0.85)で口角後端は左眼後端よりも前に位置し、側線が3本観察される個体は無く、30 mm以上の個体でゲンコ成魚と同じ2本観察された。2つのグループ間ではLHE/LHMに有意差がみられた。以上から、LHE/LHMが大きいグループをアカシタ、小さいグループをゲンコと同定した。アカシタと同定した個体では、16 mm未満の個体で有眼側の黒色素胞が他2種と比べて体側や担鰭骨帯、膜鰭上に多く分布していた。ゲンコと同定した個体では有眼側体側の黒色素胞は、体軸上に点列するかたまりが2-3個観察される程度でイヌノシタ同様少なく、担鰭骨縁辺の黒色素胞はイヌノシタに比べるとあまり密集せずまばらであった。この2種について標準体長と眼径の関係をみたところ、2種の間で有意差がみられ、8 mm以上の個体ではアカシタの方がゲンコに比べ眼径は明らかに小さく、体長が大きくなるほど両種の眼径の差が大きくなる傾向がみられた。種類別の体長組成をみると、イヌノシタとゲンコの最小サイズが10 mmより大きかったことに比べ、アカシタの最小サイズは7.2 mmで、10 mm未満の個体の割合も高く、着底サイズは3種の中で最も小さいと推定された。

これまで形態が不明であったゲンコ浮遊期仔稚、着底稚魚の形態を明らかにした。さらにイヌノシタ仔魚では飼育個体での報告と同様、天然個体においても伸長鰭条が発育に伴い1本から2本に増加することを確認し、アカシタでは変態の最小サイズが10 mm未満であることなど、天然海域におけるアカシタやイヌノシタ仔魚の既往知見における形態的特徴とは異なる点や見解を示した。筋節数=48-50。7.1 mmの個体では鰭条および担鰭骨帯の形成が始まっていた。10.1 mmの個体では吻が形成され始めており、脊索尾端の上屈が認められ、12.4 mmの個体では脊索尾端の上屈が完了し、鰭条数は背112、臀86、尾10が観察され、体側では鱗の形成がみられた。アカシタ仔魚は、2本の伸長鰭条がほぼ同じ長さで、正中線沿いに黒色素胞は無く、尾部体側ほぼ中央の背、腹側に数個の散在する黒色素胞が観察された。8 mm以上の個体は確認されなかった。筋節数は48-50、5.9 mmの個体では、鰭条および担鰭骨帯の形成が始まっていた。大阪湾において2009-2018年に採集されたウシノシタ科仔魚の形態を精査し、ウシノシタ科仔魚の形態的特徴である伸長鰭条の本数および尾部体側の黒色素胞の分布から、コウライアカシタピラメ(以下コウライ)、イヌノシタ、ゲンコ、アカシタの4種に分類した。コウライ仔魚は、伸長鰭条が1本、尾部体側に黒色素胞の3横帯が観察された。筋節数は60-61、鰭条が形成されている個体は採集されなかった。イヌノシタ仔魚は尾部体側に黒色素胞が観察されず、4 mm未満の個体は伸長鰭条が1本であったが、4 mm以上では2本に増加してした。筋節数は55-59。4-5 mmの個体で背側前端の伸長鰭条のすぐ後ろにごく短い2本目の伸長鰭条が観察され、6.5-

7.0 mm の個体では前端の伸長鰭条が体長の約 60%, 2 本目は 1 本目の約 30-40% となった。7 mm から鰭条の形成が認められ、9.6 mm の個体では脊索尾端の上屈が完了し、鰭条数は背 130, 臀 102, 尾 10 が観察された。ゲンコ仔魚は、2 本の伸長鰭条がほぼ同じ長さであり、正中線沿いに黒色素胞が観察された。6.4 mm の個体では脊索尾端の上屈が認められ、7.7 mm の個体では吻嘴が形成され、脊索尾端の上屈が完了し鰭条数は背 112, 臀 86, 尾 10 が観察された。伸長鰭条を 2 本持つゲンコ仔魚とアカシタピラメ仔魚では、相対成長（体長-体高, 体長-臀鰭前部長）に有意差がみられ、同じ体長で比較した場合、4 mm 以上の個体でゲンコ仔魚はアカシタ仔魚に比べ体高が低く、かつ臀鰭前部長が短く、体長が大きくなるほど両者の差が広がる傾向がみられた。

3. 浮遊期仔魚, 着底稚魚, 0 歳魚の分布 (参考論文①~③)

大阪湾における浮遊期仔魚の出現時期は、コウライで 5-6 月、イヌノシタで 7-11 月で 8 月に盛期がみられた。アカシタは 8-10 月、ゲンコは 7-11 月であった。いずれの種も湾内に広く分布後、成長に伴いイヌノシタは湾中央-西部に、アカシタピラメは主に湾北東部、ゲンコは主に湾東部に分布する傾向があり、種による違いがみられた。夏季から秋季に出現するイヌノシタ、アカシタ、ゲンコについて、着底時期や着底場所を検討するため、20 mm 未満の個体を着底間もない個体として、月別平均個体数密度をみたところ、イヌノシタでは 8-9 月に高く、アカシタは 10 月に最も高く、8-10 月にかけて採集数が増加した。ゲンコもアカシタ同様 10 月で最も多かったが、8-9 月には減少し、9-10 月に増加する傾向がみられた。また、イヌノシタ稚魚は湾中央部の底深 20-30 m の海域で主に採集され、岸沿いの定点では少なかった。一方、アカシタ稚魚は湾北部の岸沿いの底深 10-20 m の点で多い傾向がみられ、ゲンコ稚魚は湾北部から南部の底深 10-30 m の広い範囲で出現した。イヌノシタ・アカシタ 0 歳魚は、湾内の広い範囲に分布し、成長に伴い着底場所から分布域を広げると考えられた。3 種の着底稚魚密度と環境 (DO, AVS, 強熱減量) との関係を見ると、DO ではいずれの種も $3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上の点で採集される頻度が高かった。AVS では、イヌノシタ稚魚が $0.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 以下の点で採集頻度が高く、アカシタピラメ稚魚およびゲンコ稚魚では $0.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 以上の点でも採集され、 $1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ を越えると採集頻度が減少する傾向がみられた。強熱減量では、イヌノシタ稚魚は主に 8% 以下の点で採集された。一方、アカシタ稚魚およびゲンコ稚魚は 8% 以上の点でも採集されたが、分布密度が高い点はみられなかった。大阪湾の底質と各魚種の着底場所をみると、イヌノシタは sandy silt, アカシタは clayey silt, 湾全域に広く分布したゲンコは底質に傾向はみられず、3 種の着底場所の底質の性状には差がみられた。また、イヌノシタ稚魚は 8-9 月に出現したが、溶存酸素濃度が $3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ より高く保たれていた沖合域を着底場所としていた。一方、アカシタやゲンコは湾北部を利用するものの、着底盛期は 10 月と考えられ、貧酸素水塊の発生時期とずれており、大阪湾に夏季から秋季に出現するウシノシタ科魚類の新規着底資源に対する貧酸素の影響は大きくないものと推察された。

4. 小型底曳網におけるウシノシタ科魚類の漁獲実態

小型底曳網におけるウシノシタ科魚類の漁獲実態を調査した。底深 20 m 以浅の主に湾北東部の泥底域で操業する標本船 A における年別漁獲では、1985-1990 年の 5 年間にイヌノシタ漁獲量が急増し、多獲場所も沖から岸方向に移動した。その後の漁獲は比較的安定して推移し、2000 年代には、90 年代を下回る漁獲レベルが続いたが、2010 年以降は増加傾向に変化した。一方、水深 20 m 以深の砂底および砂泥域で操業する標本船 B では 2005 年以降について調べたところ、CPUE の増減の傾向は標本船 A に類似していたが、泥底域で操業する標本船 A の漁獲と比較すると約 2-7 倍の漁獲があった。標本船 A におけるアカシタの漁獲は、イヌノシタが急増した 80 年代はアカシタの漁獲の方が多く、1990 年以降はイヌノシタの漁獲がアカシタを上回る年が多くなった。2004 年以降、年毎の漁獲の増減の幅が大きくなった。多獲場所は徐々に北上し、近年では湾北東部の堺市沖となっていた。標本船 B では、

標本船 A に比べ漁獲が少ない年が多く、標本船 A と同じ堺市沖でも漁獲していた。CPUE の増減の傾向は両船で類似していた。コウライは標本船 B でのみ漁獲され、漁獲場所も海峡近くの砂底および砂泥底域に限られた。2005 年が最も多かったが、その後大きく減少した。ゲンコは両船とも漁獲対象とされていない。漁獲金額ではイヌノシタが圧倒的に多く、近年では標本船 A で全体の 10%前後、標本船 B は 30-40%を占め、漁家経営上も重要な魚種となっていた。一方、アカシタは両船ともに多い年でも 3%前後でイヌノシタに比べ単価は極めて低い。イヌノシタ、アカシタともに 1 歳魚を中心に漁獲されていると推察された。

本研究で明らかにしたウシノシタ類も含めた大阪湾における異体類の初期生活史と漁獲の動向を照らし合わせてみると、着底場所および 0 歳魚の分布が湾奥域に集中しているマコガレイは近年、栄養塩負荷量と歩調を合わせるように漁獲が減少していた。一方で、着底場所が沖合海域で、0 歳魚が湾内に広く分布するイヌノシタやメイタガレイでは横ばいもしくは増加傾向を示し、栄養塩負荷量と漁獲との関係性は種によって異なっていた。マコガレイが初期生活期の成育場とする湾奥域は、生産力が極めて高い一方で、多様性が低く、局所的な環境（外的要因）の変化が大きい。しかも、水温上昇、栄養塩濃度の変化といった現在の生息環境の変化はマコガレイにとって負の影響を与えるケースが多いことが推察された。一方、イヌノシタ稚魚は貧酸素水塊が発生する 8・9 月に着底するが、溶存酸素濃度が $3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ より高く保たれていた沖合域に着底していた。その後、0 歳魚が着底場所から成長に伴い湾奥域も含めた湾内の広い範囲に分布することは、湾内の様々な環境を利用することで、水温や栄養塩濃度、溶存酸素、餌環境などの生息環境（外的要因）の変化が資源全体へ与える影響が緩和され、比較的良好な生残、漁獲加入につながっていると推察された。

5. 総合考察（参考論文①～③）

以上、本研究は、大阪湾における重要漁獲対象であるウシノシタ科魚類の資源変動の要因を探るために、まず、本科魚類の仔魚期から稚魚期にかけて、種毎の個体発生を詳細に識別し、それらを基にして浮遊期から着底期までの分布の時空間的变化を明らかにしたものである。この膨大なデータに裏付けられた新知見は、大阪湾のみならず本邦全域の異体類（カレイ目魚類）の資源変動の解明に寄与することは間違いなく、本研究分野の王道と言っても差支えない。ちなみに、本研究が黒潮圏科学からみた評価は言うまでもない。申請者は、京都大学大学院博士課程を中退後、大阪府立水産試験場（現・大阪府環境農林水産総合研究所）に入庁以来、大阪湾での水産有用種の調査・研究を弛まなく続け、科学的業務を遂行できるための十分な知識と技能を修得できていると、博士号を持するに相応しいと判断される。

論文審査の結果の要旨

公開審査会において、理解しやすく効果的な口頭発表を実施し、質問・意見にも適切に応答した。最終試験として面接を行ったところ、申請者の基礎・専門科目の学識は学術博士として研究を遂行して行く上で備わっていると判断された。また、申請者は、筆頭著者として参考論文の中で1報を英語でまとめ学会誌に公表したこと、さらに課題として与えた稚魚学の英語専門書の和訳も秀逸であったことを考慮すると、本人の研究者としての英語能力は問題ないと判断された。前の論文審査の結果を加味し、総合的に検討したところ、博士(学術)の学位を取得するに相応しいと判断された。

ふりがな	ヒラガ ヒロキ
氏名(本籍)	平賀 洋之(高知県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	乙総黒博第10号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和2年2月7日
学位論文題目	四万十川におけるテナガエビ属3種の生態学的研究
発表誌名	<p>(4) 平賀洋之. 2019. 四万十川におけるテナガエビ, ミナミテナガエビ及びヒラテテナガエビの流程分布と体サイズ. 日水誌, 85(5): 478-486.</p> <p>(5) Hiraga, H. 2019. Species composition and body size of <i>Macrobrachium</i> prawns caught using funnel traps during the fishing season in the downstream freshwaters of the Shimanto River. <i>Aquacul. Sci.</i>, 67(4): 391-393.</p> <p>(6) 平賀洋之. 2019. 四万十川と仁淀川におけるテナガエビ, ミナミテナガエビ及びヒラテテナガエビの抱卵雌の出現状況. 日水誌, 86(2): 67-75.</p>
	<p style="text-align: center;">審査委員 主査 教授 木下 泉 副査 教授 伊谷 行 副査 教授 富永 明 副査 齊藤 知己</p>

論文の内容の要旨

申請者・平賀洋之氏は、2019年10月30日に上記題目の学位論文について審査願を本専攻に提出した。申請者の大学院修士課程修了後20年以上の研究経歴および必要提出書類を確認し、直ちに予備審査委員会が設置され、11月5日から予備審査が開始された。申請者が筆頭著者である3篇の参考論文の査読制度付き学術論文雑誌への公表(次頁末)、および国際学会相当の国内学会での少なくとも3度の口頭発表を確認し、11月27日に予備審査に合格し、12月17日より本審査に入った。

本邦産テナガエビ属 *Macrobrachium* 15種の内、ミナミテナガエビ(以下ミナミ) *M. formosense* およびヒラテテナガエビ(以下ヒラテ) *M. japonicum* は関東から沖縄にかけて、テナガエビ(以下テナガ) *M. nipponense* は東北から九州にかけて分布し、内水面漁業の有用種となっている。我が国における本属の漁獲量は、減少傾向にあり、特に、四万十川での減少が著しく、全国最高位にあった漁獲量は、かつてない水準にまで落ち込んでいる。その資源の回復・管理に向けては、本属の生活史の把握が重要となるが、四万十川でのそれらに関する調査・研究は、ほとんどなされていない。また、3種が共存する河川でそれらの生態を調べた報告はなく、生活史と資源変動との関係に着目した事例もない。本研究では、四万十川における3種の生活史を比較・検討し、資源変動との関係を明らかにすることを目的とした。本論文はこの命題を探求するために、次の4章からなっている。

1. 漁獲状況(参考論文①～③)

中・下流域の2市場における1996-2018年の入荷量、および2015年7-10月の下流域でエビ筒により漁獲

されたテナガエビ属の種組成とサイズを調べた。年間入荷量は、中流より下流で一貫して多かった。両市場における入荷量は、概ね2002年にかけて増加した後、2006年にかけて減少したが、2009年にかけては、2002年に近い水準まで回復した。しかし、その後はほぼ一貫して減少し、2018年中・下流域における入荷量は、それぞれ2009年の2および16%となった。月平均入荷量は、中流では6・7月、下流では7月に最多となった。テナガエビ属の漁獲数の内、ミナミは81%、ヒラテは19%を占めたが、テナガはわずか0.1%（雄1尾）であった。このことから、本属の資源量は、ミナミのそれによって変動することが示唆された。ミナミとヒラテのサイズ組成では、頭胸甲長（CL）9.1 mm以上の個体が74%以上を占めたほか、雄が優占して75%以上を占めた。

2. 底生期（参考論文①～③）

中・下流淡水域および汽水域の計11地点において、周年に亘る潜水観察と採集により、分布、成長、抱卵状況を調べた。分布限は、ヒラテで河口から83 km、ミナミで54 km、テナガで28 kmにあり、底質や河川形態によって規定されていることが示唆された。主にヒラテは瀬に、他2種は淵に出現し、このような生息場所の差異には、形態の種間差が関係していると考えられた。テナガエビ属の年間平均生息密度は、1.77尾・m²であり、この内、ミナミは63%、ヒラテは31%、テナガは6%をそれぞれ占めた。ミナミおよびヒラテの密度は、6月以降、それぞれ10および12月にかけて上昇した後、5月にかけて低下した。他方、テナガの密度は、6・7・10月で相対的に高かったものの、経月変化に明瞭な傾向はみられなかった。

全標本における雄の比率は、ミナミで51%、ヒラテで37%、テナガで53%を示し、雄が優占した漁獲性比と相違した。雄の比率は、3種とも大型個体で高く、同比率が上昇するサイズは、ヒラテの25.1 mm（CL）に比べ、他2種では15.1-17.0 mmと小型であった。サイズ組成の経月変化では、3種とも、晩夏に5 mm前後で加入し始めた稚エビのサイズは、翌春までほとんど変化せず、1ヶ月後の抱卵期直前に12.1-15.0 mm前後となった。この際、成長した稚エビより大型の個体の割合は、ヒラテより他2種で低い特徴にあった。大型個体の割合を地点間で比較すると、ミナミおよびヒラテでは、上流ほど高い傾向にあったが、テナガでは下流の汽水域で高かった。

主な抱卵期間は、3種とも概ね6-9月で共通した一方で、ヒラテでは他2種に比べ、5月の抱卵率が高く、早期に抱卵していた。ミナミおよびヒラテでは、ふ化直前の卵を持つ雌が、分布域のほぼ全域に出現したが、テナガの抱卵雌は汽水域にのみ出現し、ふ化直前の卵を持つ雌はわずかであった。抱卵期間において、ミナミの雌は、出水後の7月のみ下流に偏って分布したことから、6月から7月にかけて下流に移動した後、遡上したことが示唆された。抱卵雌のサイズ組成において、15.0 mm以下の個体の割合は、ミナミの87%およびテナガの88%に比べ、ヒラテでは55%と低かった。

3. 浮遊期

上げ・下げ潮時の汽水域5地点において、2019年8月にプランクトンネットの層別採集と流向・流速、水温・塩分の鉛直観測により、幼生（ゾエア）の分布生態を調べた。上げ・下げ潮時の各層では、それぞれ上・下流方向の流れが観測された。流速は、0.09-0.85 ktの範囲にあり、上げ潮時より下げ潮時、底層より表層でわずかに速かった。水温・塩分は、それぞれ26.0-31.2°Cおよび3.1-33.0の範囲で水平・鉛直的に変化し、緩混合型の混合状態が認められた。

幼生の平均分布密度は、3.8尾・m³であり、この内、ミナミは60%、ヒラテは34%、テナガは6%を占め、底生期の種組成とはほぼ一致した。水平分布をみると、ミナミおよびヒラテの密度は、海域より河川内汽水域で高く、その傾向が顕著であった下げ潮時には、約60倍の差がみられた。テナガの密度は総じて低かったものの、相対的に密度の高い範囲は河川内にあり、3種の幼生は、河川内汽水域に滞留していることが示

唆された。鉛直的にみると、河川内汽水域での密度は、底層より表層で高かったが、海域では各層の密度に大差はなかった。発育段階別にみると、得られた幼生の大部分はI期（ふ化直後）であり、II期は低密度で散発的に出現したが、III期以降はほとんど出現しなかった。ただし、テナガでは、VII・VIII期がわずかに海域で出現した。これらのことから、III期以降のミナミとヒラテは、主に河川内汽水域に着底して表底生生活を送っていることが示唆され、テナガについてもその可能性が高いと考えられた。

4. 総合考察（参考論文①～③）

テナガエビ属3種の生活史には共通点がある一方で、相違点もみられ、特に、底生期の分布や生息場所には明瞭な差異がみられた。このような近縁種間の生活史の差異は、空間や餌資源の分割利用に繋がり、生態的地位の近い種が共存する上で有効に機能していると考えられる。

テナガエビ属の生活史に及ぼす漁獲の影響を検討すると、漁獲性比の雄への偏りから、結果として雄が選択的に漁獲されている可能性が示唆された。雄への選択的な漁獲は、精子制限等による繁殖成功度の低下を招き、資源の減少要因となる可能性がある。大型雄による繁殖を保障する観点に立てば、少なくとも、急成長期から抱卵初期（4-6月）を禁漁期に含めることが望まれる。一方、四万十川の河口砂州は、2009年に消失してから現在まで回復しておらず、塩分上昇等による有用藻類の収穫量の減少等が報告されている。このような河口域の環境変化は、そこで生活するテナガエビ属の幼生にも影響する可能性が高い。このことは、本属の入荷量は、砂州の消失以降、一貫して減少していることから示唆される。今後、砂州の有無による本属初期生活史への影響について、精査する必要があると考える。

以上、本研究により、3種の生活史には共通点がある一方で相違点もみられ、本川におけるテナガエビ類の資源回復の基礎知見を得ることができた。ちなみに、本研究が黒潮圏科学からみた評価は言うまでもない。申請者は、調査・研究を民間コンサルタントに入社以来、弛まなく続け、テナガエビ類のみならず、混沌としていたアジ科魚類の仔稚魚の分類を見事に整理し、その成果を「日本産稚魚図鑑」第2版に執筆している。よって、科学的業務を遂行できるための十分な知識と技能を修得できており、博士号を持するに相応しいと判断される

論文審査の結果の要旨

公開審査会において、理解しやすく効果的な口頭発表を実施し、質問・意見にも適切に応答した。最終試験として面接を行ったところ、申請者の基礎・専門科目の学識は学術博士として研究を遂行して行く上で備わっていると判断された。また、申請者は、筆頭著者として参考論文の中で1報を英語でまとめ学会誌に公表したこと、さらに課題として与えた通し回遊生物学の英語専門書の和訳も秀逸であったことを考慮すると、本人の研究者としての英語能力は問題ないと判断された。前の論文審査の結果を加味し、総合的に検討したところ、博士(学術)の学位を取得するに相応しいと判断された。

ふりがな	ペンシ ムアングヤオ
氏名（本籍）	Pensri Muangyao (タイ王国)
学位の種類	博士（学術）
学位記番号	乙総黒博第11号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和2年2月7日
学位論文題目	Studies on the Eco-Friendly Aquaculture for Shrimps using Naturally-Occurring Insect Larvae (自然発生する昆虫幼生を利用した環境配慮型エビ養殖に関する研究)
発表誌名	(1) Muangyao P.,Fukami K.,Predalumpaburt Y. and Songsangjinda P. 2019. Importance of naturally occurring insect larvae and gutweed as complementary food for white shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)aquaculture.Kuroshio Science,13:1-8. (2) Muangyao P.,Fukami K.,Predalumpaburt Y. and Songsangjinda P. 2019.Evaluation of naturally occurring foods in aquaculture ponds as protein source and for partial replacement of pellets for white shrimp <i>litopenaeus vannamei</i> .Kuroshio Science,13:9-17. (3) Muangyao P.,Fukami K.Songsangjinda P. and predalumpaburt Y.2019.Stimulation by gutweed to increase the abundance of insect larvae as food for shrimp aquaculture in Thailand .Aquaculture,Accepted for publication.
	審査委員 主査 教授 深見 公雄 副査 教授 木下 泉 副査 教授 長崎 慶三 副査 教授 新保 輝幸

論文の内容の要旨

1. Study background

Shrimp aquaculture is very important to the socio-economic development in southeast Asian countries. Since 2009, the number of intensive and super-intensive farms have become dominant. Without treatment or management, however, shrimp farming with high stocking density releases into the natural environment much waste water and sludge, which are the main causes of pollution (eutrophication) and deterioration. Sludge accumulated in the center of the pond has a serious effect on the aquaculture of shrimps, and can cause mass mortality. Treatment and management of organic sludge are, therefore, urgent issues in shrimp aquaculture.

One way to rehabilitate eutrophic pond environments is to use the food chain of multi-trophic interactions. The management of organisms that occur naturally in shrimp ponds, and their use as shrimp food can contribute to enhance the economic feasibility of shrimp culture. There is growing

interest in insect larvae as a protein source for aquatic animals. Chironomid (midge) and mosquito larvae are important in the trophic dynamics and nutrient recycling in aquatic ecosystems for aquatic animals. Gutweed (*Ulva intestinalis*) is a macrophyte green alga (Chlorophyta) that grows abundantly in brackish water areas in Thailand. It can fix dissolved inorganic nitrogen into amino acids and proteins, and can be used as nutrient by animals living in shrimp ponds. Gutweed may also provide shelter for small aquatic fauna such as insect larvae, thereby increasing their abundance. Raking shrimp-pond sludge releases nitrogen into the water column and enhances the growth of gutweed so that nutrients from wastes can be recycled to consumable live food for aquatic organisms.

2. Objectives

This study was designed to investigate 1) the occurrence and levels of nitrogen in shrimp-culture microcosms with different feeding regimes, 2) the effect of gutweed on their nitrogen budget, 3) the importance of naturally-occurring insect larvae and gutweed as protein sources and as complementary food in shrimp aquaculture, 4) the use of gutweed and raking pond sludge to enhance the abundance of insect larvae. Overall, the study aims to establish an improved practice for shrimp aquaculture, that has both economic and environmental benefits.

3. Experimental work

The experimental work is described in five chapters.

3.1 Nitrogen changes in culture microcosms (Chapter II).

To investigate the fluctuation of nitrogen in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) ponds with different feeding strategies, four sets of the treatments were prepared in microcosms, namely: without pellets (T1, control), with commercial pellet feed (T2), without pellets but with gutweed planted (25 g/m² for three weeks) (T3) and with pellets and with gutweed planted (25 g/m² for three weeks) (T4). The sludge was raked once a week for two weeks in each microcosm and gutweed was planted in treatments T3 and T4 and allowed to grow for three more weeks. Postlarvae of white shrimp (50 individuals/m², average weight 0.003 g/individual) were then stocked into each microcosm and cultured for five weeks. The accumulation of nitrogen in the water and sediment was higher in the microcosms with pellets but not when gutweed was planted, even when pellets were fed. The amount of organic nitrogen in the sediment tended to increase when pellets were given, though it was not so great and it was minimised when gutweed was planted. Planting gutweed, therefore, could reduce the accumulation of nitrogen in the sediment and the water column that occurred with pellet feeding.

3.2 Insect larvae and gutweed as complementary food (Chapter III)

Shrimps)body weight 0.12 ± 0.03 g/individual, body length 2.7-2.8 cm(were fed for three weeks with either chironomid (midge) larvae, mosquito larvae, or gutweed, and compared with shrimps fed with the usual pellets (positive control) and with shrimps given no food (negative control). White shrimps (*L. vannamei*) consumed both animal and plant matter, but chironomid larvae were most quickly digested, suggesting that they were the most acceptable food. All the foods promoted shrimp growth but, after three weeks, shrimp growth with chironomid larvae and pellets was equally and significantly higher) $P < 0.05$ (than with the other treatments. The food conversion

efficiency (FCE) of shrimps fed on chironomid larvae was highest and FCE was significantly different between treatments ($P < 0.05$). The survival rates of the shrimps given the three different foods were not significantly different and no evidence of adverse effects on shrimp health was observed. Chironomid larvae were most effective as the complementary food source, but mosquito larvae and gutweed were also promising as live food for juvenile white shrimps.

3.3 Natural foods as protein sources and partial replacement of pellets (Chapter IV)

In an experiment like that described in section 3.2, protein utilization by juvenile white shrimps was investigated. Net protein utilization by shrimps fed on chironomid larvae ($36.6 \pm 3.5\%$) was similar to that of shrimps fed on pellets, and higher ($P < 0.05$) than that of shrimps fed on mosquito larvae ($18.6 \pm 2.1\%$) or gutweed ($20.4 \pm 2.0\%$). Food conversion efficiency was highest for shrimps fed on chironomid larvae ($147 \pm 14.0\%$), followed by pellets ($92.5 \pm 5.02\%$). Mosquito larvae and gutweed gave lower values ($P < 0.05$). Average growth rate (AGR) for shrimps fed chironomid larvae or pellets was similar ($21.1 \pm 4.7\%$, and $19.5 \pm 2.2\%$, respectively), and significantly higher ($P < 0.05$) than those for shrimps fed mosquito larvae ($8.4 \pm 3.0\%$), gutweed ($8.0 \pm 0.8\%$) or no food ($0.15 \pm 0.5\%$). Feeding with a combination of pellets and insect larvae showed higher ($P < 0.05$) AGR and protein efficiency ratio. As much as 75% of commercial pellets can be replaced by insect larvae without any negative effect on growth and survival of juvenile white shrimp in aquaculture ponds.

3.4 Enhancement of the abundance of insect larvae (Chapter V)

Pond sludge in the microcosms was raked to release dissolved nitrogenous compounds into the water column, then different amounts (0, 28, and 56 g/m^2) of gutweed were planted but no shrimps were added. The number of chironomid and mosquito larvae increased in the raked microcosms. Chironomid larvae showed a higher correlation to the gutweed biomass than did mosquito larvae, and most (90%) were associated with the gutweed planted. When post-larvae (initial weight $0.013 \text{ g/individual}$) of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) were cultured for five weeks with commercial pellets (A), with neither pellets nor gutweed (B), or without pellets but with gutweed (56 g/m^2) planted (C), there was no significant difference in shrimp growth between microcosms A and C. Gutweed stimulated the abundance of insect larvae, in particular the abundance of chironomid larvae. Planting gutweed in raked shrimp ponds was recommended as a way to support the growth of juvenile shrimps efficiently and was expected to reduce the amount of pellet feed necessary for shrimp aquaculture.

3.5 Role of gutweed in the nitrogen budget (Chapter VI)

A static model was used for calculation of nitrogen budgets in the microcosms with different feeding strategies (treatments T1-T4 in section 3.1). The shrimp nitrogen output was highest in the microcosm with both pellet feeding and gutweed planted (T4) followed by that with pellet feeding alone (T2), that without pellet but with gutweed planted (T3) and the control microcosm (T1), respectively. Sediment accumulated nitrogen in the microcosms with pellet feeding, whilst there was a net release of nitrogen in the microcosms without pellet feeding. The highest accumulation of nitrogen in sediment was in microcosms with pellet feeding but without gutweed planted but it was eight times higher than that in the microcosm in which pellets were fed but no gutweed was planted. In microcosms in which gutweed was planted, insect larvae also contributed to the nitrogen budget. The microcosm with planted gutweed and pellet feeding (T4) had the highest natural productivity from insect larvae and gave the highest survival rate and significantly higher biomass of shrimps than other treatments ($P < 0.05$).

4. Conclusion

From the results obtained in this study, raking sediment stimulates the release of nutrients (nitrogen) into the water column and primary productivity, thus enhancing the nitrogen cycling in shrimp ponds. The planting of gutweed stimulates the transformation of nitrogen through insect larvae, and natural productivity. The effective use of insect, especially chironomid, larvae, could

reduce the requirement for feed pellets, and also reduce the accumulation of nitrogen in sediment, thus promoting an eco-friendly system for shrimp aquaculture.

論文審査の結果の要旨

1. 研究の背景

東南アジア諸国の重要な輸出水産物であるウシエビ（ブラックタイガー：*Penaeus monodon*）やバナメイエビ（*Litopenaeus vannamei*）（以下エビ）は、多くの場合過密養殖が行われており、高栄養価の人工配合飼料（ペレット）を大量に与えて速やかな成長を期待するものである。しかしながら、餌の残渣やエビからの排泄物等の蓄積は養殖池の水質や底泥環境を著しく悪化させ、疾病の発生によりエビ種苗の大量斃死が頻繁に起こっている。このため近年では、餌代等、生産コストの増大に見合うだけの収益が得られず、生産量は減少傾向にある。

従って、できるだけ環境に負荷を与えず、生産コストの削減に繋がる新たなエビ養殖法の開発が急務となっている。ところで、東南アジア諸国のエビ養殖池には、自然発生した昆虫の幼生が共存しており、養殖エビの腸管内からもユスリカ（chironomid）や蚊の幼生である赤虫やボウフラの生物断片が多数観察されている。またタイのバナメイエビ養殖現場では、gutweed と呼ばれるアオサ類緑藻（*Ulva intestinalis*）が見られ、これが繁茂する養殖池では、赤虫等の昆虫幼生の生物量が多くなる事や、バナメイエビの成長が良好なことが、現地の養殖業者によって経験的に知られている。

そこで本研究では、主として体積 2,400L のマイクロコスム（実験生態系）を用いて、タイのエビ養殖池に自然発生する赤虫やボウフラおよび緑藻等の、エビ養殖への代替餌料としての可能性について検討した。また赤虫等は、養殖池に堆積したヘドロを餌に増え、海藻は過剰な栄養塩を吸収してくれることから、これらを増やす方策を検討し、生態系における食物連鎖を利用した、生産コスト削減と沿岸域の環境保全にも配慮した全く新しいエビ養殖法の開発を目指したものである。

2. エビ養殖環境への窒素の蓄積

まずエビ養殖過程において、窒素成分がどのような動態を示すのかを明らかにするため、通常のペレット飼料給餌の有無、および gutweed の植え付けの有無を組み合わせた 4 つの実験区でバナメイエビを 3 週間飼育した。その結果、ペレット給餌区では非給餌区と比較して水中のアンモニア濃度が高くなり、水中および堆積物中の有機窒素濃度に顕著な違いが見られた。しかしながら、gutweed を植えると、有機窒素の上昇が抑制されることが明らかとなり、養殖池の富栄養化軽減に対する gutweed の有用性が示唆された。

3. バナメイエビによる赤虫・ボウフラ・gutweed の取込と消化

次に、これらの生物に対するペレット飼料の代替タンパク源としての可能性を明らかにしようとした。エビ養殖池中で自然発生する赤虫やボウフラおよび gutweed を、水槽で飼育したバナメイエビに、それぞれ個別に餌として与え、その取り込みや消化、およびエビの成長について調べた。その結果、体長約 2.7cm のバナメイエビは約 1 時間でおおよそ 10 匹の赤虫を摂餌し、腸管内に取り込まれた赤虫は 1 時間以内に完全に消化されることが明らかとなった。また、ボウフラや gutweed も、赤虫と比較すると摂餌される速度はやや遅いものの、腸管内ではいずれも、3 時間以内に完全に消化された。

そこで赤虫、ボウフラ、および gutweed を与えて飼育したエビの成長を、通常のペレット飼料と比較してみた。その結果、3 週間の飼育期間におけるエビの体重増加は、赤虫では配合飼料の場合と同様に極めて良好であった。一方、ボウフラと gutweed ではそれより成長が悪かったが、体重増加がほとんど見られなかった無給餌の対照実験区よりは、はるかによく成長することが分かった。また 3 週間飼育後のエビの生残率も、ペレット飼料では約 95%であったのに対し、赤虫では約 93%と、ほとんど差異は見られなかった。ボウフラや gutweed での生残率もそれぞれ 92%と 90%であり、いずれの場合にも、無

給餌の約 60%よりは有意に高い値であった。

これらの結果は、「Muangyao, P., K. Fukami, Y. Predalumpaburt, and P. Songsangjinda. 2019. Importance of naturally occurring insect larvae and gutweed as complementary food for white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) aquaculture. *Kuroshio Sci.*, 13:1-8.」にすでに掲載済みである。

4. バナメイエビに対する赤虫・ボウフラ・gutweed の餌料価値

前章の結果から、赤虫やボウフラ等の昆虫幼生がバナメイエビに速やかに取り込まれ、消化されることが明らかとなった。そこで本章では、これらの生物のエビに対する餌料価値について調べた。その結果、赤虫やボウフラのタンパク含量は、湿重ベースで約 12%だが、乾重ベースでは約 62%となり、人工配合飼料の約 38%よりはるかに高いことが分かった。また、飼育 3 週間後のエビのタンパク含有量は乾重あたり約 71%であり、ペレット飼料を与えた時の 70%という値と全く差異は見られなかった。そのほか、赤虫を摂餌したエビ体成分中に含まれる必須アミノ酸の割合や平均の成長速度等もペレットとほとんど違いは見られなかった。むしろエビに与えるペレット飼料の 50%を赤虫で代替すると、成長速度がペレット単独の場合より有意に高くなることが分かった。

これらの結果は、「Muangyao, P., K. Fukami, Y. Predalumpaburt, and P. Songsangjinda. 2019. Evaluation of naturally occurring foods in aquaculture ponds as protein source and for partial replacement of pellets for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Kuroshio Sci.*, 13:9-17.」にすでに掲載済みである。1980 年代以降に顕著にな

5. 昆虫幼生に対する gutweed の役割

以上の結果から、昆虫幼生、特にユスリカ幼生の赤虫は、ペレットに代替するエビの餌料として極めて有望であることが明らかとなった。そこで本章では、これらの昆虫幼生を養殖池で効率よく増加させるための方策を明らかにするため、gutweed の役割について調べた。

その結果、gutweed をより高密度で養殖池に植えた方が、赤虫・ボウフラ共に個体数が増加すること、およびエビの成長が良好になることが明らかとなった。特に赤虫では、gutweed に付着して生息する個体の割合が著しく増加しており、gutweed が赤虫の生息場所として機能していることが明らかとなった。

これらの結果は、「Muangyao, P., K. Fukami, P. Songsangjinda, and Y. Predalumpaburt. 2020. Stimulation by gutweed to increase the abundance of insect larvae as food for shrimp aquaculture in Thailand. *Aquaculture*, in press. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734740>」として、国際誌 *Aquaculture* のオンライン版にすでに掲載済みである。

6. モデルによるエビ養殖池の窒素循環

本章では、これまでの実験生態系により得られたデータを元に、gutweed の植え付けの有無により、エビ養殖環境での有機窒素がどのような動態を示すのかについて、モデル計算により評価した。その結果、増加した昆虫幼生と増殖した gutweed を合わせた生物量中の有機窒素量は、ペレット給餌の有無にかかわらず、gutweed を植えることにより増加することが明らかとなった。この結果は、エビ養殖池に gutweed を移植することで、エビの餌料としての有機窒素量が増加することを意味しており、現地でのエビ養殖業者が経験的に感じていた、gutweed が繁茂する養殖池では、赤虫等の昆虫幼生の生物量が多くなる事や、バナメイエビの成長が良好になることが、科学的数値からも証明されることが明らかとなった。

本研究の結果から、共存昆虫幼生を代替餌料としてエビ養殖に利用する事で、人工配合飼料の給餌量削減が可能であり、さらには、エビ養殖の残餌や糞により養殖池に長年堆積している底泥有機物(ヘド

口) を赤虫やボウフラを経由した食物連鎖を利用して消費し、再びエビのバイオマスに転換することも期待されることが明らかとなった。

このように本研究で得られた成果は、環境に配慮したあらたなエビ養殖方法を提言するものである。これは、国連が掲げた SDGs (Sustainable Development Goals) の No. 14「海の豊かさを守ろう～海洋と海洋資源を持続的な開発に向けて保全し、持続可能な形で利用する」の考え方に極めて適合したものであり、「黒潮圏科学」の考え方にも完全に合致する。以上の観点に基づき、全委員が一致して、本論文が博士（学術）の学位に十分値するものと判定した。