

# 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43号	Aldea Kristian Quintal	Life history, diversity and morphology of symbiotic alpheid shrimps associated with crustacean hosts 甲殻類と共生するテッポウエビ類の生活史、多様性、及び形態に関する研究	1
甲総黒博第44号	Katrina Lasalita Canon	Characterization and Utilization as Food of Freshwater Eels Collected from Tributaries along Lagonoy Gulf, Philippines. フィリピンラゴノイ湾で採取されたウナギの特徴づけおよびその利用学的検討	5
甲総黒博第45号	Teresa Narvaez Avila	Development of Dried Tigertooth Croaker ( <i>Otolithes ruber</i> ) Obtained from Different Salting and Drying Conditions in San Miguel Bay, Philippines. フィリピンサンミゲル湾で漁獲される Tigertooth Croaker の干物の開発のための塩漬および乾燥条件の検討	9
甲総黒博第46号	Wang Xiaodong	Early life history of clupeoid fishes in Ariake Sound, Shimabara Bay, Japan. 有明海におけるニシン亜目魚類の初期生活史	13

ふりがな	アルデア クリスタン キンタル
氏名（本籍）	Aldea Kristian Quintal（フィリピン共和国）
学位の種類	博士（学術）
学位記番号	甲総黒博第43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3年9月21日
学位論文題目	Life history, diversity and morphology of symbiotic alpheid shrimps associated with crustacean hosts 甲殻類と共生するテッポウエビ類の生活史、多様性、及び形態に関する研究
発表誌名	(1) Authors: <u>Kristian Q. Aldea</u> , Yumi henmi and Gyo Itani Ontogenetic changes in cheliped and uropod morphology of the symbiotic shrimp <i>Stenalpheops anacanthus</i> Miya, 1997(Decapoda: Caridea: Alpheidea): Implications for the taxonomy of the genus Journal: Journal of Crustacean Biology, 41: ruab029.  (2) Authors: <u>Kristian Q. Aldea</u> , Yumi henmi New record of the symbiotic alpheid shrimp <i>Stenalpheops anacanthus</i> Miya, 1997 from the middle of the Sea of Japan Journal: Kuroshio Science, 15: in press.
	審査委員 主査 教授 伊谷 行 副査 教授 原田 哲夫 副査 准教授 三浦 収

論文の内容の要旨

テッポウエビ科は、36属600種以上が知られる多様性の高いコエビ下目の甲殻類である。堆積物底に巣穴を構築する種が多く、また、海藻や海草からデトリタスまでの幅広い食性を有することから、海洋生態系の重要な構成者となっている。造巣性テッポウエビ類は宿主として、ハゼ類と相利共生の関係を構築するが、サンゴ類と共生するテッポウエビ類も宿主と相利共生の関係を築くことがある。巣穴を構築するテッポウエビ類では、一夫一妻性の種が知られている一方、カイメン類に共生するテッポウエビ類のなかには、女王エビのみが繁殖を行うコロニーを築き、海洋環境では極めて稀な真社会性を有する種もいる。このように、多様な生態を示し、生態学的に重要なグループであるテッポウエビ類のなかには、他の甲殻類が築いた巣穴に共生する種も多くの属から知られており、巣穴共生の進化が複数回起きたことが示唆されている。しかし、巣穴共生性のテッポウエビ類の生態はほとんど研究されておらず、共生生態の進化や多様化、共生がもたらす生態系機能の多様化などを考察するためには、多くの基礎研究を積み重ねる必要がある。そこで、学位論文提出者である Aldea 氏は、甲殻類の巣穴を利用する複数のテッポウエビ類において、その生活史や形態適応を解明することを目的に研究を行った。対象とした種はクボミテッポウエビ *Stenalpheops anacanthus* とセジロムラサキエビ *Athanas japonicus* であり、いずれも温帯域に生息するアナジ

ヤコ科とスナモグリ科甲殻類の巣穴を利用する。クボミテッポウエビは宿主を必ず必要とする絶対共生者であるのに対し、セジロムラサキエビは石の下などの生息場所も利用する条件共生者であることが知られている。

論文は、研究の背景と目的を示した第1章と総合考察を行った第8章をのぞき、異なる視点から研究された6つに分けられる。第2章ではクボミテッポウエビの分類学的諸問題を解決するために、分類形質の成長と発達を論じた。第3章では第2章の結論に基づきクボミテッポウエビの地理的分布をまとめた。第4章ではセジロムラサキエビの形態形質の変異についての新知見を得た。第5章では、クボミテッポウエビとセジロムラサキエビが同所的に分布する多摩川河口干潟において、その分布様式から生活史の違いの有無を論じた。第6章では、形態の発達の解析から2種の形態適応を論じた。第7章は、クボミテッポウエビの宿主の異なる2つの個体群の生活史形質を比較した。以下に、第2章から7章の詳細を述べる。

第2章では、オスの鉗脚と尾肢の形態の成長に伴う発達を詳細に記述し、その分類学的意義を明らかにした。その結果、混乱していた分類体系の健全化に寄与することにつながった。本章の内容は、以下の参考論文となった。

**Kristian Q Aldea, Yumi Henmi and Gyo Itani (2021) Ontogenetic changes in cheliped and uropod morphology of the symbiotic shrimp *Stenolpheops anacanthus* Miya, 1997 (Decapoda: Caridea: Alpheidae): implications for the taxonomy of the genus. Journal of Crustacean Biology, 41: ruab029.**

第3章では、京都府の久見浜湾でクボミテッポウエビが採集されたことを報告するとともに、本種の分布記録をまとめた。本種は琉球列島には分布しない温帯種であるにも関わらず、東日本や北海道にも分布しないこと、京都府での発見が日本海中央部での初めての分布記録であることが明らかになった。本性の内容は、以下の参考論文となった。

**Kristian Q. Aldea and Yumi Henmi (2021). New record of the symbiotic alpheid shrimp *Stenolpheops anacanthus* Miya, 1997 from the middle of the Sea of Japan. Kuroshio Science (in press).**

第4章では、セジロムラサキエビで知られている鉗脚形態の多型について、多くの標本を用いてはじめて相対成長解析を試みた。その結果、メスの鉗脚に成長に伴う不連続な肥大化が認められ、さらに肥大化した鉗脚に2つのタイプが認められることが明らかになった。

第5章では、クボミテッポウエビとセジロムラサキエビが同所的に分布する多摩川河口干潟における周年の採集結果から、アナジャコに共生する2種の生活史形質を記述した。繁殖期が夏季に限られ、着底から繁殖までにはほぼ1年を必要とするなどの生態は2種で共通していた。また、2種が同時に採集されることが稀であったことから、2種が競合関係にあることが明らかとなった。

第6章では、性成熟に関する形態形質や産卵数を比較した。2種ともに、オスの鉗脚に2次性徴が認められ、メスをめぐるオス間の競争があることが示唆された。またこのことは、テッポウエビ類のいくつかの種で認められる一夫一妻性の社会を築かないことも意味している。メスの鉗脚はオスより小さいものの、正のアロメトリーを示し、メス同士の競争や、あるいは、宿主への対応に鉗脚の使用が必要であることが示唆された。

第7章では、高知のヨコヤアナジャコに共生するクボミテッポウエビの採集結果から、宿主の巣穴サイズの異なる2個体群で、異なる生活史形質が進化したか否かを検証した。その結果、ヨコヤアナジャコと共生する個体群では、東京湾の大型種のアナジャコと共生する個体群に比べて、サイズが小型化し、産卵数も低下していた。一方、産卵期が長期化することで複数産卵が可能になり、総産卵数の低下を補っている可能性があった。しかし、これが小型の宿主への適応であるか否かは、今後の検証が必要である。

以上、黒潮圏に広く分布し、しばしば干潟の優占種となるテッポウエビ類のうち、共生性の小型種を対象として形態学的諸特徴と共生生態を明らかにした Aldea 氏の提出論文は博士論文として申し分ない。

とくに、分類学的混乱を含むグループの生態研究を行う際に、分類形質の再確認を行う申請者の姿勢は、生態学的研究にも分類学的研究にも大きな価値があると賞賛される。さらに、本研究結果は、フィリピンの干潟域での今後の研究発展が期待される内容となっていることから、本専攻における学位論文にふさわしい。

## 論文審査の結果の要旨

令和3年7月28日に公開審査会が開催され、学位論文提出者によって、MS-Teamsを用いたオンラインにより研究内容が発表された。質疑応答を含めた約1時間で、本学位論文の内容が説明され、質問やコメントに対し、学位論文提出者から相応の回答がなされた。

同日、最終試験をMS-Teamsを用いてオンライン実施した。この試験では、「黒潮圏総合科学専攻学位論文審査等に関する実施要領」にしたがって、専門性や学術性に関する口頭試問を実施した。学位論文提出者はいずれの質問に対しても、的確に回答し、学位に値する専攻学術の能力を有していることが認められた。

さらに、学位論文提出者は、筆頭著者として参考論文1編を学会誌 *Journal of Crustacean Biology* に公表し、もう1編が *Kuroshio Science* に印刷中となっていること、国際学会での発表も行なっていることから、その学識は博士（学術）として研究を遂行していくうえで備わっているものと認め、審査委員全員で合格と判定した。

ふりがな	カトリナ ラサリタ キャン
氏名（本籍）	Katrina Lasalita Canon (フィリピン共和国)
学位の種類	博士（学術）
学位記番号	甲総黒博第44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3年9月21日
学位論文題目	Characterization and Utilization as Food of Freshwater Eels Collected from Tributaries along Lagonoy Gulf, Philippines. フィリピンラゴノイ湾で採取されたウナギの特徴づけおよびその利用学的検討
発表誌名	(1) <u>Canon, Katrina L.</u> , Nieves,Plutomeo M.,Mendoza Jr., Antonino B., Nolia, John Christopher C.,Celestial, Nino C., Mediario, Ronie O., Bradecina, Raul G., Avila, Teresa N., and Kubota Satoshi Occurrence of <i>Anguilla luzonensis</i> in the tributaries along the Lagonoy Gulf,Philippines Author/s Journal: Journal of Fisheries Science
	審査委員 主査 教授 久保田 賢 副査 客員教授 木下 泉 副査 准教授 中村 洋平 副査 准教授 寺本 真紀

論文の内容の要旨

ウナギ属魚類 *Anguilla* は、世界各地で重要な水産資源の一つとされている。なかでもニホンウナギ (*A. japonica*) は、日本を中心とした東アジアでその多くが消費されている。養殖生産に必要なシラスウナギの乱獲や環境の変化により捕獲生産量の減少が問題となっており、2013年にはIB類としてレッドリストに掲載された。日本では1950～1960年代に、台湾では1970～1990年代にそれぞれ生産量を伸ばしてきたが、その後はそれらの減少とともに中国や韓国での生産量が増加した。このように、ニホンウナギ資源は東アジア全域に分布する国際資源であることから、日本の働きかけで2012年より資源管理に関する議論が開始され、2014年にはニホンウナギの池入れ量の制限、各国での養鰻管理団体の設立やそれらによる国際的管理体制の構築などの共同声明の発表に至っている。ニホンウナギの代替資源として、2010年ころまではヨーロッパからシラスウナギが輸入されていたが、その後はやアメリカや東南アジアからの輸入が増加している。

日本と比較して水産資源の中でウナギの重要性が低いフィリピンでは、これまでに採取されている *A. marmorata*, *A. bicolor pacifica*, *A. japonica*, *A. luzonensis*, *A. bicolor bicolor*, *A. celebesensis* の6種のうちシラスウナギの市場価値が高い *A. bicolor pacifica* が主な輸出資源となっている。一方、優占種である *A. marmorata* については、一部が輸出されているが市場価値が低く、廃棄されることもあり、資源の有効活用の観点から改善が必要とされている。

一方、食品科学的研究では、*A. bicolor pacifica* と比較して *A. marmorata* の栄養価は同等であること、日本で主流のかば焼き以外の料理法による嗜好性テストではむしろ優れているという研究報告があり、低価値だが資源量が豊富な *A. marmorata* やその他のウナギについては、市場性を高めるための付加価値をつけることで有効な資源利用が可能となると考えられた。フィリピンで採集されるウナギのうち、*A. marmorata*, *A. japonica* および *A. luzonensis* は、西マリアナ海嶺付近で産卵し、稚魚は北赤道海流に乗り西方に移動する。北向きの黒潮と南向きのミンダナオ海流への分岐点に近いビコール地方のラゴノイ湾は、主要な採取地域であると期待されるが、消費、採集、種構成等に関する情報は極めて限定的であった。

このような背景に基づき、本研究では、フィリピンビコール地方のラゴノイ湾で行なわれているウナギ漁業の実態調査、シラスウナギの種構成解明および優占種である *A. marmorata* や市場価値が比較的高い *A. bicolor pacifica* のフィリピンにおける消費を念頭に置いたゼラチンの定量を行い、*A. marmorata* の有効利用について検討している。

第1章では、前述した水産資源的観点に加え、ウナギ属魚類 *Anguilla* の分類や生態等の基本的な背景が紹介され、本研究の目的が示されている。

第2章では、ウナギ漁業の実態のうち、記事や論文が見当たらなかった漁法について聞き取り調査を行ない、すでに調査が行なわれていた流通経路等とともに現状を整理した。ビコール地方では、シラスウナギ漁に携わる漁業者は多くなく、固定式または巻き取り式の袋網（現地名：kubong）を使って採集されるのが一般的であった。地域内に流通の拠点はなく、ミンダナオ島から収集業者が来て、活きのいいシラスウナギのみを選別して買い取る仕組みとなっており、廃棄される個体が少なくないことが判明した。この一連の過程については、Plutomeo M. Nieves, Antonino B. Mendoza Jr., Raul G. Bradecina, John Christopher C. Nolial, Niño C. Celestial, Satoshi Kubota, and Katrina L. Canon. The Eel Fishery in Tributaries Along Lagonoy Gulf: Implications for Management and Conservation. BU R&D Journal, 24 (1): 67-81, 2021 で報告されている。一方、収集業者が用いている尾部の色素パターンによる判別方法により、採取されたシラスウナギの種構成について解析を行った。2009年に発見された最も新しい種である *A. luzonensis* は *A. marmorata* との判別が困難であったため、*A. marmorata* として集計した。その結果ラゴノイ湾の主要河川のうち Comun 川（アルバイ州）と Lagonoy 川（南カマリネス州）では80%以上、Bato 川（カタンドアネス州）では、95%以上を *A. marmorata* が占めていた。

第3章では、尾部の色素パターンによる判別で *A. luzonensis* は *A. marmorata* との判別が困難であったことなどから、ウナギ属魚類 *Anguilla* の分子分類に主に用いられているミトコンドリア DNA の Cytochrome Oxidase I 配列に基づく分類を行なった。分析には PCR-制限酵素断片長多型（RFLP）を適用し、554 個体のパターンを得たが、そのうち18 個体は予想されたバンドパターン異なっており、種判別が困難であったため DNA 配列分析を併用した。その結果、種構成では、*Anguilla luzonensis* がラゴノイ湾で初めて核にされるとともに、Comun 川（9.5%）と Lagonoy 川（22.4%）では、*A. marmorata* に続き2 番目に多い種であった。また、*A. luzonensis* について、公共データベースに登録されていたルソン島北部のカガヤン地方で採取された2 個体の DNA 配列を加えて集団構造解析を行なったところ、各個体間の差異は小さく一つのグループを構成すると推測された。この結果は、Katrina L. Canon, Plutomeo M. Nieves, Antonino B. Mendoza Jr., John Christopher C. Nolial, Niño C. Celestial, Ronie O. Mediaro, Raul G. Bradecina, Teresa N. Avila, Satoshi Kubota. Occurrence of *Anguilla luzonensis* in the Tributaries along the Lagonoy Gulf, Philippines, 3(1), 2021 で報告されている。

第4章では、尾部の色素パターンと分子分類のデータ比較を行ない、シラスウナギの採取時に種判別

方法として適用可能かどうかについて検討した。尾部の色素パターンにより同定された *A. marmorata* の 81.7%が分子分類で正しく判別できていた。一方、*A. bicolor pacifica* の場合、正しく判別されていたのは 16.7%にとどまった。140 個体について、さらに詳細に尾部の色素パターンの写真を用いて比較した結果、尾部の先端に色素が集中している *A. bicolor pacifica* および *A. celebesensis* からなるグループと先端付近の体側部に色素が濃い部分を示す *A. marmorata* と *A. luzonensis* からなるグループの 2 つに分けられることが判明した。これらの結果を総合的に考察した結果、*A. bicolor pacifica* の正しい判別ができていなかった理由は、分類に用いられていたイラストが不正確で合ったことが判明し、その修正に加え判別者への教育で改善可能であることが分かった。一方、*A. marmorata* と *A. luzonensis* の判別については、現状では困難であることからさらに詳細な観察が必要であると考えられた。

第 5 章では、優占種である *A. marmorata* の利用を念頭に置いたゼラチンの定量を行なった。第 1 章の聞き取り調査の際、ビコール地域では主にグリル（現地料理名：inihaw）、酢で煮込む（paksiw）、またはココナッツミルク（ginataan）等の方法で調理されていることも明らかにしていること、ゼラチンはスープのような熱水の料理において、味覚の増幅効果を示すことなどがその理由である。そこで paksiw を念頭に *A. marmorata* と *A. bicolor pacifica* の熱水抽出画分のゼラチンの存在をドデシル硫酸ナトリウムーポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）分析によって観察するとともに Coomassie Protein Assay を用いた比色法によりゼラチン含量について定量した。SDS-PAGE 分析の結果、熱水抽出画分のみに典型的なゼラチンのパターンを示した複数の高分子量のバンドが観察された。一方、冷水抽出画分で観察された分子量数万程度の多くのタンパク質については、ほとんど観察されなかったことから、熱変性により沈殿したものと思われた。ゼラチン含量については、*A. marmorata* と *A. bicolor pacifica* とでは同程度であったことから、味の増幅効果も同様であると期待され、*A. marmorata* の利用可能性が示された。今後は、paksiw の嗜好試験に加え、遊離およびゼラチン結合ヒドロキシプロリンの分析、味覚活性成分の推定、ゼラチンの味覚増強効果などを予定している。

第 6 章では、第 1 章から第 5 章の背景、目的、調査・研究結果に基づき、市場価値が低い *A. marmorata* や研究例がなく食品としての価値が不明な *A. luzonensis* の食品開発を進め、付加価値を付けることで、新たな市場開拓を通じた採集者や漁師の生計向上も期待される。

このように本研究は、情報が極めて少なかったフィリピンビコール地方ラゴノイ湾におけるウナギ属魚類 *Anguilla* のシラスウナギの採取、種構成や優占種の食料資源としての活用を含む学際的な研究である。黒潮圏科学の理念に適合していると評価できる。



## 審査の結果の要旨

「黒潮圏総合科学専攻学位論文審査等に関する実施要項」第10条に定められた「公開審査会」が令和3年7月28日にオンラインで開催され、Canon氏により学位研究内容が発表された。内容の説明ならびに質疑応答が適切に行なわれた。

「黒潮圏総合科学専攻学位論文審査等に関する実施要領」第11条に定められた「最終試験」を令和3年7月29日にオンラインで実施した。口頭試問において、Canon氏はそれぞれの質問に対して的確に回答した。

学位論文審査委員会で「公開審査会」および「最終試験」の説明や回答等に基づきCanon氏の学位論文に関する学識や研究遂行能力について総合的に検討し、博士（学術）の学位授与に相当するものと判断し、合格と判定した。

ふりがな	テレサ ナルヴァエス アヴィラ
氏名（本籍）	Teresa Narvaez Avila（フィリピン共和国）
学位の種類	博士（学術）
学位記番号	甲総黒博第45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3年9月21日
学位論文題目	Development of Dried Tigertooth Croaker ( <i>Otolithes ruber</i> ) Obtained from Different Salting and Drying Conditions in San Miguel Bay, Philippines. フィリピンサンミゲル湾で漁獲される Tigertooth Croaker の干物の開発のための塩漬および乾燥条件の検討
発表誌名	(1) <u>Teresa N. Avila</u> , Myrna C. Bigueja, Raule G. Bradecina, Antonino B. Mendoza Jr., Katrina L. Canon, and Satoshi Kubota Proximate composition and changes in muscle proteins of dried salted abo ( <i>Otolithes ruber</i> ) Author/s Journal: Food Research
	審査委員 主査 教授 久保田 賢 副査 准教授 難波 卓司 副査 助 教 Ulanova Dana

論文の内容の要旨

フィリピン・ルソン島の南東部に位置するビコール地域は、太平洋の北赤道海流が北向きの黒潮と南向きのミンダナオ海流が分岐する付近に位置し、黒潮源流ともいえる海域に面している。豊かで生産性の高い漁場を形成しており、フィリピンの近海漁業の生産高では国内第2位を占めている。この地域での漁業活動は、小規模なものが多く、浅海での漁が中心である。ビコール地域の漁業の状況は、漁獲量の減少や漁獲コストの増加などにより、持続可能な資源管理や生活基盤の維持に悪影響を及ぼしているとされ、脆弱な経済基盤しか持たない漁業者の生計維持やコミュニティ発展のためには、地域資源の利用を目的とした商品開発が一つの解決策と考えられる。

ビコール地方の南カマリネス州の北側に位置するサンミゲル湾（SMB）では、カタクチイワシ、エビやワタリガニなどの漁獲物に加え、Tigertooth Croaker（現地名：Abo）と呼ばれるニベ類魚類が主要な水産物となっている。このTigertooth Croakerは現地では家庭料理の材料とされる以外に、高塩濃度の干物として加工されることが多い。南カマリネス州のみならず、ビコール地方の他の州や地方外へも流通しており、特産品として広く認知されているため、高付加価値を付与することにより利益の拡大が期待される。しかしながら、この製品を食品科学的に解析した報告やTigertooth croakerの資源量等の状況を客観的に把握するための情報収集の仕組みやそれらを包括的に管理する仕組みが整っておらず、不明な点が多い。

過剰な食塩摂取は、循環器疾患の主要因である高血圧のリスクファクターとされている。世界の多く

の国と同様に、フィリピンでも近年では都市部を中心に消費者の健康意識が高まっており、低塩分食品について一定程度の需要を見込むことができる。Tigertooth Croaker の干物について、現在の高塩濃度の商品については、脆弱な流通システムによる冷蔵環境の不足により、乾燥時間が長く低水分のものが主流である。しかしながら、かつては高水分含量かつ低塩分濃度の製品も流通していたという報告もあり、大胆な塩分濃度や物性の改良を加えた商品も市場での受容性が高い可能性がある。

このような背景に基づき、本研究ではフィリピンビコール地方のサンミゲル湾で漁獲される Tigertooth croaker の漁業資源の実態や加工の現状等に関する聞き取り調査、分子分類による種の推定、一般成分分析ならびに食塩濃度定量による食品学的基本情報の解明に加え、塩分濃度や乾燥時間の違いによる物性やタンパク質分子変化等について検討している。

第1章では、前述したフィリピンビコール地方サンミゲル湾で漁獲される Tigertooth croaker の概要や開発の可能性に加え、本研究における実施内容が紹介されている。

第2章では、サンミゲル湾における Tigertooth croaker 漁の状況、加工業者の業態に加え、Tigertooth croaker の加工過程について、地方政府、漁業者や加工業者に対する聞き取り調査を行なった。サンミゲル湾周辺で Sabang および Calabanga が Tigertooth croaker の水揚げ量が最も多い漁港であった。刺し網が Tigertooth croaker 漁で使用される最も一般的な漁具であった。漁業・水産資源局の支所から提供された2015年～2018年の統計によると2016年から2018年にかけて Tigertooth croaker の全体的な水揚げ量が増加しており、回答者が主張する漁獲量の減少とは対照的であった。生産量のピークは毎年異なっていること、年間を通して一定量は入手可能であるが、市場価格は季節や魚の大きさによって変動することが判明した。漁業規則の遵守に対する規制が緩いこと、干物加工業者の業界団体がいないことなどから、加工業者の自主規制に寄るところが大きいことも明らかとなった。サンミゲル湾で最も Tigertooth croaker 漁が盛んな湾南部に位置する Calabanga 市周辺では、標準的な塩分濃度が8% (w/w)、標準的な乾燥時間は12時間であったが、業者により塩漬けと乾燥の条件に違いがあった。

第3章では、分子分類による Tigertooth croaker の種の判別を試みている。サンミゲル湾周辺の市場では、Tigertooth croaker に加え Pagotpot や Arakaak (いずれも現地名) などのニベ類魚類が流通しているが、形態的特徴が類似しており、認識に混乱が生じる可能性がある。1980年代の形態学的分類により、Tigertooth croaker は *Otolithes ruber* と推測されていたが、その後の確定的な報告は見当たらない。そこで、ニベ類の分子分類の報告があるミトコンドリアのシトクロム c 酸化酵素サブユニット I (COI) 遺伝子および 16S リボソーム RNA 遺伝子配列を指標として分子分類を試みた。COI 配列に基づく分子系統樹により、Tigertooth croaker は *Otolithes ruber* および *Otolithes cuvieri* と同じサブクレードを形成したことから、*Otolithes* 属であることが確認された。一方、16S rRNA 配列では、*O. ruber* と同一のクラスターを形成したことから、サンミゲル湾に生息する Tigertooth croaker は *Otolithes ruber* である可能性が高いと考えられた。

第4章では、聞き取り調査による標準的な加工条件を中心とし、立て塩の塩分濃度 (4%, 8%, 12%) と乾燥時間 (6 時間, 12 時間) の組み合わせによる6つのグループの Tigertooth Croaker の干物を製造し、一般成分 (水分, 灰分, 粗タンパク質および粗脂質) の定量と食塩濃度定量を行なった。分析用試料の調製過程で、乾燥時間の違いのみならず、6時間の乾燥試料では、4%および8%の塩分濃度の試料について、12%のそれと比較して粘性が明らかに異なることが観察された。一方、一般成分および食塩濃度の定量結果のうち、6時間乾燥させた12%の塩分濃度のサンプルは、4%および8%の塩分濃度のサンプルに比べて粗タンパク質が著しく高いことが明らかとなった。以上のことから、比較的短時間の乾燥時に立て塩の塩分濃度が10%前後で物性の違いを分ける変化が生じていることが示唆された。

第5章では、さらにこの過程で生じた組織中の生化学的な変化を解明するために、魚肉の物性の寄与が大きいことが知られている筋原線維タンパク質画分を抽出し、Tricine 緩衝液系の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) でバンドパターンを解析するとともに、各タンパク質を同定するため LC-MS/MS による質量分析を行なった。SDS-PAGE では合計 23 本のバンドが検出され、LC-MS/MS により 9 種のタンパク質から構成されていることが示された。このうち、物性に寄与するミオシン重鎖 (MHC)、アクチンおよびケラチンは、分子量から分解または重合が生じていると推測された。特に 12% の立て塩濃度において、136 kDa 付近に観察されたアクチンバンド強度が増加した一方で、73 kDa、27 kDa および 20 kDa 付近の MHC のそれは著しく減少した。この結果で観察されたタンパク質断片は、製品の食塩濃度や物性を調節する際に、変化のモニタリングの指標として有用であると考えられた。さらに、これらの断片の生成機構を解明するため、質量分析で得られた個別のペプチド断片の性質について考察している。MHC と同定された 6 つのペプチドは、全て MHC の C 末端側に位置する L-メロミオシン領域由来と考えられた。MHC のサイズのバンドが観察されなかったこと、H-メロミオシンの位置の断片が検出されなかったことなどから、Tigertooth croaker の干物製造中に、MHC の限定分解が生じるとともにその一部が重合していることが示唆された。一方、質量分析によりアクチンと推定されたペプチドはいずれも、SDS-PAGE により推定された大きさと比較してカバーする範囲が広がったことから、SDS-PAGE および LC-MS/MS のみでは挙動を知ることが困難であるということが明らかとなった。また、MHC およびアクチンの質量分析で推定されたペプチドの C-末端および N-末端の 1 残基上流のアミノ酸がすべてリジンとアルギニンであったため、質量分析の試料処理中に用いたトリプシンによる切断部位しか同定できず、干物加工中に生じる限定分解を引き起こすタンパク質分解酵素を推定することはできなかった。

第6章では、第1章から第5章の背景、目的、調査・研究結果に基づき、サンミゲル湾で漁獲される Tigertooth croaker の商品開発の可能性の方向性に加え、水産資源の持続的な利用を可能とするための戦略についての考察を加えている。このように本研究は、情報が極めて少なかったフィリピンビコール地方サンミゲル湾における Tigertooth croaker の漁獲実態、種同定、加工条件による成分の相違や加工法の検討を含む学際的な研究である。黒潮圏科学の理念に適合していると評価できる。

## 論文審査の結果の要旨

「黒潮圏総合科学専攻学位論文審査等に関する実施要項」第10条に定められた「公開審査会」が令和3年7月28日にオンラインで開催され、Avila氏により学位研究内容が発表された。内容の説明ならびに質疑応答が適切に行なわれた。

「黒潮圏総合科学専攻学位論文審査等に関する実施要領」第11条に定められた「最終試験」を令和3年8月2日にオンラインで実施した。口頭試問において、Avila氏はそれぞれの質問に対する的確に回答した。

学位論文審査委員会で「公開審査会」および「最終試験」の説明や回答等に基づき Avila 氏の学位論文に関する学識や研究遂行能力について総合的に検討し、博士（学術）の学位授与に相当するものと判断し、合格と判定した。

ふりがな	ワシヤオト
氏名(本籍)	Wang Xiaodong (中国)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲総黒博第46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3年9月21日
学位論文題目	Early life history of clupeoid fishes in Ariake Sound, Shimabara Bay, Japan. 有明海におけるニシン亜目魚類の初期生活史
発表誌名	(1) Wang, X., Y. Yagi, S. Tojima, I. Kinoshita, Y. Hirota & S. Fujita. 2021. Early life history of <i>Ilisha elongata</i> (Pristigasteridae, Clupeiformes, Pisces) in Ariake Sound, Shimabara Bay, Japan. Plankton Benthos Res., 16(3): 210-220. (2) Wang, X., Y. Yagi, S. Tojima, I. Kinoshita, S. Fujita & Y. Hirota. 2021. Comparison of larval distribution in two clupeoid fishes ( <i>Ilisha elongata</i> and <i>Sardinella zunasi</i> ) in the inner estuaries of Ariake Sound, Shimabara Bay, Japan. Plankton Benthos Res., 16(4) (in press).
	審査委員 主査 客員教授 木下 泉 副査 教授 伊谷 行 副査 教授 久保田 賢 副査 上海海洋大学教授 钟(鐘)俊生

論文の内容の要旨

申請者・王 曉東 君は、2021年4月27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。それに基づき、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、5月7日から予備審査が開始された。申請者が筆頭著者である2報の参考論文(①・②)の査読制度付き学術論文雑誌への公表(さらに3報目③)を投稿・査読下(次頁末)、国際学会に相当する国内学会での英語による口頭発表および学位取得に必要な所定の単位を確認し、5月14日予備審査に合格した。その後、6月15日に学位論文を提出し、直ちに本審査に入った。

本論文は、人為的開発の著しい有明海湾奥で同時・同所的に再生産を行っているニシン亜目魚類4種(コノシロ, サツパ, ヒラ, エツ)の初期生活史を調査し、詳細な環境観測の実施と合わせて、これら水産業上有用種の初期生活史下での種間競争の実態を明らかにしたものであり、その内容を以下に述べる。

諸言(参考論文①②③)

有明海は、全国随一の干満差と広大な干潟規模、著しい高濁度水塊、さらに大陸からの遺存種であり本邦ではここだけにしかない数多の固有水棲動物というキャラクターを持つことを考えると、本海は世界でも有数の個性的な内湾と言っていい。その有明海の最大の支湾である諫早湾とそれに注ぐ長崎県随一の

本明川が潮受堤防によって遮断され 20 年以上経ち、その間、2008 年に干拓工事を終了したが、諫早湾締切・干拓による有明海への影響評価はついになされないまま今日に至っている。このように人為的開発の著しい有明海湾奥で同時・同所的に再生産を行っているニシン亜目魚類 4 種（ニシン科のコノシロと地域系群のサツパ, *Pristigasteridae* 科の準特産種ヒラおよびカタクチイワシ科の特産種エツ）の生活史を調査し、詳細な環境観測の実施と合わせて、これら水産業上有用種の初期生活史下での種間競争の実態を調査し、有明海の生物多様性を明らかにすることを目的とした。

#### 材料と方法（参考論文①②③）

申請者は 2018 年 12 月から 2021 年 6 月までの計 11 回の有明海調査に参加したが、今回、使用した材料は主に 2019 年 3-11 月のもので、それに加えて 2006 年 5 月と 2016 年 7 月の結果も用いた。調査は、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、諫早調整池および三池砕波帯で行った。浮遊期個体は、稚魚ネット（口径 1/1.3 m, 網目 0.5/1 mm）もしくは近底層ネット（網口幅 1.5 m, 高さ 0.25 m, 網目 1 mm）により、底生期個体は、桁網（網口幅 1.5 m, 高さ 0.3 m, 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、濁度および流向・流速（kt）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。尚、エツに関しての情報の多くは本専攻 2015 年度学位論文 *Simanjuntak* (2016) の内容を踏襲した。

#### 1. 個体発生（参考論文①）

有明海に卓越する 4 種のニシン亜目魚類、それぞれの卵から稚魚までの個体発生を詳細に再記載した。その中で、ヒラは極めて特異な個体発生を示し、本種はニシン科ではなく、*Pristigasteridae* 科に属することが、個体発生の見地からも示唆された。

#### 2. 卵・仔魚の分布（参考論文①②③）

卵・仔魚の水平分布から、4 種のニシン亜目魚類とも春季から夏季にかけて、湾奥部河口域を中心に、産卵場および成育場を形成することが明らかになった。春季では、コノシロとサツパが、夏季ではサツパ、ヒラおよびエツが、河口域周辺で分布を水平的に重複させ *Niche* の共有がみられたが、鉛直的な分布の違いおよび口径の差による餌生物の選択性の違いにより、深刻な競合は避けていると考えられた。一方、潮受堤防により本明川と隔絶された諫早湾では、コノシロとサツパはかなりの規模で産卵していたが、ふ化後の仔魚は発育しないか消滅してしまっており、諫早湾がニシン亜目魚類の成育場には不適合になっていることが示唆された。

#### 3. 産卵および成長

耳石日周輪から推定した成長を種間で比較すると、成長率はエツでもっとも高く、次いでサツパであった。同種内で河川間で比較すると、コノシロでは矢部川で、サツパでは早津江川で高い成長率を示し、成育する河川河口域によっては彼らの運命を左右するかもしれない生物多様性を暗示させた。また、日周輪から推定された各種の産卵期は、種間で季節的に重複することが確認された。

#### 4. 総合討論（参考論文①②③）

ニシン亜目魚類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、生態的 *Niche* を共有しているとみられたが、時空間的な分布、さらには栄養要求の質を微妙に変えることによって、有明海湾奥部の特異な環境をいみじくも共有し生物多様性を示した。その一方で、本研究は諫早湾干拓による魚類の成育場の喪失の可能性を示唆し、有明海の魚類生産性の

衰弱に対して警鐘となった。

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、4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」、Tran T.T.: 2018年度「Comparison of early life histories of euryhaline fishes in estuaries between Vietnam and Japan」、東島昌太郎: 2019年度「有明海における特産魚類の初期生活史の多様性」)によって取組まれた。今回の申請者は、これらを引継ぎ、入学から3年間、弛まなく研究し続け、本海で最優占し有用魚であるニシン亜目に特に焦点を当て、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である。さらに、彼は、幸いにも「中国水産研究院・東海水産研究所」への研究者として奉職が決定した。有明海は日本列島が大陸から離れた際の遺存水域と言われ、中国の「東海」=東シナ海沿岸には有明海に類似した特有の環境が数多見られ、環境破壊が著しい。これらの環境とそこでの生物資源の保全のために、彼が本専攻で得た知識と経験を駆使し活躍できることは間違いないであろう。

以上、申請者が本研究による本専攻での博士(学術)の学位の取得は極めて妥当と言える。

<参考論文>

- ①Wang, X., Y. Yagi, S.Tojima, I. Kinoshita, Y. Hirota & S. Fujita. 2021. Early life history of *Ilisha elongata* (Pristigasteridae, Clupeiformes, Pisces) in Ariake Sound, Shimabara Bay, Japan. Plankton Benthos Res., 16(3): 210-220.
- ②Wang, X., Y. Yagi, S. Tojima, I. Kinoshita, S. Fujita & Y. Hirota. 2021. Comparison of larval distribution in two clupeoid fishes (*Ilisha elongata* and *Sardinella zunasi*) in the inner estuaries of Ariake Sound, Shimabara Bay, Japan. Plankton Benthos Res., 16(4)(印刷中).
- ③Wang, X., S. Tojima, Y. Yagi, I. Kinoshita, S. Fujita, Y. Hirota, M. Sashida & T. Yamanaka. Comparison of early life histories between two clupeid fishes (*Konosirus punctatus* and *Sardinella zunasi*) in Ariake Sound, Shimabara Bay, Japan. La mer. (投稿後, 査読下).



### 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2報を学会誌に公表し、1報を投稿し査読下にあること、ならびに国際学会に相当する国内学会で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。前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。