

Information

Hiroshima University has granted the Doctor's degree to the following researchers.

The list is only concerned with the Graduate School of Biosphere Science.

DEPARTMENT OF BIOSPHERE SCIENCE

March 5, 2013

Doctor of Philosophy Kazuhide MORIMOTO

March 5, 2013

Doctor of Philosophy Kazuomi MITANI

March 5, 2013

Doctor of Philosophy Kouki MIZUNO

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Danling WANG

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Hirotaka KATAHIRA

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Yasuhiro KAMIMURA

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Achmad ZAMRONI

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Rika FUKUMORI

March 5, 2013

Doctor of Philosophy Worawit MANEEPITAKSANTI

September 2, 2013

Doctor of Philosophy Rose Olivia Shirley Elisabeth MANTIRI

September 2, 2013

Doctor of Agriculture Zongfu Li

DEPARTMENT OF BIOFUNCTIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Tasuku OGITA

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Takayoshi HOSHINO

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Tomomi KOGUCHI

March 5, 2013

Doctor of Agriculture Shingo SAKAMOTO

September 2, 2013

Doctor of Agriculture Kun WAN

September 2, 2013

Doctor of Agriculture Tetsushi KAGEYAMA

September 2, 2013

Doctor of Philosophy

Peipei ZHANG

September 2, 2013

Doctor of Agriculture

Hisashi SUGIYAMA

DEPARTMENT OF ENVIRONMENT DYNAMICS AND MANAGEMENT

March 5, 2013

Doctor of Agriculture

Cahyo WULANDARI

March 5, 2013

Doctor of Agriculture

Akihiro FUJIMOTO

March 5, 2013

Doctor of Philosophy

Xin WANG

March 5, 2013

Doctor of Agriculture

Takaaki OE

March 5, 2013

Doctor of Agriculture

Su MYAT

March 5, 2013

Doctor of Agriculture

Keiichi SATO

DESSERTATION PhD

September 2, 2013

Doctor of Agriculture

Michio OTANI

Effect of enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine on an immune function of bovine mammary gland

Kazuhide MORIMOTO

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

大腸菌不活化ワクチンの接種がウシ乳腺の免疫機能に及ぼす影響に関する研究

森本 和秀

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

ウシの乳房炎は乳腺に起きる炎症で、主に微生物（細菌、マイコプラズマ、真菌等）が乳房内に侵入、増殖して発症する。乳房炎を発症すると乳質および乳量の低下を招き、症状が著しい場合は出荷停止となる。また、治療のために薬剤を投与されれば、定められた期間生乳は出荷停止となる。そのため乳房炎は酪農における重大な生産阻害要因となっている。乳房炎の中でも、急性大腸菌性乳房炎（acute coliform mastitis; ACM）は大腸菌等のグラム陰性桿菌が原因となり発症するが、重篤な全身症状を示して死亡したり、泌乳量が激減して廃用に至る例が少なくない。海外で利用されている乳房炎予防用の大腸菌ワクチンは日本では認可されていないが、下痢予防用の大腸菌不活化ワクチン（enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine; ETEC ワクチン）は市販されており、妊娠母牛に接種され初乳を介して抗体を子牛に付与することで子牛の大腸菌性下痢症を防ぐ目的で使われる。

本研究では、乳牛の ACM 予防のための ETEC ワクチンの応用を目指し、ETEC ワクチンの接種が乳腺の免疫機能に及ぼす影響を調べることを目的とした。

1. 大腸菌不活化ワクチンの接種がウシの乳房炎の発生率、死産率および乳汁、血液成分に及ぼす影響

(1) 大腸菌不活化ワクチンの接種が乳房炎発生率および死産率に及ぼす影響

2007および2008年に酪農家5戸の乳牛を用いてランダム化比較試験を行い、供試牛は2007年は4戸273頭、2008年は3戸207頭を用いた。各戸のウシをワクチン接種牛と非接種牛とに区分けし、接種牛には5～8月に ETEC ワクチンを約1ヶ月間隔で2回接種した。家畜診療所のカルテから臨床型乳房炎を抽出し、供試頭数に対する乳房炎発生頭数の割合を発生率とした。また、乳房炎の転帰（治癒あるいは死亡・廃用）に基づいて、乳房炎発生頭数に対する死亡・廃用頭数の割合を死産率と定義した。2007年の試験の結果、接種牛と非接種牛で乳房炎発生率に差はなかったが、接種牛の死産率が非接種牛に比べて低くなる傾向があり、生存時間分析において両者の生存関数に有意差が認められた。また、症状の重い甚急性乳房炎の発生率は接種牛と非接種牛で差はなかったが、接種牛の死産率が非接種牛に比べて有意に低かった。以上の結果から、ETEC ワクチンの接種により乳房炎発生率は変化しないが、乳房炎発生時の死産率が低下することが示唆された。

(2) 大腸菌不活化ワクチンの接種が大腸菌性乳房炎発生牛の血液成分および乳汁中細菌数に及ぼす影響

罹患乳房からグラム陰性桿菌が分離された ACM 56例を用いて後ろ向きコホート研究を行った。症例をワクチン接種歴により接種牛と非接種牛に区分けし、初診時の血液および乳汁検査データについて、接種牛と非接種牛の比較および治癒した症例と死亡・廃用例の比較を行った。56例中接種牛31例（治癒22、死亡・廃用9）、非接種牛25例（治癒14、死亡・廃用11）であった。接種牛は非接種牛に比べてワクチン抗体価が有意に高く、IgG 濃度が有意に低かった。非接種牛において、年齢、総ビリルビン、血液尿素窒素、乳汁中の菌数は治癒牛に比べて死産牛が有意に高く、血小板数は死産牛が有意に低かった。接種牛においては、総ビリルビン、クレアチンキナーゼ活性、ハプトグロビン濃度および乳汁中の菌数が治癒牛に比べて死産牛の方が有意に高かった。ワクチンを分娩に関係なく初夏に一斉接種したウシと、季節に関係なく分娩前に接種

したウシを比較すると、初夏一斉接種の死産率（11%，2/18）が分娩前接種の死産率（54%，7/13）より有意に低かった。

以上の結果から、ETEC ワクチンを接種すると ACM 発生時に高齢牛の治癒率が向上し、血小板減少症が緩和されると考えられた。また、ワクチンの接種時期は分娩前よりも初夏一斉接種の方が効果的であると考えられた。

2. 大腸菌不活化ワクチンの接種が LPS を注入したウシ乳房の自然免疫機能に及ぼす影響

ETEC ワクチンを接種した際に起きる ACM の症状の緩和が、自然免疫応答においても起きるか否かを明らかにするため、泌乳中期のホルスタイン種乳牛14頭を供試し、7頭に ETEC ワクチンを1回皮下接種した。その3週間後、全頭の後ろの片側の乳房内に LPS を投与した。1日目の LPS 投与前（0h）および1h 後から 12h 後まで1時間おきに生乳を採取し、2日目から4日目まで1日2回9時と16時に採取した。血液は0, 4, 8, 24, 48, 72, 96h 後に採取した。生乳は体細胞数（SCC）、ラクトペルオキシダーゼ（LPO）活性、lingual antimicrobial peptide（LAP）、ラクトフェリン（LF）濃度を測定した。血液成分は、血球数、血清の生化学的検査の他、ワクチン抗体価および抗 J5抗体価、ハプトグロビン濃度を測定した。12, 55h 後の SCC、8h 後の LAP 濃度、55h 後の LF 濃度は、非接種牛に比べて接種牛の方が有意に低かった。非接種牛の LPS 投与分房の24h 後の乳量は投与前に比べて有意に減少したが、接種牛では有意な減少は認められなかった。接種牛において、0h のワクチン抗体価と31h 後の LPO 活性および48h 後の LF 濃度が高い正の相関を示した。

以上の結果から、ETEC ワクチンを接種すると、乳房に LPS を投与した時の乳汁中の SCC、LAP、LF 濃度の上昇や、乳量の減少が緩和されることが示唆された。

3. 結論

本研究の結果、下痢予防用大腸菌不活化ワクチンの接種により、ACM 発生時に乳汁中の SCC、LAP、LF の値の上昇が抑制され、免疫の過剰反応が抑制されて乳房炎死産率が低下することが示唆された。また、本ワクチンの接種方法については、従来行われていた分娩前接種よりも、初夏の一斉接種の方が効果的であると推察された。

キーワード：大腸菌性乳房炎、大腸菌不活化ワクチン、免疫

Economic valuation of regional resources and significance of the Policy Introduction

Kazuomi MITANI

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

地域資源の経済的評価とその政策導入の意義

三谷 和臣

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

市場経済のグローバル化の進展にともない、開発途上国における大規模な農林業開発、先進国・新興国の食料輸入国への転換により、食料の安全保障および地域資源の劣化が深刻な問題になっている。1992年の国連環境開発会議（地球サミット）では、持続可能な開発のための新たな枠組みが示され、農林業の生態系によって供給される公益的機能が再認識されるようになった。持続的資源管理には、生態系機能の価値を盛り込んだ効果を明確にする必要がある。

本研究では、地域資源を評価するにあたり、代替財を用いて評価する手法、あるいは、支払意思額を尋ねることによって評価する手法を適用することにより、生態系機能の経済的価値の算出を行った。その結果を用いて、持続的な資源利用のための政策手段の有効性を評価するとともに、経済的評価の政策導入の意義を明らかにすることを目的とした。

第1章 地域資源の劣化と持続可能な開発

本章では、統計資料をもとに地域資源の実態を分析し、地域資源劣化のメカニズムを解明した。また、持続的な資源利用における国際的な取り組みについて、および、自由貿易体制と農林業政策との整合性について整理を行った。地域資源保全に向けて、環境破壊的な補助金は撤廃され、環境支払い、エコラベリング制度など効率的・効果的な政策手段の展開が必要であることが明らかになった。

第2章 生態系機能を定量的に評価するための経済理論

本章は、持続的な地域資源管理における経済的評価の理論的フレームワークを明らかにした。農林業の生態系機能を定量的に評価するために、地域資源の公共財および非市場財としての特性を考慮する必要がある。既往研究を基にして、それぞれの生態系機能に応じた評価手法の適用方法と問題点を明らかにした。さらに、農林業分野における政策評価の体系および評価フローについて分析を行い、定量評価の政策導入へのプロセスについて検討した。

第3章 瀬戸内島嶼部における農村景観の定量評価

本章では、呉市島嶼部の柑橘農業を事例として、地域資源の経済的な評価を行った。呉市島嶼部における段々畑の景観は、アンケートを用いた評価を行った。その結果、遺贈価値や存在価値を有することが示唆された。この価値は、景観保全事業を実施する際の意思決定の基準となり得る。リクリエーション機能については、柑橘資源を利用したツーリズムを想定して、観光客対象に経済効果の評価を行った。その結果、観光振興による地域産業への波及効果が見られ、柑橘類の直売所の整備や新たなブランド開発など、柑橘農業が新たな地域産業への寄与のための判断材料となり得る。

第4章 柑橘産業における有機性廃棄物のエネルギー利用

本章は、柑橘農業由来の廃棄物を再資源化することによって得られる経済効果を明らかにした。呉市島嶼部を対象に、ミカン残渣のバイオガス発電の事業評価、および、ミカン剪定材のペレット化の事業評価を行った。有機性資源の再生利用にはコストはかかるものの、廃棄物処分削減にともなうGHG排出量の削減が確認された。しかし、事業の経済性に問題がある場合、事業実施の意思決定には結びつかないため、経済的インセンティブ制度を考慮した評価が必要である。

第5章 マレーシアにおける森林生態系機能の経済的価値

本章は、マレーシア・サバ州の森林保護地区を対象として、認証プロジェクトによって得られる効果を定量的に評価することにより、森林認証制度の普及への意義付けを行った。熱帯林における土地利用形態毎(天然林、生産林、農地)の森林生態系機能を経済的に評価した。これらの評価結果をもとに森林保護地区における森林認証化プロジェクトの費用便益分析を行った。その結果、生物多様性保全機能の便益が評価結果に左右されることが明らかになった。

第6章 生態系機能の定量評価の政策への導入

本章は、事例を基にして、定量評価の政策導入の意義について検討を行った。①耕作放棄による社会的費用を明らかにすることにより、現行制度の問題点および社会的費用低減のための政策を提案した。②地球温暖化ガス削減効果を踏まえた費用便益分析を行うことにより、経済インセンティブ制度が有機性資源の利用促進につながることを明らかにした。③森林認証化プロジェクトとアブラヤシ農園プロジェクトの費用と便益を比較評価することにより、競合する地域資源利用に対する意思決定への有用な情報を与えることが明らかになった。

終章 まとめと今後の課題

終章では、地域資源の経済的評価の政策導入の意義について、第1章から第6章の研究結果を踏まえて、課題検証を行った。第1に、地域資源管理の公共介入として、直接支払いや排出権取引を代表とする経済的手段が有効であることが示された。第2に、定量的評価手法は、農林業分野の政策評価を行う有効なツールになり得ることが明らかにされた。第3に、柑橘農業における各生態系機能の価値が明らかにされ、評価手法の有効性が示された。第4に、事業の費用便益分析に生態系機能の価値を取り入れることにより、事業の本来的意義を示すことを可能にすることが明らかになった。第5に、政策目標を達成するための政策手段を評価することにより、実施主体が意思決定を行うために必要な情報を提供することができることを示した。

以上のことより、生態系機能の定量評価は、持続的な地域資源管理のための政策形成において重要な役割を果たすことが示唆された。今後、生態系機能の評価を考慮した評価フレームワークの確立、データベース・評価ツールの整備、および、評価ガイドラインの整備が、定量評価適用上の課題といえる。

キーワード：地域資源、生態系機能、持続可能性、経済的評価、費用便益分析

Studies on the ecology of Japanese eels *Anguilla japonica* and giant mottled eels *Anguilla marmorata* in Misho Bay and inflowing rivers, Ehime Prefecture, Japan

Kouki MIZUNO

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

愛媛県御荘湾とその流入河川におけるニホンウナギと
オオウナギの生態に関する研究

水野 晃秀

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

わが国には、ウナギ属魚類3種（ニホンウナギ、オオウナギ、ニューギニアウナギ）が自然分布する。ニホンウナギは、わが国の内水面漁業および養殖漁業において極めて重要な魚種である。本種は、シラスウナギと呼ばれる稚魚期に養殖種苗として採捕され、黄ウナギから銀ウナギと呼ばれる成長期および成熟前期の個体が商業漁獲されている。ウナギ養殖に用いられる種苗は、すべて天然シラスウナギである。わが国内水面におけるニホンウナギの漁獲量は1960年代には3,000トンを超える年もあったが、1970年代より減少して1999年には1,000トンを割り、その傾向は今世紀も続いている。一方、オオウナギは、ウナギ属魚類19種・亜種のなかで最も分布域が広く、わが国では主に太平洋に面した地方に生息する。しかし、その分布は著しく局所的で、多くの生息地で天然記念物または絶滅危惧種として指定されている。個体数の少なさなどから、オオウナギに関する知見は極めて限られている。

愛媛県にはニホンウナギとオオウナギが生息する。本県におけるニホンウナギの漁獲量は、わが国での漁獲量と同様な減少傾向を示し、1965年に111トンあった漁獲量が2011年には40トンを下回った。また本県に生息するオオウナギは、宇和島市の岩松川水系のものが1968年に県の天然記念物と指定されているほか、近年、本県南西部にある河川でオオウナギの生息が確認された。しかし、その個体数は極めて少なく、2003年発行の愛媛県レッドデータブックでは絶滅危惧種として選定されている。

愛媛県に生息するニホンウナギとオオウナギに関して、このような状況があるにもかかわらず、本県における2種の生態に関する情報はほとんど皆無である。こうした背景から、本研究では、両種の生息が認められる愛媛県南西部の御荘湾および流入河川において、それらの資源維持と保全のための基礎的知見を得るために、生態学的研究を実施した。本論文は、その研究成果をまとめたものであり、第1～4章から構成される。

第1章 緒言

わが国におけるウナギ属魚類に関する近年の研究動向および愛媛県におけるウナギ属魚類の過去の知見を整理するとともに、本論文中の各章の概要を示した。また、本研究を行った愛媛県南西部に位置する御荘湾とその流入河川の概要を記した。

第2章 ニホンウナギの生態

本章は2節から成る。第1節では、御荘湾沿岸と流入河川で行われているシラスウナギ漁業に注目し、シラスウナギの漁獲尾数の月別変化を明らかにするとともに、漁獲尾数の変動に関与する環境要因を検討した。シラスウナギの漁獲は12～4月に行われ、そのピークは2～3月にあった。採捕場所が漁獲に影響し、御荘湾の南東部に位置する湾奥部で漁獲量が最も多かった。また、日別漁獲量と月齢、風向、風速等との関係を調べたところ、月齢や風速との間には明瞭な関係は認められなかった。しかし、西北西あるいは北西の風が卓越する日に漁獲量が多かったことから、シラスウナギは冬季の季節風によって湾口部から輸送されて南

東部の湾奥部に到達すると考えられた。

第2節では、御荘湾と流入河川で得られた努力単位当たり漁獲量（CPUE）や生息環境に関する資料を用いて、この水域における黄ウナギ（成長期にある個体）の分布や移動などを検討した。その結果、黄ウナギは御荘湾に大きな資源を有すること、流入河川では淡水域と汽水域の双方に生息し、特に前者では抽水植物が繁茂した場所が索餌場所として重要であることが明らかになった。また、CPUEの月別変化に基づき、真夏から初秋に川ウナギが降河して御荘湾に加入する可能性が示唆された。

第3章 オオウナギの生態

本章も2節から構成される。第1節では、1997～2010年に御荘湾に流入する蓮乗寺川で漁獲されたオオウナギからの情報に基づき、その漁獲動向、体サイズ、生息場所などを検討した。この期間にオオウナギは合計45尾、1年間で最高11尾が漁獲され、年平均漁獲尾数は3.5尾であった。この漁獲尾数の低さは、日本が本種の分布北限に位置して、来遊量の低さが原因であると考えられた。漁獲されたオオウナギの全長は平均47cmと小さく、これは漁具選択性が関与していると推測された。オオウナギは抽水植物が繁茂し湧水のある淡水域でのみ漁獲された。

第2節では、1967～2009年に出版された文献に基づき、わが国におけるオオウナギの地理的分布の現状を都県ごとに整理した。その結果、従来から知られるオオウナギの生息地の多くで、生息が確認できなくなっていることが示された。しかし、小笠原諸島、静岡県、和歌山県、愛媛県、大分県、長崎県、沖縄県では近年も漁獲もしくは目視され、本種が継続的に来遊していることが分かった。

第4章 総合考察

第2～3章で得られた成果を過去の知見と総合的に考察することにより、御荘湾とその流入河川におけるニホンウナギとオオウナギの生態的特徴を明らかにするとともに、それらの保全に関する考察を行った。

キーワード：ニホンウナギ、シラスウナギ、黄ウナギ、オオウナギ、生態

Changes in agriculture during rapid economic growth in inland regions of China — A case Study in Chongqing Municipality —

Danling WANG

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

経済急成長期における中国内陸部の農業の変容
—重慶直轄市を事例に—

王 丹陵

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

中国では、急激な経済成長の過程において、農業・農村・農民問題、糧食問題が発生している。これに対し、政府は「農業生産性の向上」「農民収入増加」等、多様な政策を打ち出している。特に内陸部においては、従来の農業が零細家族経営である小農を中心としていたため、政府が近年積極的に取り組んでいる脱小農化の動きの中で、その農業構造の大きな転換をせまられている。

本研究は、中国経済の急成長下における内陸部農業の変容を、小農的性格の変化に注目しながら明らかにした。主な研究方法として、文献研究、統計分析、実態調査に基づく事例分析を行った。

第1章 中国の内陸部の農業をとらえる視点の整理

本章は中国内陸部農業の変容をとらえる理論的フレームワークを提示した。第1に、内陸部の従来の農業の特徴として小農であることを明らかにした。第2に、内陸部農業の変化の要因として、経済成長に伴う農業市場の変化、農業をとりまく社会問題の発生、糧食需要の増大、国家政策の推進があることを指摘した。第3に、国家政策の推進の流れについて整理し、①農産物、生産資財、土地、労働力市場の再形成、②農業生産性の向上、商業的農業の拡大、三農問題の解決、国内糧食需給の安定に重点を置いていることを指摘した。

第2章 中国内陸部の農業の時系列的変化と現状

本章は中国内陸部の農業の変化を統計的に把握した。その結果、第1に、農業市場の変化としては、農家の農産物販売量の増加、労働力市場の急速な拡大、農家の農地経営面積の変化といった点を指摘した。第2に、経済発展とともに、第1次産業の比重の低下、都市農村格差の深刻さを指摘した。第3に、野菜生産、果樹生産、畜産生産の拡大と、作付面積全体に占める糧食作付面積の割合の減少を指摘した。

第3章 重慶市における地域別農業の特徴及び諸政策の展開

本章は重慶市の地域別農業の特徴と諸政策の展開を整理した。重慶市は地域を3つに分け、①都市中心経済発達地域における、観光農業の育成、農民組織形成の推進、②比較的平坦で水源豊富である西部経済興進地域における、農業生産の基地化、機械化の推進、③市の中心部から遠く山地の多い貧困解決環境保全型経済地域における、地域ブランド農業の育成等が企図されていることを整理した。

第4章 都市近郊農村と山地農村における小農生産の変化と労働力の問題—大渡口区と武隆県の比較

本章は都市近郊農村と山地農村の小農の生産の変化と労働力問題を考察した。その結果、まず小農の生産の変化として、都市近郊農村では商業的農業の拡大と糧食自給の縮小を明らかにした。一方、山地農村では農家の糧食を中心とした複合生産の継続がみられた。次に、農家労働力の現状として、都市近郊農村における子世帯の在宅兼業と、山地農村における子世帯の出稼ぎ、親世帯の自営業中心の兼業という違いを明らか

にした。全般として、基幹労働力の高齢化、低学歴、後継者不在といった労働力の問題を指摘した。

第5章 糧食産地における農業の現状と課題—合川区と旧大足県の農村を事例に

本章は糧食産地の農業の現状と課題を考察した。その結果、第1に、立地条件の違いによる農家経営の変化を明らかにした。都市近郊では、経営の多角化傾向がみられ、市街地からやや遠隔である地域では、周辺農家の耕作放棄地を借地として耕作するケースの増加という経営面積の拡大傾向を明らかにした。第2に、契約生産、出荷の組織化、生産委委託等、農業への新規参入組織の展開を明らかにした。第3に、農家の生産過程での機械導入による農業生産の機械化の展開を明らかにした。

第6章 野菜の生産拡大地域における農業生産の動向—潼南県の農村を事例に

本章は野菜生産拡大地域の農業生産の動向を考察した。その結果、第1に、都市近郊から野菜生産への転換が拡大していた展開を明らかにした。第2に、立地条件の違いによる農地市場の特徴を明らかにした。農地集積の最も遅れているのは都市近郊であり、反対に近郊周辺地においては企業による集積、遠隔地では個人農家による集積であることを指摘した。

第7章 農業構造調整下における伝統的商品作物産地の変容—涪陵区の農村を事例に

本章は伝統的商品作物産地の変容を考察した。その結果、第1に、地域における商業的農業の拡大を明らかにした。特徴として、伝統的商品に政策的に推奨される商品作物を併せる展開と、推奨品目である果樹生産に特化する展開の2つがあることを指摘した。第2に、退耕還林対象地域における畑作生産の縮小を指摘した。その結果として、①農家の飼料自給の縮小、②農家の循環的な農業生産の衰退の可能性を指摘した。

結 論

本研究は、異なった条件下にある事例地の実態調査に基づき、中国内陸部農業の変容を明らかにした。その結果、第1に、都市近郊地域では、商品作物産地の形成であった。在宅兼業を可能とする労働力市場の展開や、市場対応の組織化がみられ、小規模野菜の商業的生産が展開していた。第2に、地理的生産条件の有利な地域では、農地市場と作付品目の変化という動きであった。野菜生産への転換は市街地近郊から拡大していたが、市街地近郊は土地の資産価値が高いため農地集積はあまりみられず、その辺縁部での大規模野菜産地化が進んでいた。第3に、糧食産地では、まず、都市近郊では、農家経営の多角化傾向であった。市街地近郊周辺では企業の農地集積による大規模生産がみられ、やや遠隔である地域では、農家の経営面積の拡大傾向であった。第4に、果樹生産が政策的に推奨されてきた伝統的商品作物産地では、農家の商品作物生産の拡大と糧食自給の縮小がみられた。特に退耕還林地域では、小規模果樹農家の展開や、果樹産地の形成がみられた。第5に、地理的生産条件の不利な地域では、農家の糧食を中心とした小農生産の継続であった。第6に、農業労働力に注目すると、全事例にわたり、農家次世帯の農業外流出がみられた。そのため、「基幹労働力の高齢化」、「後継者問題」がみられた。第7に、上記変化のうち、特に資本集約的な農業の展開、商業的農業の拡大、既存の複合経営から野菜や果樹単作への転換については、政策的に推進されてきた方向性であったが、糧食の安定供給・環境保全型農業の両立が困難な現状等から、政策間における矛盾を指摘した。

キーワード：経済急成長、中国内陸部、農業、変容

Host-parasite relationships in Japanese eels *Anguilla japonica*, with implications for the host's ecology

HirotaKa KATAHIRA

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

ニホンウナギの宿主－寄生虫関係とそれに基づく宿主生態

片平 浩孝

広島大学大学院生物圏科学研究科, 738-8528 東広島市

Chapter 1. Introduction

The Japanese eel *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel, 1846 is a commercially important fish in Japan. Its catch has been decreasing over the last four decades, and this stock depletion is currently a big concern. Given a situation that artificial breeding of this species is not yet established on a commercial scale, comprehensive understandings of wild populations are required to establish an effective resource management.

Basic knowledge on the growth-phase individuals, called “yellow eels”, is still insufficient within the several life-stages of Japanese eels, although their conservation has a significant meaning of ensuring candidates for the future spawning stock. Further investigations are needed, but samplings of wild eels usually come with difficulty of quantification due to not only seasonally variable and sometimes low values of mean catch per unit effort but also nocturnal activity. In the present thesis, therefore, I focused on a beneficial aspect of parasites being used as biological indicators. The aim of this thesis is to provide new insights into the ecology of the yellow eels, based on the several host-parasite relationships, from a lower to higher hierarchy, with practical-parasitological viewpoints.

Chapter 2. Parasite population in a brackish-water environment

During the course of investigations on wild yellow eels in a small cove of southern Ehime Prefecture, the eels are found infected with a food-borne parasite, *Heliconema longissimum* (Nematoda). As the first onset of the present study, I took up the relationship between this nematode and the eels inhabiting brackish-water areas in and around the cove.

1) I examined factors associated with the nematode infection. The analysis employed (i.e. Generalized additive model) revealed that the nematode intensity increased with the host's body size. Thus it is suggested that the eels consume, as they grow, a greater quantity of crustaceans that presumably serve as the intermediate hosts of the nematode.

2) I also described recruitment patterns of *H. longissimum* to the eels, and, based on the demographic data, seasonal feeding activity of the cove eels for prey organisms (i.e. intermediate hosts of the nematode) was evaluated. As a result of a length-frequency analysis on the nematode population, it was revealed that newly recruited nematodes continuously occurred in the eels throughout the year, and some cohorts recruited into the eels during the cold-water season. These findings suggest that Japanese eels in the cove constantly feed on the intermediate host(s) of the nematode throughout the year, although it has been generally accepted that Japanese eels cease their feeding activity during winter.

Chapter 3. Parasite guild in a continuous river-estuary-marine system

The yellow eels can be found in various environments from coastal marine waters to upper-reaches of a river. This ubiquitous habitation suggests that they exhibit various host-parasite associations depending on water bodies where they live. In this chapter, I thus focused on a monogenean gill-parasite group consisting of three species (*Pseudodactylogyryus anguillae*, *P. bini* and *P. kamegaiti*) as a model case, and described their occurrences with a distinction of the host flexible habitation.

A concomitant use of otolith microchemical analysis revealed that species composition and infection levels of these *Pseudodactylogyryus* spp. clearly differed between the habitat-use patterns of the eels examined. In particular, it is worthy to note that the eels in saline habitats primarily harbor *P. kamegaiti*, suggesting that this parasite appears to rely only on those saline eels as its hosts. There is thus a possibility that *P. kamegaiti* can be utilized for a resource estimation of those eels if differential equations constructed for its population dynamics linked with the host biomass were solved.

Chapter 4. Parasite communities from brackish-water localities

Parasite assemblage found in a host individual or population can be changed depending on an environmental situation. I described variations in species diversity and structure of food-borne parasites in Japanese eels caught from brackish-water localities, in order to evaluate a broad spectrum of the watershed ecosystem where the hosts are aided.

In spite of the fragmentary samplings, probable patterns of endoparasite (i.e. food-borne parasite) assemblages were detected. One is that composition of the parasite community clearly differed between localities, and the other is that more than half of the individual eels examined were infected with more than one species. These findings appear to be due to highly ubiquitous and opportunistic habitat-use of eels themselves, and suggest that the eels have sedentary daily-lifestyle with a distinct niche in each locality, possibly exhibiting polyphagy in the major cases.

Chapter 5. General discussion

The present study supplied a modest achievement, but its specific viewpoint from parasitology was surely successful to provide new insights into the ecology of the yellow eels. This suggests that the more biological features of parasites untouched are investigated, the more various outcomes for the yellow-eel ecology can be obtained. In addition, because of informative characters of parasites, sufficient results would be obtained from an investigation even if it were on a single-handed scale. Although parasitological approaches are accompanied by fatal works, host-parasite relationships in wild yellow eels merit much further research as one of the alternative or supplemental methods in the cases where host samples can be obtained.

Key words: Metazoan parasites, host-parasite relationships, ecology, Japanese eels, *Anguilla japonica*

Evaluation of function of vegetated habitats as fish nursery: production and growth-survival mechanisms of juvenile black rockfish *Sebastes cheni* in a macroalgal bed

Yasuhiro KAMIMURA

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

藻場の魚類成育場機能の評価
—ガラモ場におけるシロメバル稚魚生産と成長—生残メカニズム—

上村 泰洋

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

The economic value of ecosystem services of vegetated habitats such as seagrass and macroalgal beds have been estimated to be one of the highest among those of the world's ecosystems. Most of the economic value of ecosystem services of vegetated habitats is composed of supporting services (e.g. nutrient cycling). Provisioning services (e.g. production of fisheries resources) has not been included in the estimated value although vegetated habitats have been recognized as important nursery for a variety of fish species. Estimation of fish production (nursery function) of vegetated habitats based on quantitative samplings is an urgent issue for the future conservation and management of the vegetated habitats.

About 100 species of genus *Sebastes* are distributed in the North Pacific and are important fisheries resources in each area. They have strong association with substrates such as seagrass, macroalgae and rocky reef during the juvenile period for a few months. In order to evaluate how the vegetated habitats contribute as fish nursery, production and growth-survival mechanisms of a substrate-associated fish, the black rockfish *Sebastes cheni* (Scorpaenidae), were examined in a macroalgal bed (*Sargassum* spp.) in the central Seto Inland Sea, Japan. *Sebastes cheni* is one of the three species (*S. inermis*, *S. ventricosus* and *S. cheni*) that were recently reclassified from single species (*S. inermis*). Ecological information has been rarely accumulated although they are popular species for coastal fishing. Monthly survey was conducted to examine seasonal changes in a fish community structure in the macroalgal bed. The timing of first daily ring deposition (extrusion mark) and daily periodicity of ring formation on otoliths were validated by the use of laboratory-cultured *S. cheni* larvae and juveniles. Otolith microstructures were applied for estimation of their mortality rate, analysis of growth-related survival mechanism and estimation of annual *S. cheni* juvenile production and its economic value in the macroalgal bed. Effect of seasonal change in habitat complexity of the macroalgal bed on cohort-specific mortality rate of post-settlement (20-60 mm in total length: TL) juvenile *S. cheni* was examined. Relationship between the cohort-specific mortality rate and growth-related survival mechanisms of the juvenile was analyzed.

Seasonal changes in fish assemblages based on the quantitative fish samplings revealed that juvenile *S. cheni* dominated the fish community in the macroalgal bed from March to May. Otolith daily ring was confirmed to be deposited on both sagitta and lapillus at the birth. Annual juvenile production and its economic value of were estimated to be 13,080-18,360g ha⁻¹ yr⁻¹ and 654,000-918,000 JPY ha⁻¹ yr⁻¹ based on the field survey in 2007 and 2008. Cohort-specific mortality rate of the post-settlement juvenile was significantly higher in the later cohorts that underwent low habitat complexity due to decrease in

macroalgal coverage in the later season although cohort-specific growth rate was significantly higher in the later cohorts due to higher temperature. Strong selection for fast-growing juveniles occurred in a cohort with high mortality that underwent low habitat complexity.

In the present Ph D thesis, based on the field survey and laboratory experiments, I evaluated annual production and its economic value of juvenile *S. cheni* which dominates the fish community of macroalgal bed in temperate coastal waters of the North Pacific. The variability in habitat complexity affected survival and production mechanisms of juvenile *S. cheni*. The earlier cohorts with low mortality rate were suggested to have highly contributed to *S. cheni* production in this habitat. The total economic value of the ecosystem services of vegetated habitats is suggested to be higher by at least 40-58% than that estimated in the previous study when the fish production estimated in the present study is included.

Key words: vegetated habitats, *Sebastes cheni*, production, growth, survival

Livelihood development and resource management towards social resilience in coastal areas of Indonesia

Achmad ZAMRONI

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

インドネシア沿岸地域における社会回復力にむけた生計活動の発展と資源管理

アハマド ザムロニ

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Purpose and Objectives of study

The aim of this study is “to assess the livelihood development strategies and resource management in fishing communities towards resilience in Indonesian coastal areas.” Livelihood strategy here focuses on diversification of livelihood through developing seaweed farming in fishing community and other livelihoods outside fisheries.

This study has five specific objectives: 1) to explore the impact of depleted marine capture fisheries on livelihood activities of fishing communities, 2) to evaluate the livelihood strategies to adapt the decline of fisheries resource, 3) to assess the constraints and opportunities of seaweed farming development in sustaining fisheries resource and fisheries livelihoods, 4) to evaluate the impact of marketing system of fisheries resources on livelihood activity in coastal areas, and 5) to provide recommendations for enhancing resilience in fishing communities.

1. Socio-economic impact of overpressure of Indonesian capture fisheries: Case study of purse seine fishery in Bali Strait

The fishermen in Jembrana have experienced first-hand the various impacts of overfishing of Bali Strait in their daily, monthly or annual activities during the “fish crisis” such as on 2010 to 2011. This condition has given multi-player effect to not only fishermen but also processing companies and fish traders. Both boat owners and crew members did not have any option to perform alternative activities outside of the fisheries to meet their daily requirements because the “crisis” is longer than as the period of off-fishing. To adapt this situation, some crew fishermen often worked as construction workers in Denpasar or other cities in Java, and some worked as agricultural laborers in other villages in Jembrana. The boat owners and captains/fishing masters sold their assets to survive their life and maintain of other assets during the “fish crisis” .

2. Developing livelihood strategies on fishing communities in South Sulawesi coastal areas

Small-scale natural resource management (SNRM) project is one of the successful coastal projects to improve household economy of fishermen by encouraging the prospective fisheries activities, such as seaweed culture and fish peddling. Most of fishermen (77% of total respondent) planted the seaweed with long line floating method after participate in SNRM. At present, seaweed farming plays an important role in the socio economic condition of fishing communities as the main income source, besides fishing activity. Fishermen’s income (87%) increased between IDR. 0.5 Million - 1 Million, because seaweed farming gave them additional income that led their income increased. To adapt with

two monsoon seasons, fishermen change farm (plots) location to Jenepono during May to November, and they moved to Takalar side during December to April.

3. An assessment of opportunities and constraints of seaweed farming in sustaining livelihoods and fisheries resources

Seaweed farming (*Eucheuma cottonii*) has become the main livelihood for fishers in the studied area, with providing the major source of income. Capture fisheries have been replaced by the seaweed farming. There were several constraints to prevent from development of seaweed farming, such as disease, shifts in the monsoon season, marketing constraints, low quality of seaweed seeds, and farm ownership. Yet another obstacles were predatory behavior and imperfections in post-harvest methods. Positive factors are related to domestic and export market demand of dried seaweed, and supported national policy could be a great opportunity for developing seaweed farming, beside high profit resulted from seaweed farming compared with other fishing activities. The important advantage of seaweed farming was a sharp increase in household income.

4. Impact assessment of marketing system of dried seaweed on sustainable livelihood activities in fishing community

The marketing system of seaweed (*Eucheuma cottonii*) has provided benefits, such as speedily supplying investment and daily operational funds without interest, to seaweed farmers through the efforts of middlemen. Fishermen sold the dried-raw seaweed to middlemen at village. The middlemen sold dried seaweed to wholesaler at district after the stock was enough for shipping. The wholesaler could sell to exporters and/or processing company at province. Dried-raw seaweed is exported to some Asian countries, European countries and United States of America (USA). Meanwhile, the dried-raw seaweed sold to processing company that produced Alkali Treated Cottonii (ATC) and Semi Refined Carrageenan (CRC) as intermediate products for domestic usage.

5. Conclusions and recommendations

In Bali Strait, uncontrolled exploitation with ever-increasing catch effort and management malpractices has caused a reduction of fisheries resource. All parts of the supply chain including fishermen, traders, processing plant and factory have been adversely affected and have ceased their economic activities. Meanwhile, seaweed culture could be double strategy for fishermen to sustain their livelihood.

The major constraints are related to: 1) farming activity, 2) marketing system, 3) financial management, and 4) environmental changes. Finally, recommendations are includes:

1. Encouraging self-monitoring of coastal and marine resources uses by all stakeholders.
2. Livelihood diversification on fisheries and non- fisheries products, and improving alternative fishing technology are better choices against the capture fishery resource depletion.
3. Sustaining seaweed farming by expanding the potential farm area in an optimal and environmentally friendly way to meet the market demand for seaweed, improving farmers' knowledge.
4. To improve existing market channels by giving participation opportunities to coastal communities and develop the cold chain system for fish product.

Key words: livelihood strategy, sustainable use, marketing system, seaweed, resilience

Studies on the interaction of nutrients and ghrelin in lactating dairy cows

Rika FUKUMORI

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

泌乳牛における栄養素とグレリンの相互作用に関する研究

福森 理加

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Growth hormone (GH) is well documented for the increase in milk production through some metabolic regulation to promote lipolysis in the adipose tissue and to enhance gluconeogenesis and biosynthesis of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in the liver. GH plays a central role in regulating milk production in lactating cows, and hence, the approach to enhance the endogenous GH secretion potentially leads to the increase in milk production. Ghrelin, secreted from the gastrointestinal tract, was identified as a potent GH secretagogue in recent years. Because circulating ghrelin is sensitive to ingested nutrients, the nutritional management or feeding strategy to control ghrelin secretion may be able to adjust the GH secretion. The objectives of this study were to determine the effects of some nutrients on plasma ghrelin concentration and ghrelin-induced metabolic changes, and to consider ghrelin's role in controlling milk production of lactating cows.

In the 1st trial, the effects of amino acids on plasma ghrelin concentration and ghrelin action were investigated. A mixture of amino acids (AMI) or saline (CON) were intravenously infused to determine plasma ghrelin concentration, and after then, during the infusion of AMI or CON, ghrelin was intravenously injected. Six cows were randomly assigned to AMI or CON in a cross-over design. There was no difference in plasma ghrelin concentration between AMI and CON before the ghrelin injection. After the ghrelin injection, plasma GH concentration increased with no difference between AMI and CON. Plasma insulin, glucagon and glucose concentrations were also increased by ghrelin injection. The increases of plasma insulin and glucagon concentrations were greater, and that of plasma glucose concentration was smaller in AMI compared with CON. These results indicated that amino acids do not affect plasma ghrelin concentration, but may modify the ghrelin actions.

In the 2nd trial, the effect of medium-chain fatty acids (MCFA) on plasma ghrelin concentration was investigated. Five cows were fed diets with a supplement of calcium salts of MCFA (MCFA-Ca) and without MCFA-Ca (CON) in a cross-over design. Dry matter intake (DMI) and metabolizable energy intake (MEI) were decreased, and milk yield tended to be decreased in the MCFA-Ca compared with the CON diet. The MCFA-Ca diet increased plasma ghrelin concentration, but did not affect plasma GH concentration, and decreased plasma IGF-1 concentration. Plasma insulin concentration was decreased, and plasma and non-esterified fatty acids (NEFA), total cholesterol (T-CHO) and beta-hydroxy butyrate (BHBA) concentrations were increased in the MCFA-Ca diet. In conclusion, although plasma GH concentration did not link plasma ghrelin concentration, the MCFA diet increased plasma ghrelin concentration in lactating cows.

In the 3rd trial, the effect of long-chain fatty acids (LCFA) and methionine (Met) on plasma ghrelin concentration was investigated. Four cows were fed diets with supplements of calcium salts of LCFA

(LCFA-Ca), rumen-protected Met (RPM), LCFA-Ca plus RPM and without supplements in a 4 x 4 Latin square design. The LCFA-Ca decreased DMI, but both supplements of LCFA-Ca and RPM did not affect MEI and milk production. Plasma concentrations of NEFA, triglyceride (TG) and T-CHO were increased with LCFA-Ca alone, but the increases in plasma TG and T-CHO concentrations were moderated by LCFA-Ca plus RPM. The LCFA-Ca increased plasma ghrelin concentration and the ghrelin concentration with LCFA-Ca plus RPM was the highest among the treatments. Similarly, plasma GH concentration tended to be increased by LCFA-Ca and showed the highest level in LCFA-Ca plus RPM. On the other hand, plasma IGF-1 concentration was decreased by LCFA-Ca and RPM. Plasma glucagon and insulin concentrations were decreased with LCFA-Ca, whereas the LCFA-Ca plus RPM mitigated the decrease of glucagon by LCFA-Ca. These results showed that the supplementation of RPM together with LCFA-Ca increases plasma ghrelin and GH concentrations, but plasma IGF-1 concentration was not associated with plasma GH and ghrelin concentrations.

The present study demonstrated that MCFA and LCFA increased plasma ghrelin concentration. When Met was fed with LCFA, plasma ghrelin concentration was further increased. The incremental degree of plasma ghrelin concentration was greater in cows fed MCFA compared with cows fed LCFA and LCFA plus Met. Nonetheless, the endogenous increase in plasma ghrelin concentration did not increase plasma GH concentration in cows fed MCFA, but increased in cows fed LCFA and LCFA plus Met. The present study showed that continuous hyper plasma ghrelin concentration did not increase GH secretion always, suggesting that keeping of plasma ghrelin concentration above threshold level is not effective for the stimulation of GH secretion.

In conclusion, the kind of available nutrients affect plasma concentration and action of ghrelin in lactating cows. Milk production is not enhanced by the supplements as MCFA and LCFA because of their adverse effect on feed intake. However, the changes in plasma ghrelin concentration induced by these feed supplements could mediate major metabolic hormones to control nutrients use in the whole body of lactating cows.

Key words: ghrelin, lactating cow, metabolic hormones, amino acids, fatty acids

Taxonomy and ecology of metazoan parasites of alien freshwater fishes in Japan

Worawit MANEEPITAKSANTI

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

日本の外来淡水魚に見られる寄生虫の分類および生態

フラウイット マネピタクサンティ
広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

The phenomenon of biological invasion has been documented in recent years from many countries around the world. When a species is introduced into a new territory, its parasites may also follow, thus forming a sort of biotic unit. Bluegill (*Lepomis macrochirus*) and tilapias (*Oreochromis niloticus niloticus*, *O. mossambicus* and *Tilapia zillii*) are alien freshwater fishes that were introduced into Japan in 1960 and the 1950's-1960's, respectively. Little information is available on the parasites of these fishes in Japan. In order to understand the status of the host-parasite relationships of the parasites infecting bluegill of North American origin and three species of tilapias of African origin, the present study was conducted to clarify the fauna, geographical distribution and seasonal dynamics of the parasites found on and in these fishes.

Three species of gill monogeneans (*Onchocleidus ferox*, *O. dispar* and *Actinocleidus fergusonii*) are described from the gills of bluegill from Budo Reservoir, Hiroshima Prefecture. The findings of *O. dispar* and *A. fergusonii* represent their first record from Japan. Furthermore, three species of gill monogeneans (*Cichlidogyrus tilapiae*, *C. halli* and *C. sclerosus*) and one species of digenean (*Transversotrema patialense*) are described from the gills and beneath the scales of tilapias caught in Okinawa Prefecture: all these four parasites are recorded as new country records for Japan.

The examination of 1,329 bluegill collected from 49 localities from Hokkaido to Okinawa prefectures in Japan yielded five metazoan ectoparasites: three monogeneans (*O. ferox*, *O. dispar* and *A. fergusonii*) and two copepods (*Neoergasilus japonicus* and *Lernaea cyprinacea*). The monogeneans are characterized by the differences in infection level between the species: *O. dispar* demonstrated the highest prevalence, followed by *O. ferox* and *A. fergusonii*. This study has added 21, 40 and 14 new locality records for *O. ferox*, *O. dispar* and *A. fergusonii*, respectively. Both *O. dispar* and *O. ferox* were found on three main islands of Japan (Honshu, Kyushu and Shikoku), while *A. fergusonii* occurred only in Honshu. This study has also provided, as the parasites of bluegill, 40 and 28 new prefectural records for *N. japonicus* and *L. cyprinacea*, respectively.

Through research on the seasonal dynamics of three monogeneans infecting bluegill in Budo Reservoir within the campus of Hiroshima University, *O. ferox* was found to be a dominant species with its consistently high prevalence, followed by *O. dispar* and *A. fergusonii*. In this reservoir, both *O. ferox* and *A. fergusonii* showed clear seasonal patterns in their infection level, but no such patterns were found in *O. dispar*. The seasonal occurrence and maturation of *N. japonicus* parasitic on redbelly tilapia in the subtropical Okinawa Prefecture is documented for the first time in this study. The seasonal change in mean abundance and egg-sac production of the parasite in this region differs from that reported in the

temperate Hiroshima Prefecture and is not synchronized with the seasonal change in surface water temperature measured at sampling site.

Key words: alien parasites, monogeneans, parasitic copepods, taxonomy, ecology, bluegill, tilapias

**Molecular genetic variation and fisheries of *Mesopodopsis orientalis*
(Crustacea: Mysida) in Indonesian waters, with remarks on
fisheries of *Acetes* (Crustacea: Decapoda)**

Rose Olivia Shirley Elisabeth MANTIRI

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

インドネシアに産する浮遊性小型食用甲殻類の漁業及びアミ類 *Mesopodopsis orientalis* の種内分子変異

ローズ オリビア シャリー エリザベス マンティリ
広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Edible crustaceans belonging to mysids (Crustacea: Mysida) were studied on their molecular analysis and fisheries in Indonesia during 2008 to 2012. The fisheries of *Acetes* (Crustacea: Decapoda) were also involved in this study as remarks because these organisms were found together with mysids.

Samples were obtained by field samplings and buying fresh and dried materials and shrimp paste at local markets across Indonesia for fisheries purposes. In addition to fisheries matter, interview surveys were conducted and fishery data obtained from public offices and processing industries. A variety of sampling gears were employed to collect these crustaceans based on the purpose of this study, such as: plankton-net, push-net, lift-net, scoop-net and boat-seine, and also depended on the type of sampling sites.

The molecular analysis was conducted on *Mesopodopsis orientalis*, as a main fishing target. A total of 458 base pairs (bp) of partial fragment sequences of *COI* region were determined for 136 specimens collected from 10 sites. All sequences were unambiguously aligned, revealing 37 haplotypes. Haplotype diversity (h) and nucleotide diversity (π) were 0.8036 ± 0.0273 and 0.0089 ± 0.0049 , respectively. Phylogenetic analyses of the mitochondrial *COI* showed that *M. orientalis* involves several stem lineages, which are genetically divergent at a high level and were subsequently divided into two clades in phylogenetic trees. Haplotypes of *M. orientalis* population from Indonesia differed from those of Malaysia and Thailand, and formed different clades in the phylogenetic trees. A maximum parsimony tree showed that Indonesian clades are closer to Thailand's than to Malaysian's, which may refer to what has happened during the Pleistocene glacial period. The haplotype network also indicated the presence of two genetic clades, Clades 1 and 2 separated from each other by two nucleotide substitutions. Concerning genetic diversity within each local population, the number of haplotypes was polymorphic. Concerning genetic differentiation among populations, average sequences differences (d_A) of 22 of a total 45 pairs were significant after sequential Bonferroni corrections. Haplotype compositions differed among populations, although these populations were divided into two genetic groups. The AMOVA testing significance of Groups 1 and 2 demonstrated that genetic differentiations were significant. Consequently a series of DNA analysis for haplotype sequences of *COI* gene showed the presence of a geographical barrier that separates the two distinct genetic groups across between Java-Madura and Bali-Kalimantan Island systems in Indonesian waters.

There was no exact information regarding the peak seasons of mysids, but they were available in brackish and salt ponds throughout a year. *Acetes* was caught throughout all seasons, but the peak fishing season varied depending on the locations of the fishing grounds and the alternation of monsoons. Fishing time for mysids and *Acetes* was either day or night, but the best time for fishing was during darkness, either at dusk or dawn. The catches and values of a mixture of mysids and *Acetes* ("rebon") fluctuated year-by-year and there was much greater annual catch at the sea than in brackish ponds. The catch of "rebon" in Madura was highest of all locations surveyed, which was about 4 tons/day with the value of Indonesian Rupiah (IDR) 15,300,000 (about 1,700 US\$) / ton in the peak fishing season from February to March. The economically important species of mysids were *Mesopodopsis orientalis* and *M. tenuipes*. In *Acetes* the following species were fishing targets: *A. indicus*, *A. serrulatus*, *A. erythraeus*, *A. sibogae sibogae*, *A. japonicus*, and *A. vulgaris*. They were all used for making fermented shrimp pastes called "terasi" . There were three types of shrimp pastes in terms of its composition; 1) a mixture of mysids and *Acetes*, 2) *Acetes* only, and 3) mysids only. The price at market for "rebon" and "terasi" varied depending on the quality of the product and the locality. Dried and fresh "rebon" were sold for IDR 5,000 to 15,000/kg (US\$ 0.6 - 1.7/ kg), whereas "terasi" for IDR 3,000 - 40,000/kg (US\$ 0.3 - 4.4/ kg).

The sustainability of mysid and *Acetes* fisheries depends on exact fisheries statistics and consideration of the genetics of target species.

Key words: *Mesopodopsis*, *Acetes*, COI, Indonesia, fisheries

Digestive physiological studies on nitrogen utilization of steers fed home-grown feeds

Zongfu Li

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

去勢牛への国産飼料給与に伴う窒素利用の消化生理学的研究

李 宗付

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

In Japan, intensive animal production has been expanding in recent decades, and a huge amount of animal feed including forages is being imported from all over the world. Domestic production of feed for domestically raised animals is an obvious way to improve the country's low food self-sufficiency rate and to prevent an excess of animal waste. Overall objectives of this study were to evaluate domestic forage and grain based diets for steers in digestive physiological perspective of nitrogen (N) and amino acid (AA) based on digestion, absorption and metabolism.

The first experiment was to evaluate the effects of concentrate levels supplemented to a high grass silage based diet on the digestion extent of nutrients in the rumen and intestine of steers, and to compare N balance with or without duodenal Met infusion. Ratios of supplemental concentrate were 0.35 (IsCl) and 0.85% (IsCh) of body weight on dry matter (DM) basis, respectively. Organic matter intake was greater for IsCh diet by 24% than for IsCl diet. The digestible non-fiber carbohydrate (NFC) in the total tracts also tended to be greater for IsCh diet. Duodenal flows of microbial N and non-ammonia N, and digestible N in the intestine were greater for IsCh than IsCl diet. Retention of N was improved by 85% for IsCh diet compared with for IsCl diet, but duodenal Met infusion significantly did not affect the N retention of steers consumed both levels of supplemental concentrate. These results suggest that additional Met delivery to the lower gut of steers fed high Italian ryegrass silage diets could not increase N retention, but a small increase of concentrate supplement is useful feeding management to improve N utilization through an increase in available energy supply for rumen microbial yield and host animal.

In the second experiment, the objective was to evaluate the combination effects of 38% of whole crop corn (Cs) or rice (Rs) silage with 35% of steam-flaked corn (Cg) or rice (Rg) grain in dietary DM basis on ruminal carbohydrate digestion, duodenal N flow and plasma essential amino acid (EAA) concentration. The ruminal digestibility of starch and NFC for Rs and Rg diets compared with Cs and Cg diets was greater, but that of neutral detergent fiber excluded ash (NDFom) was less. Because the ruminal disappearance of NFC plus NDFom was similar across treatments, microbial N flow was not affected by the dietary treatments. There was an interaction of Met flow by silage and grain sources: greatest for CsRg and least for RsRg diet, and blood plasma concentration of Met after feeding was lower for Rg than Cg diets. Postprandial reduction degree of plasma EAA varied with the diets and individual EAA. The Cs diets compared with the Rs diets tended to be greater in N retention because of greater digestible OM intake. These results suggest that silage source combined with corn or rice grain affects N use in steers through the digestible OM intake, and the kind of limiting AA may differ among

the combinations of silage and grain sources.

The third experiment was carried out to investigate the effects of Met supplementation (10 g/d) on AA metabolism by visceral tissues in steers fed the diets consisting of 38% corn silage with 35% of corn or rice grain in DM. Net output or uptake of AA were measured across portal-drained viscera (PDV), liver and total splanchnic (TSP: PDV plus liver) tissues. Blood and plasma flows across PDV and TSP and net fluxes of AA by PDV, liver and TSP were unaffected by the grain sources, indicating that replacement corn grain with rice grain did not affect postprandial absorption of available AA. The postprandial infusion of Met for both grain diets resulted in a significant increase in Met absorption across PDV and arterial plasma concentration of Met, although the amount of total AA release from TSP did not increase compared with the both grain diets without Met infusion. Greater supply of Met to the duodenum may not affect AA metabolism by the splanchnic tissues of growing ruminants consuming corn silage-based diets including corn or rice grain.

Overall, these studies indicate that it is important to evaluate dietary nutrient value and supplements for ruminants in digestive physiological perspective of N and AA based on digestion, absorption and metabolism. A small increase of concentrate supplement is useful feeding management to improve N utilization in growing steers fed high grass silage diets. The whole rice crop silage compared with corn crop silage may reduce N utilization in steers through less digestible OM intake, and the kind of limiting amino acid may differ among the combinations of silage and grain sources. Replacing corn grain with rice grain does not affect postprandial absorption of available AA. Provision of greater duodenal flow of Met couldn't seem to affect AA release from the splanchnic tissues to the peripheral tissues for growing ruminants consuming corn silage-based diets. Different limiting amino acids for different dietary combinations should be taken into consideration and clarified when rice silage or rice grain are used as a substitution of corn silage or corn grain.

Key words: nitrogen utilization, home-grown feeds, Italian ryegrass, corn, rice, steers

Analysis of anti-inflammatory effect of lactic acid bacteria by immunocytological study

Tasuku OGITA

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

乳酸菌による炎症抑制作用に関する免疫細胞学的研究

荻田 祐

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

緒言

腸管は、常に腸内細菌や外来抗原に曝されていることから、生体最大の免疫器官として機能しており、過剰に反応しないよう免疫寛容が誘導され、恒常性が維持されている。しかし、腸管の恒常性が破綻すると、ヘルパーT細胞(Th)のうちTh17の過剰な免疫応答を招き、炎症性腸疾患などの発症に至る。一方、プロバイオティクスは、腸炎症状を軽減することが報告されている。本研究では、プロバイオティクスによる腸炎抑制効果を免疫学的に評価し、腸炎抑制メカニズムの解明を試みた。また、炎症組織では酸素濃度が低下することを考慮し、低酸素環境を組み込んだ抗炎症評価系を構築し、プロバイオティクスの効果を評価した。

プロバイオティクスによるTh17抑制効果

プロバイオティクスの1つである *Streptococcus thermophilus* ST28(ST28)は、Th17分化誘導環境下(in vitro)においてTh17分化およびIL-17産生を減少させた。一方、ST28はTh1サイトカインであるIFN- γ の産生量を有意に増加させた。これらの結果は、ST28がTh17分化および活性化を抑制するとともに、Th1を活性化することによりIFN- γ の産生を促進し、Th17の過剰な応答を抑制することを示唆している。続いて、生体内におけるST28のTh17抑制効果を、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)腸炎マウスを用いて評価した。DSS腸炎マウスへのST28の経口投与は、血便と下痢を伴う腸炎症状を軽減し、腸炎発症に伴う腸管の委縮を軽減する傾向にあった。また、ST28の経口投与は大腸粘膜固有層のTh17割合を減少させた。さらに、大腸粘膜固有層および脾臓細胞における過剰なIL-17産生を著しく減少した。

低酸素条件下におけるプロバイオティクスの炎症抑制効果

低酸素下で腸間膜リンパ節由来細胞を培養し、hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α)の発現を測定した。その結果、酸素濃度1%で最もHIF-1 α 発現が増加した。また、酸素濃度1%下では、Th17や炎症性樹状細胞におけるHIF-1 α 発現は通常酸素下と比較して有意な増加を示したが、抗炎症性のCD103⁺CD11c⁺樹状細胞およびFoxp3を発現した制御性T細胞(Treg)割合は低酸素下で有意に減少した。これらの結果は、低酸素下において、低酸素特異的に発現したHIF-1 α を介して炎症性免疫細胞への分化が誘導されること、さらに、Th17型樹状細胞によるTh17分化が強く誘導されることが示唆された。また、低酸素下では、通常酸素下と比較して、炎症性樹状細胞における抗アポトーシスタンパク質Bcl-2の発現が有意に増加した。さらに、低酸素下で24時間培養後の免疫細胞の生存率は、通常酸素下の培養と比較して有意に増加した。これらの結果は、低酸素下で誘導された炎症性樹状細胞が、Bcl-2を発現することでより長く生存することが可能となり、慢性炎症性疾患に繋がることを示唆している。

ところで、生体炎症局所の免疫細胞は、低酸素環境に曝される一方で、血管の破綻による不安定な酸素供給や炎症組織から他の免疫組織への移動の過程で、通常酸素環境に曝露される(酸素の再曝露)。そこで、腸間膜リンパ節由来細胞を低酸素下で培養後、通常酸素環境に曝した上で、Th17誘導サイトカインIL-6と

TGF- β を添加し、Th17からのIL-17産生応答が惹起されるか否かを検討した。その結果、通常酸素下での培養と比較して、低酸素培養後の酸素再曝露により、Th17によるIL-17産生が有意に増加した。次に、生育に嫌気的環境下を好み、腸炎抑制効果や抗炎症効果が明らかとなっている *Bifidobacterium longum* の低酸素下における抗炎症効果を評価した。その結果、*B. longum* は通常酸素下においてIL-17産生を有意に減少したが、本研究において構築した低酸素下では、IL-17産生抑制効果が減弱した。

総合考察

近年、炎症性腸疾患などの自己免疫疾患では、ヘルパーT細胞バランスが破綻していることが明らかとなってきた。本研究で報告したST28は、Th1/Th17バランスを制御するため、炎症性腸疾患軽減効果のあるプロバイオティクスとして有望であることが示唆された。また本研究で構築した抗炎症効果評価系は、低酸素環境を組み込んだ今までにない評価系であり、炎症性腸疾患の予防・緩和に有効な機能性食品の開発などに具体的に寄与すると考えられる。

キーワード：Th17, プロバイオティクス, 低酸素環境

Development of new method for enabling consecutive viscosity measurements of high-viscosity fluid

Takayoshi HOSHINO

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

高粘度流体の連続粘度測定を目的とした新規測定法の開発

干野 隆芳

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

食品は高粘度になるとゲル化したような構造をとることも多く、半固形状食品は比較的高い粘度を示すために測定が難しく、さらに、測定のために加えられる回転などの変形によって構造が破壊され、本来の粘度より低く測定されるなどの問題がある。本論文では、試料に大きな変形を加えることなく、しかも連続的に測定できる方法として、新たに、高粘度流体の連続粘度測定法（ショートバックエクストルージョン法、以下 SBE 法）を開発・提案することを研究の目的とした。

【第1章】 研究の背景、意義、既往の研究、目的などを述べた。

共軸二重円筒を利用した並進型粘度測定法には、バックエクストルージョン法（以下 BE 法）と非回転二重円筒法（以下 NRCC 法）という2つの従来型の測定方法がある。これらの測定方法は、回転駆動部を必要としないため簡易な装置で粘度の測定が可能となる利点がある。

BE 法は、試料の上部からプランジャーを押し込み、環状部に定常な流動を起し、プランジャーに加わる応力の時間変化曲線から粘度を解析するが、試料に対する変形程度が大きく、連続測定を行った報告もなく、一般的な粘度測定法として殆ど普及していない。NRCC 法は、予め試料の中にプランジャーを沈めておき、プランジャーが移動する瞬間の応力 (F_{00} 値) を求めることで、粘度と弾性率が測定できる方法であるが、高粘度流体については測定精度の検証がなされていない。

上記従来法の問題点を解決するため、新たに SBE 法を開発・提案した。SBE 法は予め試料の中にプランジャーを設置し、僅かな距離だけ押し込むことにより環状部に定常流動を起し、このときプランジャーに加わる応力の時間変化曲線から粘度を測定する方法である。この測定方法は、試料に対する変形が小さいため、非ニュートン流体に対しても連続測定が可能になる。

本論文では、高粘度流体を中心に広い粘度範囲の流体を測定対象とし、SBE 法と従来法を用いてこれらの試料の粘度測定を行い、各測定方法の測定精度の検証を行うとともに、連続測定の可能性について検討を行った。

【第2章】 SBE 法によるニュートン流体の粘度測定法について検討を行った。

粘度既知のニュートン流体の標準物質を用いた。BE 法、NRCC 法、SBE 法の各測定方法で得られた粘度を標準物質の粘度と比較することにより、各測定法の正確度を二乗平均平方根誤差（以下 RMSE）によって評価した。

SBE 法では、低粘度領域試料の粘度測定において正確度が多少劣っていたが、中高粘度試料の粘度測定では、いずれのプランジャー比（カップ径に対するプランジャー径の割合）においても非常に良い正確度で連続測定が可能であった。SBE 法は、試料に加える変形程度が小さな測定方法で連続測定も可能であることを明らかにした。

BE 法では、低粘度領域の粘度測定は困難で、中高粘度領域の粘度測定で良好な正確度で測定が可能であっ

た。BE法は、試料に加える変形程度が極めて大きな測定方法で連続測定には適していないことを明らかにした。NRCC法では、中高粘度において正確度が大きく劣る範囲があること、試料の粘度が高くなりプランジャー比が大きくなる（環状部が狭くなる）と、粘度計算の根拠となる F_{v0} 値を正しく求められていないことなどの問題があることを明らかにした。

本研究において新たに提案したSBE法は、プランジャーとカップの間の環状部には既に試料が満たされているため、プランジャーの移動距離が短くても定常流動を起こすことができ、連続測定を行っても、プランジャー及びカップへの試料の付着量が少ないことが明らかとなった。また従来法と比較して、広い粘度範囲で測定精度が良好であった。

【第3章】 SBE法による非ニュートン流体（指数則流体）の粘度測定法について検討を行った。

平行平板型及び共軸二重円筒型回転粘度計では、回転軸から離れるほどひずみ率が増大するため、非ニュートン流体の見かけ粘度を測定することは困難である。BE法に関しては、既往の研究において、非ニュートン流体に対して粘度測定が可能な方法であるとの報告がなされているが、連続測定が難しく一般的な方法としては普及していない。また、NRCC法では、環状部における流速分布を考慮していないため、同様に見かけ粘度を測定することができない。そこで本章では、ひずみ率がほぼ一定であるコーンプレート型粘度計の測定値を基準として、流動性指数の異なる二種類の増粘剤溶液を試料として用い、BE法とSBE法の測定精度の比較を行った。

本研究において新たに提案したSBE法では、連続測定であるにもかかわらず、同一条件での測定値のばらつきが小さく、非ニュートン流体の見かけ粘度を精度良く測定できることを明らかにした。SBE法は、試料に大きな変形を与えずに連続測定を行うことができるため、従来測定が困難であった非ニュートン流体への適用も可能であった。

一方BE法では、同一条件での測定値のばらつきが大きく、測定精度も劣っており、連続測定も困難であったことから、BE法の非ニュートン流体への適用は困難であると判断した。

【第4章】 本章では論文全体の総括を行った。

従来法による半固体状の高粘度食品の粘度測定には、測定に伴うずり変形に起因する試料の構造組織の破壊、測定器具への試料付着による誤差の増大などの複数の理由から、連続的に粘度を測定することが難しいという問題があった。本研究において新たに提案したSBE法は、半固形状食品を含む高粘度流体の構造を破壊することなく、粘度の測定が可能であり、連続測定も可能であった。また、幅広い粘度範囲のニュートン流体及び非ニュートン流体の粘度を精度良く測定できることを明らかにした。SBE法では、自重でも壊れてしまうようなゲル化した半固形状食品であっても、本来の構造を損なうことなく粘度の測定可能である。特に高粘度試料では、固形物を含んだ材料に対しても粘度の測定が可能である。以上のことから、SBE法は一般的な食品への応用範囲が広く、今後、食品製造の現場における品質管理や食品開発における基礎物性研究にもSBE法を応用できる可能性を示すことができた。

キーワード：粘度，ショートバックエクストルージョン法，バックエクストルージョン法，ニュートン流体，非ニュートン流体，連続測定

Studies on the anti-hypertensive and vasoprotective effects of the collagen peptides

Tomomi KOGUCHI

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

コラーゲンペプチドによる血圧上昇抑制および血管保護作用に関する研究

河口 友美

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

コラーゲンは生体における主要なタンパク質であり、特にヒトでは生体を構成するタンパク質の約1/3を占めている。グリシンが3残基ごとに規則的に配置されたポリペプチド鎖3本からなる3重らせん構造を有し、翻訳後修飾によって産生されるヒドロキシプロリン (Hyp) を含むことから、他のタンパク質と異なる特徴を示す。コラーゲンを多く含む皮や骨 (畜産副生物) は、歴史的に付加価値が低いものとして処理されてきたが、近年ではこのような畜産副生物の有効活用が模索され、コラーゲンを加水分解したコラーゲンペプチドが機能性食品として利用されている。これらの目的の多くは、肌状態や関節痛の改善であるため、本研究では新たに、コラーゲンペプチド摂取による血管系への影響について検討し、コラーゲンペプチドにさらなる機能性を付加することを試みた。

鶏コラーゲンペプチドによる自然発症性高血圧ラットの血圧上昇抑制作用

鶏コラーゲンペプチド (chicken collagen hydrolysate; CCH) および豚コラーゲンペプチド (pig collagen hydrolysate; PCH) を自然発症性高血圧ラットにそれぞれ14週間連続投与し、血圧上昇抑制作用を比較した。その結果、CCH を摂取させた群においてのみ、対照群および PCH 群に比べて有意な血圧上昇抑制作用が認められた。これまでに、コラーゲンペプチドを摂取した生体の末梢血には、Hyp を含むコラーゲン由来ペプチドが現れることが報告されている。このような血中移行ペプチドは、種々の生理活性を有することが確認されていることから、CCH および PCH の血圧上昇抑制作用の差は、血中移行ペプチドの差異に起因するのではないかと推察された。

血圧が高めのヒトに対する鶏コラーゲンペプチドの降圧作用および高用量摂取時の安全性

自然発症性高血圧ラットへの投与により血圧上昇抑制作用が認められた CCH について、3つの臨床試験を実施し、ヒトに対する効果を検討した。まず、CCH の人に対する至適用量を確認するために、I 度高血圧者71名を対象にプラセボを対照とした4週間連続摂取試験を実施したところ、CCH 2.9g/day 配合飲料を摂取した中用量群および CCH 4.4g/day 配合飲料を摂取した高用量群において、摂取前に比べて有意な血圧低下が認められた。次に、CCH の降圧作用について詳細に検討するために、CCH 2.9g 配合飲料を用いて、I 度高血圧者および正常高値血圧者120名を対象に、プラセボを対照とした12週間連続摂取試験を実施した。その結果、CCH 群はプラセボ群に対して有意な血圧低下を示した。また、摂取期間を通じ、摂取前に比べて持続的な血圧の低下が認められた。さらに、CCH を高用量摂取した際の安全性に関して検討するために、I 度高血圧者、正常高値血圧者および正常血圧者48名を対象に、通常摂取量 (CCH として2.9g/day) の3倍量 (CCH として8.7g/day) を4週間連続摂取させるプラセボ対象比較試験を行った。その結果、CCH の摂取を起因とする臨床上的問題は認められなかった。以上の結果から、CCH はヒトに対しても血圧を低下し、調べた限りにおいて摂取時の安全性に問題がないことが確認された。

鶏コラーゲンペプチドによる血圧が高めのヒトに対する血管柔軟性の改善作用

CCH 2.9g 配合飲料を用いて、I 度高血圧者および正常高値血圧者58名を対象に、プラセボを対照とした12週間連続摂取試験を実施し、血管のしなやかさの指標として脈波伝播速度 (baPWV) を測定した。その結果、CCH 群において、プラセボ群に比べて有意な baPWV の低下が確認された。加えて、CCH 群においては、CCH 摂取による血中窒素酸化物の増加傾向が認められた。一酸化窒素 (NO) は血管内皮細胞から産生される血管保護物質であることから、CCH の摂取により認められた降圧作用および血管柔軟性の改善は、血管内皮機能の充進を介している可能性が考えられた。

鶏コラーゲンペプチドによる血管内皮機能改善および血管保護作用機序の解析

これまでに確認された CCH の摂取による降圧作用および血管内皮改善作用について、その機序を検討した。まず、CCH を摂取したヒトの末梢血から、アンジオテンシン変換酵素阻害活性を有する CCH 由来血中移行ペプチドを同定した。さらに、これらの血中移行ペプチドが、炎症を惹起した血管内皮細胞において抗炎症作用を発揮することを確認した。また、正常な血管内皮細胞では、血中移行ペプチドの添加により、血管内皮型の NO 合成酵素 (eNOS) の mRNA の発現が上昇するとともに eNOS タンパク質がリン酸化され、また NO 産生が充進することが確認された。これは、血中移行ペプチドが直接的に NO 産生を促進させることを示していた。加えて、血中移行ペプチドが生理活性物質であるブラジキニンのレセプター BKR2 の発現を上昇させることも確認した。したがって、血中移行ペプチドは、内因性ブラジキニンの作用を促進させることで、間接的にも NO の産生を促進している可能性が示された。以上の結果から、CCH の摂取により、血管内皮細胞を介した血管保護作用が示されたとともに、その作用機序の一端が明らかとなった。

このように本論文では、鶏コラーゲンペプチドの摂取により、血圧上昇抑制作用および血管内皮細胞を介した血管保護作用が発揮される可能性が示された。我が国において、血管に起因する疾病率は非常に高いことから、本研究成果は、食品による循環器疾患の予防を通じて人々の QOL 改善に寄与するとともに、畜産副生物の高度活用につながるものと考えられた。

キーワード：コラーゲンペプチド、一酸化窒素 (NO)、血圧上昇抑制、血管保護

Studies on ascorbate accumulation and fruit ripening in plant

Shingo SAKAMOTO

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

植物のアスコルビン酸集積と果実成熟に関する研究

坂本 真吾

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

本研究では、植物におけるアスコルビン酸 (AsA) の集積機構の解明を目指すとともに、高 AsA 果実の作出にむけた研究をおこなった。さらに、トマト果実における AsA 集積の生理的意義について研究をおこなったものである。

第1章 タバコ L-ガラクトース 1 リン酸ホスファターゼの cDNA クローニングと機能解析

L-ガラクトース 1 リン酸ホスファターゼ (GPPase) は、植物の主要な AsA 生合成経路 (D-Man/L-Gal 経路) の代謝に関わる重要な酵素だが、AsA 量の調節にどのように関与するかは不明である。そこで、タバコ培養細胞 BY-2 よりタバコ GPPase (NtGPPase) の cDNA クローニングを行なうとともに、NtGPPase の機能解析を行なった。まず、タバコ培養細胞 BY-2 より NtGPPase の全鎖 cDNA をクローニングした。その結果、NtGPPase がコードする推定アミノ酸は 270 残基であり、推定分子量 29167、推定等電点 pI 5.26 であった。また一次構造には、イノシトールモノホスファターゼモチーフとマグネシウム結合サイトが保存されていた。次いで、大腸菌発現系により組換え NtGPPase を調製し、酵素性状解析を行った。その結果、NtGPPase は L-ガラクトース 1 リン酸だけでなく、イノシトール 1 リン酸の脱リン酸も触媒した。さらに、至適 pH7.5、マグネシウム要求性の酵素であり、リチウムやマグネシウム以外の 2 価陽イオンによって活性が阻害された。また、NtGPPase の細胞内局在性を調べたところ、NtGPPase は細胞質に局在することが示唆された。次いで、タバコ培養細胞 BY-2 における NtGPPase の遺伝子発現をノザンプロットングにより解析した。その結果、タバコ培養細胞 BY-2 の AsA 量の減少は、NtGPPase の mRNA 発現量と相関していた。また、NtGPPase 過剰発現タバコ形質転換株を作製し、AsA 量を解析した。その結果、NtGPPase 過剰発現タバコ形質転換株の継代 3、8 日後の AsA 量は、コントロールの AsA 量と同程度であったが、継代 13 日後の NtGPPase 過剰発現タバコ形質転換株の AsA 量は、コントロールの AsA 量より顕著に多かった。以上より、NtGPPase は、タバコ培養細胞 BY-2 の培養後期で AsA 量の調節に関与している可能性が示された。

第2章 トマト果実におけるアスコルビン酸集積機構の解明

植物において、果実は AsA を多く集積する器官の一つだが、果実における AsA の集積機構について、詳細は不明である。そこで、トマト果実における AsA の生合成能力の向上が、AsA の高集積に寄与するかについて検証した。まず、トマト果実の成熟に伴う AsA 量と AsA 生合成酵素 (GDP-L ガラクトースホスホリラーゼ ; GGPase, GPPase, L-ガラクトースデヒドロゲナーゼ ; GDH, L-ガラクトノ 1,4 ラクトンデヒドロゲナーゼ ; GalLDH) の mRNA 量の変化を解析したところ、AsA 量と共に、GGPase, GPPase, GDH の mRNA 量の変化は正に相関していた。次いで、スクロース処理と光照射条件が与える AsA 量と AsA 生合成酵素の mRNA 量への影響を調べた。その結果、スクロース処理により、AsA 量が増加した。また暗処理によって AsA 量が減少すると共に、GGPase, GPPase, GDH の mRNA 量が減少した。以上より、トマト果実において、スクロースや光条件が AsA 生合成酵素の発現調節に関与し、AsA 量を調節している可能性が示された。また果実で機能する AsA 生合成経路を検討するため、果実に様々な AsA 前駆体を処理し、

AsA 量への影響を比較検討した。その結果、L-ガラクトース処理により、劇的に AsA 量が増加した。以上より、D-Man/L-Gal 経路を介した AsA 生合成がトマト果実でも AsA 集積に関与していることが示唆された。次いで、果実での AsA 生合成遺伝子の過剰発現が果実での AsA 量を増加させるかを調べるため、トマト果実のプロトプラストに NtGPPase を一過的に過剰発現させ、AsA 量への影響を調べた。その結果、NtGPPase を過剰発現させたプロトプラストでは AsA 量が2倍増加した。以上より、トマト果実での AsA 生合成遺伝子の過剰発現によって、果実で AsA を高集積できる可能性が示された。

第3章 トマト果実におけるアスコルビン酸集積の生理的意義の解明

トマト果実において、AsA の集積による果実の生理的な変化は不明である。そこで、トマト果実における AsA 集積の生理的な意義を調べるため、トマト果実への AsA や AsA 前駆体処理が与える果実成熟への影響と、AsA 処理が与えるエチレン生合成への影響を調べた。まず、果実への L-ガラクトース処理や AsA 処理によって AsA を集積させると、エチレン及び成熟関連遺伝子の mRNA 発現量が増加するとともに、クロロフィル量が減少し、リコペン量が増加した。次いで、AsA が与える果実でのエチレン合成量への影響を調べた。その結果、AsA 処理により、エチレン合成量が増加した。次いで、AsA による果実成熟の誘導がエチレンシグナルを介するかを調べた。その結果、エチレン受容阻害剤の処理により、AsA 誘導的なエチレン及び成熟関連遺伝子の mRNA 発現量の増加が阻害され、AsA 誘導的なクロロフィル量の減少とリコペン量の増加も阻害された。また、AsA 処理により、果実内の ACO 活性も増加した。以上より、トマト果実での AsA 集積は、ACO の活性化によりエチレン合成量を増加させ、エチレンシグナル依存的に果実成熟を促進させる可能性が示された。

総合考察では、本研究で明らかになった知見を踏まえて、高 AsA 集積植物の作出にむけた新規な戦略を提唱した。本研究成果は、高 AsA 果実の作出に貢献するとともに、AsA の新規な生理機能の解明につながることを期待される。

キーワード：AsA, 集積機構, GPPase, 高 AsA 集積植物, 果実成熟, エチレン

Studies on regulation of ribosome biogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*

Kun WAN

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

出芽酵母におけるリボソーム生合成調節機構に関する研究

万 竈

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

リボソームは生体内で蛋白質を合成する翻訳装置であり、知られている地球上の全ての生物において、遺伝情報の発現に不可欠な役割を果たしている。したがって、リボソーム生合成の調節機構を解明することは生命科学における重要な課題である。出芽酵母をモデル生物として、約200種類の調節タンパク質が、rRNA 前駆体のプロセシングや、60S と40S サブユニットへの組立てに関与することが見出されている。しかし、これらの調節タンパク質がどのように関わって、2つのリボソームサブユニットを組立てるのかについては、不明な点が多く残されている。出芽酵母の Ebp2は、おもに核小体に局在してリボソームの生合成調節に機能を持つリボソーム生合成調節蛋白質である。Ebp2のさらに詳細な機能を知るために、EBP2 と関連している遺伝子を探索する目的で、温度感受性 *ebp2-14* 変異と合成的な生育障害を示す変異株が取得された。これらは3つの相補性グループ (A 群, B 群と C 群) に分類された。完全な合成致死性を示す A 群の変異遺伝子は *BRX1* であり、Ebp2と Brx1が協調的に60S リボソームサブユニットの生合成に機能していることが明らかになった。本研究では、条件的な合成致死性を示す B 群と C 群の変異遺伝子を同定し、*ebp2-14* 変異と合成的な生育障害を示す原因を調べた。また、その過程で、Ebp2と機能的に関連するリボソームタンパク質を見出し、それをコードする重複遺伝子の生育への影響の違いについて解析した。

1. 出芽酵母のリボソーム生合成における N 末端アセチルトランスフェラーゼ NatA の役割

ebp2-14 変異と合成的な生育障害を示す B 群 (*m1* 株) と C 群 (*m4* と *m8* 株) における変異遺伝子を同定した。それらは、N 末端アセチルトランスフェラーゼ NatA の触媒サブユニット Ard1 をコードする *ARD1* と、調節サブユニット Nat1 をコードする *NAT1* であった。これら変異株における生育障害は、NatA 複合体としての機能を失うためであることを示した。真核細胞において多くのタンパク質の N 末端のメチオニン残基が翻訳の途中で切断され、さらに新たな N 末端アミノ酸残基が N 末端アセチルトランスフェラーゼ (Nat) によってアセチル化される。NatA は、酵母において同定されている5種類の Nat のうち、最も主要な N 末端アセチルトランスフェラーゼである。ポリソームパターンの解析結果から、これら変異株における生育障害は60S リボソームサブユニット合成の欠陥により生じていることが示唆された。さらに、*ard1* 変異との合成的な生育障害は、リボソーム生合成に欠陥のある変異に共通して見られる表現型ではなく、*ebp2* 変異に特異的であることを示した。次に、*ebp2* 変異と、*ard1* 変異、*nat1* 変異が合成的な生育障害を示す原因について、NatA が機能しないことによって、ある特定のタンパク質がアセチル化されなくなり、*ebp2-14* 変異と重なったためであると推定した。そこで NatA の標的タンパク質として、Ebp2自身、Ebp2と深く関連して機能する Brx1及び *ebp2-14* 変異株の温度感受性を過剰発現で抑圧する遺伝子の産物 Rpl36a/b (リボソームタンパク質 L36a と L36b) に絞って検討した。N 末端アセチルトランスフェラーゼはプロリンをアセチル化できないので、これらのタンパク質の N 末端から2番目 (メチオニンの隣) のアミノ酸残基をプロリンに置換した。*ebp2-A2P*、*rpl36a-T2P* 及び *rpl36b-A2P* はいずれも *ebp2-14* との合成的な生育障害を示さなかったのに対して、*brx1-S2P* は *ebp2-14* との合成致死性を示した。一方、Brx1の N 末端から2番目のアミノ酸残基を、NatA によってアセチル化されるアラニンに置換しても、*ebp2-14* 変異との合成的な生育障害を示さ

なかった。これらの結果は、リボソーム生合成において、Brx1のN末端から2番目のアミノ酸残基がセリンであることが重要なのではなく、2番目のアミノ酸残基がアセチル化されることが重要であることを示唆する。

2. 出芽酵母のリボソーム生合成における重複遺伝子の機能

*ebp2-14*における生育の温度感受性を抑圧する多コピーサプレッサーとして、リボソームタンパク質L36をコードする *RPL36A* と *RPL36B* が同定されている。この重複遺伝子をそれぞれ破壊した株の生育を調べたところ、*rpl36bD* 株は *rpl36aD* 株より強い生育障害を示した。ポリソームパターンとリボソームサブユニットの解析結果から、*rpl36bD* 株は、*rpl36aD* 株と比べて、60S リボソームサブユニットの合成量がより低下するために、強い生育障害を示すと推定した。タンパク質レベルを調べた結果、L36a と L36b がほぼ同程度発現していたので、*rpl36aD* 株と *rpl36bD* 株の生育の違いおよび60S リボソームサブユニットの合成量の違いが、*RPL36A* と *RPL36B* の発現の違いによるものではないと考えた。一方、酵母 two-hybrid 法により、Ebp2との物理的な相互作用は、L36bの方がL36aより強いことを明らかにした。このEbp2に対する親和性の違いが、リボソーム生合成におけるL36aとL36bの貢献度に反映されていると推定した。

総括

本研究では、タンパク質のN末端アセチル化がリボソーム生合成に関与していることを初めて見出した。また、重複遺伝子によりコードされているリボソームタンパク質L36aとL36bが、それぞれリボソーム生合成における貢献度が異なる原因について考察した。これらの知見がリボソーム生合成調節機構の理解に役立つと考える。Ebp2とBrx1などのリボソーム生合成調節タンパク質およびNatAは、酵母からヒトにまで保存されているので、高等真核生物においてもN末端アセチル化がリボソーム生合成に関わる可能性がある。最近、*ARD1*の欠損によって引き起こされるX染色体連鎖遺伝性疾患が報告されている。またArd1と癌化との関連を示唆する報告がある。しかしいずれの場合も、NatAの標的タンパク質は不明である。酵母におけるArd1の研究はこれら病気の原因を解明するのに役立つことが期待される。

キーワード：リボソーム生合成、N末端アセチルトランスフェラーゼ、重複遺伝子

Studies on immune response of ayu against *Flavobacterium psychrophilum*.

Tetsushi KAGEYAMA

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

アユの *Flavobacterium psychrophilum* に対する免疫応答性について

景山 哲史

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

アユは内水面の水産業（河川漁業および養殖業）において重要な対象魚種として位置づけられている。近年、アユの漁獲量および養殖生産量は減少傾向を続けている。この要因として、河川漁業および養殖業で様々な指摘されているが、主要因は病気の発生である。冷水病は、*Flavobacterium psychrophilum* を原因菌とする細菌感染症である。冷水病は、養殖場だけでなく河川においても毎年発生しており、近年発生報告数は減少傾向にあるものの依然として被害が報告されている。アユの水産業では、琵琶湖の湖産アユを、養殖あるいは琵琶湖の流入河川以外の河川に放流するための種苗として利用している。また、海産アユの親魚を採捕して種苗生産を行い、河川放流用種苗として利用している。これまでに、養殖業では薬剤や防疫対策によって、冷水病被害の抑制に成功した事例が知られている。一方、河川においては *F. psychrophilum* を保菌していない種苗の放流が推奨されているが、*F. psychrophilum* が広くまん延している現状において根本的な対策とはなっていない。河川漁業における冷水病対策としては、アユ種苗に *F. psychrophilum* に対する抵抗性を河川放流前に付与する必要がある。そこで本研究では、アユの *F. psychrophilum* に対する自然免疫および獲得免疫の免疫応答性について検討を行い、冷水病に対する予防免疫技術の開発に資することを目的とした。

F. psychrophilum の体内動態を調べるため、2系統アユの脾臓内菌数を感染実験開始後3日に1回経時的に測定した。また、*F. psychrophilum* の感染に伴う2系統アユの免疫応答性を調べるため、6日に1回採血を行い、血清凝集価および溶血価の値を経時的に測定した。その結果、2系統アユともに実験開始6日後に *F. psychrophilum* が検出され始め、12日後に脾臓内菌数がそれぞれピークとなり、その後は菌数が減少した。このような経時的な増減傾向の推移は2系統間で同傾向を示した。しかし、実験開始6、9、12、15日後の2系統間の脾臓内菌数には有意差が認められ、海産系アユは湖産系アユより有意に菌数を低く抑制していた。このことから、海産系アユは *F. psychrophilum* 感染に対して体内菌数を低く抑制することにより死亡を回避していることが示唆された。また、海産系アユでは、実験開始6日後に6尾中4尾の血清で *F. psychrophilum* の凝集反応が認められた。これらの結果から、海産系アユは *F. psychrophilum* の感染を受けると速やかに免疫応答が起り、血中凝集価が上昇すると考えられた。この免疫応答により *F. psychrophilum* の体内増殖を抑制している可能性が示唆された。

これまでの報告により、*F. psychrophilum* に高い感受性のある湖産系アユにおいても *F. psychrophilum* 感染の後、生残した個体は冷水病に対して高い抵抗性が認められている。そのため、*F. psychrophilum* の感染に対して、アユは免疫応答により、特異的免疫能を獲得すると考えられている。しかし、アユの *F. psychrophilum* に対して獲得する特異免疫応答の詳細はわかっていない。そこで、人為的に *F. psychrophilum* 感染させたアユの生残魚から血清（免疫血清）を採取して感染実験に供試した。免疫血清を得るために、アユの飼育池に冷水病により死亡したアユを投入して冷水病の発生を誘導した。死亡が終息した後、生残魚から血清を採取した（免疫血清）。免疫血清の殺菌活性を調べるため、*in vitro* において免疫血清と *F. psychrophilum* 菌液を混合し、1、5、24時間後に菌数測定を行った。また、免疫血清と *F. psychrophilum*

菌液を混合した懸濁液をアユの腹腔内に接種し、死亡率および接種1～8日の脾臓内菌数の変化を調べた。in vitro における試験では、免疫血清と対照血清（未感染のアユから得た血清）の殺菌活性に差が見られなかった。一方、血清と菌液を混合した懸濁液をアユに接種した試験では、実験開始1日後には免疫血清と対照血清で大きく脾臓内菌数に差が認められ、その後も差が見られた。それに伴い、対照血清を投与されたアユは死亡率が $97.5 \pm 3.5\%$ （平均死亡率 \pm S.D.）と高くなったが、免疫血清を投与されたアユは $10.0 \pm 7.1\%$ と死亡率が低く抑制され、両者の間には有意差が認められた。次に、免疫血清を用いてアユの受動免疫試験を実施した。すなわち、免疫血清2をアユの腹腔内に接種した後、24時間供試アユを蓄養し、*F. psychrophilum* で攻撃を加えた。また、免疫血清の防御効果に対する特異性の有無を確認するため、細菌性出血性腹水病の原因菌である *Pseudomonas plecoglossicida* を用いて同様の受動免疫試験を実施した。その結果、*F. psychrophilum* に対する受動免疫試験では、免疫血清の受動免疫効果が感染細菌特異的に認められた。

本研究により、*F. psychrophilum* に対して抵抗性を示す系統においても *F. psychrophilum* の体内侵入が認められた。しかし、抵抗性系統では実験開始6日後に *F. psychrophilum* に対する凝集反応が認められており、感受性系統よりも *F. psychrophilum* の体内侵入に対して速やかに免疫応答が起こり *F. psychrophilum* の体内増殖を抑制していることが示唆された。また、*F. psychrophilum* の感染後、生残したアユの免疫血清を、他のアユに接種すると冷水病に対して受動免疫効果を示すことが明らかとなった。この免疫血清は *F. psychrophilum* に対して特異的な防除効果を有しており、*F. psychrophilum* に対する特異抗体の存在が示唆された。

キーワード：アユ、冷水病、系統差、抗体価、受動免疫

Studies on the anti-disease function of vitamin B6

Peipei ZHANG

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

ビタミン B6の疾病予防作用に関する研究

張 培培

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

There is growing epidemiological evidence for vitamin B6 acting as a protective factor against cancers, inflammatory bowel disease and cardiovascular disease. Recent evidence suggest that inadequate intake of vitamin B6 is prevalent in the US and Japan. It has been suggested that the anti-tumor effect of dietary vitamin B6 is, at least, partially ascribed to lowering colon cell proliferation, oxidative stress, inflammation, angiogenesis, epithelium cell damage and DNA damage. However, the molecular mechanisms involved in the anti-tumor and anti-inflammation effect of vitamin B6 are not yet clearly understood. The objective of this study was to investigate the anti-disease function of vitamin B6 in cell culture and animal studies.

The preliminary study using DNA microarray analysis was conducted to examine the expression of genes in colon carcinoma HT29 cells exposed to pyridoxal (PL: 500 μ M) for 24 h. Expression of several genes relating to diseases, including cystatin A (CSTA), cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21), insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP1), growth arrest and DNA-damage-inducible beta (GADD45B), vitamin D receptor (VDR), DNA-damage-inducible transcript 3 (DDIT3) were upregulated and NADPH oxidase 1 (NOX1) was downregulated by PL. The results were confirmed by real-time PCR in HT29 cells.

In the first study, I mainly focused on the effect of vitamin B6 on gene and protein expression of IGFBP1. IGFBP1 is mainly produced in the liver and secreted from the liver. IGFBP1 has been reported to prevent tumor development, cardiovascular disease via binding to insulin growth factors (IGFs), modulating their actions. Adding PL (500 μ M) markedly elevated the mRNA expression of IGFBP1 in a hepatocarcinoma HepG2 cells at 6 h, 12 h and 24 h, whereas other vitamins (500 μ M), including pyridoxal 5'-phosphate (PLP), pyridoxine (PN) and pyridoxamine (PM), caused no such effect. PL caused increase in mRNA expression and protein expression of IGFBP1 in HepG2 cells. PL elevated the expression of p-ERK1 (active form of ERK1) and the p-c-Jun proteins (a down stream factor of ERK). Furthermore, the elevation in mRNA and protein of IGFBP1 by PL was suppressed by PD98059, an ERK inhibitor. Treatment of cycloheximide, a protein synthesis inhibitor, completely inhibited the elevation in protein expression of IGFBP1 by PL, suggesting that the higher protein expression of IGFBP1 induced by PL is dependent on the protein synthesis. Furthermore, PL stimulated the mRNA expression of IGFBP3 and IGFBP4 in a time- and dose-dependent manner in HepG2 cells. Adding of the ERK inhibitor suppressed the stimulation of the gene expression of IGFBP3 and IGFBP4 by PL. These results suggest that PL can induce the expressions of IGFBP1, IGFBP3 and IGFBP4 in hepatoma cells via a mechanism involving the ERK pathway. Higher expression of these IGFBPs by vitamin B6,

together with their inhibitory effects on cell proliferation, suggests the anti-tumor effect of vitamin B6 via elevating IGFbps.

p21 and p53 have been suggested to be tumor suppressors in vitro and in vivo in several studies. The gene expression of p21 is tightly controlled by p53. In the second study, the effect of PL on the gene expression of p21 in several cell lines was investigated. The results showed that PL elevated the gene expression of p21 in Caco2 cells, HEK293T cells and HepG2 cells. Adding PL significantly elevated the mRNA expression of p21 in both HT29 cells and HepG2 cells at 24 h, whereas other vitamins, including PLP, PN and PM, caused no such effect. In order to understand the mechanism of higher mRNA expression of p21 by PL, the p53 activation was examined (the upstream factor for p21 mRNA transcription) in both HT29 cells and HepG2 cells. The results indicated that PL caused higher protein level of p-p53 (active form of p53) of whole cell lysate and nucleus in these two cell lines. Moreover, the in vivo results suggest an important role of vitamin B6 in elevating protein of p-p53 and mRNA of p21 in colon of mice. Taken together, my study implies the anti-tumor effect of vitamin B6 via elevating p-p53 and p21.

In conclusion, the first study showed that PL caused upregulation of mRNA expression of CSTA, p21, IGFBP1, GADD45B and DDIT3, and downregulation of mRNA expression of NOX1 in HT29 cells and HepG2 cells. High dose of PL can induce expression of these IGFbps in HepG2 cells via a mechanism involving ERK pathway. The second study provided evidence that PL elevated the mRNA of p21 and p-p53 protein in both HT29 cells and HepG2 cells. The significant elevation in the mRNA of p21 was found in the mice fed with the normal vitamin B6 diet compared with that of vitamin B6 deficient diet. Taken together, these findings suggest the novel mechanisms of the anti-disease function of vitamin B6 through the modulation of IGFbps and p21.

Keywords: vitamin B6, pyridoxal, IGFbps, p53, p21, cancer cells, mice

Research of achievement for high efficiency and saving energy at drying process of noodle

Hisashi SUGIYAMA

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

麺類の乾燥工程の効率化・省エネルギー化に関する研究

杉山 久

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

近年、食品製造企業では、地球への環境負荷を低減させるために、二酸化炭素の削減や消費エネルギーの効率化を積極的に進めている。特に、麺類の製造工程では、多くのエネルギーを消費する乾燥工程の見直しが重要な課題となっている。本論文では、麺類の乾燥工程における乾燥因子の乾燥速度データの収集し、良好な麺品質を維持しつつ、効率化・省エネルギーできる麺類の乾燥条件を提案することを研究の目的とした。

<乾燥装置及び方法>

乾燥試験には強制対流式の乾燥装置を使用した。この乾燥装置では、乾燥操作における重要な条件因子である温度に加え、乾燥空気の流れと湿度の調整が可能であり、これらの条件因子の組み合わせが乾燥特性に与える影響を検討することが可能である。装置内の熱風発生部において乾燥条件に合わせて乾燥空気の温度と風速を設定し、さらに、ボイラーで発生させた蒸気を適量導入することにより乾燥空気の湿度を調整する仕組みとなっている。金網（目開き12mm）に麺皮を乗せ、上部より強制対流により熱風を吹き付け、乾燥操作を行った。乾燥装置が所定の乾燥条件で定常状態に達した後、乾燥空気の温度（60～130℃）、絶対湿度（0.0～0.45kg/kg-DA）、風速（0.0～6.0m/s）において、乾燥期間中の麺皮の重量変化を電子天秤で測定し、記録した。

<実験結果及び考察>

(1) 生皮および蒸皮の乾燥特性

生皮（乾麺の中間原料モデル）、蒸皮（即席麺の中間原料モデル）の乾燥における乾燥空気の温度、風速、絶対湿度の乾燥速度に与える影響を定量的に明らかにする目的で、各乾燥条件下での生皮および蒸皮の重量変化を乾燥時間毎に測定し、乾燥データを収集・整理した。その結果、乾燥温度の増加、および乾燥空気の風速の増加により、生皮および蒸皮の乾燥速度が増加することが明らかとなった。

さらに、生皮では、乾燥温度120～130℃において、絶対湿度の増加により生皮の乾燥速度が増加することを明らかにしたが、乾燥温度100～110℃においては、絶対湿度の増加による生皮の乾燥速度の変化は殆どなかった。乾燥空気の絶対湿度による乾燥速度の変化は、生皮乾燥時の表面積の変化が原因であることを明らかにした。また、蒸皮では、乾燥空気の絶対湿度の増加により、蒸皮の乾燥速度は減少傾向を示すことを明らかにした。これらの乾燥条件による乾燥速度の減少は、蒸皮の乾燥における表面積の減少に起因すると推測した。また、乾燥空気の風速を増加させても乾燥速度が低下しない原因として、蒸皮内部の水分移動速度に温度依存性が存在することを明らかにした。

(2) 生皮及び蒸皮の乾燥速度パラメーター

強制対流乾燥における生皮及び蒸皮の乾燥特性を定量的に評価するために、生皮、蒸皮の乾燥データを整

理し、乾燥速度式を用いて乾燥特性の解析を行った。その結果、生皮、蒸皮の含水率変化は Henderson & Pabis モデル (式1) と高い相関性 (R^2 係数が0.95以上) があることを明らかにした。ただし、 W は含水率 (kg-water/kg-solid), a は乾燥速度定数 (-), k は乾燥速度係数 (1/s), t は乾燥時間 (s), T は乾燥温度 ($^{\circ}\text{C}$), v は乾燥空気の流れ速度 (m/s) である。

$$W = a \exp(-kt) \quad (\text{式1})$$

* 生皮の強制対流乾燥における乾燥温度、風速が含水率に与える影響

$$a = 1.22 \times 10^{-3} \cdot T + 0.334$$

$$k \times 10^4 = (9.29 \times 10^{-4} \exp(0.0582T)) \cdot v + 0.40 \exp(0.0218T)$$

(3) 麺皮の乾燥条件の提案

麺類の製造における乾燥時間の短縮化による消費エネルギーの低減を目的として、次のような乾燥時間短縮スキームを立てた。

『初期乾燥時の乾燥温度の増加→被乾燥物の品温を上昇速度の増加→乾燥時間の短縮』

すなわち、乾燥開始から300秒間、乾燥温度を100 $^{\circ}\text{C}$ から120 $^{\circ}\text{C}$ に上昇させ、被乾燥物の品温を短時間で上昇させる。それと伴に、生皮の収縮を防止し、表面積を増加させるために絶対湿度を0.15kg/kg-DAに設定した。次の900秒間、絶対湿度は固定し、乾燥温度を120 $^{\circ}\text{C}$ から100 $^{\circ}\text{C}$ に戻す。最後に、乾燥温度100 $^{\circ}\text{C}$ から120 $^{\circ}\text{C}$ に上昇させ、風速を4.5m/sから2.5m/sに減少させ、絶対湿度を0.15から0kg/kg-DAに減少させる。

そこで、上記の乾燥時間短縮スキームを基に乾燥条件を設定し、生皮及び蒸皮の乾燥試験を行った。その結果、生皮の乾燥において基準乾燥条件(乾燥温度100 $^{\circ}\text{C}$ 、風速4.5m/s、絶対湿度0kg/kg-DA)では、含水率0.165になるまでの乾燥時間が1,800秒要したが、本研究で新たに提案した乾燥条件では1,350秒となり、25%の乾燥時間の短縮効果が認められた。同様に、蒸皮の乾燥では、含水率0.165になるまでの乾燥時間が1,800秒から1,250秒となり、30%の乾燥時間の短縮効果が認められた。加えて、新たな乾燥条件で得られた乾燥麺皮では乾燥中の発泡現象も認められず、品質も極めて良好であった。

次に、麺類の製造における乾燥工程に乾燥時間短縮スキームを当てはめ、実際の製造ラインでの乾燥工程の効率化について、その効果を評価した。その結果、生皮では乾燥時間が4分の3に、蒸皮では乾燥時間が10分の7に短縮されることが明らかとなった。この乾燥時間の短縮は、連続生産では乾燥機のベルトコンベア一長の短縮に繋がる。これに伴い乾燥機内の加熱空間(乾燥室の体積)を削減できることから、加熱空間を暖める熱量の恒常的な削減が可能になる。また、提案した乾燥条件は風速を低く抑えており、送風ファンを小型にすることができるため、送風ファンの設置及び運転に係る費用を抑制できる利点もある。そこでこれらの効率化の効果を、一般的な生産規模での即席麺の工場(年間2,420万食の生産規模)を想定して、消費エネルギーの低減効果として試算したところ、年間あたり、26.5万 kWh 程度の省エネルギー効果があり、CO₂に換算すると90.0トンに相当する温室効果ガスの削減効果があることが明らかとなった。

本研究での基礎的な乾燥データを適用すると、乾燥効率の優れた、かつ品質劣化のない最適な乾燥条件を見出すことができることを示すことができた。これらの知見は、新しい製造ラインの効率化(省エネルギー、省スペース)の実現、乾燥条件決定に伴う予備的な試験の簡略化に貢献できる。

キーワード：乾燥、麺類、乾燥特性、強制対流乾燥

Specific growth and micro elements absorption of Orange Jasmine (*Murraya* sp.) under the iron deficient environment

Cahyo WULANDARI

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

ミカン科ゲッキツの鉄欠乏耐性における特異的な生育と微量元素吸収

チャヒヨ ウランドリ

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Citrus fruits are familiar all over the world and rank first in international fruit trade in terms of value, although production shows geographical concentration in certain areas. Some important citrus farms have calcareous soils that are not suitable for citrus trees because Fe deficiency condition. The most prevalent cause of Fe deficiency is the presence of high levels of carbonate in soils, leading to a high pH and low availability of Fe and the condition known as lime induced chlorosis. In calcareous soils, citrus productivity depends on the availability of a suitable rootstock that is tolerant to low Fe. The search for new citrus rootstocks with better performance than those currently used (including Fe tolerant ones) is the major aim of the citrus industry in many countries. One of the alternative ways to search for potential citrus rootstocks is using related citrus species for selecting tolerant plant material such as Orange Jasmine (OJ) (*Murraya* sp.). This plant is Fe-efficient plant because it favors limestone soils and easily naturalized in many locations with a wide range of conditions. However, there is little information on OJ except for Ferric Chelate Reductase (FCR) activity. The present study was, therefore, conducted to 1) clarify Fe-deficient tolerance responses of OJ within a shorter experimental period in uniform medium conditions with easiness to control (water culture), 2) examine the influences of Fe treatments in the water culture on the Mn absorption of OJ under four different Mn concentrations, and 3) confirm what kind's functions do OJ exists when grown under high pH soil condition.

Within a short experiment period of three or four weeks, selecting Fe-tolerant citrus rootstocks became possible, comparable to an annual plant experiment. An increase in root FCR activity and proton extrusion was confirmed under Fe deficiency as similar to Fe-deficient tolerance dicotyledonous plants. Remarkable results using OJ under Fe deficiency included increase of root biomass (almost 2 times), in contrast to Flying Dragon (FD) which tended to decrease. There are a few reports wherein Fe-efficient plants increase their root biomass under iron deficiency. In OJ, increasing root biomass depended on the increased formation of lateral roots and root hairs that was well correlated with increasing root FCR activity and proton extrusion. The second remarkable result showed that Mn concentration in Fe-deficient roots of OJ did not increase. Normally Fe and the other metal elements such as Mn have antagonistic effects on root absorption. Mn absorption increases under Fe-deficient condition which may induce Mn toxicity. In this case, OJ regulated Mn concentration and maintained Fe and Mn balance in the Fe-deficient root.

Influences of Fe concentration in the water culture on the Mn absorption were studied under four different Mn concentrations in OJ. The concentration of Mn in the Fe-deficient roots could be maintained at similar level in Fe-sufficient roots until 5 μ M Mn treatment (10 times higher compared to the standard). When Mn in solution was 50 μ M, Mn concentration finally increased in the Fe-deficient root of OJ but

did not increase so high in the leave and still produced new roots and leaves. It was also found that OJ preferred lower Fe medium and still grew well under poor Fe medium. In this study, OJ was observed to be adapted to wide concentration ranges of Mn and still survived under high Mn concentration (50 μ M) and low Fe concentration in the medium.

The specific Fe-deficient tolerance responses of OJ were proven by increasing root biomass and regulating Mn accumulation. In calcareous soil, OJ was tested what kinds of functions do when soil pH was adjusted to 7.3 by amending with 10% CaCO₃ by weight and cultivated for 8 weeks. In the early stage of growth, OJ leaves showed of Fe-deficient symptom as well as the other micro nutrients such as Mn, Zn and Cu, simultaneously. However, OJ still produced new leaves even in chlorotic condition and changed to green day by day (regreening). On the contrary, Trifoliolate Orange (TO) hardly produced new leaves, and if new leaves came out, they could not change to green and sometimes dropped. Eight weeks in calcareous soil provided almost no decrease of shoot biomass compared to neutral pH soil. Remarkable root biomass increase was also observed in OJ under calcareous soil. These responses meant that OJ developed strategy to increase Fe absorption by lateral roots formation. Under calcareous soil, the DTPA soluble micro elements were higher and the pH was slightly lower in soil with OJ compared to that with TO. These results suggested that lateral root development could influence the soil environment. OJ can grow not only under low Fe but also other micro elements.

In conclusion, under Fe-deficient condition OJ increase root biomass, maintain Mn absorption and accelerate root FCR activity and proton extrusion. OJ does need high Fe in the medium. OJ increase root biomass in all Mn concentration and also maintain Mn absorption until 10 time's standard Mn concentration under Fe-deficient condition. OJ also increase root biomass under calcareous soil, can grow not only under low Fe but also other micro elements and can decrease soil pH.

Key words: iron deficiency, calcareous soil, Orange Jasmine, micro elements absorption, root biomass

Studies on the Ecological dynamics and searching of the infection-related factors of the virus infecting the harmful algae *Heterocapsa circularisquama*

Akihiro FUJIMOTO

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

有害赤潮原因藻 *Heterocapsa circularisquama* に感染するウイルスの
現場動態および感染関連因子の探索

藤本 章裕

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

赤潮は、しばしば水産生物のへい死や商品価値の低下を引き起こすため、水産業に対する驚異であり続けている。赤潮原因渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* は、貝類へい死の原因となる有害プランクトンであり、西日本を中心にその分布域を拡大しつつある。*H. circularisquama* 赤潮を予察・防除するためには、本種の生態学的特性および本種へのウイルス感染のメカニズムに関する詳細な理解が必要である。とくに水産の現場からは「赤潮防除」のための研究が強く求められており、天然の *H. circularisquama* 赤潮の盛期から消滅期にかけて起きるイベント、ならびにウイルス感染過程の詳細を明らかにすることで、赤潮の抑制技術開発に向けて有用な知見が得られるものと期待される。*H. circularisquama* とウイルスの関係性の総合的理解には、多様な視点からの精査が必要であり、本研究では2つの視点から研究を進めた。

第1章 新潟県加茂湖における *H. circularisquama* 赤潮とウイルスの生態学的関係

本種の発生北限である新潟県加茂湖において発生した *H. circularisquama* 赤潮について調査を行い、主に生態学的視点から宿主対ウイルスの関係を明らかにした。*H. circularisquama* 溶藻性ウイルス力価の測定し、*H. circularisquama* 細胞数と比較したところ、ウイルス力価の増減は、*H. circularisquama* 細胞密度の変動パターンと完全には一致しなかったが、全体的な傾向として両者間の密接な生態学的関係が推定された。さらに加茂湖から単離した62株の *H. circularisquama* と19株のウイルスはそれぞれ、同じ種でもウイルス感受性と感染性が異なるいくつかのパターンに分かれ、他海域でもみられる複雑な関係性が加茂湖でも両者の間で成立していることが明らかとなった。さらにウイルスゲノムのアミノ酸配列の比較から、ウイルスの構造タンパク質をコードするアミノ酸配列の違いがウイルスの感染性の特徴を決定づけるという従来の仮説を強く指示する結果を得た。以上の結果から、加茂湖には、他の海域と同様に、複数の宿主-ウイルス系が複雑に関係しながら存在することが明らかとなった。

第2章 *H. circularisquama* のウイルス感染に関与する RNA 因子の探索

現場環境中における両者の関係を踏まえた上でウイルスを利用した「赤潮防除」の可能性を論ずるには、*H. circularisquama* 細胞内においていかなる機構の下にウイルス感染が進行するかについても理解しておく必要がある。そこで第2章では、本種のウイルス感染に関与する RNA 因子の分子生物学的手法による探索を行った。

第1節ではウイルス感染させることで *H. circularisquama* 細胞の中で発現が変化する mRNA のスクリーニングを行った。その結果、感染時に特異的に発現量が増加もしくは減少する mRNA 配列が検出された。特に感染後の細胞では複数の *H. circularisquama* 遺伝子の発現量がウイルス接種後に格段に減少すること、さらに感染前には検出されなかった大型2本鎖 DNA ウイルスのカプシドタンパク質遺伝子と相同な配列等が感染後に検出された点が注目された。今回の実験で感染前後に発現量の顕著な変動が検出された mRNA

がコードするタンパク質の由来・種類・機能を精査することで、HcDNAVによる感染を受けた *H. circularisquama* 細胞内で進行する分子レベルのイベントの推定に向けたプラットフォームの構築が可能になるものと思われる。

第2節ではウイルス感染させた *H. circularisquama* 細胞の中で発現する機能性小分子 RNA として特に microRNA の探索を行った。その結果、9種類の配列が既知の miRNA と同一性を示した。これらの候補配列の一部は、褐藻・緑色植物・ヘルペスウイルス等の miRNA コード領域と顕著な同一性を示し、また特徴的なステム・ループ構造を持つことから、*H. circularisquama* 細胞内でのウイルス感染過程で発現調整等に係る何らかの機能を有している可能性が示唆された。

上述の通り、本研究では「生態学」および「分子生物学」という2つの視点から *H. circularisquama* とウイルスの関係性についての精査を試みた。総合考察では、この研究で明らかとなった *H. circularisquama* とウイルスの関係性を総括するとともに、得られた知見に基づきウイルスを利用した *H. circularisquama* 赤潮の防除の可能性についても展望した。本研究成果が、将来的な赤潮防除技術開発の一助になることを期待する。

キーワード： *Heterocapsa circularisquama*, HcRNAV, HcDNAV, cDNA, 機能性小分子 RNA

Effects of climate warming on soil respiration and microbial community in warm temperate evergreen broad-leaved forests of Japan

Xin WANG

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

日本の暖温帯常緑広葉樹林の土壤呼吸と土壤微生物群集に対する温暖化の影響

オウ シン

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Evergreen broad-leaved forest is the main natural vegetation type in the warm temperate zone of Japan. The potential land area of this forest type covers the western half of the Japanese Archipelago. Evergreen broad-leaved forest has a much higher carbon cycling rate than forests in cool climates. However, few data are available on the potential impact of climate change on evergreen broad-leaved forests.

The objective of this study is to elucidate the effect of climate warming on the soil respiration and microbial community (heterotrophic and rhizospheric) in the evergreen broad-leaved forest of the warm temperate zone of Japan.

In Chapter 2, I described an open-top chamber experiment that was conducted for 3 years to examine the effects of elevated CO₂ and temperature on soil respiration in experimental stands of *Quercus glauca*, an evergreen tree species common in the warm-temperate zone of Japan. Seedlings of *Q. glauca* were planted in open-top chambers and treated with ambient and elevated (ambient × 1.4, ambient × 1.8) CO₂ concentrations and ambient and elevated (+3°C) air temperatures.

Elevated CO₂ significantly increased the total soil respiration rate ($P < 0.001$) and the soil respiration rate at 15°C (R_{15}) ($P < 0.05$) but had no significant effect on the temperature-response coefficient Q_{10} . Although temperature significantly affected the total soil respiration rate ($P < 0.05$), neither the R_{15} nor the Q_{10} of total soil respiration was affected significantly by the air temperature increase. However, the Q_{10} of heterotrophic respiration was ($P < 0.01$) significantly affected by elevated temperature. The annual soil respiration rate, estimated from R_{15} , Q_{10} , and soil temperature data, tended to increase with elevated CO₂ concentration. These results suggest that the soil respiration rate in Japanese broad-leaved forests dominated by *Q. glauca* is sensitive to elevated CO₂ and is likely to increase under future climatic conditions.

The experiments described in Chapter 2 revealed that elevated temperature caused a significant change in the temperature sensitivity (Q_{10}) of heterotrophic respiration, which might have been caused by a change in the structure of the microbial community.

In Chapter 3, to elucidate the effect of climate warming on the soil heterotrophic microbial community in evergreen broad-leaved forests, a soil warming experiment was conducted in a natural secondary forest in Higashi-Hiroshima. Ten trench plots (1m × 1m) with barriers to prevent root regrowth were established in the forest. The plots were divided into warming and control treatments. Infrared heaters were used to increase the soil temperature of the warming plots by about 3°C for 3 years. Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis was used to examine the composition of the soil heterotrophic microbial community. There were no significant differences in the total content of PLFAs (TotPLFAs)

and fungal PLFAs (FungPLFAs) between the warming and control plots. However, warming caused an increase in bacterial PLFAs (BactPLFAs), resulting in a lower ratio of FungPLFAs to BactPLFAs (F/B ratio) in the warming plots. These results indicate that the soil heterotrophic microbial community in this evergreen broad-leaved forest is sensitive to climate warming.

The rhizosphere is generally defined as the narrow zone of soil directly adjacent to, and affected by, plant roots. Rhizodeposition is an important source of carbon for microbes in the rhizosphere. In order to elucidate the effects of climate warming on the rhizospheric soil microbial community of *Q. glauca*, I conducted an incubation warming experiment described in Chapter 4. Three incubators were used to create different temperature conditions (15, 18, and 21°C), and 40 *Q. glauca* seedlings growing in mesh bags (to separate rhizospheric soil from the bulk soil) were placed in each incubator. After 3 months, PLFA analysis was conducted to examine changes in the rhizospheric microbial community.

There were no significant differences in TotPLFAs in rhizospheric soil between the warming and control treatments. However, the FungPLFA contents in the warming treatments (18 and 21°C) were significantly higher than that in the control ($P < 0.05$). These results indicate that the soil rhizospheric microbial community associated with *Q. glauca* seedlings is sensitive to climate warming.

As described in Chapter 2, total soil respiration was significantly increased by elevated CO₂ and temperature. Although the effect on the heterotrophic respiration rate was not significant, the increased root respiration rate due to elevated CO₂ and temperature is an important mechanism by which climate change will affect the ecosystem carbon cycle of evergreen broad-leaved forests in the warm temperate zone. In addition, the temperature sensitivity of heterotrophic respiration was changed by elevated temperature, which may have been caused by alteration of the microbial community structure. The experiments described in chapters 3 and 4 suggest that predicted climate warming will alter the soil microbial community in the bulk soil and the rhizosphere of this type of forest. Although many questions remain, including the possible increase in productivity that could result from elevated CO₂ and temperature, these results and those of previous studies indicate that the soil respiration and microbial community in evergreen broad-leaved forests of the warm temperate zone may be significantly affected by climate change.

Key words: evergreen broad-leaved forest, soil respiration, microbial community composition, phospholipid fatty acid (PLFA), soil warming, warm-temperate zone

Studies on the cultivating and ripening method of Japanese apricot fruit for production of processed liqueur rich in functional and aroma components

Takaaki OE

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

機能性成分と香りに優れた梅酒製造のためのウメ果実の
栽培・追熟方法に関する研究

大江 孝明

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

ウメは他の果実のように、生果の糖、酸の含量や食味で評価されないが、近年、消費者の機能性成分への関心や、梅酒の消費の伸びに伴い、その品質についての関心が高まっている。本研究の目的は機能性成分と香り成分に優れた梅酒製造のため、ウメ‘南高’果実の栽培および熟度管理技術、果実の機能性成分が高まる栽培要因について明らかにすることである。

【第1章】 ウメの栽培・加工の現状と課題、ウメ果実およびウメ加工品の機能性成分に関するこれまでの研究、ウメ果実およびウメ加工品の香りおよび品質に関するこれまでの研究、ウメ加工品の品質向上に関するこれまでの研究を概説し、本研究の位置づけを明らかにした。

【第2章】 ウメ果実および梅酒の機能性成分を高める栽培要因と熟度管理技術について調査した。第1節では‘南高’が日光下では紅色に着色する点に着目し、紅色着色したウメ‘南高’果実はポリフェノール含量が多く、抗酸化能が大きいこと、果実の紅色着色やポリフェノール量には紫外光が重要な働きをすることが明らかとなった。果実周辺の枝葉を切除して3週間程度日光を当てると、紅色着色、ポリフェノール含量および抗酸化能が増加した。第2節では果実外観から判断して樹冠内層の果実の収穫時期を外層の果実よりも遅らせる現状の収穫方法について、果実の機能性成分含量等の面から効果を検証した。毛じの抜け具合を基準にして内層の果実の収穫を外層の果実よりも遅らせると、外観品質やいくつかの機能性成分含量が外層の果実と同等にまで向上することが明らかとなった。一方、ポリフェノール含量および抗酸化能は、内層の果実の収穫を遅らせるとかえって少なくなることが示された。第3節ではこのような収穫方法について、梅酒加工品の機能性成分の面から効果を検証した。毛じの抜け具合を基準にして内層の果実の収穫を外層の果実よりも遅らせて梅酒に加工すると、いくつかの機能性成分含量が外層の果実を用いた梅酒と同等にまで向上することが明らかとなった。

【第3章】 香りに優れた梅酒製造のための栽培および追熟方法について調査した。第1節では梅酒の香りを高め、苦み成分を少なくするための追熟条件について調査した。におい嗅ぎ分析により、熟した果実を原料とした梅酒の芳香に関与する成分の一部が γ -デカラクトン、 δ -デカラクトン、酪酸エチル、酢酸ブチルであると判断された。また、芳香を高め、青っぽい香気や苦みを抑えるためには、より熟した果実を収穫して、20℃で4日程度追熟させてから加工するのが良いことがわかった。第2節では原料果実の着果位置の違いが梅酒の香りおよび苦み成分に与える影響を調査した。毛じの抜け具合を基準にして内層の果実の収穫を外層の果実よりも遅らせると、梅酒の苦み成分のプルナシン、青っぽい香り成分の安息香酸エチルの含量を外層の果実を用いた梅酒と同等にまで低減できた。一方、芳香成分は、黄熟期（青果収穫終期の約3日後）では

内層の果実を用いた梅酒で少ない傾向であり、黄熟期の果実を用いてフルーティーな梅酒を作る場合では、内層の果実を用いた場合は芳香成分が少ない梅酒となることが示された。第3節では高い芳香成分を有する梅酒製造のための原料果実の熟度指標を調査し、'南高'果実を用いて製造した梅酒の芳香成分量の指標として、果皮色 b^* 値および果実硬度が利用できることが明らかとなった。

【第4章】 高い機能性成分および芳香成分を有する梅酒を製造するための熟度指標となることが明らかとなった果実硬度について、レオメータに代わる携帯型の硬度測定法を検討した。その結果、貫入式硬度計で測定した果実硬度は、収穫時期による硬度の違いや着果位置による硬度の違いを判断することができた。携帯型振動硬度計で測定した弾性指標によっても、貫入式硬度計と同様にこれらの硬度の違いを検出することができ、弾性指標はレオメータ値との相関が貫入式硬度計値と比べて強かった。弾性指標の算出には $Ed f_2$ (第2共鳴周波数²×横径²) を用いるのが適当と判断された。また、携帯型振動硬度計による $Ed f_2$ が10,000または $Ed f_3$ が17,000を下回った時期の果実、もしくは貫入式硬度計で2.2kgを下回った時期の果実を用いた梅酒は機能性成分含量が高い水準であった。よって、携帯型振動硬度計による弾性指標は機能性成分の多い梅酒を製造するための原料の指標となることが示された。

以上の結果をもとに、総合考察において、果実や梅酒の機能性成分および芳香成分を高めるための栽培技術および熟度管理技術のウメ生産現場での活用法と残された課題について考察した。

キーワード：ウメ、梅酒、機能性、香り、苦み、指標、硬度、音響振動法

Phytoplankton community occurring in the southern coast of Myanmar especially focusing on potentially harmful dinoflagellates

Su MYAT

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

ミャンマー南部沿岸に出現する植物プランクトン群集に関する研究；
特に有害渦鞭毛藻に着目して

ス ミヤ

広島大学大学院生物圏科学研究科, 739-8528 東広島市

Myanmar has been one of the world's top ten countries for capture fisheries. Meanwhile, concerns have been raised as to whether such growing fishing pressure is within the sustainable level of the productivity in this area. At the same time, due to the drastic economic progress, coastal development in Myanmar is proceeding at a rapid pace. These coastal developments might lead to coastal eutrophication and subsequent harmful algal bloom (HAB), such as red-tides and shellfish poisonings. For estimating ocean productivities and HAS risks, phytoplankton surveys are essential but none of them are conducted in the Myanmar waters. In this circumstance, to primarily understand phytoplankton community structure in the Myanmar coast, field surveys have been carried out in the foremost marine fishery area, Tanintharyi coastal region. Since the southwest monsoon (rainy season; June to October) is the main source of climatic variation in Myanmar, the surveys were conducted before and after the rainy season. Field surveys were conducted thrice (May 2010, December 2010 and March 2012) at around Kadan Island, off the Myeik City, and phytoplankton (both planktonic populations and cysts on the sediment) and oceanographic data (e.g. temperature, salinity and inorganic nutrients) were collected at the stations

From the planktonic samples, totals of 64 diatom species and 100 dinoflagellates species were listed. Diverse diatom species were mainly found in the December survey and the dinoflagellate species were rather in the May and March surveys. The massive occurrences of diatoms species in the December survey can be explained by; flooding of nutrient-rich terrestrial water into the coastal areas in prolonged rainy weather during the southwest monsoon, and drift of these terrestrial waters to the entire coastal area due to shift to the northeast wind. The diverse dinoflagellate occurrences in the May and March surveys were probably due to the oligotrophic environment in the late dry season. The results are surmised as; diverse occurrence of diatoms after the rainy season due to the extensive terrestrial water inflow to the ocean, and followed by luxuriant occurrence of dinoflagellates in the late dry season. The later was also explained by the unique oceanographic structure: The oceanic and neritic dinoflagellate species were found together in the May and March surveys, probably because oceanic waters from the Indian Ocean can mix with the coastal waters. Extension and mixture of both rich terrestrial water and oceanic water would largely contribute high ocean productivity in the Myanmar coast. Total of 44 dinoflagellate cyst types comprising 12 autotrophic and 32 heterotrophic types were found from the bottom sediments. High diversities of heterotrophic cysts were also characteristic of the Myanmar coast.

In this study, a total of 21 species of harmful dinoflagellates was identified. Among them, 10 species were reexamined with detail morphology and DNA (28s rRNA gene) analyses. Red-tide forming species such as *Prorocentrum micans*, *P. shikokuense*, *P. sigmoides*, *Alexandrium affine* and *Gonyaulax*

polygramma were confirmed. Shellfish poisoning causative species, paralytic shellfish poisoning (PSP) causatives such as *Alexandrium tamiyavanichii* and *Gymnodinium catenatum*, yessotoxins (YTXs) producing species of *Gonyaulax spinifera* and *Lingulodinium polyedrum*, diarrhetic shellfish poisoning (DSP) causatives species such as *Dinophysis caudata*, *D. rotundata*, and potentially okadaic acid (OA) producing species of *Prorocentrum rhathymum* were confirmed. These harmful species were mainly occurred in May and March, and these late dry seasons should be regarded as to potentially cause HAB events.

Actually, a notable red-tide was found on the March 2012 survey. This red-tide was noteworthy by comprising three different harmful dinoflagellate species of *P. rhathymum*, *P. shikokuense* and *A. affine*. To gain physiological basis of these species to form red-tide, the culture strains isolated from this red-tide water were subjected to growth experiments at four different temperature regimes (15, 20, 25, and 30°C). The results of *A. affine* exhibited low tolerant to the given low temperature (15°C), irrespective to its records in northern temperate region, hence this strain adapted to the tropical environment in Myanmar. *P. rhathymum* and *P. shikokuense* exhibited broad tolerance to the all given temperature ranges and rather high division rates, probably sufficiently to form dense blooms. Interestingly, *P. shikokuense* had its optimum temperature at 15°C, insisting the population might be derived from temperate zone.

In this study, dinoflagellate cyst population was also estimated in the Selangor district, west coast of Malay Peninsula, at where blood cockle cultures are being employed. The research was carried out under a multi-cooperative study of Japan and Malaysia, and would be also informative for Myanmar to know HAB expansion from or to the Myanmar coast, and as a future model of HAB risk management in shellfish culture fields. In the results, a total of 43 cysts types were found, and cysts of the PSP causative species (*G. catenatum* and *A. tamiyavanichii*) were detected among the populations. It indicates there is impeding PSP risks in the area and urgent need of the risk managements for safer marine food consumption.

In this study, detail lists of diatom and dinoflagellate species were firstly established in the Myanmar water. They are based on the latest taxonomic criteria with a large number of micrographs and expected to contribute future planktological research in the area. Moreover, the result showed there was a rich flora of harmful dinoflagellate species, especially in the late dry season, and the occurrence should be carefully monitored for sustainable development in the Myanmar fisheries.

Keywords: dinoflagellate, red-tide, Myanmar, shellfish poisoning, primary producer

Improvement of methods for assessing insolation conditions in intermediate and mountainous and slope areas

Keiichi SATO

*Western Region Agricultural Research Center, 6-12-1 Nishifukatsu-cho,
Fukuyama-shi, Hiroshima 721-8514, Japan*

中山間・傾斜地域における日照環境評価手法の高度化

佐藤 恵一

近畿中国四国農業研究センター, 721-8514 広島県福山市西深津町 6-12-1

中四国地域に広く分布する中山間・傾斜地域では、冷涼な気象条件を活用した高収益特産物の開発を目的として、周年栽培を行う園芸施設の導入が進みつつある。作期の拡大に伴い、従来まで夏場の水田作を主たる対象として開発されてきた日照環境評価手法では対応できない日照問題が生じている。秋冬季には太陽高度が低下するため、農地周辺に分布している樹林域による直達日射の遮蔽が著しい。また、多くの盆地では秋季に盆地霧が発生するため、午前中の日照時間が極めて短い。これらの要因が複合した劣悪な日照条件のため、秋冬季の施設園芸で生産物の品質低下等の問題が生じている。この問題について定量的に解析し対応策を講じるためには、従来の日照環境評価手法をベースとしつつ秋冬季の問題にも対応可能な新たな解析手法が必要である。

本研究は、これらの新たな必要性に対応する解析手法を構築するための基盤研究として、樹林域による直達日射の遮蔽の影響を3DモデルやGISデータを用いた解析によって明らかであることを立証した。また、気温の変化特性を定量的に評価する手法を開発し、秋季に盆地霧が発生する地域を気温データにより抽出可能であることを示した。

第1章 緒言

本章では、まず本論文の研究対象地域である中国中山間地域・四国傾斜地域の地形・地理・気象条件について、特性を概説した。この地域で周年栽培用ハウスの導入が進んでいる背景を示すとともに、樹林域や盆地霧によって日射を遮蔽される農地が多く存在することを示し、ハウス栽培管理への負の影響が問題となっていることを指摘した。こうした状況を改善するため、樹林域や盆地霧による日射の遮蔽を定量的に解析する手法を開発することの重要性を指摘した。

第2章 既往の研究成果

本章では、中山間・傾斜地域における日射環境評価に必要な基盤的な手法や技術が開発された経緯に関して、重要な既往研究についてレビューをした。まず、日射量の推定方法に関する既往の関連研究成果をレビューし、従来の研究では樹林域による日射の遮蔽が解析されていないことを指摘した。次に、盆地霧に関する既往の関連研究成果をレビューし、従来の研究が個別の霧発生地点の解析にとどまり、霧発生域全体を共通的な指標で解析する手法が無いことを指摘した。また、多くの研究で、霧の発生によって日射だけでなく気温も変化することが示されているものの、気温の変化に着目して霧の影響を評価した研究はない点を指摘し、霧発生域で蓄積された多くの気温データを活用することの有用性を指摘した。気温の変化を効率的に解析するためには近似手法の利用が有効であることを指摘し、気温変化の近似に関する既往の関連研究成果をレビューした。

第3章 斜面上における直達日射の遮蔽状況のモデル解析

本章では、斜面上における直達日射の遮蔽が著しくなる要因をモデルで明らかにした。傾斜地域における農地の日照分布は、斜面上部に存在する地形や樹林域の存在に強く支配されている。この影響について、幾何学的に単純化された斜面を仮定し、斜面上の樹林域による直達日射の遮蔽状況を3Dモデルで解析し、直達日射が遮蔽される領域の分布と、樹林域の高さや幅、斜面の傾斜角や斜面方位、季節変化との関係を明らかにした。また、斜面上に存在する地形や樹林域の分布を幾何学的に単純化した上で、その形状や配置によって直達日射遮蔽領域や遮蔽される直達日射量の分布がどのように変化するかを明らかにした。

第4章 樹林域周辺農地における日照条件の評価手法の開発

本章では、第3章の解析結果による知見をベースとして、四国の傾斜地域に立地する花き農家を事例対象として、農地周辺の地形や樹林による日射の遮蔽状況を評価した。この解析においては、地理情報システム(GIS)で作成された地形・土地利用データを導入することにより、既存の研究では評価が不可能だった農地周辺に存在する地形や樹林域による直達日射の遮蔽量の評価が可能となることを示した。秋冬季に直達日射の遮蔽が著しい農地において、周辺樹林域を伐採した場合における日陰領域の変化が推定可能であることを示した。

第5章 盆地霧による日射の遮蔽がおこる地域の抽出手法の開発

本章では、気温の変化特性を解析することにより、盆地霧による日射の遮蔽がおこる地域を抽出できることを示した。中山間・傾斜地域には、三次盆地や大洲盆地に代表される盆地地形が広く分布しており、それらの盆地では、秋冬季に霧が発生することにより日射が遮蔽される日が続く。霧が発生することにより、日射が遮蔽されるとともに、日の出後の気温上昇が抑制される。これまで注目されてこなかった日の出後の気温上昇抑制に着目し、気温上昇の時間遅れを、S字型関数を用いた近似によって定量的に評価する手法を開発した。さらに、開発した手法を、近畿・中国・四国地域内の152箇所のAMeDAS観測点における気温データに適用し、気温上昇の時間遅れに基づいて、この地域内の代表的な霧発生地域の抽出が可能であることを示した。また、津山観測点の観測データを用いて、気温上昇の時間遅れと、霧による日照時間減少が関係することを事例的に明らかにした。両者の関係を定式化することができれば、時間遅れを表す係数を用いて霧による日照時間の減少を評価できるようになる。これにより、AMeDAS観測点以外の気温観測点における過去のデータ蓄積を活用して、より詳細な霧発生域の分布を推定することも可能になる。

第6章 総合考察

本章では、本研究の学術的意義、中山間・傾斜地域における農業への貢献、残された問題について示した。中山間・傾斜地域に位置する農地の日射環境を評価する上で、霧および樹林域の影響評価に関する研究が遅れていることを示すとともに、本研究で提示した解析手法の新規性と有用性を示した。次に、中山間・傾斜地農業における本研究成果の活用場面について具体例を述べた。最後に、未解決の問題点と今後の展望について示した。

キーワード：直達日射，GIS，盆地霧，S字型関数

Studies on introduction and establishment of marine and brackish benthic aliens introduced to Japan via ships

Michio OTANI

Nara 630-8045, Japan

船体付着によって日本へ導入される海産・汽水産外来種の侵入と
定着に及ぼす条件に関する研究

大谷 道夫
630-8045 奈良市

近年の経済活動の活発化は世界的規模で急速な外来種数の増加を招き、人や生態系へ及ぼす影響も大きなものになっている。外来種の影響を回避する方法はその侵入を未然に防ぐことである。海産・汽水産外来種の導入手段は古くから船体付着であるとされて来たが、海面利用が多様化した現在でもその重要性に変わりはない。今では、これにバラスト水が加わって世界の外来種の半数以上が、船舶に由来するこの二つの手段によって各国へ侵入したと推定されている。外来種の侵入を水際で食い止めるために重要なことは、船舶が運ぶ海洋生物を減らす対策を講ずることである。次いで重要なことは侵入した外来種の分布拡大を阻む対策である。そのためには侵入した外来種がどのような条件で分布を拡大して行くのか、そのメカニズムを明らかにしなければならない。本研究は日本の外来種に関するそれらに関連した個々の研究を取りまとめ、外来種の侵入とその分布拡大を防ぐ方法について考察することを目的とした。

現在、日本では非意図的に導入された39種の海産・汽水産外来種が記録されているが、そのうちの60.9%は船体付着によると推定され、バラスト水は15.2%であった。日本へ侵入した外来種の導入手段として際立っているのは船体付着で、もっとも注目すべき導入手段である。日本の場合はバラスト水によって侵入したと推定される種は少ない。バラスト水の中の生物はその保持期間が長くなるほど死滅個体が増えることが知られているが、日本でバラスト水による外来種の侵入が少ないのは、日本へ入港する外航船舶内に保持されるバラスト水の保持期間が長いためである。日本の港へ排出されるバラスト水中の生物の多くはそれがバラスト水と一緒に排出される前にすでに死滅してしまっているのである。日本の港へ寄港する船舶のバラスト水保持期間が長いのは日本が鉱物資源や穀物の輸入国であることと関係しており、寄港する船舶の種類とその運用に依存した結果である。日本へ侵入した外来種の起源地としては、北西太平洋および北東太平洋、北西大西洋、東アジア海であるが、距離的に近く近年貿易が増えている北西太平洋は、ここを起源地とする外来種が増える可能性があるため注意すべき所である。この海区内には日本と共通の外来種も多くみられ、イギリスで見られるような二次的な外来種の侵入も多くあると考えられることから、そのような外来種の動向にも注意をしなければならない。

船舶が船体付着したまま運ぶフジツボ類が外来種となる可能性を評価するため、大阪湾奥部の港へ寄港した2隻の外航船舶を調査した。調査はフジツボの付着が見られた船首部、船体中央部、船尾部の3か所で行ったが、それぞれの場所でフジツボ種を記録するとともに、量的な指標として、付着したフジツボ類をおおよその個体数でランク分けし、種ごとにランクで記録した。調査の結果、22種のフジツボ種が記録されたが、出現種数、個体数とも船首と船尾で多く、船体中央部で少ない結果となって、船体の位置によってフジツボ類の付着には差がある様子が明らかになった。22種のうち大阪湾でこれまで記録がなかったものは14種に上り、大阪湾への外来種候補とみなされた。14種について環境類似性に基づく侵入リスクアセスメントを行った結果、大阪湾と同一の気候帯に分布し、大阪湾に近い塩分濃度や波あたりの海域に生息する

Austrominius modestus と *Amphibalanus variegatus* が大阪湾奥部で外来種となる可能性がもっとも高い。次いで、隣接する気候帯に分布し何らかの理由で水温上昇が起これば外来種となる危険性を有する *Megabalanus tintinnabulum* も侵入可能性がある外来種候補としてあげられた。本種は殻底径が65mmに達する中型種であるため、汚損動物となる恐れがある。外来種の侵入を予測する本リスクアセスメント法は他生物への応用も可能であり、外来種の侵入を水際で食い止めるための対策を考える上で重要な資料となる。

1997年、大阪湾岸の人工護岸で付着生物調査を行って5種類の多毛類 *Hydroides* 属を発見した。1種は北米大西洋岸を原産地とするナデシコカンザシゴカイ *Hydroides dianthus* であることが明らかになった。本種の大阪湾での分布は場所ごとに、水深ごとに変化しており、場所では湾奥部で、水深では0mよりも深いところで多くなる傾向を示した。このような分布傾向が生ずる原因を調べるため、水温や塩分、溶存酸素などを環境要素として、また、生息場所を巡り競合する種の存在を生物要素として取り上げ、それらとナデシコカンザシゴカイ分布との関係を調べた。塩分、海藻現存量とコウロエンカワヒバリガイ *Xenostrobus securis* 個体数がナデシコカンザシゴカイ個体数との間に有意な負の相関を示し、ナデシコカンザシゴカイの分布に影響を及ぼす様子が明らかになった。30を超える塩分はナデシコカンザシゴカイの成長に悪い影響を及ぼすためその分布を制限する要因となり、塩分がそれ以下で分布制限要因とならないところでは、コウロエンカワヒバリガイの存在がその繁殖戦略を通してナデシコカンザシゴカイの分布を制限する要因になっている様子が示された。今後はナデシコカンザシゴカイの例を参考にしながら、侵入した外来種の分布拡大が起こるメカニズム解明へ繋げて行くことが必要である。

バラスト水による外来種の侵入を防ごうとバラスト水管理国際条約が2004年にIMOで採択された。この条約は2013年1月現在、発効に至っていないが、日本のようなバラスト水輸出国は一日も早い条約発効へ向けた努力をする必要がある。現在は船体付着による外来種の侵入を防ぐための議論がIMOの場で行われており、ガイドラインとして適用される可能性が高い段階になっている。このガイドラインは全船舶に新たな生物除去技術を含む防汚システムを導入して船体付着を防ごうというものであり、効果的な防汚システムの開発とその適用が議論の中心となっている。船体付着による外来種の侵入を防ぐためには、効果的な防汚システムの開発とあわせて船舶の運航形態など船舶が持つさまざまな事情を考慮したリスクアセスメント手法の確立も必要である。リスクアセスメントによって外来種をもたらすリスクの高い船舶を絞り込むことができるならば、全船舶に一律に防汚システムを適用する必要はなく経済的で効率的な外来種侵入リスクの低減を行うことができる。

このような侵入対策を用いても、さまざまな手段で侵入する外来種のすべてを水際で防ぐことは不可能である。従って、侵入した種に対しては、外来種の分布制限要因を明らかにすることが大切である。それによって新たな分布可能域の推定ができ、そこでの事前監視を強めるとともに外来種の侵入に備えた対策を講ずることが可能となる。

キーワード：外来種，導入，船舶，フジツボ，リスクアセスメント