

2019年度博士学位論文

Doctor Theses in the 2019 Academic Year
(April 2019 - March 2020)

博士（学術）学位論文 16名

課程修了による博士学位

資源循環学専攻

氏名	藤井 琢馬
学位記番号	生博 甲第311号
学位記授与の日付け	令和元年7月17日
学位論文題目	カリウム高濃度施与によるナバナ (<i>Brassica napus</i>) の品質向上機構の解明 (Quality enhancing mechanisms by excess potassium application in the rapeseed <i>Brassica napus</i>)
論文審査委員	主査 教授・奥田 均 教授・山田 佳廣 教授・梅崎 輝尚 准教授・名田 和義 三重大学名誉教授 平塚 伸

要 旨

三重県の伝統野菜であるナバナ（セイヨウアブラナ；*B. napus*）は、ミネラルやビタミン類を豊富に含む栄養価の高い緑黄色野菜であり、三重県は、「三重なばな」としてのブランド化や品種育成を進めてきた。近年、消費者の健康への関心が高まり、農産物の健康機能性成分に注目が集まっていることから、アブラナ科植物特有の抗ガン作用性物質であるグルコシノレートを含む機能性成分含量を高め、品質を向上させる栽培方法の確立がナバナの生産振興を図る上で非常に重要である。一方で、ナバナの施肥体系は油料作物であるセイヨウアブラナを基本としており、緑黄色野菜としての品質向上に最適な施肥条件は確立されていない。

そこで、本研究では、カリウム（K）を通常よりも高濃度で施与することによってナバナの機能性成分含量を高める技術を明らかにした。

まず、ナバナの品質を高めるための最適な窒素（N）施与条件を解明するために、水耕栽培において施与Nの $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比を10:0, 7:3, 5:5, 3:7および0:10に設定し、ナバナの生育および品質を調査した。生育については、10:0から3:7までは NH_4^+ の比率を高めることにより新鮮重が高まった一方で、0:10では生育が著しく低下した。クロロフィルおよび β -カロテンについては、 NO_3^- あるいは NH_4^+ の単用と比較して混用した培養液で栽培したナバナでは有意に増加した。また、健康へのリスクが指摘される NO_3^- 含量は培養液の NH_4^+ の比率が高まるほど減少し、0:10ではほとんど検出されなかった。これらのことから、ナバナの栽培には NO_3^- および NH_4^+ を単用するよりも混用して施与した方が適していることが明らかとなり、生育面や緑黄色野菜としての品質面を考慮した最適な $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比は1:1であると判断した。一般に、作物の生育は強い塩ストレス下で阻害

されるが、多くのアブラナ科野菜は塩耐性が強く、軽度の塩ストレスでは生育や品質を高める場合がある。アブラナ科野菜であるナバナにおいても収量や品質を高める栽培法としてナトリウム (Na) などの施与効果が考えられる。そこで、ナバナの生育及び品質に及ぼす NaCl 施与の効果を検証するとともに、生産現場での利用を目指して、土壌への塩類集積が懸念される NaCl の代替として KCl 施与の効果を調査した。上述の比率で調整した培養液に 20mM および 100mM の NaCl および KCl を添加して水耕栽培したところ、100mM の NaCl および KCl ではナバナの生育が半分程度に抑制されたが、20mM の NaCl および KCl 施与では生育の抑制がみられなかった。生育抑制がみられない 20mM の NaCl 施与では、グルコシノレート含量が増加し、同濃度の KCl 施与ではグルコシノレートに加えて β -カロテンやクロロフィル含量も増加した。これらの結果から、K 高濃度施与はナバナの生育を維持しながら品質を向上させる有効な施肥方法であることが明らかとなった。

次に、K の高濃度施与が生産現場において品質、収量の点から有効であるかを調査するため、経済栽培されているナバナ園において実証試験を行った。実証試験では KCl の多用による塩化物イオンの土壌への悪影響を避けるため、ケイ酸加里肥料を通常の施肥に加えて追肥することとし、ナバナの品質に及ぼす影響を調査した。200kg・10a⁻¹

のケイ酸加里施与により生育初期ではグルコシノレートおよび β -カロテン含量が増加し品質が向上したものの、生育後半には品質向上効果は認められなかった。

さらに、収穫物の食味の官能試験を行ったところ、ケイ酸加里施与区のナバナのおいしさの総合評価が高まり、食味が向上した。これらの結果から、ケイ酸加里肥料による K 高濃度施与がナバナの品質を向上させることが明らかとなった。

また、KCl の高濃度施与によるグルコシノレートおよび β -カロテン含量の増加には栽培時期による差がある可能性が示された。そこで、水耕栽培したナバナの品質を夏季栽培 (8 月収穫) と一般的な冬季栽培 (12 月収穫) 間で比較した上で、各時期における KCl 高濃度施与効果を調査した。その結果、グルコシノレートおよび β -カロテン含量は夏期より冬期栽培で低いこと、さらに、これら機能性成分含量が少ない冬季栽培において KCl を高濃度で施与すると両成分の含量は増加することが明らかになった。以上のことから、K の高濃度施与は、グルコシノレートおよび β -カロテン含量を高めるというよりはむしろ、冬季栽培のようにこれら成分の含有量が低下する条件下でその低下を緩和させる効果があると推察された。

以上の結果から K の高濃度施与は冬季のナバナ栽培において品質を高める栽培法であることが確認された。

資源循環学専攻

氏名	Ki Ageng Sarwono
学位記番号	生博 甲第 312 号
学位記授与の日付	令和元年 7 月 17 日
学位論文題目	Effects of “phloroglucinol”, an anti-methanogenic agent, on in vitro rumen methanogenesis (インビトロでのルーメンメタン生成に対する抗メタン生成剤フロログルシノールの影響)
論文審査委員	主査 教授・松井 宏樹 教授・山田 佳廣 教授・梅崎 輝尚

要 旨

Domesticated ruminants have a important role in human life. They provide food and clothing for human use by converting non-edible resources for human such as plant fiber and non-protein resources to edible food such as meat and milk, as well as clothing, such as wool and leather. Ruminants, however, are major contributors of methane (CH₄) emission. Ruminants mainly emit CH₄ as a result from digestion of feed. Rumen microorganisms digest structural carbohydrate in the feed resulting in H₂ and CO₂. These compounds were used by methanogens to produce CH₄.

One of the strategies to reduce CH₄ emission from rumen is to add a compound that can be an alternative H₂ sink agent and redirect H₂ utilization from CH₄ to SCFA production. Addition of the compound may create H₂ starvation for methanogen and may lead to less CH₄ production. Phloroglucinol is a natural product of rumen metabolism of tannin. Previous study had shown that several rumen bacteria were able to reduce phloroglucinol to acetate by using H₂. This finding showed that phloroglucinol may be able to be used as an alternative H₂ sink agent. However, the effect of manipulation on rumen fermentation in vitro by using phloroglucinol is not known. Therefore, this study was aimed to study the effect of phloroglucinol in CH₄ mitigation strategy.

In the first study, the experiment was designed to

determine the effect of phloroglucinol alone on CH₄ emission, rumen fermentation profiles, and rumen microbial population density. The incubation was conducted by using substrate only as control and 5 different dose of phloroglucinol. The result showed that 10 mmol/L phloroglucinol reduced CH₄ production by 15.0%. Total gas production, dry matter digestibility (DMD), CH₄/total SCFA, and NH₃-N were simultaneously reduced by phloroglucinol, but it has no effect on total SCFA concentration. Acetate increased at the expense of propionate. This might indicate the redirection of H₂ utilization from CH₄ to acetate, and might be related to CH₄ reduction. Phloroglucinol had no effect on methanogen, but it reduced the population density of *R. albus*.

In the second study, the effect of phloroglucinol and forage to concentrate (F:C) ratio on CH₄ emission, rumen fermentation profiles, and microbial population density was investigated. The treatments were 0, 6, 10 mmol/L phloroglucinol, and two different F:C ratio, low and high F:C ratio. The result showed that phloroglucinol reduced CH₄ significantly in both diet. However, there were not any effect of F:C ratio and F:C + phloroglucinol on CH₄ production. Acetate proportion in both diet increased by addition of phloroglucinol. DMD, NH₃-N, and methanogen relative quantity were reduced by phloroglucinol. Phloroglucinol significantly affected total SCFA production in both

diet. The reduction of CH₄ by phloroglucinol was probably related to simultaneous reduction on methanogen relative quantity and DMD.

In conclusion, phloroglucinol is able to reduce CH₄ production in the rumen *in vitro*. It might

change the fermentation of the rumen by redirecting H₂ utilization to SCFA production. However, the reduction of CH₄ was followed by simultaneous reduction of digestibility.

資源循環学専攻

氏名	Sri Een Hartatik
学位記番号	生博 甲第 313 号
学位記授与の日付	令和元年 7 月 17 日
学位論文題目	Urban Green Space for Children: Identifying and Assessing the Green Space for Elementary School Children in Malang, Indonesia (子どものための都市緑地：インドネシア・マランにおける小学生のための緑地の特定と評価)
論文審査委員	主査 教授・石川 知明 教授・松村 直人 教授・松田 陽介 准教授・板谷 明美

要 旨

都市の緑地は、人口増加と土地開発が進む発展途上国の子どもたちの心身の健康にとって大変重要な場所である。インドネシアのマラン市は、他のインドネシアの地域と同様に近年の経済成長と人口増加によって、都市の緑地は大きく減少したと予想される。そこで、本研究では、マラン市を対象に衛星画像を用いて緑地を検出し、子どもたちの周辺の緑地の現状を把握した。さらに、都市の緑地の利用実態について子どもとその保護者に対してアンケート調査を行い、緑地の利用を推進するための方策について議論した。

2015年5月20日に取得された衛星画像 RapidEye (5m 解像度) を用い、最尤法により緑地を検出し、291校の小学校の半径 1km 円内の緑地面積と緑被率を算出した。市内の総緑地面積は 45.439km² で、緑被率は 41.3% であった。小さな面積の緑地は市の中心部に分布し、大きな面積の緑地は市の南東部に分布した。半径 1km 円内の緑被率が 15% 未満の小学校が 96 校存在し、約 200 校は 30% 未満

の緑被率であった。この結果から、マラン市の小学校から徒歩圏内には緑地が少ないことが明らかとなった。また、緑被率が低い小学校ほど市の中心部に位置する傾向があった。市内の緑地の維持をするための対策を検討し、子どもたちが緑地を体験できる機会を増やすためのプログラムを作成すべきであると結論付けられた。

5 小学校の子どもとその保護者に各 150 のアンケートを配布し、子どもから 147 件、その保護者から 145 件の回答が得られた。アンケートの分析の結果、調査したマランの小学校の周辺には緑地がほとんどなかったが、子供たちは屋外で遊ぶことを好んだ。しかし、子供たちは公園や空き地などの手入れの行き届いた場所や平坦な場所で過ごすことを好んだ。緑地を利用を推進するためには、公園内に十分な植生を創造し、緑地に関わる魅力的なプログラムを提供することが重要であると考えられた。また、環境教育プログラムを開発するための企業との協力は効果的と示唆された。

資源循環学専攻

氏名	Mirza Antoni
学位記番号	生博 甲第 314 号
学位記授与の日付	令和元年 7 月 17 日
学位論文題目	Development and Subjects of Processing and Marketing Units as Organized Marketing System for Rubber Smallholders in Indonesia (インドネシアにおける小農によるゴムの共同販売組織の展開と課題)
論文審査委員	主査 教授・波尋野 豪 教授・松村 直人 教授・常 清秀 准教授・野中 章久 名古屋大学大学院生命農学研究科 教授・徳田 博美

要 旨

インドネシアは世界有数の天然ゴム生産国であるにも関わらず、農家の販売価格はほかの生産国と比べて低位に留まっている。その要因として、旧態依然とした仲買人を介した流通システムと流通過程で適切な品質評価がなされないために、農家の品質向上のインセンティブが低いことが指摘されている。そのため、インドネシア政府は農家の共販組織である Processing and Marketing Units (PMU) の設立を奨励してきた。しかし、PMU の設立は低い水準に留まっている。

そこで、本研究では、PMU の農家所得向上の効果を実証的に明らかにするとともに、農家が PMU に参加しない要因を農家調査から検討した。調査対象地においては、PMU 農家は PMU 非参加農家と比べて、販売価格が高く、生産量も大きいことから、所得が上回っており、PMU がゴム

農家の所得向上に貢献していることが示唆された。一方、ゴム価格は品質向上以上に高くなっているため、ゴム加工業者にとっては PMU を通じた調達は、必ずしも有利とはいえず、PMU が増加しない背景には、ゴム加工業者が必ずしも積極的でないことが考えられる。

ゴム農家が PMU に参加しない要因を農家調査から分析すると、仲買人に借金のある農家が多く、彼らは実質的に仲買人へのゴム販売を強いられていることがある。また、PMU への参加の有無と農家の社会経済的屬性との関係を分析すると、農家の教育水準が最も大きく影響していることが明らかになった。PMU を発展させ、ゴム流通の近代化を図っていくためには、資金、教育を含めた総合的なゴム農家支援策に取り組んでいくことが重要である。

生物圏生命科学専攻

氏名	富田 寿男
学位記番号	生博 甲第 315 号
学位記授与の日付	令和元年 7 月 17 日
学位論文題目	Studies on biofuel production from agricultural wastes by utilizing <i>Clostridium cellulovorans</i> (<i>Clostridium cellulovorans</i> を活用した農業系残渣からのバイオ燃料生産に関する研究)
論文審査委員	主査 教授・田丸 浩 教授・荻田 修一 教授・木村 哲哉

要 旨

石油に代表される化石燃料から得られるエネルギーは、人類に欠くことのできないものとなった。その一方で化石燃料から排出される二酸化炭素による地球温暖化問題から、カーボンニュートラルなバイオ燃料への転換が求められている。さらに、これまでのバイオ燃料はトウモロコシなどを原料としたバイオエタノールが中心であったが、食糧と競合しない非可食バイオマスを原料とする第二世代バイオ燃料研究が進められている。しかし、トウモロコシのような食糧と異なり非可食バイオマスの収穫・集荷の物流は確立されておらず、バイオ燃料プラントを稼働させるためには、原料物流から構築しなければならないことも第二世代バイオ燃料普及の妨げになっている。

植物細胞壁はセルロース、ヘミセルロース、リグニンなどから構成された強固な構造体を形成しており、容易に分解・糖化することができず、非可食セルロース系バイオマス利用の課題の一つである。中温性嫌気性細菌 *Clostridium cellulovorans* は「セルロソーム」と呼ばれる酵素複合体を生産することが特徴で、さらにノンセルロソームな酵素も分泌する。セルロソームとノンセルロソームな酵素の多様な組み合わせにより、高い植物細胞壁分解能力を有することで知られている。

そこで本研究では、バイオマスとして農業系残渣に着目した。すなわち、農業系残渣は非可食バイオマスであり、すでに一箇所に集荷されている。バイオ燃料化のプロセスが確立できればすぐに社会実装が可能で、第二世代バイオ燃料普及の起爆

剤と成り得ると考えた。みかん果汁は世界中でもっとも飲まれている果汁の一つで、みかん果汁工場では大量の皮と搾汁粕が発生する。これらみかん果汁残渣は非可食セルロース系バイオマスで可溶性糖を残存しており、有効なバイオ燃料の原料であるにもかかわらず、多くは産業廃棄物として処分されている。一方、柑橘類の皮はペルテノイド系油成分リモネンを含有し、リモネンは微生物への生育阻害が報告され、酵母による残存糖のエタノール発酵が行えない。*C. cellulovorans* と同じ中温性嫌気性細菌である *Clostridium beijerinckii* は IBE 発酵菌として知られている。*C. beijerinckii* がリモネンを含む糖液からブタノール発酵できれば、酵母では不可能であったみかん果汁残渣からのバイオ燃料生産が可能になる。そこで、グルコース 2% (w/v) 含むリモネン濃度 0~0.1% (v/v) の液体培地で *C. beijerinckii* を 72 時間培養し、生成したアルコール濃度を測定した。その結果、リモネン濃度 0.05% 以下であればリモネン濃度 0% と同等のアルコール生産が可能であった。酵母 *S. cerevisiae* を同様のリモネン濃度で培養したところ、リモネン濃度 0.02% 以上ではリモネン濃度 0% と比べてエタノール生産が有意に低く、*C. beijerinckii* はリモネン含有に対して優れていた。さらに、残存糖だけでなく皮や絞り粕も糖化してアルコール発酵するために、同様のリモネン濃度における *C. cellulovorans* によるセルロース分解実験を行った。培養開始 8 日後にリモネン濃度 0% において全糖量の 76% が減少したが、リモネン濃度 0.01% 以上では 25% の減少と 1/3 程度しか分解が進まなかった。しか

し、その後も全糖量は減少し続け、61日後にはリモネン濃度 0.05% 以下であれば全糖量の約 95% が分解され、リモネンによって *C. cellulovorans* のセルロース分解活性が失われることはなかった。この結果をもとに、市販の温州みかんをジュースで絞り、皮と絞り粕の *C. cellulovorans* による分解を試みた。16 日間培養後、全糖量の 85% が分解され、その培養上清に *C. beijerinckii* を植菌したところ、絞り粕乾燥重量に対するアルコール収率は 0.046 (g/g) であった。

上記のエタノールやブタノールなどの液体燃料はガソリン代替を目的としていたが、製造工場消費する天然ガスを代替するのであれば、バイオマスをバイオガスに変換することも一つの選択肢となる。そこで、製糖工場残渣であるシュガービートパルプからの糖化-メタン発酵実験を行った。メタン発酵はメタン生成古細菌を含む微生物叢に

よる複合発酵プロセスであり、そのメカニズムの詳細は解析が困難で不明な点が多くあった。そこで、次世代シーケンサを用いてメタン発酵微生物叢の菌叢解析を行い、メタン生成古細菌 *Methanomicrobia* らの存在を明らかにした。構成が明らかとなったメタン発酵微生物叢と *C. cellulovorans* を組み合わせた複合微生物系にて、バイオマス分解とガス生成を一つのタンクで同時進行させた。シュガービートパルプを基質とした培地における 11 日間培養で全糖量の 86% が減少し、シュガービートパルプ乾燥重量収率 34 (L/kg) のメタンを含むバイオガス生成を実現した。以上、メタン発酵微生物叢の変動を次世代シーケンサで解析することによって、*C. cellulovorans* に影響を与える微生物の存在とその要因を見出すことが可能となった。

資源循環学専攻

氏名	Indra Fardhani
学位記番号	生博 甲第 316 号
学位記授与の日付	令和元年 9 月 18 日
学位論文題目	Elucidation of factors affecting epiphytic orchid community in <i>Schima wallichii</i> (DC.) Korth. (Theaceae) trees in a montane forest in West Java, Indonesia (インドネシア共和国西ジャワ州の山地帯林におけるイジュ (ツバキ科) に着生するラン群集に影響を及ぼす要因の解明)
論文審査委員	主査 教授・木佐貫博光 教授・松田 陽介 教授・中島 千晴 准教授・鳥丸 猛

要 旨

着生ランは、種数が 18,000 種にも達するとされる、維管束植物で最大のグループである。ランを含む着生植物の多くは、それらがホストとする樹木の利用可能性に依存するため、絶滅の危機に最も瀕した植物群である。本研究では、アグロフォレストリーによって保護林での森林利用が活発化しているインドネシア共和国西ジャワ州の山地帯林において、樹木に着生するラン群集について、そのホスト樹木のひとつツバキ科イジュ (*Schima*

wallichii (DC.) Korth.) に着生するランの個体数、種数、種多様性、ならびに階層ごとに分けた分布様式などに影響を及ぼす要因を解明するために、樹木のサイズや周囲樹木密度などが計測された。40 個体のホスト樹木に、合計 39 種、1,731 個体の着生ランが確認された。サイズおよび枝数は、着生ランの個体数と種数に対して有意に正の影響を及ぼしていた。イジュは、着生ランが生育しやすい数多くの枝を発達させるため、着生ラン群集に対して非常に重要なホストとしての役割を担う

ものと推察される。これ以外に、枝数、樹冠の深度などの宿主樹木に備わった要因や、着生する他の植物群の個体数などの生物的要因が、着生ランの個体数と分布に影響を及ぼしていた。これらことから、大きい樹冠をもち、枝数密度の高いイジュ個体を保護することが、着生ランを保全するために効果的であることが示された。さらに、宿主樹木に備わるこれらの特徴のみならず、宿主樹木周囲に生育する樹木は、宿主樹木にとっての競争者であるため、宿主樹木周囲の樹木本数密度は、着生ラン群集に負の影響を及ぼしていた。緩斜面で周囲木密度が低い条件のイジュを着生ランの宿主として保護することが、着生ランの保全にとって効果的だと推測される。さら

に、森林からコーヒー畑への改変、違法伐採、ランを含めた価値のある植物の違法採集などが行われていることなどの問題点を解決し、野生ランを保全しつつ森林利用を行うための方法を検討するために、森林管理者、農家集団や地域住民などを対象にインタビューおよびアンケート調査を行った。その結果に基づいて、森林の戦略的経営方法のSWOT (Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats) 分析を行った。SWOT 分析の結果に基づいて提案された複数の戦略は、地域住民のためだけでなく野生ランおよびそれらの宿主樹木のために、森林管理を担うステークホルダーが森林を持続的に管理するための選択肢になるものと推察される。

共生環境学専攻

氏名	廖 志強
学位記番号	生博 甲第 317 号
学位記授与の日付	令和元年 9 月 18 日
学位論文題目	Study on Smart Diagnosis System for Plant Machinery -Diagnosis Method Based on Intelligent Signal Processing and Intelligent Condition Recognition for Rotating Machinery- (生産設備のスマート診断システムに関する研究 —知的信号処理と知的状態識別による回転機械診断法—)
論文審査委員	主査 教授・陳山 鵬 教授・亀岡 孝治 教授・村上 克介 教授・王 秀崙 教授・鬼頭 孝治

要 旨

「安全と安心」及び「自然環境を考慮した持続可能な経済発展」が人類にとって重要な共通課題であることは言うまでもなく、人類は生活や社会活動に欠かせないプラント設備などの人工物や人工システムの安全性を確保し、その事故や破壊によって自然環境などに与える悪影響を防がなければならない。

現在農業・工業生産には機械設備が急増しており、回転機械は農業生産、工業生産に最も多く使用される設備である。その重大なトラブルや事故は経済的や人的な被害だけでなく、時には環境に

も悪影響をもたらす。知的設備診断技術は、情報工学などの手法を用いて設備状態を自動的に監視・診断する技術であり、今後、設備の大型化、高速化、知能化、無人化および複雑化がますます進行するに伴い、生産設備の重大なトラブルや事故を未然に防止する重要技術として一段と注目されていく。

本論文は、回転機械の異常を早期に発現し、異常種類を早期に判明するために、振動情報や人工知能の手法による回転機械設備の知的状態診断法に関する研究成果をまとめたものであり、その内容を要約すると次の通りである。

- (1) 回転機械を診断するために測定した振動信号から微小な異常信号を抽出するために、5種類の斬新的なノイズ除去法、すなわち、改良遺伝的アルゴリズムに基づく自動フィルタリング法、近傍虚位点 (FNN) と統計的基準に基づく特異値分解による自動フィルタリング法、経験的モード分解と信号複雑性に基づく自動フィルタリング法、適応尖度波形統計による異常信号抽出法、CEEMDANと相対エントロピー差スペクトルに基づく自動フィルタリング法を提案した。これらの方法の有効性は、中低速軸受診断および歯車診断に適用して確認された。
- (2) 回転機械設備の知的状態診断を行い場合、時間領域と周波数領域の特徴パラメータを数多く定義する必要がある。状態識別感度が高い複数の特徴パラメータを評価・選出し、特徴パラメータの異常識別感度を表すために、正準判別分析法 (CDA) により求めた特徴部分空間において近傍虚位点 (FNN) により状態間の距離を測る方法を提案した。提案した方法を実際の設備診断に適用した結果、状態識別感度が高い特徴パラメータが効率よく選出できると確認できた。
- (3) 従来、知的精密診断は決定木やサポートベクターマシンなどの分類方法を用いているが、これらの方法は診断時に特徴パラメータが用いられるが、特徴パラメータを計算するときに詳細な設備仕様が必要な場合が多い。しかし、現場で実際に診断する場合、診断対象としている設備の仕様が設備を分解しないとわからない場合も多くある。また、特徴パラメータは識別しようとする異常種類によってさま

ざまな種類が存在するため、見つけることは容易ではない。そこで、本研究では、教師なしでも信号の特徴を抽出することができ、設備診断時に人間の経験や専門知識を頼りにすることを効果的に軽減できる3種類のディープラーニング手法 (convolutional neural networks: CNN, deep belief network: DBN, stacked auto-encoders: SAE) を用いた設備異常の自動精密診断法を提案した。提案した方法の有効性を様々な設備診断に適用して確認できた。

- (4) 軸受は回転機械に最も多く使用されている部品であり、その異常診断については、初期異常である単一傷に関する診断法が多く提案・発表されているが、軸受の各部に複数の傷が同時に発生している場合 (複合異常ともいう) は、異常種類と計測データの特徴との関係が複雑になるため、その診断は単一の異常状態に比べ、はるかに困難となる場合が多い。そこで、本研究では、単一の異常状態と同様な診断を可能にするために、複合異常を示す振動信号からそれぞれの単一の異常成分を、時間・周波数領域の解析手法の一つであるショートタイムFFT、および各瞬間の異常信号の強さを表わすスペクトル強度によって抽出する手法を提案した。また、抽出した瞬間異常スペクトルの特徴を表わす周波数領域の特徴パラメータを正準判別分析法 (CDA) により統合して異常種類を判別する方法、および異常種類を特定するために正準変量区間におけるマッチング得点に基づく推論による異常種類の特定方法も提案した。提案した諸手法を実際の軸受診断に適用・検証することにより、その有効性を示した。

共生環境学専攻

氏名	Septaris Bernadetta Parhusip
学位記番号	生博 甲第 318 号
学位記授与の日付	令和元年 9 月 18 日
学位論文題目	Community-based approach in forest conservation and rural development: Case study of rural areas in Japan and Indonesia (森林保全と地域振興における村落林業の取り組み –日本とインドネシア の地域研究–)
論文審査委員	主査 教授・松村 直人 教授・石川 知明 教授・立花 義裕 准教授・板谷 明美 講師・松尾奈緒子

要 旨

The involvement of local people in forest management has addressed the conservation and rural development interests simultaneously, not only in developing countries but also in developed countries. Following is one case study in Indonesia conducted in a rural area where a community-based forest management scheme has been applied:

1) Economic analysis of local people's involvement in community-based forest management (CBFM) in Desa Ciomas, Indonesia

The history of forest utilization by local people in Indonesia caused the need of community-based forest management (CBFM) in rural areas. CBFM scheme in Indonesia named Pengelolaan Hutan Bersama Masyarakat (PHBM) has been applied to accommodate the need of local people of utilizing forest and to overcome illegal logging while forests areas are owned by the state and any activities inside the forests without permission are illegal. This study was conducted in Desa Ciomas village, Bogor District with the purpose to observe the impacts of people's involvement in the PHBM program on their economic wellbeing. The study was conducted over three research phases, in 2005/2006, 2006/2007, and 2008/2009 and through follow-up research performed in 2016 to establish the continuity of the previous

research. The results showed that local people in Desa Ciomas were highly interested in PHBM and the benefits that it offered, with an expectation of additional income. The optimal income was not realized in some cases, including when large-scale farming necessitated farming system that relied on hired labor which is known to be less productive than family labor. PHBM should be able to contribute to local people's income by empowering them with respect to both on- and off-farm activities.

Following up local people's attitudes into forest benefits, another study was conducted to analyze local involvement in forest utilization in two rural areas in Indonesia and Japan. Both the rural areas border to national parks with conservation commitments.

2) Community involvement in forest resource utilization: Case study of rural communities in Japan and Indonesia

Forest resource utilization effort in Japan is facing the declining prices and the increase of production costs that caused forest owners and local people are not active anymore while in Indonesia, forest resource utilization among local people are still active while local people are still dependent on forest resources and continuing to utilize forest which can lead to over-exploitation. This study was conducted in the rural areas Desa Taman Jaya in Indonesia and

Komono in Japan. By this study, explored local people involvement by collecting the information about how they take benefits from forest, their efforts in maintaining local values, and their perspective on forest management. The data were collected by interviews to the targeted member of the communities and by questionnaires from randomly selected respondents and the analysis results were presented in qualitative and quantitative manners. The study showed contrasting results between Komono and Desa Taman Jaya. Limited access to the forests, lower education and poor infrastructure in Desa Taman Jaya caused poverty and forest dependence while in Komono, people do not longer have high interest to utilize the forest.

これまで熱帯林の減少などへの問題に対して、村落林業の観点から多くの研究がなされている。

地域での盗伐や違法伐採、計画されていない伐採などへの対処には、地域住民を巻き込んだ解決策の提示が必要であり、その背景にある貧困問題への取り組みが重要である。

本研究では、インドネシア・ジャワ島を対象に村落林業の観点から提案された PHBM という人工林管理プログラムの導入後 10 年間以上の追跡調査の評価とジャワ島と三重県菟野町を対象に、国立公園などの保全対象地域を近隣に持ち、森林保全とキノコなどの森林からの副産物の利用や希少な野生動植物の保護と観光利用などの地域振興の観点を共有し、住民参加型の村落林業の可能性と新たな森林管理方策について分析と提案を行った。

1) インドネシア・ジャワ島を対象に、村落林業の観点から提案された PHBM という森林管理プログラムについて分析した。このプログラムは国有の森林会社プルフタニによって、ジャワ島では、2003 年から実施された。当初、人工林の間伐作業を支援するために、地域住民に森林へのアクセス権を与え、収入を増やすのを助けると期待された。そして、林間栽培(アグロフォレストリー)によって、住民に新たな現金収入の可能性を与えるものと歓迎された。本研究は、PHBM プログラムへの地域住民の参加の影響を分析することを

目的とした。地域住民の経済振興の可能性について、共同研究者らの先行調査(2005/2006年、2006/2007年、2008/2009)に基づき、ジャワ島西ジャワ州ボゴール地区の Desa Ciomas 村を対象に、調査を継続し、2016年の追跡調査によって、最近の状況を観察し、これまでの研究の最終的な取りまとめを行った。

その結果、Desa Ciomas の地元の人々は PHBM とそれが提供する利点に引き続き非常に興味を持ってはいるが、短期的な追加収入や大規模農業が必要となった場合など、最適な収入が得られない場合があるとの感想をもっていた。しかしながら、家族労働よりも収益性が低いことが知られている雇用労働に対応する農業システムや PHBM の農場内外の活動に関して、彼らに権限を拡大・強化することによって、地元の人々の収入増加に貢献できることが明らかとなった。

2) 村落林業における地域住民の参加については、社会条件や政治条件に依存し、その成否もそれらの条件に深く関わっている。本研究では、インドネシア・ジャワ島のタマン・ジャヤ村と三重県菟野町を対象に、森林保全と地域振興の観点から比較研究を行った。

対象地は、国立公園などの保全対象地域を近隣に持ち、森林保全とキノコや燃料材などの森林からの副産物の利用や希少な野生動植物の保護と観光利用などの地域振興の可能性を共有し、住民参加型の村落林業の可能性と新たな森林管理方策の検討が期待される地域である。

両地域において、ある程度共通化した住民アンケート調査を行い、森林資源管理に関する意識、期待などを分析した。

その結果、年齢、男女、最終学歴などの属性について、両地域での対照的な回答が見られた。タマン・ジャヤ村では、森林へのアクセスが制限され、森林利用についても、各属性によって行動の差や期待する価値に関して大きなばらつきが見られた。また、森林保全による野生動植物の保護や観光振興に関しても期待が大きかった。

一方、菟野町では、森林を身近に感じ、その価値を認めつつも、資源利用に関する直接的な行動意欲は希薄で、行政に任せるような意向が多かった。これらの結果は、アンケートによる直接的な回答と回帰モデルとクラスター分析の内容からま

とめられた。

総じて、菰野町のアンケート回答者の属性は比較的均一で、高校卒業程度以上の高学歴者が多く、一方、タマン・ジャヤ村では、年齢、最終学歴のバラツキが大きく、回答内容に大きく影響し

たものと考えられた。これらの結果から、開発途上国と先進国において、多様な森林資源管理に関する住民参加の観点から、有益な政策導入の課題が示された。

生物圏生命科学専攻

氏名	Nadia Istiqomah
学位記番号	生博 甲第 319 号
学位記授与の日付	令和元年 9 月 18 日
学位論文題目	Studies on vitamin B ₁₂ supplementation to reduce turbidity stress on Cladoceran zooplankton (ミジンコ類の濁度変化ストレス軽減に対するビタミン B ₁₂ の効果)
論文審査委員	主査 教授・吉松 隆夫 教授・神原 淳 教授・古丸 明

要 旨

本研究は、気候変動により近年世界各地で多発している局所的集中豪雨が、淡水域に生息しその基礎生産を支える重要な動物プランクトンであるミジンコ類 (Cladocera, 枝角亜目の水棲甲殻類) の生残や増殖に与える影響を明らかにすることを目的に、特に集中豪雨に伴う土砂の流入による濁度の上昇という点に注目して計画、実施した。実験は、通常細菌によって水圏に富化されるビタミン B₁₂ (シアノコバラミン) と環境変化に対するミジンコ類の抵抗性の関係について、淡水魚の初期生物餌料として重要なタマミジンコ *Moina macrocopa* と環境指標動物として広く研究調査に用いられているオオミジンコ *Daphnia magna* を供して実施した。培養試験はマイクロプレートを用いた小規模な個体別培養実験として実施し、*Chlorella* を給餌しながら様々なビタミン B₁₂ 濃度 (タマミジンコ : 0, 5, 25 μg/l, オオミジンコ : 0, 5, 15, 30 μg/l) とカオリン (Al₂Si₂O₅(OH)₄) を用いて

調製した濁水 (0, 15, 50, 100, 600, 1200 NTU) を混合した培養水に毎日 3 時間暴露し、その後の各個体の成長、生残、寿命、初産日齢、産仔数および産出仔の性比等からその試験結果を総合的に判定した。また両種の間での藻体内にビタミン B₁₂ を含有する市販の *Chlorella* 餌料と別途培養したビタミン B₁₂ を含有しない *Chlorella* 餌料との比較も試みた。実験の結果、両種間で濁度に対する感受性は異なるものの、ビタミン B₁₂ を全く含まない培養水では短命化、初産日令の遅れ、産仔数の減少と産出幼生の小型化が認められた。またビタミン B₁₂ 濃度が低くなるほど、また濁度が上昇するにつれてその影響は顕著となった。すなわち環境水中に溶存するビタミン B₁₂ の存在は、濁りに対するミジンコ類のストレス耐性を向上させることが明らかとなり、集中豪雨による濁りの増加とそれに起因する水圏に溶存するビタミン B₁₂ 量の低下の問題については、今後その影響を注視してゆく必要がある。

資源循環学専攻

氏名	北上 雄大
学位記番号	生博 甲第 320 号
学位記授与の日付	令和 2 年 3 月 25 日
学位論文題目	Community structures of soil nematodes at plantation forests in central Japan (本州中部の針葉樹人工林に生息する土壌線虫群集の構造特性)
論文審査委員	主査 教授・松田 陽介 教授・木佐貫博光 教授・木村 妙子

要 旨

線虫類 (Nematoda) は狭義の線形動物で、世界中あらゆる生態系に分布する。日本の森林に生息する線虫の研究は、マツ枯れにかかわるマツノザイセンチュウの 1 種に集中しているが、世界的な推定種数は 100 万種とほとんどの種の生態特性は未知である。土壌線虫のバイオマス総量は人類に匹敵する量を誇り、微生物を食べることで窒素などの物質循環に貢献するため土壌中の生物多様性を考えるうえで重要な生物群の 1 つである。そのため、熱帯林から針葉樹林まで様々な森林生態系に生息する線虫群集が調査されている。しかし、2015 年時点で国内における森林の線虫群集の研究は広葉樹林の 1 例のみであった。これらの背景を踏まえ、日本の多様な森林における線虫群集の解明の端緒として人工林に着目した。人工林の多くは単一樹種によって成立しており、生育する樹木と地下部線虫群集の関連付けが容易なことから、森林生態系に生息する線虫群集の解明のモデルになると考えた。そこで本学位論文では、人工林に生息する土壌線虫群集の解明を目的とし、日本の代表的な人工林である海岸のクロマツ林と内陸のスギ林の土壌に生息する線虫の群集構造を調べた。具体的には、以下の 4 章である。

(1) 海岸クロマツ林の線虫の群集構造の解明

幼虫期の線虫の形態的特徴が乏しく、顕微鏡観察による分類の程度は科や属レベルと個々の研究者により異なるため、線虫の多様性は実際よりも過小評価されている。そこで、線虫類の分類学的所属を推定するため、DNA 解析を用いて網羅的に海岸クロマツ林の群集構造を決定した。その結

果、37 分類群に分けられ、上位の 3 分類群 (*Acrobeloides* 属, *Aporcelaimellus* 属, *Prismatolaimus* 属) が全体の 6 割を占めた。このことから、海岸林の線虫群集構造は微生物食性の少数の分類群によって特徴づけられることが示唆された。

(2) 異なる環境に成立するクロマツ林の線虫群集の形成要因の解明

線虫群集は樹種に影響されることが知られているが、沿岸部と内陸部のような異なる生態系においても同一の樹種が群集構造を特徴づけるかどうか不明である。そこで、対照的な環境条件下にある沿岸部と内陸部のクロマツ林における線虫群集とその決定要因を明らかにすることを目的とし、沿岸部か内陸部の線虫群集構造が異なるかどうかを決定した。その結果、線虫の属数は沿岸部に比べて内陸部で有意に大きかった。さらに沿岸部と内陸部の線虫群集がそれぞれの生息地で有意にまとまり、その集合は周囲の環境要因 (土壌水分量、土壌温度、リター層、土壌 pH、全窒素・全炭素含量および C:N 比) によって有意に影響された。以上より、線虫群集構造は生息地の環境フィルタリングによって形成されることが示唆された。

(3) 海岸と内陸部のマツ林の地上部に分布する線虫種の解明

線虫の主な生息環境は地下部の土壌であるが、地上部リターや樹皮にも存在することが知られている。地上部は地下部に比べて乾燥などの負荷が大きく、環境耐性の高い線虫種が生存に適することが考えられる。しかし、樹上性の線虫の分布や生態情報は不足しており、森林に生息する線虫の包括的な群集構造の解明のために必要である。そ

ここで、地上部に生息する線虫分布を明らかにするために、樹上と土壌表層に位置するクロマツとテーダマツの球果に定着する線虫の出現頻度と種類を調べた。その結果、ほとんどの球果から線虫が分離され、*Panaglolaimus* や *Plectus* といった乾燥耐性が報告されている属群が優占的であった。このことから、マツ林地上部にも線虫は普遍的に存在し、乾燥耐性の能力が地上で生き残るための重要な性質であることが示唆された。

(4) スギ人工林の線虫の群集構造の解明

(1) ~ (3) ではクロマツ人工林の線虫群集の解明を行なった。しかし、国内の森林面積の大部分はスギ人工林であり、内陸部森林の線虫群集の特徴を反映すると思われる。そこで、内陸の人工林の線虫群集の解明を目的にし、中日本スギ人工林に生息する線虫の分類群推定を行い、土壌環境と線虫群集構造との関連付けを行った。その結

果、線虫群集は採取地点の物理的な距離によらず土壌 pH や C/N のような至近的な環境要因によって有意に特徴付けられることが明らかになった。このことから土壌炭素や pH によって線虫の餌資源（細菌や菌類）が影響され、それぞれの地域で特徴的な線虫群集が形成されることが考えられた。

以上の研究を通して、日本の人工林に生息する線虫群集が明らかにされ、その多様性は地上部より地下部で高くなることが示された。また、線虫密度は人工林に比べて自然林で高いことが示唆された。さらに、線虫群集構造は土壌の養分環境 (C/N) や化学的要因 (土壌 pH) といった至近的要因によって規定されていることが示唆された。以上より、単純な森林生態系を通して線虫群集の分布パターンを決定した。これら線虫群集情報は人工林の広葉樹林化など将来の土地改変に対する土壌生物多様性のモニタリングに重要な情報を資する。

資源循環学専攻

氏名	Dwi Wulan Sari
学位記番号	生博 甲第 321 号
学位記授与の日付	令和 2 年 3 月 25 日
学位論文題目	Rubber Smallholders' Economic Condition Under the Rubber Price Fall and Possible Solution in South Sumatra (ゴム価格暴落下における南スマトラ州のゴム農家の経済状況とその改善の可能性)
論文審査委員	主査 教授・波多野 豪 教授・松村 直人 教授・常 清秀 准教授・野中 章久 名古屋大学大学院生命農学研究科 教授・徳田 博美

要 旨

インドネシアでは、ゴムはパームやしと並んで主要な商品作物であり、多くの農家がゴム生産に依存している。ゴムは国際的な原料作物であり、国際経済の発展にともなって需要が拡大したが、世界的な生産拡大などによって、近年、大幅に価格が下落した。そのため、ゴム農家は経済的に厳しい状況に直面している。本研究では、主要なゴム生産地である南スマトラ州における農家調査に

よって、価格下落下におけるゴム農家の経済状況を明らかにするとともに、低所得の背景にある低生産性の要因を栽培技術実施状況などから検討した。価格下落前には、ゴム農家はパームやし農家と同等の所得を確保しており、ほとんどの農家が地域の標準的な生計費を確保する水準にあった。しかし、価格下落によってゴム農家の所得は大幅に減少し、パームやし農家との格差が拡大し、標準的な生計費を確保できない農家が多数となった。

ゴム農家の低所得の背景には、政府の示す標準的な単収の半分にしか達しない低生産性がある。農家の低生産性の要因を探るため、政府の奨励する栽培技術の実施状況を調査した。その結果、ほとんどの農家が基準量を大幅に下回る施肥しか行っていないことが明らかになった。低施肥量の下では、ほとんどの奨励技術の実施の有無が収量に有意に影響していなかった。また、農家の社会経済的属性と生産性の関係を検討すると、普及組織と

の接触頻度、民族などで有意な違いがあった。ジャワ島からの移住農家の方がスマトラ島に定住してきた農家より生産性で劣っていたが、移住農家の方が普及組織の指導を受ける頻度が高く、指導された技術を遵守していることが要因となっていると考えられる。ゴム農家の経済状況を改善するためには、財政的支援を含めた政府の効果的な支援体制の構築が求められている。

共生環境学専攻

氏名	小林 祐介
学位記番号	生博 甲第 322 号
学位記授与の日付	令和 2 年 3 月 25 日
学位論文題目	超伝導送電システムに向けた状態監視・診断技術に関する基礎研究 (Basic Research on Condition Monitoring and Diagnosis Technology for Superconducting Power Transmission System)
論文審査委員	主査 教授・陳山 鵬 教授・亀岡 孝治 教授・村上 克介 教授・王 秀崙 教授・鬼頭 孝治

要 旨

超伝導ケーブルは「電気抵抗ゼロで送電することができる」超伝導の性質を利用したケーブルで、高効率送電や電圧降下削減、変電所の負荷平準化・削減が期待される。一方で、超伝導ケーブルは、超伝導状態を保つために、冷媒を常に流して超伝導材料を一定の温度以下に冷やし続ける必要がある。そこで、超伝導ケーブル冷却における主要な機器である液体窒素循環ポンプや冷凍機などの不具合を事前に検出することを目的とし、超伝導送電システムに向けた状態監視・診断技術に関する基礎研究を行った。具体的には、回転式液体窒素循環ポンプに向けた自動診断法、インバータ制御冷凍機に向けた自動診断法、転がり軸受式液体窒素循環ポンプなどに使用される転がり軸受の複合異常に向けた知的診断法についての研究を行った。

回転式液体窒素循環ポンプに向けた自動診断法では軸受異常から離れた場所での自動診断法につ

いて研究を行った。回転式液体窒素循環ポンプでは軸受が極低温部にあることがほとんどであり、極低温部に加速度センサを取り付けるのは困難であるため、軸受から離れた常温部で診断する方法について検討が必要となる。そこで、遺伝的アルゴリズムおよびタブー探索法を用いた簡易診断とハイパスフィルタ後の包絡線スペクトルから算出した軸受診断専用パラメータに決定木を用いる精密診断とを組み合わせた手法を提案し、回転機械設備を模擬した実験装置を用いて得られたデータを用いて閾値・決定木を設定した。また、異なる試番を用いて、設定した閾値・決定木の妥当性を検証し、様々なアルゴリズムを適用することで離れた場所での衝撃系異常が検出可能であることを確認した。さらに、決定木の代わりに可能性理論とファジィ推論を用いた精密診断法も提案し、有用性を確認した。回転式液体窒素循環ポンプに限らず、現場の設備には軸受近傍に加速度センサを取り付けるのが難しい設備もあり、そのような設

備にも本手法を適用することが可能である。

インバータ制御冷凍機に向けた自動診断法では超伝導ケーブル冷却で今後主流になるブレイトン冷凍機に着目し、インバータ制御回転機械の自動診断法について研究を行った。インバータ制御回転機械は負荷のよって回転数変化してしまい、回転数が変化すると故障診断のために測定した振動加速度信号は時間と共に大きく性質が変化してしまうため、従来から提案されている故障診断手法のインバータ制御機器への適用は難しい。そこで、インバータ制御機器に対し、DP マッチングを用いて振動加速度センサのデータから自動的に回転数を同定し、その後従来から提案されている診断法を適用する手法を提案した。また、提案した手法を検証するため、回転機械設備を模擬した実験装置を用いた試験を行った。実験装置による検証では、DP マッチングにより 100 rpm の精度で回転数を同定できることを確認し、また、その後の主成分分析法により正しく正常・異常を判別できることを確認した。本手法はブレイトン冷凍機に

限らず、超伝導ケーブル冷却システムにも使用されるチラー（冷却水循環装置、液体窒素循環ポンプや冷凍機の冷却水循環に使用）や一般に利用されているエアコンなど、幅広いインバータ制御回転機に適用することが可能である。

転がり軸受の複合異常に向けた知的診断法では、転がり軸受式液体窒素循環ポンプや冷却水循環ポンプなどに使用される転がり軸受の中期段階の異常にみられる複合異常（複数の傷による異常）の診断法について研究を行った。転がり軸受における単一異常診断に関する理論と方法は確立されており、また軸受複合異常によって引き起こされるパス周波数は理論と実験の両方で同じであることは分かっているが、転がり軸受において複数欠陥を同定する精密診断手法はまだ提案されていない。そこで、本研究では、時間一周波数領域波形分布という特徴抽出手法を提案し、エクストリーム・ラーニング・マシンと連続診断法による知的軸受異常診断手法を提案した。本手法は当然一般の転がり軸受に適用可能である。

共生環境学専攻

氏名	長岡 誠也
学位記番号	生博 甲第 323 号
学位記授与の日付	令和 2 年 3 月 25 日
学位論文題目	超音波による農業用開水路の粗度係数計測手法の開発 (Development of Measurement Method for Manning's Roughness Coefficient of Irrigation Open Channel Using Ultrasonic Wave)
論文審査委員	主査 教授・石黒 覚 教授・成岡 市 教授・陳山 鵬 准教授・岡島 賢治

要 旨

農業用開水路の多様な劣化要因に対して、適切な機能診断が求められている。特に摩耗による粗度係数の増大は、通水性能を低下させるため、水路補修の主な要因である。しかし、適切な機能診断技術は無く、目視調査に依存している。農業用開水路の機能診断には、簡易的・面的・安価であり、センシングによる定量的なデータであることが要求される。そこで、本論では超音波に着目を

して、農業用開水路の粗度係数計測手法の開発を目的とした。計測原理は、超音波の散乱現象である。粗さを定量的に評価するために、算術平均粗さ R_a (mm) を指標に用いた。超音波の反射強度を定量的に評価するために、最大振れ幅 (mV) を指標に用いた。

研究は大きく 6 のセクションに分かれている。①、②は空中超音波による手法で、主に非灌漑期の水が水路に無く、気中にあるコンクリート壁が

対象である。③は水中超音波による手法で、主に灌漑期で、水中にあるコンクリート壁が対象である。④は水理実験による粗度係数推定式の開発である。⑤は計測手法の簡易化に向けた研究である。

①空中超音波センサの粗さ計測への有効性の検証

このセクションは主に基礎研究の位置づけにあり、①-1:最大振幅と R_a の関係、①-2:反復計測によるばらつきの検討、①-3:計測範囲の検証、①-4:Kirchhoffモデルとの比較、を行った。超音波センサは、送信受信素子が分かれている複眼型と、送信受信素子が一体となった単眼型の2種類を用いた。周波数は約40kHzである。①-1では、 R_a の異なるコンクリート表面に対して、計測距離を変えて超音波計測を行った。その結果、 R_a の増加に伴い最大振幅の減少が確認できた。計測範囲内では直線近似で決定係数0.8以上となり、高い相関性を示した。①-2では、粗さや計測距離を変えて反復計測をし、得られたデータの標準偏差を平均値の割合で示すことで、ばらつきの評価をした。10回程程度の反復計測で平均値の1%以下に標準偏差を抑えることが確認できた。①-3では、超音波センサの垂直下から砂利を円状に敷き詰め、直径を広げていき、最大振幅を計測することで計測範囲を明らかにした。計測距離1,000mmからの計測範囲は直径約600mmであることが確認できた。①-4では、粗面からの超音波散乱強度を評価するモデルとして最も使用されているKirchhoffモデルの理論値と計測値の比較を行った。計測距離の近い場合モデルは計測値をよく表現した。計測距離が遠く粗さが大きい場合、計測値がモデル値を上回る傾向があった。以上の結果より、空中超音波センサの粗さ計測への有効性が明らかとなった。

②空中超音波センサの環境条件への適用性

このセクションは屋外での計測を想定し、②-1風速の影響、②-2温湿度・大気圧の影響を検討した。①-1では、風洞実験の実施を行った。計測区間の空間に風を発生させた。風速は0~10m/sで調整し、計測面の粗さも変更した。その

結果、風速6m/s以上の時、最大振幅の減衰が確認できた。②-2では、計測環境を温湿度大気圧計で計測し、環境条件を変化させながら超音波計測を継続した。その結果、計測環境により最大振幅の値が変化することが確認できた。また、最大振幅の値は、空気吸収減衰式(ISO9613-1)に近い値を示した。

③水中超音波の粗さ計測への有効性の検証

このセクションは、これまでの研究では不可能である水中の計測面の計測技術開発に関する基礎研究である。計測原理は空中超音波と同じであるが、伝搬媒質が空気と水で異なるため、周波数を200kHzと高周波を使用することで波長の調節をした。セクション①と類似の実験を行い、粗さ計測への有効性を確認することができた。

④摩擦模型水理実験による粗度係数推定式の開発

このセクションは粗度係数と最大振幅の関係性を求めた。粗度係数は、粗さを持つパネルを模型水路に貼り付け、水面勾配を計測してManningの平均流速公式から粗度係数を算出した。6種類のパネルを用いて、6つの粗度係数が明らかとなった粗さパネルを得た。粗さパネルに対して空中超音波計測を行うことで、粗度係数と最大振幅の関係性を取得した。この結果を用いることで、粗度係数が未知の農業用開水路を超音波計測することで粗度係数を推定することができるようになった。

⑤現場計測へ向けた接触型集音機の検討

このセクションは超音波センサの計測設置時間の短縮と簡易化を目指し、計測治具として接触型集音機の装着を行った。しかし、集音機を装着することで最大振幅の値が変化する。また、形状によっても最大振幅は変化するため、粗度係数計測手法として最適な接触型集音機の形状を検討した。その結果、円錐型開き角20°で高さ40cmが最適であることが確認できた。

以上の研究より、空中、水中超音波センサの粗さ計測への有効性が明らかとなり、現場を意識した実験から、機能診断技術として普及の可能性を示すことができた。

生物圏生命科学専攻

氏名	水谷 雪乃
学位記番号	生博 甲第 324 号
学位記授与の日付	令和 2 年 3 月 25 日
学位論文題目	Genomic and ecological studies on novel <i>Arcobacter</i> isolated from abalone (アワビから分離された新規アルコバクターに関する遺伝学および生態学 的研究)
論文審査委員	主査 教授・福崎 智司 教授・田丸 浩 教授・柿沼 誠 准教授・田中 礼士

要 旨

アルコバクター (*Arcobacter*) は陸生生物さらに海洋環境といった幅広い環境に生息している細菌群である。しかし、病原性をもつ種が陸生生物から単離されているため、本細菌群には“ヒトや家禽類などの陸生生物に生息する病原菌”というイメージが強く刷り込まれている。しかし近年、海水、堆積物またはカキやムール貝などの二枚貝といった海洋環境から、様々な新種のアルコバクターが単離されており、現在では種登録されている全 29 種の内、半数を超える 18 種ものアルコバクターが海洋環境から単離されている。加えて海洋環境から単離されている 18 種の内 8 種が二枚貝から単離されており、海洋環境のなかでも特に二枚貝を中心に研究が進められている。しかし、これらのアルコバクターが宿主に対してどのような働きをしているのかは未だに明らかにされておらず、海洋環境における本細菌の役割は不明のままである。これまでに、本研究室では初めて巻貝であるアワビから *A. haliotis* (heterotypic synonym: *A. lekithochrous*) の単離に成功させており、二枚貝だけでなく巻貝にも本細菌群が生息していることを推察していた。そこで海洋環境における本細菌群の新たな知見を獲得するために、アワビを対象にどのようなアルコバクターが存在しているのかを解析し、検出されたアルコバクター属細菌の単離を試みた。さらに、単離された細菌のゲノム解読を行い、アワビに生息するアルコバクターの役割を解析した。

まず、アワビにどのようなアルコバクターが存在しているのかを明らかにするため、アルコバク

ターの 16S rRNA 遺伝子に特異的に結合するプライマーセットを用いたクローニング解析を行った。この解析の結果、本細菌群に分類される 12 タイプの遺伝子が検出され、アワビには非常に多様なアルコバクターが生息していることが明らかとなった。さらに検出された遺伝子タイプのうち 9 タイプの遺伝子が、既存のアルコバクターと 98.7% 以下の相同性を示しており、アワビにはこれまでに報告されていない、新規のアルコバクターが複数種生息していることが確認された。また、全ての細菌の 16S rDNA に結合するプローブ (EUB338) およびアルコバクターの 16S rDNA に特異的に結合するプローブ (ARC94 probe) を用いた FISH 法を用いて本細菌群の定量を行った。FISH 法を用いた検鏡観察の結果、 $1.18 \pm 0.71 \times 10^7$ cells/g の EUB338 probe 陽性細菌および $8.06 \pm 0.05 \times 10^5$ cells/g の ARC94 probe 陽性細菌がそれぞれアワビのホモジナイズサンプルから検出された。上記の結果から、全細菌中のアルコバクターの占有率を算出すると約 7% を示し、アワビ組織にアルコバクターが生息していることが確認された。

次に、2 種類の単離方法を用いて、アワビからこれらのアルコバクターの単離を試みた。1 つ目の単離方法は、過去にアワビから単離された *A. haliotis* が乳酸を利用して生育できる事を確認していたため、乳酸を単一炭素とした培地を用いて単離した。2 つ目の単離方法は、2016 年に Salas-Massó らによって提唱された単離方法を参考に、単離用培地に添加する 2.5% NaCl の代わりに人

工海水を使用し、30°Cの培養温度を15-25°Cに改良した方法を用いた。1つ目の単離の結果、1種類の新規アルコバクターLA11株の単離に成功し、また2つ目の単離の結果、2種類の新規アルコバクター15T96H-1株及び15T96H-2株の単離に成功した。

さらに、単離に成功したLA11株のゲノム解読により、本細菌の代謝機能を推察した。ゲノム解析の結果、LA11株はグルコースの6リン酸化に関与する遺伝子をもっていないため、糖が資化できないことが確認されたものの、代わりに有機酸を資化する遺伝子を有していた。さらにLA11株のゲノムからは、気体窒素および亜硝酸をアンモニアに変換し、各代謝経路を経由して18種のアミノ酸を合成する遺伝子群が確認された。また、

LA11株の代謝機能のなかには *Tad* 遺伝子と呼ばれる接着タンパクをコードする遺伝子が含まれ、この機能によりLA11株は宿主の組織に強固に固着していることが推察された。加えて、LA11株のゲノムからは病原菌である *A. butzleri* が保有する10種の病原因子のうち、*ciaB* (侵襲性タンパクの合成) および *mviN* (ペプチドグリカンの合成) は検出されたものの、宿主へと直接的なダメージを与える病原因子は検出されなかった。

以上の研究により、アワビはアルコバクターの1つの生息環境であり、これらを宿主とするアルコバクターは病原細菌ではなく、アミノ酸合成に関与する共生細菌として生息している可能性を見出した。

生物圏生命科学専攻

氏名	山本 慧史
学位記番号	生博 甲第 325 号
学位記授与の日付	令和 2 年 3 月 25 日
学位論文題目	Studies on <i>Rhodomonas salina</i> Hf-1 strain as an initial live feed for aquaculture (<i>Rhodomonas salina</i> Hf-1 株の養殖用初期生物餌料としての利用に関する研究)
論文審査委員	主査 教授・吉松 隆夫 教授・古丸 明 教授・一色 正 准教授・筒井 直昭

要 旨

緒言

本研究は、2011年に日本沿岸から新たに単離されたクリプト藻類 *Rhodomonas salina* Hf-1 株について、水産餌料用微細藻類としての実用的な培養および利用方法に関する多方面からの網羅的な検討を行い、最終的に種苗生産現場への導入を目指したものである。*Rhodomonas* 属の微細藻類は世界中の沿岸域に普遍的に生息しており、その栄養的価値の高さから餌料としての活用が望まれている。これまで、本属ではそのうち数種が餌料としての利用を試みられており、わが国でも1970年代から一部の種に関する餌料化が試みられてきた。しかしながら、これらの研究の多くは、細胞内に含まれる生化学成分組成を環境要因によって制御す

ることを目的としたものがほとんどであり、増殖特性や効率的培養方法、餌料としての実際の利用に関する研究は見当たらない。こうした現状を踏まえ、本研究では、今後 *Rhodomonas* 属を餌料用微細藻類として有効活用していくために必要な基礎的知見の集積を目的として、Hf-1株をモデル生物とした実験室規模もしくは種苗生産規模での各種試験を実施し、本属微細藻の活用方法について検討を行った。

第1章 形態観察および遺伝情報を用いた Hf-1 株の種同定

電子顕微鏡による形態的、構造的特徴観察および核 rRNA 情報を用いた本種の種同定試験を行った。電子顕微鏡観察では、二つの等長鞭毛を有する微絨毛に覆われた扁平細胞やピレノイドに

陥入したヌクレオモルフ構造, さらにピレノイドが葉緑体を覆う二重膜の間に位置していることなど, *R. salina* が種特異的に有する特徴が複数確認された。PCR法を用いた遺伝子検査では, 核rRNAのうち18S rRNA, 28S rRNA, ITS領域において, *R. salina* (HE820923)とそれぞれ100%, 99%, 98%の高い相同性が得られた。これらの結果から総合的に判断した結果, Hf-1株は*R. salina*と同一種であると考えられた。

第2章 Hf-1株の効率的な小規模・大規模培養法の検討

微細藻類の餌料化において, 培養安定化は最も重要な課題である。本章ではHf-1株の培養法の確立を目的とし, 本種の好適培養条件, 必須栄養塩類の検討, および専用培地の開発, 実際の種苗生産現場での生産を想定した拡大培養試験を行った。実験室規模での培養試験の結果, 本種が最も効率的に培養できる環境条件が明らかになったと同時に, 本種は他の餌料用微細藻類と比較して幅広い環境変動への耐性を有することが明らかとなった。また, 本種が増殖のために必須に要求する栄養素はN, P, Fe, Mn, ビタミンB₁₂の5つのみであることが明らかとなった。この結果から, 本種を種苗生産現場で安価に生産するための専用培地, MU-SW培地が農業用肥料を用いて開発された。この培地を用いた実地生産試験では, 実際に種苗生産現場で導入されている半連続培養法において安定的かつ高収量の培養を高い餌料価値を損なうことなく実現した。

第3章 細胞色の変化を利用した適当な収穫時期推定方法の考案

培地中の窒素濃度は, 微細藻類の増殖に最も影響を与える環境因子の一つである。特にクリプト藻類においては, 窒素欠乏が細胞の退色を誘因, 増殖率を低下させることが過去に報告されている。

Hf-1株においても, 窒素欠乏処理を施すことにより本株の増殖が阻害されると共に, その特徴的な細胞色の構成成分であるPEが最大で75%減少することが本実験で確認された。このことは, クリプト藻類は環境中の窒素が欠乏した際, PEに結合するタンパク質を分解することによって生存のための窒素源を補う, いわば窒素リザーブとしてPEを利用していることを示唆している。退色が発生した際のHf-1株の細胞内タンパク質, 高度不飽和脂肪酸含量はどちらも有意に減少しており, 細胞色の退色現象がクリプト藻類の適切な収穫時期の推定に応用可能であるという可能性が得られた。

第4章 Hf-1株の給餌が海産動物の生残および成長に及ぼす影響

本章では, 本株をマナマコ *Apostichopus japonicus* 浮遊幼生, アコヤガイ *Pinctada fucata martensii* 親貝へ給餌し, その餌料価値を他の餌料用微細藻類と比較した。孵化直後のマナマコ幼生を用いた給餌試験では, 本株を給餌することにより高い生存率が得られるだけでなく, 従来使用されていた他の微細藻類と比較して短期間でより多くの変態個体が得られることが明らかとなった。アコヤガイ親貝を使用した試験では, 従来使用されていた *Chaetoceros neogracile*, *Pavlova lutheri*, *Tetraselmis tetrahele* の混合餌料をHf-1株で一部代替することにより, 従来餌料と同等以上の飼育成績を得ることに成功した。これらの試験から, 本株の餌料生物としての有用性が実用レベルで示された。

本研究により, *R. salina* Hf-1株のみならずクリプト藻類全体の餌料化という命題において萌芽的な知見が集積された。本株の活用により, 今後のより多様かつ効果的な種苗生産の発展が期待される。

論文提出による博士学位

氏名	佐藤 友
学位記番号	生博 乙第 96 号
学位記授与の日付	令和元年 7 月 17 日
学位論文題目	アコヤガイ (<i>Pinctada fucata</i>) 真珠の CaCO_3 結晶多形解析と上皮細胞のバイオミネラリゼーション機能判別による真珠形成プロセスの再検証 (Reverification of pearl formation in Akoya pearl oyster (<i>Pinctada fucata</i>) by CaCO_3 polymorph detection and discrimination of biomineralization ability in mantle epithelium)
論文審査委員	主査 教授・古丸 明 教授・河村 功一 教授・吉松 隆夫

要 旨

生産性の低さはアコヤガイ真珠養殖の課題である。生産性向上のため、品質制御技術の確立が求められるものの、その基盤情報となる真珠形成プロセスについては十分に解明されていないのが現状である。真珠形成プロセスに関する知見は養殖技術開発時の“真珠は球体の貝殻（球体の貝殻説）”という理解から基本的には変化していない。商品真珠の安定的生産技術の開発には、真珠形成プロセスの詳細な理解が求められる。

養殖真珠は貝殻形成組織である外套膜上皮細胞の生体鉱物化機能を応用し作出される。アコヤガイの貝殻は外側では柱状構造のカルサイトが稜柱層を構成し、内側では多層膜構造のアラゴナイトが真珠層を構成している。同じ CaCO_3 結晶であるがカルサイトとアラゴナイトは結晶構造が異なる。さらにこれらが柱状・多層膜状と異なる構築構造とるため、2層の外観は異なる。これらは外套膜の生体鉱物化機能により CaCO_3 と貝殻基質タンパク質 (SMP) 群が分泌され、作り分けられている。この外套膜の小片 (ピース) と核を母貝に移植すると、核を包む袋状の組織 (真珠袋) が作られ、真珠袋上皮の生体鉱物化機能により真珠が形成される。

球体の貝殻説に基づけば、真珠には初めにカルサイト稜柱層、次にアラゴナイト真珠層が形成されるが、実際にはこのプロセスに従わない真珠も多い。特に、本来カルサイト稜柱層が形成される部分には、真珠層でも稜柱層でもない構造 (NNS)

が形成されることが少なくない。球体の貝殻説は真珠形成プロセスの実相を十分説明しているとは言い難い状況にあった。

近年クロチョウガイ真珠の詳細な鉱物学的解析から、球体の貝殻説が疑問視され始めた。それに伴い真珠形成プロセスも再検討され始めたものの、初期真珠形成プロセスは不規則であるとの結論には、真珠品質別の解析を行っていない点で議論の余地が残されていた。さらに、先行知見の精査から真珠形成は貝殻再生プロセスに類似する可能性が示された。

以上から、真珠形成プロセスの実態解明を主目的に、生体鉱物構造およびそれらを形成した上皮細胞の生体鉱物化機能の両側面から、真珠形成は品質差に繋がる複数のパターンを含み、貝殻形成よりも貝殻再生に類似する可能性を検証した。

1章では真珠 NNS の結晶構造と品質とを対応させ、真珠形成プロセスを検証すると共に、真珠 NNS と再生貝殻 NNS の結晶構造を比較し、両者のプロセスの類似性を検討した。その結果、商品真珠はアラゴナイト NNS のみから成るのに対し、非商品真珠の多くはカルサイト NNS を含むことから、真珠 NNS の結晶構造は真珠品質に対応することが明らかになった。また、再生貝殻には、商品・非商品真珠と同様にアラゴナイト・カルサイトの 2 タイプの NNS が見られた。以上から、真珠形成は品質に繋がる複数のパターンを含み、貝殻形成以上に貝殻再生プロセスに類似することが示唆された。

2章では、1章で示唆された真珠形成の品質別パターンと貝殻再生プロセスとの類似性を直接的に立証するため、上皮細胞の生体鉱物化機能の判別手法開発を試みた。*msi31*、*msi60*はそれぞれ稜柱層・真珠層形成に関与するアコヤガイのSMP遺伝子(*smp*)である。背腹軸で切断したアコヤガイの外套膜は*in situ* hybridization (ISH)染色により、貝殻構造を反映するように背側と腹側ではそれぞれ*msi31*と*msi60*プローブにより分染されたことから、本手法が生体鉱物化機能の判別に有効であることが示された。

3章では真珠形成プロセスにおける上皮細胞の生体鉱物化機能を調査するため、2章で確立したISH染色を用いてピースと真珠袋を分染した。その結果、全てのピースにおいて腹側で*msi31*、背側で*msi60*がそれぞれ発現し、両*smp*の発現領域に重複は全く見られなかった。真珠袋の*smp*発現パターンは形成された真珠の表面鉱物構造とよく対応し、品質により結果は大きく異なった。

4章では、貝殻再生過程における外套膜上皮細

胞の生体鉱物化機能を3章と同様にISH染色により調査した。貝殻再生過程の外套膜では穿孔処理15日後の背側において、通常の貝殻形成では見られない*msi31・60*の発現領域の重複が観察された。この*smp*発現パターンに対応して、再生貝殻のNNSは背側ではアラゴナイト、腹側ではカルサイトにより構成される傾向が見られた。

以上の結果から、真珠形成は品質差に繋がる複数のパターンを含み、さらに真珠形成は貝殻形成よりも貝殻再生プロセスに近いことが明らかとなった。生体鉱物形成におけるSMPと真珠品質との関連について、*in vivo*の知見は限られていた。こうした状況下において、本研究は鉱物構造と*smp*発現の両側面から、真珠品質に差が生じる要因を明らかにした。さらに、品質差を生むメカニズムを解明する上で重要な、*smp*発現プロファイルや発現動態を貝殻再生実験により解析可能であることも示した。これらの成果は、“球体の貝殻説”に一石を投じ、商品真珠の安定的生産技術の開発を大幅に前進させるものと言える。