

論文審査の結果の要旨

報告番号	博(生)甲第258号	氏名	金 禧珍
学位審査委員	主査 副査 副査 副査	萩原篤志 鈴木利一 阪倉良孝 菅 向志郎	
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>金 禧珍氏は2005年8月に韓国の国立釜慶大学校水産科学大学(韓国)を卒業、2007年9月に同大学校環境海洋科学大学で修士の学位を取得した。その後、半年間、韓国・国立水産科学院に研究員として勤務したのち来日し、2008年4月に長崎大学大学院生産科学研究科博士後期課程に入学して、現在に至っている。同氏は、生産科学研究科に入学以降、海洋生産科学を専攻すると共に、海洋環境・資源研究実践プログラムを履修して、所定の単位を修得している。学位論文研究では汽水性動物プランクトンであるシオミズツボワムシの生活環に見られる諸現象とそのメカニズム解明に関する研究に従事し、その成果を2011年7月に主論文「Studies on Mechanism of Formation, Diapause and Hatching of Resting Eggs in the Euryhaline Rotifer <i>Brachionus plicatilis</i> Species Complex (シオミズツボワムシ <i>Brachionus plicatilis</i> 複合種の耐久卵形成、休眠および孵化機構に関する研究)」として完成させ、参考論文として学位論文の印刷公表論文2編(うち審査付き論文2編)、印刷公表予定論文3編、その他の論文1編を付して博士(水産学)の学位を申請した。長崎大学大学院生産科学研究科教授会は、2011年7月20日の定例教授会において論文内容等を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施するとともに、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を2011年9月7日の生産科学研究科教授会に報告した。</p> <p>提出論文は、汽水性の動物プランクトンで、海産仔魚飼育時の初期餌料として汎用されるシオミズツボワムシを材料とし、生活環の中で生じる耐久卵の形成と休眠、孵化に影響を与える外部要因と内部要因の作用機構とそのメカニズム解明を目的として研究を行ったものである。</p> <p>まず、世界各地から採集し、長崎大学水産増殖学研究室で保存している110株のワムシ株の中から、本研究の遂行に適した、活発な両性生殖を誘導する3株(オーストラリア株、高知株、イタリア株)を選定した。被甲の形状に基づいた外部形態解析の結果と、COI(ミトコンドリアDNA)とITS1(核DNA)領域の塩基配列による分子系統解析によって、オーストラリア株は <i>Brachionus manjavacus</i>、高知株とイタリア株は <i>Brachionus rotundiformis</i> と同定した</p>			

(第2章)。

イタリア株を使用し、耐久卵が形成された時の塩分と孵化時の塩分条件のうち、耐久卵孵化と次世代の生殖に影響を与える塩分を調べた。耐久卵形成時と同一塩分で孵化させた時、活発に耐久卵が孵化することが明らかになり、また、耐久卵が孵化する時の塩分は次世代の耐久卵形成に強く影響を与えることを見出した(第3章 第1節)。

ワムシは眼点を有し、走光性を示すことから、光の波長がワムシの増殖、耐久卵形成および遊泳行動に与える影響を検討した。オーストラリア株を用い、LED光波による白色(対照)、470(青)、525(緑)、660 nm(赤)の異なる4通りの照射下で培養した結果、光波長は個体群増殖率に影響を与えなかったが、緑色光照射下で受精と耐久卵形成が活発になった。このとき、付着行動よりも遊泳行動を示す雌ワムシの割合が緑色光照射下で多くなった。暗黒下で形成された耐久卵は白色光と赤色光を照射したとき、他の光波長よりも高い孵化率を示した(第3章 第2節)。

次に、ワムシの加齢が耐久卵形成と孵化に与える影響を調べた。孵化後2時間以内のオーストラリア株の雄雌を交尾させ、受精を確認した後、得られた耐久卵を形態と細胞質の色で分類した。母ワムシの加齢と共に、産出される耐久卵に形態異常の卵が増加し、孵化率の低下が起こった(第4章 第1節)。

また、ワムシの耐久卵が悪環境に強く、最適な条件で培養した場合でも暗黒下では休眠状態を維持し、光刺激によって卵発生が誘導され孵化する現象のメカニズムを明らかにするため、オーストラリア株の耐久卵を用いて卵発生と孵化の機構を遺伝子レベルで調べた。DDRT-PCR法を用い、照射の時間に伴う遺伝子発現の変化を解析した結果、照射前の休眠状態の耐久卵は細胞防御関連遺伝子と恒常性関連遺伝子の蓄積が見られた。外部形態の観察では、照射開始から4時間まで卵割等の大きな変化は見られなかった。しかし、照射30分後には活発な遺伝子発現が生じ、光の刺激と胚発生に関連する多数の重要な遺伝子(V-type H(+)-translocating pyrophosphatase、membrane-bound proton-translocating pyrophosphatase等)が発現した。しかし、照射4時間後にはこれらの遺伝子発現は停止し、細胞間物質輸送に関わる遺伝子群が発現することを見出した(第4章)。

本研究を通じて塩分や光波長といった環境要因は、単性生殖よりも両性生殖に大きな影響を及ぼすことを明らかにした。さらに両性生殖では、母ワムシの日齢のような内部因子も強く影響することも見出した。また、形成された耐久卵は照射下で孵化するが、照射直後は形態変化をともなう胚発生は進行せず、この間に発現遺伝子群が大きく変化することを解明した。以上は、天然域でのワムシ個体群動態の研究分野や、餌料生物としてワムシ培養を安定的に実施する上で有用な基礎知見となるものである。

以上より、学位審査委員会は、本研究がプランクトン生態学や生理学の分野において高い学術価値をもつと共に、水産餌料生物学分野の進歩発展に貢献するところが大であると判断し、博士(水産学)の学位に値するものとして合格とした。