

2018.12

特集号



(題字：櫻井克年学長)

国立大学法人 高知大学学報

高知大学学位授与記録第九十七号

総務課広報係発行

本学は、次の者に博士（学術）の学位を授与したので、高知大学学位規則第14条に基づきその論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

*
*
*
*
*
*

高知大学学報

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

目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲総黒博第26号	崔 建军 (CUI JIANJUN)	Taxonomy of green macroalga <i>Ulva prolifera</i> blooming in the Yellow Sea, China 中国黄海で大量増殖している大型緑藻スジアオノリの分類学的研究	1
甲総黒博第27号	ALVIN PUSPUS MONOTILLA	Species diversity of tropical leafy seaweed <i>Ulva</i> in the Philippines and southwestern Japan フィリピンと西南日本の熱帯性葉状海藻アオサの種多様性	5
甲総黒博第28号	PANTALLANO ALLYN DUVIN SALUDO	Dependence of fish on subtropical riverne mangroves as habitat in the Ryukyu Islands, Japan 魚類生息場所としての琉球列島のマングローブ水域の重要性	9
甲総黒博第29号	TRAN TRUNG THANH	Comparison of early life histories of euryhaline fishes in estuaries between Vietnam and Japan 河口域における広鹹性魚類の初期生活史のベトナムおよび日本間での比較	14

ふりがな	ツイエンジョン
氏名（本籍）	崔 建军 (CUI JIANJUN) (中華人民共和国)
学位の種類	博士（学術）
学位記番号	甲総黒博第26号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成30年9月20日
学位論文題目	Taxonomy of green macroalga <i>Ulva prolifera</i> blooming in the Yellow Sea, China (中国黄海で大量増殖している大型緑藻スジアオノリの分類学的研究)
発表誌名	Cui JJ, Shi JT, Zhang JH, Wang LT, Fan SY, Xu ZY, Huo YZ, Zhou QY, Lu YW, He PM. Rapid expansion of <i>Ulva</i> blooms in the Yellow Sea, China through sexual reproduction and vegetative growth. <i>Marine Pollution Bulletin</i> 130: 223-228 (2018) Cui JJ, Monotilla AP, Zhu WR, Takano Y, Shimada S, Ichihara K, Matsui T, He PM, Hiraoka M. Taxonomic reassessment of <i>Ulva prolifera</i> (Ulvophyceae, Chlorophyta) based on specimens from the type locality and Yellow Sea green tides. <i>Phycologia</i> 57 (2018) (in press)
	審査委員 主査 准 教授 平岡 雅規 副査 教 授 木下 泉 副査 教 授 飯國 芳明

論文の内容の要旨

Excessive growth of green macroalgae and the resultant detrimental ecological and environmental consequences has been termed “Green tides”. This phenomenon has increased both in extent and in its public perception around the world over the last few decades. The great majority of green tides are reported to consist of members of *Ulva* genus, which includes the genus formerly known as *Enteromorpha*. Especially, an opportunistic species *Ulva prolifera* has attracted much research attention because of causing the world’s largest green tide in the Yellow Sea of China, consisting of more than 1 million tonnes of drifting biomass and covering an area of 13,000–30,000 km² in 2008. Subsequently, the green tides have reoccurred each year and have become an annual phenomenon in the Yellow Sea. To understand and control these macroalgal blooms, many researches of the origin, identity and biological characters of the causative algae have been conducted. However, correct species identification still remains unclear. Currently, based on phylogenetic analyses using molecular sequences such as ITS (Internal Transcribed Spacer), there are mainly two separate opinions on the identity of *U. prolifera*. One opinion is that the true *U. prolifera* is included in the LPP clade consisting of *U. linza*, *U. procera* and *U. prolifera* to which the bloom-forming strains belong. The other opinion is that the entire LPP clade is regarded as *U. linza*, while *U. prolifera* forms another separate clade. Therefore, this thesis aimed to clarify the taxonomic status of *U. prolifera* including the Chinese bloom-forming strains.

Chapter I. General introduction

This chapter reviewed various works on “green tide” around the world including the broad distribution of green tides and the consequences of green tides. Then, the works on origin, blooming

mechanism of Chinese green tides, identity and biological characters of causative species were also introduced. Furthermore, it was explained that the divergent opinions on the taxonomic status of *U. prolifera* collected worldwide have been presented in spite of being based on phylogenetic analyses using the molecular markers.

Chapter 2. Rapid expansion of *Ulva* blooms in the Yellow Sea, China through sexual reproduction and vegetative growth.

The occurrence of green tide blooms in the Yellow Sea for 11 consecutive years since 2007. A “seed bank” comprising micro-propagules including gametes, meiospores, and zygotes, played an important role in the rapid formation of a green tide. The present study examined the germination differences among zygotes, meiospores, gametes and assessed the maturation period of alternating generations of sexual *Ulva prolifera* strains. The zygote and meiospore germination rate was 92% and 80%, respectively, approximately three times greater than that of gametes (30%). In addition, the maturation period of sporophytes and gametophytes was 36 and 31 days, respectively. These results indicate that sexual reproduction and vegetative growth act important roles on the rapid expansion of macroalgal blooms in the Yellow Sea.

Chapter 3. Taxonomic reassessment of *Ulva prolifera* (Ulvophyceae, Chlorophyta) based on specimens from the type locality and Yellow Sea green tide

The green seaweed *Ulva prolifera* is an important fishery product and since causing the world's largest green tide in the Yellow Sea, China in 2008, has attracted much research attention. Species identification is an essential step for advancing this research. However, based on phylogenetic analyses using molecular sequences such as ITS or *rbcL*, *U. prolifera* specimens collected worldwide were separated into a European clade and the *U. linza-procera-prolifera* (LPP) complex clade that included the Chinese bloom-forming strains and Japanese brackish strains. This has resulted in considerable controversy as to the identity of *U. prolifera* and the bloom-forming species in the Yellow Sea. To resolve this issue, populations of *U. prolifera* from the type locality at Lolland Island, Denmark and globally significant sites including from Japan and China were examined using morphology, developmental, molecular and crossing studies. It was found that almost all the Danish strains agree with the description of the type specimen and were included in the LPP clade. They had a branched morphology in culture and an obligate asexual life history with quadriflagellate zoosporoids. It is concluded this taxon in the LPP clade is the true *U. prolifera*. Along with this, a taxonomic revision of *U. prolifera* and closely related taxa are proposed. Because the culturing, mating test and molecular analyses using a more resolved DNA marker, the 5S rDNA spacer, demonstrated the unique differentiation of the Chinese bloom-forming strains, they are described as a new subspecies under *U. prolifera*. Strains of the European clade showing gamete incompatibility to the sexual members of the LPP clade were assigned to the species *U. splitiana*.

論文審査の結果の要旨

世界各地でグリーンタイドと呼ばれるアオサ類の大量発生が起こっているが、中国沿岸で発生するグリーンタイドが世界最大規模とされている。黄海で莫大な量に増殖したアオサが山東省周辺の沿岸に漂着して堆積し、産業活動および沿岸生態系に大きな影響を与えている。しかし、現在までその発生メカニズムは不明なままになっている。その解明の第一歩として、グリーンタイドを引き起こしているアオサの原因株を特定し、どのような特性をもつのか調べる必要がある。本研究では、中国のグリーンタイド原因株(中国株)の分類学的な位置づけを明確にし、他の近縁種との関係性を明らかにする目的で行われた。先行研究では、中国株はスジアオサ *Ulva prolifera* と同定されていた。しかし、スジアオサの分類学的な扱いについて、研究者の間で意見が割れていた。近年の海藻の分類学では DNA 配列比較に基づいて種同定が行われているが、種分類の分子マーカーとして広く使われている ITS 領域の DNA 配列で解析すると、スジアオサは英国産と日本産の 2 グループに分かれる。そして日本産グループには中国株と近縁種のウスバアオサ *U. linza* が含まれる。そのため、①英国産グループが真のスジアオサで、日本産グループはウスバアオサとして扱う、②日本産グループには真のスジアオサとウスバアオサが含まれ、英国産グループは別種として扱う、という 2 つの意見が対立していた。この分類学の問題を解決するには、学名の基準となるタイプ標本の DNA 配列がどちらのグループに入るのかを調べればよいが、スジアオサのタイプ標本(担名タイプ)は紛失して存在しないとされている。そのため、本研究ではタイプ産地であるデンマークのロラン島のアオサを精査して、どちらのグループが真のスジアオサとすべきかを判定した。その上で、中国株と他の近縁種との関係性を明らかにするため、より解像度が高い DNA 解析に加え、培養および交雑試験を行っている。本学位論文は 3 章で構成され、第 1 章は総合序論、第 2 章と第 3 章が研究成果となっている。以下に第 2 章と第 3 章を概説する。

第 2 章では、中国株の生活環と成長特性を培養試験によって調べている。成果として、中国株は雌雄配偶子の接合過程を経る有性生殖により増殖すること、長さ 2cm の芽生えの藻体が成長して胞子を生産するまでに 1 ヶ月以上かかること、などを明らかにした。これら第 2 章の内容は、以下の国際雑誌に掲載された。

Cui JJ, Shi JT, Zhang JH, Wang LT, Fan SY, Xu ZY, Huo YZ, Zhou QY, Lu YW, He PM. Rapid expansion of *Ulva* blooms in the Yellow Sea, China through sexual reproduction and vegetative growth. *Marine Pollution Bulletin* 130: 223-228 (2018)

第 3 章では、中国株の分類学的位置を確定させるために、まず真のスジアオサがどの分類群であるかを判定し、次に真のスジアオサと判定された分類群と中国株の関係性を調べる手順で研究が行われた。スジアオサのタイプ産地から採集された 20 株で培養形態が原記載と一致し、それらが真のスジアオサとみなされた。ITS 領域の DNA 解析に基づいて、これら 20 株すべてが日本産グループに含まれた。したがって上述の対立する意見の②が正しいと判定された。しかし、日本産グループには、タイプ産地株、日本株、中国株とウスバアオサが含まれる。そこでこのグループをより詳細に調べるために、ITS よりも 10 倍変異しやすいとされる 5S スペーサー領域を使った DNA 分析と、培養試験および交雑試験が行われた。その結果、タイプ産地株・日本株・中国株は、ウスバアオサとは異なるスジアオサグループとして識別され、この分類群が真のスジアオサとみなされた。さらに、培養形態と交雑親和性について、中国株はタイプ産地株・日本株とは明瞭に異なっていることが示された。これらの知見に基づき、中国株はスジアオサの新亜種として記載された。以上の第 3 章の内容は、以下の国際雑誌に受理されている。

Cui JJ, Monotilla AP, Zhu WR, Takano Y, Shimada S, Ichihara K, Matsui T, He PM, Hiraoka M. Taxonomic reassessment of *Ulva prolifera* (Ulvophyceae, Chlorophyta) based on specimens from the type locality and Yellow Sea green tides. *Phycologia* 57 (2018) (in press)

本学位論文の研究は、黒潮圏域のほぼ全域に大量に分布する海洋植物の分類学および進化学の重要な知見を含んでおり、黒潮圏科学の発展に貢献するものである。なお、本研究で実践された分類学は、分子生物学、生殖生理学、形態学といった分野を統合したかたちで進められており、総合的・学際的な研究を目指す黒潮圏科学の志向に合致する。

ふりがな	アルビン プスプス モノテラ
氏名 (本籍)	ALVIN PUSPUS MONOTILLA (フィリピン共和国)
学位の種類	博士 (学術)
学位記番号	甲総黒博第27号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成30年9月20日
学位論文題目	Species diversity of tropical leafy seaweed <i>Ulva</i> in the Philippines and southwestern Japan (フィリピンと西南日本の熱帯性葉状海藻アオサの種多様性)
発表誌名	Monotilla A.P., Nishimura T., Adachi M., Tanii Y., Largo D.B. and Hiraoka M. Examination of prezygotic and postzygotic isolating barriers in tropical <i>Ulva</i> (Ulvophyceae, Chlorophyta): evidence for ongoing speciation. <i>Journal of Phycology</i> 54 (2018)
	審査委員 主査 准 教授 平岡 雅規 副査 教 授 木下 泉 副査 教 授 飯國 芳明

論文の内容の要旨

Taxonomic circumscription of *Ulva* species from the wild through morphological and molecular methods remains debatable. These methods would result to inaccurate biodiversity estimates if not supported with culture and hybridization studies. Species diversity of the bloom-forming *Ulva* in the Philippines and southwest Japan has not been scrutinized to date and hence needs further examination.

The aim of this dissertation was to assess the diversity of foliose *Ulva* in the Philippines and southwest Japan. Major effects of the 'green tide' blooms in Asia Pacific and methods to identify species responsible for the bloom were summarized in Chapter 1. In this dissertation, morphotypes of *Ulva* from the Philippines and some morphological issues between closely-related species of the perforated *U. reticulata* and imperforate *U. ohnoi* were presented. In Chapter 2, species boundaries between *U. ohnoi* and *U. reticulata* were clarified through the combined approach using morphological, molecular and culture studies. Reproductive boundaries of *Ulva* strains were examined through culturing and hybridization under laboratory conditions. And in Chapter 3, the diversity of live *Ulva* strains from central and southern Philippines was assessed through culturing and hybridization.

Chapter 1. General Introduction

This chapter introduces various studies on the ecological and economic effects of green tides as one of the major problems globally. Various researches have been conducted to understand the occurrence of the bloom. However, taxonomic circumscription of several leafy *Ulva* in the tropical regions through morphological and molecular methods remains problematic. To resolve this issue, a combined approach involving culture studies is required to clarify species boundaries and discriminate inaccuracy in estimating diversity. Here, methods on assessing *Ulva* diversity in the both regions of the Philippines and southwest Japan were presented.

Chapter 2. Examination of prezygotic and postzygotic isolating barriers in tropical *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta): evidence for ongoing speciation

Phylogenetic clades based on DNA sequences such as the chloroplast *rbcL* gene and the nuclear ITS region are frequently used to delimit algal species. However, these molecular markers cannot accurately delimit boundaries among some *Ulva* species. Although *Ulva reticulata* and *Ulva ohnoi* occasionally bloom in tropical to warm-temperate regions and are clearly distinguishable by their reticulate or plain blade morphology, they have few or no sequence divergences in these molecular markers and form a monophyletic clade. In this study, to clarify the speciation and species delimitation in the *U. reticulata-ohnoi* complex clade, reproductive relationships among several sexual strains from the Philippines and Japan including offspring that originated from the type specimen of *U. ohnoi* were examined by culturing and hybridization in addition to the ITS-based analysis. As a result, both prezygotic and postzygotic reproductive isolation were revealed to occur between genetically perforated *U. reticulata* and imperforate *U. ohnoi*. They were also separated on the basis of sequence analysis of the ITS region. That strongly supports that the two taxa are independent biological species. Although no prezygotic barrier among the Philippine and Japanese strains of *U. reticulata* was observed, unexpectedly zoospores produced by hybrid sporophytes in some of their combinations mostly failed to develop, indicating partial formation of a postzygotic barrier despite a 0.2% divergence in the ITS sequence. These findings suggest speciation is still ongoing in *U. reticulata*.

Chapter 3. Diversity of reticulate *Ulva* in central and southern Philippines through culturing and hybridization

The archipelagic nature of the Philippines influenced by oceanic currents supports highly diverse marine flora and fauna. Currently, bloom-forming *Ulva* is frequently observed in different regions of the Philippines. Yet, little is known about their diversity. Here, the diversity of several *Ulva* strains from different Philippines islands was examined. Reproductive relationships among sexual strains from central and southern Philippines were tested by culturing and hybridization. Results revealed that most of the strains have a sexual life history and no prezygotic and postzygotic reproductive isolation was observed to occur among them. However, one strain had an asexual life history by means of biflagellate zooids. This study is a pioneering step in evaluating the diversity of *Ulva* in the Philippines.

論文審査の結果の要旨

本研究は、黒潮圏域沿岸の主要な一次生産者である熱帯性アオサの種多様性の問題に取り組んでいる。近年、フィリピンの海浜でグリーンタイドと呼ばれる葉状緑藻アオサが大量に繁殖する現象が発生し、水産や観光産業に影響を与えている。このフィリピンのグリーンタイドは穴がたくさん開いた網目状の形態をもつアミアオサ *Ulva reticulata* と穴が開かない形態のオオバアオサ *U. lactuca* が原因種として報告されてきた。しかし、オオバアオサは北歐を中心に分布する寒冷種なので、熱帯域の種類が真のオオバアオサなのか疑問がもたれていた。そこで申請者は、フィリピンのグリーンタイド原因種を精査し、アオサの分類研究が進んでいる西南日本のアオサと比較することで、種同定および種間の関係性を明らかにしようと試みた。アオサは単純な葉状の形態をしているので、種間で比較できる形質が少なく、一方で種内の変異が大きい。そのため形態比較による分類は困難である。現在では古典的な形態観察と DNA 配列の比較解析を組み合わせた分析が種分類の主流となっている。しかし、部分的で限られた領域の DNA 配列を比較して何らかの違いが検出された場合、それが種内変異か種間変異かどちらによるものなのか簡単には判定できない問題が生じる。また、それらの DNA 配列が完全に一致したとしても同様に判定しえない。この種判別の根本的な問題を解決するために、申請者は従来の DNA 配列比較に加えて、時間と労力がかかる培養および交雑実験を行った。それにより、生物学者に広く受け入れられている生物学的種概念の適用が可能となり、子孫が造られるかどうかで異種か同種かを判定できるようになる。そのような方法論に基づき研究が進められている。

本学位論文は 3 章で構成され、第 1 章は総合序論、第 2 章と第 3 章が研究成果であり、特に重要な成果は第 2 章に記載されているので、以下に概説する。

これまでフィリピンのグリーンタイドはアミアオサとオオバアオサによって引き起こされ、藻体の穴の有無で両種は識別されてきた。しかし、両種の典型的な形態を示すサンプルを同じ条件で培養すると、どちらも穴が開くアミアオサの形態に成長することが明らかになった。培養開始時に穴のないオオバアオサは、成長するにつれて胞子を藻体中央部分に造って放出するようになる。胞子放出した部分は藻体から脱落するので、これを繰り返すと最終的には穴がたくさん開いた網目状のアミアオサと同形態の藻体になった。したがって、オオバアオサとされてきた藻体は、アミアオサが胞子形成を起こしていない藻体と位置付けられた。さらに両者が互いに交雑可能であること、DNA 配列(ITS 領域)で一致することから、フィリピンのオオバアオサはアミアオサと同種と結論された。フィリピンのアミアオサと、西南日本のアミアオサ、および DNA 系統解析で最近縁に位置付けられるミナミアオサについて、接合前隔離と接合後隔離の有無が試験された。接合前隔離の試験では、雄と雌の配偶子懸濁液を顕微鏡下で混ぜ合わせて接合子の形成活性を観察している。接合後隔離の試験では、接合胞子体が放出する減数胞子の発生率を計測している。このような接合前と接合後の隔離の有無を詳細に調査した研究は、アオサのみならず海藻および海洋生物全般でほとんど実施されておらず貴重なデータと評価できる。

そのデータによると、アミアオサとミナミアオサでは接合活性が低い、接合子が造られて雑種胞子体の育成が可能であった。しかし、雑種胞子体が造る減数胞子は正常に発生できず発生率はほぼゼロであり、接合後隔離が完成していた。これはアミアオサとミナミアオサが別種である明確な証拠となる。さらに興味深い関係性が示されている。3 地域からのアミアオサ 3 株(フィリピン産、高知産、沖縄産)について、高知産は他の 2 株と接合前および接合後隔離は観察されなかったが、フィリピン産と沖縄産は接合後隔離があることが示された。これはフィリピン産と沖縄産では遺伝子の交流が妨げられているが、高知産を介すると原理的には 3 地域の遺伝子交流は可能という関係性になっている。そのような種分化が海洋生物で起こっていることはこれまで予想されておらず、この発見は今後、生態学および進化学の分野で注目されるようになるだろう。以上の研究成果は、すでに下記の国際学術誌に原著論文として受理され、ウェブ上で公表されている。

Monotilla A.P., Nishimura T., Adachi M., Tanii Y., Largo D.B. and Hiraoka M. Examination of prezygotic and postzygotic isolating barriers in tropical *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta): evidence for ongoing speciation. *Journal of Phycology* 54 (2018)

本学位論文の研究は、黒潮圏域であるフィリピンから沖縄、高知に至る範囲の沿岸域の種多様性について、生態学および進化学の分野の重要な発見を含んでおり、黒潮圏科学の発展に貢献するものである。

ふりがな	パンタラーノ アリン ダビン サルト
氏名(本籍)	PANTALLANO ALLYN DUVIN SALUDO (フィリピン共和国)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲総黒博第28号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成30年9月20日
学位論文題目	Dependence of fish on subtropical riverine mangroves as habitat in the Ryukyu Islands, Japan (魚類生息場所としての琉球列島のマングローブ水域の重要性)
発表誌名	Pantallano ADS, Bobiles RU, Nakamura Y. Dependence of fish on subtropical riverine mangroves as habitat in the Ryukyu Islands, Japan. Fisheries Science, 84:613-625, 2018
	審査委員 主査 准教授 中村 洋平 副査 准教授 三浦 収 副査 教授 大島 俊一郎

論文の内容の要旨

The mangrove ecosystem has long been recognized as an important habitat to fishes especially those that are commercially important (e.g. lutjanids). In general, mangrove forests are restricted to the tropics, but they could also be found in the subtropical areas (e.g. Japan in the northern region, and Australia and New Zealand in the southern region). There were several studies conducted related to mangrove forests as fish habitat and most of these were done in the tropical region and only few were conducted in the subtropical areas (Faunce and Serafy 2006). Moreover, of these studies, mostly were focused on species composition and patterns of fish distribution between mangroves and neighboring habitats (e.g. seagrass beds and coral reefs). Although previous studies claimed that mangroves are important habitat to fishes this is still debatable. One major reason is that the fishes observed in the mangrove habitats could be coincidental because there is also a possibility that these fishes merely prefers the brackish water environment where the mangrove forest thrives. To provide better understanding it is important to examine the dependence of these fishes in the mangrove habitats. One way to achieve this is to compare habitats where there is presence and absence of mangroves. Mangroves in Japan, is one good example of a subtropical setting where mangrove forests mostly exist in rivers and the study of fish dependence on mangroves has never been dealt with.

This dissertation is composed of two main chapters and an appendix of fish photos. The first chapter was the study comparing fish assemblage structure between the two types of river (rivers with mangroves hereafter "mangrove-rich", and rivers without or with few mangrove stands hereafter "mangrove-free"). The aim was to determine if fishes were dependent on the mangrove habitat. Since food resources could be a possible factor that influence the distribution of fish, the second chapter examined the diet of fish species and prey items collected in each two types of river. The aim was to clarify the food habits of the fishes present in the mangrove-rich and mangrove-free

rivers and whether there was a relationship between the food habits of these fishes and the abundance of food available in both types of river.

Chapter 1: Differences in fish assemblage structure between mangrove-rich and mangrove-free subtropical rivers in the Ryukyu Islands, Japan

The fish assemblage structures were compared in the downstream side between mangrove-rich and mangrove-free rivers on Ishigaki and Okinawa Islands in 2014 and 2015. A total of seven study sites were selected (two on Ishigaki Island and five on Okinawa Island). On each island, only one river for each type of river was selected on Ishigaki Island while three rivers were selected for mangrove-rich and two rivers for mangrove-free on Okinawa Island. Collection of fish samples was done using a beach seine net with a total of 20 tows in each river. Results of the study showed that the mean species richness and abundance of fish were significantly higher in the mangrove-rich rivers than in the mangrove-free rivers in both islands. Moreover, mangrove-related food feeders such as benthic invertebrate and detritus feeders were more abundant in the mangrove-rich than in the mangrove-free rivers. However, mangrove-unrelated food feeders (e.g. zooplankton feeders) did not differ between the two types of river. The result of cluster and ordination analysis revealed that the assemblage structure were clearly different between mangrove-rich and mangrove-free rivers in each island. This was supported through SIMPER analysis where on Ishigaki Island, *Apogon amboinensis* and *Gerres oyena* were the key fish species with highest contribution of similarity in the mangrove-rich river while *Favonigobius reichei*, *Glossogobius biocellatus*, and *Zenarchopterus dunckeri* in the mangrove-free river. On Okinawa Island, *Caranx papuensis*, *G. biocellatus*, and *Acentrogobius* sp. 2 were among the species that was most responsible for the similarity in the mangrove-rich rivers while *C. papuensis*, *Chelonodon patoca*, and *G. biocellatus* were responsible for the similarities among the mangrove-free rivers. Furthermore, of all of the fish species collected (88 species), half of the species (45 species, 51%) occurred exclusively in the mangrove-rich rivers, 9 species (10%) in the mangrove-free rivers and 34 species (39%) were common in both types of rivers. Commercially important fish (e.g. *Lutjanus fulvus* and *Lutjanus argentimaculatus*) showed greater abundance of juveniles in the mangrove-rich rivers than in the mangrove-free rivers, indicating that mangrove-rich rivers can provide important habitat for a variety of fish, including those commercially important to fisheries. In conclusion, almost half of the fish species collected were likely to depend on mangroves as habitat since these species were found exclusive to rivers with mangroves, and abundance of juveniles of the commercially important fish indicates the potential nursery habitat of mangrove-rich rivers may be beneficial to fisheries on the islands.

Chapter 2: Food habits of fishes in mangrove vegetated and unvegetated subtropical rivers in the Ryukyu Islands, Japan

Fish food habits are one of the ways to understand the factors controlling their distribution and abundance, and are likely to reflect the types and variability of resources available in their

environemet. In chapter 1 results showed that rivers with mangroves had higher number of species and individuals compared to rivers without mangroves, and that mangrove-related food feeders were more abundant in the mangrove-rich than in the mangrove-free river. One explanation of this pattern could be the greater abundance of mangrove-related food items present in the mangrove-rich rivers than in the mangrove-free rivers, and that these food items were eaten by many of the fish present in the mangrove-rich rivers. The examination of fish diets provides basis for understanding fish feeding habits and trophic structure of the fish assemblage present on a habitat. In addition, examination of prey items present in that habitat could likely provide insights to what variety of food resources available are abundant and of which are eaten by most fishes. In this chapter, diets of fish were examined within the fish assemblage present in the mangrove-rich and mangrove-free rivers to determine the food habits of fishes and prey items were also collected to examine the abundance of food resources present in each type of rivers and determine its relationship on the diets of the fishes. Gut content analysis of fish were done into a total of 87 species with 78 species in the mangrove-rich rivers and 43 species in the mangrove-free rivers. Results showed that diets of fishes in the mangrove-rich rivers have higher consumption of detritus, large benthic crustaceans (e.g. crabs, shrimps), small benthic crustaceans (e.g. gammaridean amphipods) and fishes (e.g. gobies) than in the mangrove-free rivers. Moreover, the species richness of the mangrove-related food feeders such as small benthic crustaceans and polychaete feeders were three and six times higher in the mangrove-rich rivers than in the mangrove-free river which coincides to the higher abundance of benthic prey items (e.g. gammaridean amphipods and errant polychaetes) collected in the mangrove-rich rivers. Furthermore, comparing the feeding habits of fish species common in both types of river, results showed similarity and differences between mangrove-rich and mangrove-free river. However, these feeding patterns were species and island-specific. For instance, *C. papuensis* had no significant difference between the two types of river even though the type of river of which they were present were on different islands. This could mean that both types of river could provide the same food resources preferred by these species regardless of island difference. On the other hand, a total of seven common species showed significant difference in their food diets where three species (*G. oyena*, *Z. dunckeri*, *Siganus guttatus*) were present in both types of river located on the same island while four species (e.g. *Bothus pantherinus*, *Eleotris acanthophoma*, *F. reichei*, and *Leiognathus equulus*) on different islands. The different feeding habits observed on some of the common fish species present in the two types of river could be due to the change of habitat that leads to the change of diet of these fishes and also the availability and abundance of preferred prey since different habitat and location might provide different food resources.

Appendix

Fish photography was done on a total of 75 fish species identified following the methods of Motomura and Ishikawa (2013).

論文審査の結果の要旨

マングローブは河口や沿岸の潮間帯に生育する樹木の総称のことである。主に熱帯域に分布するが、琉球列島など亜熱帯域に分布することもある。マングローブが繁茂している水域(以下、マングローブ水域)には多くの魚類がみられることから、この水域は魚類の生息場所として重要であると考えられている。しかし、マングローブ水域の魚類研究は主に熱帯域で行われてきており、魚類生息場所としての亜熱帯域のマングローブ水域の重要性についてはまだ評価されていない。

沖縄県では河口周辺にマングローブ群落が発達している。沖縄県のマングローブ水域にも多くの魚類が生息していることが知られているが、これらの魚類がマングローブ群落に依存しているのか、それとも河口のような汽水水域を好んでいるのかよくわかっていない。

本研究では、沖縄県の沖縄本島と石垣島において河口域にマングローブ群落が発達している河川とそうでない河川をそれぞれ選び、両タイプの河川での魚類の群集構造を比較することで、マングローブ群落の有無が河口周辺の魚類の種多様性に与える影響を評価した。また、両タイプの河川で採集した魚類各種の食性とそれらの餌生物量を河川間で比較することで、マングローブ群落の有無と魚類の分布パターンとの間に、各種の食性や餌生物量が関係しているのかを調べた。

本学位論文の学術的な新知見は、琉球列島の沖縄本島と石垣島では、マングローブ群落が発達している河川にはそうでない河川よりも多くの魚類が生息していることと、この現象には各魚種の食性と両タイプの河川間での餌生物量の違いが大きく関わっていることを明らかにしたことにある。また、マングローブ群落が発達した河川にしか出現しない魚類がいることを明らかにしたこと、マングローブ群落の保全が、これらの魚類を保全する上で重要であることを示した。研究成果の一部は既に国際誌に論文として掲載されている。

Pantallano ADS, Bobiles RU, Nakamura Y. Dependence of fish on subtropical riverine mangroves as habitat in the Ryukyu Islands, Japan. *Fisheries Science*, 84:613-625, 2018

本学位論文は2つの章と付録の魚類標本写真集で構成されている。第1章と第2章が研究成果となっている。各章の概要はそれぞれ次の通りとなっている。

第1章では、魚類生息場所としての琉球列島のマングローブ水域の重要性を把握するために、沖縄本島と石垣島でマングローブ群落が発達している河川(以下、マングローブ河川)とそうでない河川に出現する魚類の群集構造を比較した。調査は、2015年と2016年の夏から秋にかけて、沖縄本島と石垣島で行った。沖縄本島でマングローブ河川3か所、非マングローブ河川2か所、石垣島ではマングローブ河川と非マングローブ河川を一つずつ選び、各河川で地曳網を用いた魚類の採集を各年20回行った(各河川合計40回)。2年間の調査の結果、36科88種2620個体が採集された。また、採集された88種のうち、45種はマングローブ河川のみ、9種は非マングローブ河川のみに出現し、34種はどちらのタイプの河川にも出現した。一曳網あたりの魚類の平均種数と個体数は沖縄本島と石垣島どちらでもマングローブ河川が非マングローブ河川よりも有意に多かった。クラスター解析では、沖縄本島と石垣島どちらでも、魚類群集の構造は両タイプの河川間で大きく異なった。沖縄本島においてはマングローブ河川間で優占するマングローブの種類に違いがあったものの、魚類群集の構造に大きな違いは認められなかった。水産有用種のフエダイ類の種数と個体数は、マングローブ河川の方が非マングローブ河川よりも有意に多かった。以上の結果から、両タイプの河川で採集された全魚種のおよそ半数がマングローブ水域に依存していること、また、水産上重要な魚類がマングローブ水域を稚魚の成育場として利用して

いることから、琉球列島においてマングローブ群落の存在は、魚類の種多様性や水産面で重要な役割を果たしていると考えられた。

第2章では、マングローブ河川と非マングローブ河川との間における魚類の分布パターンに、各魚種の食性と両河川間での餌生物量の違いが影響しているのか調べた結果を示している。マングローブ河川で採集した魚類78種と非マングローブ河川で採集した魚類43種の食性を消化管内容物分析で調べたところ、デトリタス食魚、魚食魚、大型甲殻類食魚、多毛類食魚、小型甲殻類食魚、プランクトン食魚の種数が非マングローブ河川よりもマングローブ河川で多いことを明らかにした。また、マングローブ河川にしか出現しない魚類には、非マングローブ河川にしか出現しない魚類よりも、小型甲殻類食魚と多毛類食魚の種数が顕著に多く、これらの餌生物量も非マングローブ河川よりもマングローブ河川で多いことを明らかにした。これらの結果から、マングローブ群落の有無が魚類の分布に与える影響に、魚類各種の食性と餌生物量が大きく関わっていることがわかった。

付録の魚類標本写真集では、本調査で採集した魚類88種のうち、75種の標本写真を掲載している。

黒潮流域圏の熱帯沿岸域では、マングローブが養殖池や沿岸開発のために伐採されたり、あるいは自然の防波堤として植林されたりする。人為的なマングローブ群落の消失や創出がその周辺水域に生息する魚類の種多様性にどのような影響を与えるのか把握することは、自然環境と調和の取れた社会を構築していく上での第一歩となる。このように、本研究で得られた知見と研究手法は、学術的な重要性だけでなく、上記課題にも応用できるなど黒潮圏科学の趣旨にも合う点で評価できる。

ふりがな	トラン トルン タン
氏名 (本籍)	TRAN TRUNG THANH (ベトナム社会主義共和国)
学位の種類	博士 (学術)
学位記番号	甲総黒博第29号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成30年9月20日
学位論文題目	Comparison of early life histories of euryhaline fishes in estuaries between Vietnam and Japan (河口域における広鹹性魚類の初期生活史のベトナムおよび日本間での比較)
発表誌名	Tran, T.T., H.D. Tran & I. Kinoshita. 2017. Occurrence of two types of larvae of the Asian seaperch (<i>Lateolabrax</i>) in the estuaries of northern Vietnam. <i>Ichthyol. Res.</i> , 64(2): 244-249.
	審査委員 主査 教授 木下 泉 副査 准教授 伊谷 行 副査 教授 田中 壮太 副査 准教授 平岡 雅規

論文の内容の要旨

General introduction. Estuarine fish communities are composed chiefly by euryhaline fishes, especially their larvae and juveniles. Of them, the seaperches (*Lateolabrax*, *Lateolabracidae*) and porgies (*Acanthopagrus*, *Sparidae*) are widely distributed from tropical to temperate coasts of Southern Asia and East Asia, demonstrating biodiversity. In this study, to understand latitudinal variation of biotope functions of estuaries for larvae and juveniles emphasizing euryhaline fishes, estuarine larval and juvenile fish communities are compared between Vietnam as a tropical waters and Japan as a temperate ones and the larvae and juveniles of the seaperches and porgies are compared ontogenetically and ecologically between the above sites.

Topography and environment. This study was conducted at the Tien Yen and Kalong estuaries facing the Gulf of Tonkin in northern Vietnam, inner estuaries in Ariake Bay and Shimanto estuary facing Tosa Bay of southern Japan. Water-temperatures were the lowest in Ariake Bay, followed by Shimanto and northern Vietnamese estuaries, salinity phenomena were almost similar among the three waters, and turbidities were much higher in Ariake Bay. Furthermore, water temperatures were not so higher in Vietnam in spite of lower than the Tropic of Cancer, being like to be influenced by a cold current from the Yellow Sea.

Comparison of larval and juvenile community. To clarify the common or different characteristic of the larval and juvenile fish communities in estuaries between Vietnam and Japan, monthly collections were conducted in the center of the current with larva net and the bank waters with seine net.

In the Tien Yen estuary, a total of ca. 2,000 and 3,000 fishes of more than 30 and 37 species from 17 and 21 families were collected in the center of the current and bank waters, respectively,

from October 2014 to April 2015. Gobiidae spp. (86.1% of the total abundance), *Luciogobius* sp. (4.7%), *Acanthopagrus* (2.5%), Tetradontidae sp. (1.5%) and *Omobranchus* sp. (1.2%) in the center of the current; *Acanthopagrus latus* (43.0%), *Gobiopterus brachypterus* (30.1%), *Oryzias curvinotus* (9.5%), *Acanthopagrus schlegelii* (5.5%) and *Gerres japonicus* (3.0%) in the bank waters were dominant in the community.

In the Yabe estuary of Ariake Bay, a total of ca. 9,000 fishes of 13 species from 8 families were collected in the center of the current from February to April 2015. The ichthyofauna was dominated almost entirely by the gobiid *Acanthogobius hasta* (91.7%). *Trachidermus fasciatus* (3.7%) was ranked second, followed by Gobiidae sp. (2.7%).

In the Shimanto estuary, a total of ca. 400 and ca. 10,000 fishes of more than 13 and 49 species from 8 and 24 families were collected in the center of the current from October 2015 to February 2016 and in the bank waters during the period of October to March from 2014 to 2018, respectively. *Plecoglossus altivelis altivelis* (35.2%), *Luciogobius* spp. (27.4%), *Sebastiscus marmoratus* (18.1%), *Engraulis japonica* (12.0%) and *Lutjanus* sp. (4.2%) in the center of the current; *P. a. altivelis* (37.9%), *Leucopsarion petersii* (25.0%), *Gymnogobius scrobiculatus* (11.0%), *Mugil cephalus cephalus* (6.9%) and *Gymnogobius castaneus* (6.5%) in the bank waters were dominant in the community.

The species richness was significantly greater in the bank waters than in the center of the current in both Vietnamese and Japanese estuaries. Gobiidae was the most dominant in terms of both species diversity and abundance in the estuarine ichthyofaunas.

Larval and juvenile community of Vietnamese estuary was composed of not only tropic but also temperate species, and was resemble to Shimanto estuary rather than Ariake estuary, where endemic and relic fishes are distributed in drastically turbid waters.

Comparison of early life history of the Asian seaperches (*Lateolabrax*). Larvae and juveniles of *Lateolabrax* sp. occurred from December to April in the estuaries of northern Vietnam, the southernmost locality for this genus distribution. The larvae and juveniles appeared in the bank waters in both the Tien Yen and Kalong estuaries, and in the center of the current in the latter. Their morphological, meristic and pigmentation characters were closer to those of Chinese *Lateolabrax* than *L. japonicus*, so Vietnamese *Lateolabrax* is likely situated as a population of Asian continental *Lateolabrax*. Morphometric and pigmentation characters of larvae from the two estuaries differed, suggesting that *Lateolabrax* of northern Vietnam are diversified and consist of at least two different breeding stocks.

To examine a biodiversity of early life history of *L. japonicus* in Ariake Bay, their ontogeny was compared among neighboring habitats. Of larvae and juveniles from three estuaries and a surf zone, recruits into the most symbolized estuarine river flowing into the bay showed significant more difference in morphology and growth. This differentiation can demonstrate indeed a plasticity to make any cohort stocks survive to sustain the unique Ariake population.

When the larvae and juveniles were compared among Vietnam, Ariake Bay and Shimanto estuary, some differences were found. There were significant differences in morphology between Vietnamese and Japanese seaperches and between the fishes in Ariake Bay and Shimanto estuary;

however, some morphometric and meristic characters of Ariake Bay population tended to fall midway between values for the Vietnamese and Shimanto ones. The growth was the fastest in the specimens from Vietnam, followed by Shimanto estuary and Ariake Bay. Their hatching dates were concentrated to days around the new moon in all the sites. *Lateolabrax* fed mainly on calanoid copepods and their food habit changed with the growth in both Vietnam and Japan. There was a little difference in the seasonal occurrence between Vietnam and Japan. The size and developmental stage compositions were common to both Vietnam and Japan, which are chiefly composed the larval and juvenile stages, suggesting that estuaries provide worldwide a nursery ground for the transformation stage of seaperch. Therefore, distribution of *Lateolabrax* larvae and juveniles could show characteristic but common phenomena by different oceanography.

These results indicate that *Lateolabrax* could experience their early stages from the cool temperate to tropical regions, implying the potential biodiversity of this fish genus in the world.

Comparison of early juveniles of porgies (*Acanthopagrus*). *Acanthopagrus latus* and *A. schlegelii* are closely related species distributed in northern tropical to temperate coastal waters of eastern Asia. In northern Vietnam early juveniles of both the species occurred in the Tien Yen estuary, from December to March (*A. schlegelii*) or December to April (*A. latus*), when temperatures ranged from ca. 16 to 25°C, which is observed twice (spring and autumn) a year in estuaries or surf zones facing Tosa Bay of Japan, and *A. latus* and *A. schlegelii* early juveniles are abundant opposite for each season. Thus; a thermoperiodicity is common worldwide to early juveniles of the two *Acanthopagrus*. The two species occurred as the same developmental stage, being markedly more abundant and larger sizes in *A. latus*. The early juveniles inhabited over bank waters of the estuary. There was little variation in developmental stage and size among stations for both the species. The two *Acanthopagrus* species from Vietnam spawn for a same season and their early juveniles simultaneously used a same nursery ground, so they probably could not interbreed to keep species due to isolating spawning ground.

Although the growth was not much difference between the two species, the osteological development proceeded at smaller size in *A. schlegelii* than *A. latus*. Hence, their development than growth were more regular in the inhabitation such as bank waters and tend to be more stimulated in the higher temperatures.

Acanthopagrus latus juveniles fed mainly in cyclopoid, followed by harpacticoid and calanoid copepods and there were almost similar in food composition among different sizes. Whereas, food habit of *A. schlegelii* juveniles changed with growth. Initially, the cyclopoid was the most important prey for *A. schlegelii*, followed by calanoid and harpacticoid copepods; however, as size increase, the number percentage of the former decreased whereas that of the two latter increased, consequently, the larger than 16 mm juveniles fed chiefly on harpacticoid, followed by cyclopoid copepods. The occurrence of benthic food such as gammarid in stomach indicates that the juveniles of both the species transform to demersal habit from the smallest sizes that first appeared in the bank waters of the estuary.

When juveniles of *A. latus* were compared between Tien Yen and Shimanto estuaries, there are significant mean differentiations in body parts larger than ca. 11 mm specimens between the two areas; growth and development were significantly faster in *A. latus* juveniles from Tien Yen than those from Shimanto estuary. The water physical parameters when the juveniles were collected were not much difference between the two areas, suggesting that these ontogenetic differences in early juveniles between Vietnam and Japan seem to reflect genetic, not phenotypic modification.

Early juveniles of *Acanthopagrus* are usual components of estuarine ichthyofauna and their larvae seem to settle dispersedly into banks, not migrating with growth, following a spring tidal current, in both tropical and temperate regions. It seems utilization of estuary in early stages of life history by this fish genus is a worldwide phenomenon.

In conclusion, this study reveals that early life histories of euryhaline fishes could show characteristic but common phenomena by different oceanography, thus it should be biodiversity.

論文審査の結果の要旨

申請者 Tran Trung Thanh 君は、2018 年 6 月 15 日に上記題目の学位論文について審査願を本専攻に提出した。それに先立ち、申請者の必要提出書類を確認し、予備審査委員会が設置され、5 月上旬から予備審査が開始された。

申請者が筆頭著者である 1 篇の参考論文の査読制度付き学術論文雑誌への公表(次頁末)、国際学会またはそれ相当の国内学会での 4 度の口頭発表および学位取得に必要な所定の単位を確認し、5 月 16 日に予備審査に合格し、6 月 22 日より本審査に入った。

本論文は、河口域における広鹹性魚類の初期生活史をベトナムと日本間で比較し、その相違点をつまびらかにし、沿岸魚類の成育場としての河口域の意義について論じたものである。本論文はこの命題を探求するために、次の 7 章からなっている。

第 1 章. 諸言

第 2 章. 調査域の地勢と環境(この内の一部:参考論文①)

調査の対象域を、ベトナムではトンキン湾北部に注ぐ Tien Yen 川 と Kalong 川の河口域、日本では有明海に注ぐ数河川と土佐湾に注ぐ四万十川のそれぞれの河口域とした。

ベトナムの両河口域とも北回帰線よりも低緯度の熱帯域にありながら、調査期間の水温は温帯域の土佐湾よりも低い傾向にあった。これは、恐らく黄海からの寒流の影響と推察された。一方、濁度をみると、ベトナムと四万十川ではほぼ共通していたが、有明海での河川で圧倒的に高い傾向にあり、各河口域は共通点もみられた中で、それぞれ特有な環境を呈していた。

第 3 章. 材料と方法(この内の一部:参考論文①)

調査期間は仔稚魚が多様である秋季から春季とし、浮遊期と接岸期の範疇に分けて採集し、浮遊期仔魚は船舶からの稚魚ネット(網目 0.5 mm)の傾斜曳、表層曳もしくは傾斜曳により、接岸期稚魚は汀線付近の浅海域における小型曳網(網目 1 mm)によりそれぞれ把握した。調査時の物理環境(水温・塩分・濁度)は表層から底層まで可能な限り観測した。

主要種仔稚魚の発育・成長を時空間で比較検討するために、個体発生を詳細に記載し、耳石日周輪を計測、骨格形成を透明二重染色法によって観察した。その中で、成長と発育の相違を評価するために、仔稚魚の胃内容物(主に動物プランクトン)も分析した。

第 4 章. 仔稚魚群集のベトナムー日本間での比較

科レベルの仔稚魚群集は、温帯域の四万十川は、水温が最も低く濁度が最も高かった有明海よりも、むしろ熱帯域のベトナムによく類似しており、有明海の特異性ならびにベトナム北部での低温傾向の影響が目された。

第 5 章. スズキの初期生活史のベトナムー日本間での比較(参考論文①)

初期生態では、有明海でのものは、稚魚期に達しても浮遊生活を継続する特異性をみせたが、形態的には三者三様であり、特にベトナムのものは大きく異なっていた。このことは、ベトナム産スズキは日本産とは別種であることを示唆している。さらに、ベトナム内で比較すると、わずか 30 km 程しか離れていない Tien Yen 川 と Kalong 川のスズキは、形態的・色素的にも明らかに違っており、スズキ属魚類の南端に位置するベトナム北部での複数の産卵個体群の存在を暗示している。

第 6 章. クロダイ類の初期生活史のベトナムー日本間での比較

クロダイ属のキチヌとクロダイ仔稚魚は、ベトナムと四万十川において出現した。日本では、これら2種の産卵期・出現期は相反しており、キチヌが秋季の水温下降期に対して、クロダイは春季の上昇期である。しかし、その水温範囲は両種間でほぼ一致している。ところが、ベトナムでは、この水温範囲は年に12-3月間の1回のみであり、両種仔稚魚は同時に出現した。これらのことは、両種の再生産が同じ水温帯に依存しており、その傾向は熱帯域と温帯域とで共通していることを示している。さらに、両種間で成長・発育・骨格形成を比較すると、いずれもクロダイの方が早く、若くかつ小さなサイズで稚魚期に達し、浅海域に接岸していた。この現象は、ベトナムと四万十川両河口域で共通してみられた。

第7章. 総合討論(この内の一部:参考論文①)

河口域に分布する広鹹性の沿岸魚類の仔稚魚をベトナムの2水域と日本の2水域間で比較検討した結果、群集構成は熱帯-温帯域の違いよりも、むしろそれぞれの河口域の環境特性に影響されていた。すなわち、トンキン湾北部の冷水塊のため、ベトナムの仔稚魚群集は四万十川のそれに類似し、有明海のものは東南アジア含む東アジアの中でも極めて特異であることが示唆された。

広鹹性のスズキとクロダイ類の初期生活史をつぶさに比較検討したところ、両者とも必然的に河口域を成育場とすることが明らかになった中で、スズキは水域による著しい多様性がみられ、逆にクロダイ類は共通性を顕示していた。

以上、河口域を黒潮流域に沿って熱帯域から温帯域まで広く沿岸魚類の成育場としての観点から比較検討した申請者の提出論文は博士論文として申し分なく、極めて逸出した研究の一つと言ってもいい。確かに華々しい発見こそないが、その質的に膨大な標本を試験・観察することで、彼は東南アジアにおける傑出した仔稚魚分類学者になったことは間違いない。さらに、最も肝要なのは、彼が学位取得後、本国(ベトナム)において科学的業務を遂行できるための十分な知識、技能、思考力を本専攻において修得できたことであろう。

【参考論文】

① Tran, T.T., H.D. Tran & I. Kinoshita. 2017. Occurrence of two types of larvae of the Asian seaperch (*Lateolabrax*) in the estuaries of northern Vietnam. *Ichthyol. Res.*, 64(2): 244-249.