

スジハゼ複合種群における
遺伝的集団構造の形成にかかわる生態的特性の解明

2014 年

松井 彰子

目次

第1章 緒言	1
第2章 分類学的地位	7
2-1 遺伝的手法にもとづく分類学的地位の検証	8
2-2 遺伝的差異にもとづく簡易種判別法の開発	15
第3章 成魚の分布と生息環境	23
3-1 日本列島沿岸域における地理的分布と生息環境	24
3-2 若狭湾西部海域における生息域と生息環境	37
第4章 生活史	61
第5章 仔魚の分布と分散	81
5-1 耳石輪紋の日周性の検討	82
5-2 若狭湾西部海域における仔魚の水平分布と鉛直分布	86
第6章 遺伝的集団構造とその形成に関わる生態的特性	103
第7章 総合考察	149
要約	157
謝辞	163
引用文献	165

第1章 緒言

遺伝的多様性は、適応進化の原動力となり種多様性の形成に欠かせないばかりでなく、生態系機能の豊かさや安定性をもたらすことが知られている (Hughes et al. 2008). 遺伝的多様性は遺伝子突然変異や個体の分散による遺伝子流動によって増加する一方で、自然選択や遺伝的浮動によって減少し、これらの増加要因と減少要因のバランスによって維持されている。これらの要因の中で、特に遺伝子流動と密接に関わり、遺伝的多様性の維持に関わっているのが遺伝的集団構造である (Avice 1992; Ellstrand and Elam 1993). 生物は分布域に一律に生息するのではなく、何らかの集団構造を持つことが多い。この集団間で個体の分散が制限され、遺伝子流動が減少することで集団間に遺伝的差異が生じ、遺伝的集団構造が形成される。遺伝的に異なる集団間で遺伝子流動があると、集団内の遺伝的多様性は増加する。反対に集団間で遺伝子流動が制限されると、集団内の遺伝的多様性は減少するが、各集団の遺伝的な特異性が増し、集団間に異なる遺伝子型やその頻度の違いが保持される。したがって、種内全体および種内集団内の遺伝的多様性の保全には、遺伝的集団構造を把握し集団の地理的分布や集団間の遺伝子流動の大きさを明らかにするとともに、その形成機構を解明することが不可欠である。

生物の生息域は、陸域では水域や高山などによって、淡水域では陸域や海域などによって分断され、集団間の個体分散が制限されやすい。このため、陸域や淡水域に生息する多くの種が明瞭な遺伝的集団構造を持っている (Avice 2000). 一方、海域には生物の生息域を分断するような明瞭な物理的障壁が少ないことに加え、多くの種が浮遊幼生期をもっており浮遊幼生が海流や波に運ばれて受動的に分散するため、個体の分散が比較的大きくなる (Kinlan and Gaines 2003). また、数千年程度の短い期間では海域の環境は比較的安定しており、遺伝的多様性に影響を与えるような集団の増減も少ない。したがって、一般に海洋生物では陸域や淡水域の生物と比べ集団間で遺伝的差異が生じにくく、遺伝的集団構造が形成されにくいと言われている (Waples 1998; DeWoody and Avice 2000). しかし、海洋生物に

においても生息域は連続的ではなく、さまざまな物理的要因（陸、海峡、外洋、海流、淡水流入、その他不適な環境など）が海洋生物の生物地理的境界として働いている (e.g. Burton 1998; Rocha et al. 2002; White et al. 2010). このような物理的障壁によって海洋生物の個体分散は制限され、遺伝子流動が制限されることで、遺伝的集団構造が形成されることが知られている (Bohonak 1999; Hellberg 2009).

同じ海域に生息する生物には、共通の物理的障壁が個体分散の制限要因として働くことが予想されるが、全ての種において同様の遺伝的集団構造が形成されるわけではない。同様の物理的障壁の下でも、生態的特性の違いによって集団間の遺伝子流動の大きさに違いが生じ、遺伝的集団構造の違いにつながることを知られている。海洋生物の遺伝的集団構造の形成に影響を及ぼす可能性のある生態的特性として、たとえば浮遊幼生期間の長さや (e.g. Dawson 2001; Shanks et al. 2003), 波当たり (e.g. Bird et al. 2007; Hickey et al. 2009) や生息水深 (e.g. Rocha et al. 2002; Ayre et al. 2009) などの生息環境や分布特性、水平および鉛直方向への能動的な移動能力の違い (e.g. Sponaugle et al. 2002; Cowen et al. 2006) といった多くの要因が挙げられる。したがって、海洋生物の遺伝的多様性の保全策を講じる上で、どのような生態的特性が海洋生物の遺伝的集団構造の形成・維持に関わっているのかを明らかにすることは重要である。

遺伝的集団構造の形成に関わる様々な要因の中でも、物理的障壁については単独種の遺伝的集団構造を詳細に調べることで、種内の遺伝的分化との関わりをある程度議論できる (e.g. Dawson et al. 2001; Taylor and Hellberg 2003; White et al. 2010). しかし、ある生物の遺伝的集団構造の形成にとって重要な生態的特性を明らかにすることは、その種を単独で扱っていたのでは不可能である。焦点となる生態的特性について異なる性質をもつ複数種を比較することで、その生態的特性が遺伝的集団構造の形成に影響しているのかを議論することができる。これまでにも、生態的特性の異なる複数種の間で遺伝的集団構造を比較して、遺伝的集団構造の形成要因を検討したメタ研究などがあった (Avise 1992; Johannesson and André 2006; Kelly and Palumbi 2010). このように多数の分類群間での比較研究は、遺伝的集

団構造の形成に関わる大まかな生態的特性を洗い出すことに貢献しており、上記のような生態的特性が形成要因として抽出されてきた。しかし、そのようなメタ研究の多くでは、対象とする種の生息海域の違いや系統的な遠さなど焦点となる生態的特性以外の種間差がノイズとなってしまうという問題点がある。生態的特性と遺伝的集団構造との関係を明快に示すには、比較対象となる複数種の経てきた歴史に大きな違いがないこと、つまり互いに近縁で分布域がほぼ同じであることが条件となる (e.g. Hickey et al. 2009; Dawson 2012)。このような厳密な条件の下での研究例は少なく、遺伝的集団構造の形成に関わる生態的特性に関する知見は乏しい。

ハゼ科魚類は海産魚類の中で最大の種多様性を誇り、多様な生態的特性を保有する分類群である (Nelson 2006)。この分類群では、生態的特性の中でも特に生息環境とそれに応じた生息域が種特異的で、多様な種が沿岸域の多様な環境にそれぞれ適応して分布していることが知られており (Miller 1993)、環境の生物指標としても注目されている (Brenner et al. 2010)。また、一般にハゼ科魚類は短期で成熟に至りライフサイクルが短いために、他の魚類と比べて突然変異の蓄積が早く進化速度が大きい傾向があると考えられる (cf. Martin and Palumbi 1993)。したがって、ハゼ科魚類は生息環境などの生態的特性に着目して遺伝的集団構造の形成・維持機構を理解するためのモデル分類群として適している。

ツマグロスジハゼ *Acentrogobius* sp., スジハゼ *A. virgatus*, モヨウハゼ *A. pflaumii* は、日本列島および朝鮮半島から中国東部にかけての内湾域に広く分布しているハゼ科キララハゼ属魚類である (明仁ほか 2013; Fig. 1-1)。キララハゼ属は熱帯・亜熱帯を中心に分布する分類群であるが、これら3種のみが主に温帯域に分布している (鈴木ほか 2004; Larson et al. 2008)。3種は近年まで「スジハゼ *A. pflaumii*」1種として扱われていたが (e.g. 明仁ほか 2000)、形態的に区別される3タイプ (スジハゼ A, B, C) の存在が指摘されてきた (吉郷 2001; 鈴木ほか 2004)。これら3タイプ間には遺伝的にも差異があることが示され (本論文第2章)、現在では互いに異なる種として記載されている (明仁ほか 2013)。各種についての生態情報は不足しており、生態的特性を3種間で同時に比較した研究もこれまでには

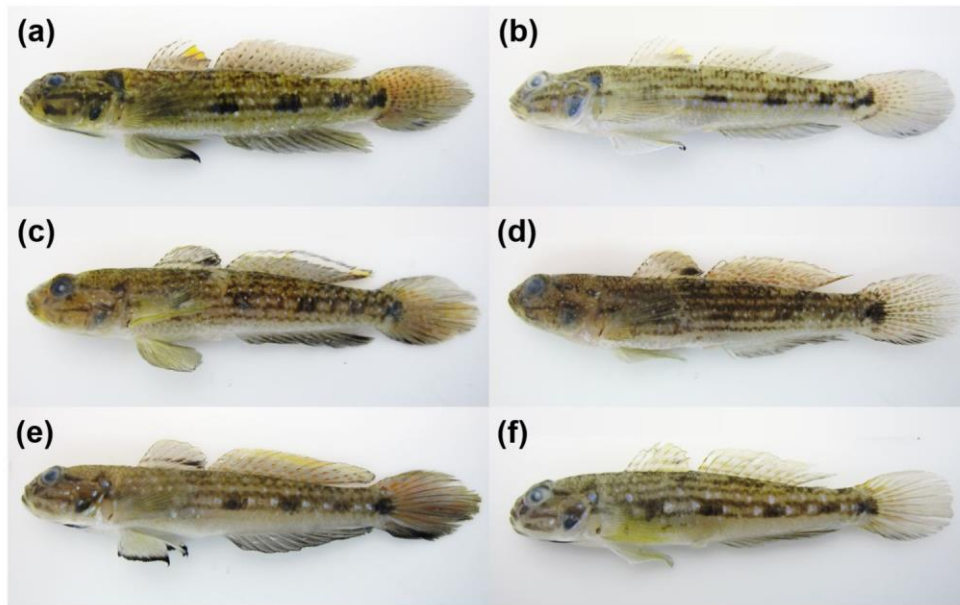


Fig. 1-1 Lateral view of *Acentrogobius pflaumii* species complex: (a) *Acentrogobius* sp., male, FAKU (Kyoto University Fish Collection) 134565; (b) *Acentrogobius* sp., female, FAKU 134486; (c) *A. virgatulus*, male, FAKU 134524; (d) *A. virgatulus*, female, FAKU 134597; (e) *A. pflaumii*, male, FAKU 134603; (f) *A. pflaumii*, female, FAKU 134510

無いが、断片的な知見から3種は次のような生態的特性を持つとされる。地理的分布は3種で大きく重なっており、同一湾内に生息していることも多いが、湾内での生息域が種間で異なる。ツマグロスジハゼは概ね湾奥から河口域の浅所に、スジハゼはアマモ場などの湾奥部の浅所に、モヨウハゼはやや深い所に、それぞれ生息するとされる（鈴木ほか 2004; Horinouchi 2008; Inui et al. 2011; 明仁ほか 2013）。このように、3種は同所的に生息している近縁種であり生態的差異を持っていることから、生態的特性に着目して遺伝的集団構造の形成機構について検討するための条件を満たしている。すなわち、3種は分布域内の地史的イベントや海洋物理環境の類似性、および進化速度などの遺伝的特性の類似性を仮定することができるため、種間における生態的特性の違いが遺伝的集団構造の違いに影響するのかを明確に調べることができる。本研究では、この3種をモデルとして、沿岸性魚類の遺伝的集団構造の形成に関わる生態的特性について検討することを主要な目的とした。本研究では、この3種を他のキララハゼ属魚類と区別する意味で「スジハゼ複合種群」と称して扱

う。

以上のように、スジハゼ複合種群の3種は、遺伝的集団構造と生態的特性との関係を研究するための材料として優れている。しかし、近年まで同一種として扱われていたという事情もあって3種を区別した生態研究が十分に行われておらず、生態的特性についての詳細な情報が不足している。そこで本研究では、3種の生態的特性を野外調査にもとづいて詳細に明らかにすることを副目的に定めた。焦点とした生態的特性は、遺伝的集団構造への影響が指摘されてきた①成魚の生息環境と分布、②生活史特性、③仔魚の分布と分散である。ただし、本研究では生活史特性として、寿命、成熟齢、産卵期、浮遊仔魚期間など、主に「時間軸」でとらえられる成長・成熟に関する生態的特性を扱い、生息環境や分布といった主に「空間軸」でとらえられる生態的特性と区別した。

スジハゼ複合種群は、基礎研究の材料としての価値だけではなく、生態系の中での重要性からも注目される。スジハゼ複合種群は、地域によっては内湾域の底生生物のバイオマスの中で非常に大きな割合を占め、生活史の一部で内湾域を利用する多くの魚食性魚種の主要な餌資源となっている。たとえば山口県油谷湾では、マアナゴ *Conger myriaster*、コチ属魚類 *Platycephalus* spp., スズキ *Lateolabrax japonicus*、マハタ *Epinephelus septemfasciatus* などの胃内容物において「スジハゼ」(3種のうちいずれの種を指しているのか、あるいは複数種を混同しているのかは不明)が湿重量組成の50%前後に達しており(森 1995)、福井県小浜湾では、幼魚期のヒラメ *Paralichthys olivaceus* の胃内容物出現頻度の60%を「スジハゼ」を主としたハゼ科魚類が占めていた(富永・牧田 2008)。また、陸上植物由来の餌資源を利用するベントスの主要な捕食者として、陸域と海域の物質連環に関わっていると考えられている(富永・牧田 2008)。このように、スジハゼ複合種群は生態系の中で重要な役割を果たしており、3種の生態的特性と遺伝的集団構造を把握することは、漁業資源や内湾域生態系の保全・管理のための基礎的知見としても意義がある。

本論文の構成について概説する。第2章はスジハゼ複合種群がまだ1種として扱われていた時に行った内容で、形態的に異なる3タイプ(スジハゼ A, B, C)の間で遺伝的にも

差異があるのかを調べてタイプ間の生殖的隔離と遺伝子浸透の有無を明らかにし、3タイプが完全に異なる繁殖集団に属する別種であることを確かめた。また、後の章で扱う仔魚など、形態的特徴から同定が難しい標本の種を判別するために、種間の遺伝的差異にもとづいて簡便な3種の遺伝的種判別法を開発した。第3章では、日本列島沿岸域における網羅的な3種の採集調査と環境測定により3種の地理的分布を明らかにし、3種の生息環境について概観した。また、若狭湾に限定した3種の定量採集と詳細な環境測定により、同一湾内における3種の生息域と生息環境を明らかにした。第4章では、若狭湾で3種を定期的に採集し、寿命、成熟齢、産卵期、産卵数、浮遊仔魚期間などの生活史特性について調べた。第5章では、若狭湾において3種の仔魚を採集し、仔魚の水平分布と鉛直分布を明らかにした。また、前章までに明らかにしてきた成魚の生息域や浮遊仔魚期間などの生態的特性との関わりから、3種の分散の大きさについて考察した。第6章では、日本列島周辺海域から同所的に採集した3種の標本を用いて、各種内の遺伝的集団構造を明らかにし種間で比較した。さらに、前章までに明らかにした成魚の生息環境と生息域、生活史特性、仔魚の分散の種間差と、本章で明らかになった遺伝的集団構造の種間差とを照らし合わせ、スジハゼ複合種群の遺伝的集団構造の形成に関わる生態的特性について多面的に検討した。第7章では、本研究の成果をまとめ、他の沿岸生物との比較をとおして生態的特性が遺伝的集団構造の形成・維持機構の中で果たす役割について総合的に考察を行った。さらに、生態的特性と遺伝的集団構造との関わりをふまえた遺伝的多様性の保全についても言及した。

第 2 章 分類学的地位

【背景】

「スジハゼ *Acentrogobius pflaumii*」には形態的に区別される 3 タイプ（スジハゼ A, B, C）の存在が指摘されてきた（吉郷 2001；鈴木ほか 2004）。3 タイプの形態的差異について略述すると、スジハゼ A は背鰭前方鱗がない，体側部の黒斑は腹側に近い縦線上に並ぶ，尾鰭基部の黒斑が「イ」の形をしており，その後方に弧状の赤褐色縦線が走る，第 1 背鰭に黒斑がない，腹鰭中央先端部が明瞭に黒いなどの特徴で他の 2 タイプと区別できる（Fig. 1-1a, b）。スジハゼ B は，背鰭前方に周囲の鱗よりやや小さな鱗が高密度に並ぶ，体側中央部の不明瞭な褐色斑の下に明瞭な 1 褐色縦線が走る，尾鰭基部の黒斑は楔形である，多くの個体で第 1 背鰭に明瞭な黒色斑が見られる，腹鰭の先端部は黒くないなどの特徴で他の 2 タイプと区別できる（Fig. 1-1c, d）。スジハゼ C は，背鰭前方に周囲の鱗より小さな鱗が低密度に散在する，体側中央部の 2 本の褐色縦線の間で明瞭な褐色斑が並ぶ，尾鰭基部の黒斑は楔形である，多くの個体で第 1 背鰭に黒斑が見られる，多くの個体で腹鰭縁辺部が黒く縁どられるなどの特徴で他の 2 タイプと区別できる（Fig. 1-1e, f）。また 3 タイプは，生息環境などの生態的特徴においても互いに異なることが知られており（鈴木ほか 2004; Horinouchi et al. 2008; 第 3 章），スジハゼ A は河口干潟など淡水の影響が大きい湾奥部の浅所に，スジハゼ B はアマモ場など湾奥部の浅所に，スジハゼ C は他の 2 タイプより深所の湾奥部から湾口部にかけて広く生息する。これらの形態的および生態的差異をもった個体が日本列島周辺海域の広範囲にわたって同所的に生息していることから（鈴木ほか 2004），3 タイプ間には生殖的隔離が成立しており，互いに独立した種である可能性が高い。しかし，形態的および生態的差異があっても，種内表現型多型（Smith and Skúlason 1996）や現在あるいは過去の種間交雑（Schwenk et al. 2008）など種間の遺伝的差異が無いあるいは不明瞭である例も多く知られている。3 タイプ間で生殖的隔離が成立していることを明らかにするためには，3 タイプ間の遺伝的差異の程度を調べる必要がある。

ところで、緒言でも述べたように、3タイプは餌資源として、また消費者として、沿岸域の生態系にとって重要な役割を担っている。また3タイプが互いに別種であるならば、広域にわたって同所的に生息する近縁種という特徴から、進化生物学、生態学、集団遺伝学、生物系統地理学など様々な分野の基礎研究の材料としても注目に値する。これらの基礎研究では、各種の生態的特性（たとえば成長段階別の分布、魚食性魚種による被食状況など）を把握することが必要であり、その中で各種は区別して扱われるべきである。ところが、スジハゼ複合種群を含むハゼ科魚類では、特に卵や仔稚魚が近縁種間で形態的に酷似しており、外見から種を同定することが難しい（塩垣・道津 1988）。また、胃内容物中に出現する個体については、成魚であっても種同定が困難であることも多い。3種が近年まで同種として扱われていたことに加え、このような種同定の難しさのために、野外調査にもとづいた3種を区別した生態情報はほとんど蓄積されてこなかった。このように形態的に種同定が困難な3種の標本に対して遺伝的に種を同定できれば、3種を区別して生態情報を収集することができる。さらに、その遺伝的種判別法が安価で迅速なものであれば、野外で採集された膨大な標本を容易に種同定することが可能となり、3種を用いた諸研究の進展が期待できる。

本章では、第1節で3タイプ間の遺伝的差異について調べ、3タイプが互いに独立した種であることを明らかにした。第2節では、第1節で明らかにした遺伝的差異にもとづき、3種の簡便な遺伝的種判別法を開発することを目的とし、種特異的な遺伝子マーカー（プライマー）を設計し、その有効性について検証した。

2-1 遺伝的手法にもとづく分類学的地位の検証

【目的】

形態的差異から区別されるスジハゼ3タイプ（スジハゼ A, B, C）について、遺伝的にも差異があるのかを調べ、3タイプが独立した種であることを検証する。

【方法】

標本採集

スジハゼ A, B, C について, それぞれ宮城県, 京都府, 鹿児島県のほぼ同所的な地点で, 各タイプ 8-17 個体ずつ, 計 31 個体, 31 個体, 33 個体 (総計 95 個体) を採集した (Fig. 2-1; Table 2-1). 採集した標本から体側の筋肉組織を切除して, 99.5%エタノールで固定・保管して実験に供した.

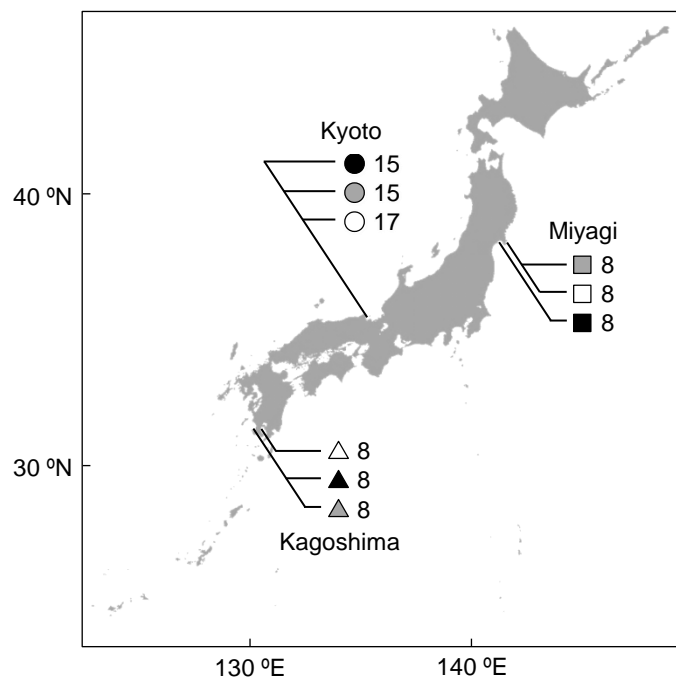


Fig. 2-1 Sampling locations of the three *Acentrogobius* morphs and number of specimens per site. Squares indicate specimens from Miyagi; circles, from Kyoto; and triangles, from Kagoshima. Closed symbols indicate *Acentrogobius* sp. A, shaded symbols, *Acentrogobius* sp. B, and open symbols, *Acentrogobius* sp. B

DNA 抽出, PCR 増幅, 増幅断片のシーケンス

筋肉組織サンプルからの DNA 抽出には DNeasy tissue kit (Qiagen N.V.) を用いた. PCR によってミトコンドリア DNA (mtDNA) のシトクロムオキシターゼサブユニット I (COI) 遺伝子の部分領域を増幅した. 上流プライマーおよび下流プライマーには汎用性の高さから,

Table 2-1 List of materials examined. Numbers collected, registration number, and sampling locations. FAKU: Kyoto University, Fish Collection

Species	<i>n</i>	Registration number	Sampling location
The three <i>Acentrogobius</i> speices			
<i>A. sp.</i>	8	FAKU 133823–133830	Matushima Bay, Miyagi
	15	FAKU 133768–133777, 133779–133783	Maizuru Bay, Kyoto
	8	FAKU 133857–133864	Noma Cape, Kagoshima
<i>A. virgatulus</i>	8	FAKU 133831–133838	Ogatsu Bay, Miyagi
	15	FAKU 133784–133789, 133791–133799	Maizuru Bay, Kyoto
	8	FAKU 133867–133874	Noma Cape, Kagoshima
<i>A. pflaumii</i>	8	FAKU 133842–133849	Onagawa Bay, Miyagi
	17	FAKU 133790, 133800–133815	Maizuru Bay, Kyoto
	8	FAKU 133877–133884	Kinkou Bay, Kagoshima
15 other species			
<i>A. audax</i>	1	FAKU 134234	Miyara River, Ishigaki Island, Okinawa
<i>A. janthinopteus</i>	1	FAKU 134247	Yonada River, Iriomote Island, Okinawa
<i>A. multifasciatus</i>	1	FAKU 134233	Omisha River, Iriomote Island, Okinawa
<i>A. suluensis</i>	1	FAKU 134256	Oura Bay, Miyako Island, Okinawa
<i>A. viridipunctatus</i>	1	FAKU 134223	Lake Manko, Okinawa Island, Okinawa
<i>Amoya moloanus</i>	1	FAKU 134230	Lake Manko, Okinawa Island, Okinawa
<i>Drombus</i> sp.	1	FAKU 134246	Omisha River, Iriomote Island, Okinawa
<i>Tridentiger trigenocephalus</i>	1	FAKU 134278	Maizuru Bay, Kyoto
<i>Acanthogobius lactipes</i>	1	FAKU 134271	Maizuru Bay, Kyoto
<i>Amblychaeturichthys hexanema</i>	1	FAKU 134283	Maizuru Bay, Kyoto
<i>Favonigobius gymnauchen</i>	1	FAKU 134260	Obama Bay, Fukui
<i>Mugilogobius abei</i>	1	FAKU 134276	Maizuru Bay, Kyoto
<i>Myersina filifer</i>	1	FAKU 134287	Maizuru Bay, Kyoto
<i>Parachaeturichthys polynema</i>	1	FAKU 132446	Onoda Port, Yamaguchi
<i>Rhinogobius giurinus</i>	1	FAKU 134266	Obama Bay, Fukui

国際魚類バーコードオブライフイニシアチブ (Fish Barcode of Life : FISH-BOL) で用いられている FishF1 (5'-TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC-3', Ward et al. 2005), FishR1 (5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA-3', Ward et al. 2005) をそれぞれ用いた。PCR 酵素には ExTaq (タカラバイオ株式会社) を用い、温度プロファイルは 94°C 5 分の熱変性後、94°C 15 秒の熱変性、58°C 15 秒のアニーリング、72°C 1 分の伸張反応を 30 サイクル行い、最後に 72°C 2 分の伸張反応を行った。PCR 産物を ExoSAP-IT (USB Corp.) を用いて精製した後、PCR 増幅に用いた 2 つのプライマーおよび BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Inc.) を用いサイクルシーケンス反応を行い、塩基配列の決定には ABI 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems Inc.) を用いた。得られた配列は国際 DNA データベース(DDBJ/EMBL/GenBank)に登録した (登録番号 AB684737-AB684776)。

3 タイプ間の遺伝的差異および系統関係の解析

タイプ内およびタイプ間の遺伝的差異の程度を調べるために、決定された 3 タイプ 95 個体の塩基配列をもとにタイプ内およびタイプ間の平均塩基置換率 (p -distance) を算出した。また、これら 95 個体のハプロタイプの系統関係を調べるため、これらの塩基配列に加え外群として DNA データベースから得た同属のホクロハゼ *A. caninus* の塩基配列 (EF607301, Zhang 2011) を用いて、近隣結合 (NJ) 法および最尤 (ML) 法によって系統樹を構築した。系統樹の推定には、ベイズ情報量規準 (BIC) にもとづいて選択された分子進化モデル (K2P + Γ , Kimura 1980) を用いた。系統樹の信頼性は 1,000 回のブートストラップ法により評価した。これらデータ解析は MEGA5 (Tamura et al. 2011) を用いて行った。さらに、各タイプ内の採集地点間で遺伝的差異の程度を調べるために地点間の遺伝的分化の指標 (Φ_{ST}) を算出し、遺伝的差異の有意性を 10,000 回の permutation test によって検証した。この解析には Arlequin version 3.5 (Excoffier and Lischer 2010) を用いた。

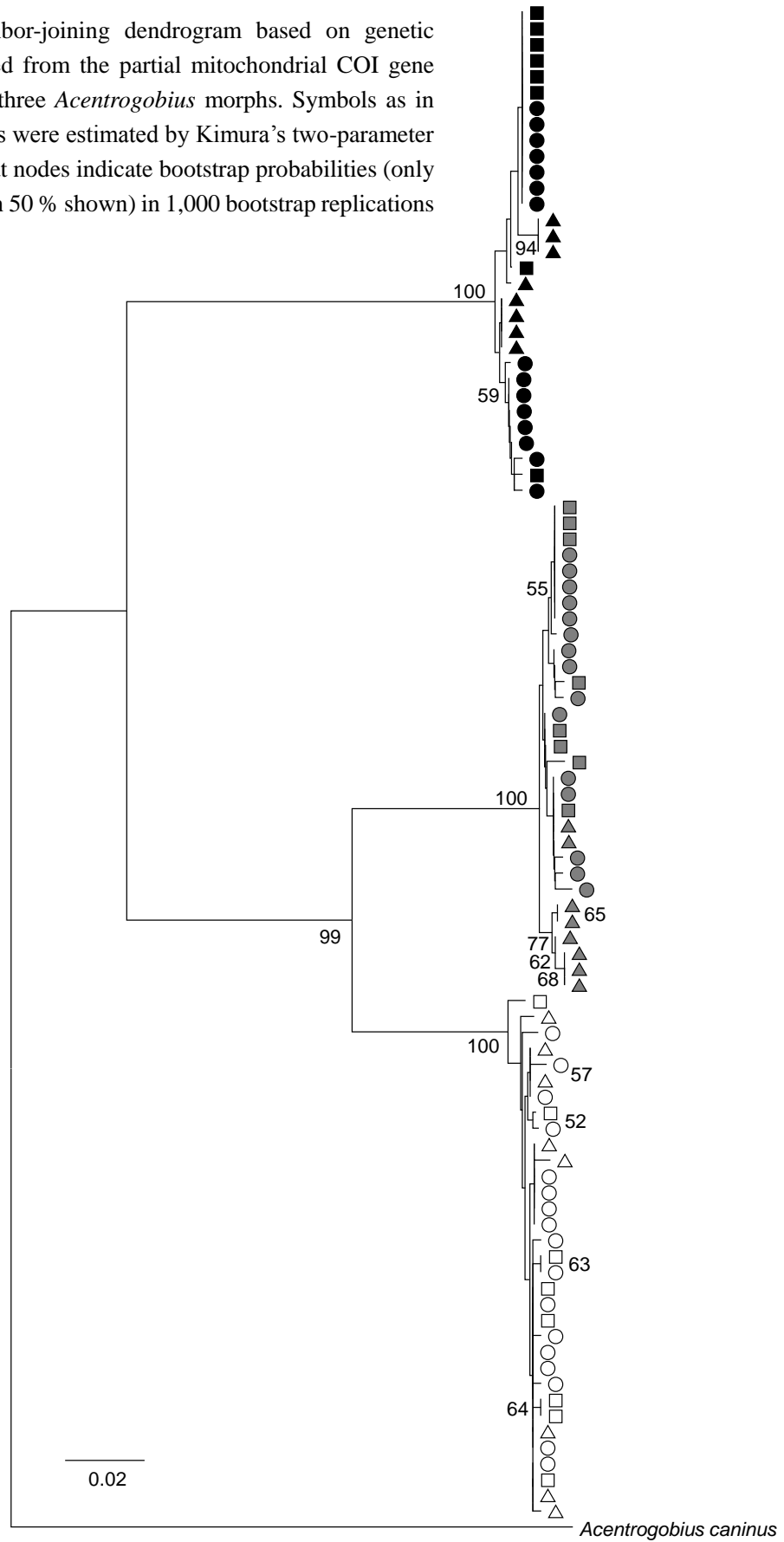
【結果】

スジハゼ 3 タイプ 95 個体の mtDNA の COI 領域の部分塩基配列 496 bp を決定したところ、109 サイト（うち parsimony informative なサイトは 100 サイト）で塩基置換が検出された（transition/transversion 比は 2.85）。検出されたハプロタイプ数は計 40（スジハゼ A で 10、スジハゼ B で 14、スジハゼ C で 16）であり、いずれのタイプ間においても共通するハプロタイプは見られなかった。平均塩基置換率（*p*-distance）はタイプ内では 0.44–0.57%，タイプ間では 8.62–15.50%であった。ハプロタイプの NJ 樹を作成したところ、各タイプは高いブートストラップ確率（100%）で相互に単系統となり、スジハゼ B とスジハゼ C が姉妹関係となった（Fig. 2-2）。ML 樹でも同様に各タイプの単系統性とタイプ間の姉妹関係が支持された。さらに各タイプ内の採集地点間の遺伝的差異の程度を調べたところ、スジハゼ A とスジハゼ B では、地点間で有意な遺伝的差異が検出されたのに対し（スジハゼ A： $\Phi_{ST} = 0.179, P < 0.05$ ；スジハゼ B： $\Phi_{ST} = 0.298, P < 0.001$ ），スジハゼ C では検出されなかった（ $\Phi_{ST} = 0.030, P > 0.05$ ）。

【考察】

同所的に生息する 3 タイプについて各タイプのハプロタイプの単系統性およびタイプ間の遺伝的差異が示されたことから、3 タイプ間には生殖的隔離が存在することが示唆された。COI 領域の 496 bp を用いて算出されたタイプ間の平均塩基置換率の値（8.62–15.50%）は他のハゼ科魚類の種間における値（0.40–22.58%，平均値 $14.63 \pm 4.51\%$ ，これらの値は国際 DNA データバンクから得た 10 属 65 種，登録番号 AF391388, EF550210, EU567148, FJ582713, FJ582719, FJ582724, FJ583413, FJ583428, FJ583433, FJ583451, FJ584203, FJ584215, FJ584233, GQ367306, GQ367354, GQ367380, GQ367420, GQ367445, GQ367468, GU224393, GU224408, GU224409, GU805111, GU908134, HM748343, HM748367, HM748381, HM748384, HM748424, HM775911, HM775941, HQ536632–HQ536637, HQ536641, HQ536642, HQ536648, HQ536651, HQ536653, HQ536654, HQ536663, HQ536669, HQ536671, HQ536676, HQ536682, HQ561508,

Fig. 2-2 Neighbor-joining dendrogram based on genetic distances estimated from the partial mitochondrial COI gene sequences of the three *Acentrogobius* morphs. Symbols as in Fig. 2-1. Distances were estimated by Kimura's two-parameter model. Numbers at nodes indicate bootstrap probabilities (only values greater than 50 % shown) in 1,000 bootstrap replications



HQ561523, HQ909451, HQ909452, HQ909461, HQ909466, HQ909468, HQ909469, HQ909486, HQ945877, HQ945879, JF769304, JF769311, JF935258, JF935263, JF935265, JF935270 の塩基配列を用いて求めた) と相違なかった。このことから、3 タイプは他のハゼ科魚類の種間と比較して十分に長い期間、異なる系列選別 (lineage sorting) を受けていたことが示唆された。このように、同所的生息地において生殖的隔離が存在することから、これまで形態的差異により区別されてきたスジハゼ 3 タイプは、それぞれ独立した種であることが遺伝的にも確認された。以降では明仁ほか (2013) に従い、3 タイプを 3 種 (ツマグロスジハゼ, スジハゼ, モヨウハゼ) として扱う。

明仁ほか (2013) では、3 種は互いに形態的に区別される別種として扱われ、3 種の学名および標準和名についての検討が行われたが、網羅的な分類学的再検討は行われていない。3 種の名義種として、明仁ほか (2013) で検討された 2 種 (*Gobius pflaumi* Bleeker 1853, *Ctenogobius virgatulus* Jordan and Snyder 1901) のほかに、少なくとも *Gobius yokohamae* Günther 1877, *Gobius chefuensis* Wu and Wang 1931, *Acentrogobius pellidebilis* Lee and Kim 1992 がある。各名義種のタイプ標本との比較観察を含めた分類学的な再検討が今後の課題である。

本章で検出された各種内の遺伝的集団構造について簡単に考察する。ツマグロスジハゼとスジハゼでは、得られたハプロタイプの多くで地理的な偏りが見られ、 Φ_{ST} 値からも遺伝子流動が制限されている可能性が示唆された。一方、モヨウハゼでは地理的な集団構造は検出されず、採集地点間の遺伝子流動があまり制限されていないことが示唆された。ただし、本章で得られた遺伝的集団構造についての結果は、わずか 3 地点から得られた標本にもとづくものであり、種内の遺伝的集団構造を検討するには不十分である。分布域を網羅した詳細な検討については第 6 章に譲りたい。

2-2 遺伝的差異にもとづく簡易種判別法の開発

【目的】

本章第 1 節で明らかにした遺伝的差異にもとづき、簡便な 3 種の遺伝的種判別法を開発することを目的とする。

本研究では、種判別法として MHS-PCR 法（マルチプレックスハプロタイプ特異的 PCR 法）に着目した。MHS-PCR 法は、ハプロタイプ特異的（本研究の場合、種特異的）な DNA 塩基配列に着目して、ハプロタイプ特異的（種特異的）なプライマーを設計し、共通の上流プライマーと合わせて PCR 反応を行うことで、標本のハプロタイプの判別（本研究の場合、種判別）を行う方法である（e.g. Rocha-Olivares 1998; Durand et al. 2010）。この方法を用いれば、一度実験条件が確立されると実際の種判別の手順としては、標本から抽出した DNA を 1 回の PCR にかけるだけでよいので簡便かつ安価に種判別を行うことができ、しかも判別精度も高い（Teletchea 2009）。さらに、この MHS-PCR 法がキレックス法（キレックス樹脂によってサンプルから PCR 阻害物質を取り除く安価で容易な DNA の粗抽出法, Walsh et al. 1991）で処理した DNA 懸濁液に対しても適用できれば、より簡便な方法となる。そこで本節では、まず DNeasy tissue kit（Qiagen N. V.）で抽出した DNA を用いて、MHS-PCR 法にもとづく種判別法を確立した。その後、キレックス法で処理した DNA 懸濁液に対して同様の実験条件が適用可能であるかを試した。

【方法】

MHS-PCR のためのプライマー設計

本章第 1 節で決定されたスジハゼ複合種群の mtDNA の COI 領域の部分塩基配列の中で、異なる位置にある種特異的な変異に着目し、その変異部分に特異的に結合する種特異的な下流プライマーを作成した。各下流プライマーと目的とする種の塩基配列とのアニーリングの特異性を高めるため、Sommer et al. (1992) に従い、下流プライマーの 3' 末端から 3 番

目の塩基がミスマッチとなるようにプライマーを設計した。ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼにそれぞれ特異的な下流プライマーの名称および配列は、ApfA-COI (5'-CGA ATC CTC CAA TCA TAA TTG GTA TCG CC-3'), ApfB-COI (5'-AGA AAG MAG AAG AAG AAC MGC GGT GGT C-3'), ApfC-COI (5'-TTG CCC CCA GAT TGA YGA AAT TGC A-3') である。この各種に特異的な 3 つの下流プライマーと 3 種に共通の上流プライマー (FishF1, Ward et al. 2005) と合わせて PCR 増幅を行えば、種によって異なる塩基長の DNA 断片が増幅され (理論的にはツマグロスジハゼで 211 bp, スジハゼで 570 bp, モヨウハゼで 460 bp), アガロースゲル電気泳動を行うことで視覚的に容易に種判別を行うことができると予側された。これらのプライマーに加えて、内部標準として 3 種に特異的な 3 つの DNA 断片とは異なる長さ (理論的には 1526 bp) の断片を増幅させるためのプライマー L-M-12S (5'-ACA AAC TGG GAT TAG ATA CCC CAC TAT GCC-3', mtDNA の 12S rRNA 領域に結合するプライマー) および H-A-16S (5'-GTT TTT GGT AAA CAC GCG AGG CTT ATG TTT GCC GAG-3', mtDNA の 16S rRNA 領域に結合するプライマー) を設計した。この 2 種類のプライマーはいずれもロング PCR に用いられるプライマーである H1065 および L2508 (Kawaguchi et al. 2001) と相補的な配列のプライマーである。これら 6 種類のプライマー (ApfA-COI, ApfB-COI, ApfC-COI, FishF1, L-M-12S, H-A-16S) を用いて PCR を行えば、スジハゼ複合種群の 3 種では内部標準および各種に特異的な塩基長の断片の 2 種類の DNA 断片が増幅され、その他の種では内部標準のみが増幅されると予側された。

設計したプライマーを用いた MHS-PCR 法の有効性の検証に供した標本

本章第 1 節で塩基配列決定されたスジハゼ複合種群の 3 種計 95 個体のうち、各種 3 個体、計 9 個体を用いて、種特異的プライマーによる DNA 断片の増幅を確認するための実験に供した。これら 9 個体は、設計された種特異的プライマーの結合部位で見られた全ての変異を網羅するように選択した。これら 9 個体に加え、種特異的なプライマーを用いた PCR で目的とする種以外の種では DNA 断片の増幅が見られないことを検証するため、スジハゼ複合

種群以外のハゼ科 15 種各 1 個体を実験に用いた (Table 2-1). これら 15 種の選択基準として①まず 3 種の近縁種を含めた. これらの種では, 設計した種特異的プライマーの結合部位の塩基配列が目的とする種の塩基配列と類似している可能性があり, そのプライマーを用いた PCR で意図しない DNA 断片が増幅される危険がある. この基準に照らして, 3 種と同属の 5 種 (ニセツムギハゼ *A. audax*, カスミハゼ *A. janthinopteus*, セイタカスジハゼ *A. multifasciatus*, ホホグロスジハゼ *A. suluensis*, キララハゼ *A. viridipunctatus*) および過去にキララハゼ属とみなされていた 2 種 (フタスジノボリハゼ *Amoya moloanus*, クロコハゼ *Drombus* sp.) を選んだ. ②次に実践的な理由から, 仔稚魚が野外で 3 種と混獲される可能性のある種のうち, 仔稚魚の形態が 3 種と比較的似ている種も加えた. この基準に照らして 8 種 (アカオビシマハゼ *Tridentiger trigonocephalus*, アシシロハゼ *Acanthogobius lactipes*, アカハゼ *Amblychaeturichthys hexanema*, ヒメハゼ *Favonigobius gymnauchen*, アベハゼ *Mugilogobius abei*, イトヒキハゼ *Myersina filifer*, ヒゲハゼ *Parachaeturichthys polynema*, ゴクラクハゼ *Rhinogobius giurinus*) を選んだ. なお, これらの種同定, 標準和名, 学名は明仁ほか (2013) に従った.

MHS-PCR 増幅, 増幅断片の検出

上記の標本 (スジハゼ複合種群 3 種各 3 個体および他 15 種各 1 個体, 計 24 個体) から DNeasy tissue kit (Qiagen N.V.) で抽出した DNA を用いた. 上記のように設計した 6 種類のプライマーを用いて PCR を行った. PCR 酵素には ExTaq (タカラバイオ株式会社) を用い, 温度プロファイルは 94°C 5 分の熱変性後, 94°C 15 秒の熱変性, 60°C 15 秒のアニーリング, 72°C 1 分の伸張反応を 35 サイクル行い, 最後に 72°C 2 分の伸張反応を行った. この PCR 産物を 1.5%アガロースゲル上で電気泳動し, エチジウムブロマイド染色により検出した.

キレックス抽出法との併用可能性の検討

Chelex 100 レジン (Bio Rad Laboratories Inc.) の 5%懸濁液に, 筋肉組織を入れ, 95°C で

15 分加熱処理して、DNA 粗抽出液を作成した。この DNA 懸濁液を用いて上記と同じ実験条件で MHS-PCR 増幅を行い、DNeasy tissue kit で抽出した DNA を用いた場合と同様の結果が得られるのかどうかを検証した。

【結果】

各種特異的プライマー結合部位における種内および種間の塩基配列とその変異を Fig. 2-3 に示し、スジハゼ複合種群（各 3 個体）および他のハゼ科 15 種（各 1 個体）から得た MHS-PCR 産物の電気泳動写真を Fig. 2-4 に示す。いずれの種についても、MHS-PCR 増幅で予測どおりの結果が得られた。すなわち、ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼでは種特異的なバンド（それぞれ約 211 bp, 570 bp, 460 bp の DNA 断片に対応）と内部標準のバンド（約 1526 bp の DNA 断片に対応）の 2 本のバンドが検出され、残りの 15 種ではスジハゼ複合種群各種に特異的なバンドは現れず、内部標準のバンドのみが検出された。また開発した MHS-PCR 法をキレックス法によって抽出した DNA に対して適用した場合にも、同様の結果が得られた。

【考察】

スジハゼ複合種群の 3 種は、設計したプライマーを用いた MHS-PCR 法によって、DNA 断片の長さの違いあるいは有無を判断基準として、相互に、また他のハゼ科魚類からも区別できることが示された。この種判別法を用いれば、従来、分子生物学的な種判別法として主流であった DNA 塩基配列の解読 (e.g. Robertson et al. 2007), PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism, e.g. Mckay et al. 1997), RAPD (random amplified polymorphic DAN, e.g. Bardakci and Skibinski 1994) などと比べて、時間、費用、労力を大幅に抑えて精度の高い種判別を行うことができる。キレックス法と合わせて用いれば、さらに簡便な種判別法となる。したがって、特に野外で採集された大量の標本（たとえば胃内容物や仔稚魚）など、形態的特徴にもとづく種同定が困難な場合には、大いに役立つものと考えられる。

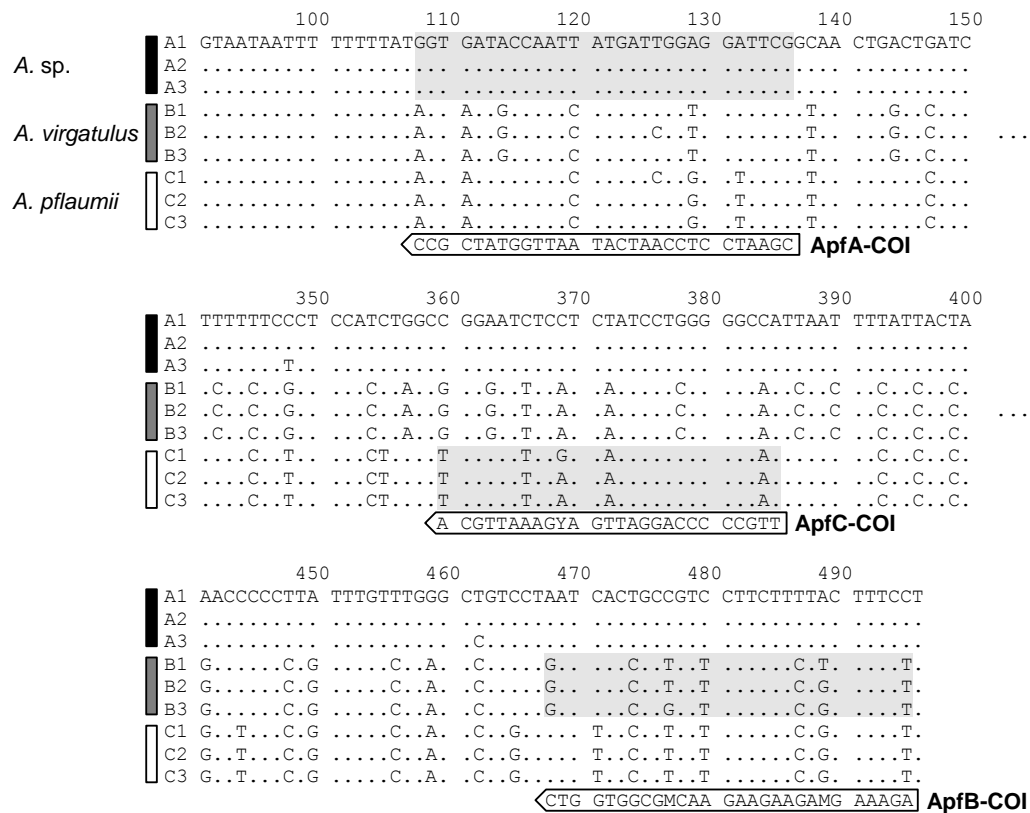


Fig. 2-3 Partial sequences of COI gene of the three *Acentrogobius* species and locations of three species-specific primers designed in the present study (ApfA-COI, ApfB-COI, and ApfC-COI). Shaded areas represent target sequences of the primers. Dots indicate nucleotides identical to those of haplotype A1. Nucleotide positions numbered from the 5' end of determined sequences (starting point). All variable nucleotide sites found in the primer binding sites are presented

ハゼ科魚類を対象としたフィールド研究，特に仔稚魚の生態研究は，種同定が困難であるために進展が遅れてきた。数少ないハゼ科魚類の初期生態研究の1つに Yokoo et al. (2009) がある。この研究では，3種と同属の *A. kranjiensis* と *A. malayanus* の稚魚について，分子生物学的手法によって種同定を行った標本を用いて各種の判別形質を明らかにすることで，野外で採集された標本の種を形態的特徴にもとづいて同定し，各種の出現パターンを調べた。しかし，スジハゼ複合種群の場合，第5章で卵から孵化させて飼育した仔稚魚を用いて3種間の形態的差異について補足的に調べた結果，3種の仔魚について種判別に有効だと思

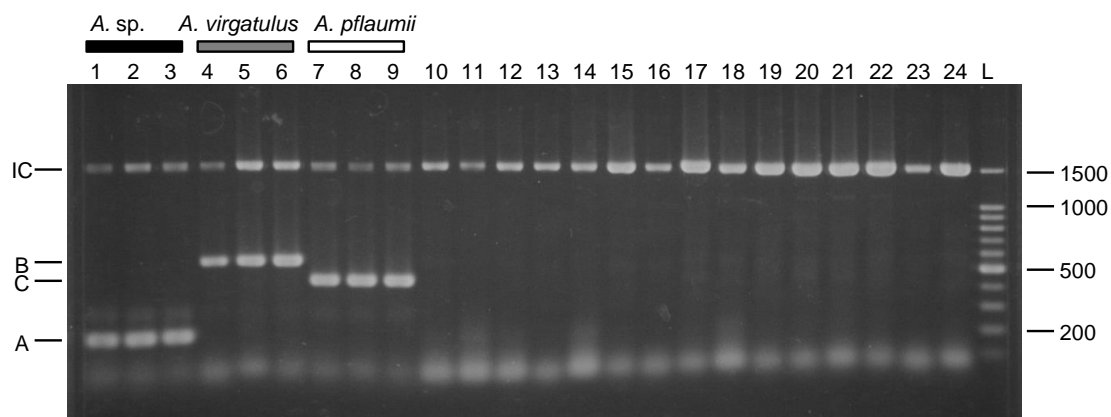


Fig. 2-4 An ethidium bromide stained 1.5% agarose gel after electrophoresis of the MHS-PCR products. Specimens on lane 1–3: *Acentrogobius* sp. (FAKU 133779, FAKU 133823, FAKU 133857); Lane 4–6: *A. virgatus* (FAKU 133796, FAKU 133830, FAKU 133867); Lane 7–9: *A. pflaumii* (FAKU 133809, FAKU 133844, FAKU 133877); Lane 10–24: other gobiid species; L: 100 bp DNA ladder size marker (Takara, Shiga, Japan); IC: internal control, A–C: specific markers for *Acentrogobius* sp. (ca. 211 bp), *A. virgatus* (ca. 570 bp) and *A. pflaumii* (ca. 460 bp), respectively. Numbers on right side refer to the size (in bp) of DNA size marker ladder fragments

われる形態的差異を見つけることができなかった。したがって、これら3種の初期生態研究のために野外から採集された仔魚の種同定法としては、現在のところ遺伝的種判別法が唯一の手段となる。本章で開発した遺伝的種判別法の活用例として、第5章では野外における3種の仔魚の分布について記述している。

本章で開発した種同定法の使用に際した特記事項として、本手法はmtDNAのハプロタイプの変異にもとづいていることが挙げられる。mtDNAでは遺伝子の組み換えがおこらず母系遺伝するため、仮に種間で遺伝子浸透が起こっている場合には、本手法を用いた種同定が必ずしも正しいとは限らない。その場合には、今回のように1つの遺伝子に注目するのではなく、複数の独立した遺伝子に注目した種判別法を用いることで、より厳密な種同定を行う必要がある(Avise 2000)。本章第1節では、3地点から採集された個体を用いたハプロタイプの系統解析で、いずれの種間においても遺伝子浸透は検出されなかった。また、詳しくは第6章で扱うが、日本列島周辺海域から網羅的に採集した個体を用いたハプロタイプの系統解析でも種間の遺伝子浸透は検出されなかった。したがって、日本列島周辺海域では3種

間の遺伝子浸透は起こっておらず，日本列島周辺海域の全ての個体群に対して本手法を汎用しても差し支えないと考えられる。

第3章 成魚の分布と生息環境

【背景】

生息環境や生息域（湾内での分布など、小さな空間スケールにおける分布）は、沿岸生物の個体の分散や、過去の海洋物理環境の変化に伴う各種の個体群変遷（個体群の絶滅や拡大縮小）と密接に関わっており、沿岸生物の集団構造に影響を及ぼす（e.g. Rocha et al. 2002; Hickey et al. 2009; Ayre et al. 2009）。また、地理的分布（大きな空間スケールでの分布）は、各種が経験する地域特有の（現在および過去の）海洋物理環境をとおして、種内系統の分岐や地域集団間の遺伝子流動の大きさに影響することが知られている（e.g. Burton 1998; White et al. 2010; Hirase et al. 2012）。したがって、沿岸生物の遺伝的集団構造の形成機構を検討する上で、各種の地理的分布と、生息環境および生息域の解明は欠かせない。

スジハゼ複合種群の3種は、日本列島周辺の内湾域の砂泥底に広く分布しており、その分布域は重複していることが知られている（鈴木 2004; 明仁ほか 2013）。しかし、3種が近年になって互いに別種であると認識されたこともあり、各種の詳細な地理的分布についての情報は不足している。また、湾内での生息環境は水深（Horinouchi 2008）、底質（Horinouchi 2008; Inui et al. 2011）、塩分（Inui et al. 2011）で異なることが知られている。しかし、これらの報告では、扱っている種が3種のうち2種（スジハゼとモヨウハゼ, Horinouchi 2008; ツマグロスジハゼとスジハゼ, Inui et al. 2011）に限られており、また非常に限定的な地点での報告であるため、3種の生息環境および生息域の違いや、その違いが普遍的な現象であるのかについては検討の余地がある。

そこで本章では、3種の地理的分布および同一湾内における生息環境と生息域を明らかにすることを目的とした。第1節では、日本列島周辺海域における網羅的な採集調査と環境測定にもとづいて3種の地理的分布を明らかにするとともに、3種の生息環境の違いが普遍的なものであるのかを確認した。第2節では、若狭湾西部海域をモデルフィールドとして、同一湾内における3種の生息環境と生息域について詳細に調べた。特に、どのような生息環境

が生息域の違いにつながっているのかについて検討した。

3-1 日本列島沿岸域における地理的分布と生息環境

【目的】

日本列島沿岸域におけるスジハゼ複合種群の各種の地理的分布を明らかにする。また、3種の生息環境（水深・塩分）を概観して、その普遍性を検証する。

【方法】

日本列島沿岸における「スジハゼ」の分布域として記録のある範囲を網羅するように318地点の採集地点を設置し（Fig. 3-1a）、3種の採集を試みた。採集は、底引き網、タモ網、釣り、潜水によった。採集した標本は、10%ホルマリンで固定した後70%エタノールで保管するか99.5%エタノールで固定・保管した。全ての標本は、京都大学（FAKU）に所蔵されている。

3種のうち1種以上が採集された地点で、環境データとして水深、塩分を測定した。水深はCompact-CTD（JFEアドバンテック株式会社）、あるいは重りをつけたメジャーを用いて測定し、海上保安庁海洋情報部（<http://www1.kaiho.mlit.go.jp>）および日本水路協会海洋情報研究センター（<http://www.mirc.jha.jp>）の発表データにもとづいて平均潮位時の水深を算出した。塩分は、Compact-CTDあるいはYSI model 85（ワイエスアイ・ナノテック株式会社）を用いて測定した。

環境データの解析に際して、各種が採集された地点の位置データと環境データ（水深および塩分）は、地域間による採集密度のばらつきを軽減するため、第2次地域区画（総務省統計局での地域メッシュ統計に用いられている標準地域メッシュで、緯度方向に1/12度、経度方向に1/8度で区切られる領域、総務省統計局 2013）を用いて集計した。1つの第2次地域区画の中の複数の地点である種が採集された場合、採集地点の位置データは、第2次地域

区画の中心の座標で代表させ、環境データについては、平均値を用いた。この集計データを用いて、水深と塩分について3種間で比較し、種間の違いは Steel-Dwass test によって検定した。これに加えて、緯度と各種が生息している環境との関係を調べるため、各環境変数について単回帰分析を行い、水深と塩分について3種の環境利用が緯度間で異ならないかを確かめた。全ての統計解析は、R 2.13.2 (R Development Core Team 2011) を用いて行った。

【結果】

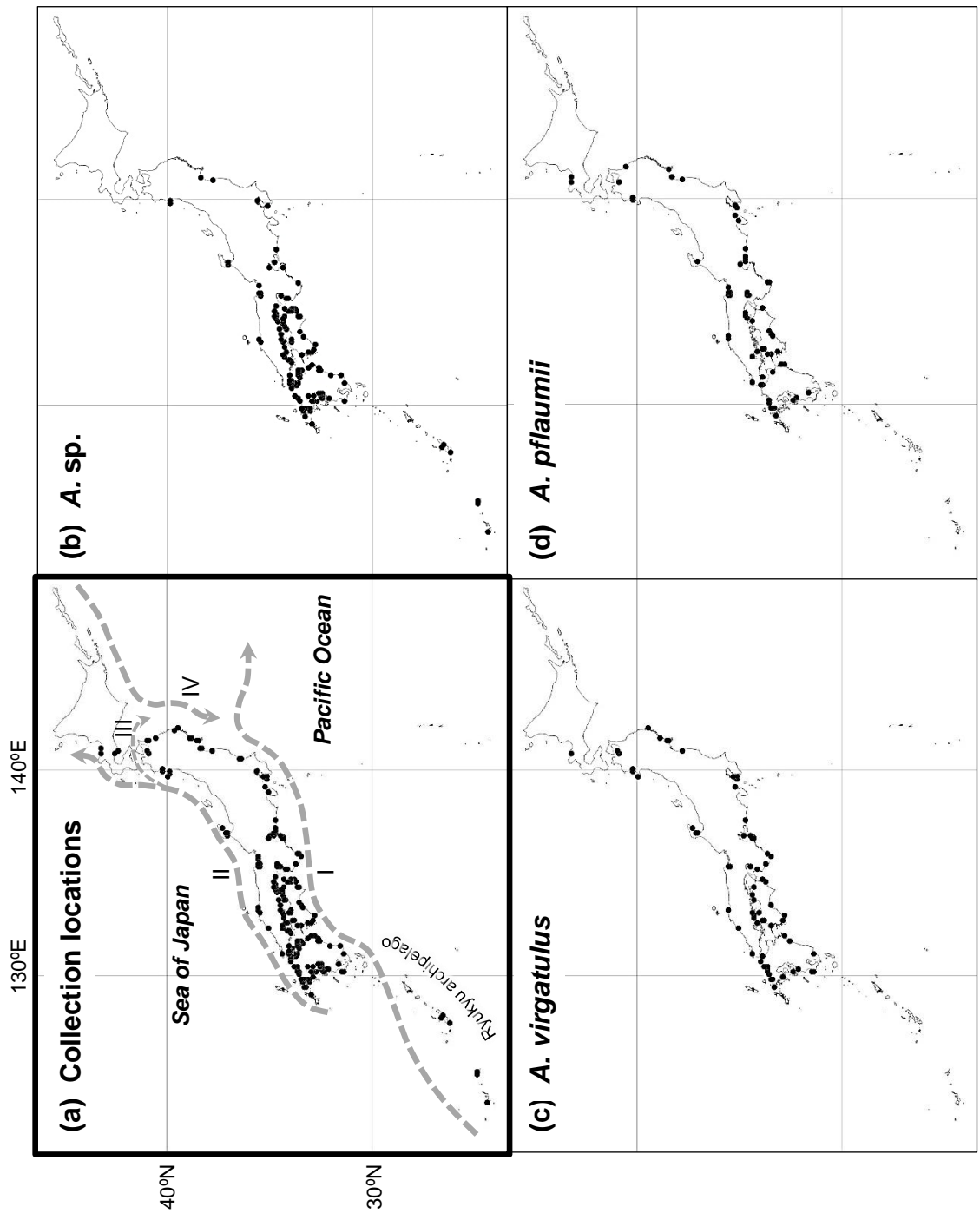
地理的分布

スジハゼ複合種群は日本列島沿岸域の計 310 地点で採集された。ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼはそれぞれ 164, 91, 90 地点で採集された (Fig. 3-1b-d, Table 3-1)。3種の分布は広範にわたって重なっており、同一の湾内で3種が採集されることも珍しくなかった。また3種全てにおいて、分布の北限は太平洋沿岸に比べ日本海沿岸の方が高緯度側に位置していた。分布の北限を3種間で比較すると、太平洋沿岸と日本海沿岸のいずれにおいても、ツマグロスジハゼよりも他の2種の北限の方が高緯度まで分布していた。逆に、分布の南限は、ツマグロスジハゼで他の2種よりも低緯度に位置しており、3種のうちツマグロスジハゼのみが琉球列島から採集された。

生息環境

水深の測定は、ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼの採集地点のうち、それぞれ 123 地点、74 地点、77 地点で行われ、これらのデータはそれぞれ 92, 57, 56 個の第2次地域区画のデータへと変換された。このデータを用いて生息水深を3種間で比べたところ、平均生息水深は3種間で有意に異なっており、ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼの順に浅い所に出現する傾向があった (Fig. 3-2a)。採集された水深 (最小値-最大値) はツマグロスジハゼで 0.1-4.8 m, スジハゼで 0.2-9.0 m であり、モヨウハゼでは平均的に他の2種よりも深所に出現したが、水深 0.9-33.7 m という広い水深帯で採集された。また、各種の採集地点

Fig. 3-1 (a) Collection locations for three *Acentrogobius* species and (b–d) geographic distributions of the three species: (b) *A. sp.*, (c) *A. virgatulus*, and (d) *A. pflaumii*. Closed circles show the centers of second meshes for sites (a) where we tried to collect samples and (b–d) where more than one specimen was found, respectively. Dashed arrows show the approximate routes of water currents along the Japanese archipelago (modified from Nakabo 2002); I: Kuroshio, II: Tsushima Current, III: Tsugaru Current, IV: Oyashio. The shaded area shows the Ryukyu



の水深と緯度との関係について調べた結果、いずれの種においても有意な傾向は認められなかった（ツマグロスジハゼ： $R^2 < 0.001$, $P = 0.954$ ；スジハゼ： $R^2 = 0.014$, $P = 0.385$ ；モヨウハゼ： $R^2 = 0.001$, $P = 0.801$, Fig. 3-3a）.

塩分の測定は、ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼの採集地点のうち、それぞれ 59 地点、47 地点、36 地点で行われ、これらのデータはそれぞれ 51、31、26 個の第 2 次地域区画のデータとしてまとめられた。3 種の生息環境は塩分においても種間で顕著な違いが認められた（Fig. 3-2b）。ツマグロスジハゼは広い塩分環境で出現する傾向があるのに対し（1.2–34.0）、他の 2 種は比較的高い塩分環境に出現し（スジハゼ：17.1–34.1；モヨウハゼ：22.1–

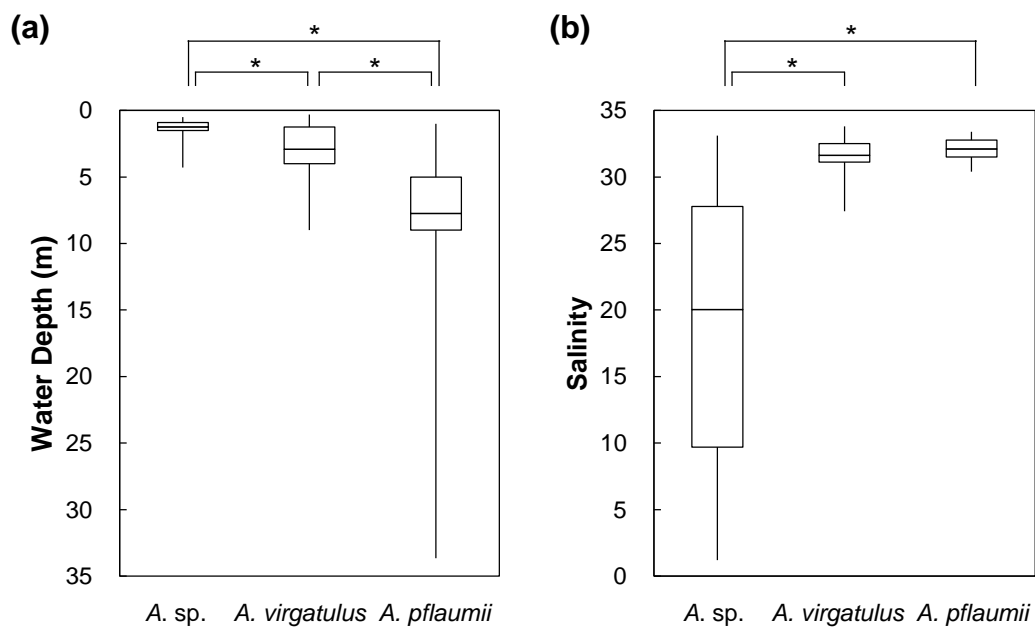


Fig. 3-2 Habitat use by the three *Acentrogobius* species in relation to two environmental factors: (a) water depth (*A. sp.*: $n = 92$; *A. virgatus*: $n = 57$; *A. pflaunii*: $n = 56$) and (b) salinity (*A. sp.*: $n = 51$; *A. virgatus*: $n = 31$; *A. pflaunii*: $n = 26$). Boxplots show minimum, 25th percentile, average, 75th percentile, and maximum values. Asterisks indicate significant differences between two of the three species by Steel–Dwass tests ($P < 0.05$)

31.99), 塩分の平均値はツマグロスジハゼよりも有意に高かった. また, 各種の採集地点の塩分と緯度との関係については, いずれの種においても有意な傾向は認められなかった (ツマグロスジハゼ : $R^2 = 0.074$, $P = 0.053$; スジハゼ : $R^2 = 0.002$, $P = 0.818$; モヨウハゼ : $R^2 = 0.048$, $P = 0.282$, Fig. 3-3b).

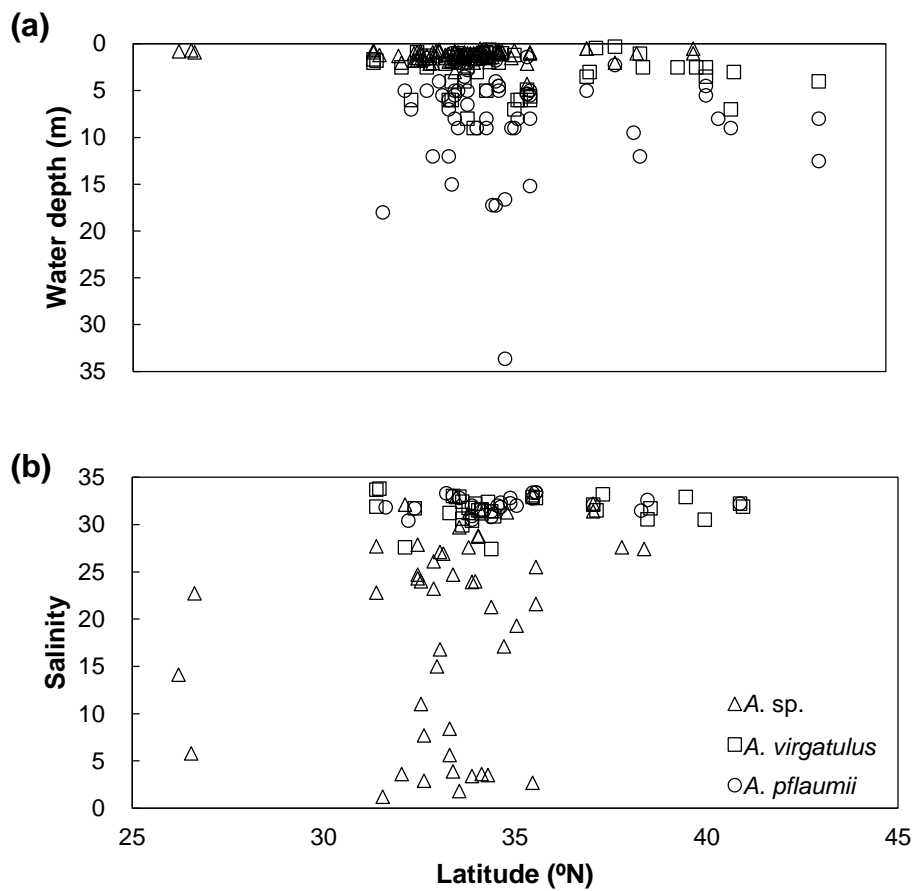


Fig. 3-3 Relationships between habitat use and latitude in three *Acentrogobius* for two environmental factors: (a) water depth (*A. sp.*: $n = 92$; *A. virgatulus*: $n = 57$; *A. pflaumii*: $n = 56$) and (b) salinity (*A. sp.*: $n = 51$; *A. virgatulus*: $n = 31$; *A. pflaumii*: $n = 26$). Open triangles, squares, and circles show the centers of second meshes for sites where specimens of *A. sp.*, *A. virgatulus*, and *A. pflaumii* were found, respectively

Table 3-1 Collection sites and registration numbers of Kyoto University Fish Collection (FAKU) of three *Acentrogobius* species

Prefecture	Site	Latitude	Longitude	Registration numbers of FAKU		
		(°N)	(°E)	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatus</i>	<i>A. pflaumii</i>
Hokkaido	Yoichi Port	43.2123	140.7768			133989
Hokkaido	Oshoro Port	43.2114	140.8599		133985	
Hokkaido	Otaru Bay 1	43.2100	141.0122			133976
Hokkaido	Otaru Bay 2	43.2090	141.0087			133988
Aomori	Kominato Port	40.9409	140.9785		134029	
Aomori	Aomori Port 1	40.8352	140.7641			134033
Aomori	Aomori Port 2	40.8350	140.7637		134024	
Aomori	Hachinohe Port	40.5502	141.5038			134010
Iwate	Oura Port	39.4457	142.0027		133855	
Miyagi	Oda Beach	38.8545	141.6238		133665	
Miyagi	Ogatsu Port	38.5146	141.4661		133831	
Miyagi	Onagawa Port	38.4412	141.4551			133842
Miyagi	Mangoku Bay 1	38.4285	141.3802		133839	
Miyagi	Mangoku Bay 2	38.4196	141.3767		133498	
Miyagi	Matsushima Bay	38.3507	141.0553	133823		
Miyagi	Shiogama 1	38.3246	141.0436			133853
Miyagi	Shiogama 2	38.3232	141.0387			133852
Akita	Noshiro Port 1	40.2128	139.9984		134009	134008
Akita	Noshiro Port 2	40.2117	140.0004		133999	133990
Akita	Toga Port	39.9593	139.7128		134023	
Akita	Lake Hachiro	39.8997	139.9528	134011		
Akita	Hadachi Port	39.8974	139.8655	134014		
Fukushima	Matsukawa Bay 1	37.8202	140.9766	134210		
Fukushima	Matsukawa Bay 2	37.8177	140.9775	134208		
Fukushima	Matsukawa Bay 3	37.8166	140.9814		134198	
Fukushima	Matsukawa Bay 4	37.8042	140.9797			134201
Fukushima	Matsukawa Bay 5	37.8000	140.9736	134204		134199
Fukushima	Matsukawa Bay 6	37.8000	140.9736		134194	
Fukushima	Matsukawa Bay 7	37.7997	140.9800	133567		
Chiba	Tokyo Bay	35.6371	139.9206	134147		
Kanagawa	Yokosuka Port	35.2791	139.6815		134060	
Kanagawa	Tatara Beach	35.2515	139.7421		133666	
Kanagawa	Odawara Port	35.2404	139.1475		133615	133624
Kanagawa	Kurihama Port	35.2239	139.7139		134061	134062
Kanagawa	Koajiro Bay 1	35.1638	139.6284	134042		
Kanagawa	Koajiro Bay 2	35.1633	139.6268		134051	
Kanagawa	Misaki Port	35.1398	139.6213		134063	134064
Ishikawa	Tsukumo Bay 1	37.3106	137.2351		133735	
Ishikawa	Tsukumo Bay 2	37.3070	137.2351		133732	
Ishikawa	Nanao Bay 1	37.1384	136.9346		134157	
Ishikawa	Nanao Bay 2	37.0826	136.8574	134148		
Ishikawa	Nanao Port 1	37.0504	136.9758			134507
Ishikawa	Nanao Port 2	37.0498	136.9760		134516	
Fukui	Obama Bay 1	35.5304	135.7597	134634		
Fukui	Obama Bay 2	35.5014	135.7361			134267
Shizuoka	Eura Port	35.0507	138.8919			134160
Shizuoka	Lake Hamana 1	34.6982	137.6168	134084		
Shizuoka	Lake Hamana 2	34.6923	137.5828		134074	134073
Shizuoka	Lake Hamana 3	34.6843	137.6079		134076	

Prefecture	Site	Latitude	Longitude	Registration numbers of FAKU		
		(°N)	(°E)	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatulus</i>	<i>A. pflaumii</i>
Aichi	Ise Bay	34.9500	136.7667			133569
Aichi	Yahagi River	34.8220	136.9753	134075		
Aichi	Fuguzaki Port	34.7656	136.8428		134094	
Aichi	Mikawa Bay 1	34.7315	137.0956			134164
Aichi	Mikawa Bay 2	34.7303	137.1877			134165
Aichi	Mikawa Bay 3	34.7303	136.9872			134163
Aichi	Mikawa Bay 4	34.6987	137.0435			134166
Mie	Ibi River	35.0255	136.6979	134125		
Mie	Arashima Bay	34.4606	136.8652		133709	
Mie	Izumi River	34.3419	136.7184	133707	133708	
Mie	Gokasho Bay	34.3221	136.6611		134412	
Kyoto	Maizuru Bay 1	35.5134	135.3892			133822
Kyoto	Maizuru Bay 2	35.5110	135.3936	133816		
Kyoto	Maizuru Bay 3	35.5038	135.3669		133818	
Kyoto	Maizuru Bay 4	35.5038	135.3669			133821
Kyoto	Maizuru Bay 5	35.4942	135.3993	133783		
Kyoto	Maizuru Bay 6	35.4907	135.3498	133768		
Kyoto	Maizuru Bay 7	35.4893	135.3955			133820
Kyoto	Maizuru Bay 8	35.4871	135.3425		133817	
Kyoto	Maizuru Bay 9	35.4790	135.3462			133819
Osaka	Osaka Bay 1	34.6005	135.3172			133532
Osaka	Osaka Bay 2	34.5999	135.3161			133531
Osaka	Osaka Bay 3	34.5983	135.3476			133530
Osaka	Osaka Bay 4	34.5971	135.3467			133529
Osaka	Osaka Bay 5	34.5868	135.2888			133528
Osaka	Osaka Bay 6	34.5866	135.2919			133527
Osaka	Osaka Bay 7	34.5856	135.3739			133526
Osaka	Osaka Bay 8	34.5840	135.3858			133525
Osaka	Osaka Bay 9	34.5803	135.3504			133524
Osaka	Osaka Bay 10	34.5755	135.3148			133523
Osaka	Osaka Bay 11	34.5731	135.3166			133522
Osaka	Osaka Bay 12	34.5622	135.3698			133521
Osaka	Osaka Bay 13	34.4417	135.3086	134127	133767	
Hyogo	Ibo River	34.7730	134.5689	133482		
Hyogo	Otsu River	34.7525	134.3576	134288		
Hyogo	Kako River	34.7406	134.8083	133969		
Hyogo	Chikusa River	34.7391	134.3931	133968		
Hyogo	Ako Port	34.7327	134.3760			134290
Hyogo	Mihara River	34.3287	134.7416	133970		
Wakayama	Wakaura Bay 1	34.1870	135.1735	134635		
Wakayama	Wakaura Bay 2	34.1600	135.1833	133652	133705	
Wakayama	Wakaura Bay 3	34.1578	135.1822		133694	
Wakayama	Tanabe Bay	33.7035	135.3958		133706	
Wakayama	Katsuura Port 1	33.6263	135.9481			134114
Wakayama	Katsuura Port 2	33.6237	135.9421		134104	
Wakayama	Lake Yukashigata	33.6168	135.9259	134095		
Wakayama	Uragami Bay	33.5578	135.8956			134115
Wakayama	Kushimoto Port	33.4625	135.7855		134113	
Tottori	Sakaiminato Port	35.5357	133.2861			133625
Shimane	Sakai Port	35.5479	133.2179		133541	134167
Shimane	Lake Nakaumi	35.5274	133.1866	134564		
Shimane	Lake Shinji	35.4662	133.0538	134560		

Prefecture	Site	Latitude	Longitude	Registration numbers of FAKU		
		(°N)	(°E)	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatus</i>	<i>A. pflaumii</i>
Shimane	Kuromatsu Port	35.0625	132.3129		133439	
Okayama	Ishitani River	34.7381	134.2922	134496		
Okayama	Iri River	34.7307	134.2249	134493		
Okayama	Hinase Port	34.7273	134.2754			134295
Okayama	Kugui River	34.7201	134.1942	133963		
Okayama	Okuyama River	34.6747	134.2047	133965		
Okayama	Yoshii River	34.6366	134.0333	133964		
Okayama	Ushimado Port	34.6159	134.1588			134299
Okayama	Satomi River	34.5326	133.6667	133966		
Okayama	Takahashi River	34.5229	133.6900	134293		
Hiroshima	Ashida River	34.4412	133.4040	134317		
Hiroshima	Fujii River	34.4291	133.2455	134313		
Hiroshima	Nuta River	34.3891	133.0796	134321	134322	
Hiroshima	Ota River	34.3861	132.4248	133972		
Hiroshima	Itsukaichi Port	34.3545	132.3606			134323
Hiroshima	Hamakebo Wetland	34.2882	132.2818	133667		
Hiroshima	Eikeiji River	34.2869	132.2816	133971		
Hiroshima	Ikuno Island	34.2846	132.9145		133640	
Hiroshima	Noro River	34.2770	132.7507	134319	134320	
Hiroshima	Kurose River	34.2272	132.6037	133487		
Hiroshima	Kurahashi Island 1	34.1093	132.5413			134590
Hiroshima	Kurahashi Island 2	34.1092	132.5429		134593	
Yamaguchi	Igami Port	34.3745	131.0220		134594	134603
Yamaguchi	Monzen River	34.1300	132.2246	133460		
Yamaguchi	Yu River	34.0487	132.2172	133461		
Yamaguchi	Kanda River	34.0421	131.0327	133462		
Yamaguchi	Itone River	34.0360	131.0724	133463		
Yamaguchi	Doroishi River	34.0252	131.3784	133464		
Yamaguchi	Fushino River	34.0242	131.3972	133465		
Yamaguchi	Asa River1	34.0031	131.1343	134483		
Yamaguchi	Asa River2	33.9976	131.1467	133468		
Yamaguchi	Aruho River	33.9936	131.1652	133488		
Yamaguchi	Koto River	33.9600	131.2184	133466		
Yamaguchi	Hiko Island	33.9285	130.8977			134492
Yamaguchi	Tabuse River	33.9263	132.0584	133467		
Yamaguchi	Suo Bay	33.8750	131.3750			133589
Tokushima	Yoshino River	34.1071	134.5299	134380		
Tokushima	Imagire River	34.1064	134.5980	133957		
Tokushima	Kastuura River	34.0379	134.5763	133951		
Tokushima	Tatsue River	33.9859	134.6066	133489		
Tokushima	Ikushima River	33.9686	134.6593	133950		
Tokushima	Naka River 1	33.9422	134.6838	133953		
Tokushima	Naka River 2	33.9337	134.6740	133490		
Tokushima	Tachibana Bay 1	33.8696	134.6394			134381
Tokushima	Tachibana Bay 2	33.8634	134.6399	134384	134387	
Tokushima	Fukui River 1	33.8584	134.6337	134517		
Tokushima	Fukui River 2	33.8489	134.6259	133952		
Tokushima	Tsubakidomari Bay	33.8357	134.6846		134518	134519
Tokushima	Tsubaki River	33.8336	134.6804	133959		
Tokushima	Suya River	33.8318	134.6858	133955		
Tokushima	Tai River 1	33.7444	134.5583	133958		
Tokushima	Tai River 2	33.7442	134.5583		133967	

Prefecture	Site	Latitude	Longitude	Registration numbers of FAKU		
		(°N)	(°E)	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatulus</i>	<i>A. pflaumii</i>
Tokushima	Okugata River	33.7264	134.5345	133954		
Tokushima	Iseda River	33.6310	134.3652	133962		
Tokushima	Urakami River	33.6245	134.3629	133961		
Tokushima	Tomoura Port	33.5927	134.3573	133956		
Tokushima	Nasa Bay	33.5831	134.3327	133492		
Tokushima	Shishikui Port	33.5618	134.3049	133960		
Kagawa	Tarumi River	34.3747	133.9444	133973		
Kagawa	Takamatu Port 1	34.3568	134.0740			134499
Kagawa	Takamatu Port 2	34.3532	134.0717			134500
Kagawa	Oumi River	34.3527	133.8970	134497	134504	
Kagawa	Shin River	34.3503	134.0872	133483		
Kagawa	Taki River	34.3415	134.2409	133974		
Kagawa	Doki River	34.3052	133.7995	134501		
Kagawa	Hirota River	34.2583	133.7275		133486	
Kagawa	Minato River	34.2523	134.3561	133975		
Kagawa	Naka River	34.2512	134.3739		133484	
Kagawa	Takase River	34.2345	133.6874	133485		
Ehime	Imabari Port	34.0677	133.0078		134472	
Ehime	Shin River	33.9473	133.0888	133471		
Ehime	Kamo River	33.9236	133.1450	133459		
Ehime	Nakayama River	33.9213	133.1279	133470		
Ehime	Mistuhama Port 1	33.8607	132.7104		134449	134453
Ehime	Mistuhama Port 2	33.8394	132.7001			134444
Ehime	Iyo Port 1	33.7605	132.6996		134476	
Ehime	Iyo Port 2	33.7584	132.6973			134473
Ehime	Iyo Port 3	33.7573	132.6967			134474
Ehime	Iyo Port 4	33.7565	132.6968		134475	
Ehime	Nagahama Port	33.6169	132.4863			134448
Ehime	Kiki River	33.4734	132.3958	134463	134477	
Ehime	Kawanoishi Port	33.4720	132.3999			134454
Ehime	Iwamatsu Port	33.1283	132.5013			134447
Ehime	Iwamatsu River	33.1212	132.5105	133472		
Ehime	Kiku River	32.9783	132.5247	133469		
Ehime	Souzu River	32.9603	132.5522	134446		
Kochi	Urado Bay 1	33.5534	133.5666	133890		
Kochi	Urado Bay 2	33.5352	133.5656	133893		133894
Kochi	Urado Bay 3	33.5180	133.5643			134610
Kochi	Usa Bay 1	33.4472	133.4477		134631	
Kochi	Usa Bay 2	33.4469	133.4481		134626	
Kochi	Uranouchi Bay 1	33.4438	133.4043		133931	
Kochi	Uranouchi Bay 2	33.4394	133.4218			133924
Kochi	Uranouchi Bay 3	33.4381	133.4236		133926	133927
Kochi	Uranouchi Bay 4	33.4369	133.4282		133928	133929
Kochi	Uranouchi Bay 5	33.4350	133.4269		133925	
Kochi	Sakura River	33.4044	133.2944	134609		
Kochi	Susaki Bay 1	33.4028	133.2919	133904		133913
Kochi	Susaki Bay 2	33.3979	133.2942			133895
Kochi	Susaki Bay 3	33.3886	133.2956			133922
Kochi	Susaki Bay 4	33.3790	133.3180	133915		133914
Kochi	Susaki Bay 5	33.3741	133.3201			133920
Kochi	Susaki Bay 6	33.3739	133.3177			133921
Kochi	Susaki Bay 7	33.3735	133.3217			133939

Prefecture	Site	Latitude	Longitude	Registration numbers of FAKU		
		(°N)	(°E)	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatulus</i>	<i>A. pflaumi</i>
Kochi	Susaki Bay 8	33.3723	133.3129			133918
Kochi	Susaki Bay 9	33.3688	133.3059			133916
Kochi	Sukumo Bay 1	32.8993	132.7210	134624	134625	
Kochi	Sukumo Bay 2	32.8985	132.7195		134623	
Kochi	Sukumo Bay 3	32.8961	132.7160	134618	134619	
Kochi	Tosashimizu 1	32.7760	132.9688	134391	134402	
Kochi	Tosashimizu 2	32.7755	132.9674	134390	134403	
Fukuoka	Iwaya Port	33.9331	130.6841			133941
Fukuoka	Waita Port	33.9313	130.7282			133947
Fukuoka	Okuhata River	33.9245	131.0021	133479		
Fukuoka	Odake River	33.9202	130.7541	133440		
Fukuoka	Hishakuda Port 1	33.9046	130.9953	134520	134521	
Fukuoka	Hishakuda Port 2	33.9036	130.9989	133445	133494	133710
Fukuoka	Chikuma River	33.8355	130.9704	133443		
Fukuoka	Nuki River	33.8260	130.9723	133442		
Fukuoka	Tsuyazaki 1	33.8032	130.4608	133717		
Fukuoka	Tsuyazaki 2	33.7906	130.4586		133726	
Fukuoka	Fukuma Port	33.7659	130.4688		133493	
Fukuoka	Nagao River 1	33.7519	131.0079	133441		
Fukuoka	Nagao River 2	33.7471	130.9980	133441		
Fukuoka	Kii River	33.6565	131.0668	133520		
Fukuoka	Nishinoura Port	33.6544	130.2088		133945	
Fukuoka	Karadomari Port	33.6424	130.2305		133946	
Fukuoka	Hakozaki Port	33.6190	130.4139		133944	
Fukuoka	Imazu Wetland	33.5978	130.2534	133480		
Fukuoka	Hamazakiimazu Port	33.5964	130.2678		133942	
Fukuoka	Kishi Port 1	33.5733	130.1188		133943	
Fukuoka	Kishi Port 2	33.5731	130.1212		134189	134190
Fukuoka	Kishi Port 3	33.5724	130.1194		133517	
Fukuoka	Funakoshi Bay	33.5518	130.1334			134567
Fukuoka	Ikisan River	33.5214	130.1355	133446		
Fukuoka	Shiotsuka River	33.0954	130.3870	133444		
Saga	Kariya Bay 1	33.4749	129.8495			134435
Saga	Kariya Bay 2	33.4553	129.8587	134417		
Saga	Kariya Bay 3	33.4550	129.8581		134426	
Saga	Imari Bay 1	33.3490	129.8457		133518	133519
Saga	Imari Bay 2	33.3096	129.8151			134413
Saga	Kusuku River	33.2954	129.8297	133507		
Saga	Imazato River	32.9560	130.2047	133456		
Nagasaki	Tatsuo River	33.3688	129.6588	133508		
Nagasaki	Magome River	33.2876	129.4781	133514		
Nagasaki	Kigatsu Bay	33.2842	129.4855		133515	
Nagasaki	Ayukawa Port	33.2286	129.4227			133516
Nagasaki	Omura Bay 1	33.0862	129.7966	133505		
Nagasaki	Kawatana River	33.0668	129.8614	133502		
Nagasaki	Isanoura River	33.0012	129.6612	133503		
Nagasaki	Okubo River	32.9382	130.2013	133455		
Nagasaki	Fukue Island	32.9215	129.0505	133948		
Nagasaki	Kobukai River	32.9151	130.1824	133454		
Nagasaki	Omura Bay 2	32.8495	129.9563		133504	
Nagasaki	Sakai River	32.6949	130.1681	133506		
Kumamoto	Kikuchi River	32.8765	130.4979	133449		

Prefecture	Site	Latitude	Longitude	Registration numbers of FAKU		
		(°N)	(°E)	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatulus</i>	<i>A. pflaumi</i>
Kumamoto	Omi River	32.6239	130.5899	133451		
Kumamoto	Satoura River	32.6224	130.5428	133450		
Kumamoto	Sato River	32.5226	130.4464	134581		
Kumamoto	Mae River	32.5007	130.5618	133448		
Kumamoto	Kyoragi River	32.4957	130.3948	134568		
Kumamoto	Kuma River 1	32.4734	130.5653	133447		
Kumamoto	Kuma River 2	32.4680	130.5629	133447		
Kumamoto	Hinagu River	32.4278	130.5619	133453		
Kumamoto	Futami River	32.4189	130.5454	133452		
Kumamoto	Ura River	32.4185	130.3509	133949		
Kumamoto	Kaneyagi Port 1	32.3988	130.2473			134570
Kumamoto	Kaneyagi Port 2	32.3987	130.2468		134574	
Kumamoto	Shigemichi Port	32.1736	130.3679			133513
Oita	Okumage River	33.6629	131.6508	133473		
Oita	Hane River	33.6571	131.5056	133474		
Oita	Kataku River	33.6455	131.4972	133475		
Oita	Matama River	33.6146	131.4690	133476		
Oita	Iroha River	33.5788	131.2975	133477		
Oita	Katsura Rivre	33.5735	131.4315	133478		
Oita	Egashira River	33.4232	131.6571	134379		
Oita	Takayama River	33.4187	131.6367	133457		
Oita	Hiji Port	33.3656	131.5385			134389
Oita	Usuki River	33.1291	131.8029	133509		
Oita	Saiki Port	32.9815	131.9039			134378
Oita	Bansho River	32.9527	131.9274	133491		
Oita	Kidachi River	32.9412	131.9096	133510		
Oita	Gouchi Bay	32.8201	131.9644		134523	134532
Miyazaki	Urashiri River 1	32.6457	131.7511	133481		
Miyazaki	Urashiri River 2	32.6356	131.7584	134550		
Miyazaki	Gokase River	32.5903	131.6999	133753		
Miyazaki	Nobeoka Bay	32.5066	131.6990	134541	134556	
Miyazaki	Hitotsuse River	32.0482	131.4788	133499		
Miyazaki	Hosoda River	31.5556	131.3785	133500		
Kagoshima	Euichi River 1	32.1265	130.2618		133511	
Kagoshima	Euichi River 2	32.1235	130.2656	133512		
Kagoshima	Inari River	31.6035	130.5710			133877
Kagoshima	Cape Noma 1	31.4173	130.1324		134186	
Kagoshima	Cape Noma 2	31.4154	130.1342		133867	
Kagoshima	Cape Noma 3	31.4132	130.1353	133857		
Kagoshima	Koura Port	31.4108	130.1879		134184	
Kagoshima	Harai River	31.4093	130.1872	134188		
Kagoshima	Oura River 1	31.3985	130.2262	133858		
Kagoshima	Oura River 2	31.3943	130.2274	134187		
Kagoshima	Hirose River	31.3605	131.0152	134192	134193	
Okinawa	Hanezinai Bay	26.6510	127.9839	134350		
Okinawa	Nasada River	26.6353	127.9996	134341		
Okinawa	Oura River	26.5576	128.0418	134338		
Okinawa	Tima River	26.5567	128.0697	134348		
Okinawa	Manko Wetland	26.2080	127.6750	134326		
Okinawa	Oura Bay	24.8365	125.2953	134351		
Okinawa	Irabu Island	24.8356	125.1572	134366		
Okinawa	Iriomote Island	24.3908	123.8162	133664		

【考察】

3種の分布域は大きく重なっており、同一湾内に出現することも多かったが、生息環境については、水温と塩分において、3種間で明瞭な違いが認められた。すなわち、ツマグロスジハゼは広い塩分環境の浅所に、スジハゼは比較的高塩分の浅所に、モヨウハゼは比較的高塩分の幅広い水深帯に出現する傾向があった。さらに、水深、塩分のいずれの環境パラメーターにおいても緯度との有意な直線関係は認められなかったことから、これらの生息環境の3種間の違いは日本列島周辺海域で普遍的であると考えられる。

スジハゼ複合種群の分布の北限は日本海沿岸と太平洋沿岸との間で異なっていた。このような地理的分布は、ヒイラギ *Nuquequula nuchalis*, シマイサキ *Rhynchopelates oxyrhynchus*, マハゼ *Acanthogobius flavimanus* など、他の多くの沿岸性魚類でも知られている (cf. 中坊 2013)。海洋生物の分布は、海水温に大きく影響されている (Brett 1956)。キララハゼ属は、スジハゼ複合種群を除いた15種では、インド太平洋域の熱帯から亜熱帯の沿岸域に生息していることから (鈴木ほか 2004; Larson et al. 2008)、3種は低緯度に起源していると考えられる。このような低緯度が起源の種では特に、冬季の低水温が高緯度側での分布の主な制限要因となることが知られている (Sabates et al. 2006; Eme and Bennett 2008)。したがって、スジハゼ複合種群の分布の北限が日本海沿岸と太平洋沿岸との間で異なっていた要因として、両海域間の冬季の海水温の違いが関係している可能性が考えられる。日本の東北地方周辺海域において、日本海沿岸の表層海水温は対馬暖流の影響を強く受けて比較的温暖であるのに対し、太平洋沿岸では (対馬暖流の分枝である津軽暖流の影響下にはあるものの) 寒流の親潮の影響を強く受け比較的寒冷である (Nishimura 1965; Fig. 3-1a)。特に3種の分布の北限付近では、日本海沿岸と太平洋沿岸との間で冬季の表層水温が明瞭に異なっている。1906年から2003年までの2月の北緯39–44度における表層の平均水温は、日本海沿岸では6.22–9.74°C (最低水温は2.90–6.80°C) であるのに対し、太平洋沿岸では-0.27–7.80°C (最低水温は-2.10–6.10°C) であり、日本海沿岸よりも大幅に低い。両海域間の冬季の表層水温のこのような違いが、スジハゼ複合種群の分布の北限の海域間の違いにつながった可能性が

高い（日本海洋データセンター 2004）。

日本列島沿岸域における 3 種の分布の南限は、ツマグロスジハゼで最も低緯度に位置しており、本種のみが琉球列島から採集された。第 2 章で構築した分子系統樹からは、3 種のうちツマグロスジハゼが最も祖先的であることが示唆された。また上述のとおり、3 種の起源は熱帯から亜熱帯であると考えられる。これらのことから、3 種の共通祖先が琉球列島から北方向に分布を拡げ、ツマグロスジハゼが分化した後、琉球列島より北の海域でスジハゼとモヨウハゼの共通祖先が 3 種の共通祖先から分岐したと考えられる。その後、現在に至るまで、琉球列島への分散が制限されていたとするならば、ツマグロスジハゼのみが琉球列島に生息していることも説明可能である。

分布の北限についても、日本海沿岸、太平洋沿岸の両海域において、ツマグロスジハゼで他の 2 種よりも低緯度に位置していた。これにはいくつかの要因が関係している可能性が考えられる。3 種間では生息環境（たとえば生息水深）が異なっていることから同じ緯度でも生息域の水温が 3 種間で異なる可能性、3 種間で低水温耐性が異なる可能性、他の生物との種間関係（たとえば競争）が関わっている可能性、個体群拡大の歴史の違いが影響している可能性などである。前者 3 つの可能性については、各種の低水温耐性や、同所的に出現する他生物を調べて、さらに検討する必要がある。個体群拡大の歴史については、ツマグロスジハゼの現在の日本海側の分布の北限周辺の海域に、以北への分布拡大を制限するような過去の物理的障壁の存在は知られていないため、過去の物理的障壁によって分布拡大が制限された可能性は低いと考えられる。3 種の個体群変遷については、第 6 章で詳しく扱う。

3-2 若狭湾西部海域における生息域と生息環境

【目的】

若狭湾西部海域をモデルフィールドとして、同一湾内での 3 種の生息環境とそれに伴う生息域について明らかにする。

【方法】

採集

若狭湾西部海域における 3 種の生息域を明らかにするため、本海域の 75 地点で 3 種の採集調査を行った (Fig. 3-4a)。採集には、底引き網とタモ網とを用いた。次に、3 種の詳細な生息環境を明らかにするため、3 種が高密度に生息する舞鶴湾において 3 種の定量採集と環境測定を行った。2009 年 11 月から 2010 年 1 月 (冬季) および 2010 年 7 月から 8 月 (夏季) に舞鶴湾内および湾口付近の計 50 地点を対象に 3 種の採集調査を行った (Fig. 3-4b)。前節の広域調査で、3 種が異なった水深・塩分の範囲に出現することが明らかとなったため、これらの調査地点はこの 2 つの環境変数について環境傾度の幅ができるだけ広くなるよう、また航路を避けるように設置した。採集には、ソリネット (口幅 1.5 m, 高さ 0.3 m, 測長 4.2 m, 目合い 2 mm) を使用し、小型船舶 (京都大学フィールド科学教育研究センター舞鶴水産実験所所属・白浪丸) で 1 分間約 2 ノットの速度で曳網採集を行った。また、GPS (HE-61GPII, 本多電子株式会社) を用いて曳網開始地点と終了地点の緯度・経度を記録し、曳網距離を算出した。採集した標本は氷冷して研究室に持ち帰り、10%ホルマリンで固定した。採集した 3 種を雌雄別に計数し、その個体数とソリネットの曳網距離とから生息密度を算出した。冬季には、いずれの種においても 0.1 g に満たない小さな個体が多数採集された (Fig. 3-5)。これらの個体の多くは外見からは雌雄を判別することが難しく、また 3 種の雄では 0.1-0.2 g 程度から成熟を開始することから (第 4 章)、いずれの種においても湿重量が 0.1 g 未満の個体を稚魚、0.1 g 以上の個体を成魚として区別して扱った。夏季に採集された個体

では、新規加入群と思われるモヨウハゼ 1 個体を除いて、0.1 g 未満の個体は採集されなかったため、上記の 1 個体を除いたすべての個体を成魚として扱った。

環境測定と「実測変数」の算出

3 種の採集と同時に曳網終了地点において Compact-CTD (JFE アドバンテック株式会社) を用いて水深・水温・塩分を測定した。また、魚類採集の前後 1 週間以内に同地点でスミス・マッキンタイヤー型採泥器を用いて採泥した。この底泥の表面から 3 cm までをコアサ

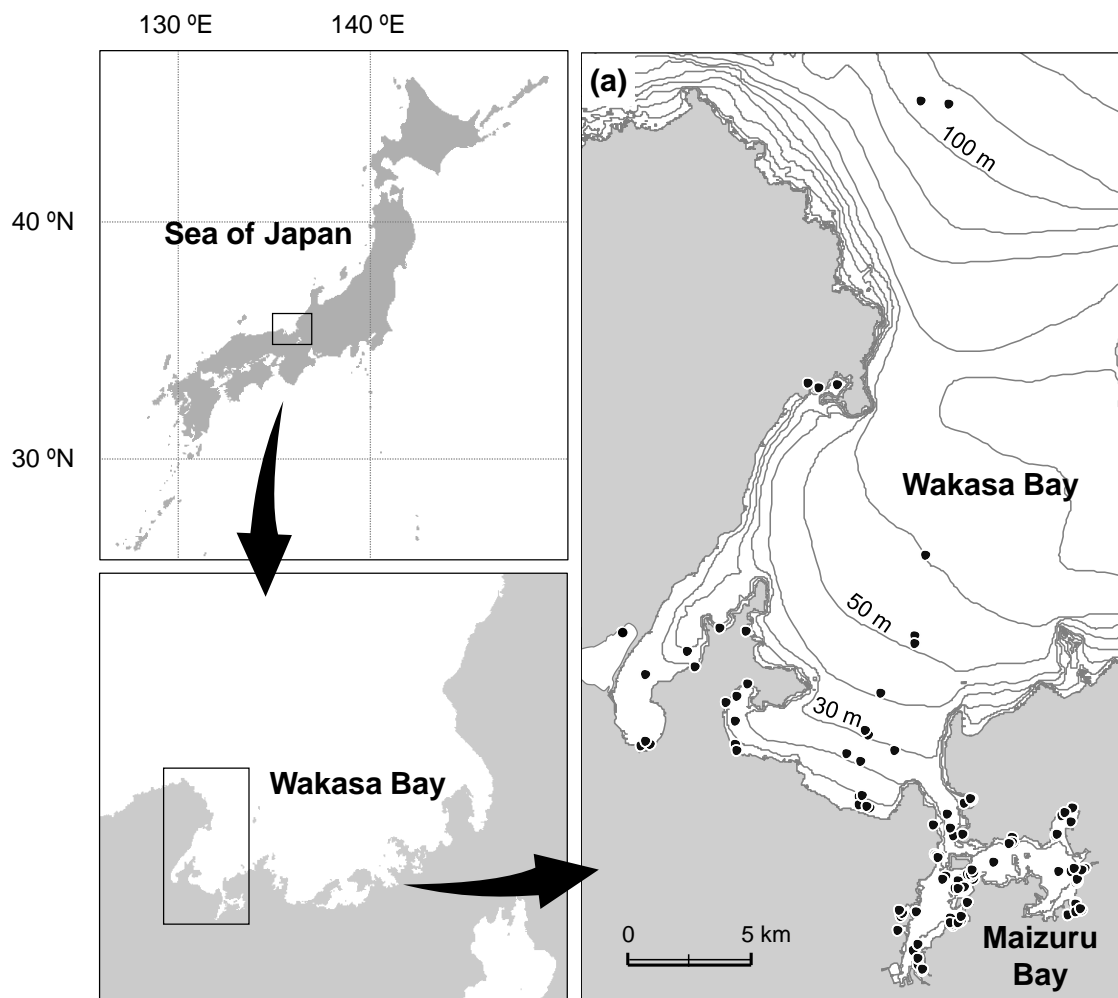


Fig. 3-4 Sampling locations and depth contour in the western Wakasa Bay (a), and around the Maizuru Bay (b). Numerals on symbols of (b) are the numbers of sampling stations

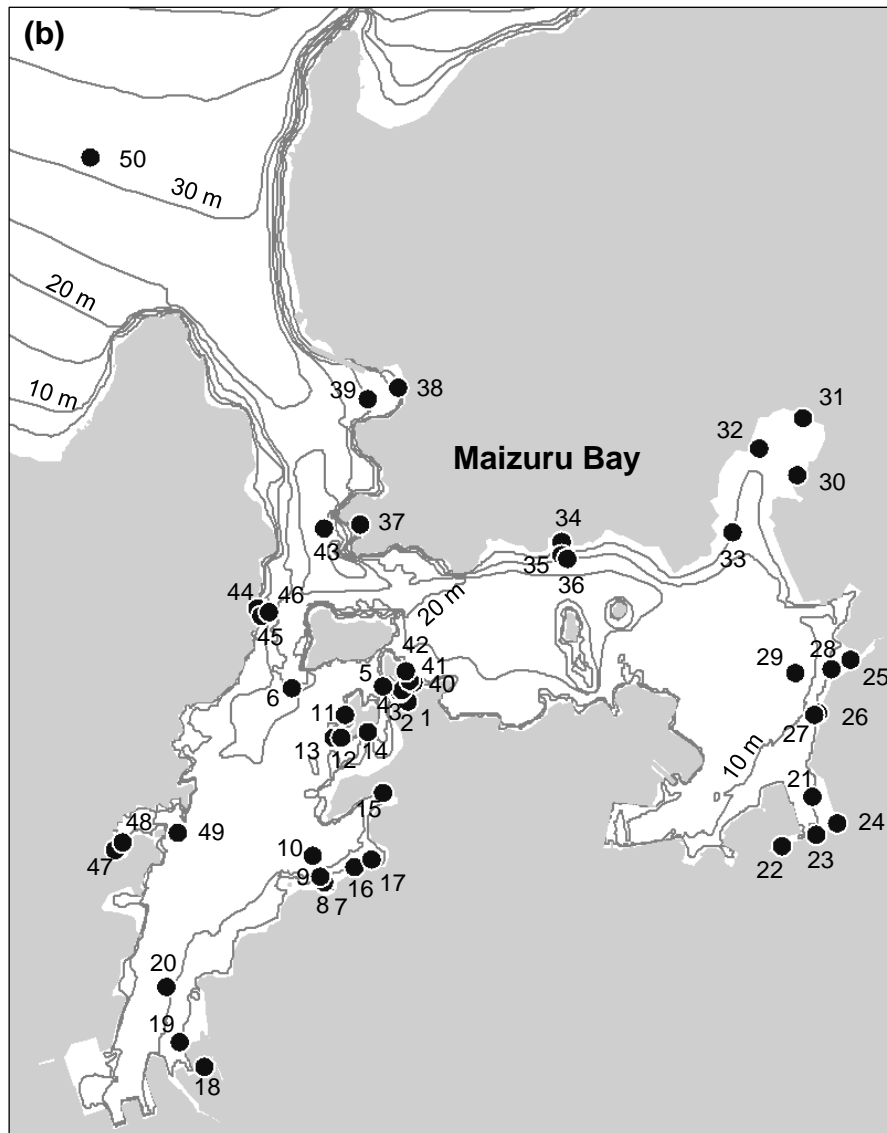


Fig. 3-4 (Continued from the last page)

ンプラー（直径 5.0 cm，深さ 3.0 cm）を用いてくり抜いて研究室に持ち帰り，含水率・泥分率・中央粒径・強熱減量の分析に供した．また，同じ底泥の表面から約 1 cm までをステンレス管（口面積 54.4 mm²）を用いて円柱状にくりぬき，氷冷して研究室に持ち帰って，即時クロロフィル *a* 量・フェオフィチン *a* 量の測定に供した．泥分率は，「底質調査方法」（環境庁 1988）に従い，泥の定義を 63 μm としして算出した．強熱減量は Dean（1974）に従い，試料を 550°C と 800°C の 2 段階の温度で加熱による減量分を測定した．550°C での強熱減量（以後 IL550 と表記する）は，底質に含まれる有機物量の指標として，800°C での強熱減量

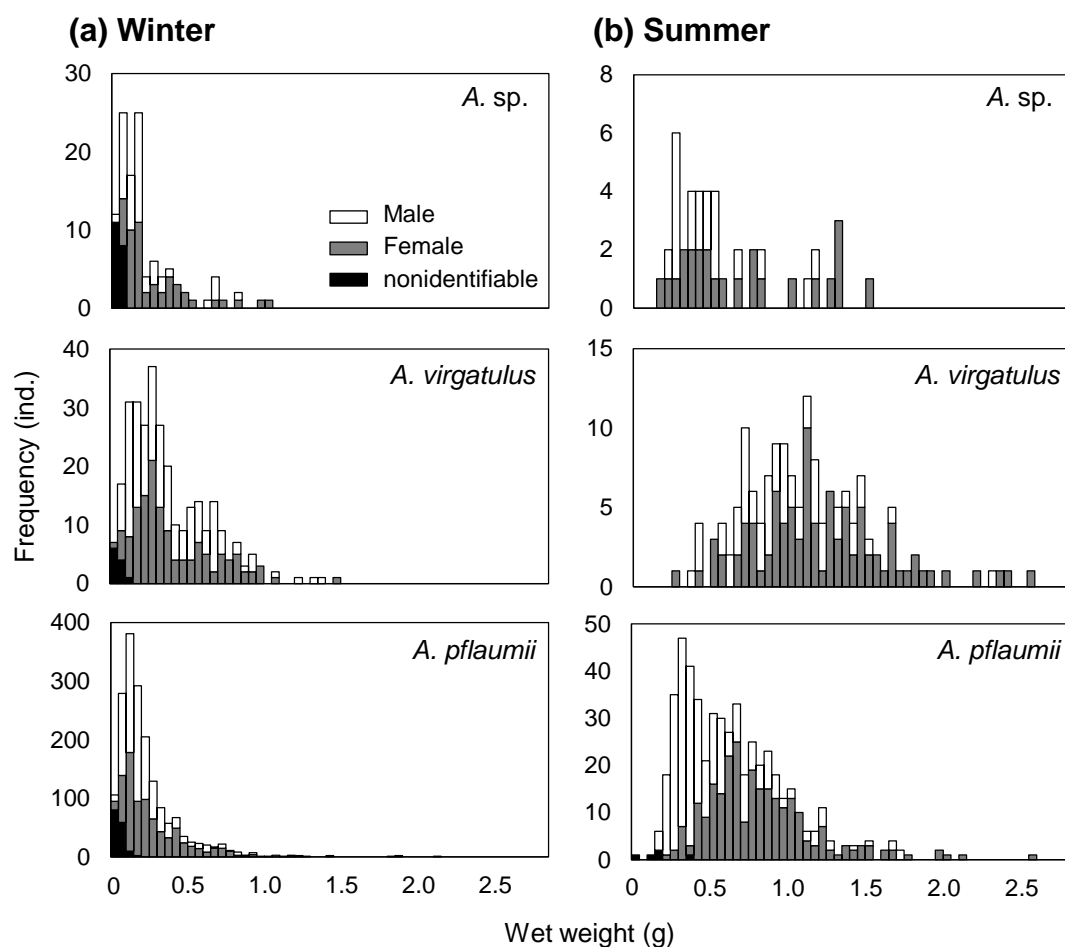


Fig. 3-5 Size-frequency distributions of the three *Acentrogobius* species collected in winter (a) and in summer (b). The colors of columns indicate different sexes: white, males; shaded, females; black, nonidentifiable individuals

(550°Cでの加熱で残った試料をさらに800°Cで加熱することによる減量分、以後IL800と表記する)を底質に含まれる炭酸塩(貝殻片など)の指標とした。またクロロフィルaは、試料にアセトンを加えて抽出し蛍光光度計(Trilogy, Turner designs, Inc.)を用いて測定した。フェオフィチンaは、アセトン抽出物を塩酸で酸性化し蛍光光度計を用いて測定した。実測した環境データをもとに準備したこれら10変数(水深・水温・塩分・クロロフィルa量・フェオフィチンa量・含水率・泥分率・中央粒径・IL550・IL800)を「実測変数」とした。

「地形変数」の算出

3種の生息環境を多面的にとらえるため、標高、海岸線、海底地形などの地形データから3つの地形変数（水深、海底勾配、淡水の指標）を算出した。計算には、地理情報システム（GIS）ソフトである ArcGIS Desktop 10（ESRI, Inc.）の Spatial Analyst を用いた。水深は海底地形デジタルデータ（日本水路協会）と実測した水深データを用い、舞鶴湾内全域の 20 m グリッドのラスターデータを最近隣内挿法により作成した。海底勾配（%）は上記のように作成した水深のラスターデータから作成した。また、各採集地点における淡水の指標は次のように算出した。まず、舞鶴湾に流入する集水域は 20 m グリッドの数値標高モデル（DEM）を用いて水文解析により作成した。次に、集水域面積が 0.001 km²以上のものを河川とみなし、全ての河川の集水域で降水量が一樣であると仮定して、河口（淡水流出点）に河川流量の指標として集水域面積の値を与えた。なお、各河口（淡水流出点）の位置は、集水域と河川ラインデータ（国土数値情報、国土交通省）を用いて特定した。河口（淡水流出点）に与えた河川流量の指標を逆距離加重法で内挿することにより、舞鶴湾内全域の 20 m グリッドのラスターデータを作成し、その値を水深データで割った値を淡水の指標とした。各採集地点におけるこれら 3 つの地形変数は、曳網開始地点と終了地点の中央地点を中心とした半径 20 m の円形バッファ内部の平均値を求めることにより抽出した。

データ解析

「実測変数」および「地形変数」について、各種が生息する範囲とその種間差を明らかにするため、各環境変数についてデータセット（冬季の稚魚、冬季の成魚、夏季の成魚）ごとに各種の採集地点における値の範囲を求め、種間で比較した（Steel-Dwass test）。解析には、R 3.0.1（R Development Core Team 2012）を用いた。

次に、3種の出現の程度の違いによって採集地点を類別するため、3種の生息密度を用いて採集地点間の Bray-Curtis の非類似度指数を求め、Ward 法により採集地点のクラスタリングを行った。解析には PRIMER 5.2.9（Clarke and Gorley 2001）を用いた。この結果を用いて、

後述する採集地点の序列化平面上で各地点がどのクラスターに属するか（どのような種の組み合わせに特徴づけられる地点であるか）を視覚的に表現した。

3種の分布が「実測変数」あるいは「地形変数」から説明可能であるかを調べるため、種組成および環境変数にもとづいて、採集地点の序列化を行った。多変量序列化手法の中でも、正準対応分析 (Canonical Correspondence Analysis : CCA) と冗長性解析 (Redundancy Analysis : RDA) は、それぞれ対応分析と重回帰分析、主成分分析と重回帰分析を組み合わせた手法で、2つの変数群（たとえば種組成と環境変数）の関係を直接解析することができる (ter Braak and Prentice 1988)。また、各採集地点に現れる生物種と各地点の環境特性とを同一の座標平面上で表現することで、種組成と環境変数との関係を視覚的に把握できることも長所の一つである。本研究の場合に CCA と RDA のいずれの手法が適しているかについては、ter Braak and Šmilauer (2002) に従い、種のデータを用いて DCA (Detrended Correspondence Analysis) を行い、第1軸における種組成の変化の幅 (gradient lengths) が 2 sd (DCA の種スコアの標準偏差を基準とした単位) を下回っていれば、各種の出現が環境に対して直線的に応答すると仮定した序列化手法（ここでは RDA）が有効であると判断した。DCA 第1軸の種組成の変化の幅は、3つのデータセット（冬季の稚魚、冬季の成魚、夏季の成魚）で、それぞれ 1.80, 1.58, 1.59 sd であり、2 sd より小さい値であったため、採集地点の序列化手法として RDA を採択した。扱う2つの変数群の組み合わせは、①3種の生息密度と「実測変数」、②3種の生息密度と「地形変数」、③「実測変数」と「地形変数」の3種類で、これらの関係を RDA により解析した。①②では「実測変数」あるいは「地形変数」によって3種の分布が説明できるかを調べるため、3種の生息密度を応答変数、「実測変数」あるいは「地形変数」を説明変数とした。③では、「地形変数」によって「実測変数」が説明できるかを調べるため、「実測変数」を応答変数、「地形変数」を説明変数とした。①②については3つのデータセット（冬季の稚魚、冬季の成魚、夏季の成魚）について、それぞれ解析を行った。③については①②で選出された計5つの「実測変数」と3つの「地形変数」との関係について、冬季と夏季の環境変数を合わせて解析を行った（データセットは1つ）。いずれ

の解析においても、環境変数は対数変換により標準化して用いた。また、変数間の相関の大きさを調べるため VIF（分散拡大係数）を計算し、その値が 10 を超える変数については一方を解析から除いて変数間の多重共線性を避けた。残った変数のうち変数増加法によって 4 変数を選択し、その有意性は 1,000 回のモンテカルロシミュレーションによって確かめた。DCA および RDA には、CANOCO 4.5 (ter Braak & Šmilauer 2002) を用いた。

【結果】

若狭湾西部海域における分布

若狭湾西部海域における 3 種の分布を Fig. 3-6 に、舞鶴湾における冬季と夏季の 3 種の分布を Fig. 3-7 に示す。若狭湾西部海域において、ツマグロスジハゼでは若狭湾の支湾の湾奥部の小河川河口域から、スジハゼは支湾の湾内の河口域以外の岸際から採集されたのに対し、モヨウハゼは支湾の湾内全域および本湾（若狭湾）の水深 60 m 付近までの広い範囲から採集された。次に舞鶴湾における 3 種の採集および環境測定は、冬季の調査では 50 地点を対象に行ったが、夏季には漁具の設置等の理由により 4 地点（地点番号 2, 3, 10, 15, Fig. 3-4b）では調査ができなかったため、これらの 4 地点を除いた 46 地点で調査を行った。舞鶴湾における 3 種の分布傾向には、季節間および成長段階間で大きな違いは見られなかった。舞鶴湾内における採集地点の数および採集地点全体での採集個体数は、両季節、両成長段階においてモヨウハゼが他の 2 種よりも多かった。

環境変数ごとの 3 種の出現範囲

3 種が採集された地点における各環境変数の値の範囲とその種間差について、データセット（冬季の稚魚、冬季の成魚、夏季の成魚）ごとにまとめた表を Table 3-2 に示す。全体的な傾向として、冬季の稚魚では有意な種間差が検出された変数が他の 2 つのデータセットと比べて少ない傾向があるが、ほとんど全ての環境変数において各種の値の範囲は 3 つのデータセットで同様であった。まず「実測変数」について、全てのデータセットに共通の

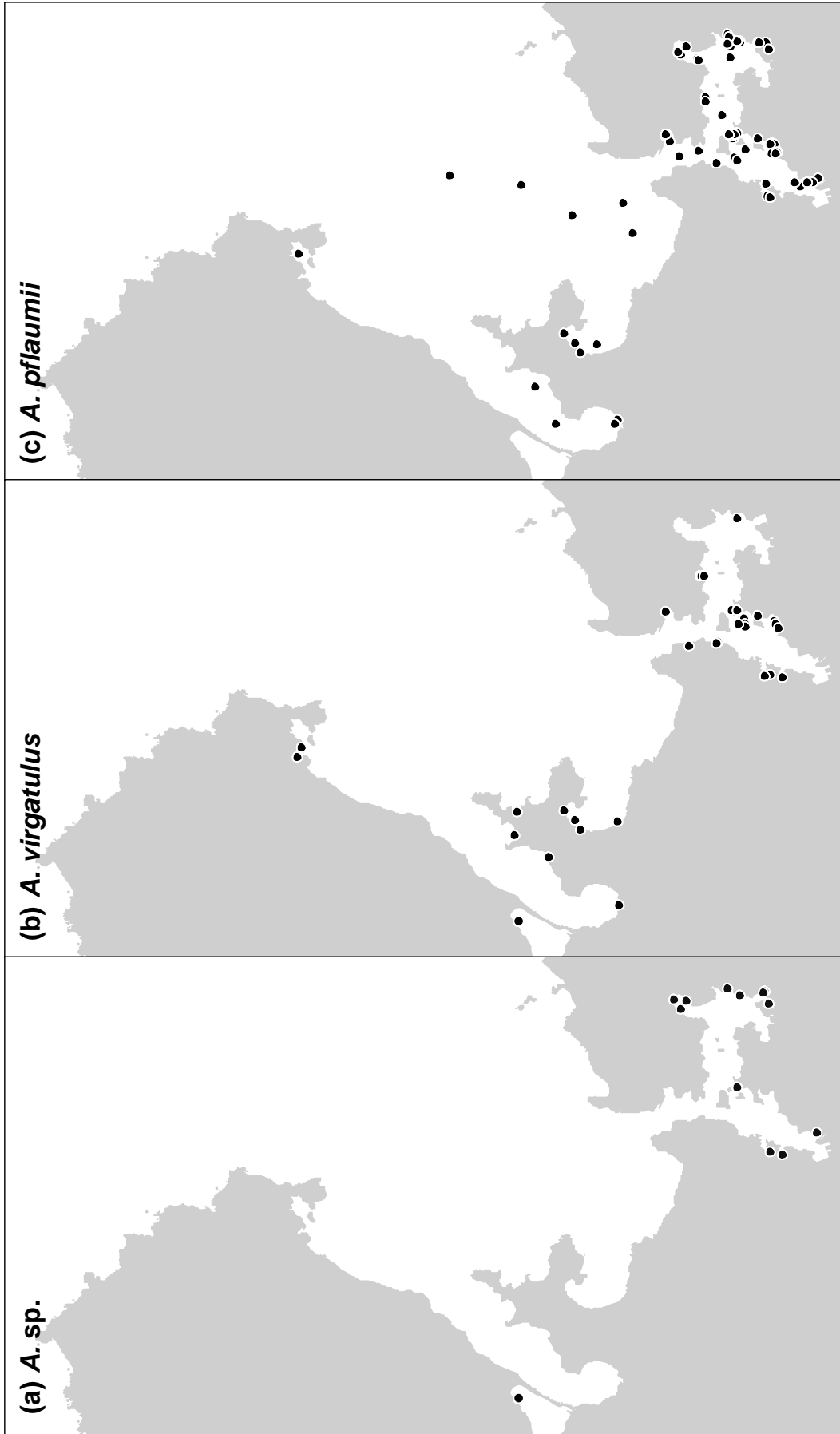
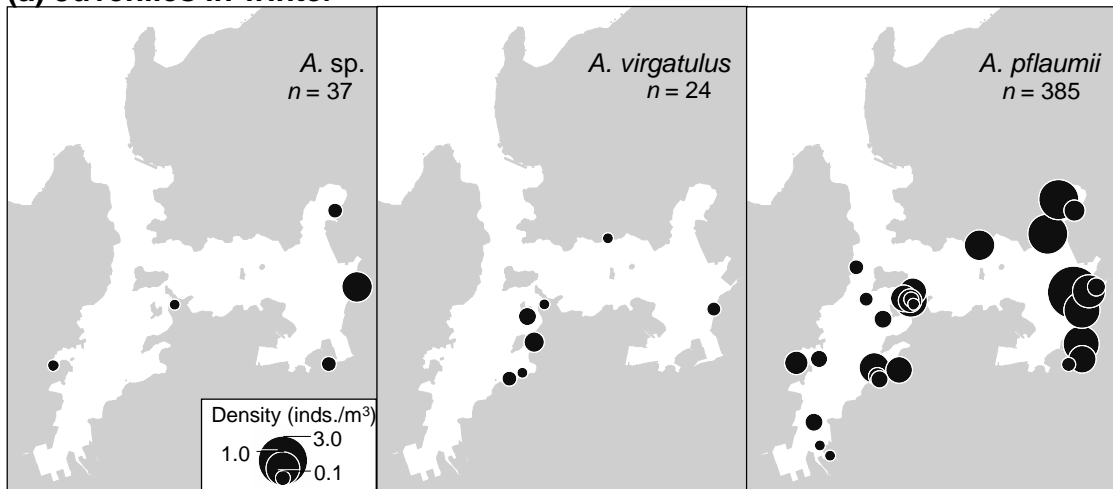
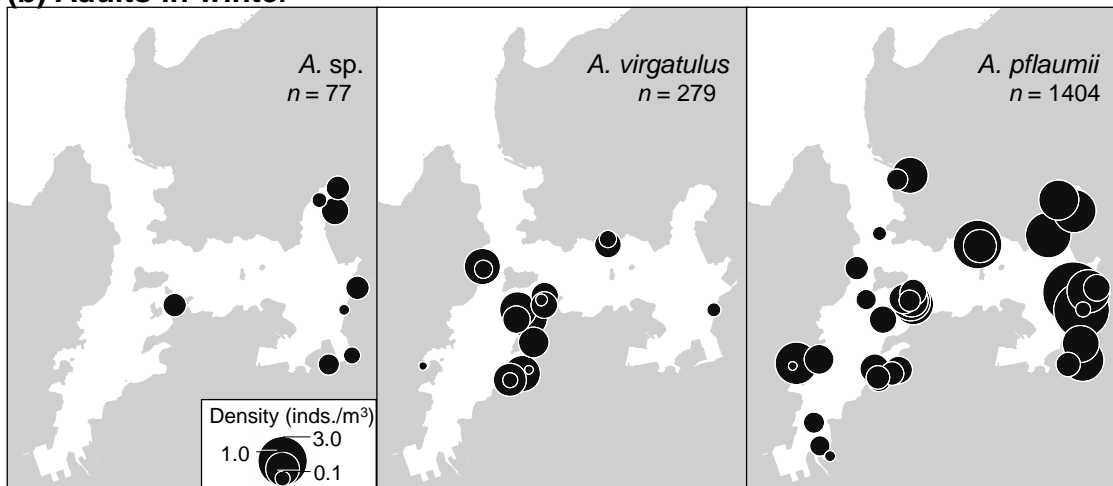


Fig. 3-6 Distribution of the three *Acentrogobius* species in western Wakasa Bay. (a) *A. sp.*, (b) *A. virgatulus*, and (c) *A. pflaumii*

(a) Juveniles in winter



(b) Adults in winter



(c) Adults in summer

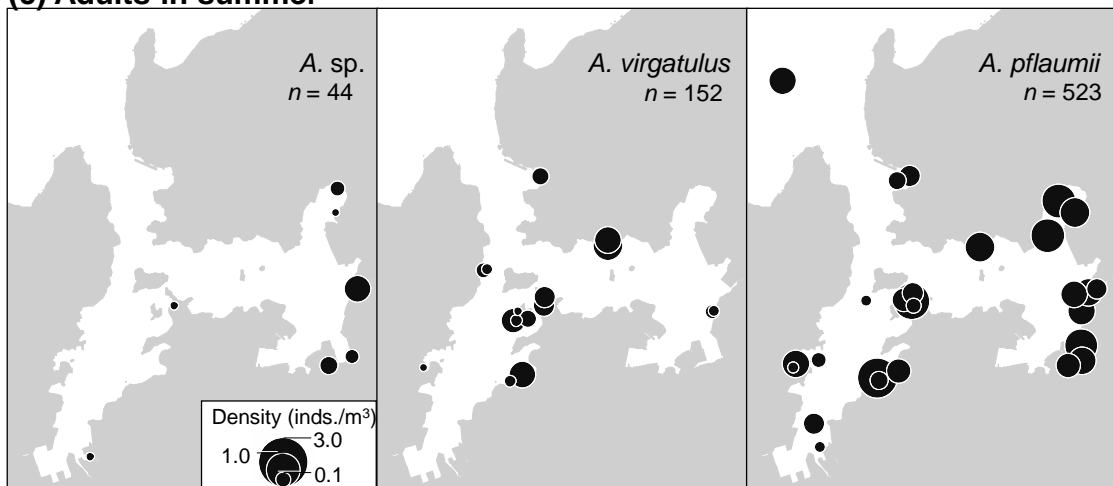


Fig. 3-7 Distribution of the three *Acentrogobius* species in Maizuru Bay. (a) Juveniles in winter, (b) adults in winter, (c) adults in summer

Table 3-2 The range of values of measured and topographic environmental parameters of sampling locations of each species for three data set, (a) juvenile in winter, (b) adults in winter, and (c) adults in summer. Median values are shown before parentheses, minimum to maximum values, in parentheses. Different letters on the upper right of values indicate significant differences in mean values of the parameter among the three species using the data set (Steel-Dwass test, $P < 0.05$)

(a) Juvenile in winter

	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatulus</i>	<i>A. pflaumii</i>
Measured parameters			
Water depth (m)	4.0 (3.5 - 5.2) ^a	3.5 (2.4 - 6.2) ^a	7.1 (1.6 - 19.9) ^b
Water temperature (°C)	19.3 (15.7 - 19.5)	19.3 (16.7 - 19.6)	19.0 (15.4 - 19.6)
Salinity	33.5 (33.2 - 33.6)	33.6 (33.3 - 33.6)	33.5 (33.0 - 33.7)
Chlorophyll <i>a</i> (µg/cm)	1.5 (1.0 - 4.7)	2.1 (1.0 - 4.7)	1.1 (0.3 - 4.8)
Pheophytin <i>a</i> (µg/cm)	3.6 (3.0 - 4.6)	5.3 (3.0 - 7.8)	3.7 (0.8 - 7.2)
Water content (%)	46.8 (36.4 - 60.3) ^{ab}	25.5 (22.7 - 62.6) ^a	55.0 (22.7 - 64.8) ^b
Mud content (%)	86.4 (24.6 - 97.1) ^{ab}	14.6 (8.5 - 90.1) ^a	89.1 (13.1 - 100.0) ^b
Median diameter (µm)	86.6 (1.0 - 122.8) ^a	261.0 (22.5 - 630.2) ^b	56.7 (1.0 - 1238.3) ^a
IL550 (%)	11.0 (6.4 - 13.2) ^{ab}	4.6 (1.8 - 15.2) ^a	10.4 (1.1 - 22.5) ^b
IL800 (%)	3.7 (0.0 - 6.8) ^{ab}	3.2 (1.9 - 5.2) ^a	2.2 (0.0 - 20.1) ^b
Topographic parameters			
Water depth (m)	3.3 (3.1 - 4.4) ^{ab}	3.1 (2.3 - 6.5) ^a	6.5 (3.1 - 19.7) ^b
Angle of slope (°)	2.0 (0.6 - 2.8)	3.9 (1.2 - 5.9)	2.0 (0.1 - 10.4)
Freshwater index	0.4 (0.0 - 4.4)	0.1 (0.0 - 0.4)	0.1 (0.0 - 10.6)

(b) Adult in winter

	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatulus</i>	<i>A. pflaumii</i>
Measured parameters			
Water depth (m)	3.5 (1.6 - 5.8) ^a	4.8 (2.3 - 7.3) ^a	7.0 (1.6 - 27.5) ^b
Water temperature (°C)	19.3 (18.0 - 19.9)	19.2 (13.9 - 19.6)	18.9 (15.0 - 19.6)
Salinity	33.2 (32.3 - 33.6)	33.5 (32.2 - 35.7)	33.5 (32.7 - 33.7)
Chlorophyll <i>a</i> (µg/cm)	2.0 (1.0 - 4.7)	2.7 (1.0 - 5.0)	1.1 (0.3 - 4.8)
Pheophytin <i>a</i> (µg/cm)	3.5 (1.3 - 6.6)	5.4 (0.8 - 10.3)	3.8 (0.8 - 7.2)
Water content (%)	49.6 (24.7 - 62.5) ^{ab}	26.9 (18.4 - 62.6) ^a	54.8 (18.4 - 64.8) ^b
Mud content (%)	86.6 (14.6 - 100.0) ^{ab}	12.4 (4.9 - 90.1) ^a	86.4 (11.7 - 100.0) ^b
Median diameter (µm)	75.6 (1.0 - 122.8) ^a	409.9 (75.6 - 1708.6) ^b	37.5 (1.0 - 1238.3) ^a
IL550 (%)	11.5 (5.3 - 22.5) ^{ab}	5.3 (0.9 - 15.2) ^a	10.6 (0.9 - 22.5) ^b
IL800 (%)	3.5 (0.0 - 6.8) ^{ab}	4.3 (0.8 - 21.0) ^a	2.2 (0.0 - 20.1) ^b
Topographic parameters			
Water depth (m)	3.2 (1.7 - 5.6) ^{ab}	4.2 (2.3 - 7.3) ^a	6.5 (2.5 - 28.9) ^b
Angle of slope (°)	0.6 (0.3 - 5.9)	4.2 (1.2 - 10.0)	2.1 (0.1 - 10.4)
Freshwater index	1.1 (0.0 - 10.0)	0.1 (0.0 - 0.4)	0.1 (0.0 - 10.6)

(c) Adult in summer

	<i>A. sp.</i>	<i>A. virgatulus</i>	<i>A. pflaumii</i>
Measured parameters			
Water depth (m)	2.2 (1.7 - 27.4) ^a	5.1 (2.2 - 13.7) ^a	7.7 (2.1 - 29.3) ^b
Water temperature (°C)	31.2 (25.5 - 32.8)	32.9 (29.3 - 33.8)	33.2 (25.5 - 33.7)
Salinity	24.0 (22.3 - 26.1)	23.2 (20.2 - 29.1)	22.7 (20.7 - 26.6)
Chlorophyll <i>a</i> (µg/cm)	1.2 (0.7 - 2.9)	2.2 (0.8 - 3.7)	1.4 (0.7 - 2.9)
Pheophytin <i>a</i> (µg/cm)	4.2 (2.4 - 6.5)	4.9 (3.3 - 7.3)	4.0 (2.4 - 6.5)
Water content (%)	43.2 (37.3 - 96.6) ^{ab}	11.8 (3.5 - 95.6) ^a	65.7 (7.0 - 98.8) ^b
Mud content (%)	55.9 (36.4 - 63.0) ^{ab}	30.7 (17.6 - 64.9) ^a	53.8 (26.0 - 64.9) ^b
Median diameter (µm)	72.6 (1.0 - 110.2) ^{ab}	434.1 (90.6 - 1728.7) ^a	27.4 (1.0 - 748.7) ^a
IL550 (%)	10.0 (7.4 - 17.4) ^a	5.0 (0.9 - 29.1) ^b	9.5 (2.0 - 29.1) ^b
IL800 (%)	0.9 (0.0 - 3.0) ^{ab}	3.1 (0.5 - 16.2) ^a	2.2 (0.3 - 5.8) ^b
Topographic parameters			
Water depth (m)	3.0 (1.5 - 5.6) ^{ab}	4.9 (1.6 - 13.0) ^a	6.8 (2.6 - 29.1) ^b
Angle of slope (°)	0.6 (0.1 - 1.8)	4.7 (0.8 - 8.9)	1.5 (0.4 - 9.0)
Freshwater index	2.3 (0.0 - 9.0)	0.1 (0.0 - 0.9)	0.1 (0.0 - 8.9)

傾向を述べる。生息水深はツマグロスジハゼとスジハゼでは浅場に限定されていたのに対し、モヨウハゼは広い水深範囲で出現した。底質に関する変数（クロロフィル *a* 量・フェオフィチン *a* 量・含水率・泥分率・中央粒径・IL550・IL800）はクロロフィル *a* 量を除いてツマグロスジハゼとモヨウハゼの採集地点で類似しており、比較的中央粒径が細かく、泥分率、IL550, IL800 が大きい傾向があったのに対し、スジハゼの採集地点では他の 2 種よりも中央粒径が粗く、泥分率、IL550, IL800 が小さい傾向が認められた。一方、塩分はデータセット間で各種の出現傾向が異なっており、冬季には種間で有意差が認められなかったのに対し（Table 3-2a, b）、夏季にはツマグロスジハゼの採集地点で他の 2 種のそれよりも有意に低かった（Table 3-2c）。次に「地形変数」では、全ての変数において、データセット間で大きな違いは認められなかった。すなわち、水深では「実測変数」と同様、ツマグロスジハゼとスジハゼが浅所に限定されていたのに対し、モヨウハゼは広い水深帯に出現した。海底勾配では、ツマグロスジハゼとモヨウハゼでは傾斜の小さな地点に出現する傾向があったのに対し、スジハゼは他の 2 種と比べて大きな傾斜の地点にも出現した。淡水の指標では、ツマグロスジハゼの採集地点で他の 2 種のそれと比べ大きい傾向があった。

採集地点のクラスタリング

各種の生息密度にもとづく採集地点のクラスタ分析の結果を Fig. 3-8 に示す。いずれのデータセットにおいても、採集地点は大きく 4 つのクラスター（A, B, C, D）に類別された。クラスター A（各データセットのクラスター名はそれぞれ A1, A2, A3）は、ツマグロスジハゼが出現すること（あるいは、それに加えてスジハゼが出現しないこと）で特徴づけられた。クラスター B（B1, B2, B3）は、スジハゼが比較的高い割合で出現すること（あるいは、それに加えてツマグロスジハゼが出現しないこと）で特徴づけられた。クラスター C（C1, C2, C3）は、モヨウハゼが高い割合で出現すること（あるいは、それに加えて他の 2 種が出現しないこと）で特徴づけられた。クラスター D（D1, D2, D3）は、3 種のいずれも採集されないことで特徴づけられた。

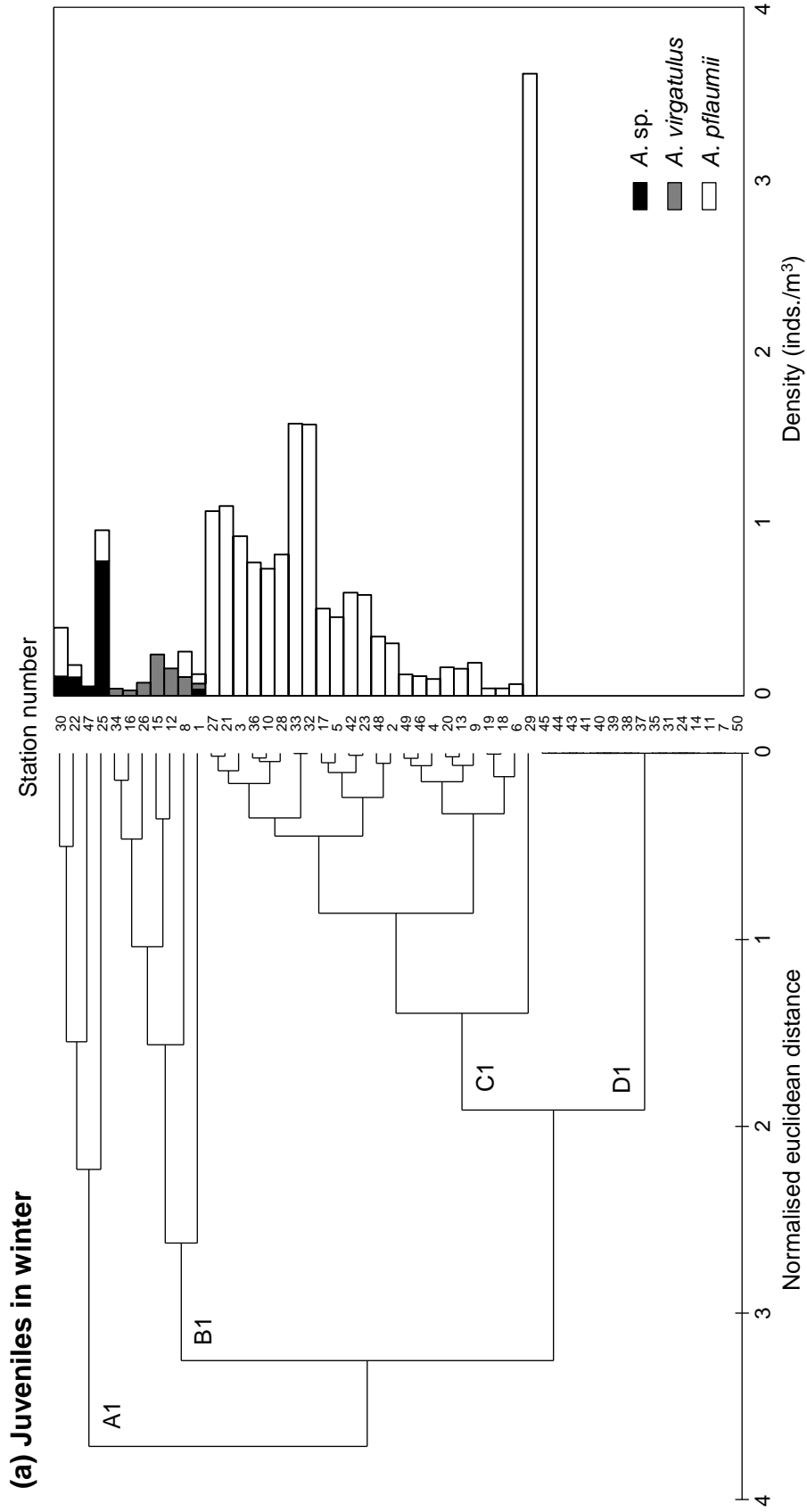


Fig. 3-8 Density of the three *Acentrogobius* species at each sampling station shown in Fig. 3-4b and cluster dendrogram of the 50 sampling stations according to the similarity. Results using the density of juveniles collected in winter (a), adults in winter (b), and adults in summer (c). Letters on the dendrogram are names of the four clusters of sampling stations: A1 (A2, A3), stations characterized by a high density of *A. sp.*; B1 (B2, B3), characterized by a high density of *A. virgatulus*; C1 (C2, C3), characterized by a high density of *A. pflaumi*; D1 (D2, D3), stations where no *Acentrogobius* species was collected

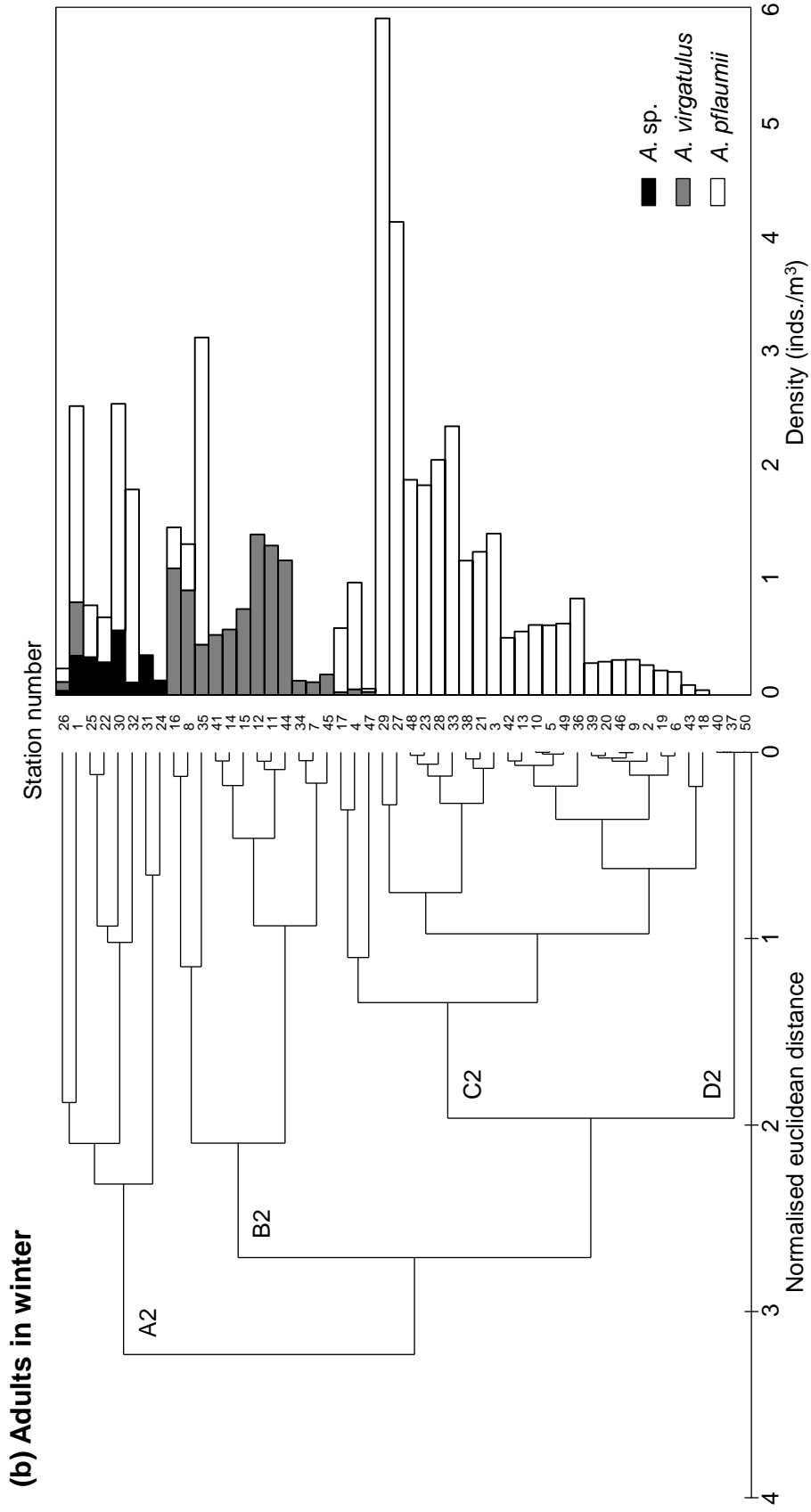


Fig. 3-8 (Continued from the last page)

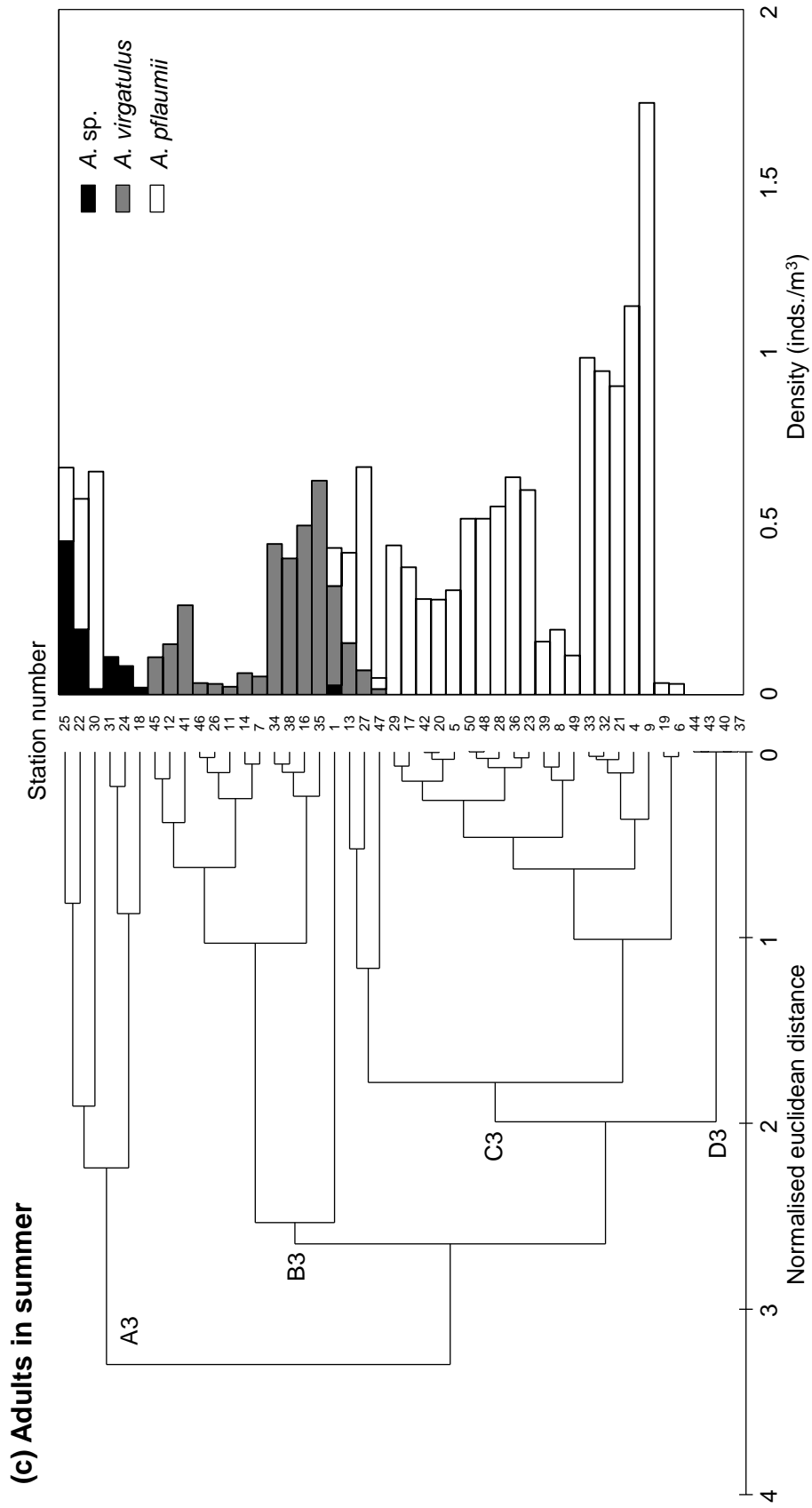


Fig. 3-8 (Continued from the last page)

3種の生息環境

3種の生息密度と「実測変数」との関係について調べた RDA の結果を Table 3-3 に示す。10 変数について VIF を計算したところ、両季節とも含水率と泥分率の値が 10 を超えたため、含水率を除いた 9 変数で RDA を行った（含水率を除いた後の VIF の最大値は冬季で 7.09, 夏季で 5.65）。変数増加法で選択された環境変数（3種の生息密度を説明するのに適当な変数）の組み合わせはデータセット間で類似しており、冬季の稚魚のデータでは水深、クロロフィル *a* 量, 泥分率, IL800 が, 冬季と夏季の成魚ではいずれも水深, クロロフィル *a* 量, 塩分, 泥分率が選ばれた。これらの環境変数のうち, 3種の生息密度と 5%水準で有意な相関が検出された変数は, 冬季の稚魚では泥分率, 冬季の成魚では水深と泥分率, 夏季の成魚では水深, 塩分, 泥分率であった。また冬季の稚魚では, 3種の分散に対する寄与率は RDA 第 1 軸と第 2 軸を合わせて 17.6%と低い値であったのに対し, 冬季の成魚では 34.6%, 夏季の成魚では 40.7%と比較的高い値を示した。3種の出現と変数増加法で選択された「実測変数」との関係座標平面上に表した図を Fig. 3-9 に示す。環境変数のベクトルの各成分は各環境変数の各軸に対する相関の高さを示す。3種の生息密度と有意な相関が検出された変数と各種の出現傾向について見ると, 冬季の稚魚では, スジハゼは泥分率の低い環境に, モヨウハゼは泥分率の高い環境に出現する傾向が認められた (Fig. 3-9a)。冬季の成魚では, 泥分率については稚魚と同様の傾向が見られ, これに加え水深に関して, ツマグロスジハゼとスジハゼは浅所に, モヨウハゼは浅所から深所までの幅広い環境に出現する傾向があった (Fig. 3-9b)。夏季の成魚では, 泥分率と水深については冬季の成魚と同様の傾向があり, さらに塩分に関して, 低塩分の環境にツマグロスジハゼが出現する傾向が認められた (Fig. 3-9c)。

3種の生息密度と「地形変数」との関係調べた RDA の結果を Table 3-4 に示す。3変数について VIF を計算したところ, 冬季の最大値は 1.26, 夏季の最大値は 1.23 と低い値であったため, 全ての変数を用いて RDA を行った。冬季の稚魚については水深, 海底勾配, 淡水の指標の 3つの環境変数のうち, 10%の有意水準で水深のみ 3種の生息密度と有意な相関

があった。一方、冬季および夏季の成魚では、10%の有意水準で全ての変数と生息密度との間に有意に相関が認められ、特に淡水の指標ではいずれのデータセットにおいても1%の有意水準で相関があった。また冬季の稚魚では、3種の分散に対する寄与率は第1軸と第2軸を合わせて9.1%と低い値を示したのに対し、冬季の成魚では22.9%、夏季の成魚では25.7%と比較的高い値を示した。3種の出現と環境変数との関係を座標平面上に表した図を Fig. 3-10 に示す。3種の生息密度と有意な相関が検出された変数と各種の出現傾向について見ると、冬季の稚魚ではツマグロスジハゼとスジハゼは浅所に、モヨウハゼは広い水深範囲に出現する傾向が認められた (Fig. 3-10a)。冬季および夏季の成魚では、水深に関しては冬季の稚魚と同様の傾向が見られた (Fig. 3-10b, c)。これに加え海底勾配に関して、モヨウハゼは比較的小さな勾配に、スジハゼは比較的大きな勾配に出現した。さらに淡水の指標に関して、ツマグロスジハゼは比較的大きな環境に出現する傾向が認められた。

「実測変数」と「地形変数」との対応を調べた RDA の結果を Table 3-5 に示す。3種の生息密度との関係を解析する過程で選出された計5つの「実測変数」(水深、塩分、クロロフィル *a* 量、泥分率、IL800) は、「地形変数」のうち水深および海底勾配と有意な相関が検出され ($P = 0.001$)、淡水の指標とも弱い相関が認められた ($P = 0.079$)。「地形変数」の分散に対する寄与率は第1軸と第2軸を合わせて44.4%であった。「実測変数」と「地形変数」との関係を座標平面上に表したものを Fig. 3-11 に示す。「地形変数」の水深が大きいほど「実測変数」の水深は大きく、海底勾配が大きいほど実測した泥分率は低く、淡水の指標が高いほど実測した塩分は低い値を示す傾向があった。

【考察】

若狭湾における3種の生息環境と分布域

3種の生息環境は、野外で採取・測定した「実測変数」と GIS を用いて抽出した「地形変数」のいずれの環境変数によっても説明できた。「実測変数」では特に水深、塩分、泥分率の違いによって、「地形変数」では水深、海底勾配、淡水の指標の違いによって3種の分布

Table 3-3 Summary of redundancy analyses (RDA) with forward selection for relations between measured environmental variables and the density of the three *Acentrogobius* species from 50 (in winter) or 46 stations (in summer). IL800, ignition loss at 800°C

Data set	Juvenile in winter		Adult in winter		Adult in summer	
	1	2	1	2	1	2
Ordination axes						
Eigenvalues	0.131	0.044	0.265	0.081	0.245	0.162
Species-Measured environment correlations	0.546	0.435	0.689	0.475	0.694	0.618
Cumulative percentage variance						
of species data	13.1	17.6	26.5	34.6	24.5	40.7
of species-environment relation	70.6	94.4	75.1	98.0	59.7	99.1
Conditional effects of variables	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Water depth	1.49	0.189	4.06	0.037	3.75	0.027
Salinity	-	-	1.12	0.229	6.56	0.004
Chlorophyll <i>a</i>	0.62	0.610	1.34	0.248	1.81	0.147
Mud content	5.89	0.001	15.86	0.001	12.98	0.001
IL800	2.15	0.096	-	-	-	-

Table 3-4 Summary of redundancy analyses (RDA) with forward selection for relations between topographic environmental variables and the density of the three *Acentrogobius* species from 50 (in winter) or 46 stations (in summer)

Data set	Juvenile in winter		Adult in winter		Adult in summer	
	1	2	1	2	1	2
Ordination axes						
Eigenvalues	0.061	0.039	0.134	0.095	0.171	0.086
Species-Topographic environment correlations	0.381	0.364	0.518	0.479	0.649	0.405
Cumulative percentage variance						
of species data	6.1	9.1	13.4	22.9	17.1	25.7
of species-environment relation	58.8	96.1	55.9	95.7	65.5	98.3
Conditional effects of variables	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Water depth	2.36	0.075	5.23	0.010	2.56	0.077
Angle of slope	1.96	0.118	2.60	0.073	3.96	0.027
Freshwater index	0.94	0.394	5.78	0.006	7.42	0.001

Table 3-5 Summary of redundancy analyses (RDA) with forward selection for relations between measured environmental variables and topographic environmental variables of a total of 96 sampling stations (50 + 46 stations)

Ordination axes	1	2
	Eigenvalues	0.321
Topographic environment-Measured environment correlations	0.723	0.827
Cumulative percentage variance		
of topographic environment data	32.1	44.4
of topographic environment-measured environment relation	71.2	98.3
Conditional effects of variables	<i>F</i>	<i>P</i>
Water depth	25.42	0.001
Angle of slope	36.83	0.001
Freshwater index	2.59	0.079

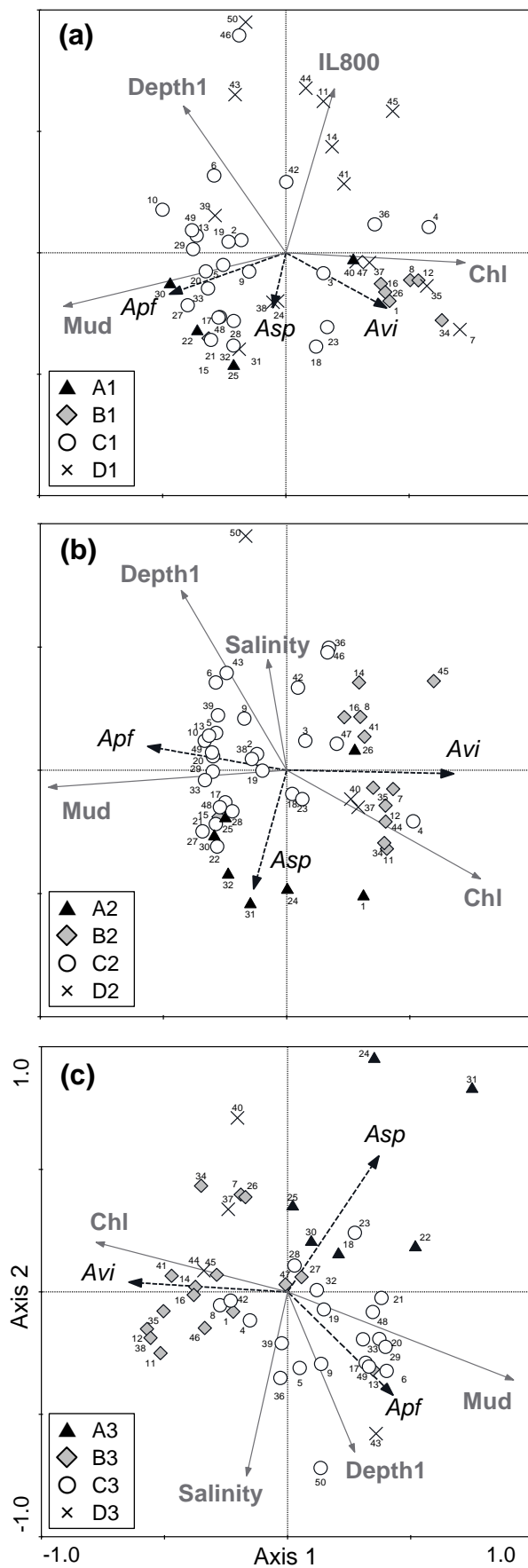


Fig. 3-9 Triplot of redundancy analysis (for summery, see Table 3-3) showing the relation between four measured environmental variables (selected by step-wise forward selection procedure) and density of the three *Acentrogobius* species. Results using a data set of juveniles in winter (a), adults in winter (b), and adults in summer (c). Vectors represent the direction and strength of each environmental variable (solid grayish arrow) or species (dashed black arrow) in the ordination space. *Italics* (*Asp*, *Avi*, *Apf*) on each species arrow represents *A. sp.*, *A. virgatus*, *A. pflaumii*, respectively. Symbols are sampling stations classified according to similarity in density of the three species (see Fig. 3-8). Numerals on symbols are the numbers of sampling stations shown in Fig. 3-4b

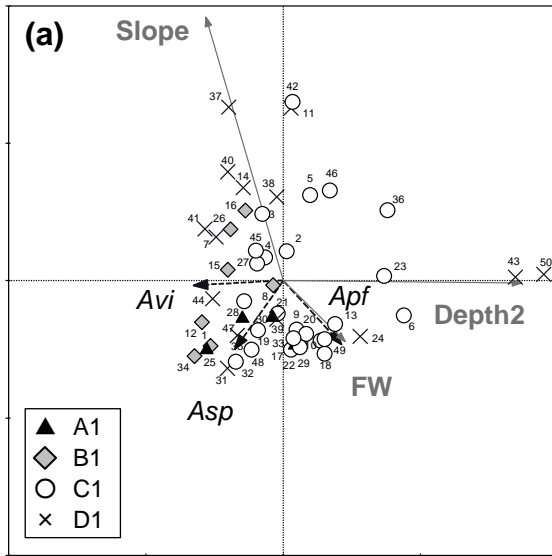
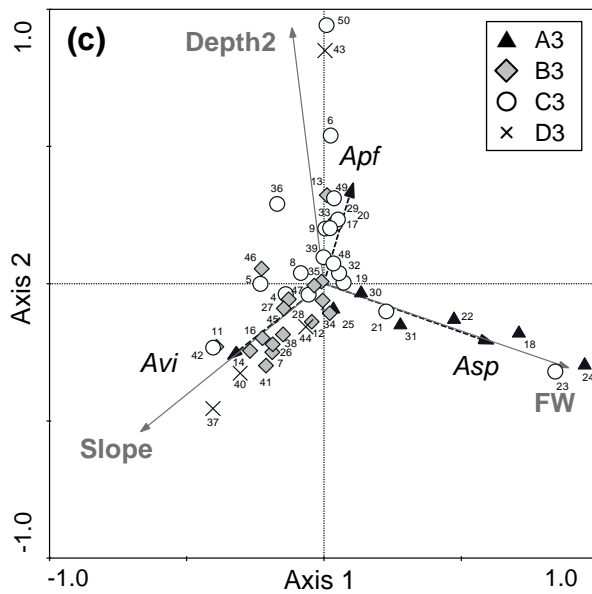
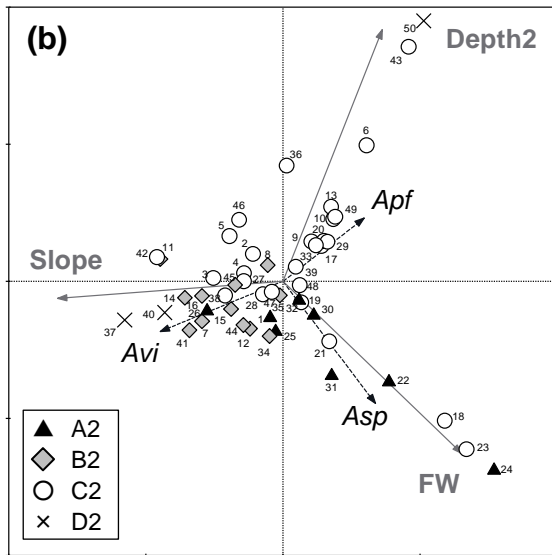


Fig. 3-10 Triplot of redundancy analysis (for summery, see Table 3-4) showing the relation between three topographic environmental variables and density of the three *Acentrogobius* species. Results using a data set of juveniles in winter (a), adults in winter (b), and adults in summer (c). For detail explanation how to read the graph, see the caption of Fig. 3-9



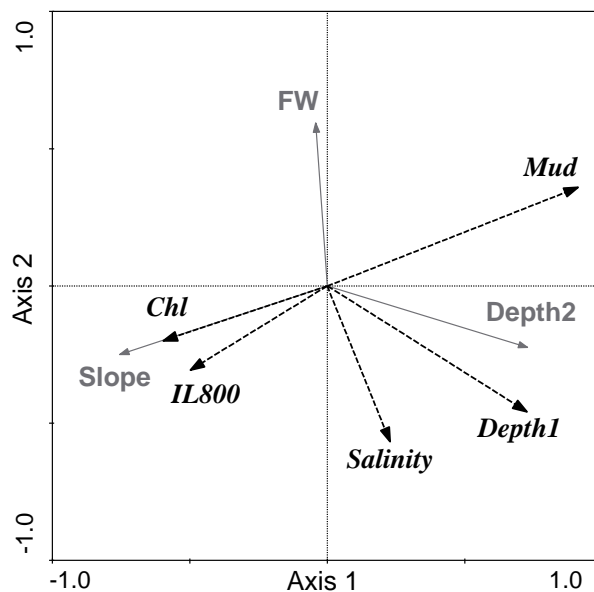


Fig. 3-11 Triplot of redundancy analysis (for summer, see Table 3-5) showing the relation between three topological environmental variables and five measured environmental variables based on data of a total of 96 stations (50 in winter and 46 in summer). Vectors represent the direction and strength of each environmental variable in the ordination space: dashed black arrow, topological environmental variables; solid greyish arrow, measured environmental variables

が異なっていることが示された。すなわち、ツマグロスジハゼは淡水の影響が大きい浅所に、スジハゼは海底勾配が急で泥分が少ない浅所に、モヨウハゼは海底勾配がなだらかで泥分が高い浅所から深所までの幅広い水深帯に生息していることが示唆された。本研究で明らかになった3種の生息環境は、従来の報告 (e.g. 鈴木ほか 2004; Horinouchi 2008; Inui et al. 2011) で断片的に知られていた全ての環境変数について値を内包しており、矛盾点は見当たらなかった。3種の分布には「実測変数」と「地形変数」の両方が直接的に関わっているのか、あるいは一方は間接的でもう一方が直接的に影響を及ぼしているのかは本研究結果からは分からない。ただし、「実測変数」と「地形変数」との関係調べたRDAの結果から、「実測変数」は「地形変数」によって説明されることが分かった (Fig. 3-11)。このことは3種の生息環境の形成に地形的要素が関わっている可能性を示唆しており、「地形変数」は部分的には「実測変数」をとおして3種の分布に間接的に影響している可能性も考えられる。たとえば、ツマグロスジハゼは淡水の指標の大きい地点、すなわち淡水流出点付近に分布す

る傾向があると示唆されたが、淡水流出点に近いことがツマグロスジハゼの分布に直接影響しているのではなく、淡水流出点付近の低塩分環境をとおして間接的に関わっているのかもしれない。同様に、スジハゼは海底勾配が比較的大きな環境に出現する傾向が見られたが、勾配の大きな海底では泥分が少なくなる傾向が認められたことから、海底勾配は底質をとおしてスジハゼの分布に間接的に影響しているのかもしれない。

3種の湾内における生息域と各種の生息環境が形成される場所との対応について考える。ツマグロスジハゼは泥分率の比較的高い淡水流出点付近の浅所に生息していることが示唆されたが (Table 3-2, Fig. 3-9, 3-10), このような環境は外海に面した河川の河口域ではなく、湾奥部などの波当たりや流れの影響を受けにくい河川の河口域の浅所に形成されると考えられる。分布調査の結果、実際にそのような場所が本種の生息域となっていることが示された (Fig. 3-6a)。次に、スジハゼは海底勾配が比較的大きく泥分の少ない浅所に生息しており、アマモ場などの藻場にも出現する (Horinouchi 2007)。したがって、本種の生息域は自然海岸であれば湾内の浅所では河口からやや離れた岸際に形成されると考えられ (Table 3-2, Fig. 3-9, 3-10), 実際にそのような場所で分布が確認された (Fig. 3-6b)。最後に、モヨウハゼはごく浅い所を除いた広い水深範囲の泥分の多い環境に生息していることが示された (Table 3-2, Fig. 3-9, 3-10)。このような環境は流れの影響の小さな支湾では岸際を除いたほぼ全域で、本湾では砕波帯や岩礁域をのぞいた広範囲に形成されると考えられ、その広い領域が本種の生息域であると推察される。実際に、本種は支湾の湾内全域および本湾の湾中央部にまで出現した (Fig. 3-6c)。

生息環境の季節変化と成長に伴う変化

3種の成魚の生息環境の傾向は、「実測変数」と「地形変数」のいずれにおいても、夏季と冬季との間で大きな違いは見られなかった。しかし、3種の分布と各環境変数との相関の有意性に注目すると、特に「実測変数」の塩分では季節間で違いがあったのに対し (Table 3-3), 「地形変数」の淡水の指標では季節間で違いが検出されなかった (Table 3-4)。「実測変

数」と「地形変数」でとらえた環境の特徴の違いとして、「実測変数」はリアルタイムな環境を表しているのに対し、「地形変数」は地形的要素によって形成される潜在的な環境を反映している点が挙げられる。本研究において見られた塩分に対する有意性の季節間の違いは3種の分布が季節間で変化したことを示すのではなく、3種の生息域の塩分が季節間で変化したことを示していると考えられる。つまり、ツマグロスジハゼは夏季のみ他の2種と比べて塩分の低い環境に生息しているのではなく、季節に関わらず淡水の影響を受けやすく塩分が低下しやすい環境に生息していると考えられる。

成長に伴う生息環境および生息域の変化について考察する。冬季に採集された稚魚の生息環境および生息域は、冬季および夏季に採集された成魚と同様の傾向を示した。しかし、環境変数との相関は成魚と比べて弱く、3種間の違いも不明瞭であった。このことから、稚魚の環境に対する選好性が成魚よりも弱い、あるいは同種の成魚との競争に負けて周辺環境に分布している可能性が示唆される。

本研究では、通常期である冬季と繁殖期である夏季（第4章）における3種の生息域および生息環境を明らかにしたが、一年をとおした傾向については把握できていない。森（1995）は山口県油谷湾における「スジハゼ」（3種のうちいずれの種を指しているかは不明）の成長に伴う分布の変化および季節変化について、仔稚魚は湾奥部に集中分布するが（8月上旬）、幼魚期には湾内全域に広く分布し（8月下旬-10月）、越冬期には再び湾奥部に集合し（11-2月）、越冬期を過ぎるとまた湾内全域に分布域を拡げ（3-5月）、産卵期には再び湾奥に集中分布する（7-8月）、と報告している。この報告にもとづけば、本研究の調査時期は湾奥部に集中するとされる越冬期（冬季）と産卵期（夏季）のみであり、湾内で分布拡大している時期の生息域および生息環境をとらえられなかった可能性がある。しかし、日本列島沿岸域で網羅的に行った3種の生息環境調査は季節に偏らず行ったものであり、少なくとも水深と塩分についてはいずれの季節においても同様の傾向が認められたことから、仮に生息域および生息環境に季節間で違いが見られるとしても、大きな違いではないと推察される。

3種のこのような生息環境とそれに伴う生息域の違いは、3種が同一湾内で緩やかにすみ

分けていることを示唆している。餌や生息環境を使い分けることによって、資源利用の類似した種間の競争が緩和され共存しやすくなることはよく知られている (Pianka 1974)。3種のうち少なくともスジハゼとモヨウハゼは同様の食性をもつことが報告されており (Horinouchi 2008)、生息環境の違いは餌をめぐる競争を軽減し3種の同一湾内での共存を容易にしている可能性が考えられる。3種の分布がどのような要因によって規定されているかを明らかにするためには、さらに環境に対する耐性や選好性、種間競争について検討する必要がある。

第4章 生活史

【背景】

生活史特性は、遺伝的集団構造に最も大きな影響を及ぼす生態的特性の一つである。これまで多くの研究によって、成熟齢、生涯の産卵数、仔魚の発生型、浮遊仔魚期間などの生活史特性は、集団間の個体分散の大きさや各種の進化速度に影響し、遺伝的集団構造の形成に密接に関わっていることが示されてきた (e.g. Waples 1987; Avise 1992; Bohonak 1999; Cowen and Sponaugle 2009)。

「スジハゼ」の生活史に関する野外研究の報告として松宮ほか (1980) や森 (1995) が、卵稚仔の飼育観察報告として内田・道津 (1980) などがある。これらによると、「スジハゼ」の寿命は1年数か月から満2年で、産卵期は夏季を中心とした4-5か月間の長期に及ぶと推定される。「スジハゼ」の卵は海底に伏せられた二枚貝の貝殻内壁や石の下などに産み付けられ、数日後に孵化するまで雄が卵保護を行う。仔魚は1-2か月間の浮遊期間を経て着底し、底生生活に移行する。生後約1年で産卵に参加し、多くの個体は産卵後に斃死する。しかし、これまでの研究では3種を同一種として扱っており、3種を区別して成長および繁殖特性について調べた研究はない。

本章では、スジハゼ複合種群各種の成長および繁殖に関する特性を同所的生息地において調べることで、これらの特性について種ごとに明らかにするとともに、同一環境下における3種間の違いを明確にすることを目的とした。京都府舞鶴湾の同一地点で3種の定期的な野外採集調査を行い、主に体長組成、生殖腺指数、卵サイズ、卵数とその季節変化を調べることによって、寿命、成熟齢、成熟サイズ、産卵期、産卵回数、浮遊仔魚期間などを推定した。考察では、これらの成長および繁殖に関する特性と、各種が生息している平均的な物理的環境（水深など）および生物的環境（捕食圧など）との関係から、3種の個体分散や仔魚生残機構について検討を行った。

【材料と方法】

標本採集

2009年10月から2010年11月にかけて、京都府北部舞鶴湾内の1地点（水深 3.8 ± 1.0 m; Fig. 4-1）において3種の定量採集を行った。「スジハゼ」の産卵期であるとの記録がある3月から9月（森 1995）は毎週1回、その他の月は毎月1回の頻度で調査を行った。採集には、小型船舶（京都大学フィールド科学教育研究センター舞鶴水産実験所所属・白浪丸）を使用し、ソリネット（口幅1.5 m、高さ0.3 m、測長4.2 m、目合い2 mm）を15 mのワイヤーの先に取り付け約2ノットで1分間曳網することによって連続的に分布する3種を採集した。また、GPS（HE-61GPII、本多電子株式会社）を用いて曳網開始地点と終了地点の緯度・経度を記録し、曳網距離を算出した。採集した標本は氷冷して研究室に持ち帰り、10%ホルマリンで固定した。また、3種の採集と同時に、曳網終了地点において Compact-CTD（JFEアドバンテック株式会社）を用いて水温、塩分を測定した。

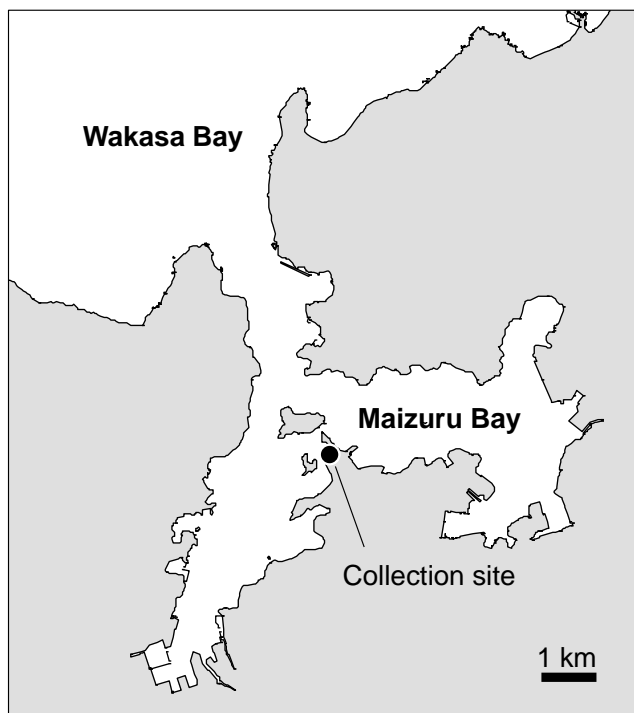


Fig. 4-1 Study area in Maizuru Bay in the Sea of Japan, showing the collection site of the three *Acentrogobius* species and physical environmental parameters

体長組成の推移

採集した 3 種の個体数を雌雄別に計数し、個体数とソリネットの曳網距離とから生息密度を算出した。標本の標準体長（以下、体長）を測定し、相澤・滝口（1999）に従って体長分布を MS-Excel の Solver を用いて正規分布に分解し、コホートごとに成長を追跡して、各種の稚魚の着底期や寿命を推測した。ただし、体長に雌雄差があった調査日や、採集個体数が雌雄合わせて 50 個体に満たなかった調査日については、正確にコホートをとらえられないため正規分解は行わなかった。

また、寿命推定のための補足情報として、2010 年 5 月 28 日と 11 月 2 日に採集された標本について、鱗を用いた年齢査定を行った。ハゼ科魚類では種によって 1 年に 1 回あるいは 2 回、鱗の成長が遅くなり輪紋の間隔が狭い領域（休止帯）が形成される（e.g. Takagi 1953; Miller 1975; Takahashi 2008）。したがって、複数の時期に採集された個体の休止帯を計数することで、その種の輪紋形成特性と年齢組成が推測できる。予備研究から、舞鶴湾に生息する 3 種の鱗の休止帯は 1 年に 1 回、産卵期から冬季にかけて形成されることが分かっている（Fig. 4-2）。測定には胸鰭下の鱗を用い、万能投影機下で 1 個体につき 3 枚の鱗の休止帯を計数し、3 値のうち最大値をその個体の年齢とした。コホートと年齢との関係を調べるため、この 2 日間のデータについても上記の月ごとの体長組成と同様にコホート解析を行った。

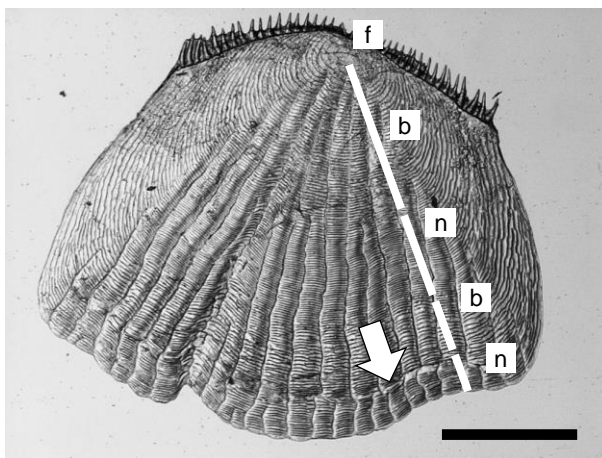


Fig. 4-2 A scale under the pectoral fin of a female *Acentrogobius virgatulus* (23.4 mm in standard length) collected on November 2nd, 2010. Bar indicates 0.5 mm. f: focus; b, n: broad and narrow circuli zone; allow: spawning mark

産卵生態の推定

各調査日の採集個体のうち体サイズから明らかに新規加入個体であると判断された個体を除いて各種・各性別 20 個体を無作為に選び、魚体湿重量 (WW) と生殖腺重量 (GW) を測定した。採集個体数が 20 個体に満たなかった調査日については、採集された全ての個体について測定した。各個体の生殖腺指数[GSI = GW/(WW-GW)×100]を算出し、GSI の周年変化によって各種の産卵期の推定を行った。

さらに、上記で用いた 20 個体の雌のうち卵黄球期以降の卵母細胞を有する個体については、卵巣内の卵数を計数し、卵サイズを計測した。3 種の卵巣内の卵形はいずれの発生段階においても球形に近い楕円球であったため、万能投影機下で短径 (2a) と長径 (2b) を測定し、 $\frac{4}{3} \times \pi \times a^2 \times b$ の式で求めた値を卵の体積とした。各個体の卵巣内の卵サイズは卵黄球期以降のものでは、ほぼ一様であることが確認できたため、5 個の卵の平均値を各個体のデータとして算出した。

【結果】

体長組成

3 種の採集地点における海底直上の水温と塩分の季節変化を Fig. 4-3 に示す。水温は 2 月上旬に最低値 10.5°C、8 月下旬に最高値 30.1°C を記録した。塩分は 29.5–34.2 の範囲で推移した。

各種・各性別の標準体長組成の周年変化を Fig. 4-4 に示す。ツマグロスジハゼではいずれの月においても雌雄差がなかったが、スジハゼでは 6 月に、モヨウハゼでは 5–7 月に、雄より雌の体長が大きかった[t-test; スジハゼ: 6 月, 32.4 mm (雄の平均体長) < 35.2 mm (雌の平均体長), $t = 2.61$, $df = 60.4$, $P < 0.05$; モヨウハゼ: 5 月, 29.8 mm < 34.8 mm, $t = 3.09$, $df = 42.1$, $P < 0.05$; 6 月, 29.3 mm < 36.7 mm, $t = 6.37$, $df = 42.6$, $P < 0.05$; 7 月, 31.6 mm < 37.8 mm, $t = 5.45$, $df = 29.6$, $P < 0.05$]。成長解析では、これらの月を省いてコホートの分離を行った。ツマグロスジハゼでは稚魚が 9 月上旬から出現し始め、このコホートが季節の進行に伴って大き

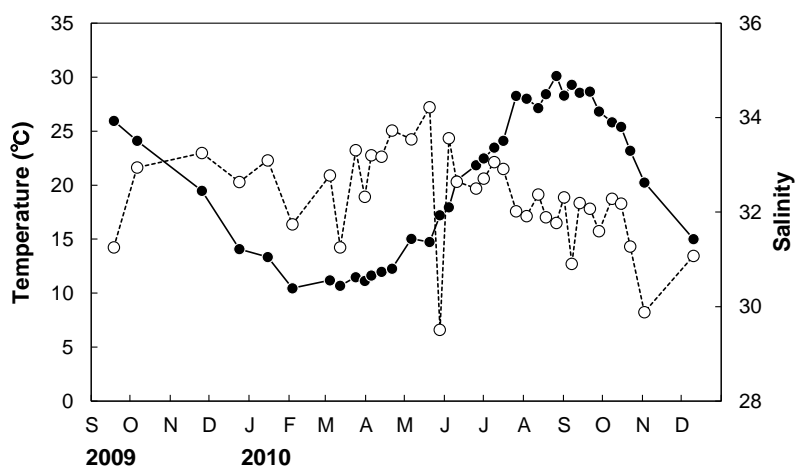


Fig. 4-3 Seasonal changes in water temperature (closed circles) and salinity (open circles) in the bottom layer at the collection site

い方にシフトした。個体数が少なくコホート解析を行えない月があったものの、稚魚が出現する晩秋から翌春まではおおよそ 2 集団で、夏から秋にかけて個体数が減って 1 集団となることが分かった。スジハゼでは 8 月上旬に稚魚が出現し始め、ツマグロスジハゼと同様、このコホートが翌夏にかけて体長の大きい方に移行し、8 月から 9 月にかけて個体数が激減するが、少数から構成されるコホートが翌々年の 5 月まで認められた。モヨウハゼでは 7 月上旬から 8 月上旬と 11 月上旬に稚魚が採集された。発生の時期の異なるこの 2 集団は翌年の春にはほぼ 1 集団となり、夏から秋にかけて個体数が減り、11 月上旬にはこのコホートが検出されなくなった。

鱗の輪紋から年齢を査定した結果、5 月に採集された個体は、いずれの種においても雌雄ともにほとんどの個体が当歳魚（前年の夏生まれ）であり、少数の大型個体が 1 歳魚であった (Fig. 4-5a-c)。11 月に採集された個体は、いずれの種においても雌雄ともに大多数の個体が当歳魚（その年の夏生まれ）、少数の大型個体が 1 歳魚であり、2 歳魚はツマグロスジハゼとモヨウハゼの雌で 1 個体ずつ得られたのみであった (Fig. 4-5d-f)。ツマグロスジハゼとスジハゼでは、コホート解析で検出された 2 集団のうち体サイズの小さい集団は主に当歳魚によって占められ、体サイズの大きい集団は主に 1 歳魚と 2 歳魚によって占められていた。一方、モヨウハゼでは 3 集団が検出された。このうち体サイズの小さい 2 集団は主に当歳魚で占められており、残る 1 集団はほとんどが 1 歳魚と 2 歳魚で占められていた。

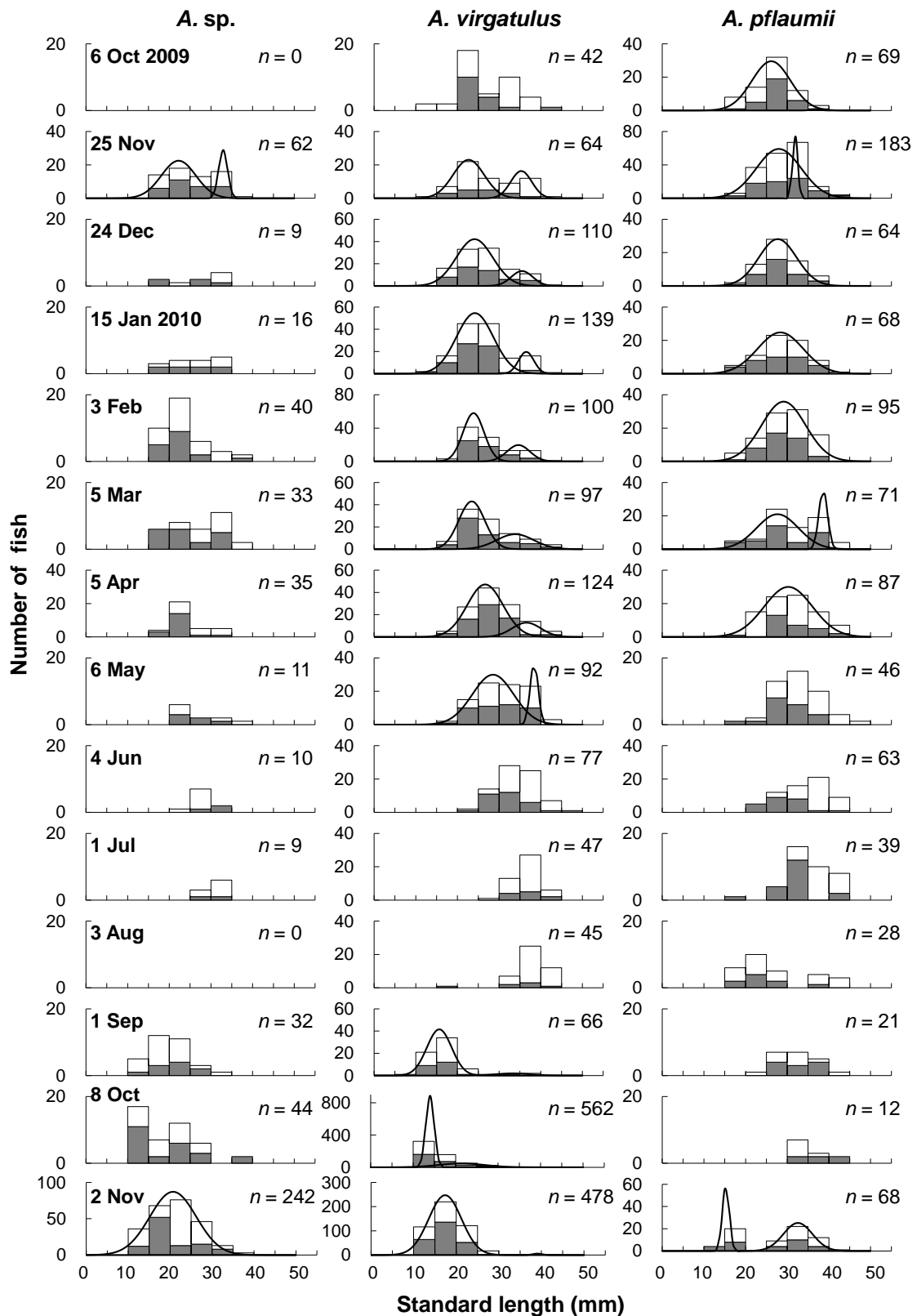


Fig. 4-4 Seasonal changes in the standard length (SL) of the three *Acentrogobius* species. Shaded and white areas: males and females; solid curves: normal distributions of each cohort detected

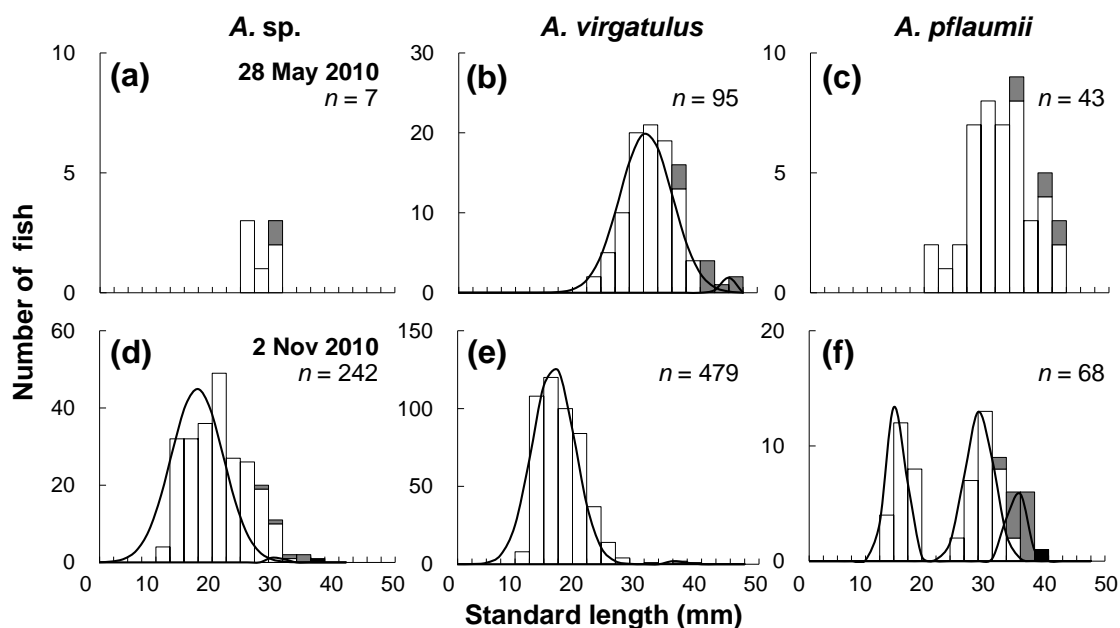


Fig. 4-5 Size-frequency distributions of each age group of *Acentrogobius* species collected on May 28th, 2010 (a-c), and November 2nd, 2010 (d-e). The colors of columns indicate estimates of fish age based on scales; white, shaded, black: 0-year-old, 1-year-old, 2-year-old fish, respectively. Solid curves indicate normal distributions of each cohort detected

GSI

GSI の平均値の周年変化を Fig. 4-6 に示す。GSI の平均値は、ツマグロスジハゼでは雌雄ともに 6 月上旬から中旬にかけて上昇し始め、雌では 6 月末に、雄では 7 月中旬に最大となった。GSI が非産卵期より有意に高い時期は雌では 6 月上旬から 7 月上旬、雄では 6 月上旬から 7 月中旬であった。7 月下旬から 8 月には本種が雌雄ともにほとんど採集されなかったため、GSI 下降の時期は定かでないが、9 月初頭には 6 月以前の水準に戻った。スジハゼでは雌雄ともに 5 月中旬に GSI が上昇し始め、6 月中旬から 7 月上旬に最大となり、9 月上旬に産卵期前の水準に戻った。GSI が非産卵期より有意に高い時期は、雌では 5 月中旬から 7 月中旬と 8 月下旬、雄では 5 月中旬から 7 月上旬であった。モヨウハゼの GSI は、雄では 2 月から 3 月、雌では 3 月下旬に上昇を始め、雌雄とも 4 月中旬から下旬に最大となり、9 月上旬に上昇前の水準に戻った。GSI が非産卵期より有意に高い時期は雌では 4 月中旬から

7月中旬, 雄では3月中旬から6月中旬であった. 産卵期を通して各種の GSI の平均値が最大となった日の値は, 雌ではツマグロスジハゼで 8.99 ± 7.35 (平均 \pm 標準偏差, 6月25日), スジハゼで 8.07 ± 4.97 (7月1日), モヨウハゼで 13.76 ± 6.37 (4月30日) であり, モヨウハゼとスジハゼの間に有意差が認められた (Tukey-Kramer, $P < 0.05$). 雄ではツマグロスジハゼで 1.00 ± 0.19 (7月16日), スジハゼで 1.04 ± 0.89 (6月25日), モヨウハゼで 3.66 ± 1.66 (4月21日) であり, モヨウハゼで他の2種より有意に大きかった (Tukey-Kramer, $P < 0.05$).

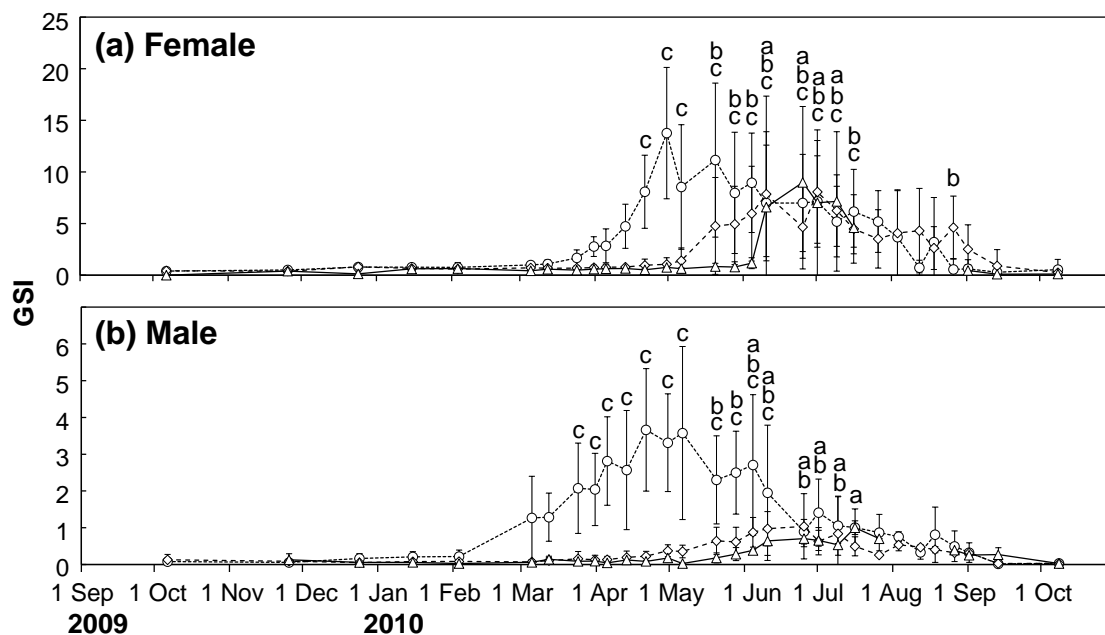


Fig. 4-6 Seasonal changes in the average gonadosomatic index (GSI) of *Acentrogobius* sp. (triangles), *A. virgatus* (diamonds), and *A. pflaumii* (circles). a, b, c on each sampling date indicate $P < 0.05$ compared with non-breeding season (November 25th, 2009) in *A. sp.*, *A. virgatus*, and *A. pflaumii*, respectively (Tukey-Kramer test)

体サイズクラス（大型・中型・小型）ごとの GSI の季節変化を Fig. 4-7 に示す。ツマグロ
 スジハゼとスジハゼの雌では、産卵期をとおして大型および中型個体でのみ GSI の上昇が
 見られ、小型個体では GSI の上昇が認められなかった。一方、モヨウハゼの雌では、大型・
 中型個体だけでなく小型個体も産卵期の初期から GSI が上昇し産卵期をとおして比較的高
 い値を示した。雄では、いずれの種においても繁殖最盛期には小型個体の GSI が大型個体
 よりも大きかった。

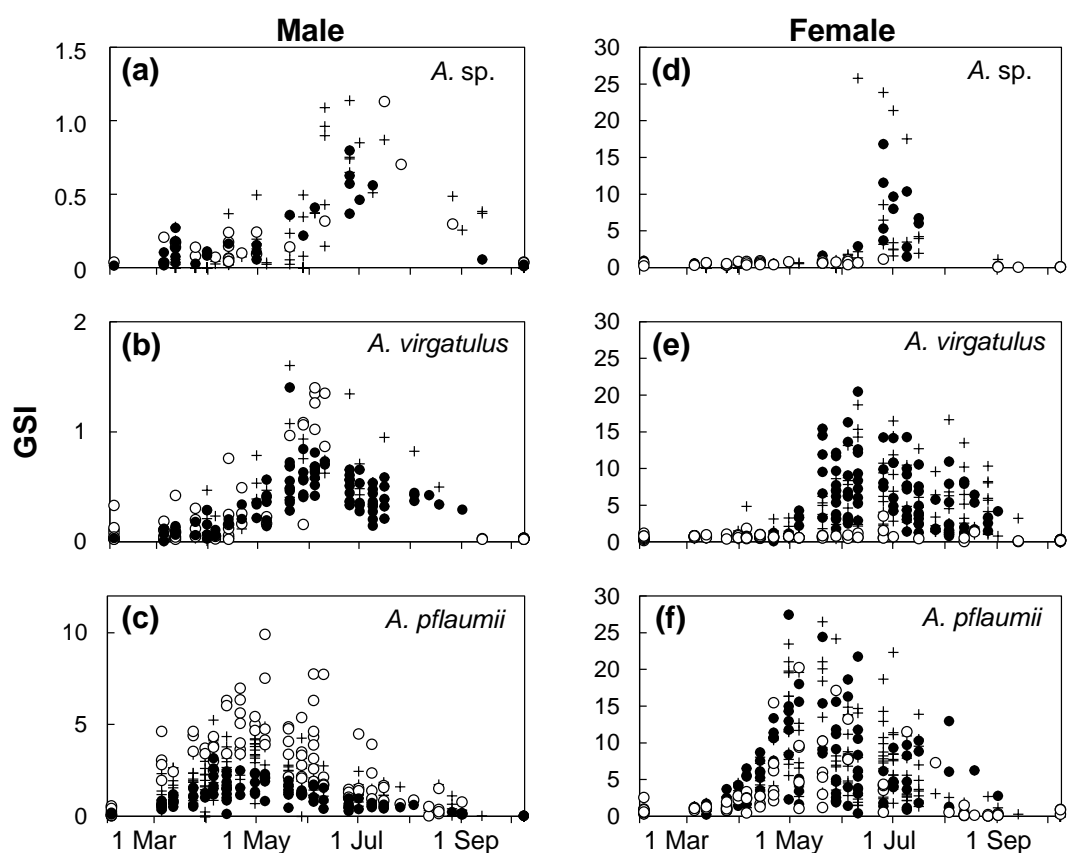


Fig. 4-7 Variation in the GSI of the three *Acentrogobius* species over the breeding season (February-October, 2010) for both males (a-c) and females (d-f). Open circles, plus symbols, and closed circles indicate small individuals [the bottom 25% of the group in body size (wet weight-gonad weight)], medium-sized individuals (the middle range 25-75%) and large individuals (the top 25%), respective

体サイズと GSI との関係を Fig. 4-8 に示す. 雌雄ともに, GSI の上昇を開始する体サイズ (魚体湿重量から生殖腺重量をひいた値) はモヨウハゼで最も小さく, ツマグロスジハゼ, スジハゼと続いた. 雄ではいずれの種においても小型の個体ほど GSI が大きい傾向が認められた.

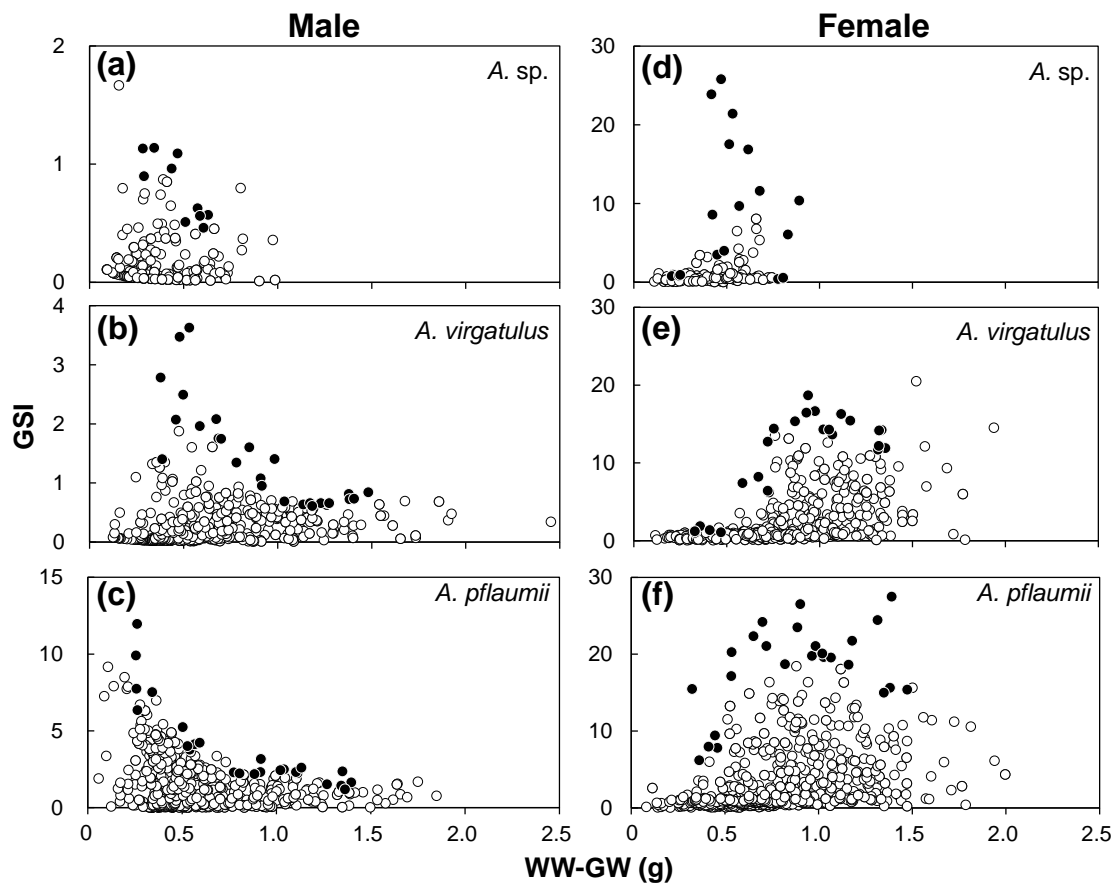


Fig. 4-8 Relationships between body size [wet weight minus gonad weight (WW-GW)] and GSI of the three species for both males (a-c) and females (d-f). Closed circles indicate the largest five individuals in each size class grouped in 0.25 g intervals (however, classes composed of less than 10 individuals were exclude

抱卵数

卵巣内の卵数はツマグロスジハゼが 1510 ± 431 個 (平均 \pm 標準偏差), スジハゼが 2010 ± 515 個, モヨウハゼが 2000 ± 646 個であり, ツマグロスジハゼの卵数はスジハゼとモヨウハゼに比べて有意に少なかった (Tukey-Kramer, $P < 0.05$). また, ツマグロスジハゼでは卵数と体サイズとの相関が見られなかったが, スジハゼとモヨウハゼでは体サイズが大きいほど卵数が多い傾向があった (Fig. 4-9). また, いずれの種においても季節の進行に伴う卵数の増減は認められなかった.

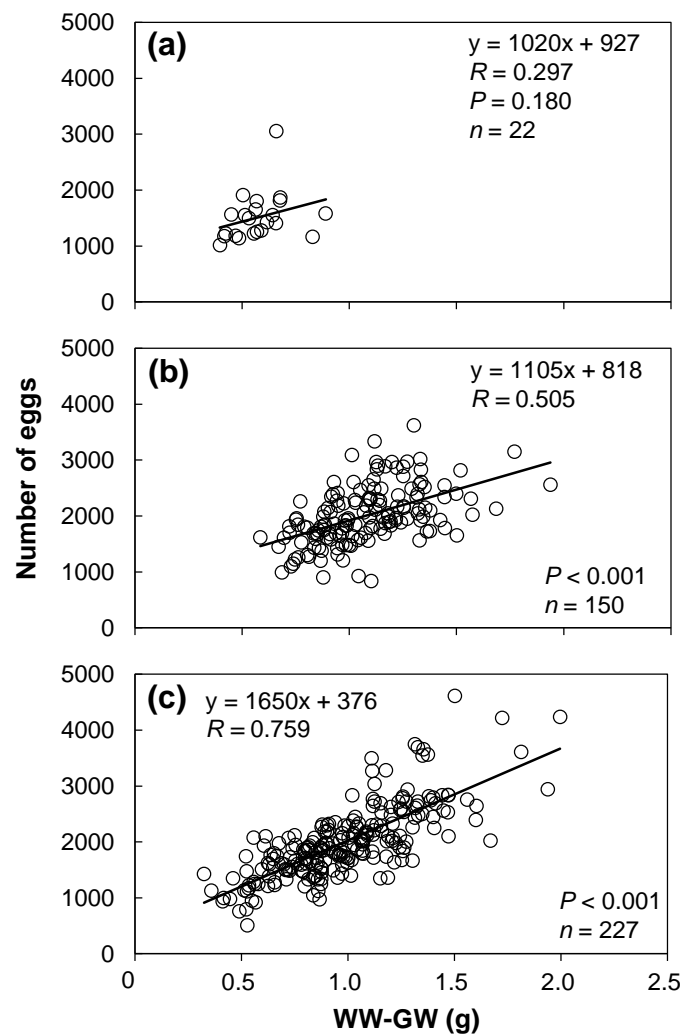


Fig. 4-9 Relationships between body size [wet weight minus gonad weight (WW-GW)] and number of eggs in the ovaries of *Acentrogobius* sp. (a), *A. virgatus* (b), and *A. pflaumi* (c). Solid lines are regression lines and the regression equations are also shown

卵サイズ

全雌個体の卵巣内の卵のうちサイズが上位 2 割の卵サイズを種間で比較したところ、ツマグロスジハゼが $0.052 \pm 0.024 \text{ mm}^3$ (平均 \pm 標準偏差, $n=5$), スジハゼが $0.063 \pm 0.023 \text{ mm}^3$ ($n=20$), モヨウハゼが $0.071 \pm 0.022 \text{ mm}^3$ ($n=30$) であり, 種間で差は認められなかった (Tukey-Kramer, $P > 0.05$).

体サイズと卵サイズとの関係を Fig. 4-10 に示す. スジハゼでは, 最大卵サイズは体サイズ (湿重量から生殖腺重量をひいた値) が 1.0 g 程度までは体サイズの増加に伴って増加し, それ以上の体サイズでは概ね一定であった. これに対し, モヨウハゼでは体サイズが 0.5 g 程度の小型個体でも比較的大きな卵を有しており, 最大卵サイズはそれ以上の体サイズで概ね一定であった. ツマグロスジハゼではデータ数が少ないために明確な傾向を見いだせなかった.

各日の調査で採集された雌個体の卵サイズの経時変化について上位 5 位までの値を用いて検討したところ (Fig. 4-11), スジハゼとモヨウハゼでは産卵開始期には直線的に急激に増加し, その後は直線的に緩やかに減少した. ツマグロスジハゼでも産卵開始期以降に卵サイズが減少する傾向が見られた.

【考察】

成熟齢と寿命

コホートを追跡した成長解析 (Fig. 4-4) と鱗による年齢査定 (Fig. 4-5), および体サイズと GSI の関係 (Fig. 4-8) から, 舞鶴湾に生息するスジハゼ複合種群はいずれの種においても晩春から夏に生まれ, 浮遊期間を経て夏から初秋に着底し, 成長成熟して翌夏に産卵を行った後, 初秋に大半の個体は斃死することが示唆された. 一部の個体は死亡せずに 2 度目の冬を迎えるが, 成長速度は遅くなり, 翌夏に 2 回目の産卵を行った後, 初秋には斃死するものと考えられる. いずれの種においても生まれた翌年あるいは翌々年の初秋以降に採集されなくなったが, これは産卵後に本研究の採集地点から移動したことを反映している可能

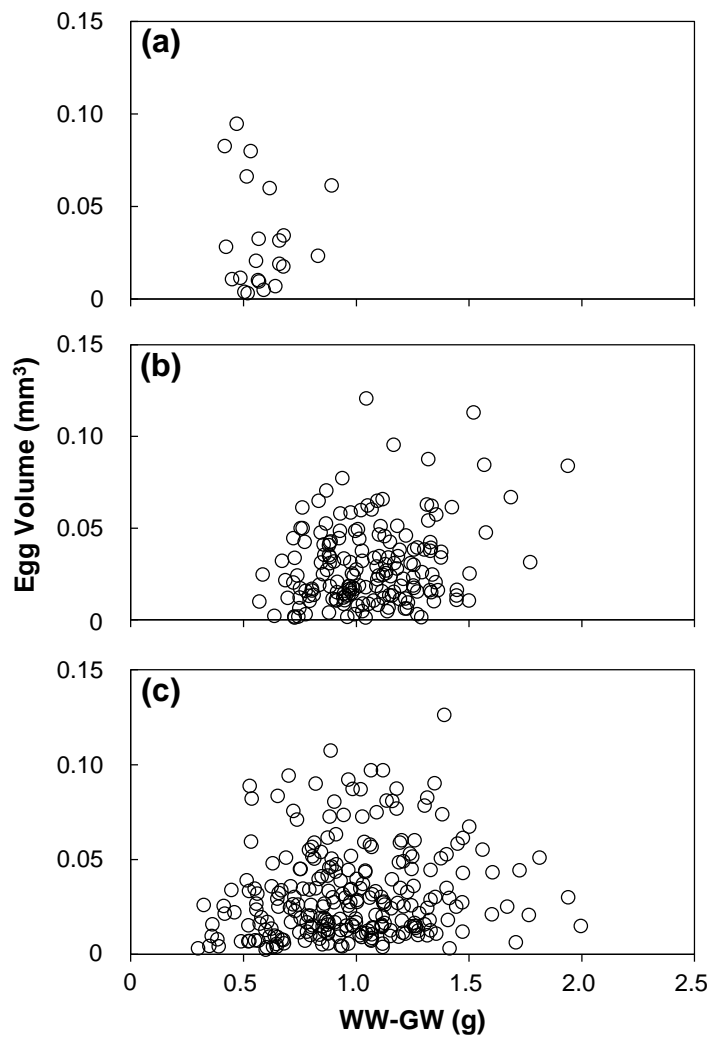


Fig. 4-10 Relationships between body size [wet weight minus gonad weight (WW-GW)] and egg size in the ovaries of *Acentrogobius* sp. (a), *A. virgatus* (b), and *A. pflaumii* (c)

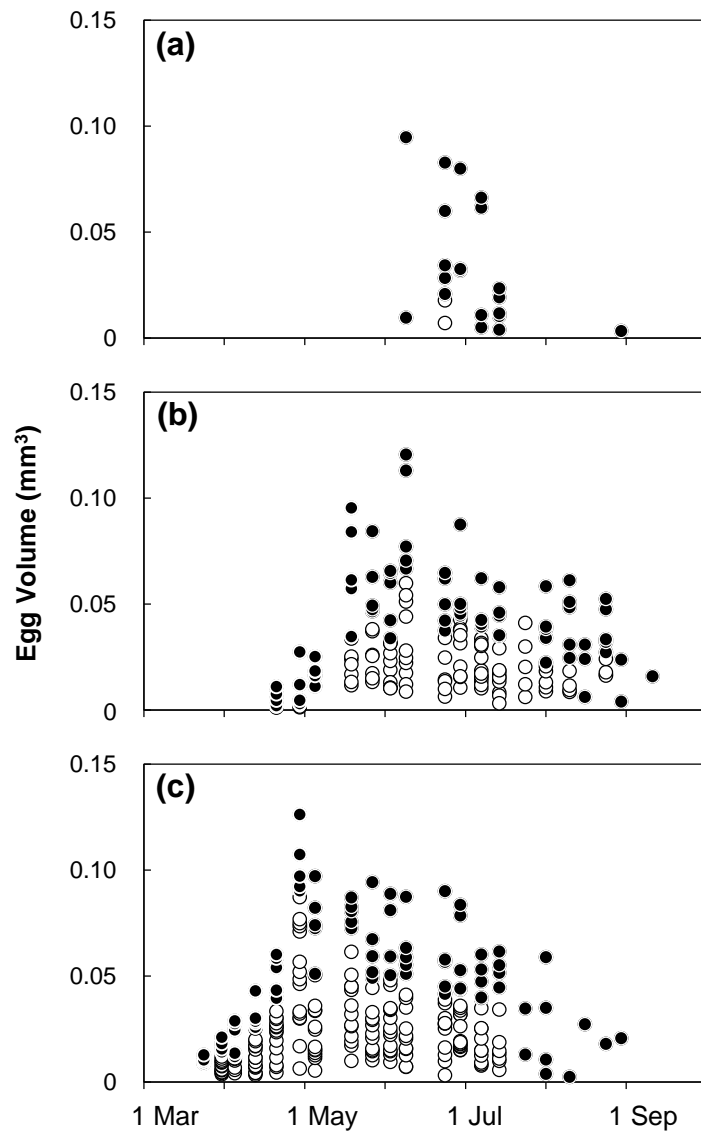


Fig. 4-11 Variation in average egg size in an ovary of each individual over the breeding season (February-October in 2010). (A) *Acentrogobius* sp., (B) *A. virgatus*, (C) *A. pflaumii*. Closed circles indicate the largest five data samples or all samples on each sampling date

性もある。ただし、「スジハゼ」の生活史について長崎県志々岐湾あるいは山口県油谷湾の広範にわたって調べた先行研究においても、生後2年近く生きる個体もいるが大半が生後1年で死亡することが示唆されており(松宮ほか 1980; 森 1995), 本研究の推測と一致する。3種の成魚が大きな移動をしないとすれば、本研究において3種が採集されなくなったのは、多くの個体が斃死したことを示していると考えられる。

繁殖特性

GSI および卵巣内の卵サイズの経時変化から、舞鶴湾におけるツマグロスジハゼの産卵期は、採集個体数が十分とは言えないものの、6月上旬から7月中旬までの約1ヶ月半であることが示唆された。スジハゼの産卵期は6月上旬から8月下旬までの約2か月半、モヨウハゼの産卵期は4月下旬から8月下旬までの約4ヶ月間であると示された。いずれの種も比較的長い産卵期を有し、特にモヨウハゼでは他の2種より早く産卵が始まり長期間に及ぶことが明らかになった。2010年における産卵期の底層水温は、ツマグロスジハゼで20.5–24.1°C、スジハゼで14.7–30.1°C、モヨウハゼで12.0–30.1°Cであり、特に低水温側で3–9°C程度の差が見られた。3種の平均的な生息水深はツマグロスジハゼで最も浅く、モヨウハゼで最も深い(第3章)。沿岸生物において近縁種と比べ深場に生息している種では、生息水温が低いために比較的低温で産卵可能となることが知られている(e.g. Orlova et al. 2005)。3種においても各種の平均的な生息水深の水温に応じた繁殖特性を備えており、ツマグロスジハゼとスジハゼでは比較的高水温下でのみ産卵が可能であるのに対し、モヨウハゼでは比較的低温下でも産卵を開始する可能性がある。そうだとすると、本章の採集地点のような浅所では、初めにモヨウハゼの産卵適水温に至り、季節の進行とともに水温が上昇するとスジハゼ、ツマグロスジハゼの産卵適水温に至るため、モヨウハゼ、スジハゼ、ツマグロスジハゼの順に産卵を開始することも説明できる。

ツマグロスジハゼとスジハゼの雌では、産卵期初期には大型および中型個体のGSIが上昇することから(Fig. 4-7)、大型および中型個体は産卵期初期から産卵を始めることが示唆

された。これら 2 種の小型個体の GSI は産卵期をとおして上昇しないこと、産卵期後期には新規加入群とみられる個体を除いて小型の個体が採集されなくなること、前項で本種のほとんどの個体が生まれた翌年の産卵期後に斃死すると推察されたことなどから、産卵期初期に小型である個体の多くは産卵期の経過に伴って成長してから産卵に参加するものと推察される。一方、モヨウハゼの雌では、大型および中型個体だけでなく、小型個体も産卵期初期から産卵を行うことが示唆された。したがって、モヨウハゼでは小型個体の繁殖への投資が他の 2 種の小型個体より大きいと考えられる。

本研究の結果からは各種の産卵期あたりの産卵回数は分からない。ただし、補足情報として、2011 年の春から秋にかけて各種雌雄 10 個体ずつを種別に飼育していたところ、産卵期を通してツマグロスジハゼでは計 18 回、スジハゼでは 20 回、モヨウハゼでは 25 回、卵塊が発見された。3 種ともに各卵塊の卵数は、野外で採集された雌の卵巣内卵数と有意な差はなく (Tukey-Kramer, $P < 0.05$), 卵塊の数は 10 個体の雌の産卵回数に相当すると考えられた。したがって、少なくとも飼育環境下においては、3 種ともに複数回の産卵を行う能力をもっている可能性が高い。

雌では GSI に種間で大きな差は見られなかったが、雄ではモヨウハゼの GSI が他の 2 種より顕著に大きかった (Fig. 4-6)。この結果は、ツマグロスジハゼ・スジハゼとモヨウハゼとの間で繁殖様式が異なる可能性を示している。例えば、モヨウハゼの雄では他の 2 種と比べ、スニーキングなどの代替戦略が発達している可能性が挙げられる。ハゼ科も含めた魚類において、代替戦略を持つ種や、種内でも代替戦略をとる個体は、精子競争に勝つために精子量・精子サイズ・精巣サイズなどが大きく、それによって GSI が大きくなることが知られている (e.g. Stockley et al. 1997)。仮にモヨウハゼで他の 2 種よりも代替戦略が発達しているとするならば、本種では他の 2 種と比べ雄間競争が激しい可能性が考えられる。たとえば、「スジハゼ」の雄は産卵基質に産み付けられた卵を受精させ孵化するまで保護するが (中村 1944)、モヨウハゼの平均的な生息域は泥底であり (第 3 章)、他の 2 種の生息域と比べ産卵基質が少ないとすれば、雄間競争がより頻繁に起こる可能性がある。今後、各種が代替

戦略を持つのか、持つとするならば雄同士の競争の頻度が関係しているのかなどについて種間および種内の複数地点間を比較して調べる必要がある。

本章では、同所的生息域において 3 種の繁殖特性を調べることで、繁殖特性の種間の違いを明快に示すことができた。しかし、種内でも小さな地理的スケールで生息環境の違いが産卵開始期などの繁殖特性に影響しうることが知られている (e.g. Kavanagh et al. 2010)。スジハゼ複合種群の場合、特にモヨウハゼでは水深などの生息環境の幅が広く、生息環境の違いに応じて種内でも繁殖特性が異なる可能性がある。たとえば、深場では浅場と比べて産卵期の水温が低いために、浅場よりも産卵開始期が遅くなる可能性などが考えられる。今後、水深などの生息環境の異なる生息域間で各種内の繁殖特性の比較を行い、生息環境の違いが各種の繁殖特性にどのように影響を及ぼすのかを明らかにする必要がある。

浮遊仔魚期間

産卵開始期 (前項)、着底稚魚の出現開始期 (Fig. 4-4)、および孵化に要する日数 (3 日程度、内田・道津 1980) から、3 種の浮遊期間はツマグロスジハゼで約 2 ヶ月半、スジハゼとモヨウハゼで 2 ヶ月間であると推察され、種間で大きな違いはないことが示唆された。森 (1995) は野外採集にもとづき、山口県油谷湾の「スジハゼ」の産卵期は 6 月に始まり、小型魚の出現は 7 月下旬から 8 月に始まることを報告している。この報告から推測される浮遊仔魚期間は約 2 か月間であり、本研究の結果と概ね一致する。一方、内田・道津 (1980) は飼育観察にもとづき、長崎県野母崎の「スジハゼ」では 7 月中旬に孵化した仔魚のほとんどが約 1 か月後には底生生活に入ったことを報告しており、この報告から推測される浮遊幼生期間は本研究結果や森 (1995) の報告から推測される浮遊仔魚期間よりも短い。一般に、産卵期が長期におよぶ種では、水温の上昇に伴って変態体長が小さくなり浮遊期間が短くなることが知られている (e.g. Yamashita et al. 2001; Sponaugle et al. 2006)。本研究では産卵開始期と着底稚魚の出現開始期にもとづいて産卵期の初期に生まれた個体について浮遊期間を推定したために、3 種の仔魚の平均的な浮遊期間よりも長く見積もられた可能性にも留意

すべきである。また、調査地点の外に着底した後、調査地点に移動してきた稚魚が採集されたために浮遊仔魚期間が長く見積もられた可能性もある。しかし、森（1995）によると、「スジハゼ」の浮遊仔魚および着底稚魚はともに産卵場周辺に出現する。このことが3種にもあてはまるとするならば、着底稚魚の移動によって浮遊仔魚期間が長く見積もられた可能性は低いと考えられる。

産卵期の長さや生息環境との関係からみた仔魚生残機構

各種の産卵期の長さの適応的意義について、各種の生息環境に応じた仔魚の生残機構という観点から考察を行う。モヨウハゼは他の2種と比べて、雌雄ともにGSIが上昇し始める体サイズが小さく、産卵期が長いことが明らかとなった。一般に、近縁種と比べて早期成熟し産卵期が長い種は仔の生残が環境に依存して大きく変化するような環境に生息しているのに対し、近縁種と比べて成熟が遅く産卵期の短い種は子孫を安定的に残せる環境に生息している傾向がある（Begon et al. 2003）。前者のような環境下では早期に繁殖に参加して長期にわたって産卵を行うことで仔が好適な環境に遭遇する機会を増やした方が適応的であるのに対し、後者のような環境下では短期間に産卵を行うことで繁殖にかかるエネルギーコストを小さくした方が適応的であるとされる。モヨウハゼは他の2種に比べて沖側の湾奥部にまで生息していることで、湾外など仔魚の着底に不適な環境に輸送されるリスクが個体群全体で見ても他の2種よりも高いと考えられる。実際、若狭湾において、モヨウハゼの仔魚は成魚の生息域よりも5 km以上沖側の着底に不向きな海域でも採集されたのに対し、ツマグロスジハゼとスジハゼの仔魚は湾奥部の成魚の生息域周辺でしか採集されなかった（第5章）。モヨウハゼでは、広範な生息域の中で比較的沖側の流れの影響の大きな環境に生息している個体においても、長期間にわたって複数回の産卵を行うことで、自身の仔魚が成育に好適な環境に遭遇する機会が増え、適応度がある程度高い水準に保たれている可能性がある。一方、流れの影響を比較的受けにくく湾奥部に局所的に生息しているツマグロスジハゼとスジハゼでは、仔魚の分散が制限され親の生息域周辺の好適な環境に着底できる確

率がモヨウハゼよりも高いと考えられる。したがって、ツマグロスジハゼとスジハゼは仔魚の生残が年や月によって大きく変動することは少なく、モヨウハゼと比べて産卵期が短くても、各個体の適応度は高い水準に保たれ個体群が維持されるものと考えられる。このように、3種間の成熟サイズおよび産卵期の長さの違いは、生息環境に応じて浮遊仔魚が好適な環境に遭遇する確率が異なることと関係している可能性がある。

産卵期と魚食性魚類による捕食圧との関係からみた仔魚生残機構

最後に、スジハゼ複合種群が沿岸漁業重要魚種の餌資源であるという視点から、①スジハゼ複合種群の仔稚魚が沿岸漁業重要種に与える影響と、②これらの種による捕食に対して、スジハゼ複合種群各種の仔稚魚がどのように生残しているのかについて仔稚魚の出現期と関連させて考察を行う。

内湾域などの閉鎖性の強い海域では、スジハゼ複合種群をはじめとしたハゼ科魚類の仔稚魚がヒラメやスズキをはじめとした多くの魚食性魚類の幼魚期の主要な餌資源となっていることが知られている (e.g. 宮原ほか 1995; 森 1995; 山田ほか 1998)。たとえば山口県油谷湾でスズキ幼魚の食性は湿重量比で「スジハゼ」の依存度が最も大きく (森 1995)、福井県小浜湾ではヒラメ幼魚が湿重量比で「スジハゼ」を主としたハゼ科魚類を最も多く捕食している (富永・牧田 2008)。ヒラメ稚魚の魚類の摂餌は着底直後から始まり、特に開放域でヒラメ稚魚の主要な餌資源となるアミ類が少ない内湾域では、着底直後の時期にハゼ科魚類などの仔稚魚を豊富に摂餌することが生残に重要であるとされる (山田ほか 1998)。舞鶴湾の近傍海域である由良川河口域において、ヒラメの着底稚魚は主に4月上旬から7月に出現する (前田 2002)。また、本海域にはスズキの稚魚も3月から7月にかけて出現する (大美 2002; Fuji et al. 2010)。これらの時期は3種のうちモヨウハゼの産卵期および稚魚の着底期と重なっており、舞鶴湾内には本種の仔稚魚が高密度で生息していると推測される。モヨウハゼは産卵期が長いため、連続的な体サイズの本種の仔稚魚が長期にわたって出現すると考えられ、魚食性魚類の稚魚の成長に応じたサイズの餌資源として利用されている

ものと思われる。

逆に仔稚魚の生残という観点から見ると、モヨウハゼでは産卵期が長期にわたることで個体群全体として捕食に対して仔稚魚が生残する可能性が高くなり、個体群が保たれていると考えられる (Winemiller and Rose 1992)。ツマグロスジハゼとスジハゼの仔魚の出現期についてもモヨウハゼと同様比較的長期に及ぶことに加え、少なくともヒラメとスズキの稚魚が浅海域に分布する時期からは外れている。したがって、魚食性魚類の稚魚によるこれら2種の仔稚魚の捕食圧は大きくはなく、2種の仔稚魚の生残に大きくは影響していないと考えられる。

このように、スジハゼ複合種群は生息域の物理的環境に応じた成長および繁殖特性を備えており、またそれらの特性が捕食者などの生物的環境にも耐えうることで仔稚魚の生残につながっている可能性が示唆された。しかし、捕食者への適応という観点からスジハゼ複合種群の生活史戦略について議論するには、各種の各成長段階における被食状況の情報が不可欠である。一般にハゼ科魚類の種同定は特に仔稚魚で難しく (塩垣・道津 1988)、胃内容物中に出現した個体の種同定についてはさらに困難であるが、スジハゼ複合種群については、簡易な遺伝的種判別法が開発されており、胃内容物や仔魚についても種判別が可能である (第2章)。今後、このような種判別法を用いて3種の各成長段階の被食状況を調べることで、沿岸漁業重要魚種の餌資源として各種が各成長段階でどの程度寄与しているのかが明らかになるばかりでなく、生物的環境への適応の観点から、各種の生活史特性が個体群維持にどのように関わっているのかについても明らかになると期待される。

第5章 仔魚の分布と分散

【背景】

多くの沿岸生物において、幼生期の減耗率は大きく、また変動も大きいため、個体群動態に大きな影響を与える (Victor 1983). また多くの種で、成体期は定着性で個体の分散が比較的小さいのに対し、幼生期は分散の大きさが種によって大きく異なるステージであり、その生態は遺伝的集団の地理的分布や集団間の遺伝子流動と密接に関わっている (Bohonak 1999; Lester et al. 2007). したがって、沿岸生物の種内集団構造の形成・維持機構を理解する上で、その初期生態を把握し、幼生期の分散の大きさについて検討することは欠かせない.

ハゼ科魚類は、緒言でも述べたように、種内集団構造の形成機構を解明するためのモデル分類群として適している. しかし、ハゼ科魚類では、特に近縁種間で仔魚の形態が酷似しており、形態的特徴にもとづいた種同定が困難であることが多い (塩垣・道津 1988). このため、ハゼ科魚類の野外における初期生態を近縁種間で比較した研究は、仔稚魚の形態的種同定が可能な種を扱った少数の例 (e.g. Kanou et al. 2005; Maeda et al. 2008; Yokoo et al. 2009) を除いてほとんどなく、進展が遅れてきた. ハゼ科魚類に限らず多くの沿岸生物では、形態的特徴によって幼生の種同定を行うことが困難であり、このことが野外における初期生態の研究を進める上で大きな障壁となってきた (e.g. Hare et al. 2000; Bremer et al. 2010; Ko et al. 2013). そのため、野外における幼生の分布を根拠とし、生息環境・生活史・行動などの生態的特性が幼生の分散をとおして遺伝的集団構造に与える影響について検討した例はこれまでにない.

スジハゼ複合種群の3種においても、浮遊仔魚期の形態は互いによく似ており、形態的特徴にもとづいて種を同定することは難しい. しかし、3種については簡便な遺伝的種判別法を開発しており、野外で採集された仔魚標本を正確に同定することができる (第2章). この種同定法を用いて3種の仔魚期における分布を明らかにすれば、生息環境や生活史などの生態的特性 (第3・4章) と合わせて考察することで、これらの生態的特性が仔魚分散に

及ぼす影響、さらに仔魚分散をとおして遺伝的集団構造（6章）に与える影響についての理解が深まると期待される。一方で、3種は餌資源や消費者として、沿岸域の生態系にとって重要な役割を担っていることから、その初期生態を把握することは、漁業資源や沿岸域生態系の保全・管理のための基礎的知見ともなりうる。

本章では、第1節で3種の日齢査定方法を検証したうえで、第2節で浮遊仔魚の水平および鉛直分布の成長に伴う変化を明らかにした。考察では、3種の浮遊仔魚期における分散機構と生活史をとおした分散の大きさについて、日周鉛直移動や成魚の生息域との関係に焦点を当て、3種間で比較検討した。

5-1 耳石輪紋の日周性の検討

【目的】

仔稚魚の耳石に形成される輪紋が日周輪に相当することは、ハゼ科を含む多くの魚類で報告されている（e.g. Iglesias et al. 1997; Hernaman et al. 2000; Yamasaki et al. 2007）。しかし、スジハゼ複合種群については耳石輪紋の日周性が検証されていない。そこで、3種の成魚が飼育下で産出した卵を孵化させて仔稚魚を飼育し、その日齢と耳石の輪紋数を比較することにより、3種の仔稚魚の耳石輪紋の日周性を検証する。

【方法】

孵化飼育に用いる3種の卵は、ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼでそれぞれ2011年の6月30日、23日、7日に、各種の成魚を雌雄複数尾ずつ種別に飼育している水槽に産卵基質として沈めた塩ビパイプから得た。卵および仔稚魚の飼育は、流水下（換水率 50–100%/day）で行い、水温は自然条件（各種仔魚の飼育28日間の平均水温はそれぞれ 22.5 ± 2.2 , 20.1 ± 2.1 , 18.9 ± 2.4 °C）、30Lの透明な円形水槽に一卵塊（ca. 1000 eggs/tank）の密度で孵化後28日間飼育した。仔稚魚の餌料は、内田・道津（1980）にならって、孵化仔魚には

栄養強化したシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* を与え、発育に伴い適宜、アルテミア *Artemia* sp. nauplii に切り替えた。孵化後 5, 7, 12, 18, 23, 28 日齢の仔稚魚を各種 5 個体ずつ 99% エタノールで固定した後、耳石（扁平石）を取り出し、スライドガラス上にエナメル樹脂を用いて包埋し、光学顕微鏡に接続した耳石日輪計測システム（ARP version 4.21, ラトックシステムエンジニアリング株式会社）に取り込んで、輪紋の計数を行った。計数はハゼ科アカボウズハゼ属魚類を扱った Bell et al. (1995) にならい、耳石の核に最も近い、太く濃い輪紋を孵化輪とみなして、計数開始点（0 日齢）とした。スジハゼ複合种群の扁平石の写真を Fig. 5-1 に示す。

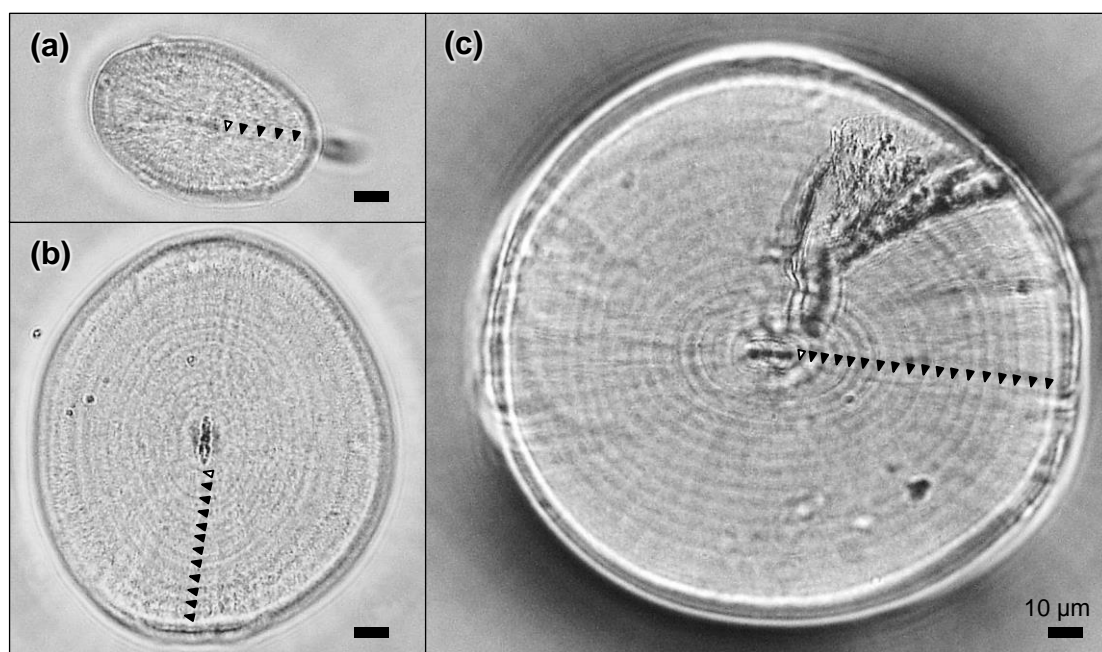


Fig. 5-1 Sagittal otolith of 5-days-old *Acentrogobius* sp. (a), 12-days-old *A. virgatulus* (b), and 18-days-old *A. pflaumi* (c). Open triangle indicate the starting point of increment count, and closed triangles indicate daily increments

【結果】

スジハゼ複合種群 3 種の仔魚の日齢と扁平石の輪紋数との関係を Fig. 5-2 に示した。3 種ともに、輪紋数 (y) は日齢 (x) に比例して増加し、ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼでそれぞれ回帰式 $y = 0.981x - 0.004$ ($n = 30, R^2 = 0.99, P < 0.001$), $y = 1.016x - 0.684$ ($n = 30, R^2 = 0.99, P < 0.001$), $y = 1.010x - 0.328$ ($n = 30, R^2 = 0.99, P < 0.001$) が得られた。これらの式の傾きはいずれも 1 と有意な差は見られなかった (t -test ; ツマグロスジハゼ : $df = 28, P = 0.148$; スジハゼ : $df = 28, P = 0.286$; モヨウハゼ : $df = 28, P = 0.508$)。切片について、ツマグロスジハゼとモヨウハゼでは 0 と有意な差は見られなかったが、スジハゼでは 0 と有意に異なる結果となった (t -test ; ツマグロスジハゼ : $df = 28, P = 0.986$; スジハゼ : $df = 28, P < 0.05$; モヨウハゼ : $df = 28, P = 0.240$)。

【考察】

3 種の仔稚魚の日齢と扁平石の輪紋数の関係から得られた回帰式は、傾きが 1 と見なせることから、孵化後 28 日齢までの輪紋形成は日周期性があることが示唆された。また切片は、ツマグロスジハゼとモヨウハゼで 0 と有意な差が見られなかったことから、この 2 種においては、耳石の核付近に形成される濃い輪紋を孵化輪と見なせることが分かった。スジハゼでは、切片が 0 より有意に小さいという結果になったものの、切片の値は -0.684 であり、日齢と輪紋数との違いは 1 日に満たない。したがって、切片が 0 とならなかった原因は、孵化輪が他の 2 種とは異なる位置に形成されるためというよりは、いくつかのサンプルで輪紋を見落としたことによって、輪文数を過小評価したためであると考えられる。したがって、スジハゼ複合種群において、扁平石の核に最も近い輪紋を孵化輪とし、輪紋数を日周輪として計数する方法は、孵化後 28 日齢までの仔稚魚の日齢推定に有効であると言える。

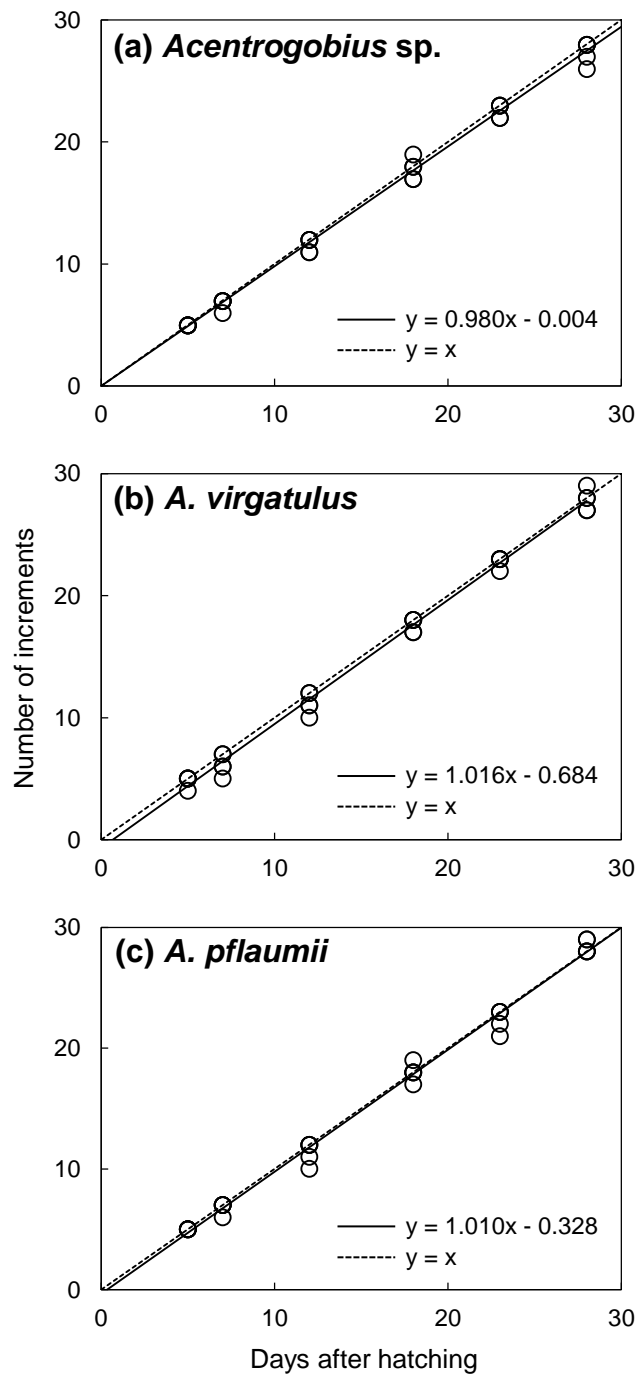


Fig. 5-2 Relationships between age (day) and increment count in *Acentrogobius* sp. (a), *A. virgatus* (b), and *A. pflaumii* (c). Solid lines are regression lines and dashed lines are $y=x$

5-2 若狭湾西部海域における仔魚の水平分布と鉛直分布

【目的】

スジハゼ複合種群の仔魚の野外における水平および鉛直分布の発育段階の進行に伴う変化を明らかにする。これらの結果と、生息環境や生活史などの生態的特性（第3・4章）とを合わせて考察することで、これらの生態的特性が仔魚分散に及ぼす影響と、浮遊仔魚期の分散機構について3種間で比較する。

【方法】

採集

若狭湾西部海域における3種の浮遊仔魚期における水平分布を調べるため、若狭湾西部海域において仔魚の採集調査を行った。若狭湾西部海域における3種の産卵期が4-8月であることと、浮遊仔魚期間が約1-2か月であるという報告から(内田・道津 1980; 第4章)、若狭湾西部海域において3種の仔魚が出現するのは4-10月であると予測した。この予測をもとに、2011年には5-10月に舞鶴湾の湾奥部から湾口部にかけての9地点において、2012年には4-10月に若狭湾西部海域の11点において (Fig. 5-3a)、月1回の頻度で仔魚の採集調査を行った。採集には、プランクトンネット (口径0.45 m, 測長2.7 m, 目合い330 μm) を使用し、小型船舶 (京都大学フィールド科学教育研究センター舞鶴水産実験所所属・白浪丸) で約2ノットの速度で傾斜曳きすることで仔魚を採集した。

また、3種の仔魚の日周鉛直分布を調べるため、舞鶴湾内の1地点 (3種の成魚が連続的に高密度に生息している地点, Fig. 5-3b) で、2012年6月21-22日に、24時間連続 (3時間おき) の仔魚の層別採集 (表層: 0 m, 中層: 2 m, 底層: 4-6 m) を行った。採集には目的の水深層以外の層から仔魚の混入が無いように開閉機能を備えたプランクトンネット (口幅0.6 m, 高さ0.3 m, 測長2.7 m, 目合い330 μm) を使用し、小型船舶 (白浪丸) で約2ノットの速度で水平曳きすることによって行った。

水平分布調査, 日周鉛直分布調査のいずれにおいても, プランクトンネットの開口面の中央に濾水計を取り付けて濾水量を測定し, 仔魚の分布密度算出に用いた. 採集した仔魚は即時 99.5%エタノールで固定し, 実験室に持ち帰った. 採集時には環境データとして, 水温, 塩分を Compact-CTD (JFE アドバンテック株式会社) で, 光量子量を MDS-MkV/L (JFE アドバンテック株式会社) で測定した.

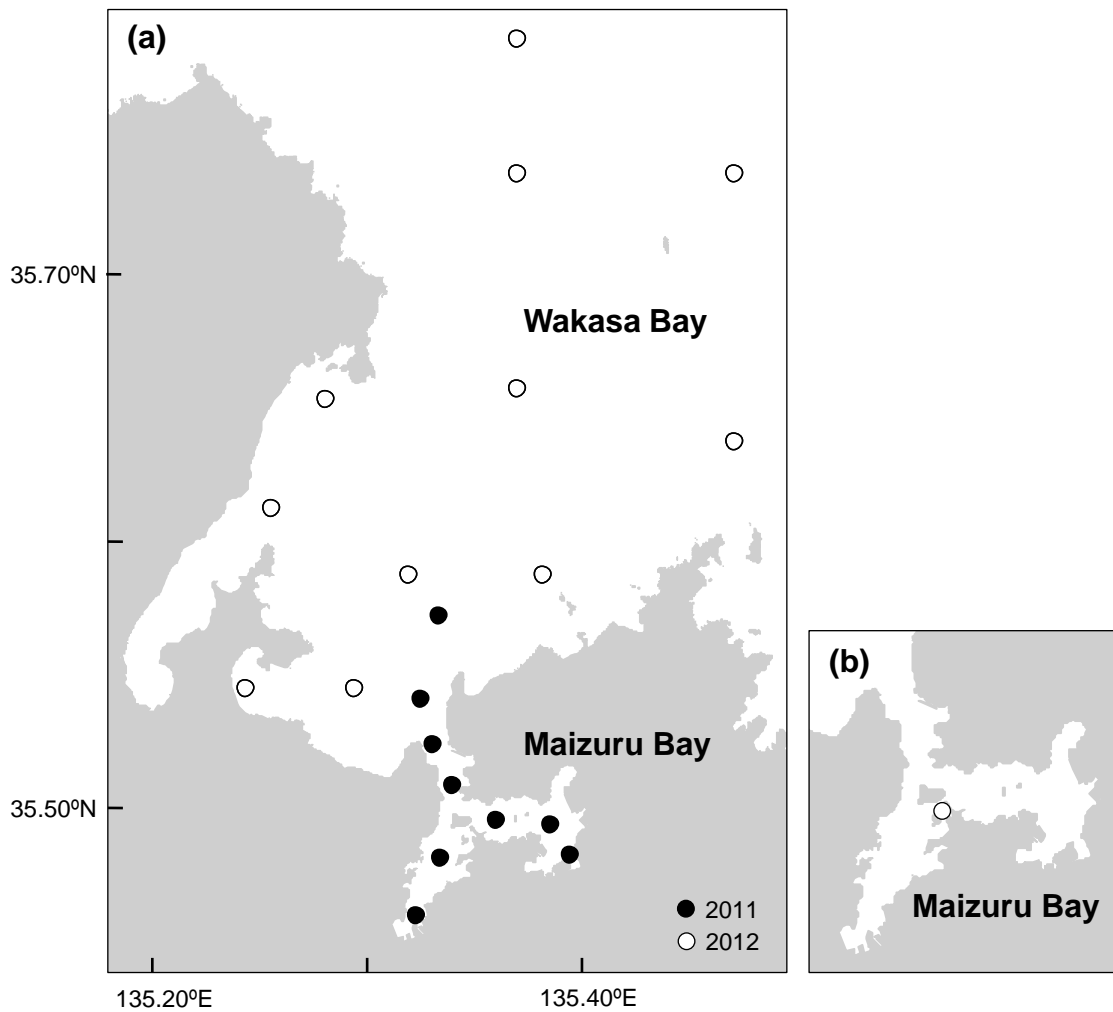


Fig. 5-3 Sampling locations of larvae of the three *Acentrogobius* species for surveys of horizontal distributions (a) and vertical distributions (b). Closed circles indicate sampling sites of 2011, open circles, 2012

MHS-PCR 法を用いた遺伝的種判別

採集した仔魚標本は黒色素胞などの外見的特徴（森 1988）をもとに分析対象をおおよそスジハゼ複合種群に絞り込んだ後、1 曳網あたり上限 24 個体をランダムに選び、Kendall Jr. et al. (1984) にもとづき各個体の発育段階（卵黄仔魚期、前屈曲期、屈曲期、後屈曲期、稚魚期）を決定した。その後、第 2 章で開発した 3 種の遺伝的種判別法を用いて、これらの標本の種同定を行った。

耳石を用いた仔魚の日齢推定

3 種の耳石の扁平石に現れる輪紋数は日齢に対応している（本章第 1 節）。そこで、鉛直分布調査で採集された 3 種の仔魚の日齢を推定するため、遺伝子解析で 3 種のうちのいずれかであると明らかになった標本の扁平石を取り出し、本章第 1 節と同様の方法で輪紋を計数することにより 3 種仔魚の日齢の推定した。

【結果】

水平分布

2011 年および 2012 年の水平分布調査地点における環境データ（水温、塩分）を Table 5-1 に、3 種仔魚の各月の水平方向の分布を Fig. 5-4 に示した。3 種の仔魚が得られた時期につ

Table 5-1 Water temperature and salinity (from the minimum to the maximum value in all sampling sites) in the near bottom layer in western Wakasa Bay between 2011-2012

2011			2012		
Date	Temperature (°C)	Salinity	Date	Temperature (°C)	Salinity
6 May	12.7 - 14.4	33.2 - 34.5	23 Apr	10.7 - 13.1	34.3 - 34.4
3 Jun	15.1 - 16.7	33.1 - 34.4	17 May	11.1 - 16.4	34.2 - 34.5
11 Jul	14.3 - 23.8	32.9 - 34.5	7 Jun	15.7 - 18.6	34.2 - 34.5
8 Aug	20.0 - 26.1	33.2 - 34.2	5 Jul	13.7 - 20.8	34.1 - 34.4
15 Sep	21.0 - 26.7	32.8 - 33.7	20 Aug	14.5 - 25.0	33.1 - 34.4
11 Oct	21.9 - 23.0	32.4 - 33.2	11 Oct	16.1 - 25.3	32.8 - 34.3

Fig. 5-4 Horizontal distribution of larvae of the three *Acentrogobius* species

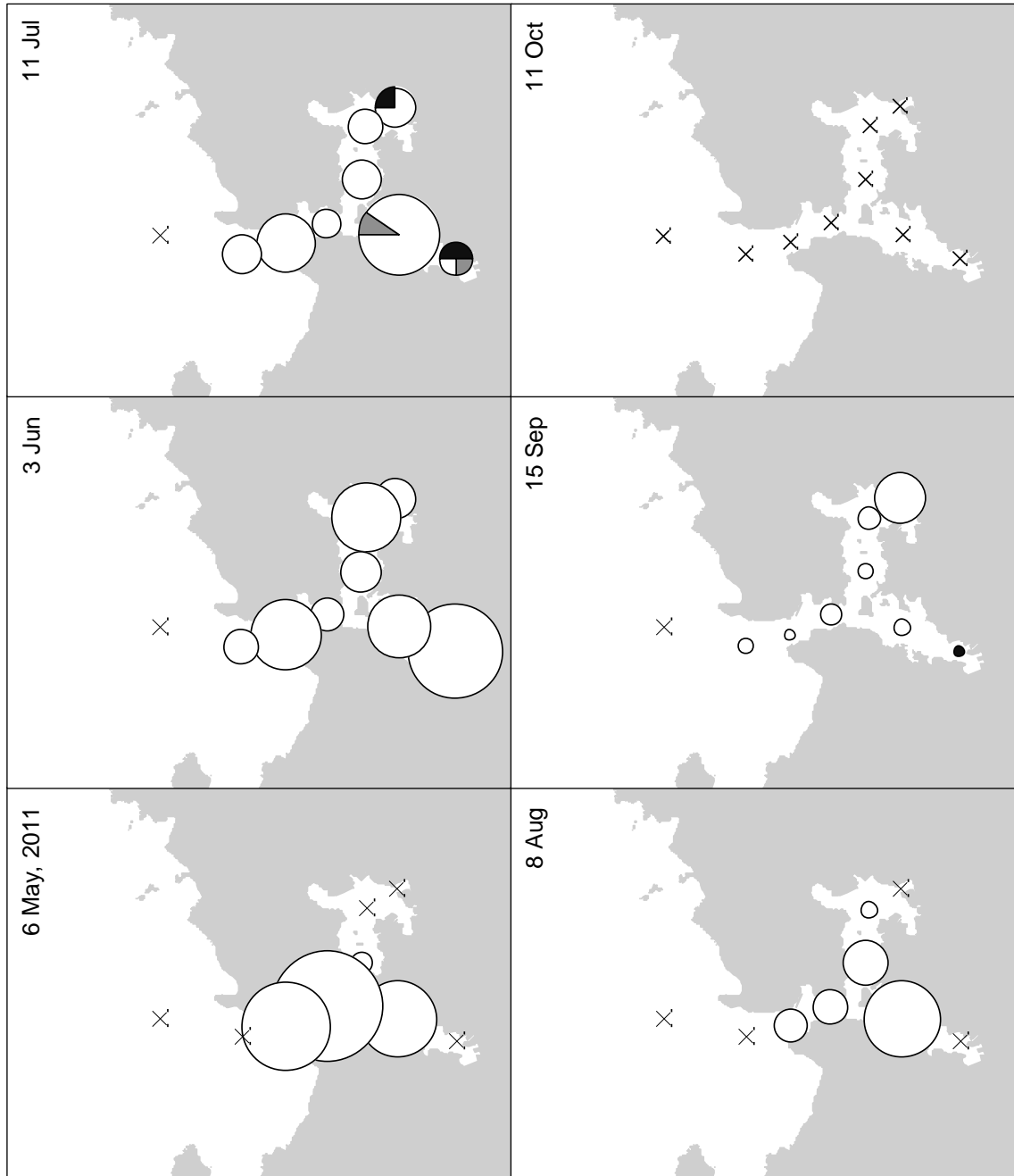
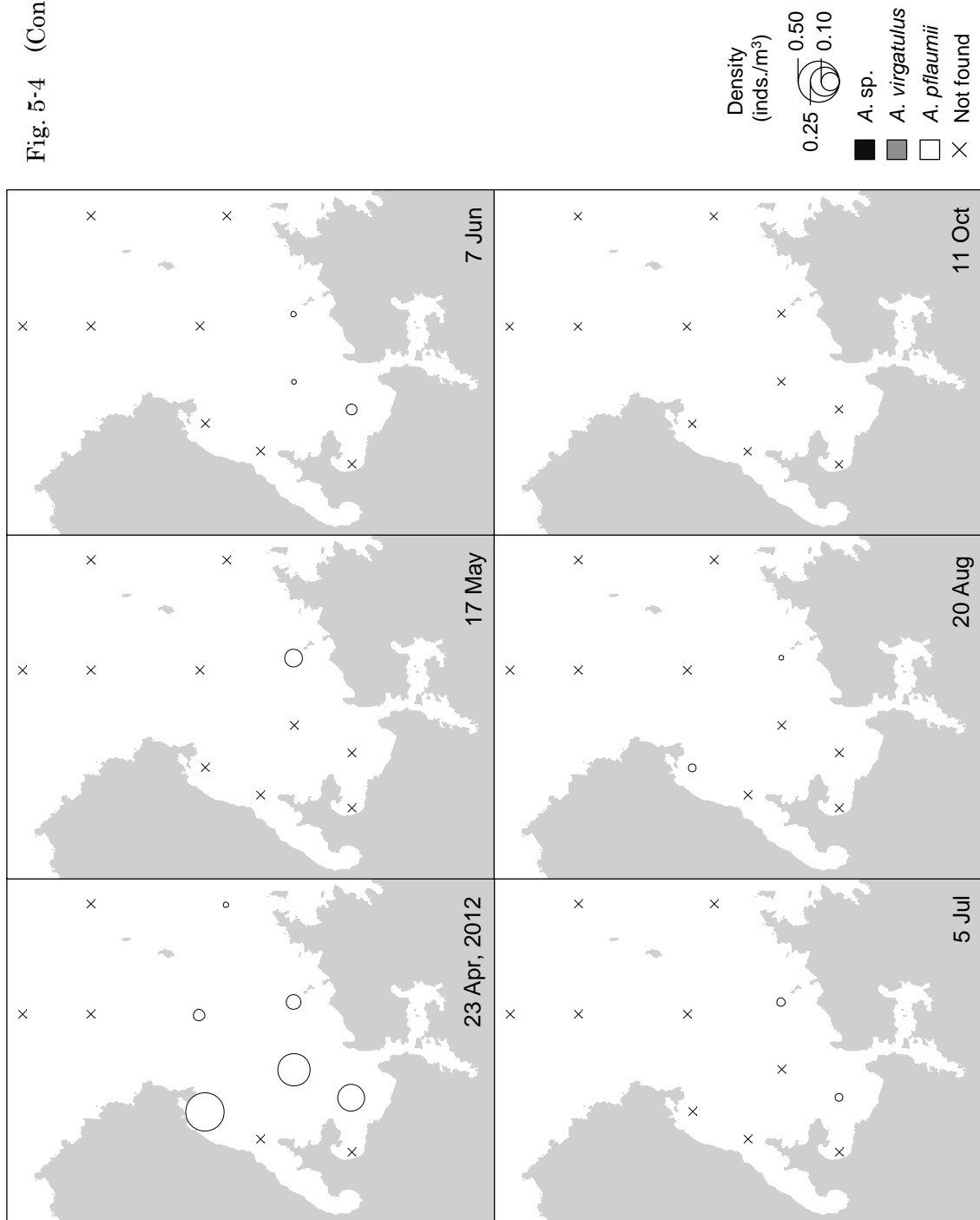


Fig. 5-4 (Continued from the last page)



いて、モヨウハゼでは 2011 年、2012 年のいずれの調査においても、10 月を除きすべての月で仔魚が採集されたが、ツマグロスジハゼでは 2011 年の舞鶴湾内の調査において 7 月と 9 月のみで得られ、スジハゼでも同 7 月に得られたのみであった。採集された地点について、ツマグロスジハゼ、スジハゼの仔魚は舞鶴湾（若狭湾の支湾）の湾奥部でのみ出現したのに対し、モヨウハゼの仔魚は、季節に関わらず、舞鶴湾の全域のみならず舞鶴湾の湾口沖から若狭湾の湾中央部にまで分布する傾向があった。また、仔魚の生息密度はほとんど全ての地点、全ての月においてモヨウハゼで最も高かった。次に、3 種仔魚の各発育段階の地点ごとの出現頻度を Fig. 5-5 に示す。ツマグロスジハゼとスジハゼについては、仔魚が得られた 2011 年の舞鶴湾内の結果のみを示している。これら 2 種では、採集された時期も地点も限定されていたため、発育段階ごとの分布傾向は見いだせなかった。モヨウハゼでは、あまり顕著な結果はではないものの、沖側に発育段階の進んだ個体が出現する傾向がみられた。

日周鉛直分布

舞鶴湾における 3 種仔魚の日周鉛直分布を Fig. 5-6 に、環境データ（水温、塩分、光量子量、潮位）を Fig. 5-7 に示す。スジハゼとモヨウハゼの仔魚は類似した日周鉛直分布を示した。すなわち、卵黄仔魚期-前屈曲期では、6 月 21 日の 11 時から 17 時および 21 日の 5 時から 11 時にかけては主に底層に出現し、6 月 21 日の 20 時から翌日 2 時にかけては全層に出現した。屈曲期以降の仔魚は、一日をとおして主に底層に出現した。卵黄仔魚期-前屈曲期のこのような鉛直移動は、光量子量の変化に非常によく対応しており、卵黄仔魚期-前屈曲期の仔魚が中層から表層に出現した時間帯は、光量子量が $1 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 未満の時間帯（夜間）にあたり、底層のみに出現した時間帯は光量子量が $1 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上の時間帯（日中）にあたった。仔魚の鉛直分布と光量子量以外の環境条件（塩分、水温、潮位）との関連性は見られなかった。ツマグロスジハゼについては、採集された仔魚の個体数が少ないが他の 2 種の分布傾向と異なる傾向は見られなかった。

Fig. 5-5 Distribution of larvae at each developmental stage of *Acentrogobius* sp. (a), *A. virgatulus* (b), and *A. pflaumii* (c)

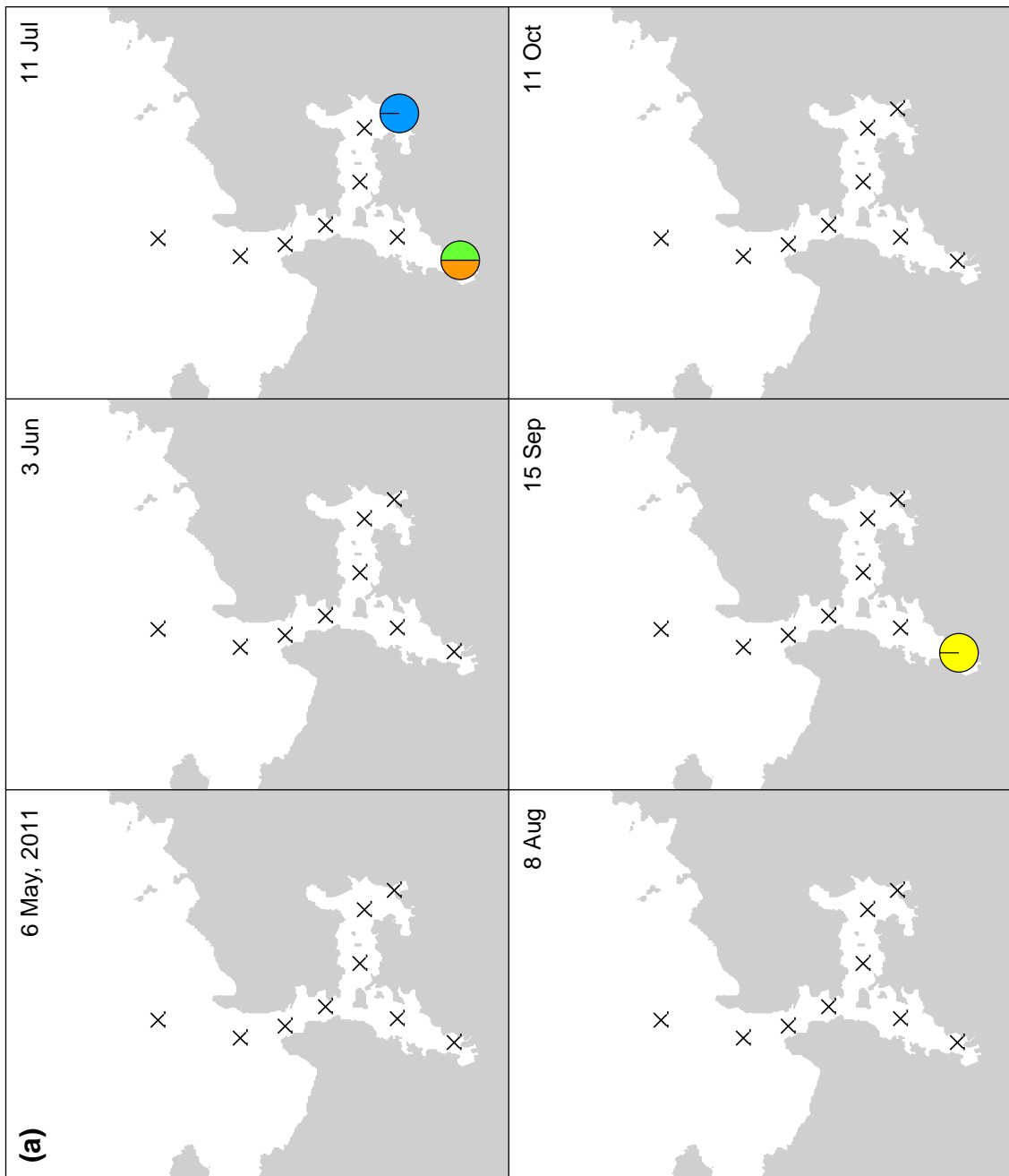


Fig. 5-5 (Continued from the last page)

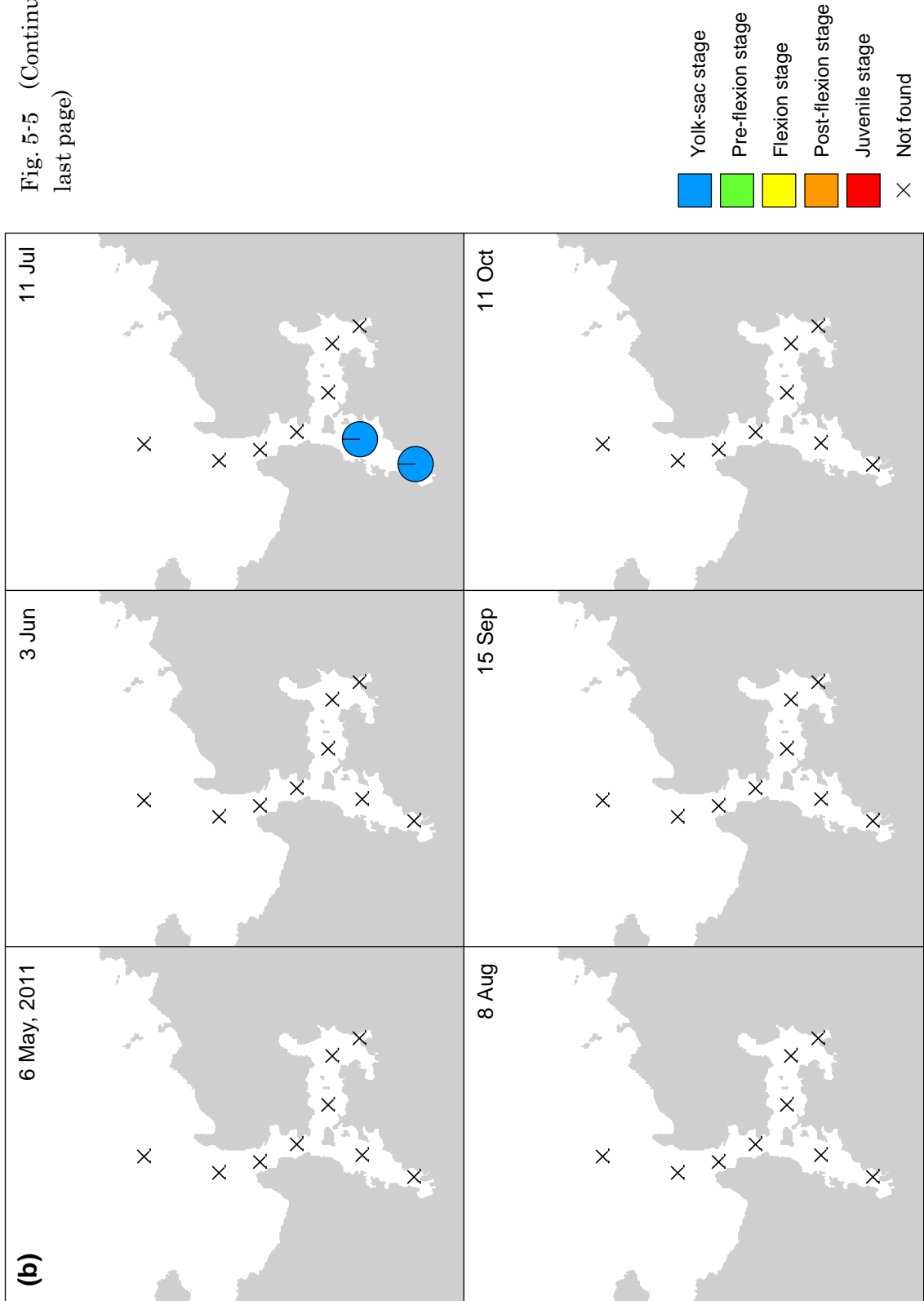


Fig. 5-5 (Continued from the last page)

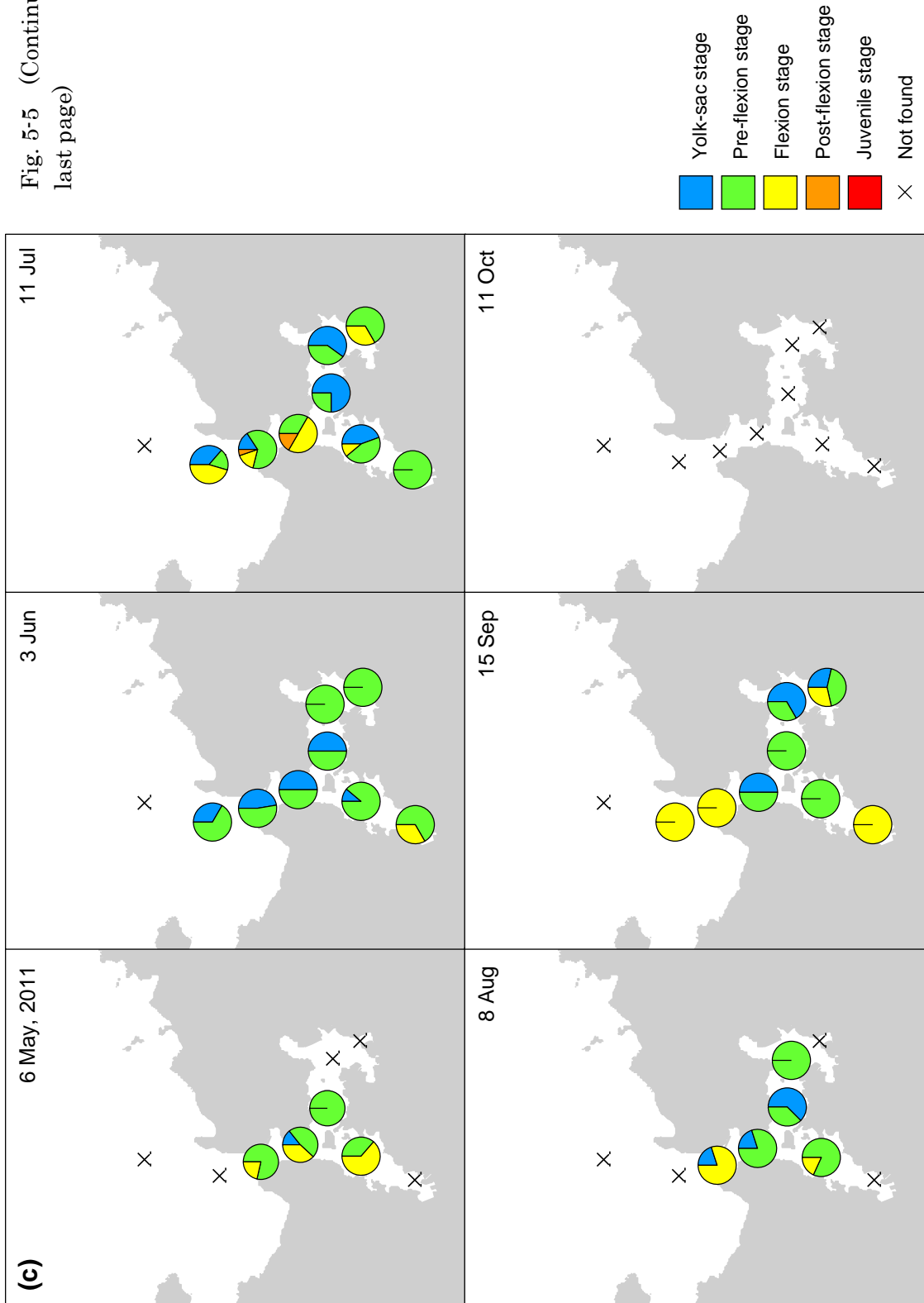
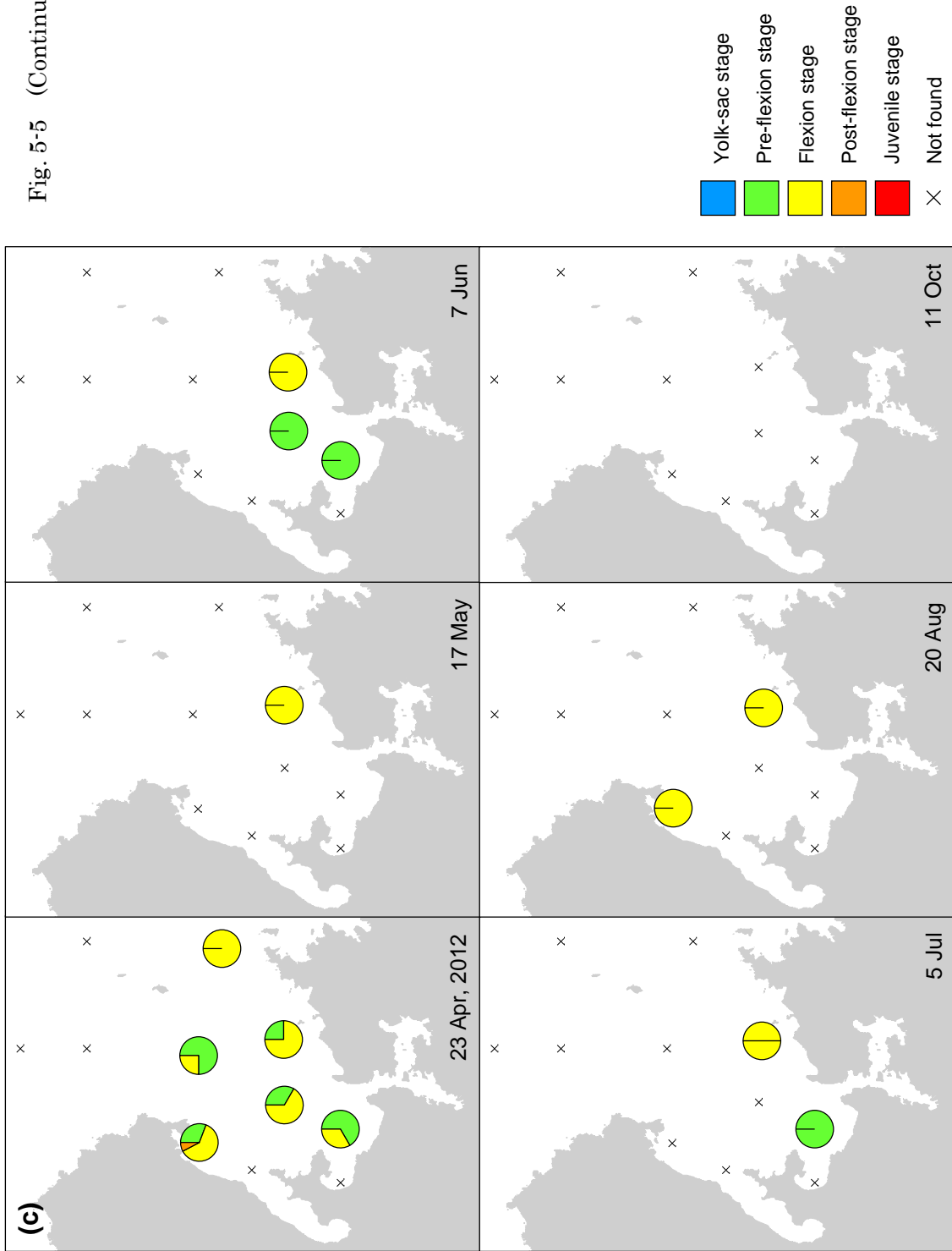


Fig. 5-5 (Continued from the last page)



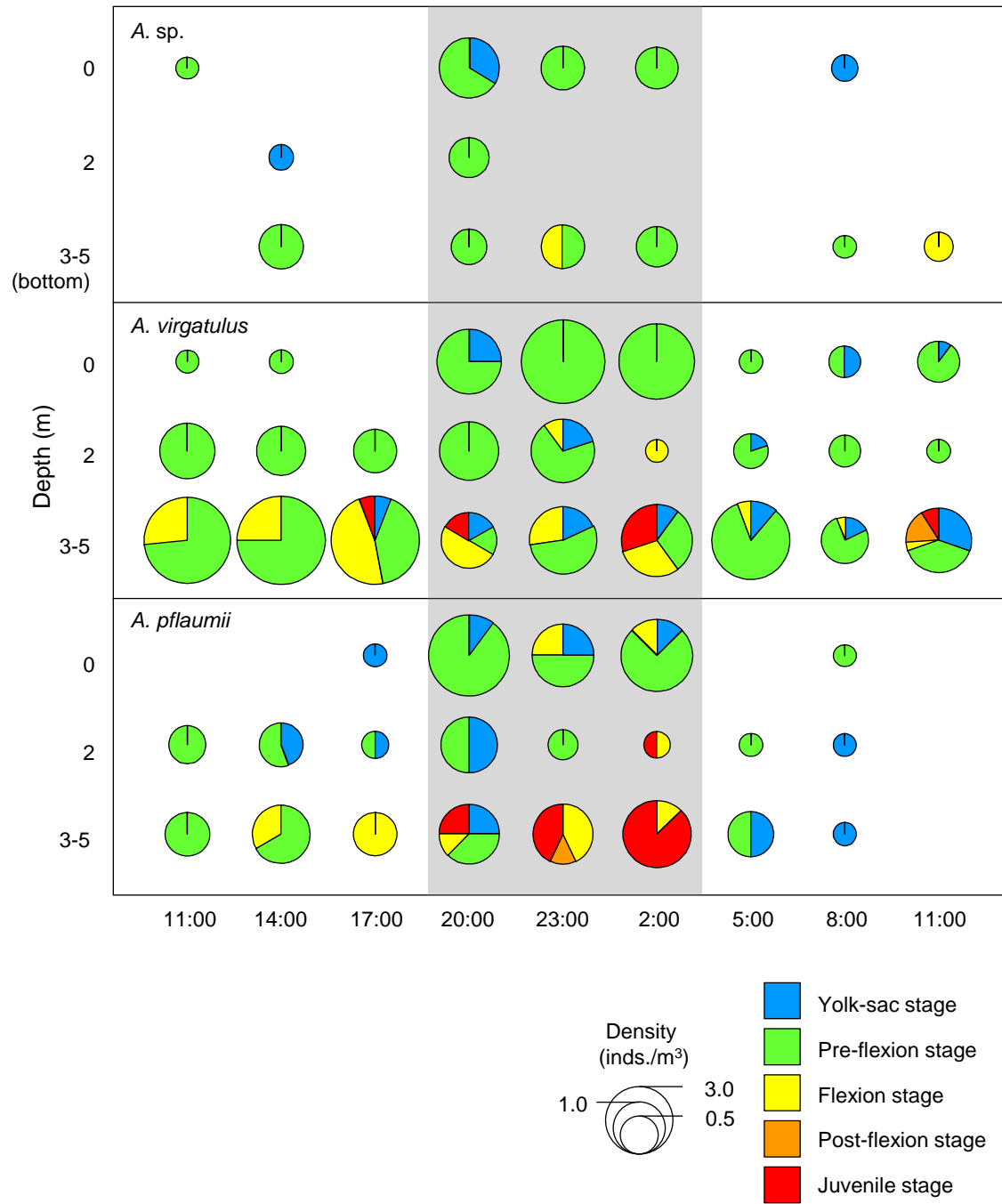
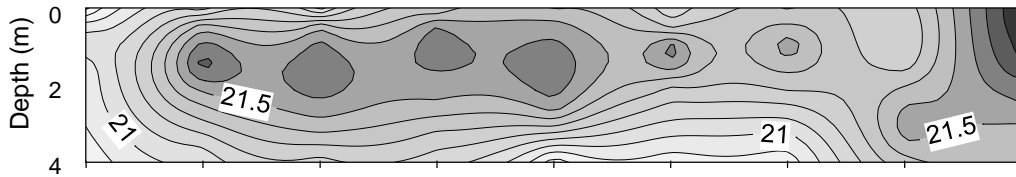
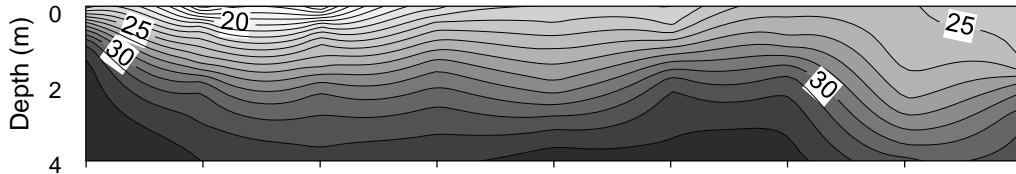


Fig. 5-6 Diel vertical distribution of larvae at each developmental stage of *Acentrogobius* sp. (a), *A. virgatus* (b), and *A. pflaumii* (c) from 21 to 22 June, 2012

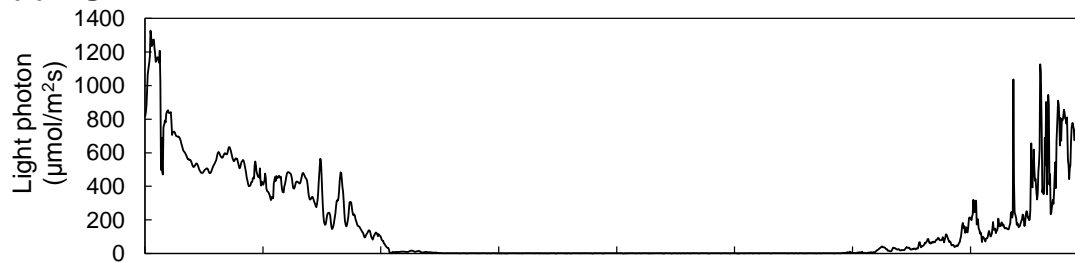
(a) Temperature



(b) Salinity



(c) Light



(d) Tidal level

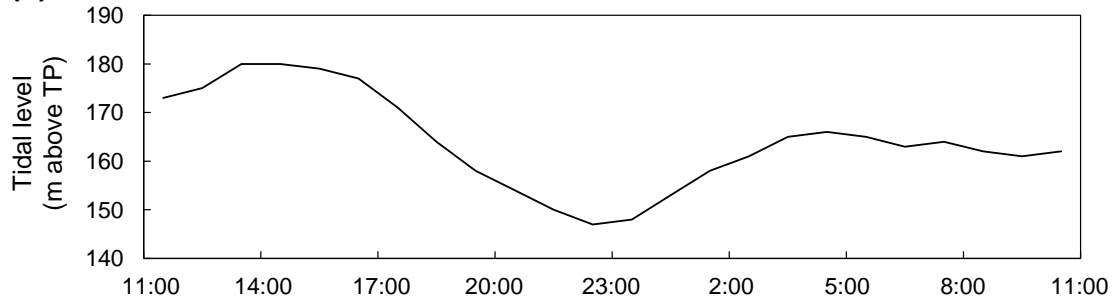
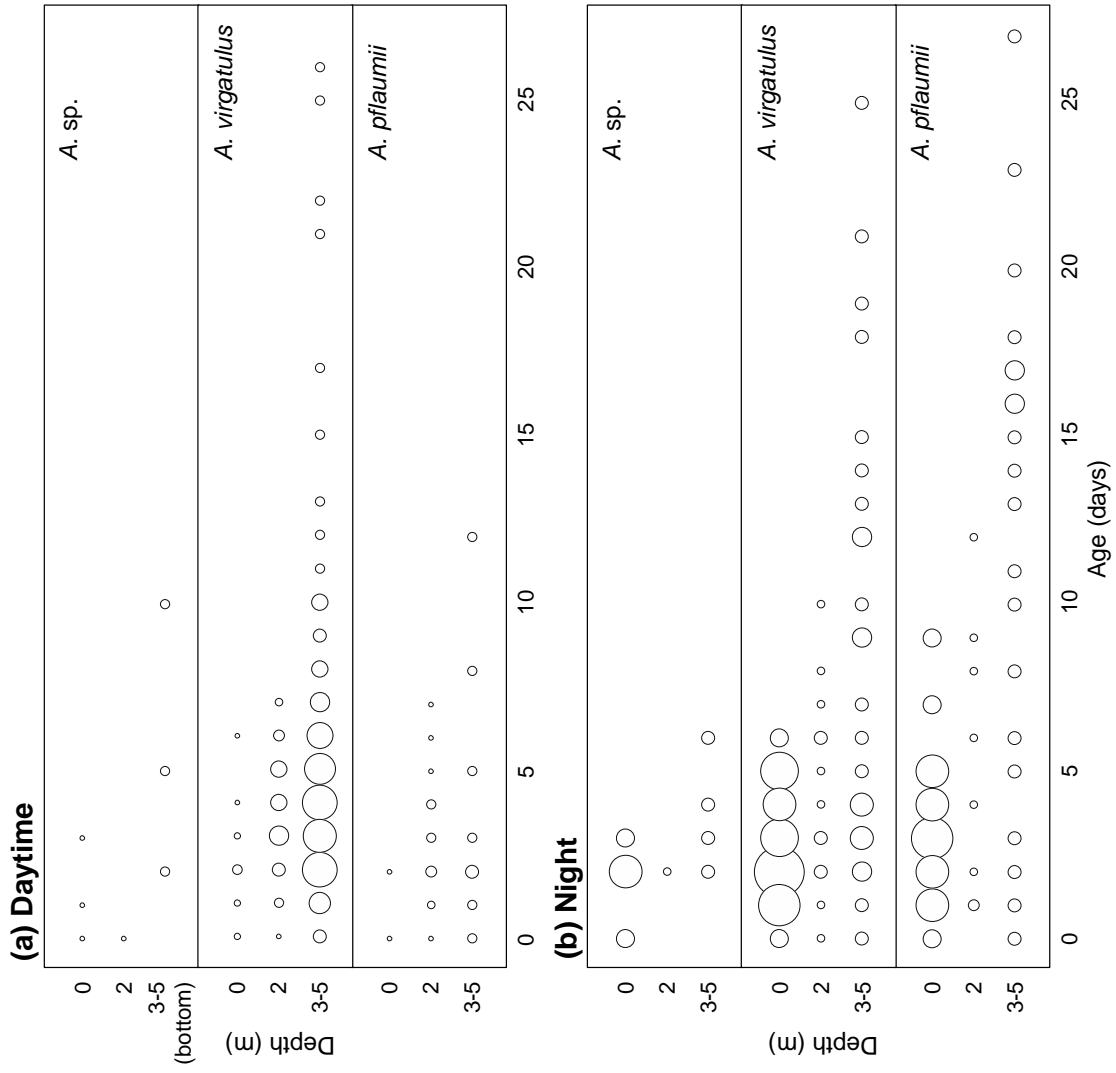


Fig. 5-7 Variation of environmental parameters, water temperature (a), salinity (b), light intensity (c), and tidal level (d), during the survey on vertical distribution of larvae

耳石を用いて推定した日齢と鉛直分布との関係を Fig. 5-8 に示す (日中のデータは 6 月 21 日の 11 時から 17 時および翌日の 5 時から 11 時のデータをプール. 夜間のデータは 6 月 21 日の 20 時から翌日 2 時のデータをプール). いずれの種においても, 日中は, どの日齢の仔魚も主に底層に出現し, 表層・中層にはそれぞれ 7 日齢以下の個体が少数出現した. 一方で, 夜間は, 7 日齢以下の個体では主に表層に出現し, 中層・底層には少数が出現するのみであったが, 10 日齢以上の仔魚では, ほとんどの個体が底層に出現した.

Fig. 5-8 Relationship between vertical distribution and age (day) of larvae of the three *Acentrogobius* species in daytime (a) and at night (b)



【考察】

日周鉛直移動

24 時間調査の結果から、3 種の仔魚の日周鉛直分布は、前屈曲期以前（7-10 日齢以前）では、夜間のみ全層で浮遊している一方で、屈曲期以降では、昼夜をとおして主に底層付近で浮遊することが分かった。多くの魚種で仔魚期に日周鉛直移動する例が知られており、移動のタイミング（日中、夕方、夜間、明方など）は種によって異なる（e.g. Kendall Jr. and Naplin 1981; Yamashita et al. 1985; Shoji et al. 1999; Tsukamoto et al. 2001; Sebates 2004）。ハゼ亜目魚類での研究例は少ないものの、ハゼ亜目内だけで見ても、鉛直移動のタイミングは種によって異なることが知られている。たとえば、マハゼ *Acanthogobius flavimanus*, *Ilypnus gilbert*, *Quietula y-cauda*, ビリンゴ *Gymnogobius breunigii* などでは仔魚が夜間に表層に現れるのに対し（Jahn and Lavenberg 1986; Kanou et al. 2005）、カワアナゴ科の数種では仔魚が日中に表層に現れる（Gehrke 1992）。エドハゼ *G. macrognathos* のように、日中、夜間にかぎらず表層に分布しており、潮汐に伴い分布帯（潮下帯、潮間帯）を変化させる種もいる（Kanou et al. 2005）。また、仔稚魚の発育段階に伴って分布層や鉛直移動のパターンが変化する例も多く知られている（e.g. Brewer and Klepple 1986; Tanaka 1985; Heath 1988; Lies 1991）。ハゼ科魚類を含めた多くの底生生物で、日周鉛直移動を繰り返しながら、あるいは浮遊期の初期には表層から中層付近に分布しており、発達に伴い徐々に分布層を底層付近に移す例が知られている（e.g. Banse 1986; Cronin and Forward 1986; Tanaka et al. 1989; Gehrke 1992）。このような種間あるいは発育段階間の鉛直分布パターンの違いは、日周鉛直移動の生態学的意義の違いに起因すると考えられている。日周鉛直移動の生態学的意義として、たとえば餌生物である動物プランクトンを追いかけた移動（Fortier and Leggett 1983; Munk et al. 1989）、捕食者の回避（Hunter and Sanchez, 1976; Yamashita et al., 1985）、潮汐を利用した生息場所の移動（選択的潮汐輸送, Forward and Tankersley 2001）、逆に潮汐を利用した好適な生息環境での滞留（Munk et al. 1989; Lies 1991; Dame and Allen 1996; Bradbury and Snelgrove 2001）などが挙げられる。本研究は日周鉛直移動の生態的意義を解明する目的で行われたわけではなく、3 種

の仔魚の鉛直移動にどのような意義があるのかは分からない。ただし、3種仔魚の日周鉛直分布のパターン（上げ潮・下げ潮に関わらず、初期仔魚は日中に底層、夜間に全層に分布、後期仔魚は終日底層に分布）から、3種仔魚の鉛直移動は上げ潮・下げ潮の一方のみを利用した移動あるいは滞留を目的としているとは考えにくい。その他の可能性については、今後、野外での3種仔魚の鉛直分布と、食性や捕食圧、最適な光条件との関係、また発育段階に伴うそれらの変化との関係を調べることで検討していく必要がある。

水平方向の分散

スジハゼ複合種群の仔魚の分散は浮遊仔魚期間から想定されるよりも小さい。3種の仔魚の浮遊期間（2ヶ月間、第4章）と、若狭湾沿岸部における7月の表層の平均流速と平均流向（1953年から1994年の平均値：0.2ノット，85度，日本海洋データセンター 2013）とを用いて受動分散距離を単純計算すると、3種の仔魚は浮遊期間中に主に東方向に少なく見積もっても250 km以上流される計算になる。しかし、本研究では最も分散の大きいモヨウハゼでも若狭湾の湾奥部までしか分布を確認することができなかった（若狭湾の湾奥部から湾口部までの距離は50 kmに満たない）。同様に、舞鶴湾内の表層においても上げ潮時、下げ潮時には0.1ノット程度の流れがあるにも関わらず（第八管区海上保安本部水路部 1999）、ツマグロスジハゼとスジハゼの仔魚は湾奥部の成魚の分布域付近でしか採集されなかった。3種の分散が浮遊仔魚期間から想定されるよりも小さい理由の1つとして、上記の仔魚期の日周鉛直移動が考えられる。日周鉛直移動を行うことで、水平方向の分散を促進あるいは抑制する例として、前項でも述べたように、潮汐を利用した移動（e.g. ヒラメ *Paralichthys olivaceus*, Tanaka 1989）や滞留（e.g. タイセイヨウニシン *Clupea harengus*, Graham 1972）がよく知られている。スジハゼ複合種群の場合、潮汐との明瞭な関係は見いだせなかった。一方、3種の仔魚は浮遊期初期の夜間を除き主に流れの影響の小さな底層に分布しており、表層から中層に出現するのは約10日齢までの夜間のみであった。したがって、スジハゼ複合種群は2ヶ月もの浮遊仔魚期間を有するものの（第4章）、分散に有効な期間は主に孵化後

約 10 日間までの夜間のみであり、その他の期間は主に底層に分布することにより受動分散が抑えられていると推察される。

ツマグロスジハゼとスジハゼの仔魚の分布は舞鶴湾（若狭湾の支湾）の湾奥部に限られており、成魚の分布（Fig. 3-6a, b, 第 3 章）と概ね一致していることから、この 2 種の分散は極めて小さいことが示唆された。一方、モヨウハゼでは、成魚が湾奥から湾中央部の広範に分布しているが（Fig. 3-6c, 第 3 章）、仔魚は湾奥から成魚より 5 km 以上も沖側にまで出現し、他の 2 種と比較すると仔魚期の分散が大きいことが示唆された。3 種の仔魚の日周鉛直移動に大きな違いが認められなかったことから、このような分散の大きさの違いは、（産卵期の）成魚の生息域における流れの影響の大きさの違いに起因している可能性が高い。湾中央部は湾奥部よりも開放度が大きく、湾中央部の中～表層は（大河川河口域をのぞけば）湾奥部の中～表層と比べ、沖方向への流れの影響を受けやすいと考えられる。ツマグロスジハゼとスジハゼの成魚は湾奥部にのみ生息しているため、仔魚が沖方向への流れの影響を受けにくく、仔魚の受動的な分散が小さくなるものと思われる（ツマグロスジハゼは淡水の影響の大きな環境に生息するが、大河川の流れを直に受けるような所には出現せず、泥だまりが形成されるような流れの比較的緩やかな所に分布している）。これに対し、モヨウハゼの成魚は流れの影響を受けやすい湾中央部にまで分布しているため、本種の仔魚の受動的な分散が他の 2 種と比べて大きくなると推察される。

生活史をとおした分散

スジハゼ複合種群の生活史は、卵は春から夏にかけて貝殻や石の裏に産み付けられ、孵化後 1-2 か月間の浮遊仔魚期を送ったのち着底し、翌年の春には産卵に参加する（内田・道津 1980; 森 1995; 第 4 章）。着底稚魚期から成長・成熟して産卵期に至るまでの各種の分散について、まず舞鶴湾における成魚の分布および生息環境は、産卵期である夏季と通常期である冬季との間で大きな変化はなかった（第 3 章）。したがって、3 種の成魚は大きな移動はしないと推測される。また、舞鶴湾における稚魚の分布は、成魚と同様の傾向が見られた（第

3章). Horinouchi (2008) は、静岡県浜名湖において、スジハゼとモヨウハゼ (文献中ではそれぞれ sp.1 と sp. 2) の新規加入個体 (着底稚魚) はいずれも成魚と同じ生息環境に出現し、他方の種の生息環境にはほぼ出現しないとしている。これらの結果から、スジハゼ複合種群の着底稚魚の分布は成魚と大きくは異ならず、成魚になるまでに大きな移動はしない可能性が高い。以上により、3種の着底稚魚期から成魚期に至るまでの分散は小さく、個体の分散に最も影響するステージは、浮遊仔魚期であると推察される。前項の「水平方向の分散」で述べたように、3種の浮遊仔魚期の分散の大きさは成魚の分布と密接に関係しており、成魚が支湾の湾奥部に分布しているツマグロスジハゼとスジハゼでは、成魚が支湾全体から湾口沖にまで分布しているモヨウハゼに比べて、浮遊仔魚期の分散が小さいと考えられる。したがって、生活史をとおした分散も成魚の分布に依存しており、ツマグロスジハゼとスジハゼに比べ、モヨウハゼで生活史をとおした分散が大きいと推測される。

沿岸生物の個体分散の大きさを正確にとらえることは難題である。一般に、沿岸生物の分散の大きさは浮遊幼生期の長さとは強く相関していると考えられており (e.g. Waples 1987; Doherty et al. 1995; Bohonak 1999; Shanks et al. 2003; Lester and Ruttenberg 2005), 沿岸生物の個体分散を扱う研究では、従来、個体分散の指標となる生態情報として飼育下における浮遊幼生期の長さに注目した例が多かった (e.g. Lester et al. 2007)。しかし類似した生活史特性を持つ種間でも、仔魚が能動的な移動能力が異なっている場合や、本研究で扱った3種のように成魚 (産卵場) の生息環境が異なっている場合などには、浮遊仔魚期の分散の大きさが種間で異なると予想される (e.g. Sponaugle et al. 2002)。実際、様々な生息環境、行動を持つ種を含んだメタ研究で、浮遊仔魚期の長さと (個体群間の遺伝的差異から推定された) 個体分散の大きさの相関は悪いことが明らかとなり、浮遊仔魚期の長さを個体分散の指標として安易に用いることは適切ではないとしている (Weersing and Toonen 2009)。ハゼ科魚類をはじめとする海産生物の分散の推測、さらにそれを根拠にした保全管理には、従来のように浮遊仔魚期の長さだけに注目するのではなく、仔魚の鉛直移動などの初期生態や成魚の分布特性を包括的に考慮する必要があると考えられる。

第6章 遺伝的集団構造とその形成に関わる生態的特性

【背景】

遺伝的集団構造の形成機構形成の中で、種内集団間の個体の分散は重要な役割を果たしている (Bohonak 1999; Hellberg 2009; Weersing and Toonen 2009). したがって、遺伝的集団構造の形成には、個体の分散に影響を及ぼす多くの要因が関わっている. たとえば、物理的障壁 (陸橋, 外洋, 海流, 大規模な淡水影響域など) による生息域の分断や好適な環境の不連続性は集団間の遺伝子流動の制限につながり、遺伝的集団の地理的な偏りをもたらすことが知られている (e.g. Burton 1998; Rocha et al. 2002; White et al. 2010). また、過去の海進海退などの地史的イベントに伴う物理的障壁の形成や生息環境の変化による過去の生息域の分断は、種内の遺伝子系列の分岐につながる (e.g. Goldstien et al. 2006; Liu et al. 2007; Crandall et al. 2008). これらの現在および過去の物理的障壁を共有する全ての種において同様の遺伝的集団構造が形成されるわけではなく、各種の生態的特性が遺伝的集団構造の形成に密接に関わっている. たとえば、浮遊仔魚期間の長さの違いや遊泳能力の違いは分散能力の違いを生み、集団間の遺伝子流動の大きさの違いに影響を及ぼすとされる (e.g. Shanks et al. 2003; Cowen et al. 2006). また、各種の環境に対する選好性や耐性は、個体分散の大きさや海洋物理環境の変化に対する応答 (個体群の存続や拡大縮小, 分布域の変化など) に影響し、遺伝的集団構造の形成と密接に関わっていると考えられる (e.g. Rocha et al. 2002; Hickey et al. 2009; Ayre et al. 2009).

本研究では前章までで、スジハゼ複合種群の遺伝的集団構造の形成要因となりうる生態的特性として、成魚の分布と生息環境 (第3章)、生活史 (第4章)、仔魚の分布と分散 (第5章) に焦点を当てて明らかにしてきた. その結果、主に成魚の生息環境・生息域、仔魚の分布・分散において顕著な種間差が検出された. ツマグロスジハゼとスジハゼの成魚は支湾の湾奥部の浅所に局所的に分布しているのに対し、モヨウハゼの成魚は支湾の湾奥部から本湾の湾央部にまでの幅広い水深帯に広範に分布している (第3章). 湾内における成魚の

分布傾向が類似していたツマグロスジハゼとスジハゼの 2 種間においても、淡水の影響や底質などのマイクロハビタットに違いが認められ、また地理的分布の北限の違いから水温耐性にも種間差がある可能性が示唆された (第 3 章)。さらに仔魚の水平分布は、ツマグロスジハゼとスジハゼでは成魚と同様に支湾の湾奥部に集中しているのに対し、モヨウハゼの仔魚は成魚より一層沖側の本湾の湾央部まで分布しており、仔魚期における分散は他の 2 種よりも大きいと推察された (第 5 章)。一方、生態的特性の中でも、寿命、成熟齢、産卵期、浮遊仔魚期間には、顕著な種間差は認められなかった (第 4 章)。したがって、これらの生態的特性 (特に成魚の生息環境・分布域と仔魚期の分散) と遺伝的集団構造とを 3 種間で比較することで、3 種の遺伝的集団構造の形成にどのような生態的特性が関わっているのかが明らかになると期待される。

また、日本列島周辺海域において沿岸生物の遺伝的集団構造と生態的特性との関係について詳細に検討した研究例はこれまでに無い。生態的特性は、海域に特有の物理的障壁に対する各種の個体分散の制限の程度や海洋物理環境の変化に対する各種の応答 (分布の可否) に関わっていると考えられるため (e.g. Crandall et al. 2008; Arye et al. 2009)、海域ごとに分布する複数種の遺伝的集団構造を生態的特性に照らして比較することで、その海域の遺伝的集団の形成の鍵となる生態的特性について検討することができる。

本章では、スジハゼ複合種群各種の遺伝的集団構造を明らかにし、前章までで明らかにしてきた生態的特性と照らし合わせることで、3 種の遺伝的集団構造の形成に関わる生態的特性を検出することを目的とした。考察では、遺伝的集団構造の形成過程を「集団間の遺伝子流動の制限」と「種内の遺伝子系統の分岐と地理的分布」という大きく 2 つの要素に分け、それぞれの要素に関わる生態的特性について検討した。

【方法】

標本採集

2006 年から 2012 年にかけて、遺伝子解析に用いるツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウ

ハゼの標本を日本列島沿岸域の 24, 23, 22 地点でそれぞれ採集した (Fig. 6-1, Table 6-1). これらの採集地点は, 3 種でなるべく近くなるように (できれば同一湾内) 設置した. Fig. 6-1, Table 6-1 において, 種間に対応する地点は同じ地点コードで示している. 採集は底曳網, 手網, 釣り, 潜水によって行い, 採集した標本は即時冷凍して, 研究室に持ち帰った.

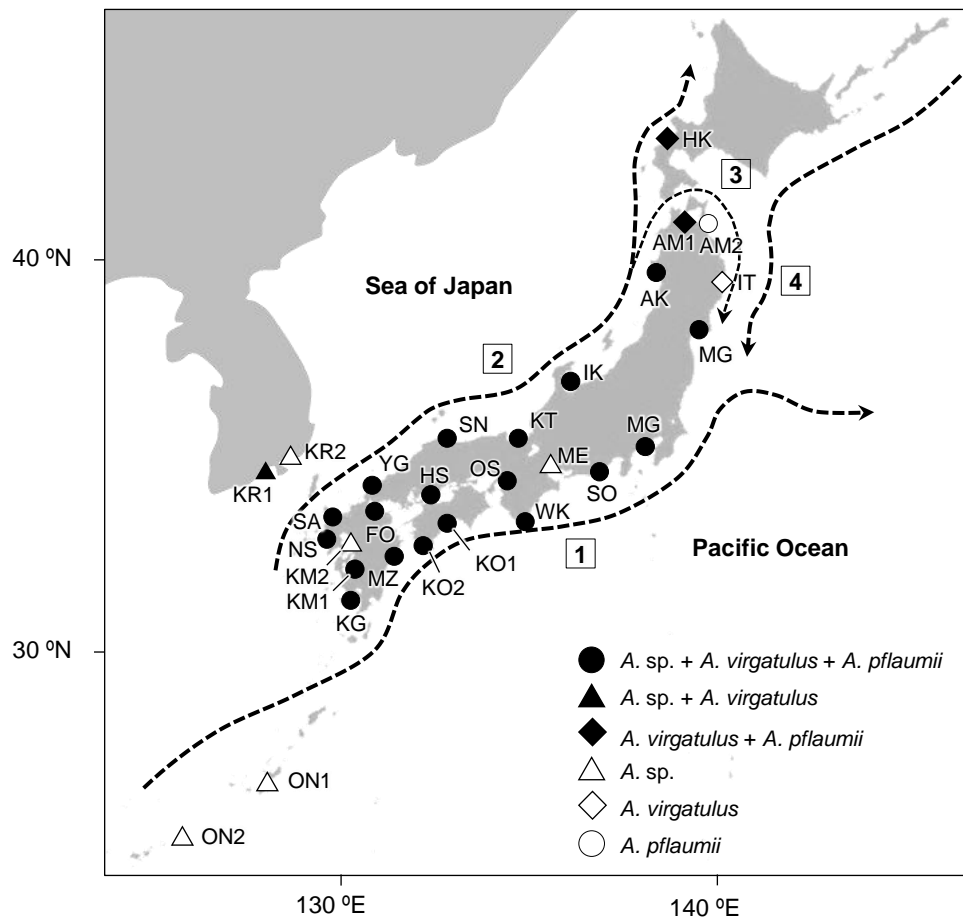


Fig. 6-1 Sampling locations around the Japanese archipelago for the three *Acentrogobius* species. Letters refer to codes of sampling locations (for detail, see Table 6-1). Closed circles indicate locations where all of the three species were collected; closed triangles, *A. sp.* and *A. virgatus*; closed diamonds, *A. virgatus* and *A. pflaumii*; open triangles, *A. sp.* only; open diamonds, *A. virgatus* only; open circle, *A. pflaumii* only. Numbered dashed arrows indicate approximate present routes of prevailing sea surface currents: 1, the Kuroshio Current; 2, the Tsushima Current; 3, the Tsugaru Current; 4, the Oyashio Current

Table 6-1 Sampling locations and numbers collected

Location code	<i>A. sp.</i>			<i>A. virgatulus</i>			<i>A. pflaumii</i>		
	<i>n</i>	Sampling location	Lat. N, Long. E	<i>n</i>	Sampling location	Lat. N, Long. E	<i>n</i>	Sampling location	Lat. N, Long. E
HK				3	Oshoro Port, Hokkaido	43.21, 140.86	8	Otaru Bay, Hokkaido	43.21, 141.01
AM1				8	Aomori Port, Aomori	40.84, 140.76	8	Aomori Port, Aomori	40.84, 140.76
AM2				1			1	Hachinohe Port, Aomori	40.55, 141.50
IT				2	Oura Port, Iwate	39.45, 142.00			
MG	8	Matsushima Bay, Miyagi	38.35, 141.06	8	Ogatsu Port, Miyagi	38.51, 141.47	8	Onagawa Port, Miyagi	38.44, 141.46
AK	8	Hadachi Port, Akita	39.90, 139.87	8	Noshiro Port, Akita	40.21, 140.00	8	Noshiro Port, Akita	40.21, 140.00
KN	8	Koajiro Bay, Kanagawa	35.16, 139.63	8	Koajiro Bay, Kanagawa	35.16, 139.63	8	Misaki Port, Kanagawa	35.14, 139.62
IK	7	Nanao Bay, Ishikawa	37.07, 136.89	3	Nanao Bay, Ishikawa	37.14, 136.93	8	Nanao Bay, Ishikawa	37.05, 136.98
SO	8	Lake Hamana, Shizuoka	34.70, 137.62	8	Lake Hamana, Shizuoka	34.68, 137.61	2	Lake Hamana, Shizuoka	34.69, 137.58
				2			2	Eura Port, Shizuoka	35.05, 138.89
ME	2	Ibi River, Mie	35.03, 136.70						
KT	4	Maizuru Bay, Kyoto	35.49, 135.35	4	Maizuru Bay, Kyoto	35.49, 135.34	2	Maizuru Bay, Kyoto	35.51, 135.39
	4	Aso-kai lagoon, Kyoto	35.57, 135.16	4	Miyazu Bay, Kyoto	35.67, 135.28	4	Miyazu Bay, Kyoto	35.67, 135.28
OS	7	Osaka Bay, Osaka	34.48, 135.36	8	Osaka Bay, Osaka	34.48, 135.36	8	Osaka Bay, Osaka	34.60, 135.32
WK	8	Lake Yukashigata, Wakayama	33.62, 135.93	8	Kushimoto Port, Wakayama	33.62, 135.94	7	Uragami Bay, Wakayama	33.56, 135.90
SN	8	Lake Shinji, Shimane	35.47, 133.05	8	Sakai Port, Shimane	35.55, 133.22	8	Sakai Port, Shimane	35.55, 133.22
HS	8	Noro River, Hiroshima	34.28, 132.75	8	Ikuno Island, Hiroshima	34.28, 132.91	2	Kurahashi Island, Hiroshima	34.11, 132.54
							2	Itsukaichi Port, Hiroshima	34.35, 132.36
YG				4			4	Mistuhama Port, Ehime	33.86, 132.71
KO1	8	Susaki Bay, Kochi	33.40, 133.29	8	Igami Port, Yamaguchi	34.37, 131.02	6	Igami Port, Yamaguchi	34.37, 131.02
KO2	4	Tosashimizu, Kochi	32.78, 132.97	8	Uranouchi Bay, Kochi	33.44, 133.40	8	Susaki Bay, Kochi	33.52, 133.56
FO	3	Asa River, Yamaguchi	34.00, 131.13	4	Tosashimizu, Kochi	32.78, 132.97	1	Iwamatsu Port, Ehime	33.13, 132.50
	3	Aruho River, Yamaguchi	33.99, 131.17	1	Hishakuda Port, Fukuoka	33.90, 131.00	8	Suo Bay, Yamaguchi	33.88, 131.38
SA	8	Kariya Bay, Saga	33.46, 129.86	8	Kariya Bay, Saga	33.46, 129.86	8	Kariya Bay, Saga	33.47, 129.85
NS	4	Omura Bay, Nagasaki	33.09, 129.80	2	Omura Bay, Nagasaki	32.85, 129.96	1	Ayukawa Port, Nagasaki	33.23, 129.42
	2	Tatsuo River, Nagasaki	32.85, 129.96						
	2	Kawatana River, Nagasaki	33.04, 129.81						
KM1	8	Kuma River, Kumamoto	32.47, 130.56	5	Kaneyagi Port, Kumamoto	32.40, 130.25	4	Kaneyagi Port, Kumamoto	32.40, 130.25
							2	Shigemichi Port, Kumamoto	32.17, 130.37
KM2	4	Ura River, Kumamoto	32.93, 130.44						
MZ	7	Urashiri River, Miyazaki	32.64, 131.76	6	Nobeoka Bay, Miyazaki	32.51, 131.70	8	Gouchi Bay, Oita	32.82, 131.96
KG	8	Cape Noma, Kagoshima	31.41, 130.14	8	Cape Noma, Kagoshima	31.42, 130.13	7	Kinko Bay, Kagoshima	31.60, 130.57
ON1	8	Manko Wetland, Okinawa Is.	26.21, 127.68						
ON2	8	Miyako Is.	24.84, 125.30						
KR1	8	Namhae, Korea	34.84, 127.98	8	Namhae, Korea	34.84, 127.98			
KR2	7	Goseong, Korea	35.02, 128.36						

研究室において標本を解凍したのち、体側の筋肉組織を切除して 99.5%エタノールで固定・保管して実験に供した。使用した全ての標本は京都大学魚類標本コレクション (FAKU) に登録した。

DNA 抽出, PCR 増幅, シーケンス

DNA の抽出は、キレックス法 (Walsh et al. 1991) にもとづいて行った。Chelex 100 レジン (Bio-Rad Laboratories Inc.) 5%懸濁液 150 μ l に proteinase K (タカラバイオ株式会社) を 2-3 μ l を加えた溶液に筋肉組織を入れ、37°C で一晩インキュベートし、95°C で 15 分加熱処理を施して DNA 粗抽出液を作成した。PCR によって mtDNA のシトクロム *b* (cyt *b*) 遺伝子を含む領域約 1,300 bp を増幅した。プライマーセットには、AJG15 (5'-CAAAAACCATCGTTGTAATTCAACT-3', Akihito et al. 2000) および H15990-Pro (5'-AGTTTAATTTAGAATCYTGGCTTTGG-3', Kumazawa et al. 1999) を用いた。PCR 酵素には Pfu-X (Greiner Bio-one Co. Ltd.) を用い、温度プロファイルは 94°C 5 分の熱変性後、94°C 15 秒の熱変性、55°C 30 秒のアニーリング、72°C 1 分の伸張反応を 35 サイクル行った後、72°C 2 分の伸張反応を行った。PCR 産物は ExoSAP-IT (USB Corp.) を用いて精製した後、シーケンス用に新たに設計したインターナルプライマー Apf-Cytb (5'-GCAAACGACGCACTMGTGGA-3') と BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Inc.) を用いてサイクルシーケンス反応を行い、塩基配列の決定には ABI 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems Inc.) を用いた。また一部の PCR 産物のシーケンスには、受託サービス (タカラバイオ株式会社) を利用した。

系統解析

種間で遺伝子浸透が起こっていないことを確認するため、決定した 3 種の全個体の cyt *b* 領域の部分塩基配列を用いて近隣結合 (NJ) 樹を構築した。次に、各種内のハプロタイプの系統関係を調べるため、最尤 (ML) 法によって種ごとに系統樹を推定した。これらの系統

樹の推定には、ベイズ情報量規準 (BIC) にもとづいて採択された分子進化モデル (3 種間: TN93 + I + Γ , ツマグロスジハゼ種内: TN93 + I + Γ , スジハゼ種内: TN93 + Γ , モヨウハゼ種内: TN93 + Γ , Tamura and Nei 1993) をそれぞれ用いた. 系統樹の信頼性は 1,000 回のブートストラップ法により評価した. これらのデータ解析には MEGA5 (Tamura et al. 2011) を用いた. 各種内の系統関係については, さらにハプロタイプネットワークを TCS v1.21 (Clement et al. 2000) を用いて作成した. また, ハプロタイプネットワークで検出された各ハプロタイプグループ間の遺伝的差異を評価するために平均塩基置換率 (*p*-distance) を算出した. 各種について, 種内全体および各ハプロタイプグループの遺伝的多様度の指標としてハプロタイプの数 (*nh*), 多型サイト数 (*S*), 平均塩基置換数 (*k*), ハプロタイプ多様度 (*h*) 塩基多様度 (π) を算出した. これらの解析には, Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer 2010) を用いた.

地理的集団間の遺伝的分化の検出

種内個体群間の遺伝的分化を検出するため, 採集地点間の遺伝的分化を示す固定指数 (Φ_{ST}) を全ての採集地点のペアについて算出した. なお, 標本数が 5 個体に満たない地点については隣接する地点とまとめて扱った. Φ_{ST} は *p*-distance を用いて計算し, 遺伝子流動の制限の有意性を 10,000 回の permutation test によって検定した. さらに, 各種の種内の遺伝的集団構造を地理的な分布を考慮して検出するため, 各種の全個体の塩基配列を用いて SAMOVA (Spatial Analysis of Molecular Variance, Dupanloup et al. 2002) を行った. SAMOVA は, 地理的に近い地点を同じ集団に含めるという制約のもとで, 集団間の遺伝的分化を示す固定指数 (Φ_{CT}) が最大になるような地点の分け方を探索する手法である. 集団数の選択については, 基本的には SAMOVA で複数地点を含む集団が 2 つ以上形成される集団数の中で Φ_{CT} の値が最大となる集団数を選択した. ただし, Φ_{CT} が集団数を増やすとともに増加する場合は, Φ_{CT} がプラトーに達した最少の集団数を選択した. 解析には SAMOVA 1.0 (Dupanloup et al. 2002) を使用し, 有意性の検定は 10,000 回の permutation test によって行った.

個体群変遷の推定

各種の全個体および各ハプロタイプグループについて有効集団サイズの過去の変遷を推定するため、Tajima's D (Tajima 1989) および Fu's F_s (Fu 1997) を求め、中立性検定を行った。これらの統計量の正負から過去に起きた個体数の増減を推測することができ、正の値であれば集団の個体数が減少、負の値であれば増加したと解釈できる。また、ミスマッチ分布 (Rogers and Harpending 1992) を算出し、集団の拡大モデル (stepwise expansion model) による推測値と観測値との偏差平方和 (SSD) および観測値の raggedness index (H_{ri}) を検定統計量として用い、有意性の検定はブートストラップ法 (反復回数 1,000 回) によって行った。また、集団の拡大開始が現在から何世代前に生じたかを求め (τ 世代前), $\tau = 2\mu kt$ の関係を用いて集団の拡大年代 (t) を推定した (Rogers and Harpending 1992)。ここで、 μ は塩基あたりの突然変異率、 k は解析に用いた塩基数である。突然変異率については、ハゼ科のシロウオ *Leucopsarion petersii* の個体群の拡大年代を扱った Kokita and Nohara (2011) にならい、ハゼ科ウキゴリ属で推定された *cyt b* 領域における突然変異率 2.2–2.4%/Myr (Harada et al. 2002) および 2.7%/Myr (Sota et al. 2005) から算出した $\mu = 1.10 \times 10^{-8}$ および 1.35×10^{-8} substitutions/site/year (それぞれ 2.2%/Myr, 2.7%/Myr に対応する) を用いた。これらの解析には Arlequin 3.5 を使用した。

【結果】

種間および種内の系統

ツマグロスジハゼ、スジハゼ、モヨウハゼの各 172, 146, 143 標本から mtDNA の *cyt b* 領域の部分塩基配列 800 bp を得た。検出されたハプロタイプの数、多型サイト数 (うち parsimony informative なサイト数) はツマグロスジハゼで 89, 89 (48), スジハゼで 95, 93 (52), モヨウハゼで 97, 93 (46) であった。また、各種の採集地点ごとの遺伝的多様度に関する指標を Table 6-2 に示す。ハプロタイプ多様度には種間で大きな違いが見られないものの、塩基多様度はツマグロスジハゼとモヨウハゼに対してスジハゼで高い値を示した。

3種の全個体の塩基配列にもとづいて構築したNJ樹をFig. 6-2に示す。各種は高いブートストラップ確率(99%)でそれぞれ単系統となり、いずれの種間においても遺伝子浸透は検出されなかった。

次に、各種内のハプロタイプの系統関係を表したハプロタイプネットワークおよびML樹をFig. 6-3とFig. 6-4にそれぞれ示す。また、ハプロタイプネットワーク上でハプロタイプグループ(多くの個体から検出された中心的なハプロタイプとそこから少数の塩基置換でつながるハプロタイプのまとまり)が形成された場合は、各ハプロタイプグループの地理的分布をFig. 6-5に示した。

まず、ツマグロスジハゼのハプロタイプの系統は、4つのハプロタイプグループ(A1-A4)とその中心に位置するハプロタイプグループ(A5)に分かれた(Fig. 6-3a)。A5は主に宮城県で採集された個体から得られたハプロタイプを中心としており、そこから複数の塩基置換で琉球列島の個体に特有のハプロタイプがサブグループを形成してつながっていた。A1は星状型のネットワークを形成しており、日本海沿岸南部、瀬戸内海、東シナ海沿岸で得られたほとんど全ての個体(各地点の87.5-100%)と、太平洋沿岸および日本海沿岸北部の個体を比較的小さな割合(各地点の0-62.5%)で含んでいた(Fig. 6-5a)。A2は主に石川県を除いた日本海沿岸北部の個体、A3は主に太平洋沿岸域中部の個体のハプロタイプによってそれぞれ形成されていた。A4は日本海沿岸北部と太平洋沿岸域の個体の両方のハプロタイプを含んでいたが、最も祖先的なハプロタイプを除いて、この2つの海域の個体間で共有されているハプロタイプは無かった。ハプロタイプネットワーク上で検出されたこれらのハプロタイプグループのうちA1-A4はML樹上でも単系統となり、特にA3およびA4については比較的高いブートストラップ確率(それぞれ96%, 55%)単系統性が支持された。また、ハプロタイプグループA5のうち、宮古島から採集された個体から得たハプロタイプは比較的高いブートストラップ確率(61%)で単系統性が支持された。

次に、スジハゼのハプロタイプの系統について見ると、主に6つのハプロタイプグループ(B1-B6)に分かれた(B7はB1に付属するグループとして扱った, Fig. 6-3b)。B1, B2は

Table 6-2 Indices of genetic diversity of each location based on a 800-bp region of *cyt b* gene : n , number of individuals; h , haplotype diversity; π , nucleotide diversity. Location codes shown in Table 6-1

Location code	<i>A. sp.</i>			<i>A. virgatulus</i>			<i>A. pflaumii</i>		
	n	h (\pm SD)	π (\pm SD)	n	h (\pm SD)	π (\pm SD)	n	h (\pm SD)	π (\pm SD)
HK				3	0.000 (\pm 0.000)	0.0000 (\pm 0.0000)	8	0.786 (\pm 0.151)	0.0025 (\pm 0.0018)
AM1				8	1.000 (\pm 0.063)	0.0121 (\pm 0.0071)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0058 (\pm 0.0036)
AM2							1	1.000 (\pm 0.000)	0.0000 (\pm 0.0000)
IT				2	1.000 (\pm 0.500)	0.0175 (\pm 0.0181)			
MG	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0041 (\pm 0.0027)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0113 (\pm 0.0066)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0044 (\pm 0.0028)
AK	8	0.750 (\pm 0.139)	0.0048 (\pm 0.0031)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0105 (\pm 0.0062)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0073 (\pm 0.0045)
KN	8	0.857 (\pm 0.108)	0.0065 (\pm 0.0040)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0080 (\pm 0.0049)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0044 (\pm 0.0028)
IK	7	0.952 (\pm 0.096)	0.0060 (\pm 0.0038)	3	1.000 (\pm 0.272)	0.0125 (\pm 0.0099)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0050 (\pm 0.0032)
SO	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0050 (\pm 0.0032)	8	0.929 (\pm 0.084)	0.0096 (\pm 0.0057)	4	1.000 (\pm 0.177)	0.0044 (\pm 0.0033)
ME	2	1.000 (\pm 0.500)	0.0113 (\pm 0.0119)						
KT	8	0.893 (\pm 0.111)	0.0050 (\pm 0.0032)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0095 (\pm 0.0056)	6	0.933 (\pm 0.122)	0.0029 (\pm 0.0021)
OS	7	0.952 (\pm 0.096)	0.0026 (\pm 0.0019)	8	0.893 (\pm 0.111)	0.0080 (\pm 0.0049)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0058 (\pm 0.0036)
WK	8	0.857 (\pm 0.108)	0.0073 (\pm 0.0044)	8	0.929 (\pm 0.084)	0.0088 (\pm 0.0053)	7	0.952 (\pm 0.096)	0.0043 (\pm 0.0028)
SN	8	0.893 (\pm 0.111)	0.0049 (\pm 0.0031)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0103 (\pm 0.0061)	8	0.893 (\pm 0.111)	0.0033 (\pm 0.0022)
HS	8	0.929 (\pm 0.084)	0.0027 (\pm 0.0019)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0088 (\pm 0.0052)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0051 (\pm 0.0032)
YG				8	1.000 (\pm 0.063)	0.0124 (\pm 0.0072)	6	1.000 (\pm 0.096)	0.0038 (\pm 0.0026)
KO1	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0074 (\pm 0.0045)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0110 (\pm 0.0065)	8	0.893 (\pm 0.111)	0.0037 (\pm 0.0024)
KO2	4	1.000 (\pm 0.177)	0.0063 (\pm 0.0046)	4	0.833 (\pm 0.222)	0.0090 (\pm 0.0064)	1	1.000 (\pm 0.000)	0.0000 (\pm 0.0000)
FO	6	0.800 (\pm 0.172)	0.0033 (\pm 0.0024)	1	1.000 (\pm 0.000)	0.0000 (\pm 0.0000)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0054 (\pm 0.0034)
SA	8	0.929 (\pm 0.084)	0.0033 (\pm 0.0022)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0083 (\pm 0.0050)	8	1.000 (\pm 0.063)	0.0030 (\pm 0.0021)
NS	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0067 (\pm 0.0041)	2	1.000 (\pm 0.500)	0.0025 (\pm 0.0031)	1	1.000 (\pm 0.000)	0.0000 (\pm 0.0000)
KM1	8	0.786 (\pm 0.151)	0.0016 (\pm 0.0013)	5	1.000 (\pm 0.127)	0.0075 (\pm 0.0050)	6	0.800 (\pm 0.172)	0.0025 (\pm 0.0019)
KM2	4	0.833 (\pm 0.222)	0.0013 (\pm 0.0012)						
MZ	7	0.714 (\pm 0.127)	0.0032 (\pm 0.0022)	6	0.800 (\pm 0.172)	0.0064 (\pm 0.0042)	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0045 (\pm 0.0029)
KG	8	0.750 (\pm 0.139)	0.0064 (\pm 0.0039)	8	0.893 (\pm 0.086)	0.0064 (\pm 0.0040)	7	0.952 (\pm 0.096)	0.0033 (\pm 0.0023)
ON1	8	0.964 (\pm 0.077)	0.0063 (\pm 0.0039)						
ON2	8	0.893 (\pm 0.111)	0.0047 (\pm 0.0030)						
KR1	8	0.000 (\pm 0.000)	0.0000 (\pm 0.0000)						
KR2	7	0.714 (\pm 0.181)	0.0011 (\pm 0.0010)	8	0.786 (\pm 0.151)	0.0021 (\pm 0.0016)			
Total	172	0.943 (\pm 0.014)	0.0062 (\pm 0.0034)	146	0.986 (\pm 0.004)	0.0105 (\pm 0.0054)	143	0.975 (\pm 0.008)	0.0045 (\pm 0.0025)

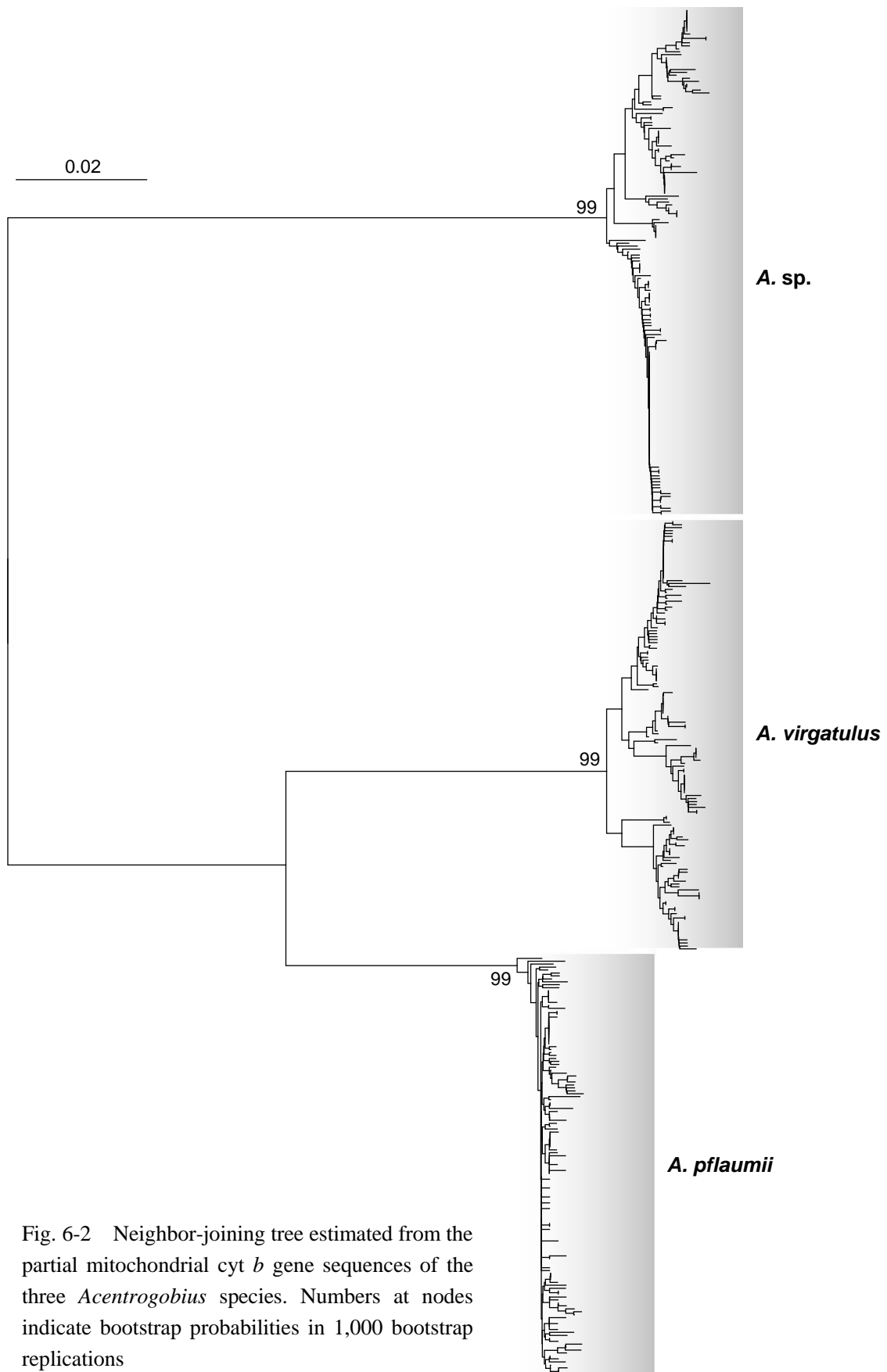


Fig. 6-2 Neighbor-joining tree estimated from the partial mitochondrial *cyt b* gene sequences of the three *Acentrogobius* species. Numbers at nodes indicate bootstrap probabilities in 1,000 bootstrap replications

Table 6-3 Indices of genetic diversity of each haplotype group identified in the haplotype network (Fig. 6-3). n , number of individuals; nh , number of haplotypes; S , number of polymorphic sites; k , average number of pairwise nucleotide differences; h , haplotype diversity; π , nucleotide diversity

Haplotype group	n	nh	S	k (\pm SD)	h (\pm SD)	π (\pm SD)
A. sp.						
Total	172	89	89	4.97 (\pm 2.43)	0.943 (\pm 0.014)	0.0062 (\pm 0.0034)
A1	94	40	42	1.53 (\pm 0.93)	0.816 (\pm 0.042)	0.0019 (\pm 0.0013)
A2	15	7	9	1.66 (\pm 1.03)	0.724 (\pm 0.121)	0.0021 (\pm 0.0014)
A3	7	3	3	0.86 (\pm 0.68)	0.524 (\pm 0.209)	0.0011 (\pm 0.0010)
A4	30	18	22	2.75 (\pm 1.50)	0.936 (\pm 0.029)	0.0034 (\pm 0.0021)
A5	26	20	32	5.72 (\pm 2.83)	0.969 (\pm 0.022)	0.0072 (\pm 0.0039)
A. virgatulus						
Total	146	95	93	8.39 (\pm 3.91)	0.986 (\pm 0.004)	0.0105 (\pm 0.0054)
B1	36	25	32	2.04 (\pm 1.17)	0.911 (\pm 0.044)	0.0026 (\pm 0.0016)
B2	34	23	35	5.15 (\pm 2.56)	0.961 (\pm 0.021)	0.0064 (\pm 0.0036)
B3	24	13	20	3.34 (\pm 1.77)	0.895 (\pm 0.047)	0.0042 (\pm 0.0025)
B4	16	8	9	1.88 (\pm 1.13)	0.808 (\pm 0.093)	0.0023 (\pm 0.0016)
B5	12	7	8	1.47 (\pm 0.96)	0.833 (\pm 0.100)	0.0018 (\pm 0.0013)
B6	12	8	8	1.92 (\pm 1.17)	0.909 (\pm 0.065)	0.0024 (\pm 0.0017)
B7	12	11	15	3.98 (\pm 2.14)	0.985 (\pm 0.040)	0.0050 (\pm 0.0030)
A. pflaumii						
Total	143	97	93	3.57 (\pm 1.82)	0.975 (\pm 0.008)	0.0045 (\pm 0.0025)

(a) *Acentrogobius* sp.

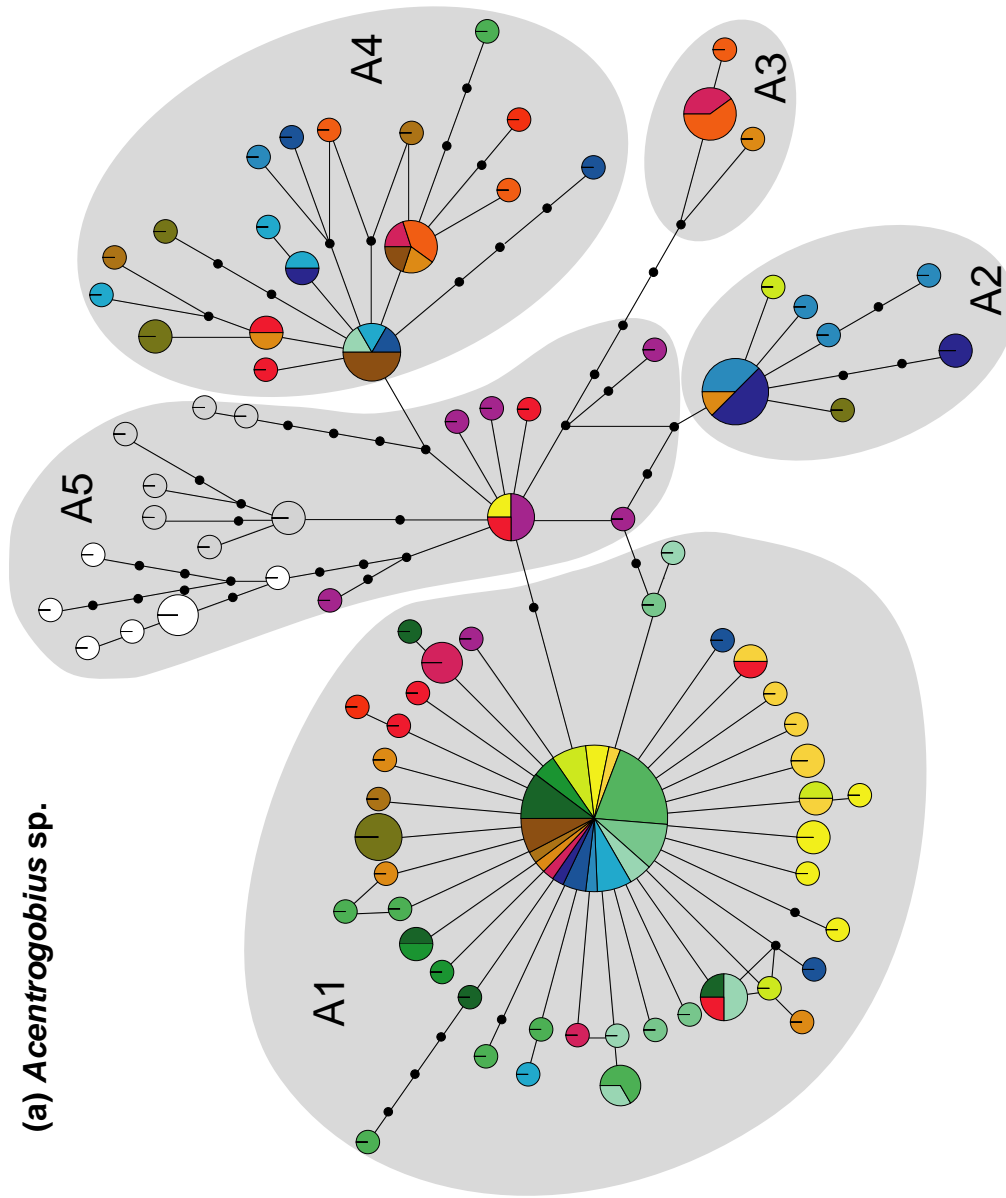
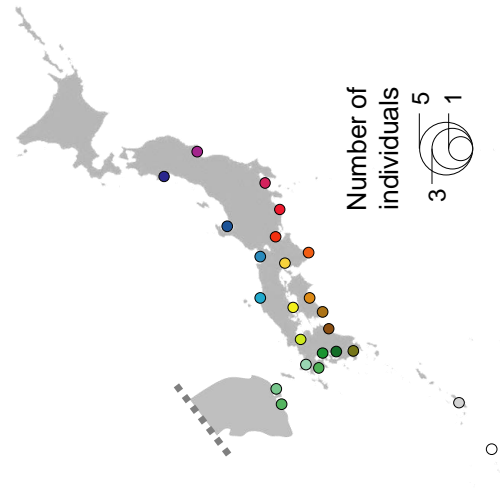


Fig. 6-3 Statistical parsimony network of the *cyt b* haplotypes of the *Acentrogobius* species. (a) *A. sp.*, (b) *A. virgatus*, (c) *A. pflaumi*. The size of the circles is proportional to the number of individuals sharing that haplotype. Different colors indicate haplotypes of individuals from different locations. Black dots are hypothetical sequences. Haplotypes with a shaded background indicates components of the same haplotype group. A letter in each shaded area refers to the name of the haplotype group



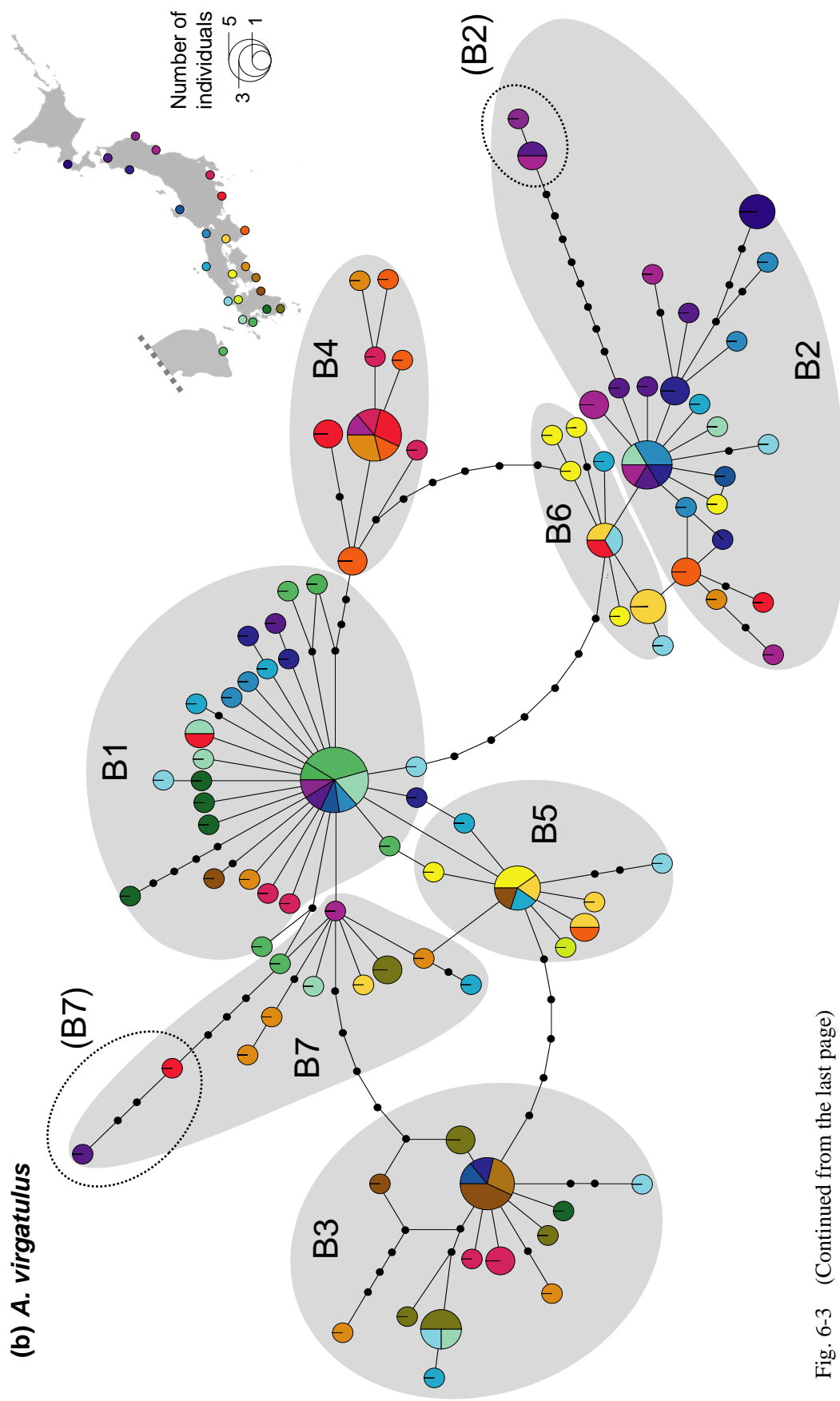


Fig. 6-3 (Continued from the last page)

(c) *A. pflaumii*

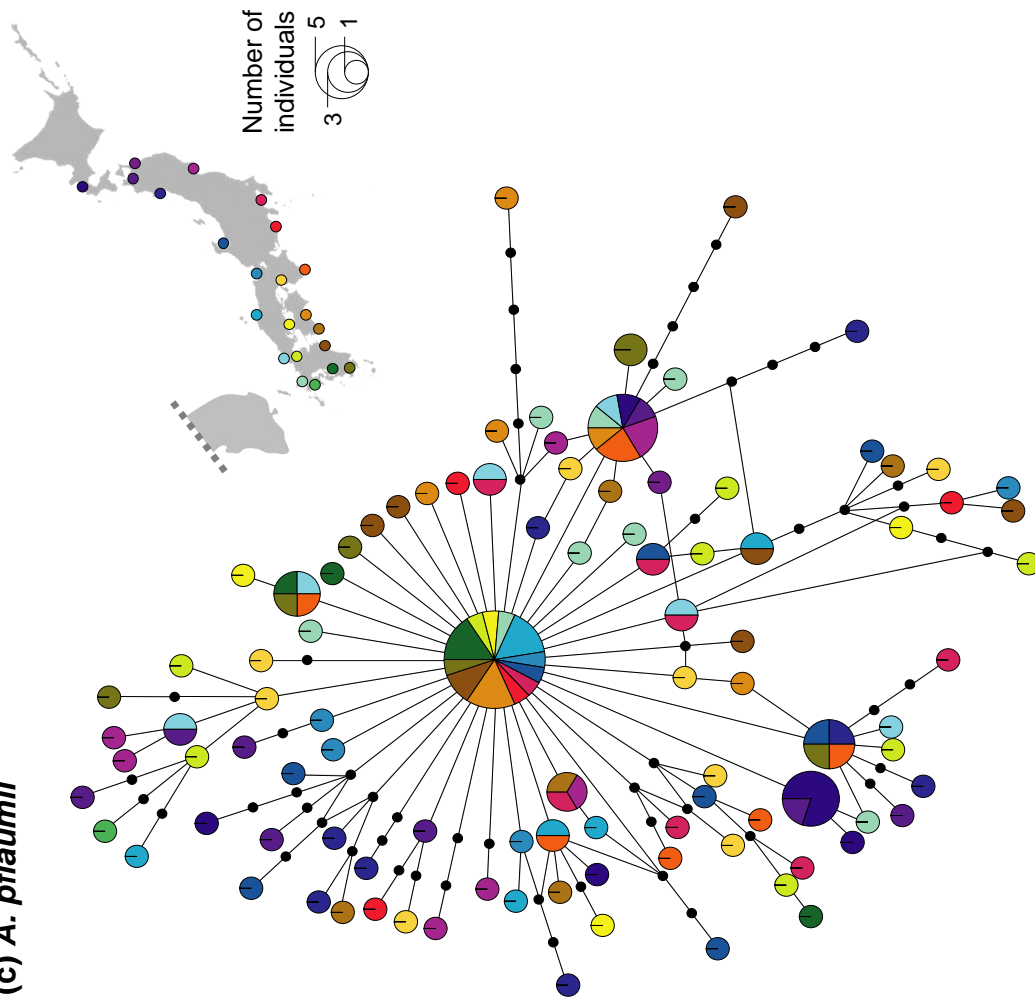


Fig. 6-3 (Continued from the last page)

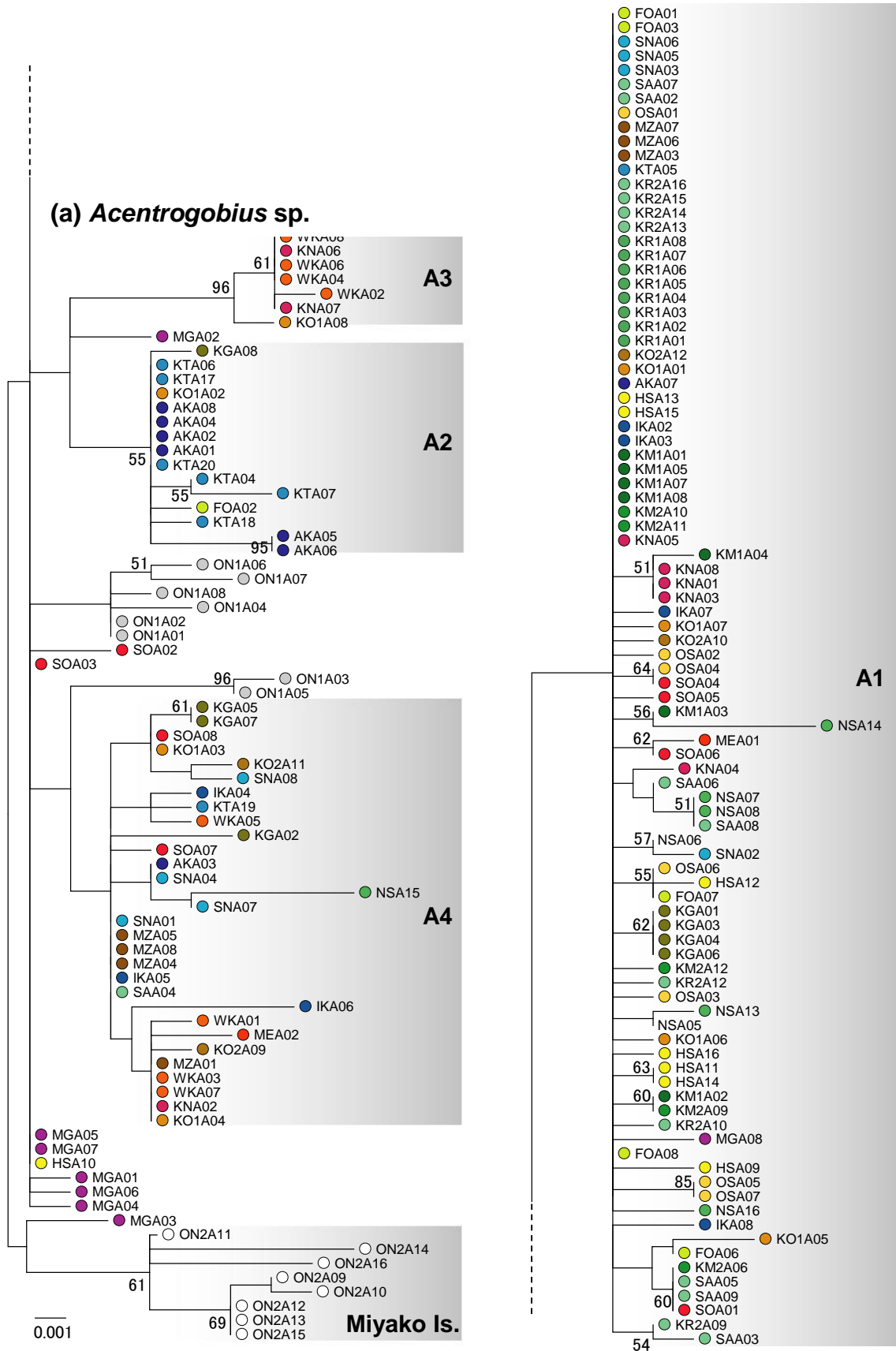
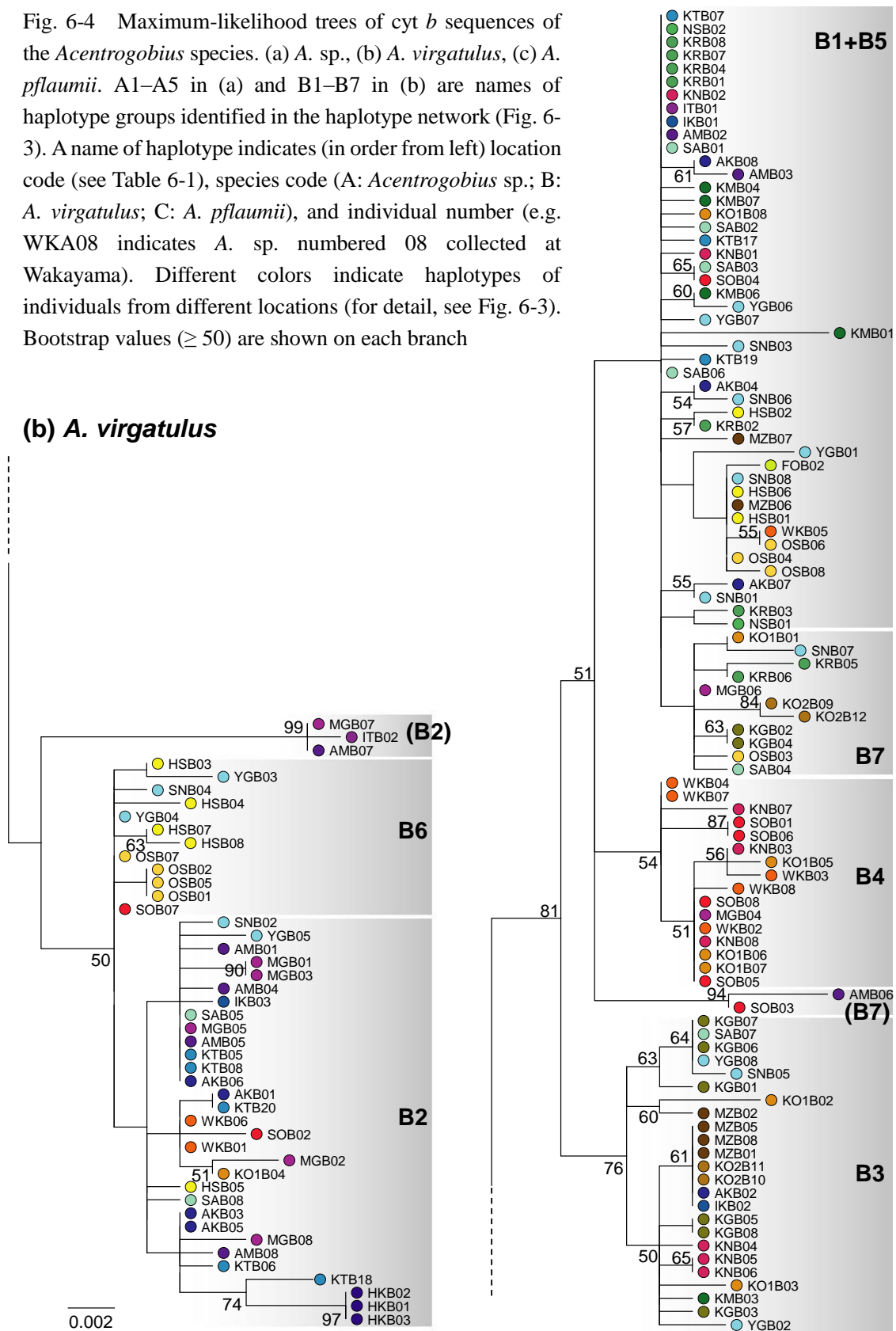


Fig. 6-4 (See next page)

Fig. 6-4 Maximum-likelihood trees of *cyt b* sequences of the *Acentrogobius* species. (a) *A. sp.*, (b) *A. virgatus*, (c) *A. pflaumii*. A1–A5 in (a) and B1–B7 in (b) are names of haplotype groups identified in the haplotype network (Fig. 6-3). A name of haplotype indicates (in order from left) location code (see Table 6-1), species code (A: *Acentrogobius sp.*; B: *A. virgatus*; C: *A. pflaumii*), and individual number (e.g. WKA08 indicates *A. sp.* numbered 08 collected at Wakayama). Different colors indicate haplotypes of individuals from different locations (for detail, see Fig. 6-3). Bootstrap values (≥ 50) are shown on each branch



(c) *A. pflaumii*

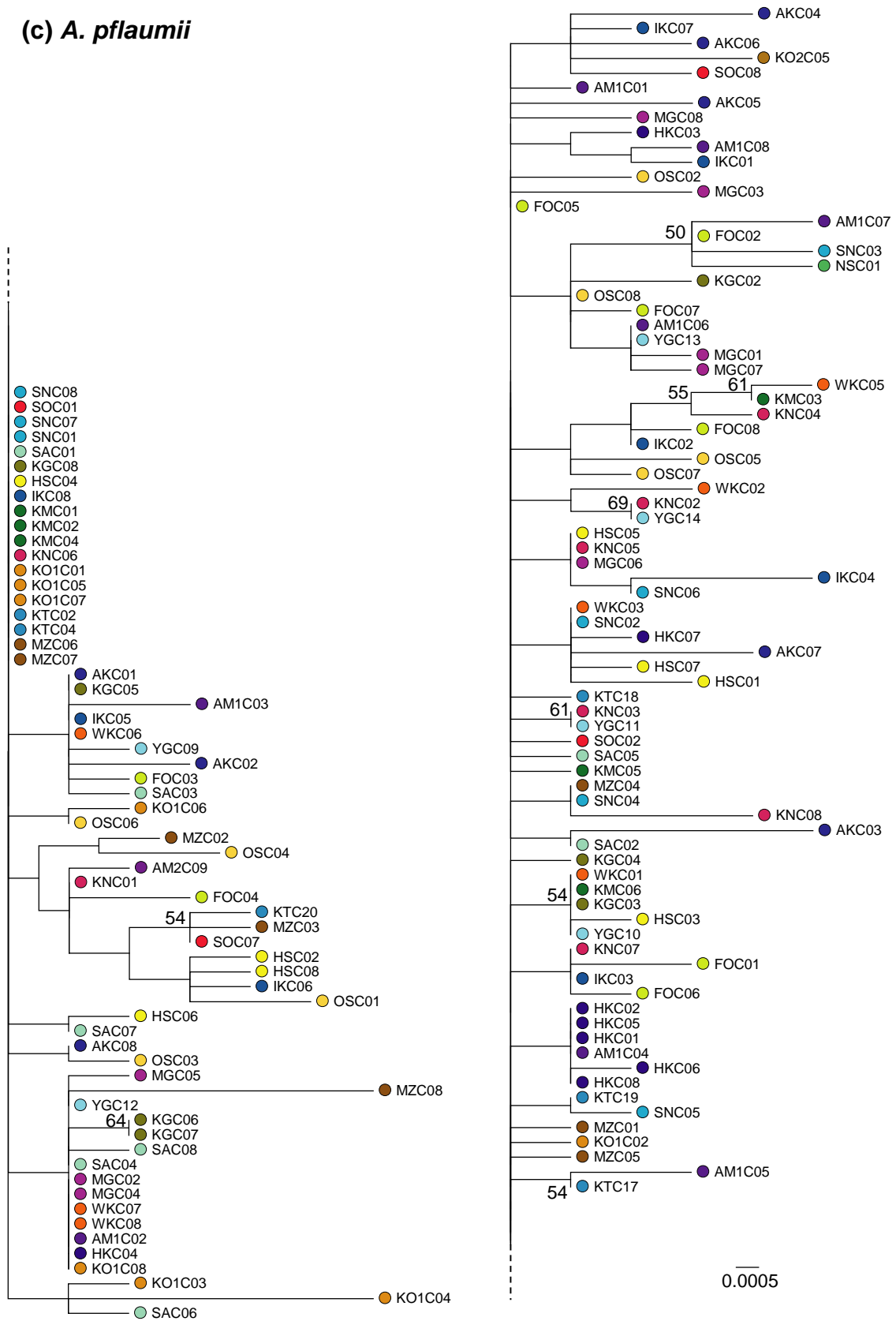


Fig. 6-4 (Continued from the last page)

(a) *Acentrogobius* sp.

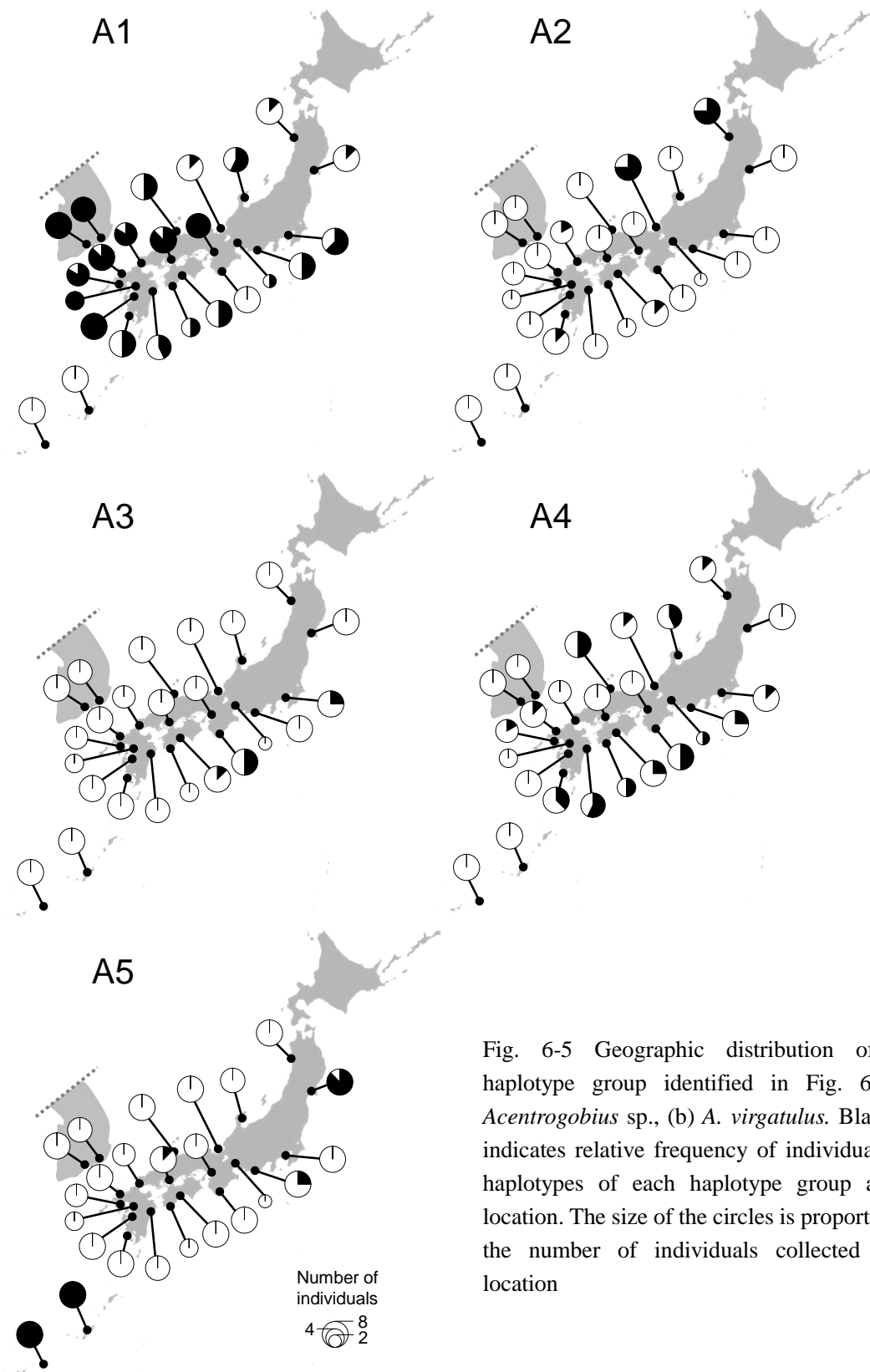


Fig. 6-5 Geographic distribution of each haplotype group identified in Fig. 6-3. (a) *Acentrogobius* sp., (b) *A. virgatus*. Black area indicates relative frequency of individuals with haplotypes of each haplotype group at each location. The size of the circles is proportional to the number of individuals collected at the location

(b) *A. virgatulus*

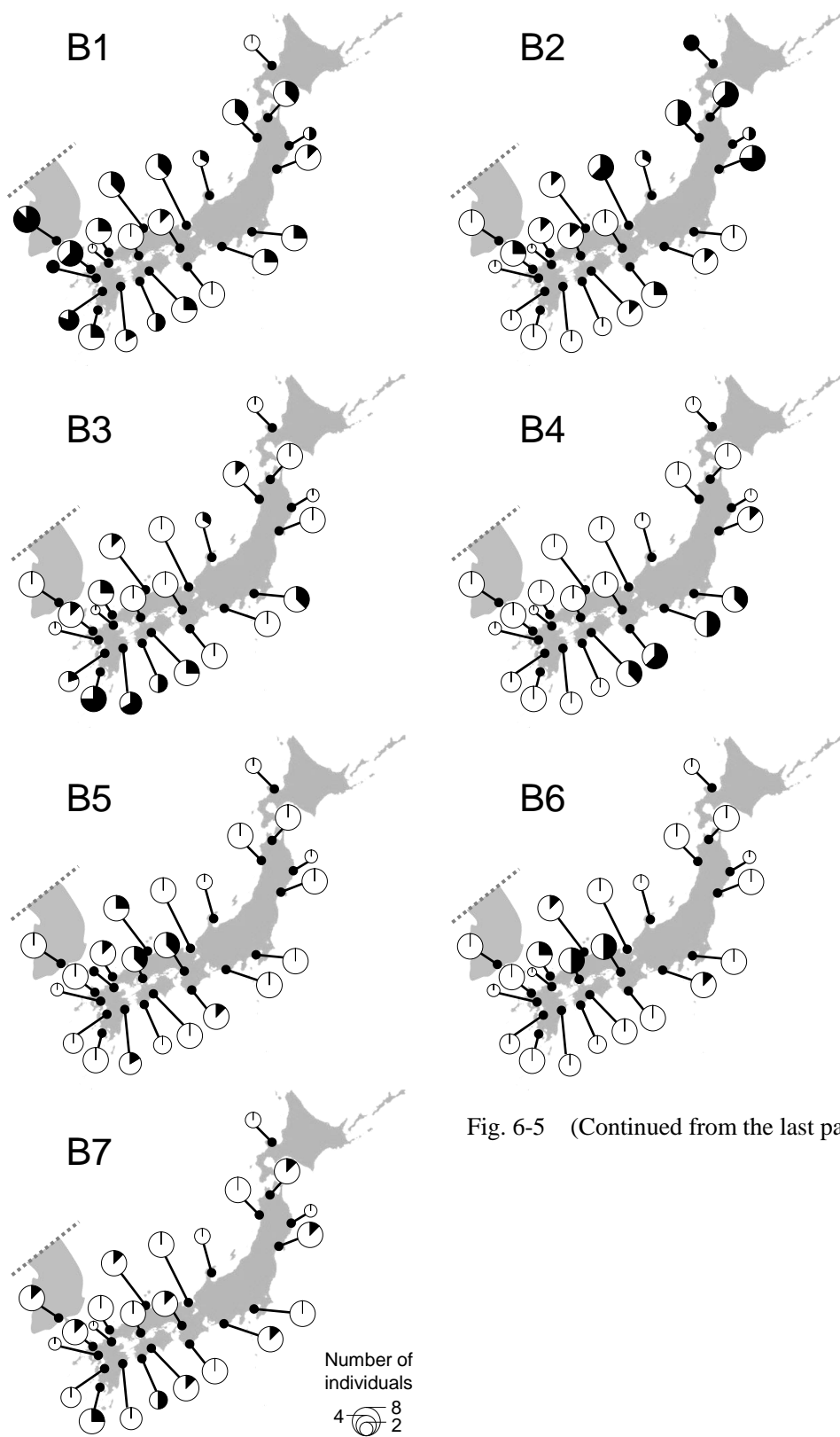


Fig. 6-5 (Continued from the last page)

ともに太平洋沿岸北部から日本海沿岸で採集された個体のハプロタイプを多く含み、B1にはさらに東シナ海のハプロタイプも多く含まれていた (Fig. 6-5b)。B3は主に太平洋沿岸南部、B4は太平洋沿岸中部に分布していた。B5、B6は主に瀬戸内海沿岸に分布していた。ML樹では、これらのハプロタイプグループはB1、B2、B7の一部をのぞいて単系統を形成しており、さらに上位の階層ではB1+B4+B5+B7、B2+B6、B3が単系統性を示した。

このように、ツマグロスジハゼとスジハゼのハプロタイプは明確な複数のハプロタイプグループを形成しており、各グループが偏った地理的分布を持っていた。一方、モヨウハゼのハプロタイプネットワークでは、全てのハプロタイプが1つの祖先的なハプロタイプとそこから少数の塩基置換でつながったハプロタイプに含まれている星状型のネットワークを形成しており、明確なハプロタイプグループは検出されなかった。また、北海道を除きハプロタイプの顕著な地理的傾向は認められなかった。

ツマグロスジハゼとスジハゼにおいて、ハプロタイプグループ間の平均塩基置換率はツマグロスジハゼで0.27–1.21%、スジハゼで0.13–1.22%であった。次に、各種のハプロタイプグループごとの遺伝的多様度をTable 6-3に示す。ツマグロスジハゼでは、ハプロタイプグループA1–A3（主に日本海沿岸域南部、瀬戸内海沿岸、東シナ海沿岸に分布）は、ハプロタイプ多様度と塩基多様度においてA4、A5（主に太平洋沿岸、日本海沿岸中部、宮城、および琉球列島に分布）よりも低い値を示した。スジハゼでは、ハプロタイプ多様度についてはハプロタイプグループ間で顕著な違いは認められなかったが、塩基多様度についてはB1およびB4–B6（主に日本海沿岸域南部、瀬戸内海沿岸、東シナ海沿岸、太平洋沿岸域中部に分布）でB2、B3（主に太平洋沿岸域北部、太平洋沿岸域南部、日本海沿岸域北部に分布）よりも低い値を示した。

採集地点間および地理的集団間の遺伝的分化

ツマグロスジハゼでは、全地点のペア（210ペア）の61.0%（128ペア）で有意な遺伝子流動の制限が検出された（有意水準0.05、Table 6-4a）。特に多くの地点との間で制限が検出

された地点はハプロタイプグループ A1 のハプロタイプのみで占められる熊本 (KM1 & KM2), A2 が主に分布する秋田 (AK), 京都 (KT), A3 が主に分布する和歌山 (WK), A5 が主に分布する宮城 (MG), 沖縄島 (ON1), 宮古島 (ON2) であった. 特に沖縄島と宮古島は, 個体数が不十分な地点を除き, 全ての地点との間で遺伝子流動の制限が認められた. スジハゼでは全地点のペア (136 ペア) の 41.2% (56 ペア) で有意な遺伝子流動の制限が検出された. 特に多くの地点との間で制限が検出された地点はハプロタイプグループ B1 が主に分布する韓国 (KR), 長崎&熊本 (NS & KM1), B2 が主に分布する北海道&青森 (HK & AM1), 岩手&宮城 (IT & MG), および B3 が主に分布する宮崎&高知 (MZ & KO2), 鹿児島 (KG) であった (Table 6-4b). モヨウハゼでは全地点のペア (153 ペア) のうち有意な遺伝子流動の制限が認められたペアはわずか 13.7% (21 ペア) にとどまり, そのほとんどが北海道 (HK) か宮城 (MG) との組み合わせであった (Table 6-4c).

SAMOVA は全採集地点 (ツマグロスジハゼ, スジハゼ, モヨウハゼでそれぞれ 24, 23, 22 地点) および 3 種間で共通している 18 地点について行った. SAMOVA で得られた採集地点のグループ構造を Fig. 6-6 に, 固定指数を Table 6-5 に示す. ツマグロスジハゼの採集地点は, 日本海沿岸南部・瀬戸内海沿岸・東シナ海沿岸, 太平洋沿岸南部, 日本海沿岸中部 (全地点を扱った解析では, 日本海沿岸中部に加えて太平洋沿岸中部), およびその他の単独地点から成るグループに分けられた. 共通の 18 地点を対象とした解析で, 地点グループ間の遺伝子流動の制限を示す固定指数 (Φ_{CT}) は 0.238, 各採集地点間の制限を示す固定指数 (Φ_{ST}) は 0.220 と比較的高い値を示し, 地点グループ間と採集地点間で遺伝子流動が制限されていることが示唆された. 次に, スジハゼの採集地点は日本海沿岸北部~中部・瀬戸内海沿岸の一部 (全地点を対象とした解析では, これらの海域に加えて太平洋沿岸北部), 日本海沿岸南部・東シナ海沿岸・瀬戸内海の一部, 太平洋沿岸中部, 太平洋沿岸南部の地点で構成されるグループに分けられ, 明瞭なグループ構造を示した. 共通の 18 地点を対象とした解析で, Φ_{CT} は 0.179, Φ_{ST} は 0.146 と比較的高い値を示し, 集団間と採集地点間で遺伝子流動が制限されていることが示唆された. 一方, モヨウハゼの採集地点のグループ分けは, 全地点を対

Table 6-4 Pairwise Φ_{ST} estimates (below diagonal) and the P -values (above diagonal) between populations of the three *Acentrogobius* species. Location codes shown in Table 6-1. n , number of individuals

(a) *Acentrogobius* sp.

n	SO										KM1 & KM2		MZ		KR1	KR2	
	MG	AK	KN	IK	KT	OS	WK	SN	HS	KOI	YG	SA	NS	KG			ON1
MG	8	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	++	+	+
AK	8	0.279	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+
KN	8	0.136	0.280	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-
IK	7	0.133	0.322	0.041	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SO & ME	10	0.079	0.311	0.043	-0.055	+	+	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+
KT	8	0.260	-0.056	0.297	0.314	0.300	+	++	+	+	+	+	+	+	++	++	+
OS	7	0.368	0.516	0.138	0.158	0.148	0.507	++	+	-	-	-	-	+	++	++	-
WK	8	0.289	0.341	0.166	0.250	0.268	0.345	0.493	+	++	+	+	++	+	+	++	++
SN	8	0.123	0.326	0.072	-0.053	-0.045	0.321	0.219	0.278	-	-	-	-	-	++	++	-
HS	8	0.288	0.478	0.095	0.098	0.094	0.466	0.042	0.464	0.158	+	-	-	-	++	++	-
KOI	8	0.047	0.186	-0.051	-0.046	-0.042	0.179	0.129	0.142	-0.030	0.078	-	-	-	++	++	-
FO	6	0.219	0.347	0.029	0.046	0.043	0.337	0.023	0.396	0.106	-0.034	-0.018	-	-	+	+	-
SA	8	0.274	0.456	0.070	0.031	0.047	0.444	0.064	0.431	0.099	0.018	0.032	-0.029	-	+	+	-
NS	8	0.214	0.362	0.047	0.053	0.064	0.352	0.059	0.350	0.085	0.039	0.024	-0.012	-0.049	++	++	-
KM1 & KM2	12	0.429	0.584	0.160	0.207	0.175	0.576	0.081	0.563	0.267	0.042	0.167	0.034	0.037	0.075	+	+
MZ & KO2	11	0.158	0.375	0.096	-0.059	-0.034	0.363	0.278	0.271	-0.055	0.214	-0.020	0.165	0.146	0.135	0.313	-
KG	8	0.151	0.282	0.081	0.004	0.013	0.271	0.193	0.277	-0.007	0.143	-0.011	0.079	0.109	0.094	0.243	0.030
ON1	8	0.242	0.365	0.308	0.256	0.257	0.371	0.466	0.343	0.293	0.429	0.240	0.365	0.401	0.331	0.551	0.327
ON2	8	0.500	0.592	0.517	0.518	0.505	0.582	0.669	0.535	0.550	0.649	0.460	0.598	0.607	0.521	0.723	0.572
KR1	8	0.480	0.627	0.171	0.224	0.176	0.613	0.107	0.577	0.286	0.032	0.158	0.051	0.052	0.062	-0.006	0.335
KR2	7	0.402	0.557	0.134	0.174	0.146	0.543	0.061	0.526	0.223	0.014	0.120	0.000	0.010	0.029	0.007	0.289

++, $P < 0.00024$ (significance level under Bonferroni's correction for multiple comparisons); +, $P < 0.05$

Table 6-4 (Continued from the last page)

(b) *A. virgatus*

		HK & AMI	IT & MG	AK & IK	KN	SO	KT	OS	WK	SN	HS & FO	YG	KOI	SA	NS & KMI	MZ & KO2	KG	KRI
	<i>n</i>																	
HK & AMI	11	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	++	+
IT & MG	10	-0.012	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	++	++	+
AK & IK	11	0.037	0.004	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
KN	8	0.295	0.239	0.138	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
SO	8	0.178	0.127	0.086	0.031	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
KT	8	-0.035	-0.037	-0.049	0.275	0.159	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+
OS	8	0.117	0.064	-0.003	0.209	0.104	0.034	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
WK	8	0.204	0.137	0.116	0.053	-0.073	0.187	0.129	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
SN	8	0.162	0.120	-0.005	0.092	0.074	0.082	-0.014	0.114	-	-	-	-	-	-	-	+	+
HS & FO	9	0.090	0.051	-0.019	0.204	0.096	0.011	-0.051	0.122	0.007	-	-	-	-	+	+	+	+
YG	8	0.080	0.036	-0.060	0.070	0.051	0.000	-0.034	0.081	-0.040	-0.030	-	-	-	-	-	-	+
KOI	8	0.196	0.133	0.058	-0.054	-0.043	0.157	0.079	-0.055	0.027	0.095	0.010	-	-	+	-	-	+
SA	8	0.153	0.104	-0.012	0.080	0.070	0.058	0.011	0.116	-0.078	0.035	-0.050	0.022	-	-	+	-	-
NS & KMI	7	0.316	0.278	0.161	0.114	0.184	0.272	0.209	0.235	0.018	0.223	0.094	0.098	-0.001	-	+	+	-
MZ & KO2	10	0.352	0.311	0.171	0.080	0.239	0.334	0.223	0.260	0.106	0.253	0.108	0.090	0.155	0.182	-	-	+
KG	8	0.365	0.324	0.213	0.088	0.251	0.364	0.299	0.292	0.181	0.331	0.117	0.110	0.188	0.265	0.057	++	++
KRI	8	0.421	0.397	0.294	0.306	0.319	0.410	0.324	0.378	0.116	0.341	0.236	0.240	0.114	0.024	0.361	0.475	++

++, $P < 0.00037$ (significance level under Bonferroni's correction for multiple comparisons); +, $P < 0.05$

Table 6-4 (Continued from the last page)

(c) *A. pflaumii*

	n	HK	AM1 & AM2	MG	AK	KN & SO	IK	KT	OS	WK	SN	HS	YG	KOI	FO	SA	NS & KMI	MZ & KO2	KG
HK	8		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
AM1 & AM2	9	0.048		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MG	8	0.156	-0.016		-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
AK	8	0.085	-0.009	0.031		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KN & SO	12	0.105	-0.006	0.066	0.003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IK	8	0.093	-0.014	0.063	-0.027	-0.058		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KT	6	0.144	-0.024	0.069	-0.026	-0.049	-0.038		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OS	8	0.094	-0.022	0.035	0.006	-0.024	-0.028	-0.029		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WK	7	0.122	-0.003	0.049	-0.005	0.004	-0.016	0.042	0.002		-	-	-	-	-	-	-	-	-
SN	8	0.124	-0.012	0.064	-0.004	-0.017	-0.027	-0.015	-0.009	0.014		-	-	-	-	-	-	-	-
HS	8	0.131	0.022	0.082	0.022	0.015	-0.009	0.003	-0.010	0.003	-0.028		-	+	-	-	-	-	-
YG	6	0.122	-0.057	-0.030	-0.031	-0.041	-0.024	0.000	-0.028	-0.032	0.007	0.029		-	-	-	-	-	-
KOI	8	0.127	-0.008	0.039	-0.004	0.006	-0.008	-0.007	0.007	0.024	0.031	0.059	-0.016		-	-	-	-	-
FO	8	0.119	-0.021	0.052	0.010	-0.017	-0.040	-0.011	-0.014	0.007	-0.041	0.027	-0.029	0.025		-	-	-	-
SA	8	0.072	-0.026	0.022	-0.012	0.002	0.001	0.014	0.008	0.003	0.034	0.046	-0.029	-0.033	0.027		-	-	-
NS & KMI	7	0.125	-0.020	0.073	0.009	-0.036	-0.026	-0.001	-0.010	-0.021	-0.021	0.046	-0.015	0.012	-0.026	0.015		-	-
MZ & KO2	9	0.098	0.000	0.047	-0.005	-0.013	-0.025	-0.050	-0.019	0.031	0.000	0.011	-0.004	0.000	0.012	0.007	0.008		-
KG	7	0.137	-0.028	0.016	-0.006	0.012	0.003	0.035	0.006	-0.052	0.022	0.033	-0.052	0.008	0.007	-0.018	0.005	0.018	

++, $P < 0.00033$ (significance level under Bonferroni's correction for multiple comparisons); +, $P < 0.05$

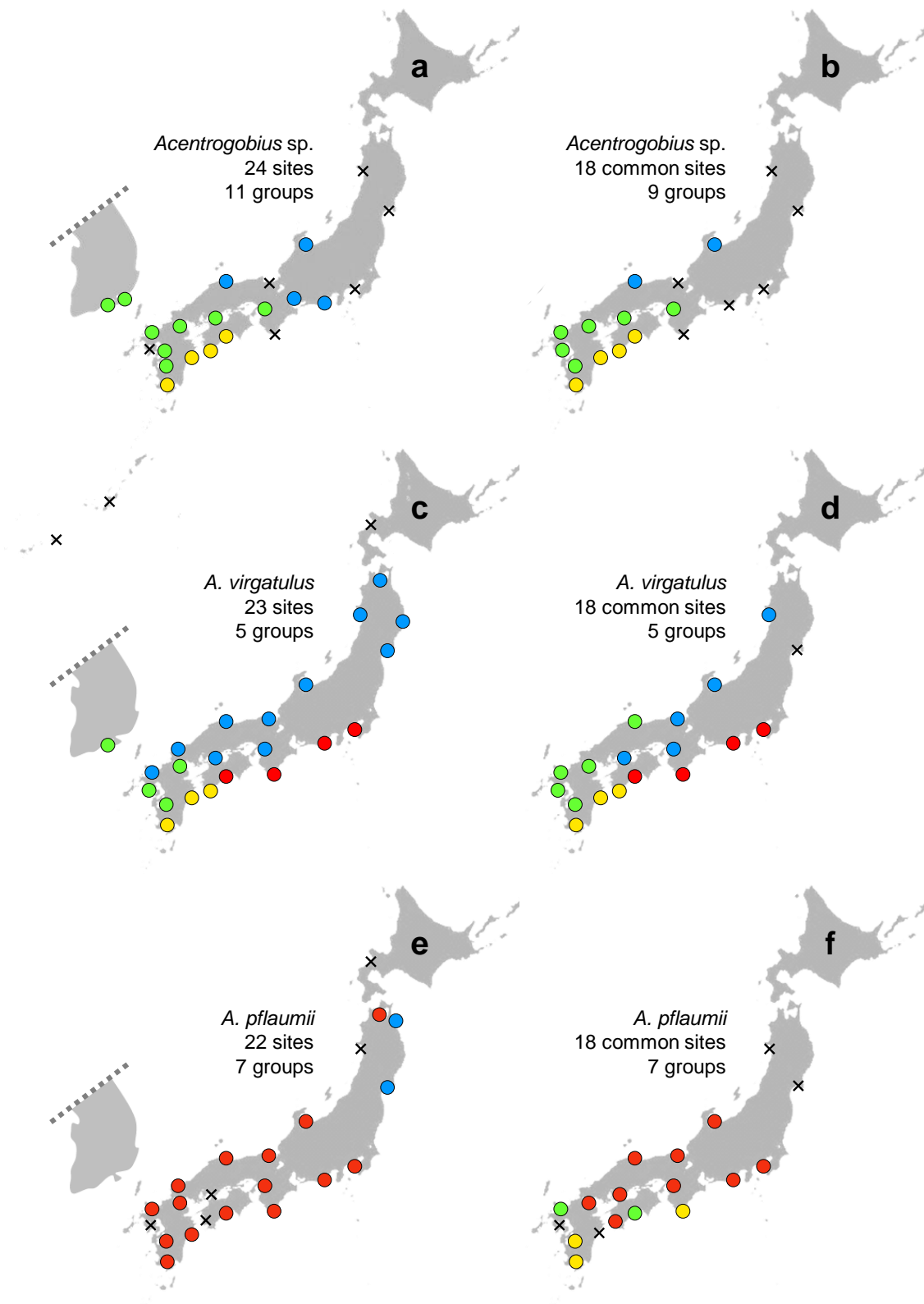


Fig. 6-6 SAMOVA population groupings for all collection locations and 18 locations common to the three *Acentrogobius* species. Different colors of circles indicate locations of different regional groups. X marks indicate groups composed of a single location. The number of regional groups is shown in the middle of each figure

Table 6-5 Results from hierarchical SAMOVA (spatial analysis of molecular variance) for all sampling locations and 18 locations common to the three species. Fixation indices (F_I) among groups, among locations within groups, and within locations are Φ_{CT} , Φ_{ST} , and Φ_{SC} , indicating restriction to gene flow among groups, within groups, and among locations within and among groups, respectively

	A. sp.				A. virgatulus				A. pflaumi						
	df	Sum of squares	% Variation	F_I	P	df	Sum of squares	% Variation	F_I	P	df	Sum of squares	% Variation	F_I	P
Regional groups by SAMOVA															
for all locations															
Among groups	10	142.82	34.83	0.348	<0.001	4	109.07	22.24	0.222	<0.001	6	16.50	6.25	0.062	<0.001
Among locations within groups	13	16.57	-2.97	-0.046	<0.001	18	61.30	-0.53	-0.007	<0.001	15	23.46	-1.57	-0.017	0.119
Within locations	148	265.42	68.14	0.319	<0.001	123	437.83	78.29	0.217	<0.001	121	213.27	95.33	0.047	0.134
for 18 common locations															
Among groups	8	77.46	23.77	0.238	<0.001	4	77.86	17.91	0.179	<0.001	6	16.17	5.10	0.051	<0.001
Among locations within groups	9	14.51	-1.79	-0.024	<0.001	13	35.50	-3.33	-0.041	<0.001	11	15.29	-3.27	-0.034	0.082
Within locations	117	225.97	78.02	0.220	<0.001	99	356.21	85.42	0.146	<0.001	102	182.27	98.17	0.018	0.312

象とした解析と共通の 18 地点を対象とした解析との間で一致せず、いずれの解析においても採集地点の明瞭なグループ構造は認められなかった。共通の 18 地点を対象とした解析で、 Φ_{CT} は 0.051、 Φ_{ST} は 0.018 であり、いずれの固定指数においても他の 2 種と比べて値が低く、集団間および採集地点間で遺伝子流動がほとんど制限されていないことが示唆された。

個体群の変遷

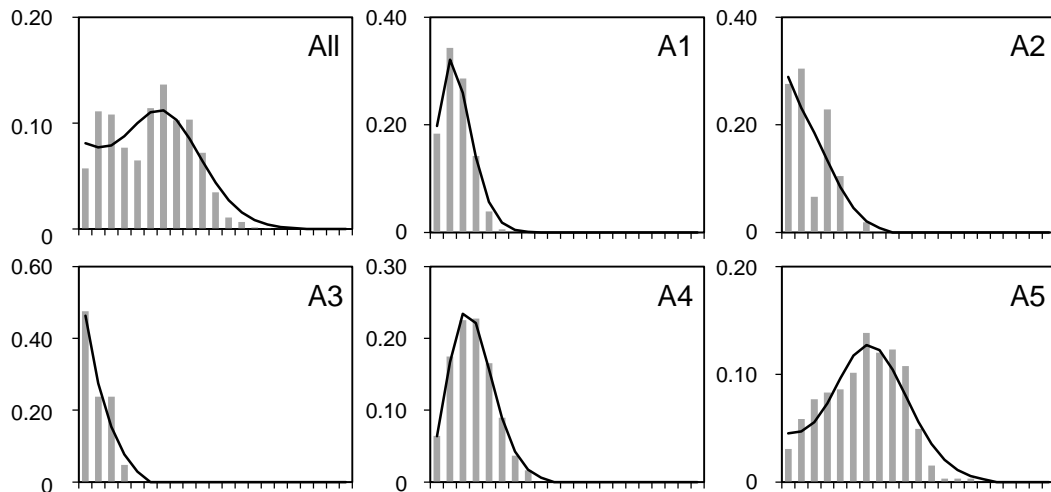
中立性検定とミスマッチ分析の結果を Table 6-6 に、ミスマッチ分布を Fig. 6-7 に示す。Tajima's D は全てのハプロタイプグループで負の値を示し、Fu's F_s はツマグロスジハゼの A3 を除いた全てのグループにおいて有意な負の値を示した ($P < 0.05$)。ミスマッチ分布の raggedness の指標 (H_{ri}) と集団拡大モデルからの逸脱の指標 (SSD) は、B3 を除いた全てのハプロタイプグループにおいて、0 からの有意な逸脱は認められず、過去に個体数の急激な拡大を経験したと判断された。ミスマッチ分析で算出された τ と *cyt b* 領域における突然変異率 (2.2%/Myr および 2.7%/Myr) から推定された各ハプロタイプグループの拡大開始時期は、大まかに次の 3 つの年代に分けられた (Table 6-6)。最も拡大開始年代が古いハプロタイプグループはツマグロスジハゼの A5 で、40.0–32.6 万年前に拡大したと推定された。次に古いハプロタイプグループはツマグロスジハゼの A2 (17.1–13.9 万年前)、A4 (16.2–13.2 万年前)、スジハゼの B3 (21.6–17.6 万年前)、およびモヨウハゼ (全個体を 1 集団と見なした場合、17.9–14.6 万年前) で、まとめると 21.6–13.2 万年前に拡大したと推定された。最も新しい年代に拡大を開始したと推定されるハプロタイプグループはツマグロスジハゼの A1 (9.2–7.5 万年前)、A3 (11.0–9.0 万年前)、スジハゼの B1 (11.5–9.3 万年前)、B2 (10.9–8.9 万年前)、B4 (13.3–10.8 万年前)、B5 (8.2–6.7 万年前)、B6 (11.5–9.4 万年前)、B7 (10.8–8.8) であり、まとめると 13.3–6.7 万年前に拡大を開始したと推定された。

Table 6-6 Results from statistical test for historical demography of each haplotype group identified in the haplotype network (Fig. 6-3): neutrality test, mismatch distribution (MMD) analysis, and estimation of time since beginning of demographic expansion. *n*, number of individuals; *Hri*, Harpending raggedness index; SSD, sum of squared deviation

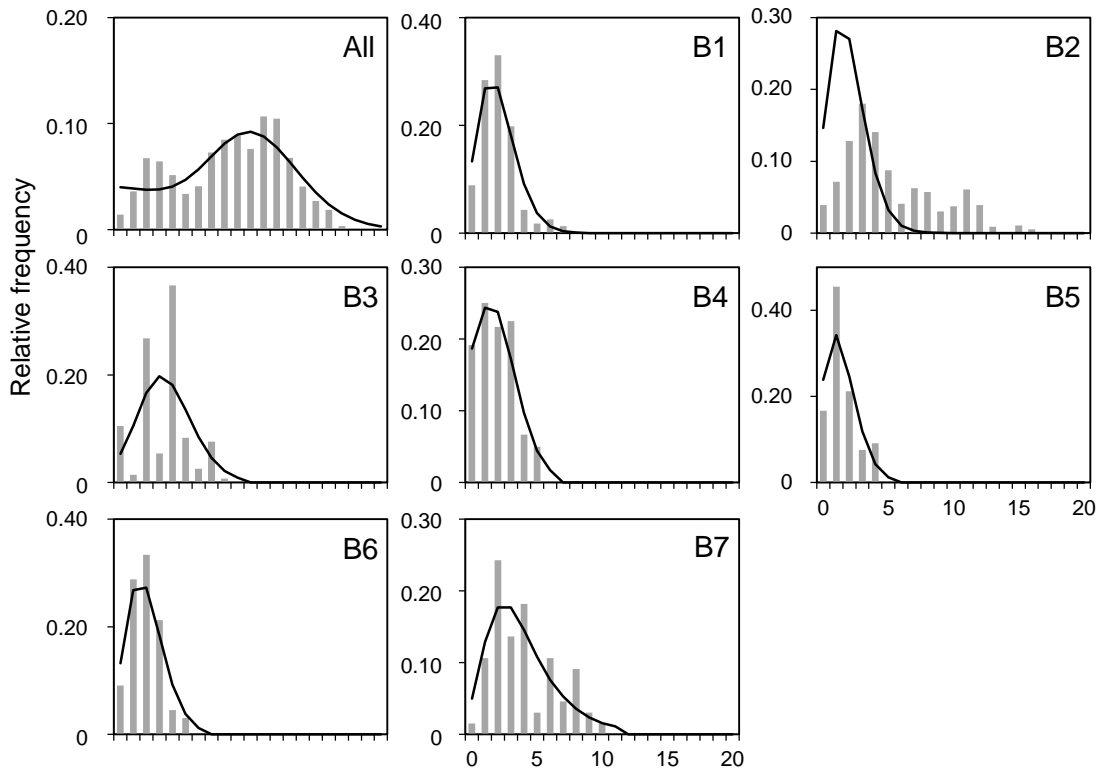
Haplotype group	<i>n</i>	Neutrality indices			MMD indices		Estimated time of expansion	
		Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i>	<i>Hri</i>	SSD	<i>t</i> (Ma) (95% CI) (cytb rate: 1.10×10^{-8})	<i>t</i> (Ma) (95% CI) (cytb rate: 1.35×10^{-8})	
<i>A. sp.</i>								
Total	172	-2.12**	-25.27**	0.013	0.0068	0.363 (0.128-0.597)	0.296 (0.096-0.487)	
A1	94	-2.57**	-28.11**	0.061	0.0019	0.092 (0.063-0.127)	0.075 (0.051-0.103)	
A2	15	-1.50*	-2.48*	0.111	0.0310	0.171 (0.000-0.368)	0.139 (0.000-0.299)	
A3	7	-1.36	-0.24	0.095	0.0097	0.110 (0.000-0.241)	0.090 (0.000-0.196)	
A4	30	-1.77*	-12.42**	0.028	0.0003	0.162 (0.076-0.222)	0.132 (0.062-0.181)	
A5	26	-1.19	-10.51**	0.008	0.0033	0.400 (0.174-0.586)	0.326 (0.142-0.477)	
<i>A. virgatulus</i>								
Total	146	-1.58*	-24.54**	0.008	0.0060	0.614 (0.285-0.895)	0.500 (0.232-0.729)	
B1	36	-2.58**	-26.98**	0.083	0.0090	0.115 (0.070-0.163)	0.093 (0.057-0.133)	
B2	34	-1.42	-12.58**	0.017	0.0975	0.109 (0.064-0.159)	0.089 (0.053-0.130)	
B3	24	-1.37	-4.80*	0.306**	0.0831*	0.216 (0.087-0.322)	0.176 (0.071-0.262)	
B4	16	-1.13	-3.10*	0.032	0.0043	0.133 (0.008-0.265)	0.108 (0.007-0.216)	
B5	12	-1.78*	-3.59*	0.169	0.0230	0.082 (0.007-0.160)	0.067 (0.005-0.131)	
B6	12	-1.09	-4.17*	0.084	0.0092	0.115 (0.035-0.202)	0.094 (0.028-0.164)	
B7	12	-0.85	-6.63**	0.079	0.0191	0.108 (0.022-0.382)	0.088 (0.018-0.312)	
<i>A. pflaumii</i>								
Total	143	-2.50**	-26.00**	0.019	0.0003	0.179 (0.138-0.280)	0.146 (0.113-0.228)	

* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$

(a) *A. sp.*



(b) *A. virgatulus*



(c) *A. pflaumii*

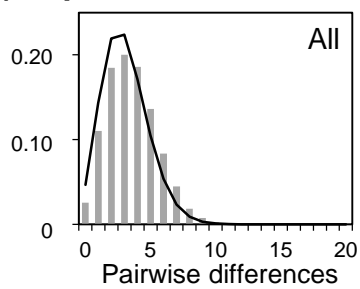


Fig. 6-7 Mismatch distributions for all individuals and each haplotype groups identified in Fig. 6-3. The observed distributions (bars) are compared for their goodness of fit to the null model of demographic expansion illustrated by solid curve

【考察】

種間および種内の遺伝的分化

各種は単系統を形成し、遺伝子浸透は検出されなかった (Fig. 6-2). この結果は、3種が互いに独立した種であるとした第2章の主張を支持している。

各種内のハプロタイプグループ間の遺伝的分化について述べる。ツマグロスジハゼとスジハゼでは、いくつかの単系統性を示すハプロタイプグループが検出された (Fig. 6-3, 6-4). 本章で扱った mtDNA は母系遺伝するため、ハプロタイプグループ間で生殖が起こっているかどうかを明らかにするには、厳密には核遺伝子を用いて確認する必要がある。しかし、ハプロタイプグループ間の遺伝的分化の程度 (ツマグロスジハゼで 0.27–1.21%, スジハゼで 0.13–1.22%) は、同じ遺伝子領域で調べた他のハゼ科魚類の種内系列間における値 (e.g. 0–4.71%, Dawson et al. 2001 ; 1.4%, Brown and Stepien 2008 ; 1.8%, Kokita and Nohara 2011 ; 1.6%, Tabata and Watanabe 2013) と同程度あるいはそれ未満であった。したがって、ツマグロスジハゼとスジハゼにおけるハプロタイプグループ間では生殖的隔離が起こるほどには系列選別が進んでいないと考えられる。また、いずれのハプロタイプグループの地理的分布も他のハプロタイプグループから完全には隔離されていないことから、両種における種内ハプロタイプグループの分岐は現在の遺伝子流動の制限によるものではなく、過去にこれらのハプロタイプグループが地理的に隔離されていた痕跡が現在まで保持されていることを示していると考えられる。

遺伝子流動の制限に影響する生態的特性

各種内の採集地点間における遺伝的分化について 3 種間で比較したところ、種間で顕著な違いが認められた。ツマグロスジハゼとスジハゼでは多くの採集地点のペア間で遺伝子流動の制限が検出され (Table 6-4a, b), 全体としても採集地点間で遺伝子流動が有意に制限されていたのに対し (Table 6-5), モヨウハゼでは北海道と他地点の間を除いた全ての採集地点のペア間で有意な遺伝子流動の制限は検出されず (Table 6-4c), 全体としても採集地点

間で有意な遺伝子流動の制限は認められなかった (Table 6-5). 3種が同所的に生息する姉妹種であることから, このような遺伝的分化の程度の種間差が系統の歴史や地域特有の海洋物理環境の違いに起因するとは考えにくい (e.g. Dawson 2012). 以下では生態的特性に焦点を当て, 採集地点間の遺伝的分化の程度との関係について検討する.

本論文では前章までに3種の生態的特性について, 成魚の分布・生息環境 (第3章), 生活史特性 (第4章), 仔稚魚の分布・分散 (第5章) を詳細に検討してきた. まず, 成魚の分布・生息環境と遺伝的集団構造との関係について考察する. 沿岸生物の分布および生息環境が遺伝的集団構造に影響を与えるという仮説は, これまでにオセアニア地域や北米を中心とした地域で, 魚類 (e.g. Rocha et al. 2002; Lourie et al. 2005; Hickey et al. 2009) やフジツボ類, 貝類, ヒトデ類などの無脊椎動物 (e.g. Marko 2004; Bird et al. 2007; Crandall et al. 2008; Ayre et al. 2009) において検証されてきた. これらの研究の中で遺伝的集団構造の形成に関わる環境として, 水深あるいは海面からの距離 (Marko 2004; Lourie et al. 2005; Bird et al. 2007; Crandall et al. 2008; Ayre et al. 2009; Hickey et al. 2009), 波当たり (Ayre et al. 2009), 塩分 (Rocha et al. 2002), 底質 (Rocha et al. 2002), 宿主 (Crandall et al. 2008) などが挙げられている. これらの環境は生息域の「開放性 (波当たりや流れの影響の大きさ)」と好適な生息環境の「特異性」という2つの要素に整理することができ, 開放性の低い環境 (潮上帯などの波当たりの小さい環境や浅場などの流れの影響の小さい環境) に生息する種ほど, また特異性の高い環境 (限られた水深帯, 塩分環境, 底質など) に局所的に生息する種ほど, 集団間の遺伝子流動が制限される傾向が認められる. その理由は, ①生息域が閉鎖的であるほど浮遊仔魚が流れの影響を受けにくいために仔魚の受動分散が制限され, ②生息環境が特異的であるほど生息域は局所的になるために他集団から分散してきた仔魚が好適な環境に遭遇する機会が少なくなるからだと考えられる. スジハゼ複合種群では, 同一湾内における生息環境とそれに伴う生息域において3種間で顕著な違いが認められた (第3章). 3種の生息環境と生息域を開放性と特異性に照らして分類すると, ツマグロスジハゼは湾奥部の浅所の淡水の影響の比較的大きい環境に, スジハゼは湾奥部の浅所の泥分の比較的少ない砂泥底に生息

していることから、これら 2 種の生息域は比較的閉鎖的で生息環境は特異性が高いと言える。このため、これら 2 種では個体の分散が小さく、採集地点間の遺伝子流動が制限されていると考えられる。一方、モヨウハゼは支湾の湾内全域及び湾口沖の水深 60 m 付近にまで分布していることから、本種の生息域は他の 2 種と比べて開放的で生息環境は特異性が低いと言える。したがって、モヨウハゼでは他の 2 種と比べて他集団への個体の分散が大きく、他集団から分散してきた仔魚が好適な環境に着底できる確率も高いために、集団間の遺伝子流動が大きくなると考えられる。このように、スジハゼ複合種群では成魚の生息域の開放性と生息環境の特異性の種間差によって個体分散の大きさに種間差が生じ、集団間の遺伝子流動の大きさの種間差につながった可能性が考えられる。

次に、スジハゼ複合種群において仔魚期の分散が実際に成魚の生息域・生息環境と遺伝的集団構造とを媒介しているのかについて、野外調査から推測された各種の仔魚期の分散の大きさとの関係から検討する。「生態的特性」と「遺伝子流動の大きさ」という 2 つの要素の間接的な関連性には「個体分散の大きさ」と各要素との関連性が仮定されている。しかし、個体分散の大きさは野外調査などの直接的な方法により推測することが難しいため、従来の研究では個体分散の大きさと各要素との関連性が直接的な根拠にもとづいて検討されることはほとんどなかった。個体分散の大きさを推測する方法として、海洋物理環境と浮遊幼生期間などの生態情報をふまえた粒子拡散シミュレーション (e.g. Schunter et al. 2011) や、仔魚の移動や生息域の連続性をも加味した受動拡散モデルによって (e.g. Cowen et al. 2006)、仔魚分散を推測した研究例はあった。しかしこれら方法を用いても、浮遊幼生期の鉛直分布など初期生態に関する情報が乏しい場合には精度の高いシミュレーション結果が得られないことも多い。本研究では、湾内に限定した野外調査によって、湾内における仔魚の水平分布を明らかにすることで、仔魚分散の大きさについて 3 種間で比較検討することができた (第 5 章)。すなわち、ツマグロスジハゼとスジハゼの仔魚は成魚と同様に内湾の湾奥部に分布が限られているのに対し、モヨウハゼの仔魚は成魚の分布境界より一層沖側に位置する内湾の湾中央部にまで出現し、浮遊仔魚期の分散の大きさはモヨウハゼにおいて他の 2 種

よりも大きいと考えられる。したがって、スジハゼ複合種群における集団間の遺伝子流動の大きさの種間差は、生息環境および生息域の違いによって生じた浮遊仔魚期における分散の大きさの種間差によってもたらされたと推察される。

沿岸生物の集団間の遺伝的分化に影響を及ぼす他の重要な生態的要因として、成熟齢、産卵期、生涯の産卵数、浮遊幼生期間などの生活史特性が挙げられる (Avisé et al. 1992; White et al. 2009)。中でも浮遊幼生期間は特に成体期の分散が小さい沿岸生物で個体分散の大きさと相関しているとされ (Doherty et al. 1995; Bohonak 1999; Taylor and Hellberg 2003; Pauley and Meyer 2006)、遺伝的集団構造の形成要因として重要視されている (e.g. Shanks et al. 2003; Lester and Ruttenberg 2005)。しかし、浮遊幼生期間の長さのみでは集団間の遺伝子流動の大きさを推測できない場合も多い (Weersing and Toonen 2009)。スジハゼ複合種群の場合にも、浮遊仔魚期間の長さは同程度であるにも関わらず (第4章)、地点間の遺伝子流動の程度には種間で顕著な差が見られた。浮遊幼生期の長さと遺伝子流動の大きさに相関がみられない理由として、浮遊幼生期の長さだけでなく幼生の能動的な移動能力 (Cowen et al. 2006) や成魚の生息環境 (Ayre et al. 2009) などの生態的特性の違いも個体分散に大きく影響していることが挙げられる。スジハゼ複合種群の場合も、種間で浮遊幼生期の長さが同程度であっても成魚の生息環境および生息域が異なっていることで個体分散の大きさに違いが生じ、遺伝子流動の程度に種間差が生じたものと考えられる。

浮遊幼生期以外の生活史特性と遺伝的集団構造との関係について考察する。成熟齢、寿命、産卵数、産卵回数は生涯の産仔数と関係しており、生涯の産仔数が大きいほど他地点の個体群への分散の成功率が高くなる可能性が指摘されている (Waples 1987)。また、成熟齢が早いほど一定期間あたりに蓄積する突然変異の数が多くなり、進化速度が大きくなることが予想されるため (Martin and Palumbi 1993; reviewed in Petit and Hampe 2006)、遺伝的集団構造に影響を及ぼすと考えられる。スジハゼ複合種群の場合、産卵回数を除いた特性については、種間で明瞭な違いは検出されなかった (第4章)。したがって、スジハゼ複合種群の遺伝的集団構造にこれらの特性が影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。産卵回数について

ては情報が不足しているものの、モヨウハゼでは産卵期の長さが他の 2 種よりも長いことから、シーズンあたりの産卵回数および生涯の産仔数が他の 2 種と比べて多い可能性があることには留意すべきである。また、産卵期の長さは個体群全体として分散した仔稚魚が好適な環境に着底できる確率と関係していると考えられる (e.g. Secor and Houde 1995)。モヨウハゼは他の 2 種よりも早期に成熟し産卵期間も長いことにより (第 4 章)、湾央部など流れの影響の大きな環境で生まれた仔魚が流向などの物理環境に恵まれて好適な環境に輸送される機会が増え、他集団への仔魚分散が一層大きくなっている可能性がある。反対に、ツマグロスジハゼとスジハゼではモヨウハゼと比べて産卵期の長さが短いことで、仮に浮遊仔魚が親の生息域から大きく分散したとしても、他の生息域に輸送してくれるような流れや好適な物理環境に遭遇する機会が少なく、1 世代あたりの他集団への仔魚分散の成功率は更に小さく抑えられると考えられる。このように、スジハゼ複合種群において生息環境・生息域に加えて産卵期の長さなどの繁殖特性が遺伝子流動の促進に関わっている可能性がある。

以上のように、スジハゼ複合種群において、集団間の遺伝子流動の大きさを単一の生態的要因によって説明することは難しく、生息環境や生活史特性の様々な要素から複合的に説明する必要があると考えられる。最後に、それらの様々な生態的特性の中で、スジハゼ複合種群の集団間の遺伝子流動の大きさに最も大きな影響を及ぼす特性が何であるのかについて議論を行う。本章のこれまでの考察の中で 3 種の集団間の遺伝子流動の違いに影響するとして挙げられた生態的特性は、主に①成魚の生息域の「開放性」、②成魚の生息域の「特異性」、③仔魚期の分散の大きさ、④産卵期の長さの 4 要素である。これらの生態的特性のうち、特に①②については数値データによって評価することができていないために、これら 4 要素の影響を数値によって客観的に比較することは現段階では不可能である。そこで、4 要素がどのようなメカニズムで遺伝子流動に関わっているのかという観点から、4 要素間で重要性を比較する。まず、①の成魚の生息域の「開放性」は、③の仔魚期の分散の大きさに大きく影響を及ぼし、仔魚の分散をとおして遺伝子流動に大きく影響を及ぼすと考えられ

る。一方、②の成魚の生息域の「特異性」は、仔魚が大きく分散した場合に仔魚が好適な環境に着底する確率に影響し、遺伝子流動の促進に補助的に関わると考えられるものの、そもそも仔魚が他の集団に分散することがほとんど無ければ、生息環境の特異性が低くても集団間の遺伝子流動は促進されないと予想される。④の産卵期の長さについても②と同様に、仔魚が大きく分散した場合に仔魚が好適な物理環境に遭遇して生残する確率に影響し、遺伝子流動の促進に補助的に関わると考えられるものの、仔魚期の分散が小さければ産卵期が長くとも集団間で遺伝子流動は大きく制限されると予想される。したがって、スジハゼ複合種群において、遺伝子流動の大きさに最も大きく影響する生態的特性は①の成魚の生息域の「開放性」であり、③の仔魚期の分散の大きさは①に応じる形で遺伝的集団構造に影響を与え、②④については①の効果を増大させることで遺伝子流動を補助的に促進させる働きがあると考えられる。

地理的な集団構造とその変遷

以上のように、ツマグロスジハゼ・スジハゼとモヨウハゼとの間では採集地点間の遺伝子流動の大きさに明瞭な違いが認められ、これには生態的特性の違いが密接に関わっていることが示唆された。一方、地理的な集団構造が強く見られたツマグロスジハゼとスジハゼの間では、SAMOVA で検出された地理的集団が類似した分布境界を有するなど集団構造に多くの共通点が認められた。種内遺伝的集団の地理的分布には、現在の海洋物理環境（物理的障壁）だけではなく、氷期間氷期サイクルなどの地史的イベントに伴う過去の海洋物理環境（物理的障壁）が関わっている。地理的な集団構造は過去および現在の物理的障壁によって形成され、ツマグロスジハゼやスジハゼのように地点間の遺伝子流動が制限されることにより、現在まで維持されていると考えられる。

以下では、特にツマグロスジハゼとスジハゼの集団構造の地理的な類似性に焦点を当て、①「現在の海流による集団間の遺伝子流動の制限」と、②「氷期間氷期サイクルに伴う海面の上下動および環境変動による集団の変遷（分断、縮小、拡大、二次的接触）」というテ

一マに分けて、スジハゼ複合種群の地理的な集団構造の形成過程について考察を行った。

①海流による集団間の遺伝子流動の制限

地理的集団の分布域が海流に大きく影響を受けることは、これまでに多くの研究で示されてきた (e.g. Burton 1998; Hickey et al. 2009; White et al. 2010)。日本列島周辺海域を流れる主要な海流の一つに対馬暖流がある。対馬暖流は主に九州南部で黒潮から分岐して生じ、対馬海峡を抜けて日本海に入った後、日本海を北上して一部は津軽海峡を抜け津軽暖流となり、残りはさらに北上を続ける。津軽暖流となって太平洋側を南下する流れは、千島列島から南下する親潮と合流して太平洋沿岸に沿って南下し、三陸沿岸付近で太平洋沿岸を北上してきた黒潮とぶつかって沿岸から離れる。対馬暖流の流路に沿って種内集団が分布している例はこれまでに魚類 (Akihito et al. 2008; Kokita and Nohara 2011; Hirase et al. 2012) や貝類 (e.g. Kojima et al. 1997; 2004; Nakano et al. 2010) などの沿岸生物で報告されてきた。本研究でもスジハゼにおいて、日本海沿岸域および太平洋沿岸の三陸以北の地点を含む集団は、他の海域との間で遺伝子流動が制限されていることが示唆された (Fig. 6-6c)。他の沿岸生物と同様にスジハゼにおいても、対馬海流と黒潮の合流点付近である三陸沿岸域以北と以南に生息する集団間では、海流が遺伝子流動の制限要因として働いていると考えられる。また、ツマグロスジハゼとスジハゼにおいて、対馬暖流の起点側である九州南部の東シナ海沿岸と黒潮流域の太平洋沿岸南部に分布する集団間でも遺伝子流動の制限が示された (Fig. 6-6b, d)。この海域においても、海流による個体分散の一方向性によって、それと異なる方向への遺伝子流動が制限されていることが集団間の遺伝子流動の制限要因となっていると考えられる (e.g. Kojima et al. 2000)。

ツマグロスジハゼでは、スジハゼと異なって、対馬暖流の影響下にある地点が1つのグループとしてまとまらなかった (Fig. 6-6a, b)。これには2つの要因が考えられる。1つは、本種の日本海側の分布の北限が秋田県 (AK) 付近であるということである (第3章)。本種の分布域の北限は冬季水温に大きく影響を受けていると考えられ (第3章)、秋田県以北への

分散は無効分散となる可能性が高い。ツマグロスジハゼの仔魚期の分散は小さいが、ごく稀にでも元の生息域の外に大きく分散した仔魚が着底し再生産するのに好適な生息域が近隣にあれば、そのような生息域を「飛び石 (stepping-stone)」のようにして利用することで、幾世代にわたって分布域を徐々に拡大していくことができると考えられる (cf. Kimura 1953)。しかし、ツマグロスジハゼの場合、日本海沿岸北部から太平洋沿岸北部までの間で生息域が途切れているために、日本海沿岸北部の集団は津軽海峡を越えて太平洋側にまで分布を拡大されなかったものと思われる。2つ目の要因として、秋田県 (AK) と京都府 (KT) にほぼ固有のハプロタイプグループ (A2) の存在がある。このハプロタイプグループの地理的分布がこの海域に限定されているために、この2つの地点と他地点との遺伝的差異が大きくなった可能性が考えられる。A2の分布域の形成過程については、以下の過去の個体群変遷についての項の中で考察する。

②氷期間氷期サイクルに伴う変遷

沿岸生物の個体群は、海進海退による生息域の分断や環境変動による生息域の拡大縮小に伴って大きく変遷することが知られている (Hewitt 1996)。ハゼ科魚類のように熱帯・亜熱帯を起源とする生物では一般に、氷期に適水温域が低緯度側に移動・縮小し、それに伴い個体群の分布も移動・縮小する。これに加え、海退に伴って海域が陸地となれば、海域を通じた遺伝子流動が途絶えることがある一方で、深い海によって隔てられていた生息域が接近することで個体群間の遺伝子流動が促進されることもある。逆に間氷期には、個体群が高緯度側にまで拡大する。これに加え、海進に伴って陸域が海域になれば、陸によって分断されていた個体群が二次的に接触することがある一方で、連続的だった生息域が深い海に隔てられて不連続的になることもある。本研究では、ツマグロスジハゼとスジハゼについて、複数回の海進海退の繰り返しに伴う個体群の変遷の一部をとらえることができた。これら2種の複数のハプロタイプグループは、突然変異率 $2.2\text{--}2.7\% / \text{Myr}$ を用いた場合に、大きくまとめて 13.3–6.7 万年前、21.6–13.2 万年前、40.0–32.6 万年前の3つの年代に爆発的に拡大し

たことが示唆された (Table 6-6). 更新世では約 10 万年の周期で氷期と間氷期を繰り返しており, 氷期の終末期 (間氷期の開始期) は年代の新しい順に 1.4 万年前 (酸素同位体ステージ MIS2 の終末期), 13.0 万年前 (MIS6 の終末期), 24.3 万年前 (MIS8 の終末期), 33.7 万年前 (MIS10 の終末期) と続くとされる (Lisiecki and Raymo 2005). 最も新しい間氷期を除いた 3 つの間氷期の開始期はそれぞれ, 2 種のハプロタイプグループの拡大開始年代とおおよそ一致しているようにも見える. ただし, これらの拡大開始年代の推定にはいくつかの問題をはらんでいるので, 本章の最後にそれらの問題点についてまとめた. しかし, 注目すべきは, 各ハプロタイプグループの形成に関わった地史的な背景において, 種間あるいは種内でいくつかの共通点を見いだせることである. 以下では, この 2 種の個体群変遷について, 特に複数のハプロタイプグループ間で共通した地理的分布に注目しながら検討する.

ツマグロスジハゼとスジハゼのハプロタイプグループは, いずれの種においても, 日本海沿岸北～中部で優占するグループ (ツマグロスジハゼでは A2, スジハゼでは B2), 日本海沿岸南部および東シナ海, 瀬戸内海沿岸で優占するグループ (A1, B1, B5, B6), 太平洋沿岸で優占するグループ (A3, B3, B4) に大別された. まず, 日本海沿岸北～中部海域と他海域とのハプロタイプグループの変遷について考察する. 日本列島周辺の海洋環境は, 更新世の氷期間氷期サイクルに伴って大きく変化した. 氷期には, 海水面低下により対馬海峡から日本海への海水流入がほとんど途絶え, 日本海は孤立状態にあったと言われている (Oba et al. 1991; Kitamura et al. 2001). さらに最終氷期最寒冷期には, 当時の日本海の表層は現在よりも低水温, 低塩分であったとされ (Oba et al. 1991; Gorbarenko and Southon 2000), 多くの沿岸生物にとって生息に不適な環境であったと推測される. このような海域の分断によって海域間で遺伝子流動が制限され, 環境変化に伴う個体群の縮小によって遺伝的浮動が強く働けば, 地理的に偏ったハプロタイプグループの形成につながる. 氷期における対馬海峡の閉塞が日本海沿岸北～中部海域とそれ以南の海域とのハプロタイプの分布の違いに影響したと考えられる例は他の複数の沿岸生物で知られており (e.g. Kojima et al. 2004; Kokita et al. 2011), ツマグロスジハゼとスジハゼにおいても同様のメカニズムが働いた可能性が考

えられる。日本海沿岸北～中部海域に優占するハプロタイプグループ (A2, B2) の分布は、2 種間で多少の違いが認められた。A2 の分布は日本海沿岸にとどまっているのに対し、B2 では太平洋沿岸北部にまで分布が広がっていた。ツマグロスジハゼにおいて日本海側で優占する系統が、太平洋沿岸北部にまで分布が広がらない理由については、各種の分布の北限と対馬海流の影響とから、前項で考察したとおりである。

次に、日本海沿岸南部・東シナ海・瀬戸内海沿岸に分布するハプロタイプグループの変遷について考察する。更新世の氷期には、海水面の低下に伴って中国東部から台湾、琉球列島、九州、朝鮮南部までが断続的な陸橋を形成し (Ota 1998; Kimura 2000)、黒潮は東シナ海にほとんど流入しなくなったと言われている (Ujii et al. 2003)。これにより、東シナ海は孤立状態となり、他海域との遺伝子流動が制限され、系統が分岐した可能性が考えられる。東シナ海の他海域からの孤立によると考えられるハプロタイプグループの地理的分布の偏りはメナダ *Chelon haematocheilus* などの沿岸性魚類においても認められる (Liu et al. 2007)。また、最終氷期最寒冷期には現在よりも 130 m 以上も海水面が下がったことで、海岸線は現在の東シナ海の大陸棚辺縁にまで後退し、当時の大陸沿岸部および五島列島、対馬、済州島間を結ぶように形成された湾の湾奥部は黄河の河口に接しており、現在の有明海や黄海に似た泥干潟のような環境であったと言われている (Xu and Oda 1999; 下山 2000)。したがって、そのような氷期に大陸辺縁部に形成された湾はツマグロスジハゼとスジハゼの個体群のレフュージアとなっていた可能性がある。ツマグロスジハゼの A1 およびスジハゼ B1 は星状型であり、これらのハプロタイプグループの分布する集団が比較的近い過去に強いボトルネックとその後の爆発的な個体数の拡大を経験していることが示唆された。これらの集団は、氷期に大陸辺縁部に形成されたレフュージアで存続し生息域の縮小に伴って個体数が減少したが、その後の間氷期における生息域の拡大に伴って東シナ海・日本海沿岸南部・瀬戸内海へと分布を広げ個体数も増加したと推測される。

瀬戸内海の個体から検出されたハプロタイプは、ツマグロスジハゼとスジハゼの両種において、太平洋沿岸に主に分布するハプロタイプグループではなく、大陸沿岸（日本海およ

び東シナ海沿岸) に主に分布するハプロタイプグループに含まれているか、そのハプロタイプグループから少数の塩基置換でつながったハプロタイプグループに含まれていた。瀬戸内海は最終氷期に海水面の低下に伴って大部分が陸地化し、間氷期に入り海水面が上昇し始めると関門海峡、紀伊水道、豊後水道を通して海水が流れ込んで再び内海となったとされる(八島 1994; 貝塚ほか 1995)。したがって、現在の瀬戸内海に主に分布するハプロタイプグループは、氷期に日本海南部から東シナ海付近で存続していた個体群が、間氷期に入って瀬戸内海への海水流入が始まると、それに伴い瀬戸内海に分布を拡大させたものと推測される。ところで、日本周辺海域で沿岸生物の遺伝的集団構造を扱った先行研究の多くでは、本研究結果と異なり、瀬戸内海の遺伝的な集団は大陸沿岸ではなく太平洋沿岸の集団と遺伝的に近いことを報告している(e.g. Kojima et al. 1997; Akihito et al. 2008; Nakano et al. 2010; Hirase et al. 2012)。一方、瀬戸内海の集団が大陸側の集団と遺伝的に近いとする報告例はほとんどないものの、アサリ *Ruditapes philippinarum* では瀬戸内海の個体群のハプロタイプの組成が日本列島沿岸域の他の地点と比べて大陸沿岸に近い(Mao et al. 2011)。瀬戸内海に分布する遺伝的集団が大陸側と太平洋側のどちらに近いかが種によって異なっている理由として、種間の生息環境の違いが関わっていると考えられる。太平洋沿岸の集団と遺伝的に近いとされる種はサザエ *Turbo cornutus*、マツバガイ *Cellana nigrolineata*、キヌバリ *Pterogobius elapoides*、チャガラ *P. elapoides*、アゴハゼ *Chaenogobius annularis* など岩礁性海岸に生息している種であるのに対し、大陸沿岸に近いとされる種はアサリや本研究で扱ったスジハゼ複合種群など内湾域の砂泥底に生息する種であるという傾向があるように思える。これと関連して、瀬戸内海の生物相について触れると、瀬戸内海の生物相は大陸沿岸のそれと類似度が高い(中坊 2013)。特に、日本の島嶼化に伴って大陸沿岸から瀬戸内海に取り残されたとされる大陸沿岸性遺存種は強内湾性の環境に生息することから、瀬戸内海の強内湾性の環境はこれらの種が関門海峡を通して瀬戸内海に進出した当時から現在に至るまで比較的安定して保たれていると考えられる(稲葉 1988)。ツマグロスジハゼとスジハゼにとって瀬戸内海への分布拡大には、紀伊水道あるいは豊後水道からの海水流入よりも関門海峡から

の海水流入に伴う内湾環境の形成が重要であったとするならば、瀬戸内海の遺伝的集団が太平洋沿岸よりも日本海沿岸および東シナ海沿岸の遺伝的集団に近いことも説明できる。

次に、瀬戸内海沿岸に分布するハプロタイプについて、ツマグロスジハゼとスジハゼとの違いに着目して考察する。ツマグロスジハゼでは瀬戸内海沿岸のハプロタイプのほとんどが日本海沿岸南部、東シナ海沿岸で優占する A1 に含まれているのに対し、スジハゼでは日本海沿岸および東シナ海で優占する 2 つのハプロタイプグループ (B1, B2) からそれぞれ少数の塩基置換でつながった瀬戸内海に固有のハプロタイプグループ (B5, B6) が形成された。このことは、瀬戸内海沿岸に現生するツマグロスジハゼの個体群は日本海沿岸南部および東シナ海沿岸の個体群からの隔離を経験していないのに対し、スジハゼでは比較的近い過去に隔離あるいは遺伝子流動の強い制限を経験した可能性を示している。これら 5 つのハプロタイプは全て現在の 1 つ前の大きな間氷期 (MIS5) に個体群拡大したと推定された (Table 6-6)。この推定が正しいとすると、少なくともそれ以前にスジハゼの B5, B6 はそれぞれ B1, B2 から隔離されたことになる。さらに、現在の B5, B6 の分布がほとんど瀬戸内海に限られていることから、B5, B6 は少なくとも最終氷期には瀬戸内海付近で他の個体群から孤立して存続していたようにも思える。しかし最終氷期には瀬戸内海はほとんど陸地化し、陸地化しなかった水域も河口域となって太平洋側に開いていたことから (八島 1994)、現在の瀬戸内海にスジハゼの当時のレフュージアとなりうる場所が残っていたとは考えにくい。後述するように拡大年代が古く見積もられている可能性を考慮すると、B5, B6 が拡大したのは最終氷期以降で、海面上昇により関門海峡から瀬戸内海に海水が流入するようになって間もない時代に日本海沿岸南部から分散してきた個体が瀬戸内海に進出し、その後「何らかの要因」で他海域との遺伝子流動が制限されたことによって日本海沿岸で優先する B1, B2 から分かれたと考えた方が適切かもしれない。アカモク *Sargassum horneri* など、他の沿岸生物においても瀬戸内海に主に遺伝的集団が形成されることが報告されており、瀬戸内海と他海域との間で個体の分散が制限されていることに起因すると考えられている (Hu et al. 2011)。ツマグロスジハゼでは日本海沿岸南部および東シナ海沿岸の個体群

からの隔離を経験していないと考えられることから、スジハゼにおいて瀬戸内海集団と日本海沿岸の集団との個体分散を制限した「何らかの要因」は、ツマグロスジハゼとスジハゼの生息環境の違いと関係している可能性がある。今後、生息環境の違いに着目して、2種間および他の沿岸性魚類との間で、瀬戸内海の遺伝的集団の起源についてさらに検討する必要がある。

太平洋沿岸中部から南部に主に分布しているハプロタイプグループ (A3, B3, B4) は、現在の紀伊水道を境にそれより西あるいは東側に分布がほとんど広がっていない点で共通している。現在の紀伊水道付近は、氷期には大河川の河口域であったことが知られている (貝塚ほか 1995)。特にスジハゼは塩分が比較的高い環境に生息しており (第3章)、氷期には、この河川の流れがこれらのハプロタイプグループの分散の障壁になった可能性が考えられる。紀伊水道を挟んだ東西の集団で遺伝的に差異が見られることはアゴハゼ *Chaenogobius annularis* など他の沿岸性魚類においても知られており (Hirase et al. 2012)、2種についても同様のメカニズムが働いているものと考えられる。

次にハプロタイプグループ A4 の形成過程について考察を行う。A4 の分布域は日本海沿岸と太平洋沿岸とに分かれている (Fig. 6-5)。また、最も祖先的なハプロタイプを除いて日本海沿岸と太平洋沿岸で共有されているハプロタイプは無い (Fig. 6-3a)。おそらく最終氷期以前のいずれかの間氷期には祖先的なハプロタイプを有する個体群が日本海沿岸中部から太平洋沿岸中部にかけて拡大し連続的に分布していたものと思われるが、以降の氷期に日本海が他の海域からほぼ孤立状態となったことで、日本海沿岸と太平洋沿岸の集団間で遺伝子流動が途絶え各集団で異なるハプロタイプが派生、分布したと推察される。

ツマグロスジハゼの琉球列島および宮城県の個体を中心としたハプロタイプグループ A5 はツマグロスジハゼ全体のハプロタイプネットワークの中心に位置することから、現存する本種の集団の中で最も祖先的な集団であると考えられる。琉球列島と宮城県周辺は、いずれもツマグロスジハゼの地理的分布の縁辺にあたる (第3章)。祖先的なハプロタイプが地理的分布の辺縁部に分布している理由として、氷期における分布域の縮小によって分布域

の縁辺部の集団が中心部の集団から孤立し、中心部で派生的なハプロタイプに置き換わり、祖先的なハプロタイプが縁辺部に残ったことが考えられる。この祖先的なハプロタイプが特定の地域で現在まで存続しえた理由として、琉球列島は氷期の海面低下時にも大陸や九州以北とつながらず (Ota 1998)、現在も大陸や九州以北と外洋域や黒潮によって隔てられているために (Ichikawa and Beardsley 2002)、琉球列島固有のハプロタイプが九州以北に拡がらず、地域特異性を維持できたことが考えられる。次に、宮城県周辺で祖先的なハプロタイプが残っている理由について、黒潮フロントとの関係から考える。黒潮フロントの位置は、氷期間氷期サイクルに伴って大きく変化し、最終氷期には現在よりも南下したことが知られており (Chinzai et al. 1987; Takemoto and Oda 1997)、当時の宮城県周辺は現在よりも寒冷であったとされる (Oba and Murayama 2004)。海水温の低下に伴い、本種の分布の北限がどこまで南下したのかは定かでないが、A5 が房総半島以南で採集された個体からはほとんど検出されないことから、房総半島以北にとどまっていた可能性がある。また、A5 のハプロタイプを持った個体は長期にわたって宮城県周辺から他地域にほとんど分散していないことが示唆された。分散が制限されていた理由については、少なくとも最終氷期から現在にかけて、黒潮フロントおよび親潮フロントはおおよそ東北沖から伊勢湾沖の間にとどまっていたこと (Oba and Murayama 2004) が関係していると考えられる。これらの海流の流域において、宮城県周辺が他地域の上流に位置することがなかったために、A5 のハプロタイプを有した個体の他地域への分散が抑えられたのだろう。

最後に、モヨウハゼの個体群変遷について検討する。モヨウハゼではハプロタイプが明瞭なグループ構造を示さなかったことから (Fig. 6-3c)、現存する個体群は過去に一度も分断を経験していないことが示唆された。先にも議論したように、最終氷期に日本海が他海域からほとんど孤立状態にあったとするならば (e.g. Oba et al. 1991)、当時の日本海に分布していた集団と他海域の集団との間で遺伝子流動が制限されていなかったとは考えにくい。また、最終氷期最寒冷期における日本海は、低水温、低塩分、貧酸素の環境であり (e.g. Gorbarenko and Southon 2000)、多くの沿岸生物にとって不適な環境であったと考えられる。

したがって、モヨウハゼにおいて、氷期には日本海側の集団が他海域の集団から隔離されたが、当時の日本海が環境が悪化したことにより絶滅し、隔離されていた痕跡が消滅してしまったのかもしれない。その場合、間氷期に入って、日本海に他海域からの海水が流入するようになると、これに乗って日本海にも分布を拡げた可能性が考えられる。モヨウハゼ以外の2種では、間氷期に個体群が日本海で存続していたことが示唆されたが、これは2種がモヨウハゼと比べて「閉鎖性」の高い環境での生育に適していることが関係しているかもしれない。また、モヨウハゼにおいて、東北の太平洋沿岸から北海道沿岸にかけての海域では祖先的なハプロタイプが出現しておらず、ハプロタイプネットワークの先端付近に位置する派生的なハプロタイプが分布している (Fig. 6-3c)。本種の現在の分布の太平洋側の北限は、青森県 (AM2) 付近であることから (第3章)、本種が生息可能な水温はこの海域の冬季水温が限界である可能性が考えられる。東北の太平洋沿岸から北海道沿岸にかけて派生的なハプロタイプが分布していることは、氷期にモヨウハゼの分布域が現在よりも寒冷な南側にシフトし、間氷期に入って東北の太平洋沿岸から北海道沿岸にも分布を拡げたことを示唆している。

以上のように、本研究ではスジハゼ複合種群の種内の個体群変遷について、主にハプロタイプネットワークの形状・ハプロタイプの地理的分布・採集地点のグループ構造などにもとづいて、定性的な推測を行った。しかし、本研究における個体群変遷の推測方法には、いくつかの問題点がある。1つ目は、個体群拡大年代の推定に用いた突然変異率が、かなり古い年代を基準として較正された数値であるという点である。最近の研究で、突然変異率の算出基準となった時代より新しい時代に生じた突然変異ほど、その変異速度が実際よりも速く見積もられることが明らかにされた (Burrige et al. 2008)。本研究で用いた突然変異率 2.2–2.4%/Myr (Harada et al. 2002) および 2.7%/Myr (Sota et al. 2005) は、それぞれ 270–250 万年前と 350 万年前の地史的イベントを基準に算出された値であり、本研究で扱う種内のハプロタイプグループの推定拡大年代よりかなり古い時代を基準としている。したがって、ミスマッチ分析から推定された各ハプロタイプグループの拡大年代は、実際よりも古く見積

もられている可能性がある。2つ目は、各ハプロタイプグループの拡大年代の推測に際して、地理的隔離などによって種内にハプロタイプグループが形成されてから現在に至るまで、各ハプロタイプグループを有する集団間に生じた交流（移住）について一切考慮していない点である。ツマグロスジハゼとスジハゼの各ハプロタイプグループは地理的に偏って分布しているものの、地理的に完全に隔離されているわけではなく、ハプロタイプグループが形成されてから現在までの間に集団間で交流があったと推察される。また、これらの拡大年代の推定方法に関する2つの問題点に加え、個体群変遷の推測全体に関わる次のような課題も残っている。本研究では、個体群の隔離や分布変遷について定性的な推測を行ったが、統計的手法にもとづいた厳密な検討は行っていない。スジハゼ複合種群の個体群変遷について、より客観的で精度の高い推測を行うためには、今後、集団間の隔離と交流とを考慮した統計的な検証を行う必要がある。

第7章 総合考察

本研究では、スジハゼ複合種群 3 種について生態的特性と遺伝的集団構造を詳細に調べ種間で比較することで、生態的特性が遺伝的集団構造の形成に果たす役割について検討した。本章では、本研究の成果をまとめ、生態的特性と遺伝的集団構造との関係について総合的に考察を行った。また、系統地理学的観点から日本列島周辺海域に生息する他の沿岸生物とスジハゼ複合種群で遺伝的集団構造を比較し、生態的特性と遺伝的集団の地理的分布の形成・維持機構について考察した。さらに、生態的特性と遺伝的集団構造との関わりをふまえて、遺伝的多様性保全を目的とした海洋保護区や管理単位の設定基準に関する提言を行った。最後に、今後の課題について整理した。

遺伝的集団構造の形成に関わる生態的特性

本研究では、第3章で、野外採集にもとづき、3種の地理的分布は大きく重なるが湾内での生息環境および生息域が「開放性」や「特異性」の点で大きく異なることを示し、第5章で、成魚の生息域に応じて浮遊仔魚の分散が種間で顕著に異なることを示した。また、第4章で、生活史特性のうち成熟齢や浮遊仔魚期間などには顕著な種間差は認められないが、成熟サイズと産卵期の長さは種間で異なることを明らかにした。最後に、第6章では、3種間で遺伝的集団構造に顕著な差が認められることを示し、前章までで明らかにしてきた生態的特性と照らし合わせることで、3種の遺伝的集団構造の形成に関わる生態的特性についての詳細な議論を行った。第6章の考察を要約すると、3種間の生態的特性および遺伝的集団構造の違いから、3種の遺伝的集団構造の形成には、生態的特性、特に生息環境・生息域および成熟サイズや産卵期の長さなどの生活史特性が密接に関わっていることが示唆された。これらの生態的特性の中でも、成魚の生息域の「開放性」は、仔魚期の分散の大きさに影響を及ぼすことで遺伝子流動の大きさに最も大きな影響を及ぼしており、生息域の「特異性」や産卵期の長さは他集団への仔魚分散の成功率に関わることで補助的に遺伝子流動の促進

に影響を及ぼしていると推察される。具体的には、ツマグロスジハゼとスジハゼは、①成魚が湾奥部に局所的に生息しているため、表層に浮上した仔魚が流れの影響を受けにくく分散が小さくなることに加え、②成熟サイズが大きく産卵期が比較的に短いため、仮に仔魚が他の個体群から分散してきたとしても、局所的な生息域に漂着する確率は比較的小さくなり、集団間の遺伝子流動が大きく制限されると考えられる。一方、モヨウハゼは、①成魚が湾奥部から湾中央部までの広範に生息しているため、湾中央部で表層に浮上した仔魚が流れの影響を比較的に受けやすく、分散が大きくなることに加え、②早期に成熟し産卵期が長期に及ぶため、分散した仔魚が他の個体群の生息域に漂着する確率は他の2種と比べて高くなり、集団間の遺伝子流動が大きくなると考えられる。

また、3種の地理的分布は大きく重なっていることから、氷期間氷期サイクルに伴って形成された物理的障壁や海洋物理環境の変化は3種が共通して経験したものと思われる。しかし、3種間で生息環境や分散の大きさが異なるために、それらの物理的障壁や環境変化によって受けた影響が種間で異なると推測される。まず、共通の物理的障壁による遺伝子流動の制限の程度が種間で異なるとすれば、集団間の遺伝的差異の程度に種間で違いにつながった可能性が考えられる。また、物理的障壁によって集団間で遺伝的差異が3種で同様に生じたとしても、物理的障壁が解消された後の集団間の遺伝子流動の大きさが種間で異なれば、種内集団の地理的分布の維持の程度に違いが生じ、遺伝的集団構造の種間差につながる。ツマグロスジハゼとスジハゼでは、現在は物理的障壁が存在しない海域においても遺伝的差異が存在することなどから、過去の物理的障壁によって生じた遺伝的集団の地理的分布が、物理的障壁が解消されたのち幾世代にもわたって個体分散が安定して制限されることで維持されてきたと考えられる。3年間という短い期間ではあるが、トウアカクマノミ *Amphiprion polymnus* の個体分散を継続的に調べた研究で、個体分散の大きさや方向は年によって変化せず安定していることが明らかにされている (Saenz-Agudelo et al. 2012)。ツマグロスジハゼとスジハゼにおいても、各種の個体分散の大きさや方向が幾世代にもわたって安定していることで、種内集団の地理的分布が保たれていると推測される。

スジハゼ複合種群における遺伝的集団構造の違いには、生息域の「開放性」の違いが最も大きな影響を及ぼし、生息域の「特異性」や産卵期の長さの違いも補助的ではあるが密接に関わっていることが示唆された。しかし、スジハゼ複合種群の遺伝的集団構造の形成によって、その他の生態的特性が重要でないということではない。他の沿岸生物と比較した場合、おそらく本研究で明らかになった生態的特性に加え、浮遊幼生期間の長さ (Bohonak 1999)、繁殖力 (Waples 1987)・成熟齢 (Petit and Hampe 2006) などの繁殖特性、遊泳能力などの行動の違い (cf. Cowen et al. 2006) といった従来報告されてきた他の生態的要因の違いも、遺伝的集団構造の違いに関わっている可能性もある。沿岸生物の遺伝的集団構造は、単一の生態的要因によって決まるのではなく、様々な生態的要因が複合的に関わっていると考えられる。したがって、資源管理や海洋保護区の設置など、種内集団間の遺伝的不均質性と遺伝子流動による集団間のつながりを検討する際には、生息域の「開放性」に重点を置きながらも、他の多くの生態的要素についても複合的に考慮する必要がある。

他の沿岸生物の系統地理との共通点・相違点と生態的特性

ツマグロスジハゼとスジハゼでは、地理的な集団構造が強く見られた。本研究で検出された種内集団の地理的分布には 2 種間で多くの共通点を見いだすことができるばかりでなく (第 6 章)、これら 2 種と同様の地理的分布を示す他の沿岸生物との間にも類似点が認められた (e.g. Kojima et al. 1997; Akihito et al. 2008; Nakano et al. 2010; Hirase et al. 2012)。さらに、本研究で検出された種内の複数集団の地理的分布は、日本列島沿岸域で種分化した近縁複数種の地理的分布とも共通点を見出すことができる (e.g. ウミタナゴ属, Katafuchi and Nakabo 2007 ; ダイナンギンポ属, Yatsu et al. 1978; Ji and Kim 2012)。これらのことは、ツマグロスジハゼとスジハゼにおいて種内集団間の遺伝的差異 (ここでは特にハプロタイプグループの分化を指す) と各集団 (ハプロタイプグループ) の地理的分布の形成・維持に関わったと考えられる要因、すなわち過去および現在の「個体分散の物理的障壁」と「個体分散を制限するような生態的特性 (たとえば局所的で流れの影響の小さな生息域や短い浮遊幼

生期)」が、他の沿岸生物の種内集団間の遺伝的差異と地理的分布、さらに近縁種間の種分化と地理的分布に影響を与えた要因と共通している可能性を示している。

このようにツマグロスジハゼ・スジハゼと他の沿岸生物の遺伝的集団構造に共通点が認められる一方で、これら2種と類似した地理的分布を示し集団構造が強く見られる他種と2種との間で、生息環境の違いに起因すると思われる非共通性も認められる(第6章)。たとえば、砂泥底に生息するツマグロスジハゼとスジハゼでは、瀬戸内海沿岸に生息する個体のハプロタイプは日本海沿岸南部あるいは東シナ海の個体に代表されるハプロタイプグループに含まれるのに対し(第6章)、岩礁性海岸に生息する複数種では瀬戸内海沿岸の個体のハプロタイプは太平洋沿岸の個体に代表されるハプロタイプグループに含まれる傾向が認められた(e.g. Kojima et al. 1997; Akihito et al. 2008; Nakano et al. 2010; Hirase et al. 2012)。このことは、瀬戸内海への分布拡大は、ツマグロスジハゼとスジハゼでは関門海峡からの海水流入に伴う内湾環境の形成に伴って起こったのに対し、岩礁性海岸に生息する種では紀伊水道、豊後水道からの海水流入に比較的大きく依存していた可能性を示している。

これらのことから、沿岸生物の遺伝的集団構造の形成・維持機構において、生態的特性は前項で述べたような遺伝子流動への影響だけでなく、地史的イベントに伴う環境変化に対する各種の系統地理学的な応答をとおして、種内集団間の遺伝的分化と各集団の地理的分布、場合によっては種分化と各種の分布と関わっていると考えられる。

遺伝的多様性保全の観点から見た海洋保護区の設置

生物多様性についての科学的知見の蓄積と、保全に対する世界的な関心の高まりを背景に、海洋保護区(Marine Protected Area)を設定することで、海洋生物の多様性を保全し生態系サービスの持続的な利用を目指す動きが世界的に活発になっている。しかし、海洋保護区の設置は、十分な生態的根拠にもとづいて行われているとは言えない。また、これまでに設置された保護区の多くが漁業重要種の資源管理を目的としたものであり、漁業重要種以外の種をも視野に入れた多様性保全を目的とした保護区の設置については、明確な基準が定

まっていないのが現状である（日本自然保護協会 2012）。本研究結果から示唆された生態的特性と遺伝的集団構造の関係にもとづき、遺伝的多様性の保全を考慮に入れた保護区の設置基準について言及する。

海洋保護区は、保護区の管理のための費用や労力、あるいは漁業、港湾事業、開発事業などの兼ね合いから、必要最低限の領域で多様性保全にとって最大限の効果が得られるように設置することが求められる。遺伝的多様性の保全の観点から見た最大限の効果とは、保護区内の遺伝的多様性が維持されるだけでなく、その区域を保護することで、保護区外の集団の遺伝的多様性までも高いレベルに維持されることである（Dawson et al. 2006）。したがって、海洋保護区を設定する区域（個体群）として、その個体群の遺伝的多様性が比較的高いレベルに保たれている、あるいは特異的な遺伝子型を保有していることに加え、メタ個体群への遺伝子の供給源となる区域を重点的に選出することが重要となる。本研究で明らかにしてきたように、沿岸生物の遺伝的集団構造は生息域の違いなどの生態的特性によって大きく異なっている。理想的には、種ごとに遺伝的集団構造を詳細に調べ、遺伝的多様性の保全に効果的な保護区を選出した上で、保全対象となる全種の保全効果を総合的に考慮して保護区を設置すべきである。しかし現実的には、費用・労力の問題や、採集によって個体群の存続に悪影響を及ぼすことへの懸念から、全ての種の遺伝的集団構造を詳細に把握することは難しい。そのため、生息域の「開放性」・「特異性」や生活史特性などの複合的な生態的特性から対象となる種を類別し、生態的特性の類似した種に対しては同様の遺伝的集団構造を仮定して対応することが次善の策として挙げられる。たとえば本研究で扱ったツマグロスジハゼやスジハゼのように、湾奥部に局所的に生息しており生息域が閉鎖的な種では、メタ個体群の分布範囲が狭く（たとえば同一湾内）、小さな地理的スケールで見ても遺伝的に不均質であると考えられる。したがって、このような種を対象に遺伝的多様性の保全をする場合には、より小さな地理的スケールごとに遺伝子供給の大きい区域（個体群）を洗い出し、その個体群を維持するのに有効な形で保護区を設ける必要がある。一方、モヨウハゼのように、湾奥から湾中央部にかけての広範に分布しており生息域が比較的開放的な

種は、小さな地理的スケールでは遺伝子流動の制限が起こりにくく、遺伝的に不均質になりにくいことが予想される。また、前者と比べると人間活動による環境変化が個体群の増減に与える影響は小さいと考えられる。したがって、このような種を対象に保護区設定をする機会は前者よりも少ないと予想されるが、これらの種を対象として保護区の設置を考える場合には、（個体群間の遺伝子流動が可能である程度に）低頻度の設置で対応可能であると推測される。現実的には、多様な遺伝的集団構造を持つ種の遺伝的多様性の保全は、漁業重要種の資源管理などの他の目的も兼ねた同一の海洋保護区によって一律に行われることが予想される。その際は、特に小さな地理的スケールで遺伝的に差異が生じる種の遺伝的多様性の保全に効果的な場所に優先的に保護区を設置するか、それらの種に対しては特別な保護区を設置するなどの措置が必要であると考えられる。

スジハゼ複合種群など、多くの内湾域に出現し大きな個体群を形成するハゼ科魚類については、種多様性の保全という観点からは保全対象にならないことが多い。しかし、そのような普通種においても、集団間の遺伝子流動が制限されているような集団では、小さな地理的スケールで固有の遺伝子型をもった個体群が絶滅する可能性がある。その場合、遺伝的多様性の保全という観点から、小さな地理的スケールごとに保全対象として保護区を設定することが望ましい。スジハゼ複合種群のように普遍的なハゼ科魚類は、多くの高次消費者の重要な餌資源になるなど、生態系の中での重要な役割を果たしていると考えられる。遺伝的多様性は、生態系の安定性にも影響を及ぼしうることが報告されており (Hughes et al. 2008)、普遍的な種に対しても遺伝的多様性を保全することで、生態系サービスの持続的な利用につながるだろう。

今後の課題

本研究では、地理的分布の類似した近縁種 3 種について生態的特性と遺伝的集団構造を詳細に調べて種間で比較することで、3 種の遺伝的集団構造の形成に関わる生態的特性について明快に示すことができた。しかし、以下に挙げるような点が課題として残っている。

①まず、第2章でも述べたように、スジハゼ複合種群には分類学的検討が必要である。明仁ほか(2013)では、3種は互いに形態的差異により区別される種として扱われ、3種に標準和名が与えられたが、ツマグロスジハゼの学名は未決定で、また他の2種についても関連する名義種全てが検討されているわけではない。本研究により、3種は遺伝的にも独立した種であることが示された。今後、名義種のタイプ標本との形態学的比較を含めた分類学的再検討が必要である。

②次に、本研究で扱った種数は3種であり、本研究で得られた生態的特性と遺伝的集団構造との関係が他の沿岸生物にも当てはまるのかなど、普遍性を示すには至っていない。

③また、海洋保護区や管理単位の設定など他集団との遺伝子流動を予測する際、あるいは沿岸生物を生態的特性にもとづいて類別する際には、各種の生態的特性を客観的に示す数値データが必要となる。これまでにも、海洋物理環境から構築した流動モデルや(e.g. Miyake et al. 2010)、物理環境に加え仔魚の移動や生息域の連続性や大きさなどを想定した受動拡散モデルによって、仔魚分散を推測した研究例はあった(e.g. Cowen et al. 2006)。しかし、個体分散に密接に関わっていると考えられる生息域が受ける流れの影響や面積、生息域間の距離について、種ごとに具体的な数値を算出し遺伝的集団構造との関係を検討した研究は世界的にも例がない。本研究においても、生息環境については具体的な数値を得られたものの、生息域に関する要素については数値による評価ができていない。生息域が受ける流れの影響については、開放度(e.g. Bekkby and Isæus 2008)や湾の階層性(e.g. Arakida et al. 2011)によって評価することが可能である。また、生息域の面積や生息域間の距離については、各種の分布情報を用いて分布モデルを構築し、3種の潜在的な生息地図を作成することによって概算できる(cf. Elith and Leathwick 2009)。これらの手法を用いて生息域を客観的に評価することで、保全などの応用研究に役立つと考えられる。

④さらに、生息環境や生息域に加えて生活史や行動などの生態的特性を複合的に考慮する際に、どのような基準で生物を類別するのかについては、世界的に見ても明確な基準はない。

今後、扱う種数や焦点となる生態的特性を増やすとともに、生態的特性を客観的に評価し、
遺伝的集団構造の形成・維持機構の中で各生態的特性が単独で、あるいは複合的に果たす役
割について理解を深める必要がある。

要約

1. 緒言

海洋生物の生息域は連続的ではなく、さまざまな物理的要因によって集団間の個体分散が制限され、遺伝子流動が制限されることで集団間に遺伝的差異が生じる。この遺伝的集団構造は遺伝的多様性に密接に関わっており、種内集団間および集団内の遺伝的多様性の保全には、遺伝的集団構造を把握し、その形成機構を解明することが不可欠である。遺伝的集団構造は、共通の物理的障壁の下でも、生態的特性の違いによって種間で異なることがあるが、生態的特性が遺伝的集団構造の形成に与える影響についての知見は乏しい。

本研究では、日本列島周辺海域に広く生息しているハゼ科魚類の「スジハゼ *Acentrogobius pflaumii*」に着目した。「スジハゼ」には形態的および生態的に異なる3タイプの存在が指摘されてきた。この3タイプは同所的に生息していることも多く、3タイプが別種であることが示されれば、生態的特性と遺伝的集団構造の関係を検討するのに適した材料となりうる。本研究では、3タイプが別種であることを検証した上で、3種をモデル生物として各種の生態的特性と遺伝的集団構造を詳細に調べ種間で比較することにより、沿岸性魚類において生態的特性が遺伝的集団構造の形成に与える影響について明らかにすることを目的とした。

2. 分類学的地位

形態的差異で区別される「スジハゼ」3タイプが独立した種であることを検証するため、宮城県、京都府、鹿児島県でそれぞれ同所的に採集された各種計32個体、総計96個体を用い、ミトコンドリアDNAのCOI領域の部分配列約500bpを決定した。ハプロタイプ系統樹を作成したところ、各種は相互に単系統となり、平均塩基置換率は種内で0.4–0.6%、種間で8.6–15.5%であった。同所的な生息地において生殖的隔離が存在することから、3タイプは互いに完全に異なる繁殖集団に属する別種であることが確認された。現在、この3種はツマグロスジハゼ *Acentrogobius* sp., スジハゼ *A. virgatulus*, モヨウハゼ *A. pflaumii* という名で

扱われている。

次に、後の章で扱う 3 種の仔魚など、形態的特徴から種同定することが難しい標本に対する簡便な遺伝的種判別を開発することを目的とし、上記の遺伝的差異にもとづき各種に特異的な下流プライマーを設計した。これらの種特異的プライマーと共通の上流プライマーとを併用して PCR を行った (MHS-PCR 法)。その結果、各種で異なる長さの DNA 断片が増幅され、日本産の同属他種などでは増幅が認められなかったことなどから、本手法が 3 種の簡便かつ迅速で安価な遺伝的種判別法として有効であることが示された。

3. 成魚の分布と生息環境

日本列島沿岸域におけるスジハゼ複合種群各種の地理的分布を明らかにするため、3 種の網羅的な採集調査を行った。その結果、3 種の分布域は東北から九州にいたる広域で重なるが、ツマグロスジハゼは他の 2 種と比べ南寄りの分布を示し琉球列島にも分布していることが分かった。

次に、同一湾内における各種の生息域を調べるため、若狭湾西部海域をモデルフィールドとして、3 種の分布調査を行った。また、生息環境を精査することを目的とし、冬季と夏季に、若狭湾の支湾である舞鶴湾において 3 種の定量採集と詳細な環境測定を行った。3 種の分布と、実測した環境から求めた「実測変数」(水深・塩分・泥分率など 10 変数) および採集地点の地形データから算出した「地形変数」(水深・海底勾配・淡水の指標の 3 変数) との関係が多変量解析によって調べた。その結果、同一湾内での 3 種の生息環境および生息域は顕著に異なっており、季節や成長段階によらず、ツマグロスジハゼは湾奥部の小河川河口域など淡水の影響が大きく泥分が多い浅場に、スジハゼは湾奥部の泥分が比較的少ないアマモ場などの浅場にそれぞれ生息するのに対し、モヨウハゼは湾奥部から湾中央部にかけての泥分が多い幅広い水深範囲に生息する傾向が認められた。このことから、ツマグロスジハゼとスジハゼの生息域は閉鎖性の高い環境に局所的に形成されるのに対し、モヨウハゼの生息域は閉鎖性の高い環境から比較的低い環境までの広範囲に形成されることが示唆され

た.

4. 生活史

スジハゼ複合種群各種の生活史特性を明らかにし種間で比較することを目的とし、舞鶴湾内において定期的に3種を採集し、体長組成や繁殖特性を調べた。その結果、寿命、成熟年齢、産卵期、浮遊仔魚期間では3種で顕著な違いはなく、いずれの種においても、春から夏に生まれ、約2か月間の浮遊仔魚期を経て夏から秋に着底し、翌年に産卵に参加した後、多くの個体が斃死するが、少数の個体が翌々年の産卵期まで生残することが分かった。生涯の産卵数についても、野外で採集された雌の孕卵数と飼育実験で得られた産卵回数とから種間で大きくは異なる可能性が示唆された。一方、成熟サイズと産卵期の長さについては種間で差異が認められ、ツマグロスジハゼとスジハゼに比べモヨウハゼの成熟サイズは小さく産卵期が長期に及んだ。このような種間差は成魚の生息域によって仔魚の好適な環境への遭遇率が異なることと関係すると推察される。すなわち、ツマグロスジハゼとスジハゼではモヨウハゼと比べ産卵期が短くても、流れの影響を受けにくい湾奥部で産卵するため、仔魚が親の生息域周辺の好適な環境に着底できる確率は高いと考えられる。一方、モヨウハゼでは他の2種と比べて産卵期が長いことで、流れの影響を受けやすい湾中部で産卵する個体においても、仔魚が好適な環境に遭遇する確率が高く保たれている可能性が考えられる。

5. 仔魚の分布と分散

スジハゼ複合種群の仔稚魚の耳石輪紋の日周性を検証するため、孵化時から飼育した3種の仔稚魚の日齢と扁平石の輪紋数を比較した。その結果、扁平石の輪紋数は日齢と対応していたことから、扁平石の輪紋計数は3種の仔稚魚の日齢推定に有効であることが示された。

次に、3種の仔魚期の分散機構を明らかにし分散の大きさを種間で比較するため、若狭湾西部海域において各種の仔魚の成長段階ごとの水平分布および日周鉛直分布を調べた。採

集した仔魚標本は、第2章で開発した遺伝的手法により種判別を行った後、耳石解析により日齢を査定した。水平分布調査の結果、ツマグロスジハゼとスジハゼの仔魚は舞鶴湾の湾奥部でのみ採集され、成魚の分布と概ね一致していたのに対し、モヨウハゼの仔魚は舞鶴湾内の全域および若狭湾の湾奥部にまで出現し、成魚よりさらに沖側でも分布が確認された。また、日周鉛直分布調査の結果、3種ともに孵化後約1週間までの初期仔魚は日中に底層、夜間に全層に出現したが、後期仔魚は昼夜をとおして底層に出現する傾向が認められた。これらの結果から、3種は同様の日周鉛直分布を示すが、ツマグロスジハゼとスジハゼの仔魚は浮遊仔魚期をとおして比較的流れの影響の小さな湾奥部に分布しているために分散が小さくなるのに対し、モヨウハゼの初期仔魚は沖方向への流れの影響を受けやすい湾奥部の表層から中層にも分布しているために、個体群全体の沖方向への分散は他の2種と比較して大きくなると推察される。

6. 遺伝的集団構造とその形成に関わる生態的特性

スジハゼ複合種群の遺伝的集団構造を調べるため、日本列島周辺海域の約20地点でほぼ同所的に採集された3種の標本を用い、ミトコンドリアDNAの *cyt b* 領域の部分塩基配列800 bp を決定した。ツマグロスジハゼとスジハゼでは地点間の遺伝子流動が有意に制限され (Φ_{ST} : 0.286, 0.157)、地理的な集団構造が強く見られた (Φ_{CT} : 0.348, 0.222)。ツマグロスジハゼとスジハゼとの間で遺伝的集団構造が類似していたことから、現在の海流や氷期の海退時に形成された陸橋などの共通の物理的障壁によって2種の種内系列が同様に分岐した可能性がある。一方、モヨウハゼでは地点間の遺伝子流動に有意な制限は認められず (Φ_{ST} : 0.012)、地理的な集団構造もほとんど見られなかった (Φ_{CT} : 0.062)。モヨウハゼではハプロタイプが明瞭なグループ構造を示さなかったことから、現存する個体群は過去に一度も物理的障壁による分断を経験していないことが示唆された。これらの結果から、スジハゼ複合種群において、遺伝的集団構造の形成には各種の生息域および産卵期の長さが仔魚期の分散をとおして影響を及ぼしていることが示唆された。すなわち、湾奥部に局所的に生息し産

卵期が比較的短いツマグロスジハゼとスジハゼでは、仔魚期の分散が小さく仮に他集団から分散してきた仔魚がいたとしても好適な環境に着底する確率が低いために、集団間の遺伝子流動が制限され各種内集団に特有の地理的分布が保たれているものと考えられる。一方、湾奥部から湾央部までの広範に生息し産卵期が長いモヨウハゼでは、仔魚期の分散が大きく他集団から分散してきた仔魚が好適な環境に比較的たどり着きやすいために、集団間の遺伝子流動が大きくなり遺伝的特性の地理的な偏りが小さくなると考えられる。

7. 総合考察

沿岸生物の遺伝的集団構造の形成・維持機構には、単一の生態的要因ではなく、生活史特性、生息環境、行動などの様々な要因が複合的に関わっていると考えられる。したがって、遺伝的多様性保全の観点から資源の管理単位の設定や海洋保護区の設置を行う際など、種内集団間の遺伝的差異と遺伝子流動による集団間のつながりを考慮するときには、様々な生態的側面から対象種の遺伝的集団構造を検討する必要がある。

謝辞

徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部の乾隆帝博士には、標本採集において多大なご協力を賜りました。また、研究遂行の際や本論文をまとめるにあたり、終始懇切なご指導と貴重なご意見をいただき、本論文第3章のGISを用いた地形変数の算出をご担当いただきました。心より感謝申し上げます。

標本のご提供、採集へのご協力をいただき、スジハゼ複合種群の採集環境や関連文献について貴重な情報を賜りました。荒尾一樹氏（三河淡水生物ネットワーク）、平嶋健太郎氏（和歌山県立自然博物館）に深く感謝いたします。

また、標本のご提供で本研究を支えてくださいました小路淳准教授（広島大学生物圏科学研究科附属瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター竹原ステーション）、元同ステーションの毛利紀恵氏、郭又哲教授（慶尚大学）、出羽慎一氏（ダイビングサービス海案内）、前田健博士（沖縄科学技術研究基盤整備機構）、山崎望氏（沖縄県）、富山毅博士（元福島県水産試験場、現広島大学生物圏科学研究科）、日比野学博士（愛知県水産試験場）、有山啓之博士・日下部敬之博士・佐野雅基氏・大美博昭氏（大阪府立環境農林水産総合研究所水産技術センター）、太田武行氏（鳥取県水産試験場）、勢村均博士（島根県水産技術センター）、桑原正樹氏（島根県漁業協同組合）、内田喜隆氏（山口県水産研究センター）、大河俊之氏（高知県水産試験場）に心からの謝意を表します。

京都大学大学院農学研究科海洋生物増殖学分野、および同研究科海洋生物環境学分野の教職員、学生の皆様には、本研究に対する活発な議論の中で、多くの貴重なご意見をいただきました。深く感謝いたします。同研究科海洋生物環境学分野の荒井修亮教授には、本論文をご校閲いただき、数々の有益なご意見を賜りました。また、同研究科海洋生物増殖学分野の中山耕至助教には、分子実験やデータ解析について懇切なご指導を賜り、本研究の遂行や本論文の執筆にあたって数々の有意義なご助言、ご意見をいただきました。厚く御礼申し上げます。

京都大学フィールド科学教育研究センター舞鶴水産実験所の教職員、スタッフ、研究員、学生諸氏には、調査にご協力いただくとともに、日頃から有意義な議論の機会を設けていただきました。誠にありがとうございました。元 同実験所の秋山諭氏（現 大阪府立環境農林水産総合研究所水産技術センター）には、若狭湾での採集調査・環境観測において甚大なるご協力をいただき、研究遂行にあたって多くの助言を賜るなど、様々な場面で研究生活を支えていただきました。また、同実験所の澤田英樹博士には、データ解析や研究内容について丁寧で適切なお教示とご助言を賜り、本論文の一部についてご校閲いただきました。同実験所の益田玲爾准教授には、潜水調査や飼育に際してご指導とご協力をいただき、また本論文のご校閲をしていただき、多くの有益なご助言を賜りました。同実験所の上野正博助教には、若狭湾における乗船調査に際して根気強く指揮・操船をしていただき、また数々の貴重なご意見を賜りました。そして、同実験所の甲斐嘉晃助教には、研究遂行や論文執筆にあたり、いつも親身になって相談に乗っていただき懇切なご指導とご鞭撻を賜りました。心より感謝申し上げます。

最後に、本研究を行う機会を与え、終始温かなご支援とご指導を賜りました京都大学フィールド科学教育研究センターの山下洋教授に、深い感謝の意を表します。

引用文献

- 相澤康・滝口直之 (1999) MS-Excel を用いたサイズ度数分布から年齢組成を推定する方法の検討. 水産海洋研究 62:205–214
- 明仁・坂本勝一・池田祐二・岩田明久 (2000) ハゼ亜目. 中坊徹次 (編) 日本産魚類検索 全種の同定, 第二版. 東海大学出版会, 神奈川, pp 1139–1310
- Akihito, Iwata A, Kobayashi T, Ikeo K, Imanishi T, Ono H, Umehara Y, Hamamatsu C, Sugiyama K, Ikeda Y, Sakamoto K, Fumihito A, Ohno S, Gojobori T (2000) Evolutionary aspects of gobioid fishes based upon a phylogenetic analysis of mitochondrial cytochrome *b* genes. *Gene* 259:5–15
- Akihito, Fumihito A, Ikeda Y, Aizawa M, Makino T, Umehara Y, Kai Y, Nishimoto Y, Hasegawa M, Nakabo T, Gojobori T (2008) Evolution of Pacific Ocean and the Sea of Japan populations of the gobiid species, *Pterogobius elapoides* and *Pterogobius zonoleucus*, based on molecular and morphological analyses. *Gene* 427:7–18
- 明仁・坂本勝一・池田祐二・藍澤正宏 (2013) ハゼ亜目. 中坊徹次 (編) 日本産魚類検索 全種の同定, 第三版. 東海大学出版会, 神奈川, pp 1347–1608
- Arakida H, Mitsuhashi H, Kamada M, Koyama K (2011) Mapping the potential distribution of shorebirds in Japan the importance of landscape-level coastal geomorphology. *Aquat Conserv* 21:553–563
- Avisé JC (1992) Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos* 63:62–76
- Avisé JC (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 447 pp
- Ayre DJ, Minchinton TE, Perrin C (2009) Does life history predict past and current connectivity for rocky intertidal invertebrates across a marine biogeographic barrier? *Mol. Ecol.* 18:1887–903
- Bardacki F, Skibinski DOF (1994) Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification. *Heredity* 73:117–123
- Begon M, Harper JL, Townsend CR (2003) 生活史の多様性. 堀道雄 (監訳) 生態学. 京都大学学術出版会, 京都, pp 615–664
- Bekkby T, Isæus M (2008) Mapping large, shallow inlets and bays: modelling a Natura 2000 habitat with digital terrain and wave-exposure models. *ICES J Mar Sci* 65:238–241
- Bell KN, Pepin P, Brown JA (1995) Seasonal, inverse cycling of length and age at recruitment in the diadromous gobies *Sicydium punctatum* and *Sicydium antillarum* in Dominica, West Indies. *Can J Fish Aquat Sci* 52:1535–45
- Banse K (1986) Vertical distribution and horizontal transport of planktonic larvae of echinoderms and benthic polychaetes in an open coastal sea. *Bull Mar Sci* 39:162–175
- Bird CE, Holland BS, Bowen BW, Toonen RJ (2007) Contrasting phylogeography in three endemic

- Hawaiian limpets (*Cellana* spp.) with similar life histories. *Mol Ecol* 16:3173–3186
- Bohonak AJ (1999) Dispersal, gene flow, and population structure. *Q Rev Biol* 74:21–45
- Bradbury IR, Snelgrove PVR (2001) Contrasting larval transport in demersal fish and benthic invertebrates: the roles of behaviour and advective processes in determining spatial pattern. *Can J Fish Aquat Sci* 58:811–823
- Brett JR (1956) Some principles in the thermal requirements of fishes. *Q Rev Biol* 31:75–87
- Bremer JRA, Ditty JG, Turnera JS, Saxton BL (2010) Molecular species identification of commercially important penaeid shrimp from the Gulf of Mexico using a multiplex haplotype-specific PCR assay. *Biochem Syst Ecol* 38:715–721
- Brenner J, Jiménez JA, Sardá R (2010) Environmental indicators GIS of the Catalan coast. In: Green DR (ed) *Coastal and Marine Geospatial Technologies, Coastal Systems and Continental Margins* 13. Springer-Verlag, London, pp 359–370
- Brewer GD, Kleppel GS (1986) Diel vertical distribution of fish larvae and their prey in nearshore waters of southern California. *Mar Ecol Prog Ser* 27:217–226
- Brown JE, Stepien CA (2008) Ancient divisions, recent expansions: phylogeography and population genetics of the round goby *Apollonia melanostoma*. *Mol Ecol* 17:2598–2615
- Burridge CP, Craw D, Fletcher D, Waters JM (2008) Geological dates and molecular rates: fish DNA sheds light on time dependency. *Mol Biol Evol* 25:624–633
- Burton RS (1998) Intraspecific phylogeography across the Point Conception boundary. *Evolution* 52:734–745
- Chinzei K, Fujioka K, Kitazato H, Koizumi I, Oba T, Oda M, Okada H, Sakai T, Tanimura Y (1987) Postglacial environmental change of the Pacific Ocean off the coasts of central Japan. *Mar Micropaleontol* 11:273–291
- Clarke KR, Gorley RN (2001) *PRIMER v5: user manual/tutorial*. PRIMER-E, Plymouth, pp 91
- Clement M, Posada D, Crandall K (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol Ecol* 9:1657–1660
- Cowen RK, Paris CB, Srinivasan A (2006) Scaling of connectivity in marine populations. *Science* 311:522–527
- Cowen RK, Sponaugle S (2009) Larval dispersal and marine population connectivity. *Annu Rev Mar Sci* 1:443–466
- Crandall ED, Jones M, Muñoz MM, Akinronbi B, Erdmann MV, Barber PH (2008) Comparative phylogeography of two seastars and their ectoparasites within the Coral Triangle. *Mol Ecol* 17:5276–90
- Cronin TW, Forward RB (1986) Vertical migration cycles of crab larvae and their role in larval dispersal. *Bull Mar Sci* 39:192–201
- 第八管区海上保安本部水路部 (1999) 舞鶴湾の海況 .
<http://www1.kaiho.mlit.go.jp/KAN8/kaikyo/kaikyo.pdf> (参照 2013-12-30)

- Dame RF, Allen DM (1996) Between estuaries and the sea. *J Exp Mar Biol Ecol* 200:169–185
- Dawson MN (2001) Phylogeography in coastal marine animals: a solution from California? *J Biogeogr* 28:723–736
- Dawson MN, Staton JL, Jacobs DK (2001) Phylogeography of the tidewater goby, *Eucyclogobius newberryi* (Teleostei, Gobiidae), in coastal California. *Evolution* 55:1167–1179
- Dawson MN, Grosberg RK, Botsford LW (2006) Connectivity in marine protected areas. *Science* 313:43–44
- Dawson MN (2012) Parallel phylogeographic structure in ecologically similar sympatric sister taxa. *Mol Ecol* 21:987–1004
- Dean WE (1974) Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods. *J Sedim Petrol* 44:242–248
- DeWoody JA, Avise JC (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater, and anadromous fishes compared with other animals. *J Fish Biol* 56:461–473
- Doherty PJ, Planes S, Mather P (1995) Gene flow and larval duration in 7 species of fish from the Great Barrier Reef. *Ecology* 76:2373–2391
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol Ecol* 11:2571–2581
- Durand JD, Diatta MA, Diop K, Trape S (2010) Multiplex 16S rRNA haplotype-specific PCR, a rapid and convenient method for fish species identification: an application to West African Clupeiform larvae. *Mol Ecol Resour* 10:568–572
- Elith J, Leathwick JR (2009) Species distribution models: ecological explanation and prediction across scales. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 40:677–697
- Ellstrand NC, Elam DR (1993) Population genetics of small population size: implications for plant conservation. *Annu Rev Ecol Syst* 23:217–242
- Eme J, Bennett WA (2008) Low temperature as a limiting factor for introduction and distribution of Indo-Pacific damselfishes in the eastern United States. *J Therm Biol* 33:62–66
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Res* 10:564–567
- Fortier L, Leggett WC (1983) Vertical migrations and transport of larval fish in a partially mixed estuary. *Can J Fish Aquat Sci* 40:1543–1555
- Forward RB, Tankersley RA (2001) Selective tidal-stream transport of marine animals. *Oceanogr Mar Biol* 39:305–353
- Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915–925
- Fuji T, Kasai A, Suzuki KW, Ueno M, Yamashita Y (2010) Freshwater migration and feeding habits of juvenile temperate seabass *Lateolabrax japonicus* in the stratified Yura River estuary, the

- Sea of Japan. Fish Sci 76:643–652
- Gehrke (1992) Diel abundance, migration and feeding of fish larvae (Eleotridae) in a floodplain billabong. J Fish Biol 40:695–707
- Goldstien SJ, Schiel DR, Gemmell NJ (2006) Comparative phylogeography of coastal limpets across a marine disjunction in New Zealand. Mol Ecol 15:3259–3268
- Gorbarenko SA, Southon JR (2000) Detailed Japan Sea paleoceanography during the last 25 kyr: constraints from AMS dating and $\delta^{18}\text{O}$ of planktonic foraminifera. Paleogeogr Paleoclimatol Paleoecol 156:177–193
- Graham JJ (1972) Retention of larval herring within the Sheepscot estuary of Maine. US Fish Bull 70:299–305
- Harada S, Jeon SR, Kinoshita I, Tanaka M, Nishida M (2002) Phylogenetic relationships of four species of floating gobies (*Gymnogobius*) as inferred from partial mitochondrial cytochrome b gene sequences. Ichthyol Res 49:324–332
- Hare MP, Palumbi SR, Butman CA (2000) Single-step species identification of bivalve larvae using multiplex polymerase chain reaction. Mar Biol 137:953–961
- Heath MR, Henderson EW, Baird DL (1988) Vertical distribution of herring larvae in relation to physical mixing and illumination. Mar Ecol Prog Ser 47:211–228
- Hellberg ME (2009) Gene flow and isolation among populations of marine animals. Annu Rev Ecol Evol Syst 40:291–310
- Hernaman V, Munday PL, Schappy ML (2000) Validation of otolith growth-increment periodicity in tropical gobies. Mar Biol 137:715–726
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. Biol J Linn Soc 58:247–276
- Hickey AJR, Lavery SD, Hannan DA, Baker CS, Clements KD (2009) New Zealand triplefin fishes (family Tripterygiidae): contrasting population structure and mtDNA diversity within a marine species flock. Mol Ecol 18:680–696
- Hirase S, Ikeda M, Kanno M, Kijima A (2012) Phylogeography of the intertidal goby *Chaenogobius annularis* associated with paleoenvironmental changes around the Japanese Archipelago. Mar Ecol Prog Ser 450:167–179
- Horinouchi M (2007) Distribution patterns of benthic juvenile gobies in and around seagrass habitats: effectiveness of seagrass shelter against predators. Estuar Coast Shelf Sci 72:657–664
- Horinouchi M (2008) Patterns of food and microhabitat resource use by two benthic gobiid fishes. Environ Biol Fish 82:187–194
- Hu ZM, Uwai S, Yu SH, Komatsu T, Ajisaka T, Duan DL (2011) Phylogeographic heterogeneity of the brown alga *Sargassum horneri* (Fucaee) in the northwestern Pacific in relation to late Pleistocene glaciation and tectonic configurations. Mol Ecol 20:3894–3909
- Hughes AR, Inouye BD, Johnson MTJ, Underwood N, Vellend M (2008) Ecological consequences of

- genetic diversity. *Ecol Lett* 11:609–623
- Hunter JR, Sanchez C (1976) Diel changes in swim bladder inflation of the larvae of the northern anchovy *Engraulis mordax*. *Fish Bull US* 74:847–55
- Ichikawa H, Beardsley RC (2002) The current system in the Yellow and East China seas. *J Oceanogr* 58:77–92
- Iglesias M, Brothers EB, Morales-Nin B (1997) Validation of daily increment deposition in otoliths. Age and growth determination of *Aphia minuta* (Pisces: Gobiidae) from the northwest Mediterranean. *Mar Biol* 129:279–287
- 稲葉明彦 (1988) 増補改訂 瀬戸内海の生物相 II. 広島大学理学部付属向島臨海実験所, 475 pp
- Inui R, Shinada Y, Ohata T, Ihara T, Oura H, Onikura N (2011) Differences in the spawning habitats of 2 *Acentrogobius* species (Teleostei: Gobiidae) in Kyushu, Japan. *Biogeography* 13:35–39
- Jahn AE, Lavenberg RJ (1986) Fine-scale distribution of near-shore, suprabenthic fish larvae. *Mar Ecol Prog Ser* 31:223–231
- Ji HS, Kim JK (2012) A new species of prickleback, *Dictyosoma tongyeongensis* (Perciformes: Stichaeidae) from the South Sea of Korea. *Zootaxa* 3569:55–66
- Johannesson K, André C (2006) Life on the margin: genetic isolation and diversity loss in a peripheral marine ecosystem, the Baltic Sea. *Mol Ecol* 15:2013–2029
- 貝塚爽平・成瀬洋・太田陽子・小池一之 (1995) 新版 日本の自然 4 日本の平野と海岸. 岩波書店, 東京, 248 pp
- 環境庁水質保全局水質管理課 (1988) 改訂版 底質調査方法とその解説. 日本環境測定分析協会, 東京
- Kanou K, Sano M, Kohno H (2005) Larval and juvenile fishes occurring with flood tides on an intertidal mudflat in the Tama River estuary, central Japan. *Ichthyol Res* 52:158–164
- Katafuchi H, Nakabo T (2007) Revision of the genus *Ditrema* (Embiotocidae) from East Asia. *Ichthyol Res* 54:350–366
- Kavanagh KD, Haugen TO, Gregersen F, Jernvall J, Vøllestad LA (2010) Contemporary temperature-driven divergence in a Nordic freshwater fish under conditions commonly thought to hinder adaptation. *BMC Evol Biol* 10:350
- Kawaguchi A, Miya M, Nishida M (2001) Complete mitochondrial DNA sequence of *Aulopus japonicus* (Teleostei: Aulopiformes), a basal Eurypterygii: longer DNA sequences and higher-level relationships. *Ichthyol Res* 48:213–223
- Kelly RP, Palumbi SR (2010) Genetic structure among 50 species of the northeastern Pacific rocky intertidal community. *PLoS ONE* 5:e8594
- Kendall AW Jr, Naplin N A (1981) Diel depth distribution of summer ichthyoplankton in the Middle Atlantic Bight. *Fish Bull* 79:705–726
- Kendall AW Jr, Ahlstrom EH, Moser HG (1984) Early life history stages of fishes and their characters.

- In: Moser HG, Richards WJ, Cohen DM, Fahay MP, Kendall AW Jr, Richardson SL (eds) Ontogeny and systematics of fishes. Special Publication Number 1, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, pp 11–22
- Kimura M (1953) Stepping-stone model of population. Annual Report of the National Institute of Genetics, Japan 3:62–63
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol 16:111–120
- Kimura M (2000) Paleogeography of the Ryukyu Islands. Tropics 10:5–24
- Kinlan BP, Gaines SD (2003) Propagule dispersal in marine and terrestrial environments: a community perspective. Ecology 84:2007–2020
- Kitamura A, Takano O, Takata H, Omote H (2001) Late Pliocene-early Pleistocene paleoceanographic evolution of the Sea of Japan. Paleogeogr Paleoclimatol Paleoecol 172:81–98
- Ko HL, Wang YT, Chiu TS, Lee MA, Leu MY, Chang KZ, Chen WY, Shao KT (2013) Evaluating the Accuracy of Morphological Identification of Larval Fishes by Applying DNA Barcoding. PLoS ONE 8:e53451
- Kojima S, Segawa R, Hayashi I (1997) Genetic differentiation among populations of the Japanese turban shell *Turbo (Batillus) cornutus* corresponding to warm currents. Mar Ecol Prog Ser 150:149–155
- Kojima S, Segawa R, Hayashi I (2000) Stability of the courses of the warm coastal currents along the Kyushu Island suggested by the population structure of the Japanese turban shell *Turbo (Batillus) cornutus*. J Oceanogr 56:601–604
- Kojima S, Hayashi I, Kim D, Iijima A, Furota T (2004) Phylogeography of an intertidal direct-developing gastropod *Batillaria cumingi* around the Japanese Islands. Mar Ecol Prog Ser 276:161–172
- Kokita T, Nohara K (2011) Phylogeography and historical demography of the anadromous fish *Leucopsarion petersii* in relation to geological history and oceanography around the Japanese Archipelago. Mol Ecol 20:143–164
- Kumazawa Y, Yamaguchi M, Nishida M (1999) Mitochondrial molecular clocks and the origin of euteleostean biodiversity: familial radiation of perciforms may have predated the Cretaceous/Tertiary boundary. In: Kato M (ed) The biology of biodiversity. Tokyo, pp 35–52
- Larson HK, Jaafa Z, Lim KKP (2008) An annotated checklist of the gobioid fishes of Singapore. Raffles Bull Zool 56:135–155
- Leis JM (1991) Vertical distribution of fish larvae in the Great Barrier Reef Lagoon, Australia. Mar Biol 109:157–66
- Lester SE, Ruttenberg BI (2005) The relationship between pelagic larval duration and range size in tropical reef fishes: a synthetic analysis. Proc R Soc B Biol Sci 272:585–591
- Lester SE, Ruttenberg BI, Gaines SD, Kinlan BP (2007) The relationship between dispersal ability

- and geographic range size. *Ecol Lett* 10:745–758
- Lisiecki LE, Raymo ME (2005) A Pliocene-Pleistocene stack of 57 globally distributed benthic $\delta^{18}\text{O}$ records. *Paleoceanography* 20:PA1003
- Liu JX, Gao TX, Wu SF, Zhang YP (2007) Pleistocene isolation in the Northwestern Pacific marginal seas and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845). *Mol Ecol* 16:275–288
- Lourie SA, Green DM, Vincent ACJ (2005) Dispersal, habitat differences, and comparative phylogeography of Southeast Asian seahorses (Syngnathidae: *Hippocampus*). *Mol Ecol* 14:1073–1094
- Maeda K, Yamasaki N, Kondo M, Tachihara K (2008) Occurrence and morphology of larvae and juveniles from six *Luciogobius* (Gobiidae) species collected at Aritsu beach on Okinawa Island. *Ichthyol Res* 55:162–174
- 前田経雄 (2002) 若狭湾西部海域におけるヒラメ仔稚魚の加入機構に関する研究. 京都大学博士論文, 90 pp
- Mao YL, Gao TX, Yanagimoto T, Xiao YS (2011) Molecular phylogeography of *Ruditapes philippinarum* in the Northwestern Pacific Ocean based on COI gene. *J Exp Mar Biol Ecol* 407:171–181
- Marko PB (2004) ‘What’s larvae got to do with it?’ Disparate patterns of post-glacial population structure in two benthic marine gastropods with identical dispersal potential. *Molecular Ecology* 13:597–611
- Martin AP, Palumbi SR (1993) Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular clock. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:4087–4091
- McKay SJ, Smith MJ, Devlin RH (1997) Polymerase chain reaction-based species identification of salmon and coastal trout in British Columbia. *Mol Mar Biol Biotechnol* 6:131–140
- 松宮義晴・村上司・鈴木庸行・岡正雄 (1980) 志々岐湾におけるサビハゼとスジハゼの分布および食性. *西水研研報* 54:321–331
- Miller PJ (1975) Age-structure and life-span in the Common goby, *Pomatoschistus microps*. *J Zool* 177:425–448
- Miller PJ (1993) Grading of gobies and disturbing of sleepers. *NERC News* 27:16–19
- Miyake Y, Kimura S, Kawamura T, Kitagawa T, Hara M, Hoshikawa H (2010) Estimating larval supply of Ezo abalone *Haliotis discus hannai* in a small bay using a coupled particle-tracking and hydrodynamic model: insights into the establishment of harvest refugia. *Fish Sci* 76:561–570
- 宮原一隆・大谷徹也・島本信夫 (1995) 播磨灘におけるスズキ *Lateolabrax japonicus* の食性. *兵庫水試研報* 32:1–8
- 森慶一郎 (1988) スジハゼ. 沖山宗雄 (編) 日本産稚魚図鑑. 東海大学出版会, 神奈川, p 675

- 森慶一郎 (1995) 山口県油谷湾における魚類の生態学的研究. 中央水研研報 7:277-388
- Munk P, Kiørboe T, Christensen V (1989) Vertical migrations of herring, *Clupea harengus*, larvae in relation to light and prey distribution. Environ Biol Fishes 26:87-96
- 中坊徹次 (2013) 東アジアにおける魚類の生物地理学. 中坊徹次 (編), 日本産魚類検索 全種の同定, 第三版. 東海大学出版会, 神奈川, pp 2287-2338
- 中村中六 (1944) スジハゼおよびヒメハゼの生活史. 水産学会報 9:103-108
- Nakano T, Sasaki T, Kase T (2010) Color polymorphism and historical biogeography of the Japanese patellogastropod limpet *Cellana nigrolineata* (Reeve) (Gastropoda: Nacellidae). Zool Sci 27:811-820
- Nelson JS (2006) Family Gobiidae (460) gobies. In: Fishes of the world, 4th ed. John Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey, pp 422-423
- 日本海洋データセンター (2004) 水温統計表示. <http://jdoss1.jodc.go.jp/cgi-bin/1997/bts.jp> (参照2013-12-30)
- 日本自然保護協会 (2012) 日本自然保護協会 (NACS-J)・沿岸保全管理検討会提言 日本の海洋保護区のあり方 生物多様性保全をすすめるために. 日本自然保護協会報告書 (99):1-21
- Nishimura S (1965) The zoogeographical aspects of the Japan Sea. Part I. Publ Seto Mar Biol Lab 13:35-79
- Oba T, Kato M, Kitazato H, Koizumi I, Omura A, Sakai T, Takayama T (1991) Paleoenvironmental changes in the Japan Sea during the last 85000 years. Paleoceanography 6:499-518
- Oba T, Murayama M (2004) Sea surface temperature and salinity changes in the northwest Pacific since the last glacial maximum. J Quat.Sci 19:335-346
- 大美博昭 (2002) 若狭湾由良川河口域における仔稚魚の生態. 田中克・木下泉 (編) スズキと生物多様性 水産資源生物学の新展開. 恒星社厚生閣, 東京, pp 44-53
- Orlova MI, Therriault TW, Antonov PI, Shcherbina GK (2005) Invasion ecology of quagga mussels (*Dreissena rostriformis bugensis*): a review of evolutionary and phylogenetic impacts. Aquat Ecol 39:410-418
- Ota H (1998) Geographic patterns of endemism and speciation in amphibians and reptiles of the Ryukyu Archipelago, Japan, with special reference to their paleogeographical implications. Res Popul Ecol 40:189-204
- Paulay G, Meyer CP (2006) Dispersal and divergence across the greatest ocean: do larvae matter? Integr Comp Biol 46:269-281
- Petit RJ, Hampe A (2006) Some evolutionary consequences of being a tree. Annu Rev Ecol Evol Syst 37:187-214
- Pianka ER (1974) Niche overlap and diffuse competition. Proc Natl Acad Sci USA 71:2141-2145
- R Development Core Team (2011) R: a Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>

- R Development Core Team (2012) R: a Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>
- Robertson MD, Ovenden JR, Barker SC (2007) Identification of small juvenile scombrids from northwest tropical Australia using mitochondrial DNA cytochrome b sequences. *Ichthyol Res* 54:246–252
- Rocha LA, Bass AL, Robertson DR, Bowen BW (2002) Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae). *Mol Ecol* 11:243–251
- Rocha-Olivares A (1998) Multiplex haplotype-specific PCR: a new approach for species identification of the early life stages of rockfishes of the species-rich genus *Sebastes* Cuvier. *J Exp Mar Biol Ecol* 231:279–290
- Rogers AR, Harpending H (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol Biol Evol* 9:552–569
- Sabates A, Martin P, Lloret J, Raya V (2006) Sea warming and fish distribution: the case of the small pelagic fish, *Sardinella aurita*, in the western Mediterranean. *Global Change Biol* 12:2209–2219
- Saenz-Agudelo P, Jones GP, Thorrold SR, Planes S (2012) Patterns and persistence of larval retention and connectivity in a marine fish metapopulation. *Mol Ecol* 21:4695–4705
- Schunter C, Carreras-Carbonell J, Macpherson E, Tintoré J, Vidal-Vijande E, Pascual A, Guidetti P, Pascual M (2011) Matching genetics with oceanography: directional gene flow in a Mediterranean fish species. *Mol Ecol* 20:5167–5181
- Schwenk K, Brede N, Streit B (2008) Introduction. Extent, processes and evolutionary impact of interspecific hybridization in animals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363:2805–2811
- Sebates A (2004) Diel vertical distribution of fish larvae during the winter-mixing period in the Northwestern Mediterranean. *ICES J Mar Sci* 61:1243–1252
- Secor, DH, Houde ED (1995) Temperature effects on the timing of striped bass egg production, larval viability, and recruitment potential in the Patuxent River (Chesapeake Bay). *Estuaries* 18:527–544
- Shanks AL, Grantham BA, Carr MH (2003) Propagule dispersal distance and the size and spacing of marine reserves. *Ecol Appl* 13:159–169
- 塩垣優・道津喜衛 (1988) ハゼ亜目. 沖山宗雄 (編) 日本産稚魚図鑑. 東海大学出版会, 神奈川, pp 664–723
- 下山正一 (2000) 有明海の地史と特産種の成立. 佐藤正典編, 有明海の生き物たち. 海遊舎, 東京, pp 37–48
- Shoji J, Maehara T, Tanaka M (1999) Diel vertical movement and feeding rhythm of Japanese Spanish mackerel larvae in the central Seto Inland Sea. *Fish Sci* 65:726–730
- Smith TB, Skúlason S (1996) Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes,

- amphibians, and birds. *Annu Rev Ecol Syst* 27:111–133
- 総務省統計局 (2013) 地域メッシュ統計について. http://www.stat.go.jp/data/mesh/m_tuite.htm
(参照 2013-12-30)
- Sommer SS, Grosz bath AR, Bottema CDK (1992) PCR amplification of specific alleles (PASA) is a general method for rapidly detecting known single-base changes. *BioTechniques* 12:82–87
- Sota T, Mukai T, Shinozaki T, Sato H, Yodoe K (2005) Genetic differentiation of the gobies *Gymnogobius castaneus* and *G. taranetzi* in the region surrounding the Sea of Japan as inferred from a mitochondrial gene genealogy. *Zool Sci* 22:87–93
- Sponaugle S, Cowen RK, Shanks A, Morgan SG, Leis JM, Pineda JS, Boehlert GW, Kingsford MJ, Lindeman KC, Grimes C, Munro JL (2002) Predicting self-recruitment in marine populations: biophysical correlates and mechanisms. *Bull Mar Sci* 70 (Suppl):341–375
- Sponaugle S, Grorud-Colvert K, Pinkard D (2006) Temperature-mediated variation in early life history traits and recruitment success of the coral reef fish *Thalassoma bifasciatum* in the Florida Keys. *Mar Ecol Prog Ser* 308:1–15
- Stockley P, Gage MJG, Parker GA, Møller AP (1997) Sperm competition in fishes: The evolution of testis size and ejaculate characteristics. *Am Nat* 149:933–954
- 鈴木寿之・渋谷浩一・矢野維幾 (2004) スジハゼ A, スジハゼ B, スジハゼ C. 「決定版 日本のハゼ」瀬能宏監修, 平凡社, 東京, pp 416–418
- Tabata R, Watanabe K (2013) Hidden mitochondrial DNA divergence in the Lake Biwa endemic goby *Gymnogobius isaza*: implications for its evolutionary history. *Environ Biol Fish* 96:701–712
- Tajima F (1989) Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585–595
- Takagi K (1953) A study on the scale of the gobiid fishes of Japan. *J Tokyo Univ Fish* 39:231–253
- Takahashi D (2008) Life-history variation in relation to nest site abundance in males of the freshwater goby *Tridentiger brevispinis*. *Ecol Freshw Fish* 17:71–77
- Takemoto A, Oda M (1997) New planktonic foraminifer transfer functions for the Kuroshio-Oyashio Current region off Japan. *Paleontol Res* 1:291–310
- Tamura K, Nei M (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol* 10:512–526
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 28:2731–2739
- Tanaka M (1985) Factors affecting the inshore migration of pelagic larval and demersal juvenile red sea bream *Pagrus major* to a nursery ground. *Trans Amer Fish Soc* 114:471–477
- Tanaka M, Goto T, Tomiyama M, Sudo H (1989) Immigration, settlement and mortality of flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae and juveniles in a nursery ground, Shijiki Bay, Japan. *Neth J Sea Res* 24:57–67

- Taylor MS, Hellberg ME (2003) Genetic evidence for local retention of pelagic larvae in a Caribbean reef fish. *Science* 299:107–109
- Teletchea F (2009) Molecular identification methods of fish species: reassessment and possible applications. *Rev Fish Biol Fisher* 19:265–293
- ter Braak CJF, Prentice IC (1988) A theory of gradient analysis. *Adv Ecol Res* 18:272–313
- ter Braak CJF, Šmilauer P (2002) Canoco reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination. Version 4.5. Microcomputer power, Ithaca, NY, 500 pp
- 富永修・牧田智弥 (2008) 沿岸域の底生生物生産への陸上有機物の貢献. 山下洋・田中克 (編) 森川海のつながりと河口・沿岸域の生物生産. 恒星社厚生閣, 東京, pp 46–58
- Tsukamoto Y, Zenitani H, Kimura R, Watanabe Y, Oozeki Y (2001) Vertical distribution of fish larvae in the Kuroshio and Kuroshio-Oyashio transition region in early summer. *Bull Natl Res Inst Fish Sci* 16:39–56
- 内田隆信・道津喜衛 (1980) スジハゼ, ヒメハゼおよびアシシロハゼの飼育仔稚魚. 長崎大学水産学部研究報告 49:25–33
- Ujiie Y, Ujiie H, Taira A, Nakamura T, Oguri K (2003) Spatial and temporal variability of surface water in the Kuroshio source region, Pacific Ocean, over the past 21,000 years: evidence from planktonic foraminifera. *Mar Micropaleontol* 49:335–364
- Victor BC (1983) Recruitment and population-dynamics of a coral-reef fish. *Science* 219:419–420
- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R (1991) Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10:506–513
- Waples RS (1987) A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. *Evolution* 41:385–400
- Waples RS (1998) Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *J Hered* 89, 438–450
- Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Phil Trans R Soc B* 360:1847–1857
- Weersing K, Toonen RJ (2009) Population genetics, larval dispersal, and connectivity in marine systems. *Mar Ecol Prog Ser* 393:1–12
- White C, Selkoe KA, Watson J, Zacherl DC, Toonen RJ (2010) Ocean currents help explain population genetic structure. *Proc R Soc B Biol Sci* 277:1685–1694
- Winemiller KO, Rose KA (1992) Patterns of life-history diversification in North American fishes: implications for population regulation. *Can J Fish Aquat Sci* 49:2196–2218
- Xu X, Oda M (1999) Surface-water evolution of the eastern East China Sea during the last 36,000 years. *Mar Geol* 156:285–304
- 山田秀秋・佐藤啓一・長洞幸夫・熊谷厚志・山下洋 (1998) 東北太平洋沿岸域におけるヒラメの摂餌生態. *日本水産学会誌* 64:249–258

- Yamasaki N, Maeda K, Tachibara K (2007) Pelagic larval duration and morphology at recruitment of *Stiphodon percnopterygionus* (Gobiidae: Sicydiinae). Raffles Bull Zool Suppl 14:209–214
- Yamashita Y, Kitagawa D, Aoyama T (1985) Diel vertical migration and feeding rhythm of the larvae of the Japanese sand-eel *Ammodytes personatus*. Bull Japan Soc Sci Fish 51:1–5
- Yamashita Y, Tanaka M, Miller JM (2001) Ecophysiology of juvenile flatfish in nursery grounds. J Sea Res 45:205–218
- 八島邦夫 (1994) 瀬戸内海の海釜地形に関する研究. 海上保安庁水路部研究報告 30:237–327
- Yatsu A, Yasuda F, Taki Y (1978) A new stichaeid fish, *Dictyosoma rubrimaculata* from Japan, with notes on the geographic dimorphism in *Dictyosoma burgeri*. Japan J Ichthyol 25:40–50
- Yokoo T, Sakamoto T, Kanou K, Moteki M, Kohno H, Tongnunui P, Kurokura H (2009) Morphological characters and occurrence patterns of juveniles of two estuarine gobies, *Acentrogobius kranjiensis* and *Acentrogobius malayanus*, verified by molecular identification. J Fish Biol 75:2805–2819
- 吉郷英範 (2001) 松永湾河口域で採集された広島県未記録の魚類3種と“スジハゼ”3種について. 比婆科学 201:1–13
- Zhang J (2011) Species identification of marine fishes in China with DNA barcoding. Evid-based Complement Altern Med 2011:978253