

ガンギエイ目魚類の集団構造に関する
研究

2019 年

三澤 遼

ガンギエイ目魚類の集団構造に関する
研究

Studies on the population structure of skates
(Chondrichthyes: Rajiformes)

2019 年

三澤 遼

Ryo Misawa

目次

第1章	緒言	1
第2章	浅海・温帯性小型種コモンカスベの集団構造	6
2.1	背景	6
2.2	材料と方法	7
2.3	結果.....	12
2.3.1	mtDNA の調節領域から推定した集団構造と動態	12
2.3.2	海域間での形態的分化.....	21
2.4	考察.....	36
第3章	浅海・冷水性大型種メガネカスベの集団構造.....	44
3.1	背景.....	44
3.2	材料と方法.....	45
3.3	結果.....	48
3.3.1	mtDNA の COI 領域から推定した遺伝的集団構造と動態.....	48
3.3.2	海域間での形態的分化.....	56
3.4	考察.....	63
第4章	深海・冷水性大型種ドブカスベの集団構造.....	70
4.1	背景.....	70
4.2	材料と方法.....	72
4.3	結果.....	74
4.3.1	mtDNA の COI 領域から推定した遺伝的集団構造と動態.....	74
4.3.2	海域間での形態的分化.....	81
4.4	考察.....	91
第5章	総合考察	96
5.1	ガンギエイ目魚類の集団構造形成に関わる要因.....	96
5.2	ガンギエイ目魚類の遺伝的多様性と保全方策への応用	100
要約.....		103
謝辞.....		107
引用文献.....		109
付録.....		130

第1章 緒言

生物資源を適切に保全するためには、その実施単位となる遺伝的に独立した地域集団を識別するとともに、その遺伝的多様性や歴史的背景の推定といった集団遺伝学的手法が重要な役割を果たすと考えられる（小池・松井，2003）．多くの水産生物は産卵場所や時期，成長，回遊などの生活史が地域集団（水産学上の系群，stock）ごとに異なり，同種内であっても独立した資源変動を示すことから，水産重要種においてはこの地域集団に従って管理単位（Management units = MU）が設定されており，この管理単位の識別には集団遺伝学的手法も有効であると考えられている

（Carvalho and Hauser, 1994 ; Begg et al., 1999 ; Palsbøll et al., 2006 ; Pope et al., 2010）．保全分野では遺伝的に分化した種内集団における単系統群は進化的重要単位（evolutionarily significant unit = ESU）と呼ばれ，個別の遺伝管理が必要であるとされる（Moritz, 1994 ; Fraser and Bernatchez, 2001）．これらの管理単位や進化的重要単位においては現在の遺伝的集団構造だけでなく，過去の集団形成史も重要であるとされる（Moritz, 1994 ; Palsbøll et al., 2006）．また，種の過去の分布変遷や適応を反映した遺伝的多様性は一度失われると回復できないため，注意が必要である（Moritz, 2002）．

海産魚類のうち，マイワシ *Sardinops melanostictus* やカタクチイワシ *Engraulis japonicus*，ニシン *Clupea pallasii*，サンマ *Cololabis saira* などは成熟が早く比較的短命で，初期死亡率が高い．このような生活史戦略は *r*-戦略と呼ばれ，「レジームシフト」のように漁獲以外の環境条件の影響を受けやすく，個体数の変動が大きい（川崎ほか，2017）．一方，ガンギエイ目 Rajiformes を含む軟骨魚類は，成熟まで長い年数を要し，産卵・産仔数が少なく，孵化するまでも長い時間を要するなどの特徴，すなわち *K*-戦略型の生活史をもつ．この生活史戦略は基本的に生活史を通しての死亡率が低く，個体数は比較的安定している（川崎ほか，2017）．本目を含む軟骨魚類は水産上重要な種を含むこと（中野，2007 ; Dulvy et al., 2014 ; Davidson et al., 2016 ; Dulvy et al., 2016）に加えて，海洋生態系において高次の消費者として重要な地位を占める（Orlov, 1998 ; Orlov, 2003 ; Ebert and Sulikowski, 2008 ; 山口，2009 ;

Last et al., 2016a ; Bizzarro et al., 2017 ; 山口, 2018b). 一方では, この生活史戦略は過剰な漁獲に対して脆弱であり, 近年では軟骨魚類の個体数の減少が指摘されるとともに, その保全について世界的に活発な議論が行われている (Brander, 1981 ; Walker and Hislop, 1998 ; Dulvy et al., 2000 ; Dulvy and Reynold, 2002 ; Fowler et al., 2002 ; 中野, 2007 ; Clarke, 2009 ; Dulvy and Reynold, 2009 ; Iglésias et al., 2010 ; Dudgeon et al., 2012 ; Dulvy et al., 2014 ; Davidson et al., 2016 ; Larson et al., 2017 ; Benjamins et al., 2018 ; Domingues et al., 2018b ; 山口, 2018a). とくに, 本目魚類においては, 北大西洋で個体数の減少が認められている種が複数報告されており (Walker and Hislop, 1998 ; Dulvy et al., 2000 ; Dulvy and Reynold, 2002 ; Dulvy and Reynold, 2009 ; Nieto et al., 2015), ヨーロッパ連合 (EU) はガンギエイ目魚類を TAC (漁獲可能量制度) 対象魚種とするなど, その保全に対する意識が高まっている (Clarke, 2009 ; Lago et al., 2012). さらに, 近年では, 軟骨魚類の漁獲もしくは混獲などの影響による資源量の減少に対しても遺伝的な集団構造に基づいて管理・保全単位を設定することが望ましいとされ (Domingues et al., 2018b), とくに欧米では本目を含む軟骨魚類の遺伝的集団構造とその保全への応用に関しての知見が増加している (例えば, Chevolut et al., 2006 ; Duncan et al., 2006 ; Hoelzel et al., 2006 ; Castro et al., 2007 ; Chevolut et al., 2007 ; Chabot and Allen, 2009 ; Griffiths et al., 2010 ; Veríssimo et al., 2010 ; Griffiths et al., 2011 ; Dudgeon et al., 2012 ; Feutry et al., 2014 ; Chabot, 2015 ; Kousteni et al., 2015 ; Bester-van der Merwe et al., 2017 ; Cariani et al., 2017 ; Im et al., 2017 ; Larson et al., 2017 ; Vargas-Caro et al., 2017 ; Domingues et al., 2018b ; Ferrari et al., 2018).

ガンギエイ目魚類はガンギエイ科 Rajidae, ヒトツセビレカスベ科 Arhynchobatidae, ホコカスベ科 Anacanthobatidae, そして Gurgesiellidae の 4 科を含むエイ区 Batoidea に属する底生性軟骨魚類で, 全長は小型種で 30 cm 程度, 大型種では 2 m 以上に達し, おもに甲殻類や魚類, 頭足類を捕食する (Last et al., 2016a). 本目魚類は紅海や太平洋プレートの水深 3,000 m を越えるような深海を除くほぼ世界中の海洋に出現し, オーストラリアのタスマニアの汽水・淡水域に出現する *Zearaja maugiana* 1 種を除いて, 水深 3,000 m 程度までの大陸棚や大陸斜面の沿岸海域砂泥

底に生息する (McEachran and Dunn, 1998 ; Last and Yearsley, 2002 ; Ebert and Compagno, 2007 ; Last et al., 2016a). 本目魚類にはこれまでのところ 38 属約 290 種が知られ, 軟骨魚類約 1,200 種のなかで最も高い多様性をもつ 1 群である (McEachran and Dunn, 1998 ; Ebert and Compagno, 2007 ; Last et al., 2016a ; Nelson et al., 2016). 日本沿岸からは 8 属 35 種が認められている (波戸岡ほか, 2013 ; 鄭, 2018). 本目魚類の繁殖様式は交尾による胎内受精で, 雄は腹鰭の一部が変化してできた 1 対の交接器 (clasper) をもちいて交尾を行い, 雌は大型の卵殻に包まれた胚を海底に生みつける (Last et al., 2016a). 本目魚類はエイ類のなかでは唯一の卵性で, 卵殻は大型で長方形, 四隅に突起をもち, 流されないように海底に固定される (Last et al., 2016a). 胎仔は卵殻内で卵黄を吸収しながら十分に成長してから孵化する (Tashima and Tomonaga, 1986).

ガンギエイ目魚類は底曳網や刺網, 延縄によって漁獲され, 多くの国・地域で食用として利用される水産上重要なグループで (Last et al., 2016a), 他の底魚類を対象とした底曳網や延縄で意図せずに混獲されることも多い (Dolganov et al., 2005 ; Cedrola et al., 2005). 本目魚類はヨーロッパや東アジアを中心に食用として利用されており (Brander, 1981 ; Walker et al., 1997 ; Walker and Hislop, 1998 ; White et al., 2006 ; Last and Stevens, 2009 ; Last et al., 2010 ; Lago, et al., 2012 ; Ebert and Stehmann, 2013 ; Last et al., 2016a), とくに韓国において本目魚類は非常に珍重され, そのなかでもメガネカスベ *Beringraja pulchra* は高値で取引されている (Ishihara et al., 2009a ; Jo et al., 2011 ; Im et al., 2017). 日本でも各地で本目魚類が利用されており (Ishihara, 1990 ; 石原, 1996), とくに北海道において本目魚類は重要な水産資源として扱われ, メガネカスベは“真カスベ”の名前で流通し, 煮付け, ぬた, から揚げなどで利用されているほか, 干物や練り製品の材料としても利用される (前田, 2003). ドブカスベ *B. smirnovi* を含むソコガンギエイ属 *Bathyraja* 魚類も種類を区別されずに, 北海道を中心とした北日本でメガネカスベと同様に利用されている (石原, 1996 ; 北川ほか, 2008 ; 尼岡ほか, 2011 ; 鄭, 2018). 東シナ海では以西底曳網などで漁獲され, 種類は区別されずに干物や練り製品として利用される (山田ほか, 2007).

日本を中心とした西部北太平洋域においてはガンギエイ目魚類の分類や系統, 分

布について多くの先行研究があるが（例えば, Ishiyama, 1958 ; Ishiyama, 1967 ; Ishiyama and Ishihara, 1977 ; Ishihara and Ishiyama, 1985 ; Ishihara and Ishiyama, 1986 ; Ishihara, 1987 ; Jeong and Nakabo, 2009), 生態や資源量に関する情報は充実しているとは言い難く, 今後の資源状態のモニタリングや保全を考えるうえで重要な知見が欠けている. 日本を含む西部北太平洋においても本目魚類は多数漁獲・混獲され利用されていることから, 今後, その資源状態や保全に関して研究を進める必要がある. 先述のように, 資源管理のためには管理単位を設定する必要があり, その基礎となり得る集団構造を把握することで, より効果的な資源管理・保全方策が行えることが期待できる. 本目魚類は大型の卵殻を海底に生みつけ, 生活史を通して浮遊期をもたないことから, その分散能力は低く, 結果として何らかの地理的集団構造が存在する場合は多いと予想される. 実際, これまで本目魚類のミトコンドリア DNA (以下, mtDNA) の分析に基づいた集団構造に関する報告では, いくつかの種で地理的集団構造をもつことが示されている (Chevolot et al., 2006 ; Griffiths et al., 2011 ; Cariani et al., 2017 ; Im et al., 2017 ; Vargas-Caro et al., 2017 ; Ferrari et al., 2018). また, 成魚も普段は海底に横たわり活発な遊泳をせず, いくつかの種において通常は回遊範囲が狭いことが分かっており (Walker et al., 1997 ; Hunter et al., 2005 ; King and McFarlane, 2010 ; Neat et al., 2015 ; Farrugia et al., 2016), この特徴も地理的な集団構造の形成に関わっていると考えられている (Vargas-Caro et al., 2017). しかし, 本目魚類の集団構造形成に関しては断片的な知見に限られ, 具体的にどのような要因が影響しているかはほとんど知られていない.

そこで本研究では, 成熟サイズや生息環境 (水深や水温) が異なり, 食用として多く流通し, 西部北太平洋域において量的に多いと考えられる 3 種を対象とし, それらの集団構造を明らかにするとともに, 互いに比較することで集団構造の形成に関わる生態的特性を明らかにすることを目的とした. 対象としたのは, ガンギエイ科の浅海・温帯性小型種コモンカスベ *Okamejei kenojei* (Fig. 1-1 A) と浅海・冷水性大型種メガネカスベ *Beringraja pulchra* (Fig. 1-1 B), そしてヒトツセビレカスベ科の深海・冷水性大型種トブカスベ *Bathyraja smirnovi* (Fig. 1-1 C) の 3 種で, 各種の主要な分布域を網羅して, mtDNA を対象とした遺伝的分析と形態比較から集団構造を

推定した. mtDNA は組換えがなく純粋な母系遺伝をし, 核 DNA と比べて進化速度が早いという利点があり, 集団構造の推定に適しているとされ (Awise, 200 ; 小池・松井, 2003 ; 小北, 2018), 前述のように, 軟骨魚類を対象とした先行研究においてもその有用性が認められている. また, 本研究で対象とした 3 種には形態的な地理的変異があることが認められていることから (Ishiyama, 1958 ; Ishiyama, 1967 ; Ishihara, 1987 ; Orr et al., 2012 ; Im et al., 2017), 本研究では計測形質, 計数形質として項部や尾部の棘数, 成熟サイズ, 色彩等の形態的特徴を海域間で比較した. さらに, 本研究の結果に基づき, これら 3 種を含む西部北太平洋に出現するガンギエイ目魚類の資源管理・保全方策への応用にむけた情報を蓄積することを目的とした.

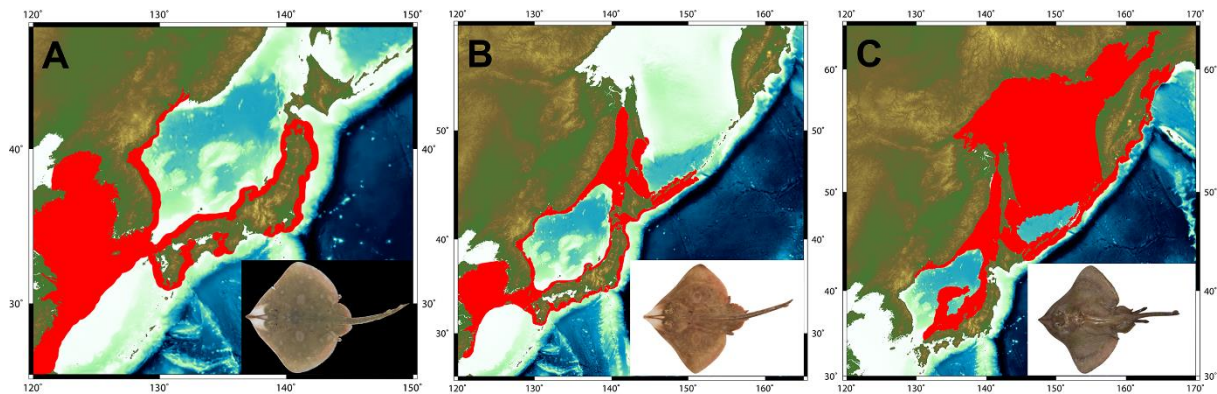


Fig. 1-1 Distribution maps and dorsal views of three skates examined in this study. (A) *Okamejei kenojei*, (B) *Beringraja pulchra*, (C) *Bathyraja smirnovi*

第2章 浅海・温帯性小型種コモンカスベの集団構造

2.1 背景

コモンカスベ *Okamejei kenojei* はガンギエイ科に属する浅海・温帯性の小型ガンギエイ目魚類で、全長は最大でも 60 cm 以下、西部北太平洋の北海道以南から台湾までの太平洋、日本海、東シナ海、黄海の水深 20–230 m（おもに 30–100 m）に出現する（Fig. 1-1 A）（Ishiyama, 1958, 1967；Ishihara, 1987；Ishihara et al., 2009b；波戸岡ほか, 2013；Last et al., 2016b；鄭, 2018）。本種の生態に関する知見は少ないが、銚子沖の個体については、成熟開始年齢は約 3 歳で全長 40 cm 以上と推定されており、雌の生涯産卵数は 300 個以上、飼育下の観察では 4 年間で 600 個以上産卵した個体も報告されている（Ishihara et al., 2002；Ishihara, 2009b）。卵殻は長さ 43–59 mm と比較的大きく、中には 1 個の胚のみが含まれる（Ishiyama, 1958；Ishihara et al., 2012）。

本種は底曳網や定置網、刺網漁によって漁獲・混獲され、日本や韓国で食用として利用される（Ishihara, 1990；山田ほか, 2007；尼岡ほか, 2011；Baeck et al., 2011；鄭, 2018）。日本では安価で取引されるが、沿岸の底曳網によるガンギエイ類の漁獲量のうち本種が 4 分の 3 以上を占めると推定されている（石原, 1990）。韓国では珍重され、1 kg あたり約 4,000 円と日本の価格の約 20 倍以上の価格で取引される（石原, 1996）。本種の資源状態については明らかにされておらず、環境省の海洋生物レッドリスト（環境省, 2017）および IUCN（国際自然保護連合）のレッドリストでは情報不足 (DD) とされている（Ishihara et al., 2009b）。東シナ海においては、過去に以西底曳網漁による高い漁獲圧があったことからなどから、ガンギエイ目魚類全体の漁獲は減少しており（山田ほか, 2007；Ishihara et al., 2009b）、本種の資源量も減少傾向にあるものと予想されている（Ishihara et al., 2002；Ishihara et al., 2009）。

本種は過去に、東京湾と千葉県銚子以北から青森県までの東北太平洋岸に分布するクロカスベ *Raja (Okamejei) fusca* と、東北太平洋を除く太平洋、日本海、東シナ海、黄海に分布するコモンカスベ *Raja (Okamejei) porosa* の 2 種に分類されたことが

あり，この2種は吻長（クロカスベの吻は短く両眼間の2.5倍以下，コモンカスベの吻は長く両眼間の2.5倍以上）や色彩（クロカスベは背面に小黑点が散在する，コモンカスベは小黑点がない）などの形態的特徴から区別できるとされていた

(Ishiyama, 1958 ; Ishiyama, 1967). しかし，ガンギエイ目魚類の分類において重要な形質である交接器の構造や腹面の感覚孔の分布パターンには両者に差異が認められなかったことから，*Raja (Okamejei) fusca* と *Raja (Okamejei) porosa* はともに *Raja (Okamejei) kenojei* の新参異名とされ (Boeseman, 1979 ; Ishihara, 1987)，現在ではコモンカスベ *Okamejei kenojei* のみが有効とされている (石原, 1988 ; 波戸岡ほか, 2013). しかし，Ishihara (1987) は銚子以北の東北太平洋岸に出現するコモンカスベ，すなわち，Ishiyama (1958, 1967) などの先行研究で“クロカスベ”とされていたものは吻部が短く鈍いこと，体盤背面に黒点が散在することなどの傾向を認めている．このように，本種には形態的な観点から何らかの集団構造があることが示唆されているが，これまでの形態的な変異は統計的に精査されたものではなく，また遺伝的な分析も行われていない．

本章では，浅海・温帯域に生息する小型種であるコモンカスベの集団構造について，主要な分布域をおおむね網羅した個体を用いて，mtDNAの調節領域（以下，mtCR）を対象とした遺伝的分析と詳細な形態比較から推定した．さらに，その結果に基づき本種の集団構造を形成する生態的要因について考察した．

2.2 材料と方法

標本 mtCR を対象とした遺伝的分析には日本沿岸および黄海の7海域から採集された合計194個体 [東シナ海“EC” (31個体，長崎県橘湾)，黄海“YS” (10個体，韓国忠清南道)，日本海南部“SJ” (28個体，山口県から若狭湾まで)，日本海北部“NJ” (46個体，富山湾から青森県の陸奥湾まで)，九州東岸“EK” (1個体，宮崎県)，大阪湾“OS” (24個体)，東北太平洋岸“NP” (54個体，千葉県銚子から青森県まで)] を用いた．形態比較では，mtCR解析に用いた標本と同様の7海域から採集された合計212個体 [東シナ海“EC” (29個体，長崎県橘湾)，黄海“YS” (7個体，黄海中央部と

中国上海北東沖の南部), 日本海南部“*SJ*” (36 個体, 長崎県対馬から若狭湾まで), 日本海北部“*NJ*” (36 個体, 富山湾から青森県の陸奥湾まで), 九州東岸“*EK*” (8 個体, 豊後水道から鹿児島県東岸), 大阪湾“*OS*” (27 個体), 東北太平洋岸“*NP*” (69 個体, 千葉県銚子から青森県まで)] を用いた. 遺伝的分析および形態比較に用いた個体は合計 293 個体である. これらの標本の採集場所を Fig. 2-1 に, 標本データ等を Appendix 2 に示した.

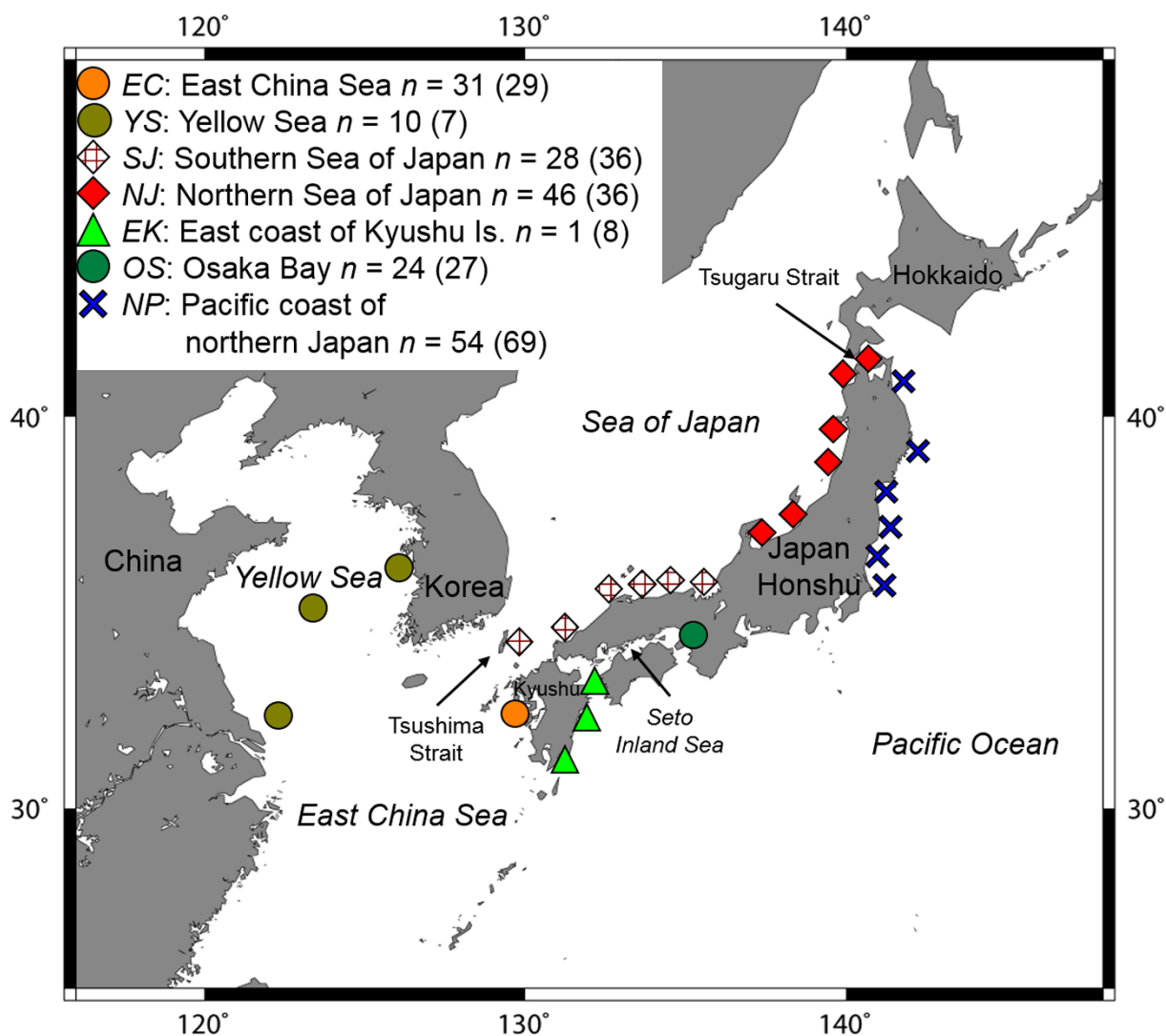


Fig. 2-1 Sampling area and number of examined specimens of *Okamejei kenojei*. Each symbol represents a sampling site. *n* = number of specimens used in mtCR analysis and numbers in parentheses = number of specimens used in morphological comparisons

遺伝的分析 DNA の抽出は 99.5%エタノール中に保存した尾部もしくは体盤の体側筋から、DNeasy Tissue Kit (Qiagen) もしくは Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) を用いて行った。分析対象とした領域は、mtDNA のなかでも塩基置換速度が早く、種内の集団構造の推定に有効なことで知られ、他のガンギエイ目魚類においてもその有効性が示されている調節領域 (mtCR) である (Valsecchi et al., 2005 ; Griffiths et al., 2011 ; Vargas-Caro et al., 2017 ; Ferrari et al., 2018)。mtCR の部分塩基配列 597 bp は E1DloopF (5'-TCC CAA AGC CAA GAT TCT GC-3') と RajinaeP7r (5'-AAA CTG GGA GGG CTG GAA ATC TTG A-3') のプライマーセット (Valsecchi et al., 2005) を用いて PCR 増幅した。PCR 反応液の組成は KAPA2G Robust HotStart Ready Mix (KAPA Biosystems) 5 μ l, 滅菌蒸留水 2.2 μ l, 各プライマー (5 μ M) 1.0 μ l, 鋳型 DNA 1.0 μ l を含む合計 10.2 μ l もしくは、滅菌蒸留水 8.3 μ l, 各プライマー (5 μ M) 1.5 μ l, 10X PCR バッファー 1.5 μ l, dNTPs (2.5 mM) 1.2 μ l, EX-Taq Polymerase (TaKaRa) 0.1 μ l, 鋳型 DNA 1.0 μ l を含む合計 15.1 μ l で、Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems) を用いて PCR を行った。PCR の温度条件は最初に 94 $^{\circ}$ C で 5 分間熱変性させた後、94 $^{\circ}$ C で 15 秒, 56 $^{\circ}$ C で 15 秒, 72 $^{\circ}$ C で 30 秒の温度サイクルを 30 回繰り返し、最後に 72 $^{\circ}$ C で 7 分間加熱した。PCR 産物のうち、3.0 μ l を RedSafe (iNtRON Biotechnology) で染色した 1%アガロースゲルを用いて電気泳動することで増幅を確認した。増幅が確認できた PCR 産物は、ExoSAP-IT (Affymetrix) を用いて精製後、BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 1.1 (Applied Biosystems) と PCR 増幅の際に仕様したものと同一プライマーを用いて反応を行い、ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) で塩基配列を決定した。本研究にて決定したコモンカスベ 194 個体の mtCR の部分塩基配列は日本 DNA データバンク (DDBJ) に登録した (アクセッションナンバー : LC386653-LC386846)。

得られた塩基配列は BioEdit v. 7.2.5 (Hall, 1999) で編集し、Clustal W v. 2.1 (Larkin et al., 2007) でアライメントを行った。ハプロタイプ間の類縁関係を示すハプロタイプネットワークは Network v. 5.0.0.1 (Fluxus Technology Ltd) を用いて、median-joining 法に基づいて作成した。遺伝的多様性の指標であるハプロタイプ多様度 (h) と塩基多様度 (π) , 海域間の遺伝的分化の指標となるペアワイズ Φ_{ST} 値は

Arlequin v. 3.5.1.3 (Excoffier and Lischer, 2010) を用いて海域ごとに算出した。さらに、コモンカスベにおいてはハプロタイプ間の距離が近く、通常 1 塩基置換で接続することから、ハプロタイプ間の塩基置換数を考慮する Φ_{ST} 値に加えて、ハプロタイプ頻度のみを考慮するペアワイズ F_{ST} 値も Arlequin を用いて算出し、遺伝的分化の指標とした。ペアワイズ Φ_{ST} 値および F_{ST} 値は 10,000 回の再抽出を繰り返して検定し、得られた P 値には、多重比較によるタイプ I エラー率の増大を防ぐために、シーケンシャル・ボンフェローニ補正 (Rice, 1989) を行った。また、標本集団全体の遺伝的分化の程度について検討するために、Past v. 3.21 (Hammer et al., 2001) を用いて p -distance に基づいた多次元尺度構成 (MDS) と、Arlequin を用いて分子分散分析 (AMOVA) (Excoffier et al., 1992) を行った。

さらに、各海域における過去の集団動態を評価するために、Arlequin を用いてミスマッチ分布解析 (Rogers and Harpending, 1992) を行った。ミスマッチ分布解析は集団拡大モデルの下で期待されるハプロタイプ間の差異の頻度分布と、実際観測された頻度分布の間の適合度を求め、偏差平方和 (SSD) と Harpending's raggedness index (H_{ri}) から両者の当てはまりを 10,000 回のブートストラップにより評価した。また、集団動態に関するパラメーターとして、集団拡大以降の推定世代数、すなわち集団拡大が始まってからの期間を示す τ 値と、集団拡大前の集団サイズを示す θ_0 値および拡大後の集団サイズを示す θ_1 値を 10,000 回のブートストラップにより算出した。加えて、Arlequin を用いて Tajima's D (Tajima, 1989) と Fu's F_s (Fu, 1997) の 2 種の中立性検定を行い、それぞれ 10,000 回のブートストラップによって評価し、ミスマッチ分布解析と同じく集団動態の指標とした。なお、九州東岸は mtCR 解析に用いた標本が 1 個体と少ないため、 Φ_{ST} 値の推定、ミスマッチ分布解析と中立性検定 (全体の値には含む) から除いた。

形態比較 計数・計測形質を評価した個体は 70%エタノールもしくは 50%イソプロピルアルコールに保存したものをを用いた。また、ほとんどの個体について、ホルマリン固定前にデジタルカメラで生鮮時の体色を記録し、海域間で色彩を比較した。計測形質に基づいた形態解析では、13 計測形質 [全長、体盤長、体盤幅、尾部長、背面頭長、背面吻長 (眼前吻長)、眼径、両眼間隔、腹面頭長、腹面吻長 (口前

吻長), 鼻前吻長, 両鼻孔間隔, 第1鰓孔間隔] を, 腹面頭長を除く形質については Last et al. (2008) に, 腹面頭長は Ishiyama (1958) に従って計測した. これらの計測方法は Appendix 1 に示した. まず, 海域ごとの形態的特徴や海域間での形態的差異についての概要を把握するために, これら 13 計測形質に基づき Past v. 3.21 を用いて主成分分析 (PCA) を行った. 主成分分析には計測値を対数変換した数値を用いた. さらに, 全長を除く 12 計測形質について, 海域間での差異を確認するために, 全長を共変数として共分散分析 (ANCOVA) を行った. 共分散分析において海域間での有意差が認められた場合, どの海域間で有意差があるかを把握するために, Kruskal-Wallis 検定による多重比較を行い, Holm 法で P 値を補正した. 共分散分析および多重比較では, Orr et al. (2011) に従い, 全長を除く 12 計測形質は全長に対する 100 分率をアークサイン変換した数値を, 全長は解析対象とした標本の平均および標準偏差から求めた標準化変量を用いた.

また, 計数形質として項部棘を計数した. 本属においては項部棘の数は成長に伴って増加することが知られているため (Ishiyama, 1967; Ishihara, 1987), まず全長を共変数とした共分散分析で海域間での差異を確認した. その後, Kruskal-Wallis 検定および Holm 法による多重比較によってどの海域間で有意差があるかを確認した. また, 体各部の比率および項部棘の増加パターンは雌雄で異なっていたため, 共分散分析と多重比較は雌雄区別して解析した. 項部棘は雄では計数値を直接解析したが, 雌では指数関数的な増加を示す地域集団が存在したため, 計数値を対数変換して解析した.

雄個体の成熟サイズを比較するために, 交接器長を Last et al. (2008) に従って計測した. さらに, 雄個体の成熟は Stehmann (2002) に従い, 頬部棘 (Malar thorn) および翼棘 (Alar thorn) の有無と交接器の骨化の程度から確認した. また, 発達段階の名称 (juvenile, adolescent, adult) およびその判断も Stehmann (2002) に従った. 一方, 通常ガンギエイ目魚類の雌個体では成熟は外部形態から判断することは難しいが, 本種の属するオカメエイ属 *Okamejei* では雌は最大 5 列の尾部棘をもち, いずれの種でも成長にともなって列数が増加することが知られている (Ishiyama, 1967; Ishihara, 1987). このことから, 成熟を評価するための指標として, 雌個体の尾部棘

列数を計数して海域間で比較した。雄では推定成熟個体の全長を、雌では尾部棘が定数である5列に達した個体の全長をHolm法で*P*値を補正した一元配置分散分析(one-way ANOVA)と前述の多重比較から海域間での差異を検討した。これらの共分散分析および多重比較にはR v. 3.1.2 (R Core Team, 2014)を用いた。

2.3 結果

2.3.1 mtDNA の調節領域から推定した集団構造と動態

遺伝的分析に用いたコモンカスベ194個体について、mtCRの部分塩基配列597塩基対(bp)が決定された。このうち、11箇所に合計11通りの塩基置換があり、そのうち9はトランジション型、2はトランスバージョン型の変異で、合計14種類のハプロタイプ(Ok1–Ok14)が確認された(Fig. 2-2)。全14種類のハプロタイプのうち、異なる海域間で共有されていたハプロタイプは4種類で(Ok1–4)、残りの10種類は単一の海域からのみ確認されたハプロタイプであり(Ok5–14)、前者は解析個体の49% (96/194)を占め、後者は51% (98/194)であった。ハプロタイプネットワークは数箇所にループ構造がみられる複雑な構造で、そのなかでも接続するハプロタイプが多く、多くの海域から確認されたOk1およびOk2が中心的な位置を占めた(Fig. 2-2)。各海域で検出されたハプロタイプ数は、日本海南部が6種類(Ok1–4, Ok6–7)と最も多く、ついで東シナ海が5種類(Ok1–3, Ok9–10)と多かった。一方、解析個体数の少ない九州東岸を除いて、大阪湾(Ok13–14)と東北太平洋岸(Ok1, Ok11)はそれぞれハプロタイプ数が2種類と少なかった(Table 2-1)。各海域における遺伝的多様度をTable 2-1に示した。解析に用いた全194個体におけるハプロタイプ多様度は比較的low ($h = 0.8191$)、とくに塩基多様度は著しく低い値を示した($\pi = 0.0036$)。それぞれの海域においては、東シナ海($h = 0.6989$, $\pi = 0.0016$)と日本海南部($h = 0.6931$, $\pi = 0.0015$)で比較的高い値を示した。一方、大阪湾では著しくlow ($h = 0.0833$, $\pi = 0.0001$)、日本海北部($h = 0.3101$, $\pi = 0.0008$)と東北太平洋岸($h = 0.2013$, $\pi = 0.0003$)も低い値であった。

海域間のペアワイズ Φ_{ST} では、東シナ海-黄海間と日本海南部-日本海北部の間を除き、各海域間での有意な遺伝的な分化 ($P < 0.05$) が確認された (Table 2-2). Φ_{ST} 値は全体的に高い値を示し ($\Phi_{ST} = 0.097-0.972$), とくに大阪湾と東北太平洋岸は他海域との間でより高い傾向がみられた. さらに、 Φ_{ST} で有意な分化が認められなかった上記の海域間においても、ハプロタイプの頻度に基づくペアワイズ F_{ST} においては、東シナ海・黄海間 ($F_{ST} = 0.372$), 日本海南部・日本海北部間 ($F_{ST} = 0.525$) でも有意な遺伝的分化 ($P < 0.01$) が確認され、これらの海域間でも遺伝子流動が制限されていることが示唆された.

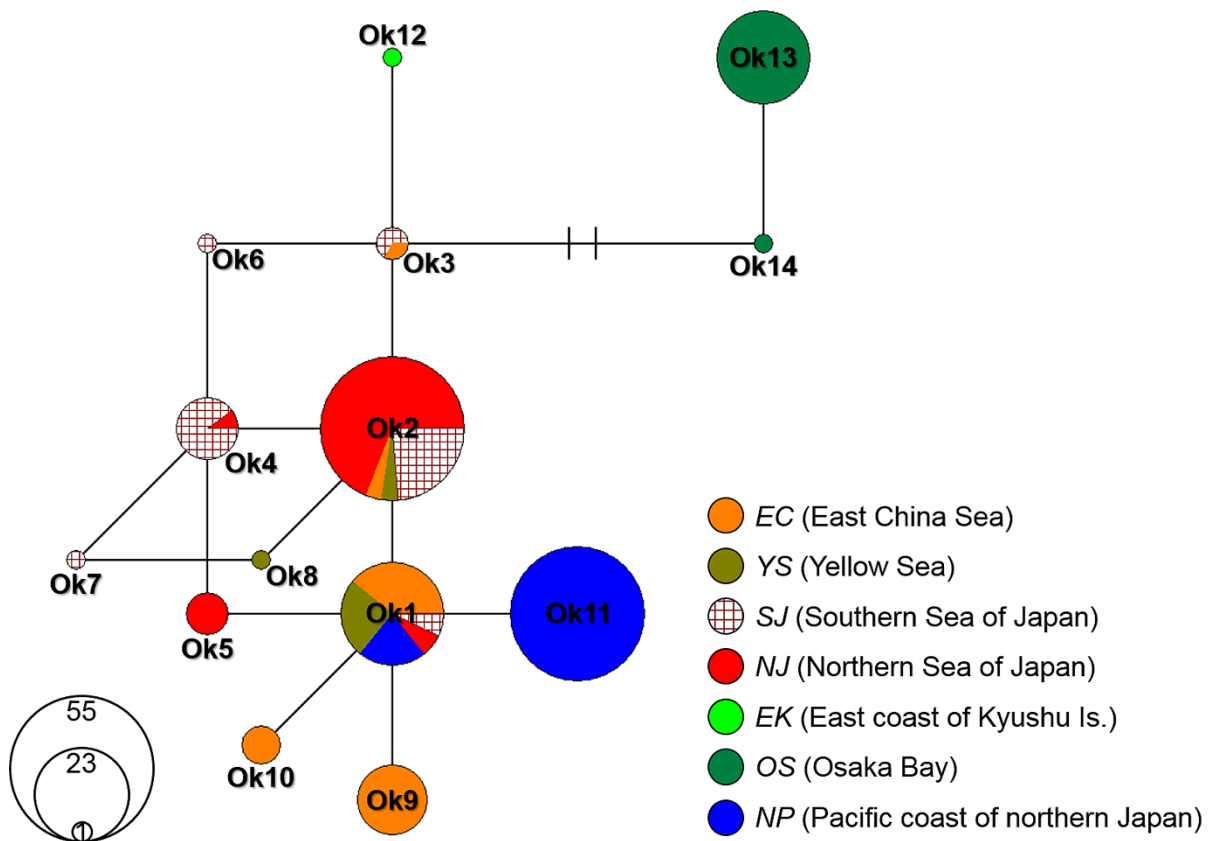


Fig. 2-2 Haplotype network for *Okamejei kenojei* from seven sampling areas based on 597 bp of mtCR. Each circle represents a single haplotype. Circle size represents number of individuals. Each bar represents one substitution. The two sets of perpendicular bars along the branches indicate two substitutions. Letters with numerals indicate haplotype codes

Table 2-1 Genetic diversity indices of *Okamejei kenojei* from seven sampling areas calculated from 597 bp of mtCR. n = number of individuals, H = number of haplotypes, h = haplotype diversity, π = nucleotide diversity. Ranges are followed by mean \pm standard deviation

Abbreviations	Sampling areas	n	H	h	π
<i>EC</i>	East China Sea	31	5	0.6989 \pm 0.0498	0.0016 \pm 0.0013
<i>YS</i>	Yellow Sea	10	3	0.5111 \pm 0.1643	0.0011 \pm 0.0011
<i>SJ</i>	Southern Sea of Japan	28	6	0.6931 \pm 0.0625	0.0015 \pm 0.0012
<i>NJ</i>	Northern Sea of Japan	46	4	0.3101 \pm 0.0836	0.0008 \pm 0.0008
<i>EK</i>	East coast of Kyusyu Is.	1	1	-	-
<i>OS</i>	Osaka Bay	24	2	0.0833 \pm 0.0749	0.0001 \pm 0.0003
<i>NP</i>	Pacific coast of northern Japan	54	2	0.2013 \pm 0.0667	0.0003 \pm 0.0005
Total		194	14	0.8191 \pm 0.0137	0.0036 \pm 0.0022

Table 2-2 Pairwise Φ_{ST} values between sampling areas (below diagonal) and associated P values (above diagonal) of *Okamejei kenojei* from six sampling areas (except *EK*) based on 597 bp of mtCR. Bold letters indicate significant values of $P < 0.05$ (after sequential Bonferroni correction). Abbreviations of sampling areas are shown in Table 2-1

	<i>EC</i>	<i>YS</i>	<i>SJ</i>	<i>NJ</i>	<i>OS</i>	<i>NP</i>
<i>EC</i>	-	0.189	0.001	0.001	0.001	0.001
<i>YS</i>	0.169	-	0.001	0.010	0.001	0.001
<i>SJ</i>	0.518	0.376	-	0.110	0.001	0.001
<i>NJ</i>	0.523	0.360	0.097	-	0.001	0.001
<i>OS</i>	0.891	0.947	0.880	0.917	-	0.001
<i>NP</i>	0.670	0.765	0.805	0.819	0.972	-

また、個体間の p -distance に基づいた多次元尺度構成において、九州東岸と大阪湾のプロットは他海域のプロットから明確に分離した (Fig. 2-3)。東北太平洋岸のプロットも他海域のプロットから分離する傾向がみられたが、東シナ海・黄海・日本海南部・日本海北部との部分的な重複もみられた。一方、東シナ海と黄海、日本海南部と日本海北部はそれぞれプロットが大きく重複しており、また4海域間でもプロットの重複がみられた。

分子分散分析の結果からは (Table 2-3)、全体の遺伝的変異に対する7海域間での変異は有意に大きいことが示された (全体の変異の約80%を占める) ($P < 0.01$)。さらに、多次元尺度構成の結果も考慮して、2から4グループ (2グループ: 東シナ海・黄海・日本海南部・日本海北部・東北太平洋岸, 九州東岸・大阪湾; 3グループ: 東シナ海・黄海・日本海南部・日本海北部, 九州東岸・大阪湾, 東北太平洋岸; 4グループ: 東シナ海・黄海, 日本海南部・日本海北部, 九州東岸・大阪湾, 東北太平洋岸)

を設定して分子分散分析を行ったところ、いずれのグループ設定においてもグループ間、グループ内の海域間、そして各海域内の全てで有意な変異が確認され ($P < 0.05$), 全ての場合においてグループ間の変異が大きく (全体の変異の約 65–73%), グループ内の海域間および各海域内での変異は小さかった (それぞれ全体の変異の約 9–21%と 10–18%). また、いずれのグループ設定においてもグループ間の変異はほぼ同水準であったが、4 グループ設定 (東シナ海・黄海, 日本海北部・日本海南部, 九州東岸・大阪湾, 東北太平洋岸) の場合にグループ間の変異が最も大きかった。

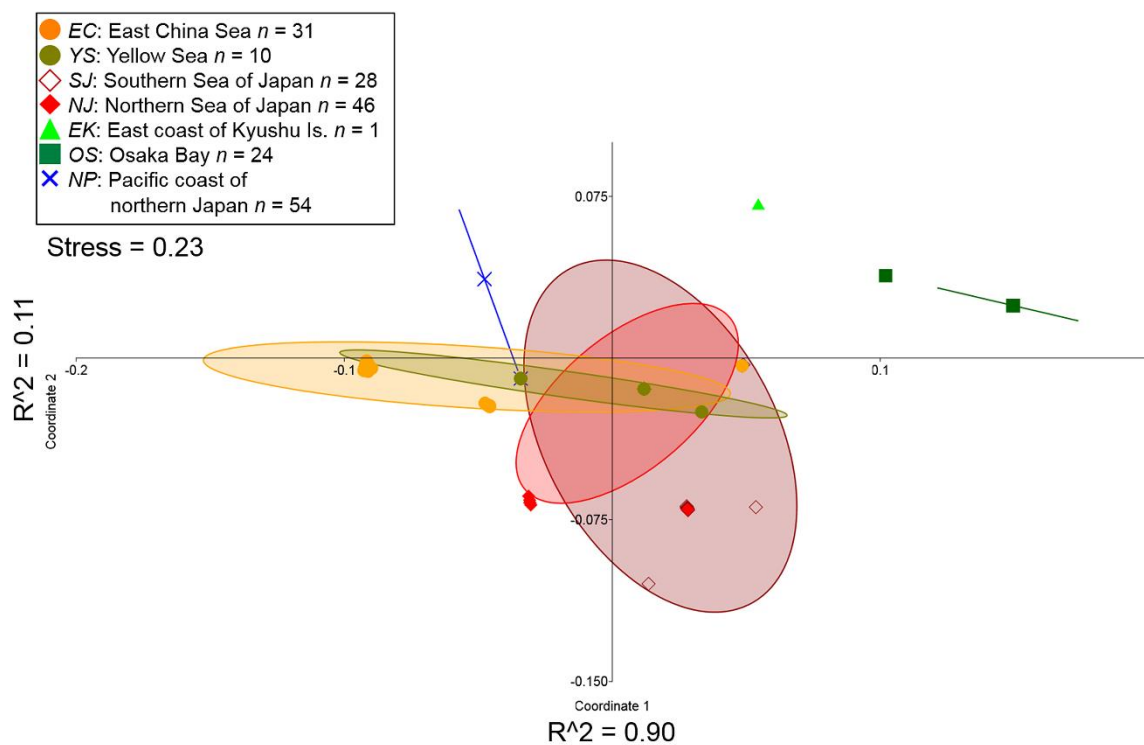


Fig. 2-3 Plots of first two components (Coordinate 1 and 2) of the multidimensional scaling (MDS) analysis for *Okamejei kenojei* from seven sampling areas based on p -distance of 597 bp of mtCR. For each sample, the 95% concentration ellipses illustrating the probabilistic distribution space of each sampling areas are shown

Table 2-3 Hierarchical structure analyses of molecular variance (AMOVA) for *Okamejei kenojei* from seven sampling areas based on 597 bp of mtCR. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 2-1

Groupings	Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	F statistics	Percentage of variation
All seven sampling areas	Among areas	6	158.82	1.011	$\Phi_{ST} = 0.800$ ($P < 0.001$)	79.98
	Within areas	187	47.33	0.253		20.02
2 groups						
<i>EC-YS-SJ-NJ-NP</i> vs. <i>EK-OS</i>	Between groups	1	88.81	1.726	$\Phi_{CT} = 0.688$ ($P = 0.048$)	68.85
	Among areas within groups	5	70.00	0.528	$\Phi_{SC} = 0.676$ ($P < 0.001$)	21.05
	Within areas	187	47.33	0.253	$\Phi_{ST} = 0.899$ ($P < 0.001$)	10.10
3 groups						
<i>EC-YS-SJ-NJ</i> vs. <i>EK-OS</i> vs. <i>NP</i>	Among groups	2	133.23	1.031	$\Phi_{CT} = 0.652$ ($P = 0.039$)	65.17
	Among areas within groups	4	25.59	0.298	$\Phi_{SC} = 0.541$ ($P < 0.001$)	18.83
	Within areas	187	47.33	0.253	$\Phi_{ST} = 0.840$ ($P < 0.001$)	16.00

Table 2-3 Continued

4 groups						
<i>EC-YS</i> vs. <i>SJ-NJ</i>	Among groups	3	151.67	0.995	$\Phi_{CT} = 0.726$	72.55
vs. <i>EK-OS</i> vs. <i>NP</i>					($P = 0.020$)	
	Among areas	3	7.15	0.123	$\Phi_{SC} = 0.327$	8.98
	within groups				($P < 0.001$)	
	Within areas	187	47.33	0.253	$\Phi_{ST} = 0.815$	18.46
					($P < 0.001$)	

ミスマッチ分布解析では、いずれの海域においても置換数 0–1 の範囲にピークをもつ単峰型を示した (Fig. 2-4). 東シナ海 (*EC*) と日本海南部 (*SJ*) では置換数 1 の位置に、黄海 (*YS*), 日本海北部 (*NJ*), 大阪湾 (*OS*), 東北太平洋岸 (*NP*) では置換数 0 の位置にピークをもつ単峰型を示した (Fig. 2-4). 黄海では置換数の 0 の頻度が高く、ついで 1 の頻度も高い L 字型となった. また、日本海南部の *Hri* を除いて、*SSD* と *Hri* の値から、集団拡大モデルとの有意な逸脱は確認されず、過去の集団拡大が示唆された (Table 2-4). 集団拡大以降の推定世代数、すなわち集団拡大が始まってからの期間を示す τ 値は日本海北部、大阪湾、東北太平洋岸で最も大きく、集団拡大前の集団サイズを示す θ_0 値は日本海北部と東北太平洋岸で最も大きく、拡大後の集団サイズを示す θ_1 値は東シナ海と日本海南部で最も大きかった (Table 2-4). 中立性検定では、日本海北部の Tajima's *D* および東北太平洋岸の Fu's *F_s* を除いて全て負の値を示し、過去の集団拡大を示唆したが、いずれにおいても有意な値は得られなかった (Table 2-4).

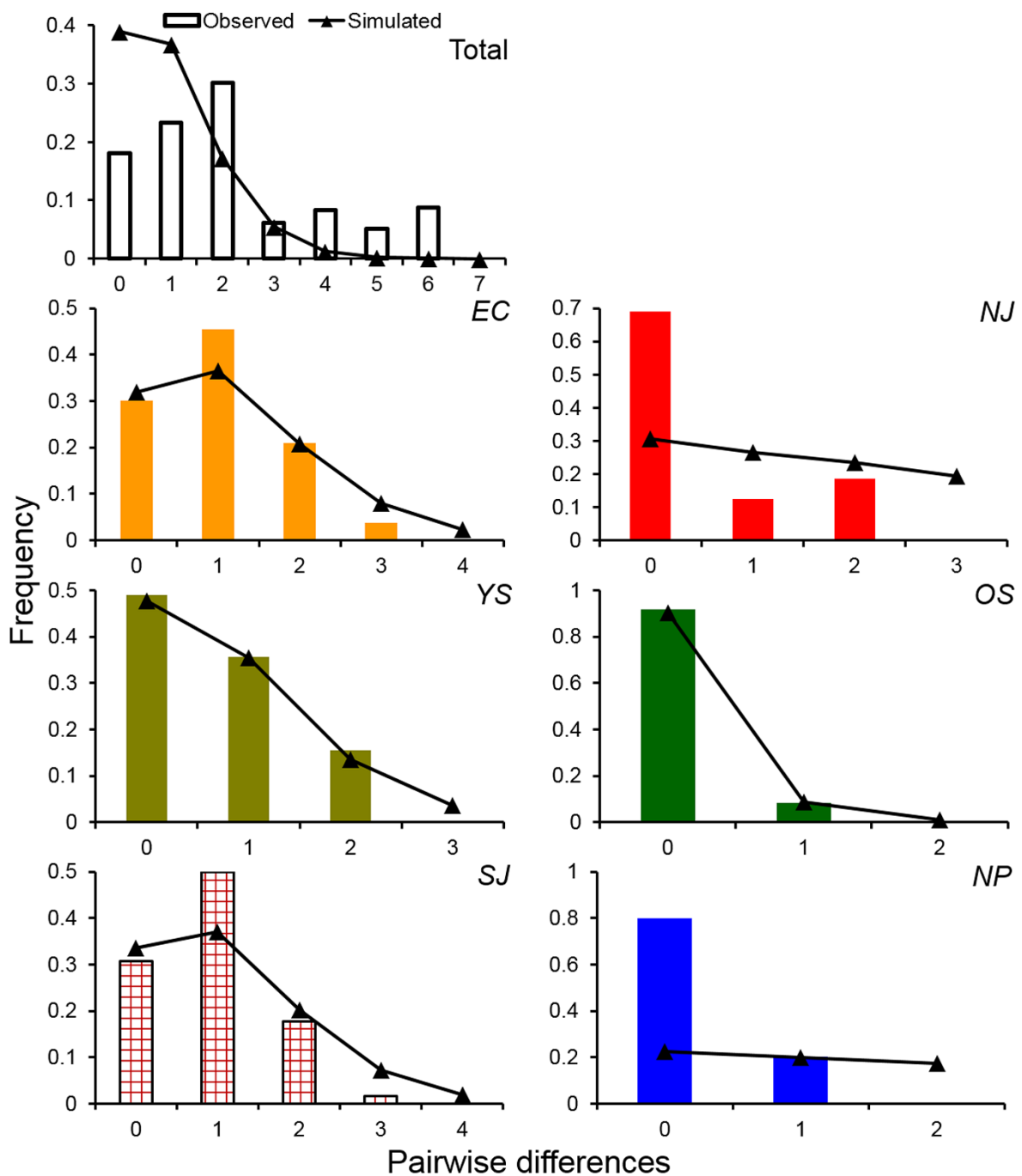


Fig. 2-4 Mismatch distributions for *Okamejei kenojei* from six sampling areas (except *EK*) based on 597 bp of mtCR. Vertical and horizontal axes indicate frequency and genetic differences. The specimens from East coast of Kyushu Is. was included in the Total. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 2-1

Table 2-4 Mismatch distribution analysis and neutrality tests for *Okamejei kenojei* from seven sampling areas based on 597 bp of mtCR. τ = units of mutational time, θ_0 = population size before expansion, θ_1 = population size after expansion. The fit between the observed and expected distributions was tested using the sum of squared deviations (SSD) and Harpending's raggedness index (*Hri*). Bold letters indicate significant values of $P < 0.05$. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 2-1

Sampling areas	τ	θ_0	θ_1	SSD (<i>P</i>)	<i>Hri</i> (<i>P</i>)	Tajima's <i>D</i> (<i>P</i>)	Fu's <i>F_s</i> (<i>P</i>)
<i>EC</i>	1.121	0.000	99,999	0.010 (0.203)	0.114 (0.161)	-0.052 (0.503)	-0.646 (0.324)
<i>YS</i>	0.812	0.000	5.813	0.001 (0.898)	0.082 (0.855)	-0.184 (0.359)	-0.272 (0.327)
<i>SJ</i>	1.066	0.000	99,999	0.022 (0.068)	0.168 (0.040)	-0.320 (0.410)	-2.058 (0.072)
<i>NJ</i>	2.982	0.900	3.600	0.222 (0.130)	0.358 (0.058)	0.162 (0.664)	-0.909 (0.229)
<i>EK</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>OS</i>	2.992	0.056	0.113	0.000 (0.228)	0.701 (0.771)	-1.159 (0.139)	-1.028 (0.073)
<i>NP</i>	2.930	0.900	3.600	0.330 (0.118)	0.397 (0.080)	-0.109 (0.336)	0.356 (0.336)
Total	0.918	0.000	99,999	0.099 (0.001)	0.076 (0.127)	0.322 (0.694)	-2.033 (0.270)

2.3.2 海域間での形態的分化

コモンカスベ 212 個体の 13 計測形質に基づいた主成分分析の結果、第 1 主成分の寄与率は約 93%と高かったが、その因子負荷量は全ての形質で正の値であり、これらはサイズ要素を含むものであると考えられた (Table 2-5)。一方、第 2 主成分の寄与率は約 0.7%で、因子負荷量は尾部長、背面吻長 (眼前吻長)、腹面吻長 (口前吻長)、鼻前吻長で大きく、第 3 主成分の寄与率は約 0.4%で、因子負荷量は眼径で著しく大きな値であった (Table 2-5, Fig. 2-5)。主成分得点は 7 海域ごとに明確に分離されることはなかったが、第 2 主成分、そして第 3 主成分においていくつかの海域ごとにプロットがまとまる傾向がみられ、解析個体数の少ない黄海と九州東岸を除くと、東シナ海・日本海南部・日本海北部、大阪湾、そして東北太平洋岸の 3 グループにプロットが分離する傾向が確認された (Fig. 2-5)。

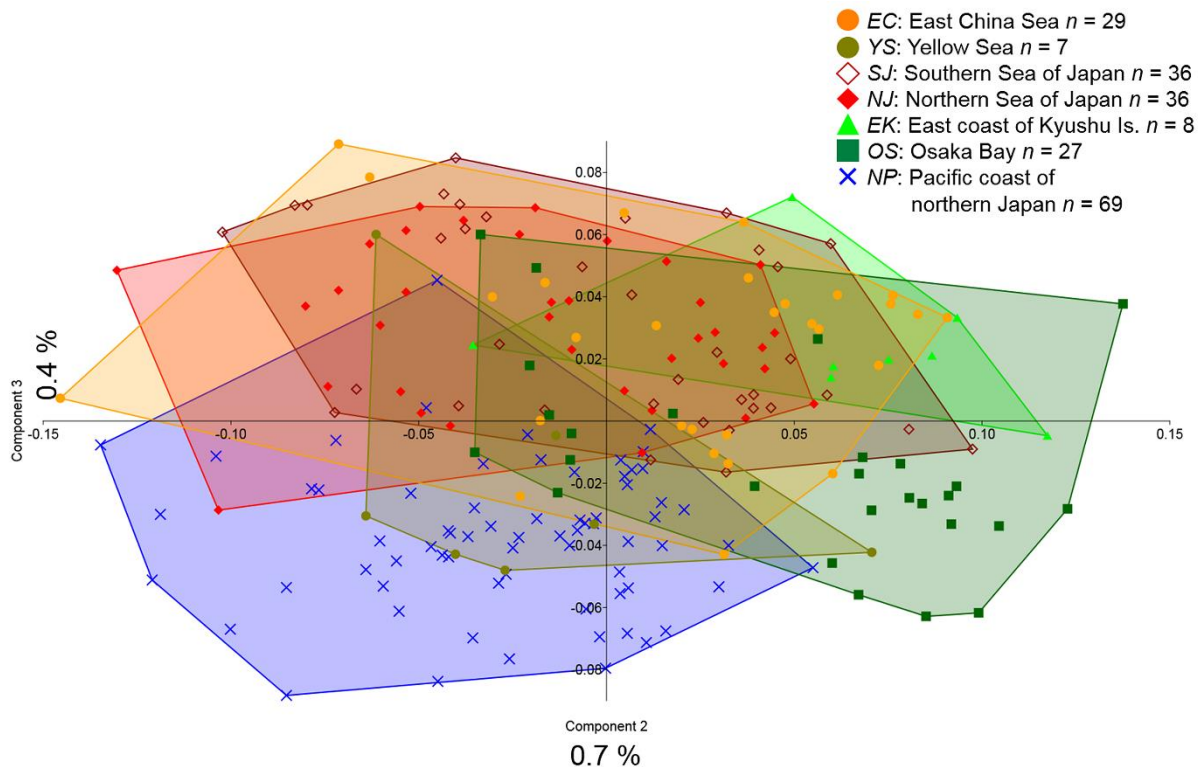


Fig. 2-5 Plots of principal component (PC) scores for *Okamejei kenojei* from seven sampling areas based on 13 measurements

Table 2-5 Factor loadings for principal component (PC) analysis for *Okamejei kenojei* from seven sampling areas based 13 measurements

	PC1	PC2	PC3	PC4
Total length	0.285	-0.195	0.107	-0.293
Disc length	0.291	-0.081	-0.009	-0.123
Disc width	0.284	-0.125	-0.098	-0.058
Tail length	0.258	-0.367	0.184	-0.592
Dorsal head length	0.273	0.222	0.108	-0.062
Dorsal snout length	0.273	0.390	0.012	-0.041
Eye diameter	0.236	-0.274	0.704	0.581
Distance between orbits	0.312	-0.241	-0.518	0.214
Ventral head length	0.291	0.045	0.140	-0.149
Ventral snout length	0.265	0.430	0.104	-0.015
Prenasal snout length	0.263	0.497	-0.014	0.061
Distance between nostrils	0.285	-0.125	-0.284	0.251
Distance between 1st gill slits	0.281	-0.145	-0.242	0.258
Eigenvalue	0.425	0.003	0.002	0.001
Contribution rate (%)	93.485	0.676	0.380	0.245

全長を除く 12 計測形質について、雌雄を区別して 7 海域の標本で共分散分析を行った結果、雄では 1 形質（両眼間隔）、雌では 11 形質（両眼間隔を除く全形質）において海域間での有意差が認められた ($P < 0.01$)。これら 12 計測形質と全長の関係を Fig. 2-6 に、それぞれの海域における計測データと共分散分析および Kruskal-Wallis 検定による多重比較の結果を Table 2-6 と Table 2-7 に示した。多重比較の結果から、東北太平洋岸と大阪湾の個体は他海域の個体からの顕著な形態的差異が認められた (Tables 2-6, 2-7 ; Fig. 2-6)。東北太平洋岸の個体は広い体盤幅、短い背面頭長、広い両眼間隔、短い腹面吻長、広い両鼻孔間隔、広い第 1 鰓孔間隔など、6 形質から特徴付けられた。大阪湾の個体は長い背面吻長、小さな眼径、長い腹面頭長、長い鼻前吻長など、4 形質によって特徴付けられた。なお、九州東岸の個体は比較的大阪湾の個体に類似するが (Fig. 2-5)、九州東岸の個体は大阪湾の個体よりも有意に眼が大きいことが明らかになった (多重比較, $P < 0.01$) (Fig. 2-6 G)。また、東シナ海、黄海、日本海南部、日本海北部の 4 海域からの個体も互いに類似するが (Fig. 2-5)、東シナ海の個体では尾部が長いこと、黄海の個体は眼が小さいことが示唆された (多重比較, $P < 0.01$) (Fig. 2-6 D, G)。一方、日本海南部と北部では両海域間で有意に異なる計測形質は確認されなかった。

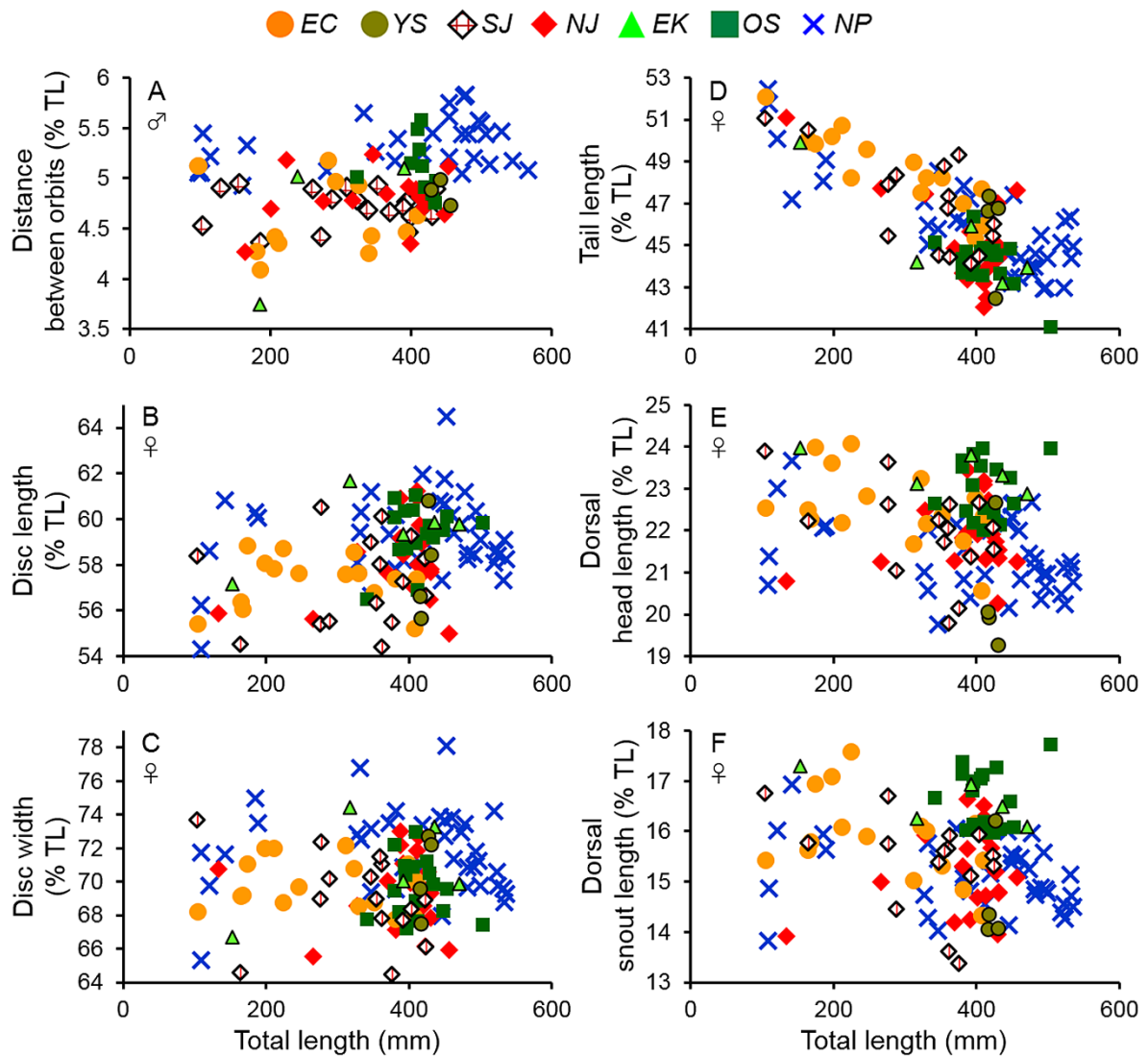


Fig. 2-6 Plots of proportional morphometric characters (in % of total length) of *Okamejei kenojei* which differed significantly among seven sampling areas in ANCOVA. (A) distance between orbits in males, (B) disc length in females, (C) disc width in females, (D) tail length in females, (E) dorsal head length in females, (F) dorsal snout length in females.

Abbreviations of sampling areas are shown in Table 2-1

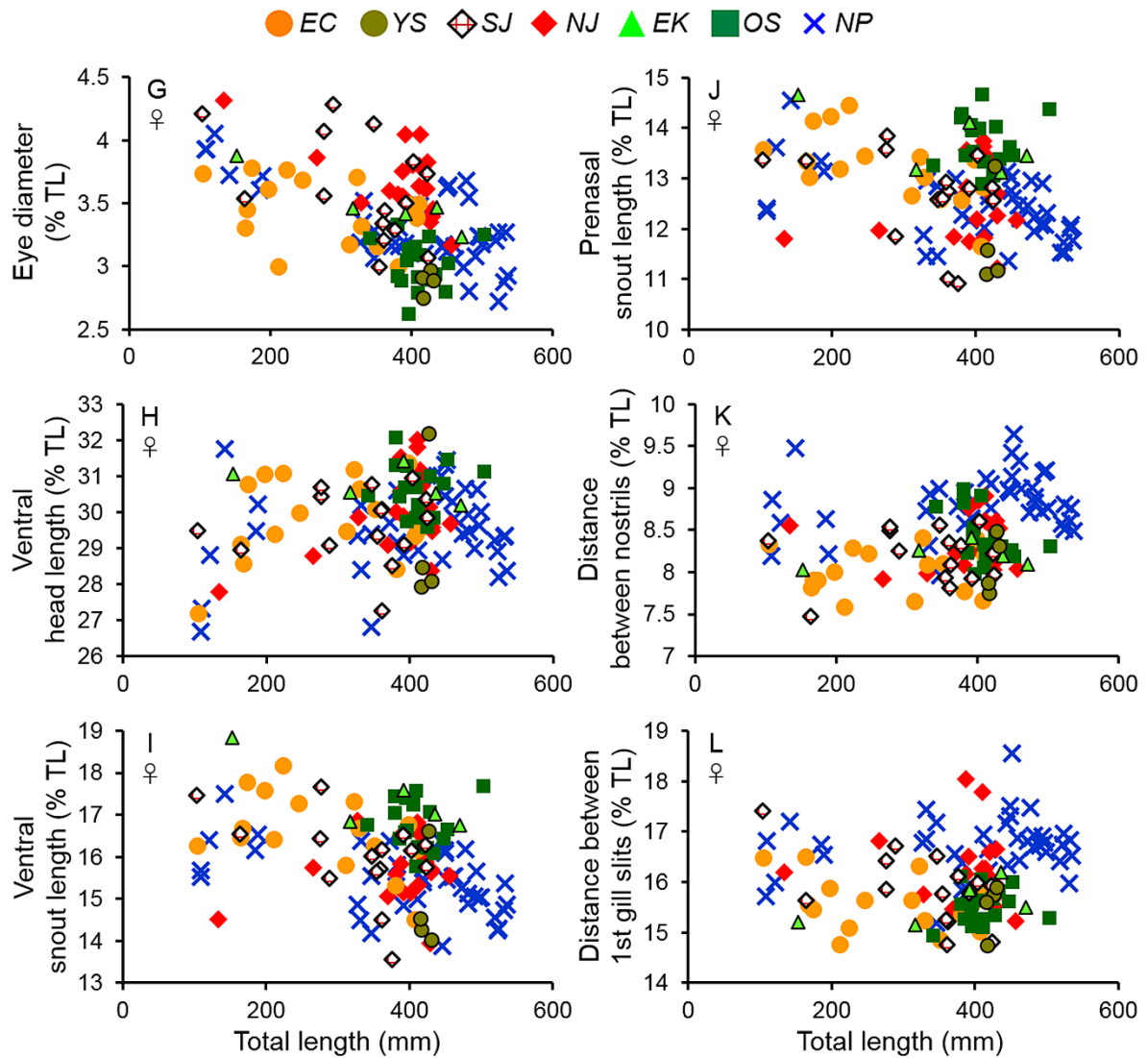


Fig. 2-6 continued (G) eye diameter in females, (H) ventral head length in females, (I) ventral snout length in females, (J) prenasal snout length in females, (K) distance between nostrils in females, (L) distance between 1st gill slits in females. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 2-1

Table 2-6 Proportional measurements of males (in % of total length) from seven sampling areas of *Okamejei kenojei* and their morphological differentiation among sampling areas. Ranges are followed by mean \pm standard deviation in parentheses. Numbers under Significance indicate *P* values in ANCOVA. Sampling areas separated by < are significantly different. NS: non-significant. Abbreviations of sampling areas shown in Table 2-1

	<i>EC</i>	<i>YS</i>	<i>SJ</i>	<i>NJ</i>	<i>EK</i>	<i>OS</i>	<i>NP</i>	Significance
	♂ <i>n</i> = 13	♂ <i>n</i> = 3	♂ <i>n</i> = 21	♂ <i>n</i> = 15	♂ <i>n</i> = 3	♂ <i>n</i> = 10	♂ <i>n</i> = 30	
Total length (mm)	97–408 (258 \pm 99)	428–455 (441 \pm 11)	104–435 (323 \pm 102)	165–453 (349 \pm 89)	185–390 (271 \pm 87)	323–435 (409 \pm 31)	98–566 (376 \pm 154)	
Disc length	54.0–58.4 (56.7 \pm 1.2)	54.2–59.0 (56.2 \pm 2.1)	54.4–61.4 (57.3 \pm 1.9)	54.0–60.1 (57.1 \pm 1.4)	56.6–61.7 (59.1 \pm 2.1)	55.1–61.1 (57.6 \pm 1.8)	54.5–60.2 (58.5 \pm 1.6)	NS
Disc width	63.5–69.9 (67.9 \pm 2.1)	64.4–70.7 (67.1 \pm 2.7)	64.2–73.4 (68.1 \pm 2.9)	64.4–72.5 (68.3 \pm 2.5)	65.6–73.5 (69.6 \pm 3.2)	61.5–72.7 (67.0 \pm 3.0)	66.9–74.3 (70.6 \pm 2.0)	NS
Tail length	48.5–54.4 (50.1 \pm 1.5)	46.9–50.2 (49.0 \pm 1.5)	46.5–51.4 (48.7 \pm 1.2)	46.2–50.2 (48.2 \pm 1.0)	45.6–50.8 (47.4 \pm 2.4)	45.6–49.1 (47.3 \pm 0.8)	45.7–54.1 (48.1 \pm 2.5)	NS
Dorsal head length	19.4–23.3 (21.5 \pm 1.3)	19.0–20.5 (19.8 \pm 0.6)	19.0–24.5 (21.4 \pm 1.6)	18.9–23.4 (20.8 \pm 1.2)	21.6–24.5 (22.7 \pm 1.3)	20.4–23.4 (21.3 \pm 0.8)	18.0–22.6 (20.6 \pm 1.0)	NS
Dorsal snout length	12.9–16.8 (15.1 \pm 1.3)	13.0–13.7 (13.4 \pm 0.3)	12.5–17.9 (14.8 \pm 1.4)	12.5–16.2 (13.9 \pm 0.9)	14.3–18.1 (15.8 \pm 1.7)	13.8–16.4 (14.5 \pm 0.7)	11.9–16.1 (14.2 \pm 0.9)	NS
Eye diameter	3.0–5.0 (3.7 \pm 0.6)	2.6–3.4 (2.9 \pm 0.4)	3.2–4.3 (3.5 \pm 0.3)	3.1–4.0 (3.6 \pm 0.2)	3.4–3.6 (3.6 \pm 0.1)	2.8–3.5 (3.2 \pm 0.2)	2.6–4.4 (3.3 \pm 0.4)	NS
Distance between orbits	4.1–5.2 (4.6 \pm 0.4)	4.7–5.0 (4.9 \pm 0.1)	4.4–5.0 (4.7 \pm 0.2)	4.3–5.2 (4.8 \pm 0.3)	3.7–5.1 (4.6 \pm 0.6)	4.8–5.6 (5.1 \pm 0.3)	4.9–5.8 (5.3 \pm 0.2)	< 0.001 [<i>EC, YS, SJ, NJ</i> < <i>NP</i>] [<i>SJ</i> < <i>OS</i>]

Table 2-6 continued

Ventral head length	26.4–30.5 (29.3 ± 1.1)	27.2–29.2 (28.1 ± 0.8)	27.4–31.5 (29.7 ± 1.2)	27.2–30.8 (29.2 ± 0.8)	29.0–32.8 (30.3 ± 1.7)	28.5–31.0 (29.6 ± 0.7)	26.0–30.7 (29.0 ± 1.1)	NS
Ventral snout length	14.0–17.8 (15.7 ± 1.4)	13.0–14.2 (13.5 ± 0.5)	12.7–19.1 (15.2 ± 1.7)	12.5–16.8 (14.4 ± 1.1)	14.4–18.5 (16.4 ± 1.7)	14.2–16.7 (14.7 ± 0.7)	11.9–16.5 (14.4 ± 1.2)	NS
Prenasal snout length	10.2–14.2 (12.3 ± 1.4)	10.0–10.9 (10.6 ± 0.4)	9.7–15.6 (12.1 ± 1.6)	9.6–13.5 (11.2 ± 1.0)	11.5–15.0 (13.4 ± 1.4)	11.1–13.3 (11.6 ± 0.6)	9.4–13.5 (11.6 ± 1.0)	NS
Distance between nostrils	7.0–8.4 (7.8 ± 0.4)	7.2–8.2 (7.6 ± 0.4)	6.9–8.8 (7.9 ± 0.5)	7.4–8.4 (7.9 ± 0.3)	7.6–8.4 (8.0 ± 0.3)	7.2–8.3 (7.8 ± 0.3)	7.6–9.4 (8.6 ± 0.4)	NS
Distance between 1st gill slits	14.1–16.1 (15.0 ± 0.6)	13.9–14.8 (14.2 ± 0.4)	13.4–17.0 (15.0 ± 1.1)	14.2–16.6 (15.2 ± 0.8)	14.1–15.7 (15.1 ± 0.7)	13.1–15.1 (14.2 ± 0.7)	14.8–17.5 (16.2 ± 0.7)	NS

Table 2-7 Proportional measurements of females (in % of total length) from seven sampling areas of *Okamejei kenojei* and their morphological differentiation among sampling areas. Ranges are followed by mean \pm standard deviation in parentheses. Numbers under Significance indicate *P* values in ANCOVA. Sampling areas separated by < are significantly different. NS: non-significant. Abbreviations of sampling areas shown in Table 2-1

	EC		YS		SJ		NJ		EK		OS		NP		Significance	
	♀ n = 16	♀ n = 4	♀ n = 15	♀ n = 21	♀ n = 5	♀ n = 17	♀ n = 39									
Total length (mm)	104–410 (275 \pm 97)	415–430 (422 \pm 6)	103–424 (327 \pm 89)	134–457 (387 \pm 69)	153–471 (354 \pm 113)	341–503 (411 \pm 35)	108–536 (398 \pm 125)									
Disc length	55.3–59.0 (57.4 \pm 1.1)	55.7–60.8 (57.9 \pm 2.0)	54.4–60.5 (57.3 \pm 1.9)	55.0–61.2 (58.1 \pm 1.6)	57.1–61.7 (59.6 \pm 1.4)	56.5–61.1 (59.4 \pm 1.2)	54.3–64.5 (59.2 \pm 1.8)									0.001 [EC, SJ<OS, NP]
Disc width	67.8–72.2 (69.8 \pm 1.5)	67.5–72.7 (70.5 \pm 2.1)	64.5–73.7 (69.0 \pm 2.6)	65.5–73.0 (69.6 \pm 2.2)	66.7–74.4 (70.9 \pm 2.7)	67.2–73.0 (69.6 \pm 1.7)	65.3–78.1 (71.8 \pm 2.4)									< 0.001 [EC, SJ, NJ, OS<NP]
Tail length	45.4–52.1 (48.7 \pm 1.7)	42.5–47.4 (45.8 \pm 1.9)	44.1–51.1 (47.0 \pm 2.2)	42.0–51.1 (45.0 \pm 2.1)	43.2–49.9 (45.4 \pm 2.4)	41.1–46.4 (44.3 \pm 1.1)	42.9–52.5 (45.8 \pm 2.3)									< 0.001 [NJ, OS, NP<EC] [SJ<OS]
Dorsal head length	20.6–24.1 (22.6 \pm 0.9)	19.3–22.7 (20.5 \pm 1.3)	19.8–23.9 (22.0 \pm 1.1)	20.3–23.4 (21.9 \pm 0.8)	22.9–24.0 (23.4 \pm 0.4)	22.0–24.0 (23.0 \pm 0.7)	19.8–23.7 (21.4 \pm 0.9)									< 0.001 [EC, EK, OS<NP] [EK, OS<NJ]
Dorsal snout length	14.3–17.6 (15.9 \pm 0.8)	14.1–16.2 (14.7 \pm 0.9)	13.4–16.8 (15.4 \pm 0.9)	13.9–16.6 (15.2 \pm 0.8)	16.1–17.3 (16.6 \pm 0.4)	16.0–17.7 (16.7 \pm 0.6)	13.8–16.9 (15.1 \pm 0.7)									< 0.001 [EC, SJ, NJ, NP<OS] [EC, EK<NP] [SJ, NJ<EK]
Eye diameter	3.0–3.8 (3.4 \pm 0.3)	2.8–3.0 (2.9 \pm 0.1)	3.0–4.3 (3.6 \pm 0.4)	3.2–4.3 (3.7 \pm 0.3)	3.2–3.9 (3.5 \pm 0.2)	2.6–3.3 (3.0 \pm 0.2)	2.7–4.1 (3.3 \pm 0.3)									< 0.001 [EC, SJ, NJ, NP<YS, OS] [NJ<NP] [EK<OS]
Distance between orbits	3.8–5.1 (4.7 \pm 0.3)	4.8–5.5 (5.2 \pm 0.3)	4.5–5.3 (4.8 \pm 0.2)	4.6–5.7 (5.2 \pm 0.3)	4.5–5.4 (5.0 \pm 0.3)	4.9–5.8 (5.4 \pm 0.2)	4.6–6.2 (5.5 \pm 0.4)									NS

Table 2-7 continued

Ventral head length	27.2–31.4 (29.8 ± 1.1)	27.9–32.2 (29.2 ± 1.8)	27.3–30.9 (29.7 ± 1.0)	27.8–32.0 (30.0 ± 1.0)	30.2–31.4 (30.8 ± 0.4)	29.6–32.1 (30.7 ± 0.7)	26.7–31.7 (29.5 ± 1.1)	0.001 [SJ, NP<OS]
Ventral snout length	14.5–18.2 (16.6 ± 0.9)	14.0–16.6 (14.9 ± 1.0)	13.6–17.7 (16.0 ± 1)	13.9–16.9 (15.8 ± 0.7)	16.7–18.8 (17.4 ± 0.8)	15.8–17.7 (16.8 ± 0.5)	13.9–17.5 (15.4 ± 0.8)	< 0.001 [EC, EK, OS<NP] [EK, OS<NJ]
Prenasal snout length	11.7–14.5 (13.2 ± 0.7)	11.1–13.3 (11.8 ± 0.9)	10.9–13.8 (12.7 ± 0.8)	11.2–13.7 (12.5 ± 0.7)	13.1–14.7 (13.7 ± 0.6)	12.9–14.7 (13.7 ± 0.5)	11.4–14.5 (12.4 ± 0.7)	< 0.001 [YS, SJ, NJ, NP<OS] [EC, EK<NP] [NJ<EK]
Distance between nostrils	7.6–8.4 (8.0 ± 0.3)	7.8–8.5 (8.1 ± 0.3)	7.5–8.6 (8.2 ± 0.3)	7.9–8.9 (8.4 ± 0.3)	8.0–8.4 (8.2 ± 0.1)	8.0–9.0 (8.4 ± 0.3)	8.0–9.6 (8.8 ± 0.3)	< 0.001 [EC, YS, SJ, NJ, EK, OS<NP] [EC<OS]
Distance between 1st gill slits	14.8–16.5 (15.6 ± 0.5)	14.7–15.9 (15.5 ± 0.4)	14.8–17.4 (15.9 ± 0.7)	15.2–18.0 (16.2 ± 0.7)	15.2–16.2 (15.6 ± 0.4)	14.9–16.1 (15.5 ± 0.3)	15.2–18.5 (16.7 ± 0.6)	< 0.001 [EC, YS, SJ, NJ, EK, OS<NP] [NJ<OS]

計数形質では、項部棘数において、雌雄ともに東北太平洋岸の個体で多い傾向が認められ、とくに、東北太平洋岸と東シナ海・日本海南部・日本海北部・大阪湾の間に雌雄とも有意差が認められた ($P < 0.01$)。全長約 30 cm 以上の個体において、東北太平洋岸の雄雌では 3–12 本の範囲で、通常 4 本以上の項部棘を有することに対して、他の海域では雌雄ともに 2–4 本の範囲で、通常 2 もしくは 3 本の項部棘を有することで区別された (Fig. 2-7 A, B)。また、統計的には支持されなかったが、大阪湾の個体では雌雄ともに他の海域よりも項部棘が少なく、全長約 30 cm 以上の個体でも高い頻度で 2 本もしくは 1 本であった。さらに、全長約 20 cm 以下の小型個体について、東北太平洋岸の個体では雌雄ともに 2 本以上、東シナ海・日本海南部・日本海北部・九州東岸の個体では雌雄ともに 1 本の棘を有することから、東北太平洋岸とそれ以外の海域で差異があることが示唆された。

成熟サイズについて、雄個体の成熟の指標となる交接器の伸長を Fig. 2-8 (A) に、雌個体の成熟の指標となる尾部棘の列数の増加を Fig. 2-8 (B, C) に示した。本研究で観察した雄個体について、交接器長が全長の 24% を越えた全ての個体において交接器の骨化と頬部棘および翼棘が確認され、成熟しているものと判断された。雄の成熟個体は東北太平洋岸で全長 454–566 mm (平均 493 mm, 標準偏差 32 mm) となり、東シナ海・日本海南部・日本海北部・大阪湾の個体より有意に大きいことが明らかとなった (多重比較, $P < 0.05$)。東北太平洋岸以外の海域では、全長 343–455 mm (平均 410 mm, 標準偏差 25 mm) の範囲であった。全長と交接器長の関係は S 字曲線を示し、交接器が急激に伸長するタイミングは、東北太平洋岸ではより大型の個体で伸長が開始していた (Fig. 2-8 A)。一方、雌の尾部棘の列数の増加も雄の交接器の伸長と同様におおむね S 字状の曲線を示し、交接器の伸長と良く似た増加パターンであった (Fig. 2-8 B, C)。5 列の尾部棘を有する個体は東北太平洋岸では全長 450–536 mm (平均 495 mm, 標準偏差 28 mm)、他の海域では全長 288–503 mm (平均 400 mm, 標準偏差 37 mm) の範囲で、雄の成熟個体と同様に東北太平洋岸の個体で大きくなる傾向を示した。尾部棘の列数が定数の 5 列に達した個体を成熟段階にあると判断して、5 列の尾部棘を有する個体の全長を比較したところ、東北太平洋岸と東シナ海・黄海・日本海南部・日本海北部・大阪湾の間に有意に異なってい

た（多重比較および一元配置分散分析， $P < 0.01$ ）。さらに，最大サイズも東北太平洋岸の個体では大きく，全長 500 mm 以上に達することに対して，他の海域の個体では 500 mm 以下であった。

生鮮時の色彩について，生時の体色を記録できなかった黄海と九州東岸の個体を除いて，大型個体の各海域での典型的な体色を Fig. 2-9 に示した。本種には同じ海域内であっても体色や斑紋に多型が認められたが，東北太平洋岸の個体では体盤背面全体に細かな黒点が散在すること，尾部に数本の白色帯をもつこと（Fig. 2-9 E）で他の海域の個体と明瞭に異なった。また，東シナ海，大阪湾の大型個体では体盤全体に散在する淡色斑が淡く，不明瞭であること，体盤後方に 1 対の大型白色斑が存在しないことから（Fig. 2-9 A, D），他海域の個体と異なった。また，日本海においては Fig. 2-9 (C, NJ) のような複雑な斑紋をもった個体がしばしばみられた。さらに，幼魚等の小型個体の色彩について，生時の体色を記録できなかった黄海と大阪湾の個体を除く各海域での典型的な体色を Fig. 2-10 に示した。小型個体においては胸鰭中央にある 1 対の大型の円形斑（眼状斑）に海域間で差異がみられ，東北太平洋岸の個体では小型で円形に近い（Fig. 2-10 E）ことに対して，他の海域の個体では大型で楕円形であることで区別できた（Fig. 2-10 A-D）。

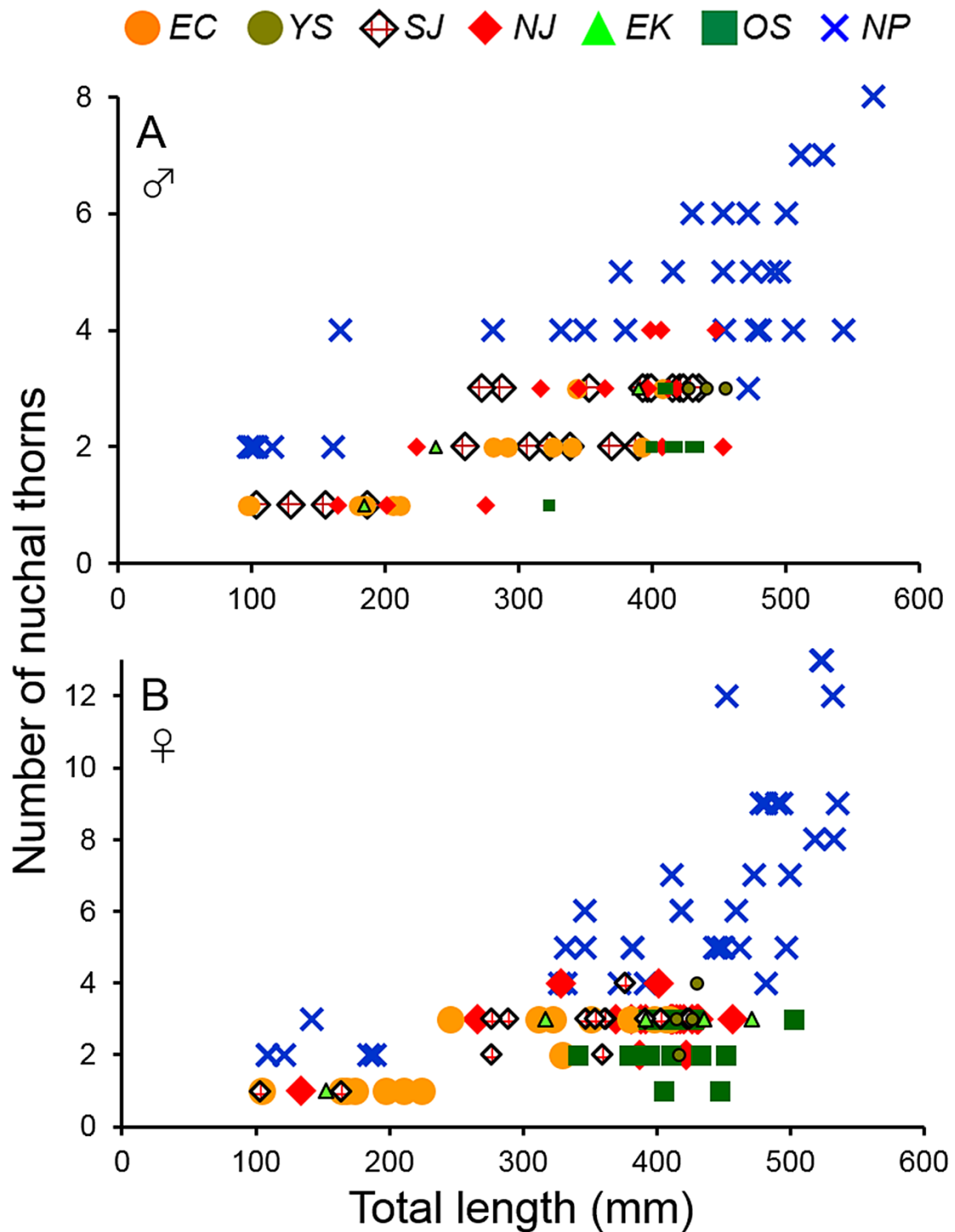


Fig. 2-7 Plots of nuchal thorn numbers of *Okamejei kenojei* from seven sampling areas. (A) males, (B) females. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 2-1

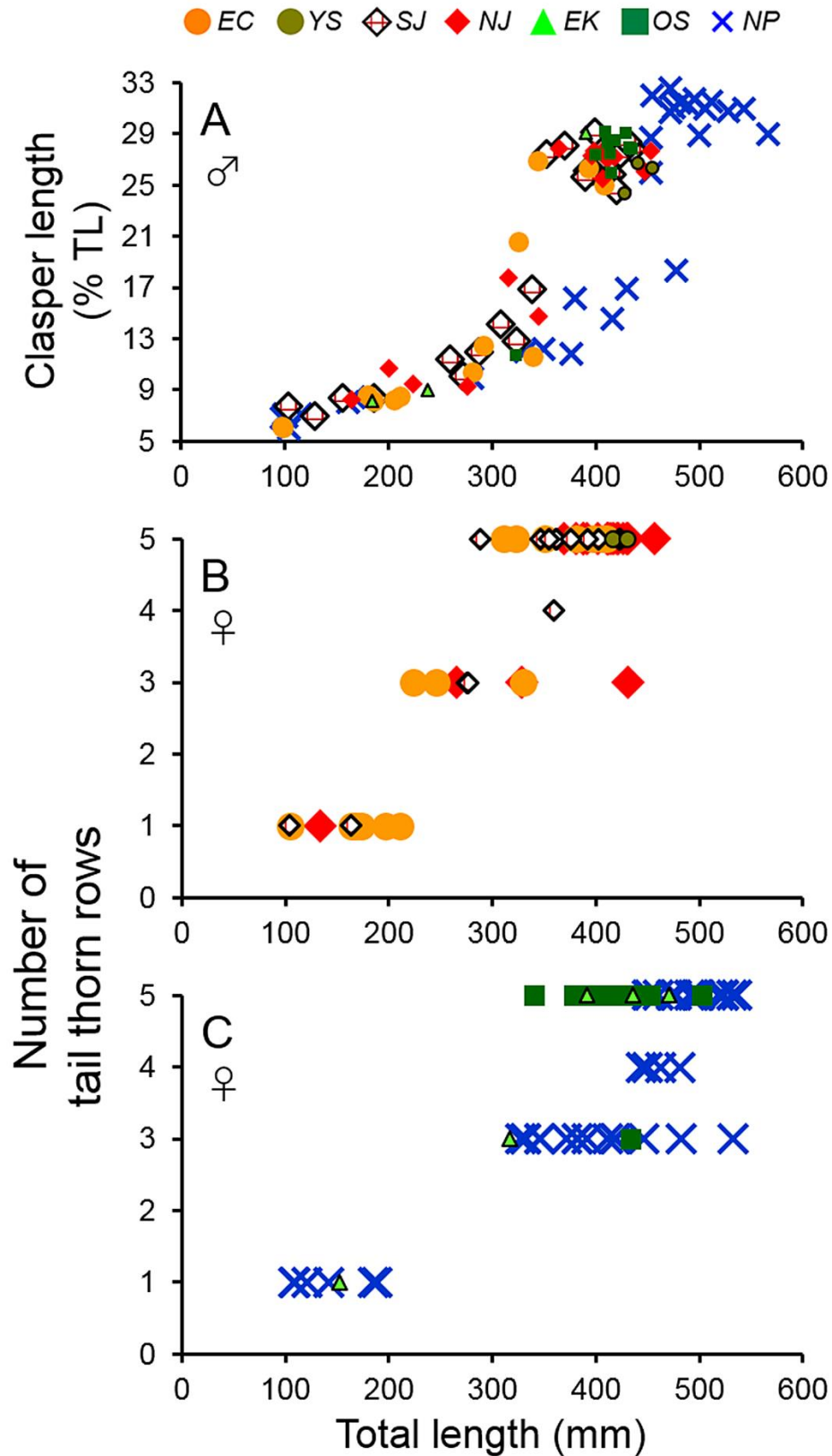


Fig. 2-8 Plots of clasper length in males (A) and tail thorn numbers in females (B: *EC*, *YS*, *SJ*, and *NJ* only; C: *EK*, *OS*, and *NP* only) of *Okamejei kenojei* from seven sampling areas.

Abbreviations of sampling areas are shown in Table 2-1

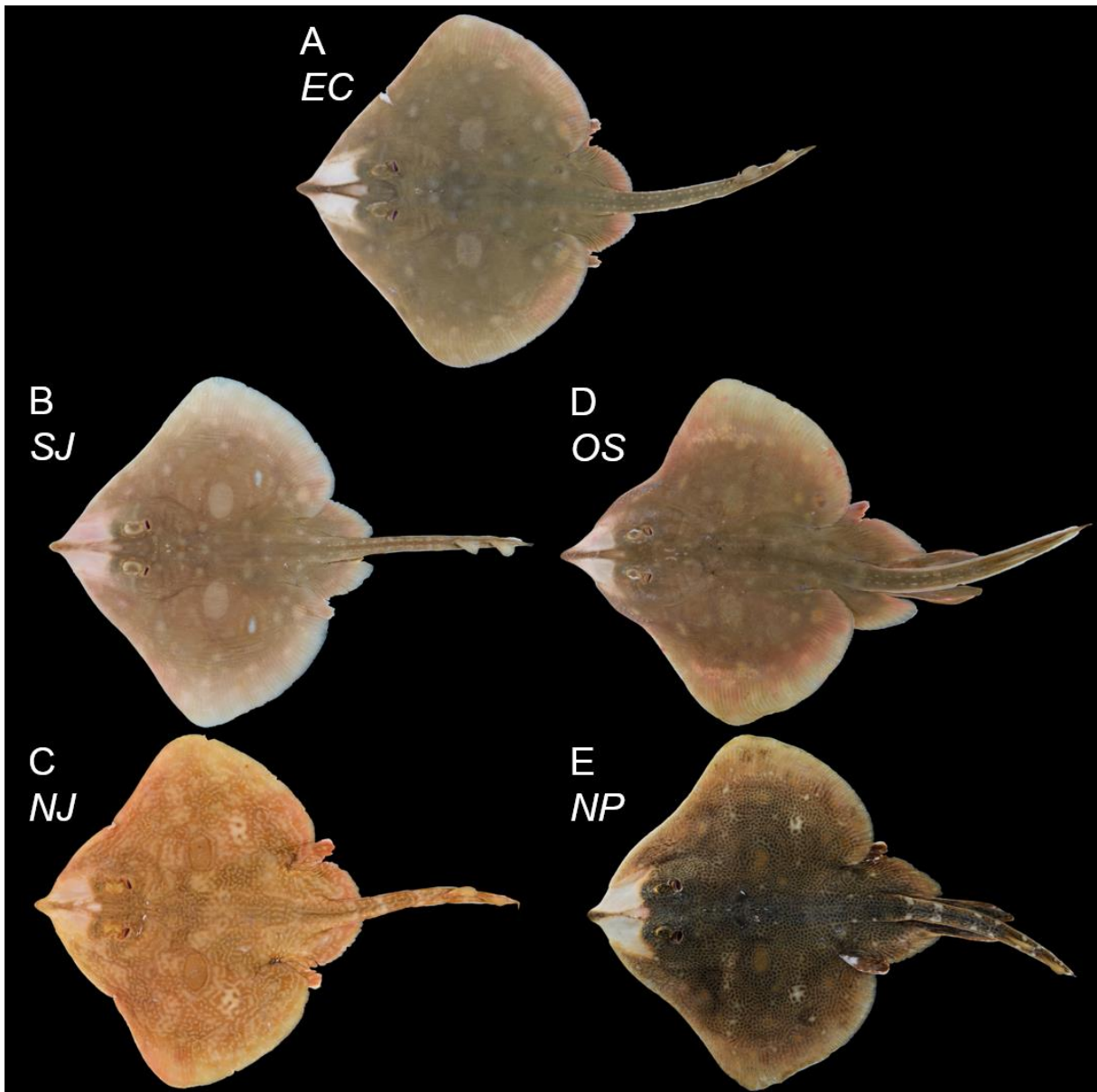


Fig. 2-9 Typical coloration in fresh condition of large specimens of *Okamejei kenojei* from five sampling areas. (A) FAKU 140518, 384 mm TL, adult female, Nagasaki, East China Sea, (B) BSKU 116603, 289 mm TL, adolescent male, Shimane, southern Sea of Japan, (C) FAKU 141229, 387 mm TL, adult female, Niigata, northern Sea of Japan, (D) 140521, 430 mm TL, adult male, Osaka Bay, (E) BSKU 112173, 462 mm TL, adult male, Ibaraki, Pacific coast of northern Japan

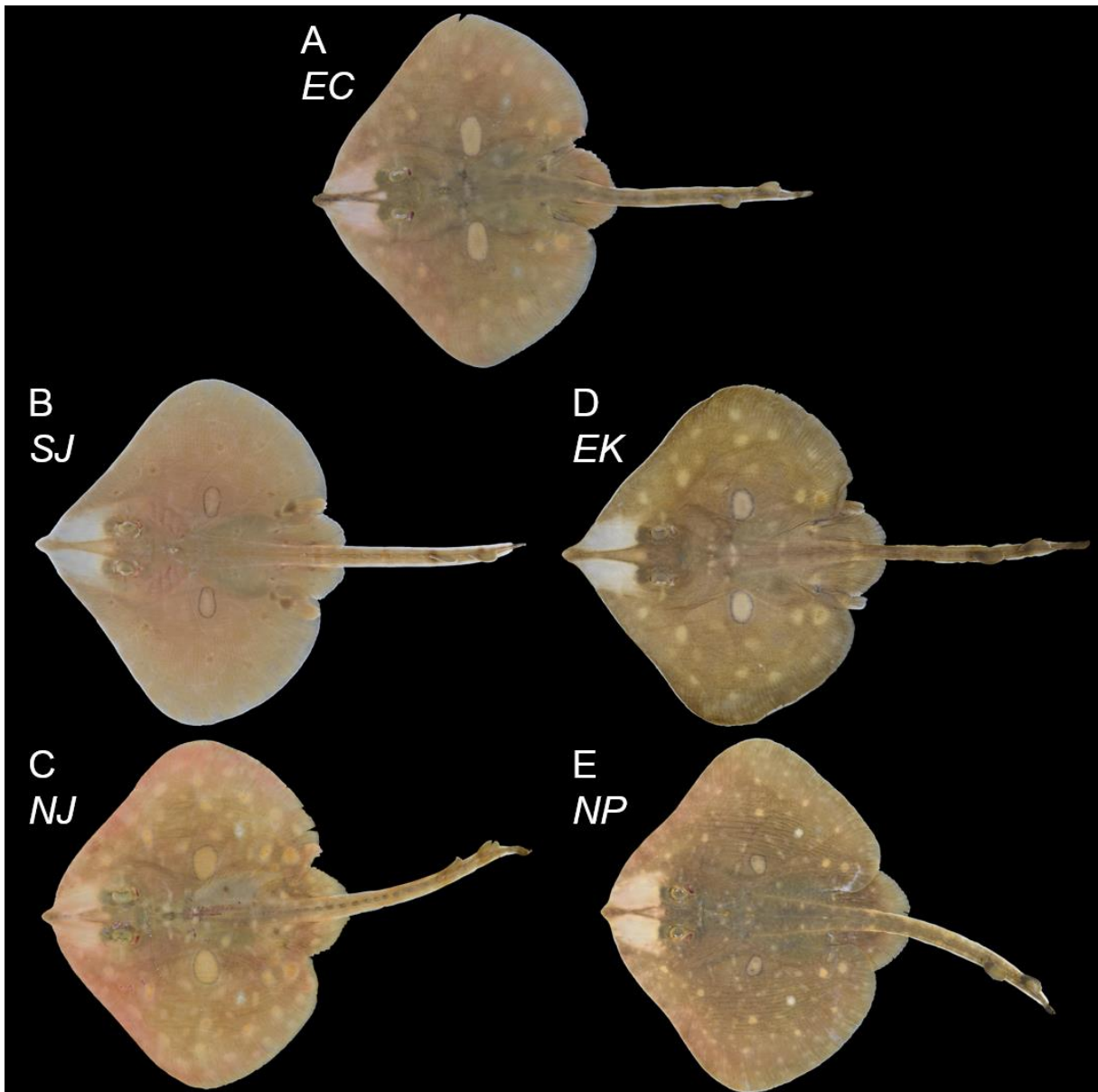


Fig. 2-10 Typical coloration in fresh condition of small specimens of *Okamejei kenojei* from five sampling areas. (A) FAKU 140514, 199 mm TL, juvenile female, Nagasaki, East China Sea, (B) FAKU 140599, 156 mm TL, juvenile male, Wakasa Bay, southern Sea of Japan, (C) FAKU 143091, 166 mm TL, juvenile male, Toyama Bay, northern Sea of Japan, (D) FAKU 137594, 152 mm TL, juvenile female, Miyazaki, east coast of Kyushu Is., (E) FAKU 145194, 191 mm TL, juvenile female, Aomori, Pacific coast of northern Japan

2.4 考察

集団構造 コモンカスベにおいて、遺伝的分析の Φ_{ST} 値および F_{ST} 値の有意性から、東シナ海、黄海、日本海南部、日本海北部、九州東岸、大阪湾、そして東北太平洋岸の7海域間で遺伝子流動が制限されていることが示唆された (Table 2-2)。さらに、日本海南部と北部間を除いて、形態的にもこれらの海域の集団ごとに差異がみられた。このなかでもとくに、大阪湾集団と東北太平洋岸集団は遺伝的にも形態的にも他の集団からの分化が顕著であった。ガンギエイ目魚類における地理的集団構造の存在はこれまでもいくつかの例が知られており (例えば, Chevolut et al., 2006 ; Griffiths et al., 2011 ; Pasolini et al., 2011 ; Cariani et al., 2017 ; Im et al., 2017 ; Vargas-Caro et al., 2017 ; Ferrari et al., 2018), コモンカスベにおけるこれらの結果も、本目魚類における低い分散能力と地域集団形成の関係を支持すると考えられる。とくに、本種におけるこのような狭い空間スケールでの集団構造は、遊泳性の種よりも分散能力の低い、浅海に生息する小型の底生性軟骨魚類でよくみられるとされている (Larson et al., 2017 ; Vargas-Caro et al., 2017 ; Ferrari et al., 2018)。

本研究にて確認されたコモンカスベの集団構造について、多次元尺度構成や分子分散分析の結果から、東シナ海・黄海、日本海、南日本太平洋岸 (九州東岸+大阪湾)、東北太平洋岸の4グループに大別されることが示唆された。それぞれのグループ間には、対馬海峡 (水深約 130 m) や大隅海峡 (約 130 m)、関門海峡 (約 50 m)、津軽海峡 (約 140 m) が存在する。通常、水深 30–100 m の浅海域に生息する本種にとってはこれらの海峡は現在でも分散を妨げる強い障壁とは考えにくく、過去の氷期における海水準変動とそれに伴う海峡の陸橋化の影響が大きいと考えられる。すなわち、最終氷期においては海水準が最大で 140 m ほど低下した際に、これらの海峡は陸橋化もしくは細い水路のような状態になっていたと推定されており、とくに日本海は東シナ海や太平洋から孤立していたとされる (例えば, Oba et al., 1991 ; 松井ほか, 1998)。したがって、海峡の陸橋化による分断でコモンカスベの地域集団の分化が促進されことに加えて、本種の低い分散能力の影響により、過去の分化パターンを現在まで維持している可能性が考えられる。実際、過去の氷期にお

ける集団の分断が、現在も遺伝的集団構造に影響しているものに、メナダ *Chelon haematocheilus*, シログチ *Pennahia argentata*, マダラ *Gadus macrocephalus*, スジハゼ *A. virgatulus*, ツマグロスジハゼ *Acentrogobius* sp. 2, コノシロ *Konosirus punctatus* などが挙げられる (Liu et al., 2007 ; Han et al., 2008 ; Gwak and Nakayama, 2011 ; 松井, 2014 ; Gwak et al., 2015).

東北太平洋・東シナ海・日本海南部および北部集団は、東シナ海を起源とし対馬海峡から日本海に流入し、津軽海峡を通過して太平洋へと南下する対馬暖流の影響下にある。東北太平洋岸集団では、九州東岸や大阪湾集団との遺伝的分化が大きかったことに対して、東シナ海や日本海側の集団との遺伝的分化は比較的小さかったことから、南日本の太平洋側からではなく、津軽海峡を通過して成立した可能性が高いと考えられた。実際、東北太平洋岸集団において、対馬暖流の影響を受けやすい青森県と岩手県沖の個体 (17 個体中 6 個体) からのみ Ok1 のハプロタイプが検出されており (Fig. 2-2), 対馬暖流が東北太平洋岸への遺伝子流動を促進した可能性が示唆された。一方、東北太平洋岸集団において最も高い頻度で検出されたハプロタイプ Ok11 は東シナ海や日本海の集団からは検出されなかったこと、東北太平洋岸集団の形態型は日本海からは確認されなかったことから、津軽海峡を通じた遺伝子流動や集団の移動には方向性があり、日本海側から東北太平洋岸へのみであると考えられた。

また、対馬暖流流域の東シナ海から日本海北部までの 4 集団は遺伝的にも形態的にも比較的類似しており (Figs. 2-3, 2-5), 分子分散分析において、対馬暖流グループ (東シナ海, 黄海, 日本海南北, そして東北太平洋岸) とその他のグループ (九州東岸と大阪湾) の 2 グループを設定した場合においてもグループ間の変異は 4 グループを設定した場合とほぼ同水準で大きく、有意であったことから (Table 2-3), 本種における集団の分化には対馬暖流の影響が大きいことが示唆された。多くの海産魚類や無脊椎動物は浮遊期があり、海流による分散を受けるため、海流と集団構造の間には密接な関係がある (Bohonak, 1999)。実際、日本近海の浅海性魚類や貝類では黒潮と対馬暖流間で集団の分化が生じている例が多く知られており、キヌバリ *Pterogobius elapoides* とチャガラ *P. zonoleucus*, マツバガイ *Cellana nigrolineata*, シロ

ウオ *Leucopsarion petersii*, スジハゼ, オキナワイシダタミ *Monodonta labio* などと同じような分化パターンがみられる (Akihito et al., 2008 ; Nakano et al., 2010 ; Kokita and Nohara, 2011 ; 松井, 2014 ; Yamazaki et al., 2017). 一方, ガンギエイ目魚類は生活史を通して浮遊期がないため, 浮遊期をもつ他の海産生物とは異なり, 初期生活史において海流による直接的な輸送による分散を受けにくいと考えられる. しかし, 前述のように, コモンカスベにおいても海流が集団構造の形成に大きく関わると考えられ, 本研究の結果はこれまで関係性が明らかにされていなかったガンギエイ目魚類の集団構造と海流の関係を示す例であると考えられる.

東北太平洋岸集団は他の地域集団と比べ, 遺伝的分化に対して形態的な分化が顕著であった. 東北太平洋岸集団はかつて Ishiyama (1958, 1967) によって“クロカスベ *Raja fusca*”として認識されていたものと同様の形態的特徴を示し, 他の集団からは明確に区別することが可能だった. しかし, Ok1 のハプロタイプを他の集団と共有しているため生殖的隔離は成立していないと考えられ (Fig. 2-2), Ishihara (1987) と同じく, 東北太平洋岸の個体群はコモンカスベにおける地域集団の 1 つであると結論付けられた. 東北太平洋岸集団の異なったハプロタイプ頻度と, 他の集団から明確に分化した形態的特徴の要因のひとつとして, 創始者効果による可能性が考えられる. 創始者効果は, 少数個体に基づいて隔離個体群が新たに生じる際に, 元の個体群とは異なった遺伝子頻度の個体群ができることで, このイベントによって形態的にも元の個体群とは異なった形態に変化することが知られている (Rasner et al., 2004). 一方, ガンギエイ目魚類においては, 生息環境に適応するために, 遺伝的な変異は伴わず, 表現型や生理的な変化が生じる例が知られている (Kelly and Hanson, 2013 ; Lighten et al., 2016). 東北太平洋岸集団の形態的特徴は, このような環境に対する何らかの適応的な影響による可能性も考えられる. 今後, 本種に対して水温などの環境要因が形態に与える影響を調べることや, mtDNA の異なる領域, または核 DNA を分析することで, 東北太平洋岸集団の遺伝・形態間のギャップに対する要因が明らかにできると考えられる.

九州東岸および大阪湾集団は, 他の集団から遺伝的に明瞭に分化しており, 生息域が他の集団から強く隔離されていることが原因として考えられた. 本研究におけ

る調査において、黒潮の影響が強い南日本太平洋岸では本種の主要な分布地が少なく、局所的に分布する傾向がみられた。例えば、浅海性のガンギエイ目魚類が普通にみられる高知県沿岸では標本に基づいた本種の記録はなく、代わりにコモンカスベと同属の浅海性小型種メダマカスベ *O. meerdervoortii* が多くみられる（三澤・遠藤, 2014）。和歌山県や三重県においてもコモンカスベの標本に基づいた記録は非常に少なく（例えば、鈴木・片岡, 1997；池田・中坊, 2015）、代わりに同じく同属の浅海性小型種ツマリカスベ *O. schmidtii* が多くみられる。また、本研究を通して愛知県や静岡県沿岸からは本種の出現を確認できず、先行研究からもこれらの海域での出現は認められていない（例えば、Ishiyama, 1958）。黒潮はさまざまな海産魚類の分布や集団形成に対して大きな要因となっており（松浦, 2012）、本種に対しても黒潮は何らかの分布制限要因となっている可能性が考えられた。また、瀬戸内海の家産魚類をまとめた標本目録（波戸岡・花崎, 2017）においても、本種の記録は大阪湾のみに限られている。以上のことから、九州東岸や大阪湾の集団は生息域が局地化されたために他の集団と分布域が隔離され、交流が強く制限されていると考えられる。なお、九州東岸 (Ok12) と大阪湾 (Ok13, 14) のハプロタイプは東シナ海および日本海南部のハプロタイプ (Ok3) とそれぞれ 1 塩基と 2 塩基置換で接続し (Fig. 2-2)、九州東岸集団は大阪湾集団が成立した後に対馬暖流側のグループから独立したものと考えられ、それぞれの集団形成史は異なると推定される。

以上のことから、本種は狭い空間スケールで明確な集団構造を有することが明らかとなり、とくに対馬暖流や津軽海峡が本種の集団構造の形成に寄与していることも示唆された。

遺伝的多様度と集団動態 本種における mtCR の遺伝的多様度は、ハプロタイプ多様度 ($h=0.8191$)、塩基多様度 ($\pi=0.0036$) とともに低く、とくに塩基多様度が低いことが明らかになった (Table 2-1)。本研究で対象とした mtCR 領域はタンパク質をコードしない非コード領域で、塩基置換速度が早く種内の多型が検出しやすいとされるが (小北, 2018)、このような本種における低い遺伝的多様度、とくに低い塩基多様度は軟骨魚類における遅い塩基置換速度が関係していると考えられる。

一般的に、軟骨魚類では他の脊椎動物と比較して mtDNA の塩基置換速度が遅く

〔哺乳類の 1/10 程度〕 Martin et al., 1992 ; Martin, 1999〕, 他の硬骨魚類よりも種ごとの遺伝的多様度は低くなりやすいと考えられている. 例えば, 他の軟骨魚類の mtCR では, 東部北大西洋および地中海のガンギエイ科 *Dipturus oxyrinchus* および *Raja clavata* の場合, 前者では $h=0.672$, $\pi=0.00223$ [($n=28,733$ bp) Griffiths et al., 2011], 後者では $h=0.554$, $\pi=0.0023$ [($n=199,419$ bp) Pasolini et al., 2011], 南アフリカ沿岸のガンギエイ科 *Raja straeleni* では $h=0.674$, $\pi=0.0025$ [($n=55,419$ bp) Pasolini et al., 2011 et al., 2011], 南半球のアカエイ科 *Dasyatis brevicaudata* では $h=0.78$, $\pi=0.09$ [($n=176,1914$ bp) Le Port and Lavery, 2012], 西部大西洋のメジロザメ科 *Carcharhinus signatus* およびクロトガリザメ *C. falciformis* では, 前者で $h=0.745$, $\pi=0.00341$ [($n=152,1066$ bp) Domingues et al., 2018a], 後者では $h=0.885$, $\pi=0.005$ [($n=211,707$ bp) Domingues et al., 2018c], 東部北太平洋のドチザメ科イコクエイラクブカ *Galeorhinus galeus* と *Mustelus henlei* ではそれぞれ $h=0.73$, $\pi=0.0019$ [($n=26, ca. 1,000$ bp) Chabot and Allen, 2009], $h=0.77$, $\pi=0.004$ [($n=126, ca. 700$ bp) Chabot et al., 2015], バハ・カリフォルニア沖のシュモクザメ科アカシュモクザメ *Sphyrna lewini* では $h=0.51$, $\pi=0.0009$ [($n=44,548$ bp) Duncan et al., 2006], ハワイ諸島のツノザメ科フトツノザメ *Squalus mitsukurii* では $h=0.541$, $\pi=0.0010$ [($n=112,670$ bp) Daly-Engel et al., 2010] と報告されており, コモンカスベと同様に低い遺伝的多様度 (とくに塩基多様度) を示し, これらは他の底生性硬骨魚類と比べて比較的低い値である (Heyden et al., 2010).

また, Feutry et al. (2014) は, メジロザメ科 *Glyphis glyphis* において, mtDNA のなかでも mtCR は遺伝的多様度が低く, 種内の集団構造を確認できないことを示唆したが, 本種においてはそれぞれの海域に固有のハプロタイプが全体の約半数と高い頻度で検出されたことや (Fig. 2-2), 海域間での有意な Φ_{ST} 値 (Table 2-2) などから, mtCR はコモンカスベの地理的集団構造を推定することには問題ないと考えられた. なお, 本種の数個体について予備的に mtDNA の COI 領域の部分塩基配列 (490 bp) も決定したが, この領域については多型が少なく, 本種においては多くの魚類で知られているように mtCR の進化速度の方が早いと考えられた. また, ガンギエイ目魚類の mtCR における塩基置換率は推定されていないことから, 本研究では詳細な分岐年代や集団

拡大年代について推定することができなかった。今後、本目魚類の分子進化速度についての知見が蓄積されることが期待される。

本種の集団動態について、東シナ海、日本海南部集団は遺伝的多様度が高く (Table 2-1)、ミスマッチ分布図もピークが置換数 1 の位置にあるスムーズな単峰型を示したことから (Fig. 2-4 EC, SJ)、ピークが置換数 0 の他集団よりは長い期間、安定した集団として成立していたと考えられた。オカメエイ属 *Okamejei* (全 12 有効種) の種数は、東シナ海 (5 種) および南シナ海 (5 種) で多く (Last et al., 2016b)、この海域が本属の分布および種分化の中心であると推測されることから (石原, 1990)、東シナ海や日本海南部は本種のなかでもより祖先的な集団であるのかもしれない。なお、拡大後の集団サイズを示す θ_1 値が極めて高いこと、SSD および *Hri* の値は集団拡大モデルと概ね一致したことから、過去の集団拡大が示唆された。日本海は最終氷期において周囲の海域から孤立したために外部からの海水流入がほぼ停止し、大陸から流入した淡水による表層の低塩分化および成層化が起こったとされる (Oba et al., 1991 ; Tada et al., 1999 ; Gorbarenko and Southon, 2000)。このような環境悪化の回復後に、東シナ海や日本海南部集団の拡大が起こった可能性が考えられる。

黄海集団は遺伝的多様度がやや低いことに加えて、ミスマッチ分布図もピークが置換数 0 の位置にある L 字型で (Fig. 2-4 YS)、SSD および *Hri* の値から集団拡大モデルからの有意な逸脱は確認されず、過去のボトルネック後に集団を拡大させた可能性が示唆された。実際、黄海は平均水深が 50 m 程度と浅く、最終氷期において海水準が低下した際には大部分が陸化したと考えられるため (Wang, 1999)、黄海集団が最終氷期以前に成立していた集団であった場合、生息域と集団サイズの縮小が起こり、最終氷期終了後に集団を拡大させた可能性が考えられる。このように黄海周辺において最終氷期終了後に再び集団を拡大させた例はタイリクスズキ *Lateolabrax maculatus* やシログチ、コノシロ等の他の海産魚類でもよく知られる (Liu et al., 2006 ; Han et al., 2008 ; Gwak et al., 2015)。

日本海北部集団は遺伝的多様度が低いことに加えて、ミスマッチ分布図もピークが置換数 0 の位置にある分布を示したことから (Fig. 2-4 NJ)、過去の集団サイズの

縮小による遺伝的多様度の低下が考えられた。前述のように、最終氷期における日本海の環境変動による影響が考えられるが、主にこの影響を受けたのは深海生物であるとされており（例えば、小島ほか，2007；甲斐，2018），例えば、水深 200 m 以浅にも出現するような比較的浅海性であるアバチャン *Crystallichthys matsushimae* ではこの環境悪化による遺伝的多様度の低下はなかったと考えられている（Tohkairin et al., 2016）。しかし、表層の低塩分化は本種の生存に不利な条件であると考えられるうえ、物理環境や餌生物を含む生態系にも大きな影響を与えたと考えられる。以上のことから、氷期における日本海の環境変動は本種にも影響を与えた可能性は高く、今後分岐年代や集団拡大年代を推定することでより詳細な集団動態について把握することが必要である。

大阪湾集団は遺伝的な多様性が極めて低く、ミスマッチ分布図もピークが置換数 0 の位置に大きく偏っていた（Fig. 2-4 OS）。大阪湾も水深が浅く、最終氷期においては陸化したと考えられていることから（八島，1994）、黄海集団と同様に生息域と集団サイズの縮小が起こったと考えられる。加えて、前述のように、大阪湾集団は分布域が局地化されており、集団の規模が小さいことも低い遺伝的多様度を維持していることと関係していると考えられる。実際、拡大後の集団サイズを示す θ_1 も低い値であった（Table 2-4）。

東北太平洋岸集団も遺伝的多様度が低く、ミスマッチ分布図も大阪湾集団と同じく、ピークが置換数 0 の位置にある分布を示した（Fig. 2-4 NP）。SSD と Hri の値から、集団拡大モデルとの有意な逸脱は確認されず、東北太平洋岸集団も小集団から現在の集団を拡大させた可能性が示唆された。しかし、東北太平洋岸という海域では、日本海のような環境変動は起こっていないと考えられ、魚類において集団サイズが縮小した例はほとんど知られていない。また、本種は千葉県銚子から青森県沿岸まで広く連続的に分布し、ごく普通にみられることから、個体数が少ないとは考えられない。先述のように、ハプロタイプの地理的分布から、東北太平洋の集団は津軽海峡を経て分散してきた日本海集団に由来していることが推定された。そのため、低い遺伝的多様度は集団成立後の個体群の減少や、集団の規模が小さいためではなく、少数個体の移入に基づき集団が成立し、遺伝的浮動が強く働いた創始者効

果の影響であると考えられた。

本種では遺伝的・形態的に東シナ海集団，黄海集団，日本海南部集団，日本海北部集団，九州東岸集団，大阪湾集団，東北太平洋岸集団の7地域集団に区別されたため，これらを管理単位（Management units）として資源管理を行う必要があると考えられる。とくに，東シナ海，日本海南部を除く5地域集団において，著しく遺伝的多様度が低いこと，もしくは過去のボトルネックの影響が示唆され，このうち，九州東岸や大阪湾，東北太平洋岸集団などの太平洋側で局地化した地域集団では，遺伝的多様度も考慮した慎重な資源管理や保全が求められると言える。

第3章 浅海・冷水性大型種メガネカスベの集団構造

3.1 背景

メガネカスベ *Beringraja pulchra* はガンギエイ科に属する浅海・冷水性で全長が 1 m を越える大型ガンギエイ目魚類である。本種は、西部北太平洋の北海道全沿岸、青森県から島根県の日本海沿岸、青森県から千葉県銚子までの太平洋沿岸、中国の東シナ海・黄海沿岸、朝鮮半島全沿岸、そしてロシアのサハリンからピーター大帝湾の日本海沿岸の水深 5–700 m (おもに 5–30 m) に出現する (Fig. 1-1 B) (Ishiyama, 1958, 1967 ; Ishihara et al., 2009a ; Antonenko et al., 2011 ; 波戸岡ほか, 2013 ; Panchenko and Boiko, 2015 ; Last et al., 2016b ; Dylidin and Orlov, 2018 ; 鄭, 2018)。本種は、北海道沿岸のガンギエイ目魚類の中で最も普通にみられるとされ (上野, 1965), とくにオホーツク海沿岸と日本海沿岸に多く、主に刺網や延縄、底曳網で漁獲されるほか、太平洋側の噴火湾沿岸でも漁獲されている (疋田, 1981 ; 前田, 2003)。本種は主に北海道で“マカスベ (真カスベ)”の名前で流通し、煮付けや煮こごり、ぬた、から揚げなどで食されるほか、干物や練り製品として利用され、水産重要種とされる (前田, 2003 ; 尼岡ほか, 2011)。また、韓国では食用としてとくに珍重され高値で取引されており、主に黄海と鬱陵島沖の日本海で多く漁獲されている (Ishihara et al., 2009a ; Im et al., 2017)。

本種の資源量は、過去 15 年間で 30%以上減少したと推定されており、環境省の海洋生物レッドリストでは準絶滅危惧 (NT), IUCN のレッドリストでは絶滅危惧 II 類 (VU) に指定されている (Ishihara et al., 2009a ; 環境省, 2017)。実際、韓国における漁獲量は 1993 年から 2000 年代にかけて約 90%減少している (Ishihara et al., 2009a ; Jo et al., 2011)。日本では本種の漁獲量に関する詳細な長期的データが不足しているが、漁業者の報告からは資源量の減少が示唆されており (Ishihara et al., 2009a), 本種の資源状態のモニタリングや保護が必要であると考えられている。

本種の年齢や年成熟、繁殖に関する知見は少ないが、平均的な成熟サイズは雄で全長 966–1,052 mm, 雌では 962–1,119 mm と見積もられており (Ishiyama, 1958), 成

熟に長い年数を要すると考えられる。また、年間の産卵数は平均 240 個程度と推定されており (Ishihara et al., 2009a), 卵殻は長さ 140–185 mm と大きい (Ishiyama, 1958)。通常, ガンギエイ目魚類は 1 個の卵殻に 1 個の胚を含むが, 本種および同属の *Beringraja binoculata* のみ 1 卵殻内に複数の胚を含み (Ishihara et al., 2012), 本種の場合では通常 2–5 個の胚を含む (Kang et al., 2013)。しかし, 産卵から孵化までに 5 ヶ月以上を要することから (Kang et al., 2013), 高い漁獲圧に対しては脆弱であると考えられる。

本種は先行研究にて, 韓国の日本海沿岸と黄海沿岸の両地点間で mtDNA の cytochrome c oxidase subunit I (以下, COI) の配列および形態に地理的な変異があることが示唆されている (Im et al., 2017)。しかし, Im et al. (2017) の研究では解析対象とした個体の採集地点が韓国沿岸のみに限られており, 本種全体の集団構造が明らかになっているとは言い難い。そこで, 本章では浅海・冷水域に生息する大型種であるメガネカスベの分布域をより広く網羅し, 遺伝的分析と形態比較から, より詳細な集団構造を推定した。

3.2 材料と方法

標本 COI を対象とした遺伝的分析には日本および韓国沿岸の 5 海域から採集された合計 166 個体 [オホーツク海“OK” (39 個体, 北海道), 北海道太平洋岸“NP” (2 個体), 日本海北部“NJ” (34 個体, 北海道), 日本海南西部“SJ” (28 個体, 韓国の慶尚北道沿岸, 島根県沿岸の 1 個体を含む), 黄海“YS” (63 個体, 韓国の仁川沿岸から全羅南道沿岸まで)] を用いた。なお, 遺伝的分析に用いた黄海の個体の多くは Im et al. (2017) の遺伝的分析 (COI の 471 塩基対) に用いられているが, より長い塩基配列を決定するために, 本研究で再度実験を行った。形態比較では, COI 解析に用いた標本と同様の 5 海域から採集された合計 192 個体 [オホーツク海“OK” (40 個体, 北海道), 北海道太平洋岸“NP” (4 個体), 日本海北部“NJ” (18 個体, 北海道), 日本海南西部“SJ” (53 個体, 韓国の慶尚北道沿岸, 島根県沿岸の 1 個体を含む), 黄海“YS” (77 個体, 韓国の仁川沿岸と全羅南道沿岸)] を用いた。なお, 形態比較に用

いた韓国沿岸（日本海と黄海）の個体のほとんどは Im et al. (2017) で用いられたもので、計測データも同じものを用いた。遺伝的分析および形態比較に用いた個体は合計 323 個体である。これらの標本の採集場所を Fig. 3-1 に、標本データ等を Appendix 3 に示した。

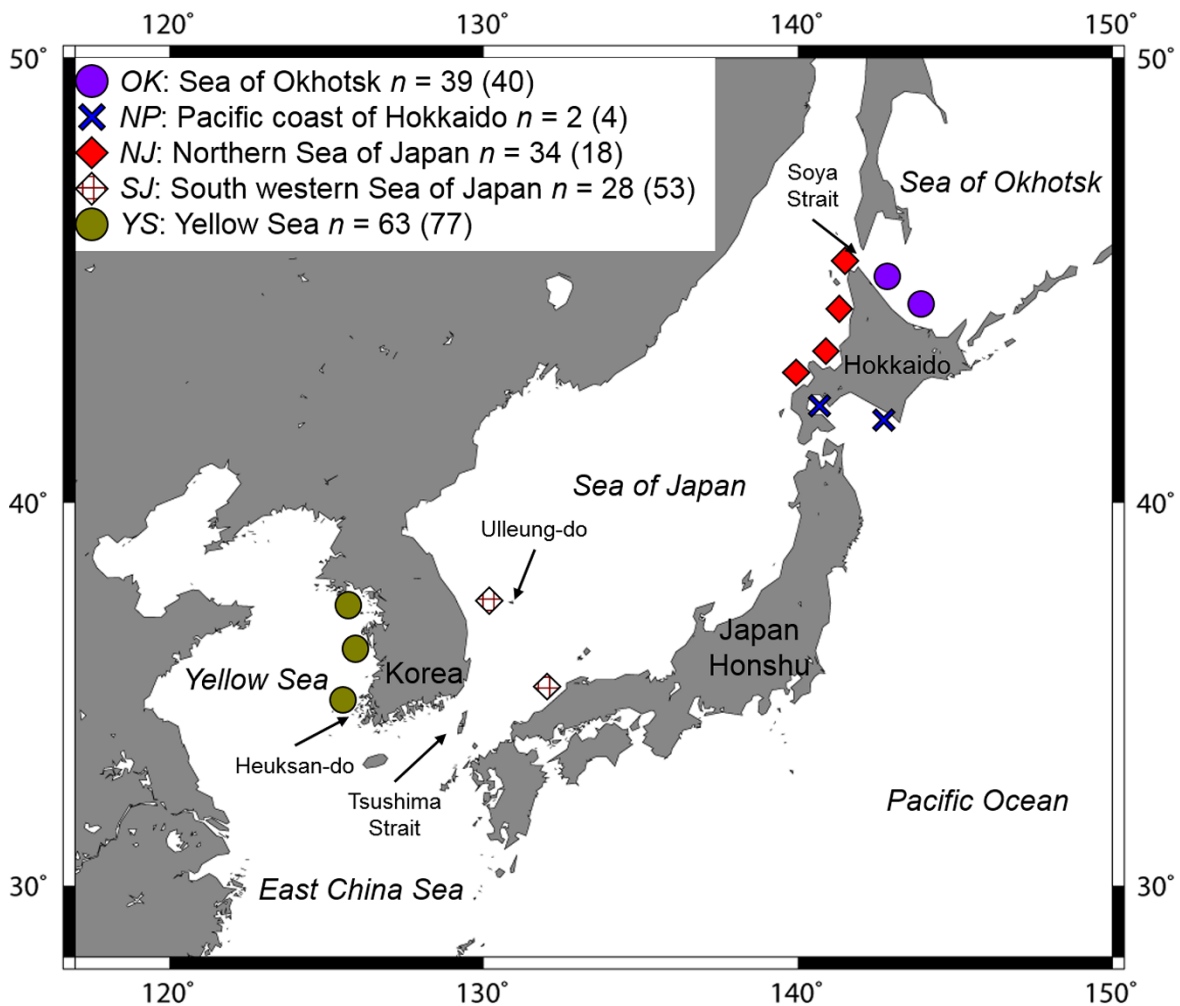


Fig. 3-1 Sampling area and number of examined specimens of *Beringraja pulchra*. Each symbol represents a sampling site. n = number of specimens used in COI analysis and numbers in parentheses = number of specimens used in morphological comparisons

遺伝的分析 塩基配列の決定およびその解析に関する基本的な手法はコモンカスベの場合とほぼ同様であり（2.2 材料と方法の遺伝的分析を参照）、ハプロタイプネットワーク、遺伝的多様度、 Φ_{ST} 値、多次元尺度構成、分子分散分析、ミスマッチ分布解析、中立性検定を推定・算出した。COI の部分塩基配列 592 bp は Fish F2 (5'-

TCG ACT AAT CAT AAA GAT ATC GGC AC-3') と Fish R2 (5'-ACT TCA GGG TGA CCG AAG AAT CAG AA-3') のプライマーセット (Ward et al., 2005) を用いて PCR 増幅した。PCR の温度条件は最初に 94 °C で 5 分間熱変性させた後、94 °C で 15 秒、57 °C で 15 秒、72 °C で 30 秒の温度サイクルを 30 回繰り返し、最後に 72 °C で 7 分間加熱した。本研究にて決定したメガネカスベ 166 個体の COI の部分塩基配列は DDBJ に登録した (アクセッションナンバー: LC414185–LC414350)。なお、北海道太平洋岸の個体はハプロタイプネットワーク、分子分散分析、多次元尺度構成の推定・算出には含めたが、COI 解析に用いた標本が 2 個体と少ないため、 Φ_{ST} 値の推定、ミスマッチ分布解析と中立性検定 (全体の値には含む) から除いた。

形態比較 形態比較においても基本的な手法はコモンカスベの場合とほぼ同様である (2.2 材料与方法の形態比較を参照)。計測形質に基づいた形態解析では、7 計測形質 [全長、体盤長、体盤幅、背面吻長 (眼前吻長)、眼径、腹面吻長 (口前吻長)、尾前長] を計測し、主成分分析、共分散分析および多重比較から海域間での差異を確認した。これらの形態解析では、韓国沿岸 (日本海と黄海) の個体はほぼ全て雌雄について記録されていなかったため、雌雄区別せずに行った。なお、北海道太平洋岸は形態比較に用いた標本が 4 個体と少ないため、共分散分析および多重比較から除いた。項部棘数について、メガネカスベにおいては雌雄間で差異が確認されなかったため、雌雄併せて海域間で比較した。さらに、成熟サイズを海域間で比較するために、雄は交接器長を計測、雌は尾部棘の列数を計数した。雄個体の成熟の判断はコモンカスベの場合と同様である。尾部棘の列数もコモンカスベと同じく成長にともなって最大 5 列に達することから、定数の 5 列に達した個体を成熟もしくはそれに準ずる段階であると判断した。また、海域間で色彩を比較するために、韓国沿岸の個体を除いて、生鮮時の体色を記録した。

3.3 結果

3.3.1 mtDNA の COI 領域から推定した集団構造と動態

遺伝的分析に用いたメガネカスベ 166 個体について、COI の部分塩基配列 592 塩基対が決定された。このうち、12 箇所合計 14 通りの塩基置換があり、そのうち 11 はトランジション型、3 はトランスバージョン型の変異で、合計 12 種類のハプロタイプ (Bp1–Bp12) が確認された (Fig. 3-2)。全 12 種類のハプロタイプのうち、異なる海域間で共有されていたハプロタイプは 6 種類で (Bp1–6)、残りの 6 種類 (Bp7–12) のハプロタイプは単一の海域からのみ確認され、前者は解析個体の 95% (158/166) を占め、後者は 5% (8/166) であった。単一の海域からのみ確認された 6 種類のハプロタイプのうち 4 種類 (Bp9–12) は 1 個体のみが保有するシングルTONで、オホーツク海と日本海北部からのみ確認された。Bp1 からは本研究で扱った全 5 海域の個体を確認された。また、Bp2 からは黄海の個体が最も多く確認された。ハプロタイプネットワークは、Bp2 を除くと中心的なハプロタイプ (Bp1) の周囲にマイナーなハプロタイプがいくつかある星状に近い構造となった (Fig. 3-2)。北海道太平洋岸の 2 個体を除いて、4 海域におけるハプロタイプ数は 2–10 の範囲であり、日本海北部で最も多かった (Table 3-1)。各海域における遺伝的多様度を Table 3-1 に示した。解析に用いた全 166 個体におけるハプロタイプ多様度は比較的 low ($h = 0.7273$)、とくに塩基多様度は低い値を示した ($\pi = 0.0031$)。それぞれの海域においては、オホーツク海 ($h = 0.7638$, $\pi = 0.0026$) と日本海北部 ($h = 0.7950$, $\pi = 0.0029$) で比較的高い値を示した。一方、日本海南西部ではとくに低い値を示した ($h = 0.2540$, $\pi = 0.0004$)。

海域間のペアワイズ Φ_{ST} では、黄海は解析に含めた他の 3 海域全てとの間で有意な遺伝的分化 ($P < 0.01$) が確認された (Table 3-2)。また、日本海南西部とオホーツク海・日本海北部との間でも有意な遺伝的分化 ($P < 0.05$) が認められた。一方、オホーツク海と日本海北部の間では有意な分化は認められなかった。 Φ_{ST} 値は全体的にやや低い値を示した ($\Phi_{ST} = -0.015$ – 0.524)。

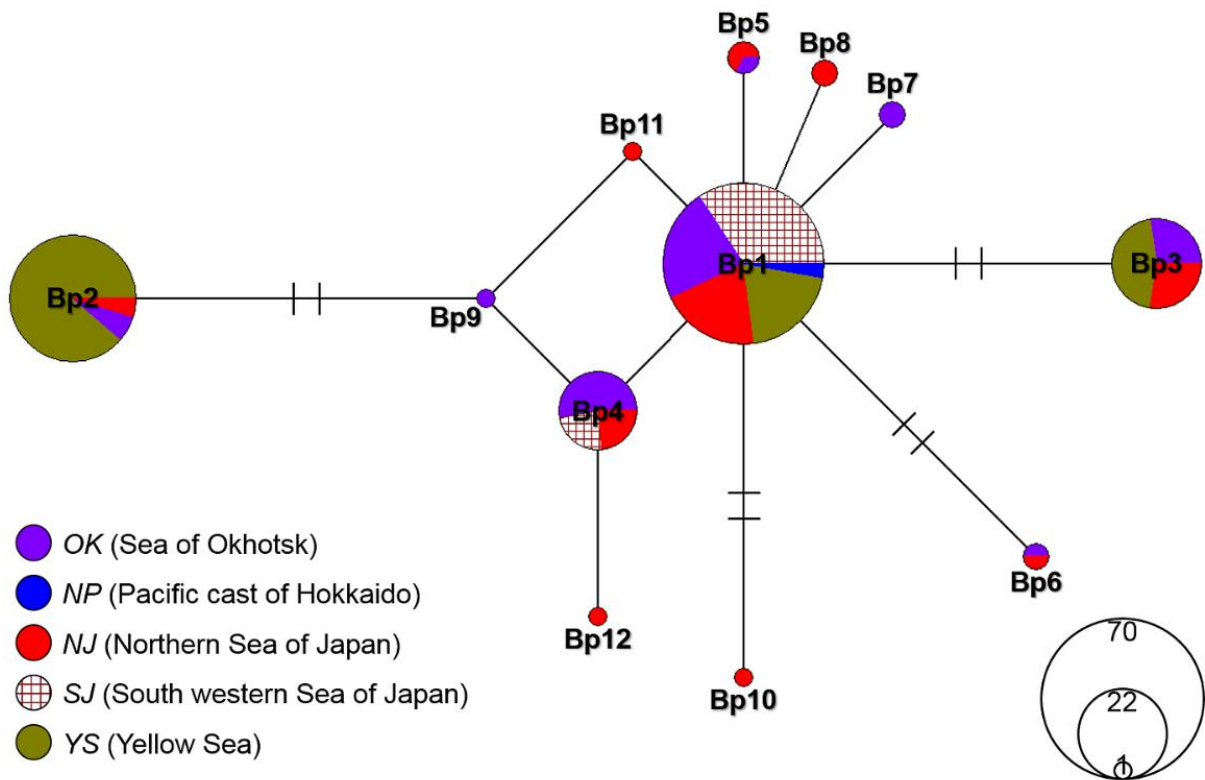


Fig. 3-2 Haplotype network for *Beringraja pulchra* from five sampling areas based on 592 bp of COI. Each circle represents a single haplotype. Circle size represents number of individuals. Each bar represents one substitution. The two sets of perpendicular bars along the branches indicate two substitutions. Letters with numerals indicate haplotype codes

Table 3-1 Genetic diversity indices of *Beringraja pulchra* from five sampling areas calculated from 592 bp of COI. n = number of individuals, H = number of haplotypes, h = haplotype diversity, π = nucleotide diversity. Ranges are followed by mean \pm standard deviation

Abbreviations	Sampling areas	n	H	h	π
<i>OK</i>	Sea of Okhotsk	39	8	0.7638 \pm 0.0477	0.0026 \pm 0.0018
<i>NP</i>	Pacific coast of Hokkaido	2	1	-	-
<i>NJ</i>	Northern Sea of Japan	34	10	0.7950 \pm 0.0568	0.0029 \pm 0.0019
<i>SJ</i>	South western Sea of Japan	28	2	0.2540 \pm 0.0953	0.0004 \pm 0.0006
<i>YS</i>	Yellow Sea	63	3	0.5509 \pm 0.0528	0.0027 \pm 0.0018
Total		166	12	0.7273 \pm 0.0224	0.0031 \pm 0.0020

また、個体間の p -distance に基づいた多次元尺度構成において、黄海の個体のプロットは他海域の個体のプロットとはやや異なる場所を占めた (Fig. 3-3)。しかし、これらのプロットは海域ごとに明確に分離することはなく、部分的に重複していた。とくに、オホーツク海、北海道太平洋岸、日本海北部および日本海南西部の4海域はプロットがほとんど重複した。

分子分散分析の結果からは (Table 3-3)、全体の遺伝的変異に対する5海域間での遺伝的変異は比較的小さかったが (全体の変異の約31%を占める)、有意であることが示された ($P < 0.01$)。さらに、多次元尺度構成の結果を反映して、オホーツク海・北海道太平洋岸・日本海北部・日本海南西部と黄海の2グループを設定して分子分散分析を行ったところ、グループ間での変異は比較的大きく (全体の変異の約40%)、グループ内の海域間での遺伝的変異は小さかったが (全体の変異の約1%)、

両者において有意な遺伝的変異は確認されなかった ($P > 0.05$). 一方, 各海域内での変異は比較的大きく (全体の変異の約 59%), 有意な変異が確認された ($P < 0.01$).

Table 3-2 Pairwise Φ_{ST} values between sampling areas (below diagonal) and associated P values (above diagonal) of *Beringraja pulchra* from four sampling areas (except *NP*) based on 592 bp of COI. Bold letters indicate significant values of $P < 0.05$ (after sequential Bonferroni correction). Abbreviations of sampling areas are shown in Table 3-1

	<i>OK</i>	<i>NJ</i>	<i>SJ</i>	<i>YS</i>
<i>OK</i>	-	0.999	0.046	0.001
<i>NJ</i>	-0.015	-	0.050	0.001
<i>SJ</i>	0.077	0.065	-	0.001
<i>YS</i>	0.329	0.337	0.524	-

Table 3-3 Hierarchical structure analyses of molecular variance (AMOVA) for *Beringraja pulchra* from five sampling areas based on 592 bp of COI. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 3-1

Groupings	Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	F statistics	Percentage of variation
All five sampling areas	Among areas	4	39.80	0.306	$\Phi_{ST} = 0.310$ ($P < 0.001$)	30.96
	Within areas	161	109.80	0.682		69.04

Table 3-3 Continued

2 groups						
<i>OK-NP-NJ-SJ</i> vs.	Among groups	1	37.085	0.459	$\Phi_{CT} = 0.399$	39.91
<i>YS</i>					($P = 0.200$)	
	Among areas	3	2.711	0.010	$\Phi_{SC} = 0.014$	0.83
	within groups				($P = 0.130$)	
	Within areas	161	109.80	0.682	$\Phi_{ST} = 0.407$	59.26
					($P < 0.001$)	

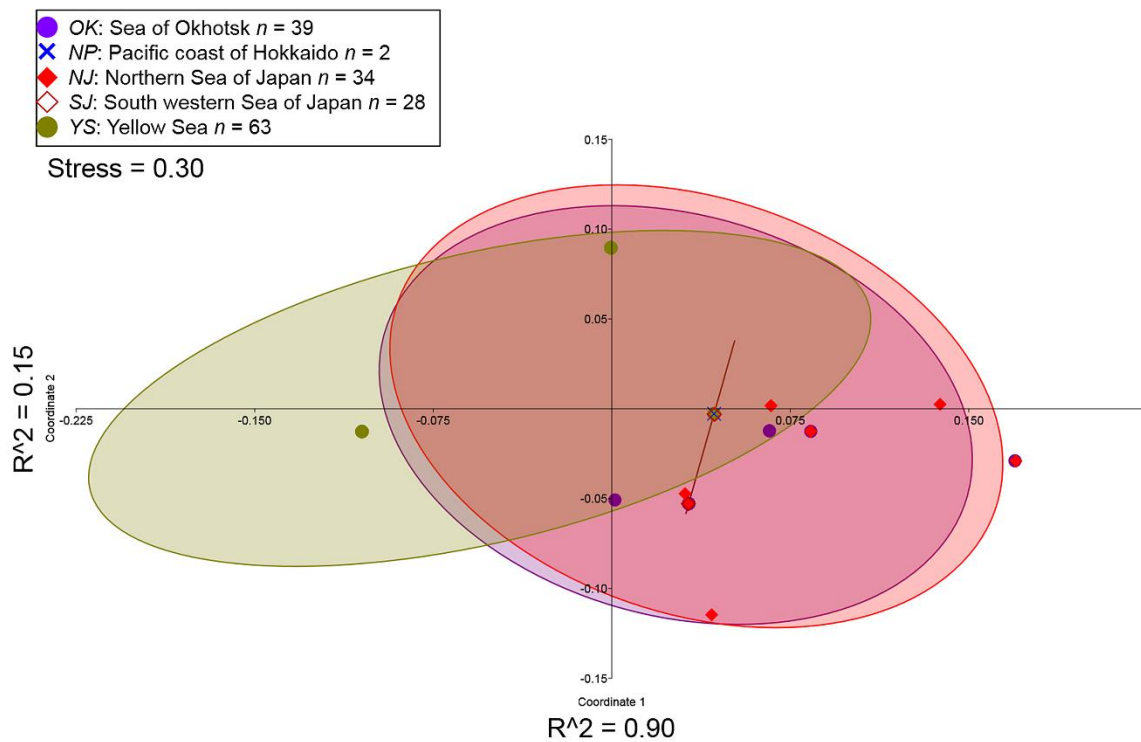


Fig. 3-3 Plots of first two components (Coordinate 1 and 2) of the multidimensional scaling (MDS) analysis for *Beringraja pulchra* from five sampling areas based on p -distance of 592 bp of COI. For each sample, the 95% concentration ellipses illustrating the probabilistic distribution space of each sampling areas are shown

ミスマッチ分布解析では (Fig. 3-4), 全解析個体を 1 集団とした場合 (Total), 置換数 0 と 3 の位置にピークをもつ明確な二峰型の分布を示した. それぞれの海域では, オホーツク海 (OK) と日本海北部 (NJ) の 2 海域はそれぞれ置換数 1 と 2 の位置にピークをもち, スムーズな単峰型の分布パターンを示した. 日本海南西部 (SJ) では置換数 0 の位置にピークが大きく偏る分布パターンを示した. 黄海 (YS) は置換数 0 と 3 の 2 箇所にもピークをもつ明確な二峰型の分布パターンを示した. また, SSD と H_{ri} の値から, オホーツク海, 日本海北部, そして日本海南西部の 3 海域では, 集団拡大モデルからの有意な逸脱は確認されなかった (Table 3-4). 一方, 黄海では H_{ri} 値から, 集団拡大モデルからの有意な逸脱が確認された ($P < 0.01$). 集団拡大以降の推定世代数, すなわち集団拡大が始まってからの期間を示す τ 値は黄海で最も大きく, また, 集団拡大前の集団サイズを示す θ_0 値は日本海南西部で最も大きく, 拡大後の集団サイズを示す θ_1 値は日本海北部で最も大きかった (Table 3-4). 中立性検定について, Tajima's D の値は黄海を除き, 負の値であった (Table 3-4). Fu's F_S の値は日本海南西部と黄海を除き負の値を示し, とくに日本海北部では有意な値であった ($P < 0.05$).

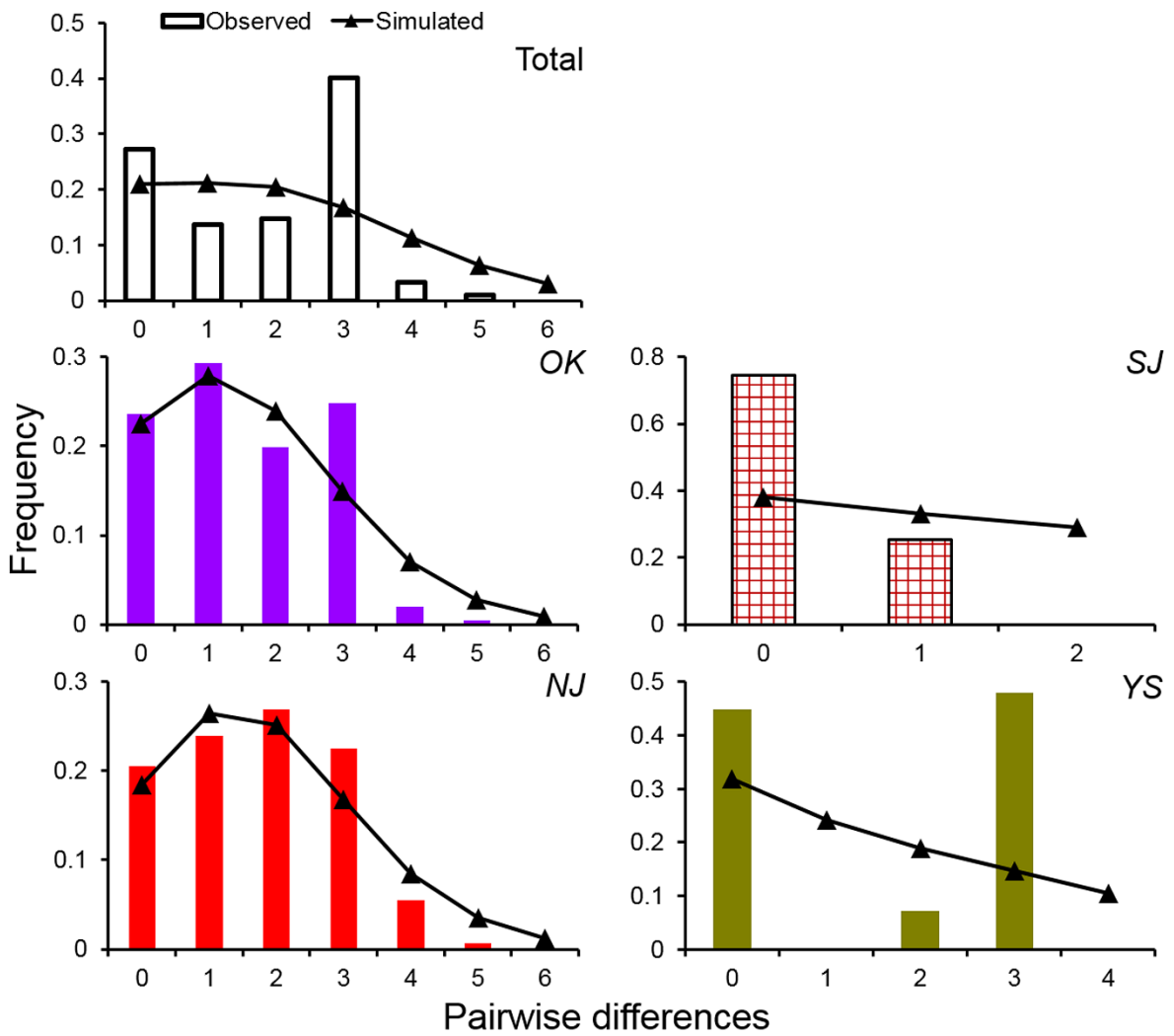


Fig. 3-4 Mismatch distributions for *Beringraja pulchra* from four sampling areas (except *NP*) based on 592 bp of COI. Vertical and horizontal axes indicate frequency and genetic differences. The specimens from Pacific coast of Hokkaido was included in the Total. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 3-1

Table 3-4 Mismatch distribution analysis and neutrality tests for *Beringraja pulchra* from five sampling areas based on 592 bp of COI. τ = units of mutational time, θ_0 = population size before expansion, θ_1 = population size after expansion. The fit between the observed and expected distributions was tested using the sum of squared deviations (SSD) and Harpending's raggedness index (*Hri*). *NP* was included in the Total. Bold letters indicate significant values of $P < 0.05$. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 3-1

Sampling areas	τ	θ_0	θ_1	SSD (<i>P</i>)	<i>Hri</i> (<i>P</i>)	Tajima's <i>D</i> (<i>P</i>)	Fu's F_S (<i>P</i>)
<i>OK</i>	1.988	0.011	5.875	0.015 (0.268)	0.067 (0.467)	-0.540 (0.336)	-1.748 (0.175)
<i>NP</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>NJ</i>	2.129	0.004	9.048	0.007 (0.456)	0.035 (0.798)	-1.145 (0.125)	-3.554 (0.026)
<i>SJ</i>	2.930	0.900	3.600	0.275 (0.123)	0.307 (0.177)	-0.019 (0.347)	0.448 (0.363)
<i>YS</i>	3.885	0.004	2.635	0.206 (0.125)	0.603 (0.007)	1.865 (0.968)	4.064 (0.952)
Total	3.008	0.000	4.319	0.078 (0.049)	0.220 (0.022)	-0.350 (0.428)	-1.828 (0.273)

3.3.2 海域間での形態的分化

メガネカスベ 192 個体の 7 計測形質に基づいた主成分分析の結果，第 1 主成分の寄与率は約 95%と高かったが，その因子負荷量は全ての形質で正の値であり，これらはサイズ要素を含むものであると考えられた (Table 3-5)．一方，第 2 主成分の寄与率は約 4%で，因子負荷量は眼径で著しく高かった．また，第 3，第 4 主成分の寄与率は 0.5%未満と低い値であった．主成分得点は 5 海域ごとに明確に分離されることはなかったが，第 2 主成分においては海域ごとにプロットがまとまる傾向がみられ，オホーツク海・北海道太平洋岸・日本海北部と日本海南西部，そして黄海の 3 グループにプロットが分離する傾向が確認された (Fig. 3-5)．

Table 3-5 Factor loadings for principal component (PC) analysis for *Beringraja pulchra* from five sampling areas based on seven measurements

	PC1	PC2	PC3	PC4
Total length	0.399	-0.104	0.402	0.039
Disc length	0.390	-0.109	0.122	0.263
Disc width	0.374	-0.186	0.350	0.091
Dorsal snout length	0.403	-0.106	-0.008	-0.862
Eye diameter	0.265	0.958	0.091	0.009
Ventral snout length	0.377	-0.023	-0.824	0.046
Pretail length	0.418	-0.117	-0.117	0.421
Eigenvalue	0.129	0.005	0.001	0.000
Contribution rate (%)	95.265	3.800	0.435	0.328

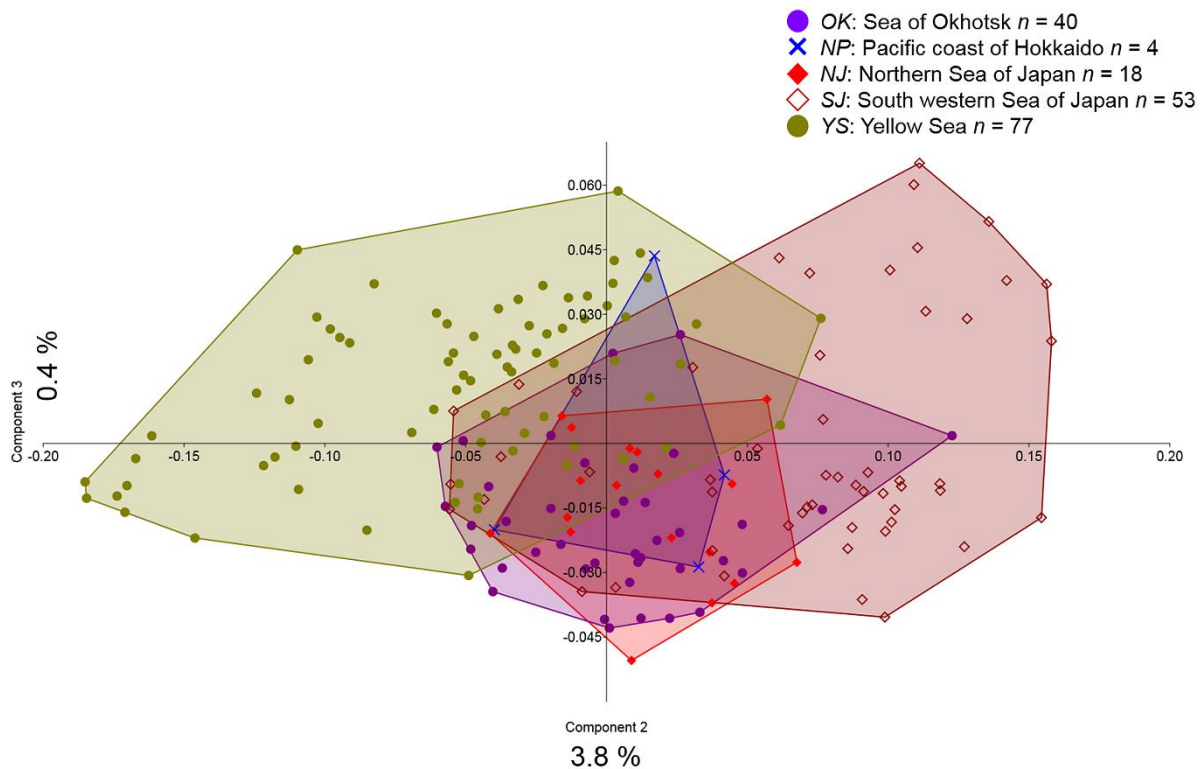


Fig. 3-5 Plots of principal component (PC) scores for *Beringraja pulchra* from five sampling areas based on seven measurements

全長を除く 6 計測形質について、解析個体数の少ない北海道太平洋岸を除く 4 海域の標本で共分散分析を行った結果、体盤長、体盤幅、眼径の 3 形質において海域間での有意差が認められた ($P < 0.01$)。これら 3 計測形質と全長の関係を Fig. 3-6 に、それぞれの海域における計測データと共分散分析および Kruskal-Wallis 検定による多重比較の結果を Table 3-6 に示した。体盤長 (Fig. 3-6 A) において、眼径や体盤幅の場合と比較してプロットの重複は多かったが、オホーツク海および日本海北部の個体では体盤長が大きく、日本海南西部と黄海の個体では小さい傾向がみられ、有意差が認められた (多重比較, $P < 0.01$)。体盤幅 (Fig. 3-6 B) において、日本海南西部の個体では体盤幅が小さく、オホーツク海、日本海北部、そして黄海の個体では大きいことからプロットが分離する傾向がみられ、有意差が認められた (多重比較, $P < 0.01$)。さらに、とくに眼径 (Fig. 3-6 C) では、各海域のプロットはそれぞれ重複が少なく、日本海南西部の個体では眼径が大きく、オホーツク海および日本海北部の個体では中間的、黄海の個体では小さいことから区別される傾向がみら

れ、有意差が認められた（多重比較， $P < 0.01$ ）。

計数形質では、項部棘数（Fig. 3-7）において、雌雄ともにいずれの海域でもオホーツク海の1個体を除いて1本のみを有し、成長による変異も確認されず、また海域間でも差異は確認されなかった。

成熟サイズについて、雄個体の成熟の指標となる交接器の伸長を Fig. 3-8 (A) に、雌個体の成熟の指標となる尾部棘の列数の増加を Fig. 3-8 (B) に示した。本種においても交接器の伸長は S 字曲線を示し、交接器長が全長の 25% を越えた 2 個体（全長約 95 cm）については成熟個体であった。オホーツク海を除く 4 海域は解析個体数が少ないこと、全体的に成熟個体が少なく、とくに黄海は小型個体しか確認できなかったことから検定はできなかった。しかし、成熟サイズはオホーツク海と日本海南西部で明確な差異はないものと考えられ、さらに、交接器の急激な伸長が始まるタイミングもオホーツク海、北海道太平洋岸、日本海北部の 3 海域間では差異はないものと考えられた（Fig. 3-8 A）。また、雌の尾部棘の列数の増加も雄の交接器の伸長と同様におおむね S 字状の曲線を示し、交接器の伸長と似た増加パターンであった。個体数が少ないことなどから検定はできなかったが、雌も雄と同様に、オホーツク海、北海道太平洋岸、日本海北部の 3 海域間では明確な差異はないものと考えられた（Fig. 3-8 B）。

色彩について、典型的なものを Fig. 3-9 に示した。海域ごとに異なる色彩は確認されなかったが、本種においては幼魚と大型個体の間で斑紋にやや差異がみられ、大型になるほど胸鰭中央の楕円形斑（眼状斑）が不明瞭となった。

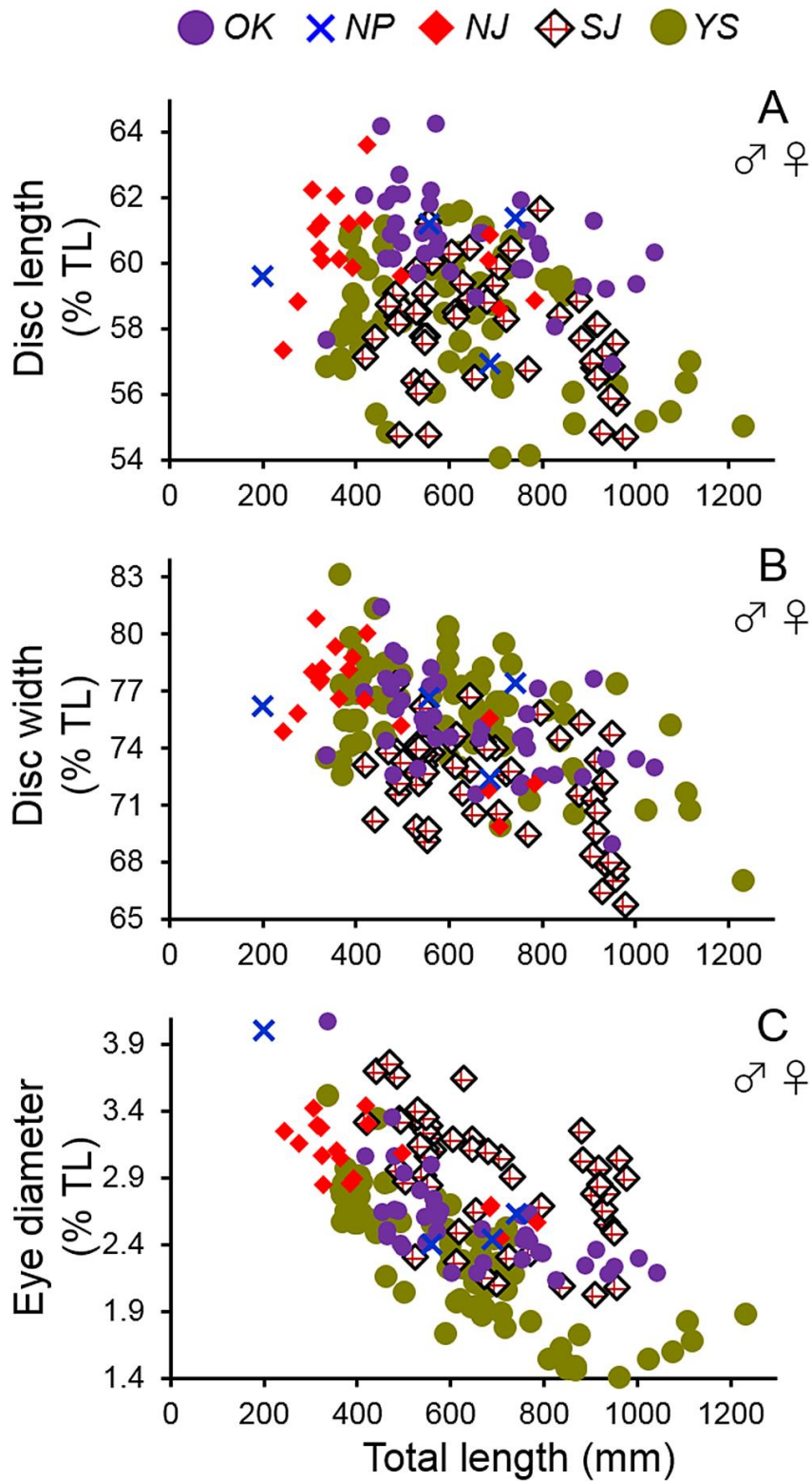


Fig. 3-6 Plots of proportional morphometric characters (in % of total length) of *Beringraja pulchra* which differed significantly among four sampling areas (except *NP*) in ANCOVA. (A) disc length in both sexes, (B) disc width in both sexes, (C) eye diameter in both sexes. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 3-1

Table 3-6 Proportional measurements (in % of total length) from five sampling areas of *Beringraja pulchra* and their morphological differentiation significance among sampling areas. Ranges are followed by mean \pm standard deviation in parentheses. Numbers under Significance indicate *P* values in ANCOVA. Sampling areas separated by < are significantly different. NS: non-significant. Abbreviations of sampling areas shown in Table 3-1

	OK		NP		NJ		SJ		YS		Significance
	♂ n = 40	♀	♂ n = 4	♀	♂ n = 18	♀	♂ n = 53	♀	♂ n = 77	♀	
Total length (mm)	336–1041 (646 \pm 177)		199–741 (547 \pm 211)		245–785 (434 \pm 162)		420–978 (686 \pm 175)		336–1230 (614 \pm 203)		
Disc length	56.9–64.3 (60.7 \pm 1.5)		56.9–61.4 (59.8 \pm 1.8)		57.3–63.6 (60.4 \pm 1.4)		54.7–61.6 (58.0 \pm 1.6)		54.1–61.6 (58.3 \pm 1.8)		< 0.001 [OK, NJ<SJ, YS]
Disc width	68.9–81.4 (75.2 \pm 2.5)		72.3–77.4 (75.7 \pm 2.0)		69.9–80.8 (76.5 \pm 2.8)		65.7–77.4 (72.2 \pm 2.7)		67.1–83.2 (75.8 \pm 2.7)		< 0.001 [OK, NJ, YS<SJ]
Dorsal snout length	16.7–20.6 (19.0 \pm 0.8)		15.8–19.8 (18.1 \pm 1.5)		17.6–20.9 (19 \pm 0.8)		17.5–21.9 (19.9 \pm 1.1)		17.0–21.5 (19.5 \pm 0.9)		NS
Eye diameter	2.1–4.1 (2.6 \pm 0.4)		2.4–4.0 (2.9 \pm 0.7)		2.4–3.4 (3.0 \pm 0.3)		2.0–3.8 (2.9 \pm 0.4)		1.4–3.5 (2.3 \pm 0.5)		< 0.001 [NJ, SJ<YS] [NJ, SJ<OK]
Ventral snout length	16.3–20.9 (19.2 \pm 0.9)		15.9–20.1 (18.7 \pm 1.7)		18.0–21.1 (19.4 \pm 0.8)		14.9–20.4 (18.2 \pm 1.4)		15.4–20.0 (17.4 \pm 0.9)		NS
Pretail length	55.7–62.7 (59.1 \pm 1.8)		54.0–60.6 (57.5 \pm 2.8)		54.7–60.1 (57.9 \pm 1.4)		53.1–58.9 (55.7 \pm 1.2)		50.1–60.1 (55.1 \pm 2.2)		NS

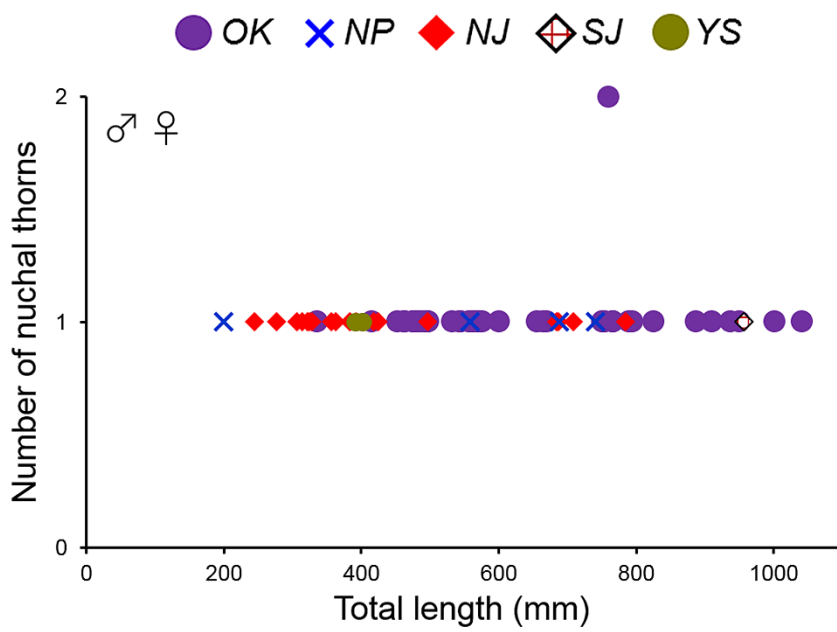


Fig. 3-7 Plots of nuchal thorn numbers of *Beringraja pulchra* from five sampling areas. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 3-1

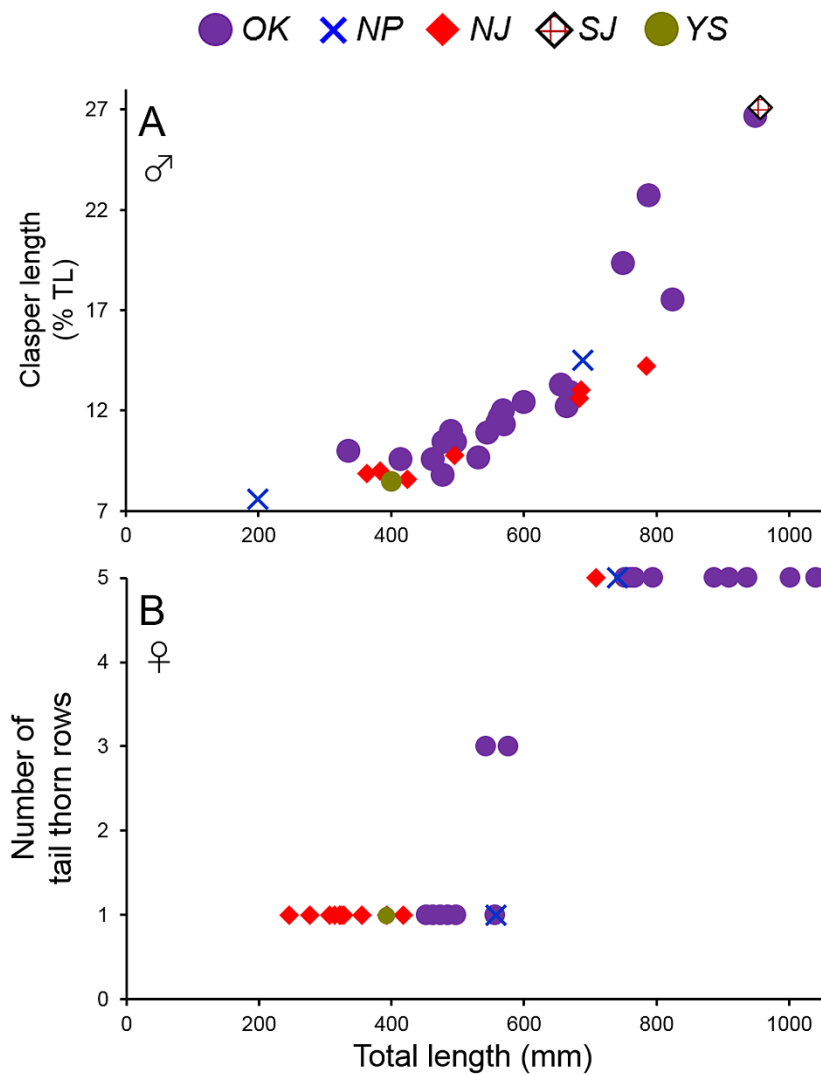


Fig. 3-8 Plots of clasper length in males (A) and tail thorn numbers in females (B) of *Beringraja pulchra* from five sampling areas. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 3-1

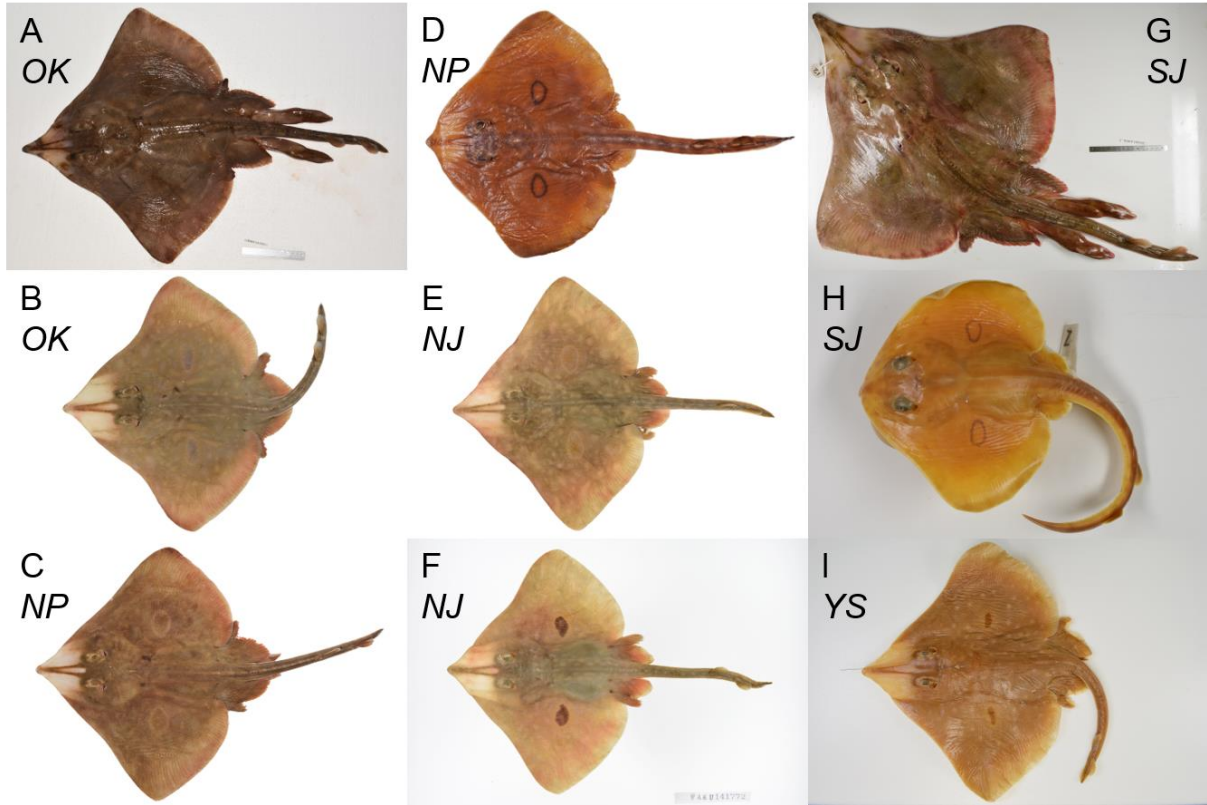


Fig. 3-9 Typical coloration of *Beringraja pulchra* from five sampling areas. (A) FAKU 141989, 930 mm TL, adult male, fresh condition, Hokkaido, Sea of Okhotsk, (B) FAKU 137712, 477 mm TL, adolescent female, fresh condition, Hokkaido, Sea of Okhotsk, (C) BSKU 116211, 685 mm TL, adolescent male, fresh condition, Hokkaido, Pacific Ocean, (D) HUMZ 87184, 179 mm TL, juvenile female, preserved condition, Hokkaido, Pacific Ocean, (E) FAKU 141498, 393 mm TL, juvenile female, fresh condition, Hokkaido, Sea of Japan, (F) FAKU 141772, 243 mm TL, juvenile female, fresh condition, Hokkaido, Sea of Japan, (G) FAKU 142782, 977 mm TL, adult male, fresh condition, Shimane, Sea of Japan, (H) FAKU 131487 (1/5), 135 mm TL, juvenile male, preserved condition, Hyogo, Sea of Japan, (I) FAKU 75281, 401 mm TL, juvenile male, preserved condition, Yellow Sea

3.4 考察

集団構造 メガネカスベにおいて、遺伝的分析の Φ_{ST} 値の有意性から、北海道沿岸（オホーツク海、太平洋、日本海）、日本海南西部、黄海の3海域間で遺伝子流動が制限されていることが示唆された（Table 3-2）。さらに、形態的にも北海道沿岸、日本海南西部、そして黄海の海域間で差異が確認され（Table 3-5, Fig. 3-5）、遺伝的分析の結果を支持した。以上のことから、本種は少なくとも、北海道沿岸のオホーツク海・太平洋・日本海の3海域から構成される集団（＝北海道集団）、日本海南西部集団、そして黄海集団の3地域集団を含むものと考えられた。Im et al. (2017) による先行研究で示唆されていたように、韓国の日本海沿岸と黄海沿岸で集団が分化していることが本研究の結果から確認され、さらに、新たに北海道集団の存在が明らかとなった。本種の地域集団の中でもとくに、黄海集団は遺伝的にも形態的にも他の2集団からの分化が顕著であった（Figs. 3-3, 3-5）。

北海道沿岸ではオホーツク海、太平洋、そして日本海の3海域間では遺伝的な分化は認められず（Table 3-2）、形態的にも3海域で類似していた（Fig. 3-5）。北海道太平洋岸は解析に用いたサンプルが少なく、詳細な比較に含められなかったが、確認されたハプロタイプは全て中心的なハプロタイプ（Fig. 3-2 Bp1）であること、形態解析の主成分分析における第2主成分の得点がオホーツク海および日本海北部と近いことから（Fig. 3-5）、遺伝的・形態的にこれら2海域の個体と同じ集団に属すると考えられる。オホーツク海と日本海は狭く浅い宗谷海峡（水深約 60 m）で接続されている。そのため、ノロゲンゲ *Bothrocara hollandi* やマツバラゲンゲ *Lycodes matsubarai*、アバチャンなどの深海性もしくはやや深場に生息する魚類では集団の分化が生じている例が知られる（Kodama et al., 2008; Sakuma et al., 2014; Tohkairin et al., 2016）。しかし、本種は北海道沿岸では水深 5 m 程度の浅い海域にも出現し、稚内沖では水深 10–60 m が主漁場であることから（前田, 2003）、宗谷海峡は本種にとって明確な障壁として機能していないと考えられる。同様に、太平洋と日本海の間津軽海峡（約 140 m）やオホーツク海と太平洋の間の千島列島の浅海部も、本種の移動を妨げる要因とはならないと考えられる。したがって、北海道沿岸の3海域に出現

する個体群は北海道集団として単一の集団とみなすことができると考えられる。

日本海南西部集団は黄海集団に加えて、北海道集団とも遺伝的・形態的な差異が認められた (Tables 3-2, 3-6 ; Fig. 3-6). 日本海西部では対馬暖流, リマン海流, 北鮮海流が複雑に流れており, 特に朝鮮半島東岸の魚類相を特徴付けている (Kafanov et al., 2000). 本研究における日本海南西部集団は主に韓国の鬱陵島付近から得られており, 採集努力や現地の水産関係者への聞き取りを行ったが, 対馬暖流の影響を強く受ける北海道以南の本州日本海沿岸で本研究をとおして確認された個体は非常に少ない [島根県沖 (1 個体, FAKU 142782), 兵庫県沖 (5 個体, FAKU 131487), 富山湾 (1 個体, 証拠標本なし)]. また, 近年, 河野ほか (2011, 2014) などによって日本海産の魚類目録がまとめられており, 本種は山口県, 鳥取県, 石川県, 青森県の出現種リストに含まれているが, 証拠標本に基づいた確かな記録が欠けているため, 確かな出現状況については検討の余地がある. 本種は胸鰭中央に 1 対の円形斑をもつことからコモンカスベやガンギエイ *Dipturus chinensis* と, 吻が長いことからテングカスベ *D. tengu* と混同されやすく, これまでの魚類相研究や分布記録には誤同定と考えられるものも含まれており, 本種の分布, 特に北海道以南の日本沿岸の分布に関しては今後標本に基づいて再検討する必要がある. さらに, ロシアのピーター大帝湾周辺の沿海州南部でも本種の出現は稀であるとされている (Antonenko et al., 2011; Panchenko and Boiko, 2015). 以上のことから, 本種の日本海南西部 (朝鮮半島東岸) における局所的な分布パターンも複雑な海流が影響している可能性が高く, 同時に, 北海道集団との交流を妨げる要因のひとつになっているのかもしれない. 実際, ハタハタ *Arctoscopus japonicus* やアバチャンにおいても本種のように朝鮮半島東岸の日本海に遺伝的に異質な集団を含むことが知られている (Shirai et al., 2006 ; Tohkairin et al., 2016).

なお, 日本海西部集団は遺伝的分化 (Table 3-2, Fig. 3-3) に対して形態的分化 (Table 3-6 ; Figs. 3-5, 3-6) が顕著であり, COI と形態データの間には部分的な不一致と考えられる点もみられた. 前述のように日本海西部集団は他の集団よりもやや水温の高い海域に生息しているため, コモンカスベの考察で述べたように (2.4 考察の東北太平洋岸集団の箇所を参照), 今後, 水温などの環境要因が本種の形態に与え

る影響や、mtDNAの異なる領域を調査することでこの要因を把握することが必要である。

黄海集団は遺伝的にはBp2のハプロタイプが高い頻度で検出されること (Fig. 3-2), 形態的には体盤長と眼が小さい (Fig. 3-6 A, B) ことで特徴付けられ, 他の2集団からの分化が顕著であった。この黄海集団の分化については, 対馬暖流の温暖な水温が, 黄海集団と日本海南西部集団および北海道集団との交流を妨げる障壁となっている可能性が考えられる。黄海と日本海を隔てる対馬海峡は対馬暖流の流路であり, その周辺海域において, 1985年から2010年までの100 m深における平均水温は2, 5, 8, 11月のいずれの時期においてもおおむね15°C以上を保っていた (気象庁, 2018)。一方, メガネカスベは冷水温を好み, これまでに知られている平均的な生息水温はサハリン西岸で1.1°C (Antonenko et al., 2011), 韓国の黄海沿岸で8.8°C (Jang et al., 2014), 韓国の日本海沿岸では12.2°C (Im et al., 2017) とされている。さらに, 本研究で用いた北海道オホーツク海沿岸の標本は, 底水温1.0–5.7°Cの範囲 (平均3.5°C, 標準偏差 ±1.3°C) から採集されている。また, 黄海における標識放流の結果からも, 韓国の黄海南部に位置する黒山島より南方に回遊する個体は確認されていないことから (Im and Jo, 2015), 黄海集団が対馬暖流を横断して日本海側に侵入することはほとんどないと考えられている (Im et al., 2017)。このように, 対馬暖流によって黄海と日本海の間で集団の分断や, 種の分布域が制限されると示唆される例は, マダラ *Gadus macrocephalus* の集団構造 (Gwak and Nakayama, 2011), イカナゴ *Ammodytes japonicus* とオオイカナゴ *Ammodytes heian* の朝鮮半島沿岸における分布パターン (Han et al., 2012; Kim et al., 2015; Orr et al., 2015b) など, 他の魚類でも知られている。

以上のように, 本種の集団構造に関しては海底地形による影響ではなく, 海流の影響が大きいことが示唆された。なお, 本種の4海域間における Φ_{ST} 値は全体的に低く (Table 3-2), 有意な遺伝的分化が示唆された日本海南西部集団と北海道集団の間でも0.1を下回る低い水準であり, 分化の程度は小さいと考えられた。さらに, 多次元尺度構成 (Fig. 3-3) および分子分散分析 (Table 3-3) の結果からも, 本種においては海域間 (もしくはグループ間) の遺伝的変異は小さかった。また, 体盤長,

体盤幅、眼径の3計測形質以外の形質、項部棘数 (Fig. 3-7) や成熟サイズ (Fig. 3-8)、色彩 (Fig. 3-9) においては海域間で差異が確認されず、コモンカスベほど明確な集団構造を示さないものと考えられた。とくに、黄海集団の異質性と比べ、北海道集団と日本海南西部集団は互いに遺伝的・形態的な類似性が認められ (Figs. 3-3, 3-5)、本種の集団構造はコモンカスベより広い空間スケール形成でされていると推測される。

遺伝的多様度と集団動態 COI はタンパク質をコードする領域のため種内での保存性が高く、おもに種同定に用いられ (Ward et al., 2005, 2007, 2009)、塩基置換速度は mtCR よりも遅いと考えられている。しかし、地中海のガンギエイ科魚類 *Raja clavata* においては mtCR よりも COI 領域の塩基置換速度が早い可能性が指摘されている (Ferrari et al., 2018)。また、東部北大西洋および地中海において、トラザメ科ハナカケトラザメ *Scyliorhinus canicula* やギンザメ科 *Chimaera monstrosa* では COI の塩基配列から非常に明確な地理的集団構造が存在することが明らかにされており

(Kousteni et al., 2015 ; Catarino et al., 2017)、さらに、地中海の4種ガンギエイ科魚類 *Raja miraletus*, *R. asterial*, *R. polystigma*, *R. radula* においても COI の塩基配列は地理的集団構造を反映することが示唆されている (Cariani et al., 2017)。本種の COI においてもある程度の種内変異があり、海域間での有意な Φ_{ST} 値 (Table 3-2) から COI は本種の集団構造を推定することには問題ないと考えられる。なお、本種の約100個体について予備的に mtCR の部分塩基配列 (650 bp) を決定し海域間で比較したが、この領域においては種内での変異はほとんど確認されず、COI の塩基置換速度の方が早いことが示唆された。また、ガンギエイ目魚類の COI においても塩基置換率が推定されていないことから、本種の分岐年代や集団拡大年代について推定することができなかった。

本種における COI の遺伝的多様度は、ハプロタイプ多様度 ($h = 0.7273$)、塩基多様度 ($\pi = 0.0031$) とともに低く、とくに塩基多様度が低いことが明らかになった

(Table 3-1)。コモンカスベの章で述べたように (2.4 考察を参照)、本種における低い遺伝的多様度は軟骨魚類における mtDNA の遅い塩基置換速度が関係していると考えられる (Martin et al., 1992 ; Martin, 1999)。他の軟骨魚類における COI では、地中

海および東部北大西洋のハナカケトラザメで $h = 0.808$, $\pi = 0.0032$ [($n = 431, 590$ bp) Kousteni et al., 2015], 東部北大西洋と地中海のギンザメ科 *Chimaera monstrosa* では $h = 0.7841$, $\pi = 0.0052$ [($n = 33, 596$ bp) Catarino et al., 2017] と報告されており, 本種とほぼ同様の値を示している. 一方, 硬骨魚類では, 東シナ海および黄海におけるカタクチイワシ *Engraulis japonicus* の COI の遺伝的多様度は $h = 0.958$, $\pi = 0.640$ [($n = 44, 616$ bp) Yu et al., 2005], 大西洋のニシン科 *Brevoortia tyrannus* では $h = 0.940$, $\pi = 0.0258$ [($n = 338, 459$ bp) Lynch et al., 2010] と推定されており, 本種や他の軟骨魚類よりも高い値を示している.

本種の集団動態について, 北海道沿岸のオホーツク海と太平洋, そして日本海から構成される北海道集団は遺伝的多様度が高く (Table 3-1), さらに, θ_1 値が他の集団よりも大きいことから, 集団サイズが大きいと推定された (Table 3-4). このことは, 本種の主要な漁場が北海道周辺であること (前田, 2003) と一致する. また, ミスマッチ分布図も置換数 1 または 2 の位置にピークがあるスムーズな単峰型で (Fig. 3-4 OK, NJ), 比較的長期間にわたって安定した集団であることが示唆された. しかし, SSD および *Hri* の値からも集団拡大モデルからの逸脱は認められず, 北海道集団の過去の集団拡大が示唆された. とくに, 北海道日本海沿岸では Fu's F_s が有意に負の値であることから過去の集団拡大が支持された (Table 3-4). 先述のように, ここでは具体的な集団拡大年代について推定できなかったが, 置換数 1 または 2 の位置にピークがあることから, その年代は古いものである可能性が高い.

一方, 日本海西部集団は遺伝的多様度が極めて低く (Table 3-1), ミスマッチ分布図もピークが置換数 0 の位置に大きく偏る分布 (Fig. 3-4 SJ) を示したため, 集団サイズの縮小を経験したことによる遺伝的多様度の低下が考えられた. また, SSD および *Hri* の値から集団拡大モデルからの有意な逸脱は確認されなかったものの, Tajima's D と Fu's F_s においても集団サイズの縮小は示唆されず, 分析方法によって集団サイズの変化が異なる結果となった (Table 3-4). コモンカスベの章でも述べたように (2.4 考察の集団動態を参照), 日本海においては最終氷期の環境変動のために生物の絶滅もしくは衰退が起こったとされるが, 浅海性の本種ではその影響は少なかったと考えられる. 集団サイズの変化に対して明瞭な結果が出なかったこと

は、日本海西部集団は θ_1 値が北海道集団よりも小さく (Table 3-4)、日本海西部集団における遺伝的多様度の低さは集団成立後も比較的小さい集団サイズを維持してきたことに起因するのかもしれない。これは前述の Kafanov et al. (2000) が朝鮮半島東岸の比較的狭い海域に周辺海域から区別可能な魚類相がみられるとしていることとも一致する。

黄海集団のミスマッチ分布図では、置換数 0 と 3 の 2 箇所にもピークをもつ明確な二峰型で (Fig. 3-4 YS)、これは近い過去に集団サイズの急激な縮小があった場合、もしくは異なる歴史をもつ 2 集団が接触した場合にみられるパターンとされる (Frankham et al., 2002)。とくに、ミスマッチ分布図において置換数 0 の位置にもピークをもつことや、北海道集団にみられるようなマイナーなハプロタイプが存在せず (Fig. 3-2)、塩基多様度に対してハプロタイプ多様度が低いこと (Table 3-1)、*Hri* の値において集団拡大モデルからの有意な逸脱が確認されたこと (Table 3-4) から、集団サイズの急激な縮小の影響が示唆された。実際、黄海は平均水深が 50 m 程度と浅く、最終氷期において海水準が低下した際には大部分が陸化したと考えられるため (Wang, 1999)、黄海集団が最終氷期以前に成立していた集団であった場合、生息域と集団サイズの縮小が起こり、現在までその痕跡を残しているものと推測される。一方、形態的には北海道集団と異なる (Table 3-6 ; Figs. 3-5, 3-6) もの、ハプロタイプネットワークは北海道集団とも高い頻度でハプロタイプを共有するダンベル型に近い構造 (Fig. 3-2 Bp1, Bp3) を示したことから、北海道集団あるいは同じハプロタイプをもつ日本海西部集団が黄海に進入したという二次的接触の影響も考えられる。今後、mtDNA とは異なる遺伝様式をもつ核ゲノムを調査することで、より詳細な集団動態の把握が必要である。

本種では、遺伝的・形態的に北海道沿岸のオホーツク海・太平洋・日本海の 3 海域から構成される集団 (=北海道集団)、日本海西部集団、黄海集団の 3 地域集団に区別されたため、これらを管理単位 (Management units) として資源管理を行う必要があると考えられる。日本では、主に本種を漁獲しているのは北海道のみで、現在のところ新たに保全単位を設定する必要はないと考えられるが、今後の資源管理のためにも資源状態のモニタリングが必要であろう。一方、本種を積極的に漁獲・利

用している韓国の沿岸では，日本海沿岸と黄海沿岸で異なる集団が出現するため，Im et al. (2017) で指摘されているように，2つの集団を区別して資源管理を行う必要がある．とくに，日本海西部集団と黄海集団は北海道集団と比べて遺伝的多様度が低いこと，もしくは集団サイズ縮小の痕跡がみられたことから，慎重な資源管理が求められる．

第4章 深海・冷水性大型種ドブカスベの集団構造

4.1 背景

ドブカスベ *Bathyraja smirnovi* はヒトツセビレカスベ科に属する深海・冷水性で全長が1 m を越える大型ガンギエイ目魚類である。本種は西部北太平洋のベーリング海西部からオホーツク海と日本海の水深50–1,125 m（通常200 m 以深）に出現する（Fig. 1-1 C）（Ishiyama, 1958, 1967；Ishihara et al., 2009c；Orr et al., 2011；戸岡ほか, 2013；Last et al., 2016c；Dyldin and Orlov, 2018；鄭, 2018）。本種は, Spies et al. (2011) によるCOI領域557塩基対から推定したソコガンギエイ属 *Bathyraja* の分子系統解析において, 北海道オホーツク海岸と太平洋岸に分布するツノカスベ *B. simoterus*, ベーリング海および東部北太平洋に分布する *B. parmifera* や *B. panthera* とともに単一のクレードを形成し, 互いに近縁性が示唆されていた。その後, Orr et al. (2011) によって分類学的な再検討が行われ, かつて提唱されていたドブカスベ亜属 subgenus *Arctoraja* の有効性が認められ, ドブカスベを含むこれら4種が含められた。ドブカスベ亜属は尾部長が体盤幅の60%以下（他のソコガンギエイ属では70%以上）であることや, 背鰭前尾椎骨数が80以上（80以下）であることなどから特徴付けられる（Ishiyama, 1958；Ishiyama, 1967；Orr et al., 2011）。

本種はとくに日本海の深海域で優占し（加藤, 1971；沖山, 1980；Ishihara and Orlov, 2009；甲斐, 2018）, 北海道では“水カスベ”, 新潟県や能登半島では“コンペ”と呼ばれおもに日本海沿岸地域の沖合底曳網や延縄, 刺網で漁獲され, 煮付けや練り物などで食される（Ishihara and Orlov, 2009；戸岡ほか, 2011）。秋田県土崎で7月に行われる港祭りは通称“カスベ祭り”と呼ばれ, ガンギエイ類のなかでも本種が特に珍重される（鄭, 2018）。また, 北海道沿岸において本種はメガネカスベについて量的に多く, 水産上重要な種である（上野, 1965）。本種は環境省の海洋生物レッドリストでは準絶滅危惧 (NT), IUCN のレッドリストでは低度懸念 (LC) とされている（Ishihara and Orlov, 2009；環境省, 2017）。本種の生態に関しては情報が少ないが, 成熟開始サイズは雌雄ともに全長90 cm 以上と推定されている（石原, 1990；

Ishihara and Orlov, 2009). また、矢田ほか (2009) によって示されている本種の尾部棘および脊椎骨の輪紋数と全長の関係から成熟開始年齢を推定すると雌雄ともに 12 歳程度であると推定される。また、産卵生態についても知られていないが、北海道の後志海山に産卵場があることが明らかになっている (Hunt et al., 2011)。卵殻は長さ 125–150 mm と大きい (Ishiyama, 1958 ; Ishihara et al., 2012)。

本種はかつて Ishiyama (1958) によってオホーツク海に分布するドブカスベ *Raja smirnovi smirnovi* と日本海に分布するアンカスベ *R. smirnovi ankasube* Ishiyama, 1958 の 2 亜種に分類されていた。Ishiyama (1958) によると、この 2 亜種は尾部の長さや、尾鰭や尾部発電器の発達具合から区別される。しかし、その後 Ishiyama (1967) はこの分類は検討した個体数が少なく不十分であり、ドブカスベとアンカスベを同種であるとした。なお、*Raja smirnovi* の模式産地は日本海のピーター大帝湾であるため (Soldatov and Pavlenko, 1915)、基亜種は日本海産にするべきであり、Ishiyama (1958) の分類は不適當であると考えられる。一方、Orr et al. (2011) は、十分な個体数や採集地に基づいていないものの、計数・計測形質に基づいた主成分分析から、オホーツク海の南北と日本海の南北の合計 4 海域間でも形態的差異があることを示唆している。しかし、Orr et al. (2011) では遺伝的分析はされておらず、日本海の富山湾以南の個体については検討されていないことから、本種の集団構造については明らかになっているとは言い難い。第 3 章のメガネカスベの集団構造にて述べたように (3.4 考察を参照)、日本海とオホーツク海は狭く浅い宗谷海峡によって接続しており、両海域の深海域に生息する底生性魚類においては集団の分化が生じている例が知られている (例えば、Kodama et al., 2008 ; Sakuma et al., 2014)。先行研究から、深海性のドブカスベにおいても日本海とオホーツク海での形態的差異が示唆されていることから、何らかの地理的集団構造が存在する可能性が高い。本章では、深海・冷水域に生息する大型種であるドブカスベの集団構造について、主要な分布域であるオホーツク海と日本海から採集した個体を用いて、mtDNA の COI 領域を対象とした遺伝的分析と形態比較から推定した。

4.2 材料と方法

標本 COI を対象とした遺伝的分析には日本沿岸の 3 海域から採集された合計 95 個体 [オホーツク海“OK” (29 個体, 北海道), 日本海北部“NJ” (25 個体, 北海道から富山湾まで), 日本海南部“SJ” (41 個体, 石川県西岸から山口県まで)] を用いた。形態比較においても遺伝的分析に用いたものと同じ海域のものを使用した。オホーツク海北部で採集された *Bathyraja smirnovi* のパラタイプ 1 個体 (ZIN 19051) も種内変異について検討するうえで重要なデータとであると考へ、比較に加えた。形態比較に用いた標本は合計 80 個体 [オホーツク海“OK” (18 個体, 北海道沿岸の 17 個体とロシアのマガダンで採集された *B. smirnovi* のパラタイプ 1 個体を含む), 日本海北部“NJ” (23 個体, 北海道から富山湾まで), 日本海南部“SJ” (39 個体, 石川県西岸から山口県)] を用いた。なお、マダラや深海性の巻貝であるツバイ *Buccinum tsubai* では能登半島の東西を境界に遺伝的に区別される集団構造をもつことが知られており (Iguchi et al., 2004 ; Iguchi et al., 2007 ; Shirai et al., 2010 ; Suda et al., 2017), 本研究でもそれに従って能登半島の東西で日本海を区分した。遺伝的分析および形態比較に用いた個体は合計 117 個体である。これらの標本の採集場所を Fig. 4-1 に、標本データ等を Appendix 4 に示した。

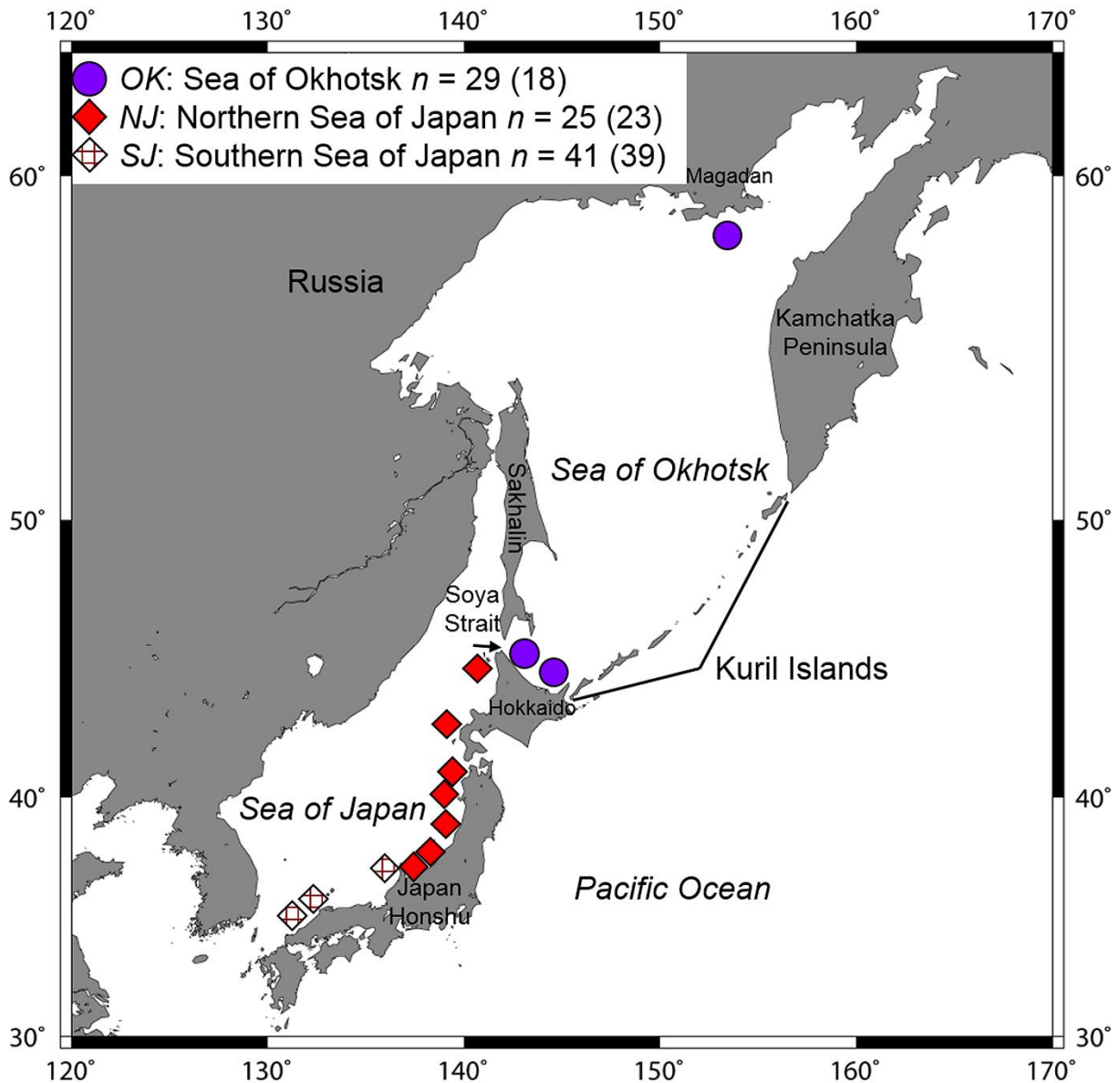


Fig. 4-1 Sampling area and number of examined specimens of *Bathyraja smirnovi*. Each symbol represents a sampling site. n = number of specimens used in COI analysis and numbers in parentheses = number of specimens used in morphological comparisons

遺伝的分析 塩基配列の決定およびその解析に関する基本的な手法はコモンカスベの場合とほぼ同様であり (2.2 材料と方法の遺伝的分析を参照), ハプロタイプネットワーク, 遺伝的多様度, Φ_{ST} 値, 多次元尺度構成, 分子分散分析, ミスマッチ分布解析, 中立性検定を推定・算出した. COI の部分塩基配列 660 bp はメガネカスベと同じく Fish F2 と Fish R2 のプライマーセット (Ward et al., 2006 ; 3.2 材料と方法の遺伝的分析を参照) を用いて PCR 増幅した. PCR の温度条件は最初に 94 °C で 5 分間熱

変性させた後、94 °C で 15 秒、56 °C で 15 秒、72 °C で 30 秒の温度サイクルを 30 回繰り返し、最後に 72 °C で 7 分間加熱した。本研究にて決定したドブカスベ 95 個体の COI の部分塩基配列 DDBJ に登録した (アクセッションナンバー: LC426809–LC426815, LC426818–LC426905)。

形態比較 形態比較においてもコモンカスベの場合と同様に (2.2 材料と方法の形態比較を参照)、13 計測形質を計測し、主成分分析、共分散分析および多重比較から海域間での差異を確認した。また、主成分分析では雌雄区別せず、共分散分析および多重比較では雌雄区別して行った。計数形質では、項部棘数と尾部棘数 (背鰭間の棘を含む) を海域間で多重比較した。成熟サイズを海域間で比較するために、交接器長を計測した。雄個体の成熟は Stehmann (2002) に従い、翼棘の有無と交接器の骨化から判断した。なお、コモンカスベやメガネカスベとは異なり、本種の尾部棘の列数は 1 列で成長にともなって増加しないため、雌個体の成熟サイズについては比較しなかった。また、色彩については生鮮時の体色を記録して海域間で比較した。

4.3 結果

4.3.1 mtDNA の COI 領域から推定した集団構造と動態

遺伝的分析に用いたドブカスベ 95 個体について、COI の部分塩基配列 660 塩基対が決定された。このうち、10 箇所合計 11 通りの塩基置換があり、そのうち 9 はトランジション型、2 はトランスバージョン型の変異で、合計 10 種類のハプロタイプ (Bs1–Bs10) が確認された (Fig. 4-2)。全 10 種類のハプロタイプのうち、異なる海域間で共有されていたハプロタイプは 3 種類で (Bs1–3)、残りの 7 種類は単一の海域からのみ確認され (Bs4–10)、前者は解析個体の 92% (87/95) を占め、後者は 8% であった (8/95)。単一の海域からのみ確認された 7 種類のハプロタイプのうち 6 種類 (Bs5–10) は 1 個体のみが保有するシングルトンであった。また、オホーツク海固有のハプロタイプは 4 種類 (Bs4–7) (5%, 5/95) で、日本海 (北部と南部) 固有のハプロタイプは 4 種類 (Bs2, Bs8–10) (20%, 19/95) であった。ハプロタイプネッ

ネットワークは、中心的な主要ハプロタイプの周りに複数のマイナーなハプロタイプが位置する星状型に近い構造を示した (Fig. 4-2). 3 海域で共有された最も主要なハプロタイプである Bs1 が中心的な位置に置かれ、接続するハプロタイプ数も多かった. 3 海域におけるハプロタイプ数は 3-6 の範囲であり、オホーツク海で最も多かった (Table 4-1). 各海域における遺伝的多様度を Table 4-1 に示した. 解析に用いた全 95 個体におけるハプロタイプ多様度 ($h = 0.4473$) と塩基多様度 ($\pi = 0.0013$) はともに著しく低い値を示した. それぞれの海域ではオホーツク海 ($h = 0.3744$, $\pi = 0.0008$) で最も低く, 日本海南部 ($h = 0.5049$, $\pi = 0.0015$) で最も高かった.

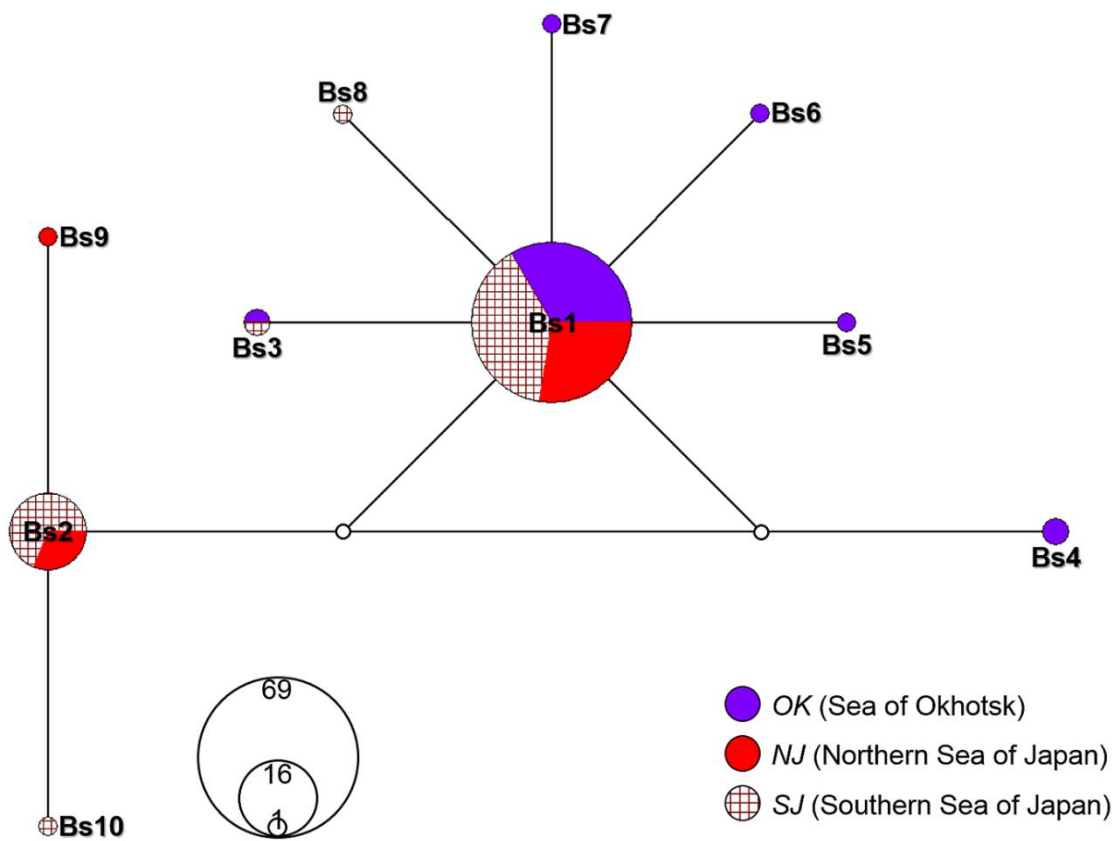


Fig. 4-2 Haplotype network for *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas based on 660 bp of COI. Each circle represents a single haplotype. Circle size represents number of individuals. Each bar represents one substitution. Letters with numerals indicate haplotype codes

Table 4-1 Genetic diversity indices of *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas calculated from 660 bp of COI. n = number of individuals, H = number of haplotypes, h = haplotype diversity, π = nucleotide diversity. Ranges are followed by mean \pm standard deviation

Abbreviations	Sampling areas	n	H	h	π
<i>OK</i>	Sea of Okhotsk	29	6	0.3744 \pm 0.1130	0.0008 \pm 0.0008
<i>NJ</i>	Northern Sea of Japan	25	3	0.3967 \pm 0.1027	0.0013 \pm 0.0010
<i>SJ</i>	Southern Sea of Japan	41	5	0.5049 \pm 0.0694	0.0015 \pm 0.0012
Total		95	10	0.4473 \pm 0.0572	0.0013 \pm 0.0010

海域間のペアワイズ Φ_{ST} では (Table 4-2), オホーツク海は日本海南北 2 海域との間に有意な遺伝的分化 ($P < 0.05$) が確認された。一方, 日本海の北部と南部の間では有意とはならず, 両者の遺伝的交流には制限がないものと考えられた。 Φ_{ST} 値は全体的に低い値を示した ($\Phi_{ST} = -0.023-0.149$)。

また, 個体間の p -distance に基づいた多次元尺度構成において, オホーツク海の個体のプロットは日本海域の個体のプロットとはやや異なる場所を占め, 一方, 日本海北部と南部の個体のプロットは大きく重複していた (Fig. 4-3)。

分子分散分析の結果からは (Table 4-3), 全体の遺伝的変異に対する 3 海域間での遺伝的変異は小さかったが (全体の変異の約 8% を占める), 有意であることが示された ($P < 0.01$)。さらに, 多次元尺度構成の結果を反映して, オホーツク海と日本海 (北部・南部) の 2 グループを設定して分子分散分析を行ったところ, グループ間の変異は比較的大きく (全体の変異の約 15%), グループ内の海域間での遺伝的変異は小さかったが (それぞれ全体の変異の約 15% と -2%), 両者において有意な遺伝的変異は確認されなかった ($P > 0.05$)。一方, 各海域内での変異は大きく (約 87%), 有意な変異が確認された ($P < 0.05$)。

Table 4-2 Pairwise Φ_{ST} values between sampling areas (below diagonal) and associated P values (above diagonal) of *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas based on 660 bp of COI. Bold letters indicate significant values of $P < 0.05$ (after sequential Bonferroni correction). Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

	<i>OK</i>	<i>NJ</i>	<i>SJ</i>
<i>OK</i>	-	0.031	0.007
<i>NJ</i>	0.116	-	0.999
<i>SJ</i>	0.149	-0.023	-

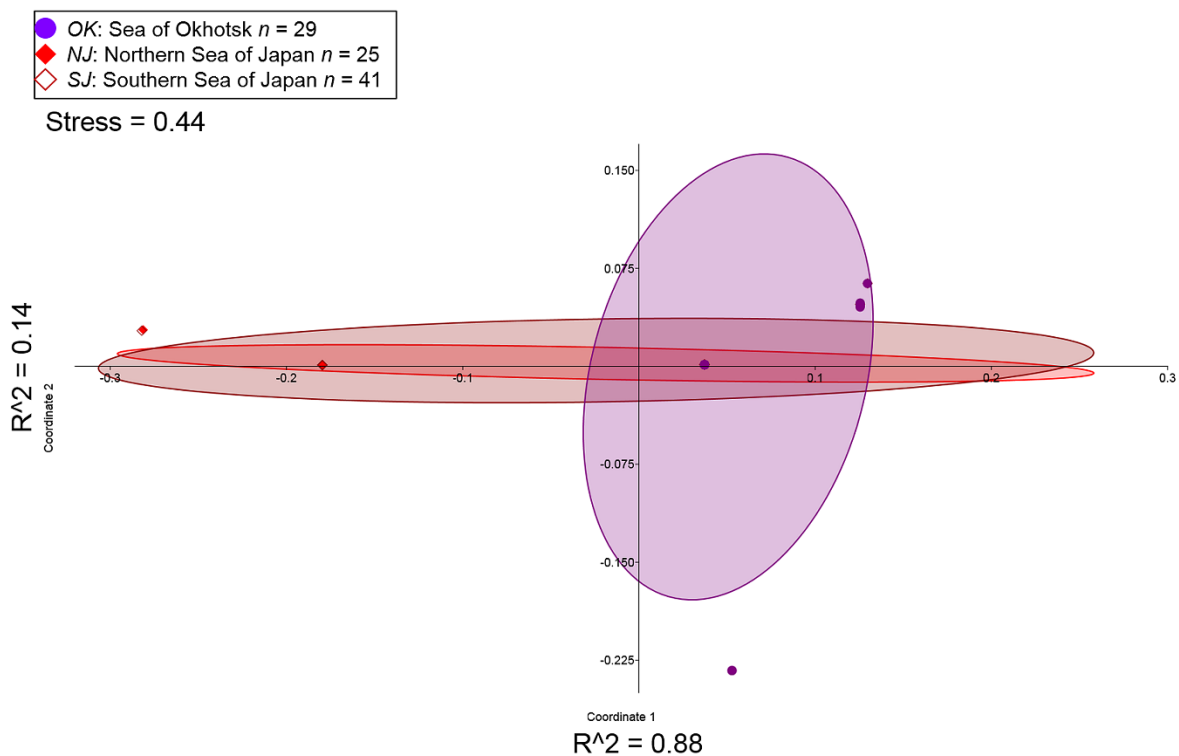


Fig. 4-3 Plots of first two components (Coordinate 1 and 2) of the multidimensional scaling (MDS) analysis for *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas based on p -distance of 660 of COI. For each sample, the 95% concentration ellipses illustrating the probabilistic distribution space of each sampling areas are shown

Table 4-3 Hierarchical structure analyses of molecular variance (AMOVA) for *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas based on 660 bp of COI. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

Groupings	Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	<i>F</i> statistics	Percentage of variation
All five sampling areas	Among areas	2	3.04	0.036	$\Phi_{ST} = 0.081$ ($P = 0.010$)	8.09
	Within areas	92	37.57	0.408		91.91
2 groups						
<i>OK</i> vs. <i>NJ-SJ</i>	Among groups	1	2.903	0.069	$\Phi_{CT} = 0.146$ ($P = 0.336$)	14.64
	Among areas within groups	2	0.139	-0.009	$\Phi_{SC} = -0.022$ ($P = 0.743$)	-1.85
	Within areas	92	37.57	0.408	$\Phi_{ST} = 0.128$ ($P = 0.012$)	87.21

ミスマッチ分布解析では (Fig. 4-4), 全解析個体を1集団とした場合 (Total), 置換数0と2の位置にピークをもつ二峰型に近い分布を示した。それぞれの海域では, 全3海域において置換数0の位置に最も高いピークをもち, このうちオホーツク海 (*OK*) では置換数1と2にも比較的高い頻度をもつL字型の分布を示した。一方, 日本海北部 (*NJ*) と南部 (*SJ*) は置換数1の頻度は低く, 置換数2の頻度が高い二峰型の分布を示した。また, SSDと*Hri*の値から, 日本海南部では過去の集団拡大モデルからの有意な逸脱は確認されなかった (Table 4-4)。しかし, オホーツク海と日本海北部のSSD値からは集団拡大モデルからの有意な逸脱が確認された ($P < 0.01$)。集団拡大以降の推定世代数, すなわち集団拡大が始まってからの期間を示す

τ 値と集団拡大前の集団サイズを示す θ_0 値は日本海南部で最も大きく、拡大後の集団サイズを示す θ_1 値はオホーツク海と日本海北部で最も大きかった (Table 4-4). 中立性検定について、Tajima's D および Fu's F_S の値は日本海北部を除き負の値で、とくにオホーツク海では有意な値であったことから、過去の集団拡大が示唆された (それぞれ $P < 0.05$, $P < 0.01$) (Table 4-4).

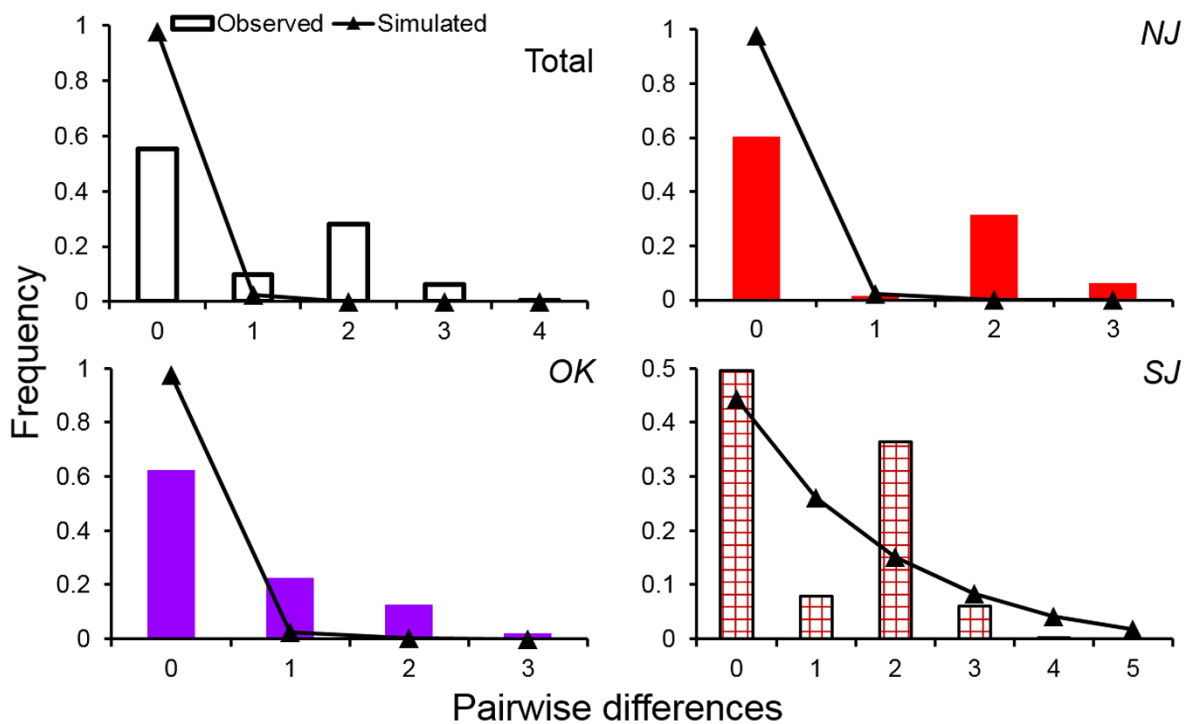


Fig. 4-4 Mismatch distributions for *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas based on 660 bp of COI. Vertical and horizontal axes indicate frequency and genetic differences.

Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

Table 4-4 Mismatch distribution analysis and neutrality tests for *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas based on 660 bp of COI. τ = units of mutational time, θ_0 = population size before expansion, θ_1 = population size after expansion. The fit between the observed and expected distributions was tested using the sum of squared deviations (SSD) and Harpending's raggedness index (*Hri*). Bold letters indicate significant values of $P < 0.05$. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

Sampling areas	τ	θ_0	θ_1	SSD (P)	<i>Hri</i> (P)	Tajima's D (P)	Fu's F_S (P)
<i>OK</i>	0.000	0.000	99,999	0.208 (0.001)	0.181 (0.999)	-1.857 (0.013)	-3.700 (0.001)
<i>NJ</i>	0.000	0.000	99,999	0.262 (0.001)	0.502 (0.950)	0.142 (0.618)	1.025 (0.704)
<i>SJ</i>	2.672	0.004	1.290	0.082 (0.175)	0.349 (0.190)	-0.376 (0.399)	-0.319 (0.430)
Total	0.000	0.000	99,999	0.293 (< 0.001)	0.290 (0.958)	-1.435 (0.054)	-4.904 (0.014)

4.3.2 海域間での形態的分化

ドブカスベ 80 個体の 13 計測形質に基づいた主成分分析の結果、第 1 主成分の寄与率は 99% と非常に高かったが、その因子負荷量は全ての形質で正の値であり、これらはサイズ要素を含むものであると考えられた。(Table 4-5)。一方、第 2 主成分の寄与率は約 0.5% で、因子負荷量は尾部長、背面吻長(眼前吻長)、腹面吻長(口前吻長)、鼻前吻長で大きく、第 3 主成分の寄与率は 0.1% で、因子負荷量は眼径、両眼間隔で大きかった (Table 4-5, Fig. 4-5)。主成分得点は 3 海域間で明確に分離されることはなく、とくに日本海の北部と南部のプロットは第 2 主成分においてよくまとまり、オホーツク海のプロットと分離する傾向が確認された (Fig. 4-5)。

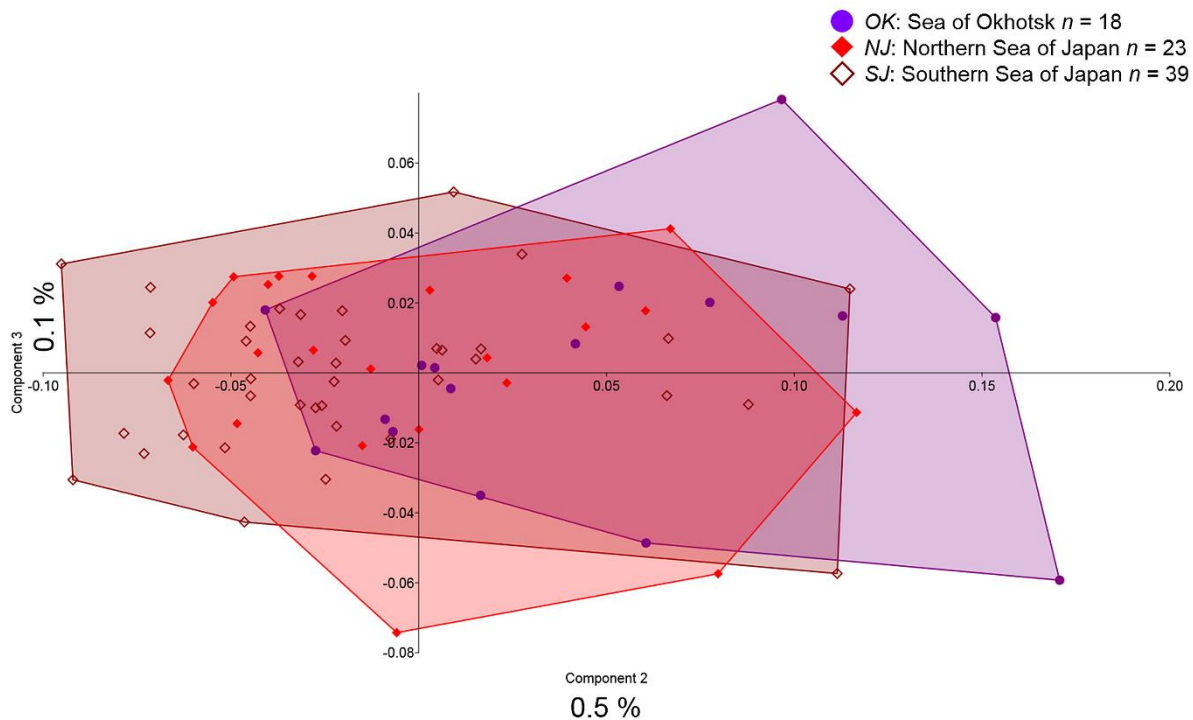


Fig. 4-5 Plots of principal component (PC) scores for *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas based on 13 measurements

Table 4-5 Factor loadings for principal component (PC) analysis for *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas based on 13 measurements

	PC1	PC2	PC3	PC4
Total length	0.279	0.286	0.099	-0.184
Disc length	0.291	0.096	0.012	-0.008
Disc width	0.289	0.209	0.016	0.052
Tail length	0.248	0.531	0.189	-0.538
Dorsal head length	0.284	-0.183	0.101	-0.142
Dorsal snout length	0.281	-0.408	0.063	-0.151
Eye diameter	0.214	0.211	0.554	0.549
Distance between orbits	0.304	0.042	-0.683	-0.028
Ventral head length	0.287	-0.088	-0.015	-0.111
Ventral snout length	0.262	-0.411	0.224	-0.011
Prenasal snout length	0.272	-0.385	0.131	-0.137
Distance between nostrils	0.295	0.081	-0.204	0.472
Distance between 1st gill slits	0.288	0.078	-0.240	0.271
Eigenvalue	0.651	0.003	0.001	0.001
Contribution rate (%)	99.091	0.513	0.100	0.098

全長を除く 12 計測形質について、雌雄を区別して 3 海域の標本で共分散分析を行った結果、雄では全ての形質において有意差が認められなかったことに対して、雌では 9 形質（両眼間隔、両鼻孔間、第 1 鰓孔間以外の形質）において有意差が認められた ($P < 0.01$)。これら 9 計測形質と全長の関係を Fig. 4-6 に、それぞれの海域における計測データと共分散分析および Kruskal-Wallis 検定による多重比較の結果を Table 4-6 と Table 4-7 に示した。共分散分析において有意差が確認された 9 形質のうち、体盤長、体盤幅、尾部長を除く 6 形質はオホーツク海と日本海の間で有意差が確認された（多重比較、 $P < 0.05$ ）(Table 4-7)。この 6 形質のうち、背面頭長、背面吻長、腹面頭

長，腹面吻長，鼻前吻長においてオホーツク海の個体は日本海北部・南部の個体と比べて短い傾向がみられた (Fig. 4-6 D-E, G-I). また，多重比較において有意差は認められなかったが，尾部長においてはオホーツク海の個体は日本海北部・南部の個体と比べて長い傾向があることが示唆された (Fig. 4-6 C). 一方，日本海の北部と南部においては計測形質に海域間での差異は確認されなかった (Tables 4-6, 4-7 ; Fig. 4-6).

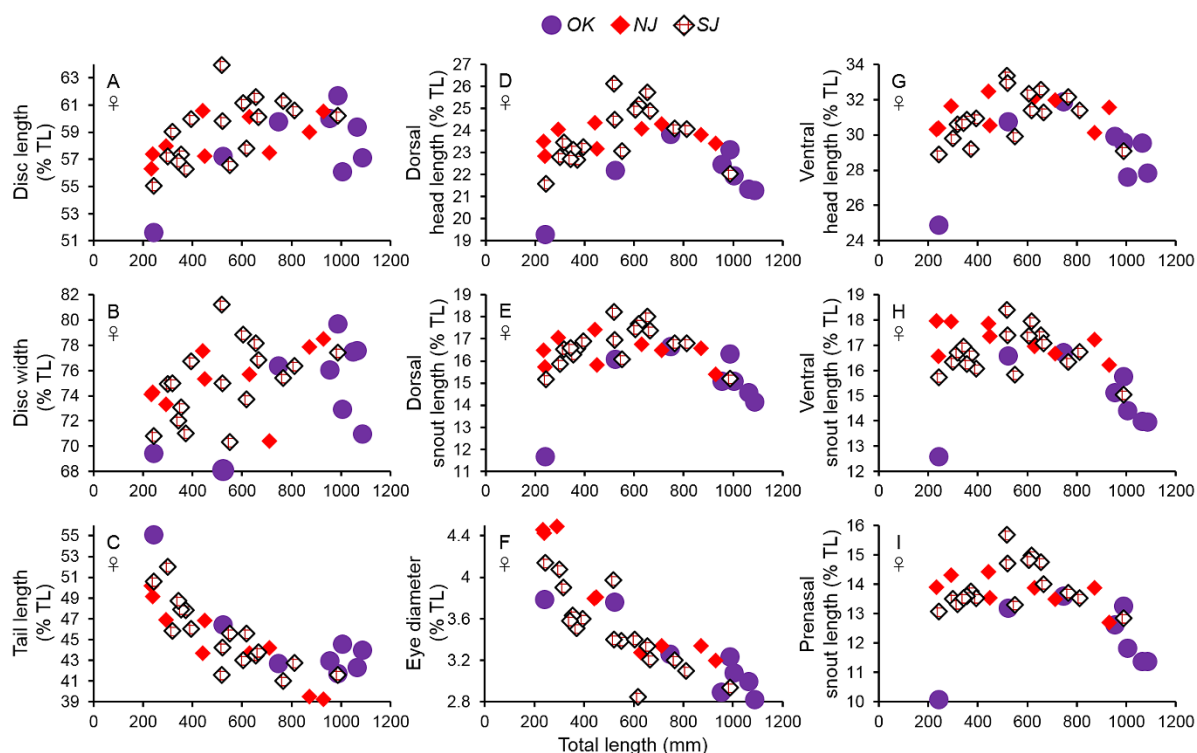


Fig. 4-6 Plots of proportional morphometric characters (in % of total length) of *Bathyraja smirnovi* which differed significantly among three sampling areas in ANCOVA. (A) disc length in females, (B) disc width in females, (C) tail length in females, (D) dorsal head length in females, (E) dorsal snout length in females, (F) eye diameter in females, (G) ventral head length in females, (H) ventral snout length in females, (I) prenasal snout length in females. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

Table 4-6 Proportional measurements of males (in % of total length) from three sampling areas of *Bathyraja smirnovi* and their morphological differentiation significance among sampling areas. Ranges are followed by mean \pm standard deviation in parentheses. Numbers under Significance indicate *P* values in ANCOVA. Sampling areas separated by < are significantly different. NS: non-significant. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

	<i>OK</i>	<i>NJ</i>	<i>SJ</i>	Significance
	♂ <i>n</i> = 9	♂ <i>n</i> = 15	♂ <i>n</i> = 21	
Total length (mm)	356–1094 (874 \pm 228)	210–1054 (524 \pm 289)	237–976 (545 \pm 245)	
Disc length	55.0–59.9 (57.8 \pm 1.5)	51.7–60.9 (57.4 \pm 2.4)	51.0–62.1 (58.4 \pm 2.5)	NS
Disc width	72.2–79.5 (75.2 \pm 2.5)	69.6–80.9 (74.9 \pm 2.6)	68.1–82.0 (75.4 \pm 3.5)	NS
Tail length	43.3–48.3 (45.9 \pm 1.5)	41.7–53.8 (46.6 \pm 3.7)	42.8–54.8 (46.3 \pm 2.8)	NS
Dorsal head length	19.5–23.2 (21.9 \pm 1.3)	19.3–25 (22.4 \pm 1.5)	19.6–25.0 (22.4 \pm 1.3)	NS
Dorsal snout length	12.1–16.3 (14.6 \pm 1.5)	12.5–17.2 (15.4 \pm 1.3)	12.9–17.5 (15.4 \pm 1.4)	NS
Eye diameter	2.8–4.1 (3.2 \pm 0.4)	2.8–4.4 (3.7 \pm 0.5)	2.9–4.2 (3.5 \pm 0.4)	NS
Distance between orbits	4.4–5.3 (4.8 \pm 0.3)	3.8–5.5 (4.8 \pm 0.4)	4.2–5.3 (4.8 \pm 0.3)	NS

Table 4-6 Continued

Ventral head length	26.8–31.3 (29.5 ± 1.5)	26.7–33.1 (30.1 ± 1.8)	25.1–32.4 (30.2 ± 1.6)	NS
Ventral snout length	11.3–16.8 (14.2 ± 1.7)	14.1–17.5 (16 ± 1.1)	12.3–18.1 (15.6 ± 1.7)	NS
Prenasal snout length	10.7–13.4 (11.9 ± 1)	11.4–14.4 (13.0 ± 0.9)	10.8–14.6 (12.8 ± 1.3)	NS
Distance between nostrils	6.4–7.5 (7.1 ± 0.4)	6.2–7.9 (7.2 ± 0.5)	5.4–7.7 (7.0 ± 0.6)	NS
Distance between 1st gill openings	15.2–18.8 (16.9 ± 1.4)	16.1–18.8 (17.8 ± 0.8)	15.2–18.6 (17.4 ± 0.7)	NS

Table 4-7 Proportional measurements of females (in % of total length) from three sampling areas of *Bathyraja smirnovi* and their morphological differentiation significance among sampling areas. Ranges are followed by mean ± standard deviation in parentheses. Numbers under Significance indicate *P* values in ANCOVA. Sampling areas separated by < are significantly different. NS: non-significant. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

	<i>OK</i>	<i>NJ</i>	<i>SJ</i>	Significance
	♀ <i>n</i> = 9	♀ <i>n</i> = 8	♀ <i>n</i> = 18	
Total length (mm)	244–1088 (852 ± 275)	234–930 (534 ± 250)	243–988 (530 ± 200)	
Disc length	51.6–61.7 (57.8 ± 2.9)	56.3–60.6 (58.5 ± 1.5)	55.0–64.0 (59.1 ± 2.3)	0.01

Table 4-7 Continued

Disc width	68.1–79.7 (74.3 ± 3.8)	70.4–78.5 (75.2 ± 2.4)	70.3–81.2 (75.1 ± 2.9)	0.05
Tail length	41.7–55.0 (44.9 ± 4.1)	39.2–50.2 (44.8 ± 3.6)	41.0–52.0 (45.4 ± 3.1)	< 0.001
Dorsal head length	19.3–23.8 (21.9 ± 1.3)	22.8–24.3 (23.7 ± 0.5)	21.6–26.1 (23.8 ± 1.3)	< 0.001 [NJ, SJ<OK]
Dorsal snout length	11.6–16.6 (14.9 ± 1.5)	15.4–17.4 (16.4 ± 0.6)	15.2–18.2 (16.7 ± 0.8)	0.001 [NJ, SJ<OK]
Eye diameter	2.8–3.8 (3.2 ± 0.3)	3.2–4.5 (3.8 ± 0.5)	2.8–4.1 (3.5 ± 0.4)	0.001 [NJ<OK]
Distance between orbits	4.3–5.6 (5.0 ± 0.5)	4.3–5.3 (4.9 ± 0.4)	4.0–5.6 (4.9 ± 0.4)	NS
Ventral head length	24.9–31.8 (29.0 ± 2.0)	30.1–32.5 (31.2 ± 0.8)	28.9–33.4 (31.0 ± 1.3)	0.001 [NJ, SJ<OK]
Ventral snout length	12.6–16.7 (14.9 ± 1.3)	16.2–18.0 (17.2 ± 0.6)	15.0–18.4 (16.7 ± 0.8)	< 0.001 [NJ, SJ<OK]
Prenasal snout length	10.1–13.6 (12.1 ± 1.1)	12.7–14.4 (13.7 ± 0.5)	12.8–15.7 (13.9 ± 0.8)	< 0.001 [NJ, SJ<OK]
Distance between nostrils	6.8–7.6 (7.1 ± 0.3)	6.5–8.1 (7.2 ± 0.5)	6.6–7.6 (7.0 ± 0.3)	NS
Distance between 1st gill openings	17.3–19.9 (18.6 ± 0.8)	17.2–19.7 (18.0 ± 0.8)	16.5–19.0 (17.7 ± 0.8)	NS

計数形質では、項部棘、尾部棘ともに雌雄差はなく、また成長に伴って増加しないことが確認されたことから、雌雄・体サイズを区別せずに比較した。項部棘数は、オホーツク海（平均 2.8 本、標準偏差 0.8）、日本海北部（平均 2.6 本、標準偏差 0.5）、日本海南部（平均 2.7 本、標準偏差 0.6）と 3 海域で近い値を示し、有意差は確認されなかった（多重比較、 $P > 0.05$ ）。しかし、最頻値はオホーツク海で 2 本、日本海北部・南部では 3 本であり、海域間で異なっていた（Fig. 4-7）。一方、尾部棘数はオホーツク海（平均 24 本、標準偏差 1.5）、日本海北部（平均 26 本、標準偏差 2.5）、日本海南部（平均 27 本、標準偏差 2.9）と海域間で差異がみられ、オホーツク海と日本海北部・南部の間に有意差が確認された（多重比較、 $P < 0.01$ ）。また、尾部棘数の度数分布はオホーツク海においては 25 本の 1 箇所にはピークがある単峰型であったが、日本海北部では 25–26 本と 28 本の 2 箇所、日本海南部では 25 本と 28 本の 2 箇所にピークをもつ二峰型であった（Fig. 4-8）。

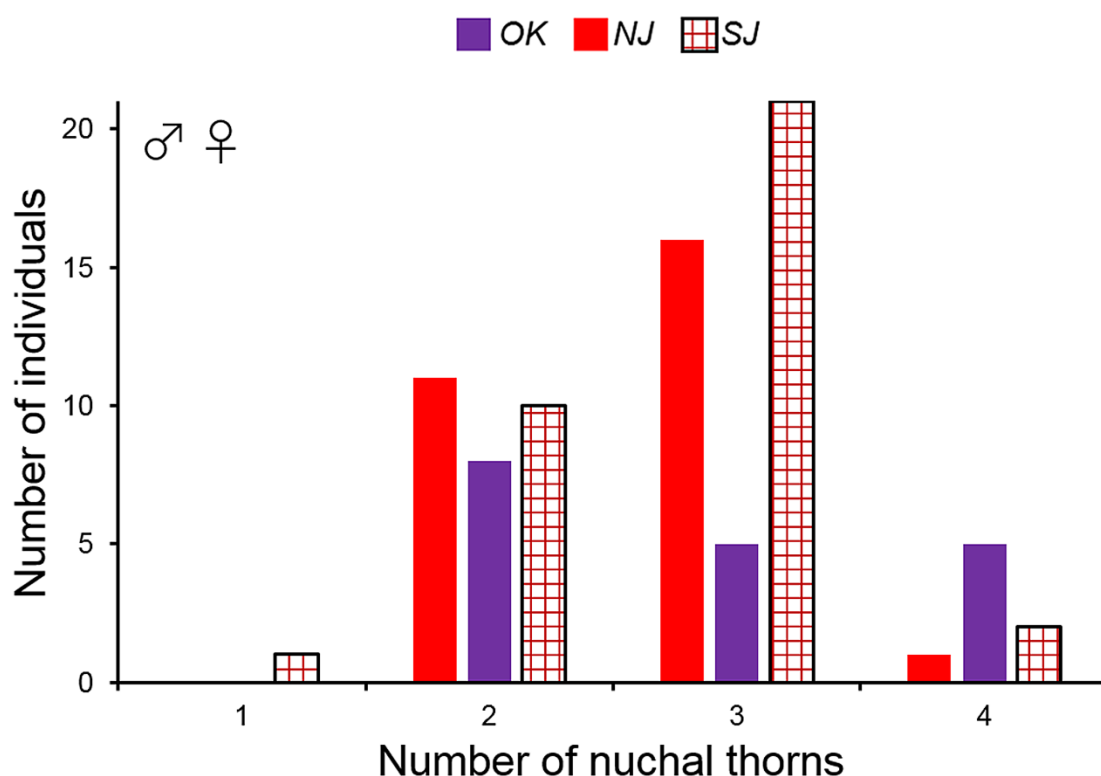


Fig. 4-7 Nuchal thorn numbers of *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

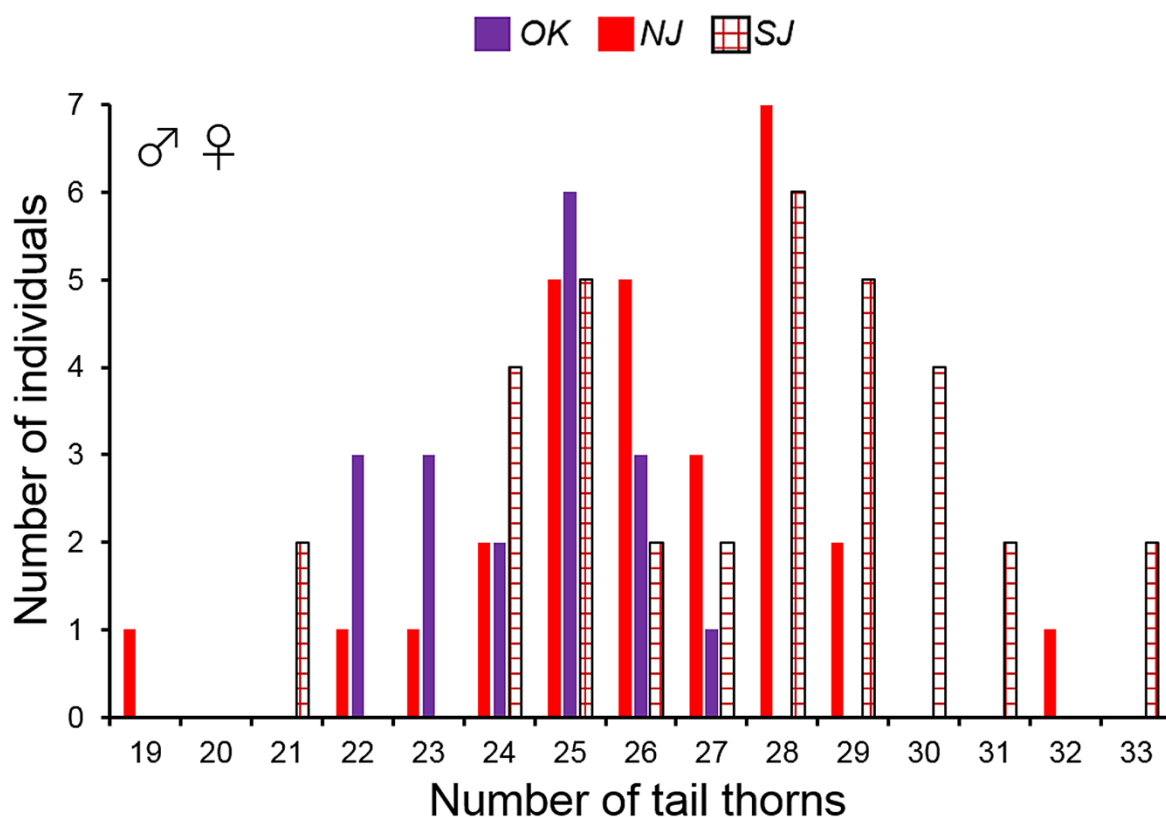


Fig. 4-8 Tail thorn numbers of *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

雄個体の成熟サイズについて、成熟の指標となる交接器の伸長を Fig. 4-9 に示した。本種においても交接器の伸長は S 字曲線を示し、交接器長が全長の 20%以上の個体には骨化が不完全なものもみられたが、全ての個体で翼棘をもち、交接器もおおむね完成していたため、ここでは成熟個体として扱った。成熟個体数が少ないことから検定はできなかったが、オホーツク海の雄個体における成熟サイズは全長約 970–1100 mm (平均 1031 mm, 標準偏差 42 mm), 日本海北部では 980–1100 mm (平均 1014 mm, 標準偏差 40 mm), 日本海南部では 970 mm (平均 974 mm, 標準偏差 2 mm) と 3 海域でほぼ同様であり、海域間で差異はないものと考えられた。

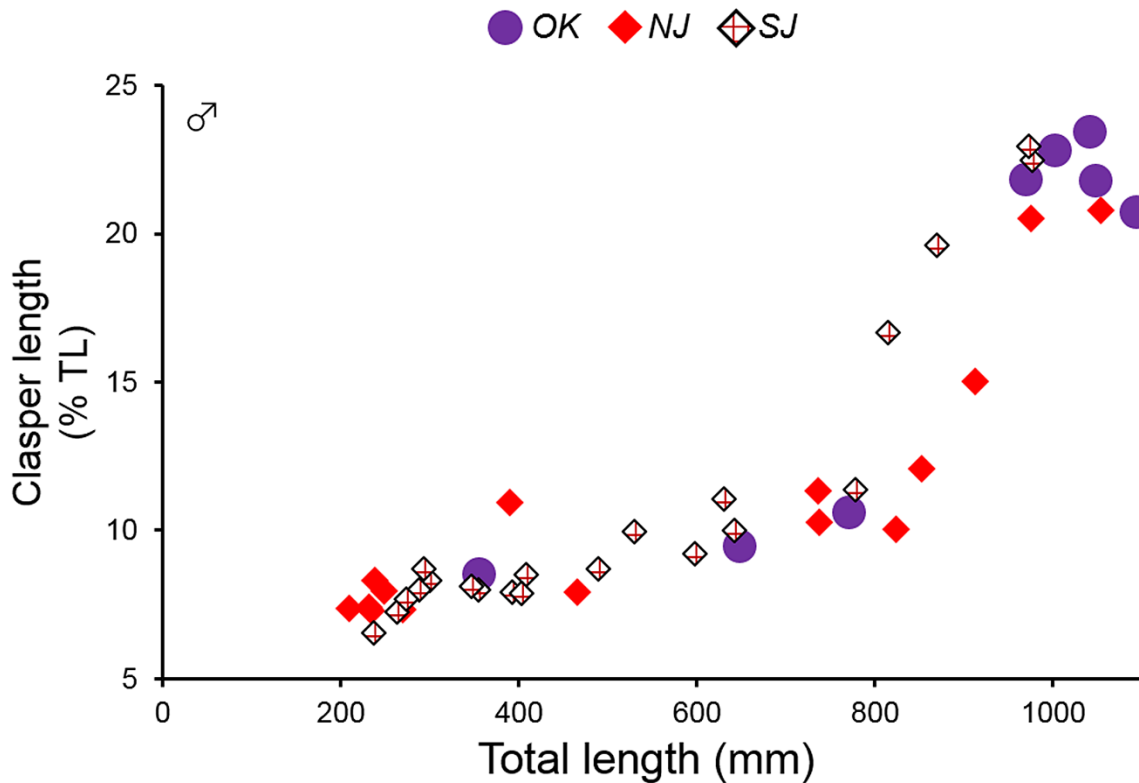


Fig. 4-9 Plots of clasper length in males (in % of total length) of *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

生鮮時の色彩について、典型的な体色を Fig. 4-10 に示した。本種においては色彩にいくつかのバリエーションが認められ、斑紋が全くない個体 (Fig. 4-10 D)、体盤のやや後方に 1 対の白色もしくは暗色斑をもつ個体 (Fig. 4-10 B, H, I)、小黑点が散在し、虫喰い状の斑紋をもつ個体 (Fig. 4-10 A, F, G)、不明瞭な円形淡色斑をもつ個体 (Fig. 4-10 E, H)、小白色点が散在する個体 (Fig. 4-10 C, I) などが確認されたが、海域で固有な色彩は確認されなかった。

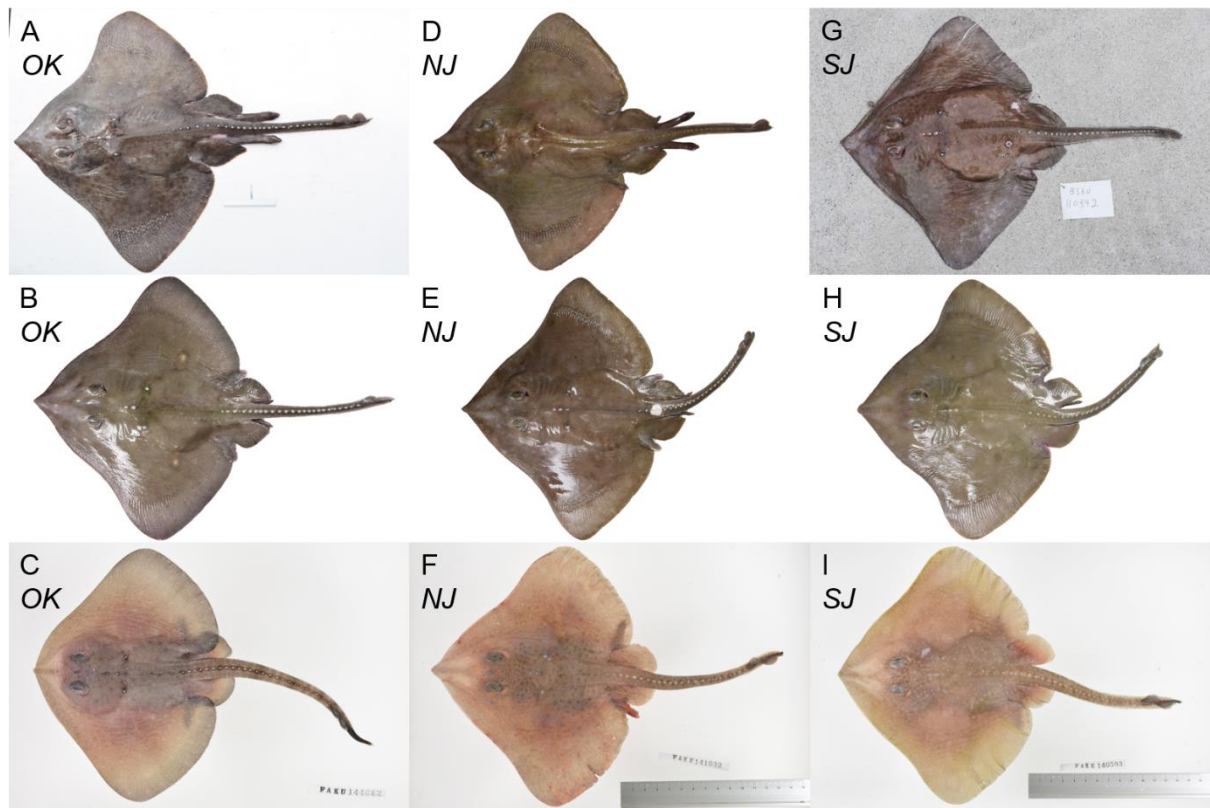


Fig. 4-10 Typical coloration in fresh condition of *Bathyraja smirnovi* from five sampling areas. (A) FAKU 137702, 1094 mm TL, adult male, Hokkaido, Sea of Okhotsk, (B) FAKU 144678, 771 mm TL, immature male, Hokkaido, Sea of Okhotsk, (C) FAKU 144682, 244 mm TL, juvenile female, Hokkaido, Sea of Okhotsk, (D) FAKU 139874, 1054 mm TL, adult male, Akita, northern Sea of Japan, (E) FAKU 138527, 852 mm TL, immature male, Hokkaido, northern Sea of Japan, (F) FAKU 141032, 292 mm TL, young female, Niigata, northern Sea of Japan, (G) BSKU 110392, 988 mm TL, adult female, Shimane, southern Sea of Japan, (H) FAKU 139109, 630 mm TL, immature male, Shimane, southern Sea of Japan, (I) FAKU 140593, 300 mm TL, young female, Shimane, southern Sea of Japan

4.4 考察

集団構造 ドブカスベにおいて、遺伝的分析の Φ_{ST} 値の有意性から、オホーツク海と日本海北部・日本海南部の間で遺伝子流動が制限されていることが示唆された (Table 4-2). さらに、形態的にもオホーツク海と日本海の間で差異が確認され (Figs. 4-5-4-8 ; Tables 4-6-4-7) 遺伝的分析の結果を支持した. 以上のことから、本種は少なくとも、オホーツク海集団と日本海 (北部および南部を含む) 集団の 2 地域集団を含むものと考えられた.

オホーツク海と日本海での集団の分化要因について考えると、オホーツク海と日本海の間には宗谷海峡 (水深約 60 m) が存在し、通常 200 m 以深の深海に生息する本種にとって移動を制限する障壁となることが考えられる. 本種は日本の太平洋沿岸には分布しない (例えば, Ishiyama, 1967 ; 石原, 1990) ことを考慮すると、オホーツク海集団と日本海集団は宗谷海峡を通してのみ交流することができると考えられる. とくに宗谷海峡は最終氷期中の大部分は陸橋化していたと考えられ (例えば Sakuma et al., 2014), この氷期にはとくに集団の分化が促進されたと考えられる. このようなオホーツク海と日本海での集団の分化はノロゲンゲやマツバラゲンゲ, アバチャンなどの他の魚類においても確認されている. (Kodama et al., 2008; Sakuma et al., 2014; Tohkairin et al., 2016). また, サケビクニン複合種群 *Careproctus rastrinus* species complex としてまとめられる近縁種のうち, オホーツク海に分布するサケビクニン *C. rastrinus* と日本海に分布するザラビクニン *C. trachysoma* のように分布域が分かれる種も知られる (Kai et al., 2011 ; Orr et al., 2015a). 本種や上記の種では生活史を通して浮遊期がなく集団分化が明確であることに対して, 浮遊期をもつコブシカジカ属魚類 *Malacocottus* においてはオホーツク海と日本海の間で集団の分化はみられないことから (Adachi et al., 2009), 浮遊期の有無がオホーツク海と日本海間の集団や種の分化に大きく寄与すると考えられる.

一方, ハプロタイプは Bs1 のようにこの 2 集団で大部分が共有されていることや (Fig. 4-2), 多次元尺度構成においてプロットが部分的に重複すること (Fig. 4-3), Φ_{ST} 値 (Table 4-2) や分子分散分析 (Table 4-3) の結果から分化の程度は低いこと, 形

態的にも両集団は明確には区別されなかったことから、オホーツク海と日本海集団間の交流は完全には分断していないと考えられる。とくに、Bs2 とその周辺のハプロタイプは日本海集団に固有で、オホーツク海集団からは確認されなかったこと (Fig. 4-2), 28 本以上の尾部棘は日本海に固有でオホーツク海集団にはみられなかったことから (Fig. 4-8), 移動には方向性があり, 日本海側からオホーツク海側への移動は制限されるが, この逆の移動は可能であると考えられる。この仮説は本種の分布水深と水温からも説明可能である。本研究にて確認された本種の標本の採集水深を Fig. 4-11 に示した。オホーツク海では 200 m 以浅, 水深 100 m 程度からも標本が採取されていることに対して, 日本海においては 200 m 以深からのみ採集されている。オホーツク海の標本の大部分は 2015 年から 2018 年の 4 月に採集されたもので, 採集時の底水温は $-0.5-4.3^{\circ}\text{C}$ の範囲 ($1.8 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$) と低い値であり, 特に 4 月は表層水温も極めて低い [標本採集時の海面水温は $-2.8-1.8^{\circ}\text{C}$ ($0.2 \pm 1.2^{\circ}\text{C}$)]. したがって, このようなオホーツク海の寒冷な海水温が本種の浅海への移動を可能とするとともに日本海側への進入を助けると考えられる。実際, 北海道沿岸のオホーツク海においては水深 50 m からの採集記録もある (HUMZ 90682, Orr et al., 2011)。日本海において, 水深 200–300 m 以深は日本海固有水と呼ばれる $0-1^{\circ}\text{C}$ 程度の冷たく均一な水塊が占めるとされ (蒲生, 2016), 日本海における本種の生息水温もこれと同程度であると考えられる。一方, 日本沿岸の日本海浅海域において, 年間を通して 100 m 深の表層水温は北海道北部の天売島付近まで 5°C を保つ (気象庁, 2018)。このことから, 日本海の 200 m 以浅の温暖な海水温が本種の日本海浅海域への移動およびオホーツク海への進入を制限している可能性が考えられる。

以上のように, 本種の集団構造に関しては海流による影響ではなく, 海峡および水温の影響が大きいことが示唆された。また, Φ_{ST} 値は最大でも 0.15 を下回り低い水準であり, 多次元尺度構成 (Fig. 4-3) および分子分散分析 (Table 4-3), 主成分分析 (Fig. 4-5) の結果からも海域間での遺伝的・形態的な分化はコモンカスベやメガネカスベほど明確ではなく, 集団構造もより広い空間スケールで形成されていると推測された。

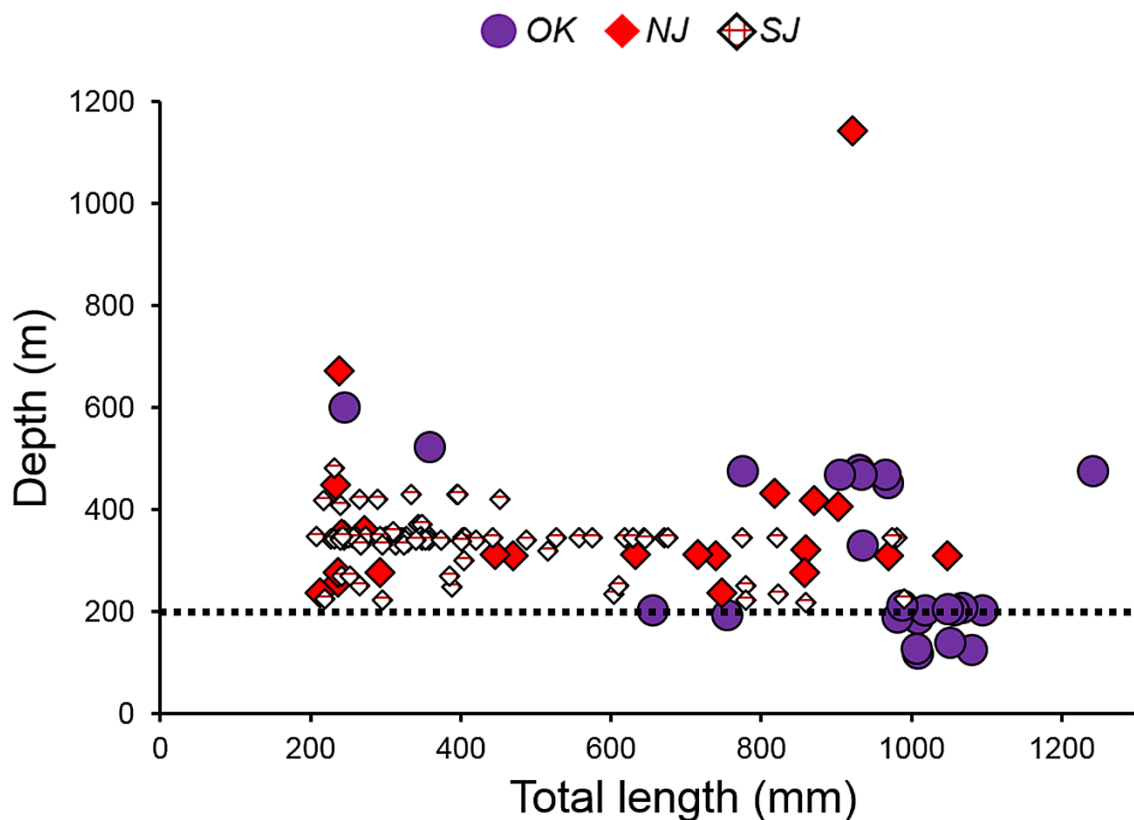


Fig. 4-11 Relationship between depth distribution and total length in *Bathyraja smirnovi* from three sampling areas. Abbreviations of sampling areas are shown in Table 4-1

なお、Ishiyama (1958) は日本海とオホーツク海の側所的に分布する本種の 2 亜種は尾部長によって区別されるとしており、日本海のアncasベでは長い（全長の約 46%）、オホーツク海のドブカスベでは短い（全長の約 47%）ことを示唆しており、本研究の結果と一致した (Fig. 4-6 C, Table 4-7). 本研究の遺伝的分析の結果も考慮すると、Ishiyama (1958) が提唱したアncasベとドブカスベの 2 亜種は互いに区別し得る地域集団の可能性が考えられることから、今後この 2 亜種の有効性について再検討する必要がある。また、Orr et al. (2011) は北緯 40 度（秋田県男鹿半島付近）を境界として日本海の南北を区別し、南部の個体では北部の個体よりも項部や尾部の棘数が少ないことを示唆した。しかし、本研究の結果からは、日本海内での遺伝的・形態的な差異は認められなかった。さらに、統計的には有意ではなかったが、本研究の結果では日本海南部の個体の方が北部の個体よりも項部および尾部の棘数は多い傾向がみられ (Figs. 4-7, 4-8), これらの棘の数はオホーツク海から日本海の南部にかけて、す

なわち高緯度から低緯度にかけて増加していくジョルダンの法則 (Jordan, 1892) の逆を示すものかもしれない。以上のことから, Orr et al. (2011) によって示唆されていた結果は, 前述のように富山湾以南の標本を検討していないこともあり, 局所的な形態変異を地理的変異として捉えていた可能性が考えられる。

遺伝的多様度と集団動態 本種における COI の遺伝的多様度は, ハプロタイプ多様度 ($h=0.4473$), 塩基多様度 ($\pi=0.0013$) とともに低いことが明らかになった (Table 4-1)。これまでの章で述べてきたように, 軟骨魚類では他の脊椎動物と比較して mtDNA の塩基置換速度が遅いことから遺伝的多様度は低くなると考えられたが (Martin et al., 1992 ; Martin, 1999), この値はメガネカスベ ($h=0.7273$, $\pi=0.0031$) と比較しても著しく低い値であった。本研究においては, ドブカスベの COI における遺伝的多様度は低いながらも日本海に固有なハプロタイプが検出されたことや (Fig. 4-2), オホーツク海と日本海間での有意な Φ_{ST} 値 (Table 4-2) から, COI は本種の集団構造を推定するために十分な変異を有していると考えられた。本種とメガネカスベの COI における遺伝的多様度の違いは, 両者の塩基置換速度の差異も要因として考えられるため (3.4 考察の遺伝的多様度と集団動態を参照), 今後検証の必要がある。なお, 数個体について予備的に mtDNA の cytochrome *b* (*cytb*) 領域の部分塩基配列 (630 bp) も決定したが, この領域については COI よりも変異が少なく, 海域間で差異もみられなかった。通常, 多くの魚類では *cytb* の方が COI よりも進化速度が早いと言われているが (例えば, Yu et al., 2005 ; Sakuma et al., 2014b), 本種ではそれにあてはまらないことが示唆された。

本種の集団動態について, オホーツク海集団は遺伝的多様度が比較的 low (Table 4-1), ハプロタイプネットワークは Bs1 を中心とした星状で (Fig. 4-2), ミスマッチ分布図が L 字型の分布を示したことから (Fig. 4-4 OK), 過去に集団サイズが急激に小さくなり, その後回復した可能性が示唆された。これは SSD の値から集団拡大モデルからの有意な逸脱が示唆されたことや θ_1 値が高いこと, Tajima's *D* と Fu's *F_s* の 2 種の中立性検定が有意に負の値であった (Table 4-4) ことからこの仮説は支持されるものと考えられる。オホーツク海南部は氷期に海面が氷床に覆われていたこと, 氷期中は成層化のために生物生産が低く, 底生生物相に影響を与えたことが示唆されてお

り (Shiga and Koizumi, 2000 ; Gorbarenko et al., 2002 ; Narita et al., 2002), 本種もその影響を受けていた可能性がある。また, オホーツク海の深海底生性魚類, 例えばマツバラゲンゲにおいても最終氷期を含む長期間安定した個体群を維持してきたとされるが, 近年急速にその集団サイズが縮小したことが示唆されている (Sakuma et al., 2014)。現在のオホーツク海南部の海洋環境は約 8,000 年前と比較的近年に成立したとしており (Okazaki et al., 2005), マツバラゲンゲにおいてはこの環境変動が集団サイズの縮小に影響していると推測されている (Sakuma et al., 2014)。本種の集団動態に関しては年代推定ができていないことからマツバラゲンゲとの直接的な比較はできないが, マツバラゲンゲの集団動態と逆位相の関係にある可能性も考えられ, 両者の好適環境の違いを反映したものかもしれない。

日本海北部および南部から構成される日本海集団はハプロタイプネットワークにおいて Bs1 と Bs2 の 2 つの中心的なハプロタイプをもつダンベル型の構造をもち (Fig. 4-2), ミスマッチ分布図が二峰型の分布を示したこと (Fig. 4-4 *NJ*, *SJ*) から, 過去の集団縮小および, オホーツク海集団との二次的接触が示唆された。これまでも述べてきたように, 最終氷期における日本海の環境変動 (Oba et al., 1991 ; Tada et al., 1999) は深海性の本種に対して大きな影響があったと考えられ, 個体数の減少が起こった可能性は高い。さらに, 上述のように, 遺伝的・形態的特徴からもオホーツク海から日本海への移動が示唆されており, 日本海での二次的な接触があった可能性が高いと推定される。とくに, 尾部棘数の頻度分布において 2 箇所ピークをもつこと (Fig. 4-8), すなわち, オホーツク海型と日本海型の二つの形態型の個体が日本海の北部・南部において同所的にみられることや, 日本海集団の遺伝的多様度はオホーツク海集団よりも高いこと (Table 4-1) から二次的接触の存在を強く支持すると考えられる。

本種では遺伝的・形態的にオホーツク海集団, 日本海の南部・北部から構成される集団 (= 日本海集団) の 2 地域集団に区別されたため, これらを管理単位 (Management units) として資源管理を行う必要があると考えられる。とくに, 本種の遺伝的多様度はいずれの地域集団においても低く, 過去のボトルネックの影響も示唆されたことや, 成熟開始年齢が高いと推測されることなどから, 慎重な資源管理が求められる。

第5章 総合考察

5.1 ガンギエイ目魚類の集団構造形成に関わる要因

これまで、ガンギエイ目魚類においては分布記録や比較解剖学的研究に基づいた種や属レベルでの生物地理について議論されてきた（例えば、Ishiyama, 1958；Hulley, 1972；Springer, 1982；Ishihara and Ishiyama, 1986；Stehmann, 1986；石原, 1990；Last and Yearsley, 2002）。しかし、本目魚類の種内構造に関する研究は、東部北大西洋や東部南太平洋ではいくつかあるものの、集団構造の形成に関与する要因については十分に考察されておらず、西部北太平洋においてはほとんど知見がなかった。また、種間での比較によって本目魚類における集団構造の形成要因を考察した研究はこれまでに東部南太平洋と東部北大西洋の2例4種が知られるのみであった（Vargas-Caro et al., 2017；Ferrari et al., 2018）。緒言にて述べたように、本目魚類ではその分散能力の低さから潜在的に種内に地理的集団構造を形成しやすいと想定される。本研究では、西部北太平洋におけるガンギエイ目の代表的な3種についての集団構造を明らかにできた。ここでは、これら3種の生態的特性と集団構造の形成パターンについて考察する。

体サイズとの関係 小型種のコモンカスベでは海域よりも狭い空間スケールで明確な集団構造を有していたことに対して、大型種のメガネカスベおよびドブカスベでは集団構造はより広い空間スケール（海域レベル）で、また集団分化の程度もコモンカスベほど明瞭ではないことが明らかになった。同様の例として、南米大陸沿岸における *Zearaja chilensis*（全長約1 m）と *Dipturus trachydermus*（全長約2 m）の遺伝的集団構造は、相対的に小さな前者の方がより狭い空間スケールでの集団構造をもつことが示唆されている（Vargas-Caro et al., 2017）。同様に、地中海における *Raja miraletus*（全長約40 cm）と *R. clavata*（全長約70 cm）の遺伝的集団構造では、相対的に小さな前者の方がより狭い空間スケールでの遺伝的集団構造をもつことが示唆されている（Ferrari et al., 2018）。また、北太平洋域における中型種 *Amblyraja radiata*（全長約1 m）の集団構造は広い空間スケールで、地域集団間の遺伝的分化の

程度も低いと推測されている (Chevolot et al., 2007). なお, ガンギエイ目魚類においては, 成熟に近い年齢から体サイズの成長は緩やかになり (例えば, 石原, 1990 ; Hara et al., 2017), 成熟サイズの違いは種としての体サイズの違いと捉えることができる. ガンギエイ目魚類では, 大型で付着性の卵殻卵を産出し, 発生の進んだ稚魚の段階で孵化するため, いずれの種においても生活史初期段階での分散はほとんどないものと考えられる. 本研究の結果から, より小さい体サイズ (成熟サイズ) の種で, より小さな空間スケールでの集団構造が確認できたことから, 体サイズが孵化後の分散能力, すなわち, 遊泳力とそれにもなう回遊範囲が関係している可能性が考えられた.

本目魚類の回遊生態については, 標識放流や衛星タグを用いた研究などからいくつかの例が知られている. 例えば, 東部北大西洋に分布し全長 1 m 以下の比較的小型種もしくは中型種である *Raja clavata*, *R. montagui*, *Amblyraja radiata* の 3 種では, 回遊範囲は多くの個体で 80 km もしくは 30 km 以内にとどまり, 非常に定住性が高いことが示唆されている (Walker et al., 1997). 一方, 東部北太平洋に分布し全長 1 m を越える大型種の *Beringraja binoculata* では, 75% の個体では放流場所から 21 km 以内の範囲で再捕されているが, 1,000 km を超える個体もしばしばみつかっており, 最も移動したものでは放流後から 2 年間で約 2,300 km も離れた場所で再捕された個体も存在した (King and McFarlane, 2010 ; Farrugia et al., 2016). 以上のことから, 小型種よりも大型種の方が長距離を回遊する能力を備えるものと推測される. 本研究で扱った 3 種については回遊生態がほとんど知られていないため, 今後, 標識放流やバイオロギングなどの手法からこれら 3 種の集団構造と回遊範囲の関係が明らかにされることが期待される.

また, 小型種と大型種では, 寿命の違いについても考慮する必要があるかもしれない. すなわち, 寿命が短い種では一生を通しての回遊範囲は狭くなるとともに, 他の地域集団への遺伝子流動の機会も少なくなることが予想されることから, 寿命の違いも本目魚類の集団構造の形成に影響する可能性が考えられる. 成熟サイズは成熟年齢や寿命とも関係があり, 小型種ほど成熟・寿命は早い／短いと考えられる (例えば, Sulikowski et al., 2005 ; Licandeo et al., 2006 ; Davis et al., 2007 ; Matta and

Gunderson, 2007 ; Arkhipkin et al., 2008 ; Perez-Brazen et al., 2011 ; Haas et al., 2016 ; Bellodi et al., 2017 ; Hara et al., 2017). しかし, ヒトツセビレカスベ科の *Bathyraja interrupta* のように, 冷水域に生息する種では成熟サイズが小さい場合でも成熟・寿命が遅い/長いことも知られる (例えば, Ainsley et al., 2011 ; Ainsley et al., 2014). 本研究で扱った3種の寿命については知見がほとんどないが, 狭い空間スケールでの集団構造を有し, 小型で温帯性のコモンカスベでは8歳程度であることが水族館の飼育記録から分かっている (鄭, 2018). 一方, 広い空間スケールでの集団構造を有し, 冷水性で大型のドブカスベでは16歳以上であると推定される (矢田ほか, 2009). 水族館の記録は断片的であり, また, 自然環境下とは異なる可能性は高いが, コモンカスベは他の2種より寿命が短い可能性が高い. 同様に, 比較的狭い空間スケールの集団構造をもつ *Raja clavata* と *Dipturus oxyrinchus* ではともに10歳程度 (Whittamore and McCarthy, 2005 ; Yigin and Ismen, 2010), 広い空間スケールでの集団構造をもつ *Amblyraja radiata* と *Dipturus trachydermus* では前者で16歳以上, 後者では25歳以上と推定されている (Sulikowski et al., 2005 ; Vargas-Caro et al., 2015). 以上のことから, 知見は少ないものの, 集団構造と年齢の間にも何らかの相関があることが示唆される.

海洋・海流構造との関係 浅海性であるコモンカスベとメガネカスベでは海峡などの海底地形よりも海流が集団構造の形成に影響するが, 深海性のドブカスベでは海流よりも海底地形が集団構造の形成に影響すると考えられた. 浅海性種のなかでも温帯性のコモンカスベでは対馬暖流流域とその他の場所での集団分化が顕著であり, とくに対馬暖流は分散に寄与することが示唆され, 一方では冷水性のメガネカスベでは対馬暖流が障壁として機能することが示唆された. 以上のことから, ガンギエイ目魚類において分布水深によって集団構造の形成に関わる要因が異なることが確認された. また, メガネカスベでは対馬暖流による分断, ドブカスベではオホーツク海と日本海で分布水深が異なること, すなわち, 表層が寒冷なオホーツク海では浅海域まで出現することに対して, 温暖な日本海では分布が200 m以深に限られるなど, 冷水性種では水温が分散や分布を制限する重要な要因であり, それぞれの好適水温も集団構造の形成要因として機能していると考えられる. さらに, 日

本海南部もしくは西部海域において、浅海性のコモナカスベとメガネカスベでは過去の急激な集団サイズの縮小は示唆されなかったが、深海性のドブカスベでは集団サイズの縮小が示唆された。同様に、オホーツク海において、メガネカスベでは比較的長期間安定した集団を維持してきたことに対して、ドブカスベにおいては集団サイズの縮小が示唆されたことから、集団動態においても生息水深の違いが反映されることが示唆された。

本目魚類における集団構造の形成に関わる要因については、いくつかの先行研究にて海峡や海盆などの海洋構造、海流構造や水温塩分などが関与する可能性が示唆されている。浅海性種では、*Raja clavata* の東部北大西洋および地中海における集団構造について、地域集団間の単純な地理的距離以外に、大陸棚の違いやジブラルタル海峡、地中海内の海盆やシチリア海峡などの海洋構造による隔離、アズレス海流や北大西洋海流などの海流構造や塩分分布など複数の要素が集団構造の形成要因として示唆されている (Chevolot et al., 2006 ; Pasolini et al., 2011 ; 黒田ほか, 2014 ; Ferrari et al., 2018)。また、*Zearaja chilensis* の東部南太平洋における集団構造や *Raja miraletus* の地中海における集団構造は、海洋構造よりも水温や塩分などが形成要因として示唆されている (Vargas-Caro et al., 2017 ; Ferrari et al., 2018)。これらの他、*Dipturus batis* species complex の 2 種 (学名未決定) はイギリス周辺の大陸棚にて、水温の分布によって分布域が分かれること、すなわち高水温域に南方型種が、低水温域に北方型種が分布することが示されている (Griffiths et al., 2010)。一方、深海性種では、*Dipturus oxyrinchus* の集団構造は東部北太平洋と地中海の間で隔離されていることが示唆されていることから (Griffiths et al., 2011)、ジブラルタル海峡によって隔離されていることが推測される。しかし、これらの先行研究は異なる地域で行われた研究であり、種間の比較が困難であること、実際の生息環境との比較が十分になされていないことなどから、本目魚類の集団構造形成に関わる要因について十分に考察されているとは言い難い。

本研究では、西部北太平洋という共通した海域において、生態的特性が異なる種間で集団構造を比較したことから、ガンギエイ目魚類の集団構造形成に関わる要因が明らかになり、集団分化のパターンを推測することができた。西部北太平洋域は

東シナ海や黄海，日本海，オホーツク海といった縁海が多く，複雑な海洋構造があり，さらに，黒潮や対馬暖流，親潮，リマン海流といった複雑な海流構造もみられ，これらの要因がこの海域における本目魚類の集団構造を特徴付けていると考えられる．今後は，世界の他の海域においてもこのようなアプローチから知見を蓄積することによって，本目魚類の集団構造の形成要因がより詳細になることが期待できる．

5.2 ガンギエイ目魚類の遺伝的多様性と保全方策への応用

遺伝的多様性は適応進化の原動力であり，種多様性の形成においても重要な要素である（例えば，松井・小池，2003）．遺伝的多様性が低い集団では短期的な進化は起こりにくく，すなわち，遺伝的多様性の低下は環境変化に対する適応力や，繁殖力と生存率の低下に繋がり，絶滅のリスクが高まる（Frankham et al., 2002）．また，遺伝的多様性は集団間の遺伝子流動が強く影響するため，集団内の遺伝的多様度に加えて，対象種の分散性や地域集団間の遺伝的分化も考慮して評価する必要がある（小池・松井，2003）．

ガンギエイ目魚類の遺伝的多様度で，本研究で扱った3種ともに種レベルのハプロタイプ多様度に対して塩基多様度が低いことが確認された．また，それぞれ遺伝的に区別される地域集団を有しており，いずれの種においても集団レベルではハプロタイプ多様度，塩基多様度ともに低いことが明らかになった．この傾向は他の本目魚類においても同様である（例えば，Chevolot et al., 2006；Im et al., 2017；Vargas-Caro et al., 2017；Ferrari et al., 2018）．これまでにも述べてきたように，多産／短命（*r*-戦略型）の他の魚類と比べて，本目を含む少産／長寿（*K*-戦略型）の軟骨魚類では共通して遺伝的多様度が低く，これはボトルネック後の集団サイズの回復が遅いこととも関係するかもしれない．この遺伝的多様性の低さという点については本目魚類の資源管理・保全方策を進めるうえで十分に留意する必要がある，単純な資源量の増減だけでなく，遺伝的多様性についてのモニタリングも重要であると考えられる．本研究ではそれぞれ mtDNA の単一の部分領域のみを対象としているが，より

正確な遺伝的多様性の把握には、mtDNAとは異なる遺伝様式をもつ核DNAなどを用いて評価する必要もある。

さらに、本研究では、ガンギエイ目魚類におけるmtDNAの塩基置換速度について特筆すべき点が明らかになった。mtCRはタンパク質をコードしない非コード領域で、塩基置換速度が早いことから種内の多型が検出しやすいことに対して、タンパク質をコードするCOIでは種内での保存性が高いことからおもに種同定に用いられ、一般的に前者の方が進化速度は早いと考えられている (Ward et al., 2005, 2007, 2009 ; 小北, 2018)。一方、本研究では、コモンスベのmtDNAにおける塩基置換速度はCOIよりもmtCRの方が早かったが、メガネカスベにおいては逆にCOIの方が早いという結果となった。コモンスベとメガネカスベは同じガンギエイ科に属するが、同一の科内においてもmtDNA各領域の進化速度の変異が大きいと考えられる。同様に、地中海においてほぼ同所的に生息する2種のガンギエイ科魚類 *Raja miraletus* と *R. clavata* において、前者ではCOIよりmtCRの方が塩基置換速度は早く、後者では逆にCOIの方が早いことが明らかになっている (Ferrari et al., 2018)。また、ドブカスベのmtCRについてはガンギエイ科魚類で設計されたプライマーが合わず、PCRにて増幅が確認できなかったことから、同じガンギエイ目魚類においてもmtCRの配列は変異が大きいことが考えられる。ドブカスベにおける塩基置換速度は *cytb* よりもCOIの方が早かったが、Smith et al. (2008) の報告では、南極大陸沿岸に生息する13種のソコガンギエイ属 *Bathyraja* の *cytb* は、逆にCOIよりも約1.5-3倍塩基置換速度が早いことが示唆されている。また、Spies et al. (2006) はアラスカ産のソコガンギエイ属のDNAバーコーディングを進めた際に、属内の種間の遺伝的距離に大きな変異があることを報告している。また、軟骨魚類の極めて遅い塩基置換速度は軟骨魚類の低い代謝との関係が示唆されているが、その詳細については明らかになっていない (Martin et al., 1992 ; Martin, 1999)。以上のようにガンギエイ目を含む軟骨魚類のmtDNAにおける進化速度については不明な点が多く、遺伝的多様性の評価には種ごとに適切な領域を選択する必要があると言える。

ガンギエイ目魚類は遺伝的多様度が低い傾向にあるだけでなく、K-戦略型の生活史であることから漁獲圧に対して脆弱であり、資源管理と適切な保全方を設定す

ることが重要になってくると考えられる。したがって、本研究で明らかになったそれぞれ区別可能な地域集団を管理単位 (Management units) として漁獲情報や資源状態のモニタリング、保全を行うことが望ましい。また、ミスマッチ分布解析などからそれぞれの地域集団ごとに集団形成史も異なっていることが確認された。とくに、日本海や黄海は、過去の氷期における海水準低下の影響を受け、遺伝的多様度が他の海域に比べると低い傾向がみられた。遺伝的多様度は歴史的背景によっても影響を受けるため、コモンカスベの黄海集団と日本海北部集団、メガネカスベの黄海集団などについてはより慎重なモニタリングが必要であろう。とくに、メガネカスベの保全状況は芳しくないが (Jo et al., 2011)、韓国は積極的に漁獲していることから、本種の日本海西部集団と黄海集団の保全は喫緊の課題であり、漁獲量の制限も必要となるかもしれない。また、本研究で扱った3種のなかには、コモンカスベの大阪湾集団と東北太平洋岸集団、メガネカスベの日本海西部集団のように局所的に分布し、遺伝的多様度が極めて低い集団も確認された。これらの集団では遺伝的多様性の崩壊や地域集団の絶滅のリスクが高いことからとくに注意が必要であり、慎重な資源管理・保全が求められる。

さらに、西部北太平洋に出現する他のガンギエイ目魚類の資源管理・保全については、本研究を応用できる可能性がある。例えば、コモンカスベと同属で南日本の東シナ海、日本海、太平洋の浅海に分布する小型種のもヨウカスベ *Okamejei acutispina* やメダマカスベ *O. meerdervoortii* においては管理単位としてこれら3海域を区別すること、ドブカスベと同属でオホーツク海と東北太平洋の深海に分布する大型種のマツバラエイ *Bathyraja matsubarai* では管理単位としてこの2海域を区別することで、今後の効果的な資源管理に繋がると考えられる。

以上のように、ガンギエイ目魚類はその生態的特性により遺伝的集団構造のパターンが異なること、また遺伝的多様度まで含めた資源管理や保全には過去の歴史的背景まで考慮する必要性が明らかとなった。今回の研究をもとに、さらに具体的な管理単位の設定のためには、実際の回遊生態や産卵場の特定など、生態的特徴の解明も重要になってくるであろう。

要約

1. 緒言

ガンギエイ目魚類は底生性の軟骨魚類で、広く食用として利用されている。軟骨魚類は少産・長寿の K-戦略型の生活史戦略をもつため、乱獲や混獲に対して脆弱であり、いくつかの種においては絶滅の危機に瀕している。そのため、本目を含む軟骨魚類の保全については世界的な議論が続いている。適切な資源管理・保全方策を行うためには対象種の集団構造や遺伝的多様性の把握が重要である。本目魚類は付着性で大型の卵殻に包まれた胚を海底に産み付けること、胎仔は卵殻内で十分に成長して自由生活ができる姿で孵化するため生活史初期に浮遊期がないこと、底生生活に適応しており普段は活発に遊泳しないことから、その分散能力は低く、分布域内で何らかの集団構造を有する可能性が高い。しかし、本目魚類の集団構造や遺伝的多様性についての知見は乏しい。本研究では西部北太平洋に出現し、それぞれ生息環境や成熟サイズが異なる 3 種のガンギエイ目魚類（コモンカスベ、メガネカスベ、ドブカスベ）を対象に、主要な分布域を網羅して、ミトコンドリア DNA を対象とした遺伝的分析と、外部形態の計測形質、項部や尾部の肥大棘数、成熟サイズ、色彩の比較を含む形態解析から、その集団構造、遺伝的多様性や集団動態を推定した。これらの結果とこれまでの先行研究の知見を併せて、本目魚類の集団構造形成に関わる要因を考察するとともに、本目魚類の資源管理・保全方策への応用について検討することを目的とした。

2. 浅海・温帯性小型種コモンカスベの集団構造

ガンギエイ科のコモンカスベ *Okamejei kenojei* は北海道以南から台湾までの温帯域を中心に各地の浅海に分布し、全長 50 cm 程度の小型種である。本種は東北太平洋岸に出現するクロカスベ *Raja fusca* と、クロカスベの分布域以外に出現するコモンカスベの 2 種に分類されていたこともあり、地理的集団の存在が示唆されている

(Ishiyama, 1958 ; Ishiyama, 1967 ; Ishihara, 1987)。ミトコンドリア DNA の調節領域 597 bp を対象とした 194 個体の遺伝的分析の結果、本種には東シナ海、黄海、日本

海南部，日本海北部，九州東岸，大阪湾，東北太平洋岸の7地域集団が認められ，各海域での狭い空間スケールでの集団構造が確認された．確認された全14種類のハプロタイプのうち10種類は単一の海域からのみから確認され，これらの海域固有なハプロタイプは51%と高い頻度で確認された．遺伝的分化を示す Φ_{ST} 値も0.097–0.972と高い値を示し，明確に分化した集団であることが認められた．さらに，地域集団の地理的階層性を明らかにする分子分散分析の結果から，対馬暖流流域（東シナ海+黄海+日本海南部+日本海北部+東北太平洋岸）とその他の海域（九州東岸+大阪湾）の2つのグループに分けられること示唆された（グループ間の変異は全体の変異の約69%を占めた）．また，黄海，日本海北部，大阪湾，東北太平洋岸の4集団は遺伝的多様性が低いこと，もしくは過去のボトルネックの影響が示唆された．212個体を用いた形態解析の結果も遺伝的分析から推定された地域集団の分化をおおむね支持し，計測形質以外に項部棘数，成熟サイズ，色彩に海域間での差意が認められた．このうち，東北太平洋岸集団は遺伝的分化に対して形態的分化がより顕著であるという特徴がみられ，「創始者効果」と呼ばれる現象であると考えられ，先行研究にて示唆されていた“クロカスベ”は本種の地域集団の1つであることが確認された．本種の集団構造は明確で狭い空間スケールであること，対馬暖流は分散に寄与していることが示唆された．

3. 浅海・冷水性大型種メガネカスベの集団構造

ガンギエイ科のメガネカスベ *Beringraja pulchra* は北海道全沿岸，青森県から島根県の日本海沿岸，青森県から千葉県銚子までの太平洋沿岸，中国の東シナ海・黄海沿岸，朝鮮半島全沿岸，そしてロシアのサハリンからピーター大帝湾の日本海沿岸に分布する．おもに浅海の冷水域に出現し，全長1mを越える大型種である．本種はIm et al. (2017) の研究によって，朝鮮半島の黄海と日本海沿岸の2地点では遺伝的・形態的に異なる集団が存在することが示唆されている．ミトコンドリアDNAのCOI領域592bpを対象とした166個体の遺伝的分析の結果，本種には北海道（オホーツク海+太平洋+日本海沿岸を含む），日本海西部，黄海の3地域集団が認められ，やや広い空間スケールでの集団構造が確認された．確認された12種類のハプロタイ

プのうち6種類は単一の海域からのみ確認されたが、これらの海域固有なハプロタイプの頻度は5%と低かった。 Φ_{ST} 値も-0.015-0.524 とやや低い値を示し、集団の分化はそれほど明確ではなかった。さらに、分子分散分析の結果、黄海集団とそれ以外の集団の2グループでの分化が大きかったが（グループ間の変異は全体の変異の約40%を占めた）、有意な変異ではなかった。また、日本海西部集団は遺伝的多様性が低いこと、黄海集団は過去のボトルネックの影響が示唆された。計測形質に基づいた192個体の形態解析の結果も遺伝的分析から推定された地域集団の分化を支持したが、項部棘数や成熟サイズ、色彩には海域間で差異はみられなかった。また、日本海西部集団は遺伝的分化に対して形態的分化がより顕著で、水温等の生息環境の違いによる影響も考えられた。本種の集団構造はやや広い空間スケールであること、宗谷海峡のような浅海部による分断は確認されず、対馬暖流の温暖な水温が障壁となって黄海集団の分断が起きていることが示唆された。

4. 深海・冷水性大型種ドブカスベの集団構造

ヒトツセビレカスベ科のドブカスベ *Bathyraja smirnovi* はベーリング海西部からオホーツク海および日本海のほぼ全域に分布する。本種はおもに200 m以深の深海冷水域に分布し、全長1 mを越える大型種である。本種はオホーツク海に分布するドブカスベ *Raja smirnovi smirnovi* と日本海に分布するアンカスベ *R. smirnovi ankasube* の2亜種に分類されていたことがあり、集団構造の存在が示唆されていた

(Ishiyama, 1958 ; Ishiyama, 1967)。ミトコンドリア DNA の COI 領域 660 bp を対象とした95個体の遺伝的分析の結果、オホーツク海と日本海（北部と南部を含む）の2地域集団が認められ、やや広い空間スケールでの集団構造が確認された。確認された全10種類のハプロタイプのうち7種類は単一の海域からのみ確認されたが、これらの海域固有なハプロタイプの頻度は8%と低かった。しかし、北部と南部を含む日本海に固有なハプロタイプは4種類みられ、その頻度は20%とやや高かった。 Φ_{ST} 値も-0.023-0.149 とやや低い値を示し、集団の分化はそれほど明確ではなかった。さらに、分子分散分析の結果、オホーツク海と日本海間の変異が比較的大きく（グループ間の変異は全体の変異の約15%を占めた）、この2グループに分けられることが

支持されたが有意な変異ではなかった。また、オホーツク海集団では遺伝的多様性が低いこと、そして日本海北部と南部はともに過去のボトルネックの影響があることが示唆された。計測形質に基づいた80個体の形態解析の結果も遺伝的分析から推定された地域集団の分化を支持したが、解析に用いた標本の個体数が少ないこともあり、やや不明瞭な結果であった。一方、尾部肥大棘数ではオホーツク海と日本海の間で有意差がみられ、集団構造の存在を強く支持した。また、成熟サイズや色彩には海域間で差異はみられなかった。これらの結果から、先行研究にて示唆されていたオホーツク海と日本海に側所的に分布するとされた“ドブカスベ”と“アンカスベ”の2亜種の関係は異なる地域集団であることが確認された。本種の集団構造は広い空間スケールであること、対馬暖流のような海流の影響はみられず、海峡が障壁となってオホーツク海集団と日本海集団が分断されていることが示唆された。

5. 総合考察

本研究により、ガンギエイ目魚類の集団構造の形成には成熟サイズ (= 体サイズ) や生息環境などの生態的要因が大きく関わっていることが明らかになった。小型種 (コモンカスベ) では集団構造が狭い空間スケールであることに対して、大型種 (メガネカスベとドブカスベ) ではより広い空間スケールであった。これは体サイズによる遊泳力の違いや、小型種と大型種の寿命の違いによって、一生を通しての回遊範囲が異なり、地域集団間の交流頻度に差が生じることが原因であると考えられた。さらに、生息環境の違いによって集団構造の形成に関わる要因も異なり、浅海性種では海流が、深海性種では海底地形が主要因であると考えられた。今後は、標識放流やバイオロギング等の手法から実際の回遊生態と集団構造の関係について把握することが望まれる。また、本研究で明らかになった3種の集団構造や本目魚類の集団分化パターンをもとに、本目魚類の管理・保全単位を設定することで、より効果的な資源状態のモニタリングや、資源管理・保全方策の効果が期待できる。とくに、遺伝的多様性が低い、もしくは過去のボトルネックの影響が示唆された地域集団についてはより慎重な対策が求められる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、研究の機会を与えて下さり終始懇切なる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教授の山下 洋博士と同センター舞鶴水産実験所助教の甲斐嘉晃博士に深甚なる感謝の意を表します。また、常に親身に相談に乗って頂き、標本の観察や借用に関して便宜を図って頂いた高知大学理工学部教授の遠藤広光博士と、ガンギエイ目魚類の分類や分布に関して多くのご助言を賜りました株式会社 W&I アソシエーツの石原 元博士に深く感謝致します。そして、益田玲爾博士、鈴木啓太博士、澤田英樹博士、小倉良仁氏をはじめとした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の皆様と学生諸子には常日頃から研究にご協力頂くとともに、貴重な助言を賜りました。誠にありがとうございました。

また、本村浩之博士（鹿児島大学総合博物館）、松沼瑞樹博士（元 鹿児島大学水産学部、現 近畿大学）、中塚直征氏（長崎県水産試験場）、内田喜隆氏（山口県水産試験場）、向井哲也氏（島根県水産技術センター）、梅野洋司氏（島根県松江市）、佐々木邦夫博士、内藤大河氏、水町海斗氏（高知大学理工学部）、山川 武氏、朝岡隆博士（元 高知大学理学部）、漁業実習船但州丸の船長ならびに乗組員の皆様（兵庫県立香住高等学校）、京都府海洋センターの皆様と漁業調査船平安丸の船長ならびに乗組員の皆様、東海林 明博士（元 京都大学農学研究科、現 京都府海洋センター）、桶本英通氏（宮津エネルギー研究所水族館）、波戸岡清峰博士（大阪市立自然史博物館）、泉佐野漁協の皆様（大阪府泉佐野市）、木村清志博士（三重大学水産学部）、日比野友亮博士（元 三重大学水産学部）、坂井恵一博士（石川県のと海洋ふれあいセンター）、池口新一郎氏（元 のとじま水族館、現 新潟市水族館）、上田祐司博士、藤原邦浩博士、佐久間 啓博士、吉川 茜氏、漁業調査船みずほ丸の船長ならびに乗組員の皆様（日本海区水産研究所）、長崎正夫氏をはじめとした新潟県筒石漁協の皆様（新潟県糸魚川市）、中山直英博士（元 高知大学理学部、現 東海大学海洋学部）、福井 篤博士、高見宗広博士（東海大学海洋学部）、瀬能 宏博士（神奈川県生命の星・地球博物館）、清水勇吾博士（中央水産研究所）、海洋調査

船第五開洋丸の船長ならびに乗組員の皆様（海洋エンジニアリング株式会社），松浦啓一博士，篠原現人博士，中江雅典博士，斎藤 寛博士（国立科学博物館動物研究部），佐藤 崇博士，千葉 悟博士，片山英里博士（元 国立科学博物館動物研究部），今泉智人博士，漁業調査船たか丸の船長ならびに乗組員の皆様（水産工学研究所），望月利彦氏，金高卓二氏（アクアワールド大洗），鈴木 聡氏（福島県水産試験場），成松庸二博士，八谷三和博士，漁業調査船若鷹丸の船長ならびに乗組員の皆様（東北区水産研究所），服部 努博士，矢野寿和博士（元 東北区水産研究所），近藤真一氏（岩手県宮古市），野口大悟氏（山形県水産試験場），甲本亮太博士（秋田県水産振興センター），濱津友紀博士，山下夕帆博士，漁業調査船北光丸の船長ならびに乗組員の皆様（北海道区水産研究所），武藤望生博士（東海大学生物学部），小出利明氏（北海道釧路市），仲谷一宏博士，矢部 衛博士，今村 央博士，田城文人博士（北海道大学水産学部），櫻井慎大博士，佐々木嘉子博士，荻本啓介氏（元北海道大学水産学部），金 眞久博士（釜慶大学海洋生物学部），K. P. Maslenikov 氏（ワシントン大学），J. W. Orr 博士，D. E. Stevenson 博士（アメリカ大気海洋局），A. Orlov 博士，S. Orlova 博士，I. Gordeev 博士（ロシア漁業海洋研究所），A. V. Balushkin 博士（ロシア科学アカデミー動物学研究所），M. F. W. Stehmann 博士（ハンブルク水産研究所）をはじめとした多くの方々には貴重なご意見を頂いたほか，標本の採集や組織サンプルの提供，標本の観察および借用，文献の入手にご尽力頂いたことに深謝致します。

引用文献

- Adachi, T., S. Hagihara, M. Itoh, G. Shinohara, I. Hayashi and S. Kojima. 2009. Genetic population structure and morphological characters of Japanese psychrolutids of genus *Malacocottus* (Scorpaeniformes: Psychrolutidae). *Ichthyol. Res.*, 56: 323–329.
- Ainsley, S. M., D. A. Ebert and M. Cailliet. 2011. A comparison of reproductive parameters of the Bering skate, *Bathyraja interrupta*, from two Alaskan large marine ecosystems. *Mar. Freshw. Res.*, 62: 557–566.
- Ainsley, S. M., D. A. Ebert, L. J. Natanson and M. Cailliet. 2014. A comparison of age and growth of the Bering skate, *Bathyraja interrupta* (Gill and Townsend, 1897), from two Alaskan large marine ecosystems. *Fish. Res.*, 154: 17–25.
- Akihito, A. Fumihito, Y. Ikeda, M. Aizawa, T. Makino, Y. Umehara, Y. Kai, Y. Nishimoto, M. Hasegawa, T. Nakabo and T. Gojobori. 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.
- 尼岡邦夫・仲谷一宏・矢部 衛. 2011. 北海道の全魚類図鑑. 北海道新聞社, 札幌. 482 pp.
- Antonenko, D. V., S. F. Solomatov, A. A. Balanov, K. S. Tok and P. V. Kalchugin. 2011. Occurrence of skate *Raja pulchra* (Rajidae, Rajiformes) in Russian waters of the Sea of Japan. *J. Ichthyol.*, 51: 426–431.
- Arkhipkin, A. I., N. Baumgartner, P. Brickle, V. V. Laptikhovskiy, J. H. W. Pompert and Z. N. Shcherbich. 2008. Biology of the skates *Bathyraja brachyurops* and *B. griseocauda* in waters around the Falkland Islands, Southwest Atlantic. *ICES J. Mar. Sci.*, 65: 560–570.
- Avice, J. C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 447 pp.
- Baeck, G. W., C.-I. Park, H. C. Choi, S.-H. Huh and J. M. Park. 2011. Feeding habitats of ocellate spot skate, *Okamejei kenojei* (Müller & Henle, 1841), in coastal waters of Taean, Korea. *J. Appl. Ichthyol.*, 27: 1079–1085.

- Begg, G. A., K. D. Friedland and J. B. Pearce. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fish. Res.*, 43: 1–8.
- Bellodi, A., C. Porcu, R. Cannas, A. Cau, M. F. Marongiu, A. Mulas, S. Vittori and M. C. Follesa. 2017. Life-history traits of the long-nosed skate *Dipturus oxyrinchus*. *J. Fish Biol.*, 90: 867–888.
- Benjamins, S., J. Dodd, J. Thorburn, V. A. Milway, R. Campbell and D. M. Bailey. 2018. Evaluating the potential of photo-identification as a monitoring tool for flapper skate (*Dipturus intermedius*). *Aquat. Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.*, 2018: 1–14.
- Bester-van der Merwe, A. E., D. Bitalo, J. M. Cuevas, J. Ovenden, S. Hernández, C. da Silva, M. McCord and R. Roodt-Wilding. 2017. Population genetics of Southern Hemisphere tope shark (*Galeorhinus galeus*): Intercontinental divergence and constrained gene flow at different geographical scales. *PLoS ONE*, 129: e0184481.
- Bizzaro, J. J., A. B. Carlisle, W. D. Smith and E. Cortés. 2017. Diet composition and trophic ecology of Northeastern Pacific Ocean sharks. *Adv. Mar. Biol.*, 77: 111–148.
- Boeseman, M. 1979. Some remarks on the identity of the Japanese rays *Raja kenoei* Müller and Henle, 1841, and *Raja meerdervoortii* Bleeker, 1860. *Zool. Meded.*, 53: 273–281, 8pls.
- Bohonak, A. J. 1999. Dispersal, gene flow, and population structure. *Q. Rev. Biol.*, 74: 21–45.
- Brander, K. 1981. Disappearance of common skate *Raia batis* from Irish Sea. *Nature*, 290: 48–49.
- Cariani, A., S. Messinetti, A. Ferrari, M. Arculeo, J. J. Bonello, L. Bonnici, R. Cannas, P. Carbonara, A. Cau, C. Charilaou, N. E. Ouamari, F. Fiorentino, M. C. Follesa, G. Garofalo, D. Golani, I. Guarniero, R. Hanner, F. Hemida, O. Kada, S. L. Brutto, C. Mancusi, G. Morey, P. J. Schembri, F. Serena, L. Sion, M. Stagioni, A. Tursi, N. Vrgoc, D. Steinke and F. Tinti. 2017. Improving the conservation of Mediterranean chondrichthyans: The elasmomed DNA barcode reference library. *PLoS ONE*, 12: e0170244.
- Carvalho, G. R. and L. Hauser. 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Rev. Fish. Biol. Fish.*, 4: 326–350.
- Castro, A. L. F., B. S. Stewart, S. G. Wilson, R. E. Hueter, M. G. Meekan, P. J. Motta, B. W.

- Bowen and S. A. Karl. 2007. Population genetic structure of Earth's largest fish, the whale shark (*Rhincodon typus*). *Mol. Ecol.*, 16: 5183–5192.
- Catarino, D., D. Stanković, G. Menezes and S. Stefanni. 2017. Insights into the genetic structure of the rabbitfish *Chimaera monstrosa* (Holocephali) across the Atlantic-Mediterranean transition zone. *J. Fish Biol.*, 91: 1109–1122.
- Cedrola, P. V., A. M. González and A. D. Pettovello. 2005. Bycatch of skates (Elasmobranchii: Arhynchobatidae, Rajidae) in the Patagonian red shrimp fishery. *Fish. Res.*, 71: 141–150.
- Chabot, C. L. 2015. Microsatellite loci confirm a lack of population connectivity among globally distributed populations of the tope shark *Galeorhinus galeus* (Triakidae). *J. Fish. Biol.*, 87: 371–385.
- Chabot, C. L. and L. G. Allen. 2009. Global population structure of the tope (*Galeorhinus galeus*) inferred by mitochondrial control region sequence data. *Mol. Ecol.*, 18: 545–552.
- Chevolut, M., G. Hoarau, A. D. Rijnsdorp, W. T. Stam and J. L. Olsen. 2006. Phylogeography and population structure of thornback rays (*Raja clavata* L., Rajidae). *Mol. Ecol.*, 15: 3693–3705.
- Chevolut, M., P. H. J. Wolfs, J. Pálsson, A. D. Rijnsdorp, W. T. Stam and J. L. Olsen. 2007. Population structure and historical demography of the thorny skate (*Amblyraja radiata*, Rajidae) in the North Atlantic. *Mar. Biol.*, 151: 1275–1286.
- Clarke, M. W. 2009. Sharks, skates and rays in the northeast Atlantic: population status, advice and management. *J. Appl. Ichthyol.*, 25: 3–8.
- Daly-Engel, T. S., R. D. Grubbs, K. A. Feldheim, B. W. Bowen and R. J. Toonen. 2010. Is multiple mating beneficial or unavoidable? Low multiple paternity and genetic diversity in the shortspine spurdog *Squalus mitsukurii*. *Mar. Eco. Prog. Ser.*, 403: 255–267.
- Davidson, L. N. K., M. A. Krawchuk and N. K. Dulvy. 2016. Why have global shark and ray landings declined: improved management or overfishing?. *Fish and Fish.*, 17: 438–458.
- Davis, C. D., G. M. Cailliet and D. A. Ebert. 2007. Age and growth of the rougtail skate *Bathyraja trachura* (Gilbert 1892) from the eastern North Pacific. *Environ. Biol. Fish.*, 325–336.

- Dolgov, A. V., A. A. Grekov, I. P. Shestopal and K. M. Sokolov. 2005. By-catch of skates in trawl and long-line fisheries in the Barents Sea. *J. Northwest Atl. Fish. Sci.*, 35: 357–366.
- Domingues, R. R., C. C. Bruels, O. B. Gadig, D. D. Chapman, A. W. Hilsdorf and M. S. Shivji. 2018a. Genetic connectivity and phylogeography of the night shark (*Carcharhinus signatus*) in the western Atlantic Ocean: Implications for conservation management. *Aquat. Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.*, 2018: 1–14.
- Domingues, R. R., A. W. S. Hilsdorf and O. B. F. Gadig. 2018b. The importance of considering genetic diversity in shark and ray conservation policies. *Conserv. Genet.*, 19: 501–525.
- Domingues, R. R., A. W. S. Hilsdorf, M. M. Shivji, F. V. H. Hazin and O. B. F. Gadig. 2018c. Effects of the Pleistocene on the mitochondrial population genetic structure and demographic history of the silky shark (*Carcharhinus falciformis*) in the western Atlantic Ocean. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 28: 213–227.
- Dudgeon, C. L., D. C. Blower, D. Broderick, J. L. Giles, B. J. Holmes, T. Kashiwagi, N. C. Krück, J. A. T. Morgan, B. J. Tillett and J. R. Ovenden. 2012. A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. *J. Fish Biol.*, 80: 1789–1843.
- Dulvy, N. K., J. D. Metcalfe, J. Glanville, M. G. Pawson and J. D. Reynolds. 2000. Fishery stability, local extinctions, and shifts in community structure in skates. *Conserv. Biol.*, 14: 283–293.
- Dulvy, N. K. and J. D. Reynolds. 2002. Predicting extinction vulnerability in skates. *Conserv. Biol.*, 16: 440–450.
- Dulvy, N. K., S. L. Fowler, J. A. Musick, R. D. Cavanagh, P. M. Kyne, L. R. Harrison, J. K. Carlson, L. N. K. Davidson, S. V. Fordham, M. P. Francis, C. M. Pollock, C. A. Simpfendorfer, G. H. Burgess, K. E. Carpenter, L. J. V. Compagno, D. A. Ebert, C. Gibson, M. R. Heupel, S. R. Livingstone, J. C. Sanciangco, J. D. Stevens, S. Valenti and W. T. White. 2014. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife*, 3: e00590.
- Duncan, K. M., A. P. Martin, B. W. Bowen and H. G. De Couet. 2006. Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Mol. Ecol.*, 15: 2239–2251.

- Dyldin, Y. V. and A. M. Orlov. 2018. An annotated list of cartilaginous fishes (Chondrichthyes: Elasmobranchii, Holocephali) of the coastal waters of Sakhalin Island and the adjacent southern part of the Sea of Okhotsk. *J. Ichthyol.*, 58: 158–180.
- Ebert, D. A. and L. J. V. Compagno, 2007. Biodiversity and systematic of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). *Environ. Biol. Fish.*, 80: 111–124.
- Ebert, D. A. and M. F. W. Stehmann. 2013. FAO species catalogue for fishery purposes No. 7. Sharks, batoids and chimaeras of the north Atlantic. FAO, Rome. x+523 pp.
- Ebert, D. A. and J. A. Sulikowski, eds. 2008. *Biology of skates*. Springer Science and Business Media, Berlin, Germany. 243 pp.
- Excoffier, L. and H. E. L. Lischer. 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.
- Excoffier, L., P. E. Smouse and J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479–491.
- Farrugia, T. J., K. J. Goldman, C. Tribuzio and A. A. Seitz. 2016. First use of satellite tags to examine movement and habitat use of big skates *Beringraja binoculata* in the Gulf of Alaska. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 556: 209–221.
- Ferrari, A., F. Tinti, V. B. Maresca, A. Velonà, R. Cannas, I. Thasitis, F. O. Costa, M. C. Follesa, D. Golani, F. Hemida, S. J. Helyar, C. Mancusi, A. Mulas, F. Serena, L. Sion, M. Stagioni and A. Cariani. 2018. Natural history and molecular evolution of demersal Mediterranean sharks and skates inferred by comparative phylogeographic and demographic analyses. 2018. *Peer J.*, 6: e5560.
- Feutry, P., P. M. Kyne, R. D. Pillans, X. Chen, G. J. P. Naylor and P. M. Grewe. 2014. Mitogenomics of the spartooth shark challenges ten years of control region sequencing. *BMC Evol. Biol.*, 14: 1–9.
- Fowler, S. L., T. M. Reed. and F. Dipper, eds. 2002. *Elasmobranch Biodiversity, Conservation and Management: Proceedings of the International Seminar and Workshop, Sabah, Malaysia*,

- July 1997. IUCN SSC Shark Specialist Group, IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. xv+258 pp.
- Frankham, R., D. A. Briscoe and J. D. Ballou. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press.
- Fraser, D. J. and L. Bernatchez. 2001. Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Mol. Ecol.*, 10: 2741–2752.
- Fu, Y. W. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147: 915–925.
- 蒲生俊敬. 2016. 日本海 その深層で起こっていること. 講談社, 東京. 204 pp.
- Gorbarenko, S. A. and J. R. Southon. 2000. Detailed Japan Sea paleoceanography during the last 25 kyr: constraints from AMS dating and $\delta^{18}\text{O}$ of planktonic foraminifera. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, 156: 177–193.
- Gorbarenko, S. A., T. A. Khusid, I. A. Basov, T. Oba, J. R. Southon and I. Koizumi. 2002. Glacial Holocene environment of the southeastern Okhotsk Sea: evidence from geochemical and palaeontological data. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, 177: 237–263.
- Griffiths, A. M., D. W. Sims, S. P. Cotterell, A. E. Nagar, J. R. Ellis, A. Lynghammar, M. McHugh, F. C. Neat, N. G. Pade, N. Queiroz, B. S. Pereira, T. Rapp, V. J. Wearmouth and M. J. Genner. 2010. Molecular markers reveal spatially segregated cryptic species in a critically endangered fish, the common skate (*Dipturus batis*). *Proc. R. Soc. B*, 277: 1497–1503.
- Griffiths, A. M., D. W. Sims, A. Johnson, A. Lynghammar, M. McHugh, T. Bakken and M. J. Genner. 2011. Levels of connectivity between longnose skate (*Dipturus oxyrinchus*) in the Mediterranean Sea and the north-eastern Atlantic Ocean. *Conserv. Genet.*, 12: 577–582.
- Gubili, C., D. W. Sims, A. Veríssimo, P. Domenici, J. Ellis, P. Grigoriou, A. F. Johnson, M. McHugh, F. Neat, A. Satta, G. Scarcella, B. Serra-Pereira, A. Soldo, M. J. Genner and G. Scarcella. 2014. A tale of two seas: contrasting patterns of population structure in the small-spotted catshark across Europe. *Royal Society open science*, 1: 140175.
- Gwak, W. S. and K. Nakayama. 2011. Genetic variation and population structure of the Pacific

- cod *Gadus macrocephalus* in Korean waters revealed by mtDNA and msDNA markers. *Fish. Sci.*, 77: 945–952.
- Gwak, W.-S., Y.-D. Lee and K. Nakayama. 2015. Population structure and sequence divergence in the mitochondrial DNA control region of gizzard shad *Konosirus punctatus* in Korea and Japan. *Ichthyol. Res.*, 62: 379–385.
- Haas, D. L., D. A. Ebert and G. M. Cailliet. 2016. Comparative age and growth of the Aleutian skate, *Bathyraja aleutica*, from the eastern Bering Sea and Gulf of Alaska. *Environ. Biol. Fish.*, 99: 813–828.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp. Ser.*, 41: 95–98.
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper and P. D. Ryan. 2001. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4: 403–417.
- Han, Z.-Q., T.-X. Gao, T. Yanagimoto and Y. Sakurai. 2008. Deep phylogeographic break among white croaker *Pennahia argentata* (Sciaenidae, Perciformes) populations in Northwestern Pacific. *Fisher. Sci.*, 74: 770–780.
- Han, Z., T. Yanagimoto, Y. Zhang and T. Gao. 2012. Phylogeography study of *Ammodytes personatus* in Northwestern Pacific: Pleistocene isolation, temperature and current conducted secondary contact. *PLoS ONE*, 7: e37425.
- Hara, K., K. Furumitsu, T. Aoshima, H. Kanehara and A. Yamaguchi. 2018. Age, growth, and age at sexual maturity of the commercially landed skate species, *Dipturus chinensis* (Basilewsky, 1855), in the northern East China Sea. *J. Appl. Ichthyol.*, 34: 66–72.
- 波戸岡清峰・花崎勝司. 2017. 瀬戸内海産魚類標本目録. 大阪市立自然史博物館収蔵資料目録 第48集. 大阪市立自然史博物館, 大阪. 204 pp.
- 波戸岡清峰・山田梅芳・藍澤正宏・山口敦子・柳下直己. 2013. ガンギエイ目. 中坊徹次 (編), pp. 205–216, 1771–1773. 日本産魚類検索 全種の同定. 第3版. 東海大学出版会, 秦野.
- Heyden, S. V. D., M. R. Lipinski and C. A. Matthee. 2010. Remarkable low mtDNA control region diversity in an abundant demersal fish. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 55: 1183–1188.

- 疋田豊彦. 1981. 知床半島東側水域の魚類. 北海道さけ・ますふ化場研究業績, 35 : 57–88.
- Hoelzel, A. R., M. S. Shivji, J. Magnussen and M. P. Francis. 2006. Low worldwide genetic diversity in the basking shark (*Cetorhinus maximus*). *Biol. Lett.*, 2: 639–642.
- Hulley, P. A. 1972. The origin, interrelationship and distribution of southern African Rajidae (Chondrichthyes, Batoidei). *Ann. S. Afr. Mus.*, 60: 1–103.
- Hunt, J. C., D. J. Lindsay and R. R. Shahalemi. 2011. A nursery site of the golden skate (Rajiformes: Rajidae: *Bathyraja smirnovi*) on the Shiribeshi Seamount, Sea of Japan. *Mar. Biodiversity Rec.*, 4: 1–7.
- Hunter, E., A. A. Buckley, C. Stewart and J. D. Metcalfe. 2005. Migratory behavior of the thornback ray, *Raja clavate*, in the southern North Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 85: 1095–1105.
- Iglésias, S. P., L. Toulhoat and D. Y. Sellos. 2010. Taxonomic confusion and market mislabelling of threatened skates: important consequences for their conservation status. *Aquat. Conserv.: Mar. Freshw. Ecosyst.*, 20: 319–333.
- Iguchi, A., S. Takai, M. Ueno, T. Maeda, T. Minami and I. Hayashi. 2007. Comparative analysis on the genetic population structures of the deep-sea whelks *Buccinum tsubai* and *Neptunea constricta* in the Sea of Japan. *Mar. Biol.*, 151: 31–39.
- Iguchi, A., M. Ueno, T. Maeda, T. Minami and I. Hayashi. 2004. Genetic population structure of the deep-sea whelk *Buccinum tsubai* in the Japan Sea. *Fish. Sci.*, 70: 569–572.
- 池田博美・中坊徹次. 2015. 南日本太平洋岸の魚類. 東海大学出版部, 秦野. xxii+597 pp.
- Im, Y. J. and H. S. Jo. 2015. Migration and growth rate of mottled skate, *Beringraja pulchra* by the tagging release program in the Yellow Sea, Korea. *J. Kor. Soc. Fish. Tech.*, 51: 227–234.
- Im, Y. J., H. S. Jo, H. S. Ji, S. H. Myoung and J. K. Kim. 2017. Geographic variations of the mottled skate, *Beringraja pulchra* (Liu, 1932) (Rajidae) in the Yellow and East seas based on molecular and morphometric data. *J. Appl. Ichthyol.*, 33: 950–956.
- Ishihara, H. 1987. Revision of the western North Pacific species of the genus *Raja*. *Jpn. J.*

- Ichthyol., 34: 241–285.
- 石原 元. 1988. 日本産ガンギエイ科魚類の検索表. 板鰐類研究会報, 25 : 10–19.
- Ishihara, H. 1990. The skates and rays of the Western North Pacific: an overview of their fisheries, utilization, and classification. NOAA Tech. Rep. NMFS, 90: 485–498.
- 石原 元. 1990. 北太平洋産ガンギエイ科魚類の分類・資源に関する研究. 東京大学博士学位論文. 186 pp.
- 石原 元. 1996. エイ目. 千石正一・疋田 努・松井正文・仲谷一宏 (編), pp. 164–182. 日本動物大百科 第5巻 両生類. 爬虫類・軟骨魚類. 平凡社, 東京.
- Ishihara, H and R. Ishiyama. 1985. Two new North Pacific skates (Rajidae) and a revised key to *Bathyraja* in the area. Jpn. J. Ichthyol., 32: 143–179.
- Ishihara, H. and R. Ishiyama. 1986. Systematics and distribution of the skates of the North Pacific (Chondrichthyes, Rajoidei). Pages 269–280. in T. Uyeno, R. Arai, T. Taniuchi and K. Matsuura, eds. Indo-Pacific Fish Biology. The Ichthyological Society of Japan, Tokyo.
- Ishihara, H. and A. M. Orlov. 2009. *Bathyraja smirnovi*. IUCN Red List of Threatened Species 2009. Ver. 3.1. <http://www.iucnredlist.org>. Accessed 28 July 2018
- Ishihara, H., T. Mochizuki, K. Homma and T. Taniuchi. 2002. Reproductive strategy of the Japanese common skate (Spiny rasp skate) *Okamejei kenojei*. pp. 236–240. in S. L. Fowler, T. M. Reed. and F. Dipper, eds. Elasmobranch Biodiversity, Conservation and Management: Proceedings of the International Seminar and Workshop, Sabah, Malaysia, July 1997. IUCN SSC Shark Specialist Group, IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Ishihara, H., Y. Wang, S. Tanaka, K. Nakaya and C. H. Jeong. 2009a. *Beringraja pulchra*. The IUCN Red List of Threatened Species 2009. Ver. 3.1. <http://www.iucnredlist.org>. Accessed 28 July 2018
- Ishihara, H., Y. Wang, S. Tanaka and K. Nakaya. 2009b. *Okamejei kenojei*. IUCN Red List of Threatened Species 2009. Ver. 3.1. <http://www.iucnredlist.org>. Accessed 28 July 2018
- Ishihara, H., M. Treloar, P. H. F. Bor, H. Senou and C. H. Jeong. 2012. The comparative morphology of skate egg capsules (Chondrichthyes: Elasmobranchii: Rajiformes). Bull. Kanagawa Prefect. Mus. (Nat. Sci.), 41: 9–25.

- Ishiyama, R. 1958. Studies on the rajid fishes (Rajidae) found in the waters around Japan. J. Shimon. Coll. Fish., 7: 193–394, pls. 1–3.
- Ishiyama, R. 1967. Fauna Japonica. Rajidae (Pisces). Biogeographical Society of Japan, Tokyo. vi+84 pp., 32 pls.
- Jang, M. H., H. S. Jo, D. H. Kweon, B. Y. Cha, J. H. Hwang, K. N. Han and Y. J. Im. 2014. Geographical distribution and catch fluctuations of mottled skate, *Beringraja pulchra* in the eastern Yellow Sea. Korean J. Ichthyol., 11: 198–210.
- 鄭 忠勳. 2018. ガンギエイ目. 中坊徹次 (編), pp. 46–51. 小学館の図鑑 Z 日本魚類館. 小学館, 東京.
- Jeong, C. H. and T. Nakabo. 2009. *Hongoe*, a new skate genus (Chondrichthyes: Rajidae), with redescription of the type species. Ichthyol. Res., 56: 140–155.
- Jo, H. S., H. J. Hwang, D. H. Kwon, G. S. Jeong, K. H. Choi, B. Y. Cha and Y. J. Im. 2011. Fishing characters of skate ray, *Raja pulchra* by the offshore longline fishery in Heuksan-do, Korea. J. Kor. Soc. Fish. Tech., 47: 403–410.
- Jordan, D. S. 1892. Relations of temperature to vertebrae among fishes. Proc. U. S. Nat. Mus., 14: 107–120.
- Kafanov, A. I., I. G. Volvenko, V. V. Fedorov and D. L. Pitruk. 2000. Ichthyofaunistic biogeography of the Japan (East) Sea. J. Biogeogr., 27: 915–933.
- 甲斐嘉晃. 2018. 日本海の魚類相—海水魚. 日本魚類学会 (編), pp. 190–191. 魚類学の百科事典. 丸善出版, 東京.
- Kai, Y., J. W. Orr, K. Sakai and T. Nakabo. 2011. Genetic and morphological evidence for cryptic diversity in the *Careproctus rastrinus* species complex (Liparidae) of the North Pacific. Ichthyol. Res., 58: 143–154.
- Kang, H. W., Y. R. Jo, D. Y. Kang, G. S. Jeong and H. S. Jo. 2013. Spawning characteristics and artificial hatching of female mottled skate, *Beringraja pulchra* in the west coast of Korea. Dev. Reprod. 17: 247–255.
- 環境省. 2017. 環境省版海洋生物レッドリストの公表について.
<http://www.env.go.jp/press/103813.html>. Accessed 12 November 2018.

- 加藤史彦. 1971. ドブカスベの形態測定学的研究. 日水研報告, 23: 69–81.
- 河野光久・土井啓行・堀 成夫. 2011. 日本海産魚類目録 (予報). 山口県水産研究センター研究報告, 9: 65–94.
- 河野光久・三宅博哉・星野昇・伊藤欣吾・山中智之・甲本亮太・忠鉢孝明・安澤 弥・池田 怜・大慶則之・木下仁徳・児玉晃治・手賀太郎・山崎 惇・森 俊郎・長濱達章・大谷徹也・山田英明・村山達朗・安藤朗彦・甲斐修也・土井啓行・杉山秀樹・飯田新二・船木信一. 2014. 日本海産魚類目録. 山口県水産研究センター研究報告, 11: 1–30.
- 川崎 健・片山知史・大海原 宏・二平 章・渡邊良朗 (編). 2017. 漁業科学とレジームシフト～川崎 健の研究史～東北大学出版会, 仙台. vi+527 pp.
- Kelly, J. T. and J. M. Hanson. 2013. Maturity, size at age and predator-prey relationships of winter skate *Leucoraja ocellata* in the southern Gulf of St Lawrence: potentially an undescribed endemic facing extirpation. J. Fish Biol., 82: 959–978.
- Kim, J. J., S. J. Lee, W. C. Lee, J. B. Kim and H. C. Kim. 2015. Restricted separation of the spawning areas for the two lineages of sand lance, *Ammodytes personatus* (Pisces, Ammodytidae) in the Yellow and East Seas and taxonomic implications. Biochem. Syst. Ecol., 61: 319–328.
- King, J. R. and G. A. McFarlane. 2010. Movement patterns and growth estimates of big skate (*Raja binoculata*) based on tag-recapture data. Fish. Res., 101: 50–59.
- 気象庁. 2018. 対馬暖流とは.
https://www.data.jma.go.jp/kaiyou/data/db/maizuru/knowledge/tsushima_current.html#fig2.2.4-2. Accessed 15 August 2018.
- 北川大二・今村 央・後藤友明・石戸芳男・藤原邦浩・上田祐司. 2008. 東北フィールド図鑑：沿岸魚から深海魚まで. 東海大学出版会, 秦野. xvii+140 pp.
- Kodama, Y., T. Yanagimoto, G. Shinohara, I. Hayashi and S. Kojima. 2008. Deviation age of a deep-sea demersal fish, *Bothrocara hollandi*, between the Japan Sea and the Okhotsk Sea. Mol. Phylogenet. Evol., 49: 682–687.
- 小池裕子・松井正文 (編). 2003. 保全遺伝学. 東京大学出版会, 東京. ii+299 pp.

- 小島茂明・足立健郎・児玉安見. 2007. 日本海における深海生物相形成と海洋環境変動—深海性底魚を例として—. 化石, 82: 67–71.
- 小北智之. 2018. DNA マーカー. 日本魚類学会 (編), pp. 486–487. 魚類学の百科事典. 丸善出版, 東京.
- Kokita, T. and K. Nohara. 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.
- Kousteni, V., P. Kasapidis, G. Kotoulas and P. Megalofonou. 2015. Strong population genetic structure and contrasting demographic histories for the small-spotted catshark (*Scyliorhinus canicula*) in the Mediterranean Sea. Heredity, 114: 333–343.
- 黒田潤一郎・吉村寿紘・川幡穂高・F. J. Jimenez-Espejo・S. Lugli・V. Manzi・M. Roveri. 2014. 海盆の蒸発: 蒸発岩の体積学とメッシニアン期地中海塩分危機. 地質学雑誌, 120 : 181–200.
- Lago, F. C., J. M. Vieites and M. Espiñeira. 2012. Development of a FINS-based method for the identification of skates species of commercial interest. Food Control, 24: 38–43.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. P. Brown, R. Chenna, P. A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I. M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J. D. Thompson, T. J. Gibson and D. G. Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics, 23: 2947–2948.
- Larson, S. E., T. S. Daly-Engel and N. M. Phillips. 2017. Review of current conservation genetic analysis of northeastern Pacific sharks. Adv. Mar. Biol., 77: 79–110.
- Last, P. R. and J. D. Stevens, eds. 2009. Sharks and rays of Australia. 2nd ed. CSIRO Publishing, Australia. v+644 pp.
- Last, P. R. and G. K. Yearsley. 2002. Zoogeography and relationships of Australasian skates (Chondrichthyes: Rajidae). J. Biogeogr., 29: 1627–1641.
- Last, P. R., W. T. White, J. J. Pogonoski and D. C. Gledhill. 2008. New Australian skates (Batoidea: Rajoidei) – background and methodology. Pages 1–8. *in* P. R. Last, W. T. White, J. J. Pogonoski and D. C. Gledhill, eds. Description of new Australian skates. CSIRO Marine and Atmospheric Research Paper No. 21.

- Last, P. R., W. T. White, J. N. Caira, Dharmadi, Fahmi, K. Jensen, A. P. K. Lim, B. M. Manjaji-Matsumoto, G. J. P. Naylor, J. J. Pogonoski, J. D. Stevens and G. K. Yearsley. 2010. Sharks and rays of Borneo. CSIRO Publishing, Australia. v+298 pp.
- Last, P. R., W. T. White, M. R. de Carvalho, B. Séret, M. F. W. Stehmann and G. J. P. Naylor, eds. 2016a. Rays of the world. CSIRO Publishing, Australia. ix+790 pp.
- Last, P. R., B. Séret, M. F. W. Stehmann and S. Weigmann. 2016b. 19 Skates Family Rajidae. Pages 204–363. *in* P. R. Last, W. T. White, M. R. de Carvalho, B. Séret, M. F. W. Stehmann and G. J. P. Naylor, eds. Rays of the world. CSIRO Publishing, Australia.
- Last, P. R., M. F. W. Stehmann, B. Séret and S. Weigmann. 2016c. 20 Softnose skates Family Arhynchobatidae. Pages 364–472. *in* P. R. Last, W. T. White, M. R. de Carvalho, B. Séret, M. F. W. Stehmann and G. J. P. Naylor, eds. Rays of the world. CSIRO Publishing, Australia.
- Le Port, A. and S. Lavery. 2011. Population structure and phylogeography of the short-tailed stingray, *Dasyatis brevicaudata* (Hutton 1875), in the Southern Hemisphere. *J. Hered.*, 103: 174–185.
- Licandeo, R. R., J. G. Lamilla, P. G. Rubilar and R. M. Vega. 2006. Age, growth, and sexual maturity of the yellownose skate *Dipturus chilensis* in the south-eastern Pacific. *J. Fish Biol.*, 68: 488–506.
- Lighten, J., D. Incarnate, B. J. Ward, C. V. Oosterhout, I. Bradbury, M. Hanson and P. Bentzen. 2016. Adaptive phenotypic response to climate enabled by epigenetics in a K-strategy species, the fish *Leucoraja ocellata* (Rajidae). *R. Soc. Open Sci.*, 3: 160299.
- Liu, J.-X., T.-X. Gao, S.-F. Wu and Y.-P. Zhang. 2007. Pleistocene isolation in the Northwestern Pacific marginal seas and limited dispersal in a marine fish, *Chelon haematocheilus* (Temminck & Schlege, 1845). *Mol. Ecol.*, 16: 275–288.
- Liu, J.-X., T.-X. Gao, K. Yokogawa and Y.-P. Zhang. 2006. Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in Northwestern Pacific. *Mol. Phyol. Evol.*, 39: 799–811.

- Lynch, A. J., J. R. McDowell and J. E. Graves. 2010. A molecular genetic investigation of the population structure of Atlantic menhaden (*Brevoortia tyrannus*). *Fish. Bull.*, 108: 87–97.
- 前田圭司. 2003. メガネカスベ. 上田吉幸・前田圭司・嶋田 宏・鷹見達也 (編), pp. 52–53. 新 北のさかなたち. 北海道新聞社, 札幌.
- Martin, A. P. 1999. Substitution rates of organelle and nuclear genes in sharks: implicating metabolic rate (again). *Mol. Biol. Evol.*, 16: 996–1002.
- Martin, A. P., G. J. P. Naylor and S. R. Palumbi. 1992. Rates of mitochondrial DNA evolution in sharks are slow compared with mammals. *Nature*, 357: 153–155.
- 松井彰子. 2014. 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. 京都大学博士学位論文. 176 pp.
- 松井裕之・多田隆治・大場忠道. 1998. 最終氷期の海水準変動に対する日本海の応答塩分収支モデルによる陸橋成立の可能性の検証. *第四紀研究*, 37 : 221–233.
- 松浦啓一 (編). 2012. 黒潮の魚たち. 東海大学出版会, 秦野. ix+221 pp.
- Matta, M. E. and D. R. Gunderson. 2007. Age, growth, maturity, and mortality of the Alaska skate, *Bathyraja parmifera*, in the eastern Bering Sea. *Environ. Biol. Fish.*, 80: 309–323.
- McEachran, J. D. and K. A. Dunn. 1998. Phylogenetic analysis of skates, a morphologically conservative clade of elasmobranchs (Chondrichthyes: Rajidae). *Copeia*, 1998: 271–290.
- 三澤 遼・遠藤広光. 2014. 標本に基づいた高知県産エイ類のチェックリスト. *板鯰類研究会報*, 50 : 1–16.
- Moritz, C. 1994. Defining ‘Evolutionarily Significant Units’ for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 9: 373–375.
- Moritz, C. 2002. Strategies to protect biological diversity and evolutionary processes that sustain it. *Syst. Biol.*, 51: 238–254.
- 中野秀樹. 2007. 海のギャング サメの真実を追う. 成山堂書店, 東京. vi+148 pp.
- Nakano, T., T. Sasaki and T. Kase. 2010. Color polymorphism and historical biogeography in the Japanese patellogastropod limpet *Cellana nigrolineata* (Reeve) (Patellogastropoda: Nacellidae). *Zool. Sci.*, 27: 811–820.
- Narita, H., M. Sato, S. Tsunogai, M. Murayama, M. Ikehara, T. Nakatsuka, M. Wakatsuchi, N.

- Harada and Y. Ujiié. 2002. Biogenic opal indicating less productive northwestern North Pacific during the glacial ages. *Geophys. Res. Lett.*, 29: 22-1–22-4.
- Neat, F., C. Pinto, I. Burrett, L. Cowie, J. Travis, J. Thorburn, F. Gibb and P. J. Wright. 2015. Site fidelity, survival and conservation options for the threatened flapper skate (*Dipturus cf. intermedia*). *Aquatic Conserv.: Mar. Freshw. Ecosyst.*, 25: 6–20.
- Nelson, J. S., T. C. Grande and M. V. H. Wilson. 2016. *Fishes of the world*. 5th ed. Wiley and Sons, Hoboken. xli+707.
- Nieto, A., G. M. Ralph, M. T. Comeros-Raynal, J. Kemp, M. G. Criado, D. J. Allen, N. K. Dulvy, R. H.L. Walls, B. Russell, D. Pollard, S. García, M. Craig, B. B. Collette, R. Pollom, M. Biscoito, N. L. Chao, A. Abella, P. Afonso, H. Álvarez, K. E. Carpenter, S. Clò, R. Cook, M. J. Costa, J. Delgado, M. Dureuil, J. R. Ellis, E. D. Farrell, P. Fernandes, A. B. Florin, S. Fordham, S. Fowler, L. G. de Sola, J. G. Herrera, A. Goodpaster, M. Harvey, H. Heessen, J. Herler, A. Jung, E. Karmovskaya, Ç. Keskin, S. W. Knudsen, S. Kobylansky, M. Kovačić, J. M. Lawson, P. Lorance, S. M. Phillips, T. Munroe, K. Nedreaas, J. Nielsen, C. Papaconstantinou, B. Polidoro, C. M. Pollock, A. D. Rijnsdorp, C. Sayer, J. Scott, F. Serena, W. F. Smith-Vaniz, A. Soldo, E. Stump and J. T. Williams. 2015. *European Red List of marine fishes*. Rosseels Printing, Hoboken. ix+81 pp.
- Oba, T., M. Kato, H. Kitazato, I. Koizumi, A. Omura, T. Sakai and T. Takayama. 1991. Paleoenvironmental changes in the Japan Sea during the last 85,000 years. *Paleoceanography*, 6: 499–518.
- Okazaki, Y., K. Takahashi, K. Katsuki, A. Ono, J. Hori, T. Sakamoto, M. Uchida, Y. Shibata, M. Ikehara and K. Aoki. 2005. Late Quaternary paleoceanographic changes in the southwestern Okhotsk Sea: evidence from geochemical, radiolarian, and diatom records. *Deep Sea Research Part II*, 52: 2332–2350.
- 沖山宗雄. 1980. 日本海の板鰓類-特にドブカスベについて. 板鰓類研究会報, 9 : 1–3.
- Orlov, A. M. 1998. On feeding of mass species of deep-sea skates (*Bathyraja* spp., Rajidae) from the Pacific waters. *J. Ichthyol.*, 38: 635–644.

- Orlov, A. M. 2003. Diets, feeding habits, and trophic relations of six deep-benthic skates (Rajidae) in the western Bering Sea. *aqua*, 7: 45–60.
- Orr, J. W., D. E. Stevenson, G. R. Hoff, I. Spies and J. D. McEachran. 2011. *Bathyraja panthera*, a new species of skate (Rajidae: Arhynchobatinae) from the western Aleutian Islands, and resurrection of the subgenus *Arctoraja* Ishiyama. NOAA Prof. Pap. NMFS 11: 1–50.
- Orr, J. W., Y. Kai and T. Nakabo. 2015a. Snailfishes of the *Careproctus rastrinus* complex (Liparidae): redescriptions of seven species in the North Pacific Ocean region, with the description of a new species from the Beaufort Sea. *Zootaxa*, 4018: 301–348.
- Orr, J. W., S. Wildes, Y. Kai, N. Raring, T. Nakabo, O. Katugin and J. Guyon. 2015b. Systematics of North Pacific sand lances of the genus *Ammodytes* based on molecular and morphological evidence, with the description of a new species from Japan. *Fish. Bull.*, 113: 129–156.
- Palsbøll, P. J., M. Bérube and W. Allendorf. 2006. Identification of management units using population genetic data. *Trends in Ecology and Evolution*, 22: 11–16.
- Panchenko, V. V. and M. I. Boiko. 2015. On discovery of the mottled skate *Raja pulchra* off the coast of Primorye (Sea of Japan). *J. Ichthyol.*, 55: 747–749.
- Pasolini, P., C. Ragazzini, Z. Zaccaro, A. Cariani, G. Ferrara, E. G. Gonzalez, M. Landi, I. Milano, M. Stagioni, I. Guarniero and F. Tinti. 2011. Quaternary geographical sibling speciation and population structuring in the Eastern Atlantic skates (suborder Rajoidea) *Raja clavata* and *R. straeleni*. *Mar. Biol.*, 158: 2173–2186.
- Perez-Brazen, C. R., G. M. Cailliet and D. A. Ebert. 2014. Reproduction of the sandpaper skate, *Bathyraja kincaidii* (Garman 1908) in the eastern North Pacific. *Environ. Biol. Fish.*, 97: 1317–1322.
- Pope, K. L., S. E. Lochmann and M. K. Young. 2010. Methods for assessing fish populations. Pages 325–351. *in* M. C. Quist and W. A. Hubert, eds. *Inland fisheries management in North America*. 3rd ed. American Fisheries Society, Maryland.
- R Development Core Team. 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org>. Accessed

2 December 2017

- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43: 223–225.
- Rasner, C. A., P. Yeh, L. S. Eggert, K. E. Hunt, D. S. Woodruff and T. D. Price. 2004. Genetic and morphological evolution following a founder event in the dark-eyed junco, *Junco hyemalis thurberi*. *Mol. Ecol.*, 13: 671–681.
- Rogers, A. R. and H. Harpending. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.*, 9: 552–569.
- Sakuma, K., Y. Ueda, T. Hamatsu and S. Kojima. 2014. Contrasting population histories of the deep-sea demersal fish, *Lycodes matsubarae*, in the Sea of Japan and the Sea of Okhotsk. *Zool. Sci.*, 31: 375–382.
- Sakuma, K., Y. Ueda, M. Ito and S. Kojima. 2015. Demographic histories of two deep-sea eelpouts, *Lycodes japonicus* and *Lycodes ocellatus*: paleoenvironmental implications of the western North Pacific deep waters. *Ichthyol. Res.*, 62: 363–367.
- Shiga, K. and I. Koizumi. 1999. Latest Quaternary oceanographic changes in the Okhotsk Sea based on diatom records. *Mar. Micropaleontol.*, 38: 91–117.
- Shirai, S. M., T. Hirose, T. Goto, Y. Kogure and I. Yoshio. 2010. Three predominant species groups of deep-sea whelks (Gastropoda: Buccinidae) in the Sea of Japan: their molecular taxonomy and geographic distribution. *Plankton and Benthos Research*, 5: 17–30.
- Shirai, S. M., R. Kuranaga, H. Sugiyama and M. Higuchi. 2006. Population structure of the sailfin sandfish, *Arctoscopus japonicus* (Trichodontidae), in the Sea of Japan. *Ichthyol. Res.*, 53: 357–368.
- Smith, P. J., D. Steinke, S. M. Mcveagh, A. L. Stewart, C. D. Struthers and C. D. Roberts. 2008. Molecular analysis of Southern Ocean skates (*Bathyraja*) reveals a new species of Antarctic skate. *J. Fish Biol.*, 73: 1170–1182.
- Soldatov, V. K. and M. N. Pavlenko. 1915. Description of a new species of family Rajidae from Peter the Great Bay and from Okhotsk Sea. *Ezhegodnik, Zoologicheskago Muzeya Imperatorskoi Akademii Nauk*, 20: 162–163, pl. 5.
- Spies, I. B., S. Gaichas, D. E. Stevenson, J. W. Orr, and M. F. Canino. 2006. DNA-based

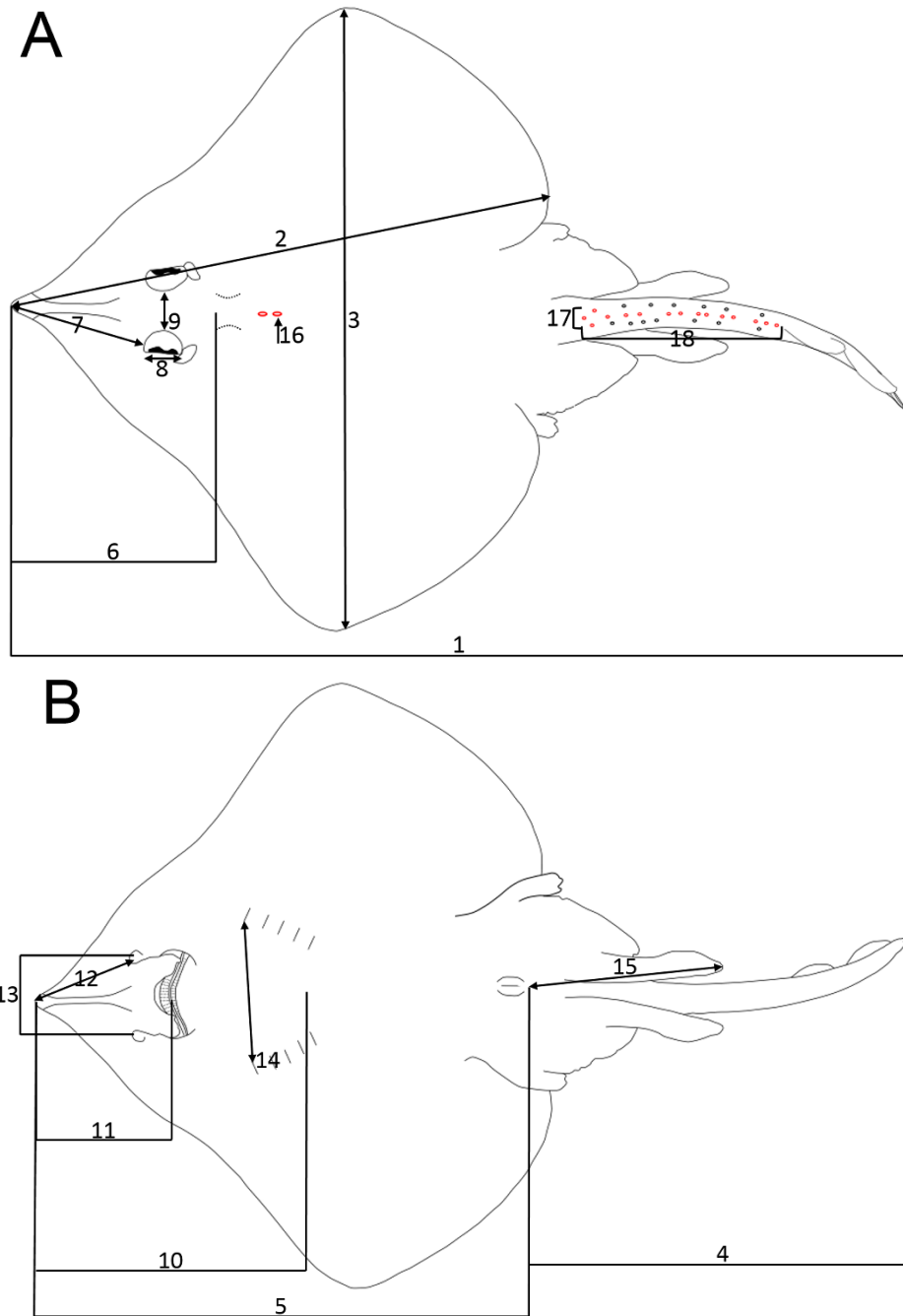
- identification of Alaska skates (*Amblyraja*, *Bathyrāja* and *Raja*: Rajidae) using cytochrome c oxidase subunit I (coI) variation. *J. Fish Biol.*, 69: 283–292.
- Spies, I. B., D. E. Stevenson, J. W. Orr, and G. R. Hoff. 2011. Molecular systematics of the skate subgenus *Arctoraja* (*Bathyrāja*: Rajidae) and support for an undescribed species, the leopard skate, with comments on the phylogenetics of *Bathyrāja*. *Ichthyol. Res.*, 58: 77–83.
- Springer, V. G. 1982. Pacific plate biogeography, with special reference to shorefishes. Smithsonian Institution Press, Washington. iii+182 pp.
- Stehmann, M. 1986. Notes on the systematics of the rajid genus *Bathyrāja* and its distribution in the world oceans. Pages 261–268. *in* T. Uyeno, R. Arai, T. Taniuchi and K. Matsuura, eds. Indo-Pacific Fish Biology. The Ichthyological Society of Japan, Tokyo.
- Stehmann, M. F. W. 2002. Proposal of a maturity stages scale for oviparous and viviparous cartilaginous fishes (Pisces, Chondrichthyes). *Arch. Fish. Mar. Res.*, 50: 23–48.
- Suda, A., N. Nagata, A. Sato, Y. Narimatsu, H. H. Nadiatul and M. Kawata. 2017. Genetic variation and local differences in Pacific cod *Gadus macrocephalus* around Japan. *J. Fish Biol.*, 90: 61–79.
- Sulikowski, J. A., J. Kneebone, S. Elzey, J. Jurek, P. D. Danley, W. H. Howell and P. C. Tsang. 2005. Age and growth estimates of the thorny skate (*Amblyraja radiata*) in the western Gulf of Maine. *Fish. Bull.*, 103: 161–168.
- 鈴木 清・片岡照男. 1997. 三重県海産魚類. 鳥羽水族館, 鳥羽市. 297 pp, 152 pls,
- Tada, R., T. Irino and I. Koizumi. 1999. Land-ocean linkages over orbital and millennial timescales recorded in late Quaternary sediments of the Japan Sea. *Paleoceanography*, 14: 236–247.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585–595.
- Teshima, K. and S. Tomonaga. 1986. Reproduction of Aleutian skate, *Bathyrāja aleutica* with comments on embryonic development. Pages 303–309. *in* T. Uyeno, R. Arai, T. Taniuchi and K. Matsuura, eds. Indo-Pacific Fish Biology. The Ichthyological Society of Japan, Tokyo.
- Tohkairin, A., Y. Kai, Y. Ueda, T. Hamatsu, M. Itoh and T. Nakabo. 2016. Genetic population

- structure of *Crystallichthys matsushimae* (Cottoidei: Liparidae) with comments on color variation. *Ichthyol. Res.*, 63: 370–381.
- 上野達治. 1965. 北海道近海の魚 8. カスベ (エイ) 類. 北海道水産試験場月報, 22 : 402–420.
- Valsecchi, E., P. Pasolini, M. Bertozzi, F. Garoia, N. Ungaro, M. Vacchi, B. Sabelli, and F. Tinti. 2005. Rapid Miocene-Pliocene dispersal and evolution of Mediterranean rajid fauna as inferred by mitochondrial gene variation. *J. Evol. Biol.*, 18: 436–446.
- Vargas-Caro, C., C. Bustamante, M. B. Bennett and J. R. Ovenden. 2017. Towards sustainable fishery management for skates in South America: the genetic population structure of *Zearaja chilensis* and *Dipturus trachyderma* (Chondrichthyes, Rajiformes) in the south-east Pacific Ocean. *PLoS ONE*, 12: e0172255.
- Vargas-Caro, C., C. Bustamante, J. Lamilla and M. B. Bennett. 2015. A review of longnose skates *Zearaja chilensis* and *Dipturus trachyderma* (Rajiformes: Rajidae). *Universitas Scientiarum*, 20: 321–359.
- Veríssimo, A., J. R. McDowell, and J. E. Graves. 2010. Global population structure of the spiny dogfish *Squalus acanthias*, a temperate shark with an antitropical distribution. *Mol. Ecol.*, 19: 1651–1662.
- Walker, P. A. and J. R. G. Hislop. 1998. Sensitive skates or resilient rays? Spatial and temporal shifts in ray species composition in the central and north-western North Sea between 1930 and the present day. *J. Mar. Sci.*, 55: 392–402.
- Walker, P., G. Howlett, and R. Millner. 1997. Distribution, movement and stock structure of three ray species in the North Sea and eastern English Channel. *ICES J. Mar. Sci.*, 54: 797–808.
- Wang, P. 1999. Response of Western Pacific marginal seas to glacial cycles: paleoceanographic and sedimentological features. *Mar. Geol.*, 156: 5–39.
- Ward, R. D. and B. H. Holmes. 2007. An analysis of nucleotide and amino acid variability in the barcode region of cytochrome c oxidase I (*coxI*) in fishes. *Molecular Ecology Notes*, 7: 899–907.

- Ward, R. D., R. Hanner and P. D. Hebert. 2009. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *J. Fish Biol.*, 74: 329–356.
- Ward, R. D., T. S. Zemlak, B. H. Innes, P. R. Last and P. D. N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 360: 1847–1857.
- White, W. T., P. R. Last, J. D. Stevens and G. K. Yearsley. 2006. Economically important sharks & rays of Indonesia. Australian Centre for International Agricultural Research, Australia. xi+329 pp.
- Whittamore, J. M. and I. D. McCarthy. 2005. The population biology of the thornback ray, *Raja clavata* in Caernarfon Bay, north Wales. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 85: 1089–1094.
- 矢田千春・小原元樹・不破隆行・廣瀬太郎・谷内 透. 2009. ドブカスベの尾部棘を用いた年齢と成長. 板鰐類研究会報, 45 : 28–38.
- 山田梅芳・時村宗春・堀川博史・中坊徹次. 2007. 東シナ海・黄海の魚類誌. 東海大学出版会, 秦野.
- 山口敦子. 2009. 第3章 有明海が育むサメ・エイ類. 日本魚類学会自然保護委員会 (編), pp. 33–64. 干潟の海に生きる魚たち. 東海大学出版会, 秦野.
- 山口敦子. 2018a. 3. 板鰐類 (サメ・エイ類) の絶滅リスク. 魚類学雑誌, 65 : 109–111.
- 山口敦子. 2018b. 頂点捕食者. 日本魚類学会 (編), pp. 224–225. 魚類学の百科事典. 丸善出版, 東京. lxxiii+1262 pp.
- Yamazaki, D., O. Miura, M. Ikeda, A. Kijima, D. V. Tu, T. Sasaki and S. Chiba. 2017. Genetic diversification of intertidal gastropoda in an archipelago: the effects of islands, oceanic currents, and ecology. *Mar. Biol.*, 164: 184.
- 八島邦夫. 1994. 瀬戸内海の海盆地形に関する研究. 水路部研究報告, 30 : 237–327.
- Yıgın, C. and A. Ismen. 2010. Age, growth, reproduction and feed of longnosed skate, *Dipturus oxyrinchus* (Linnaeus, 1758) in Saros Bay, the north Aegean Sea. *J. Appl. Ichthyol.*, 26: 913–919.
- Yu, Z. N., X. Y. Kong, T. H. Guo, Y. Y. Jiang, Z. M. Zhuang and X. S. Jin. 2005. Mitochondrial DNA sequence variation of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* from the Yellow Sea and

East China Sea. Fish. Sci., 71: 299–307.

付録



Appendix 1 Measurements and counts taken on three skates (*Okamejei kenojei*, *Beringraja pulchra* and *Bathyraja smirnovi*). (A) dorsal and (B) ventral views. 1, total length (全長); 2, disc length (体盤長); 3, disc width (体盤幅); 4, tail length (尾部長); 5, pretail length (尾前長); 6, dorsal head length (背面頭長); 7, dorsal snout length (背面吻長); 8, eye diameter (眼径); 9, distance between orbits (两眼間隔);

Appendix 1 continued

10, ventral head length (腹面頭長) ; 11, ventral snout length (腹面吻長) ; 12, prenasal snout length (鼻前吻長) 13, distance between nostrils (兩鼻孔間隔) ; 14, distance between 1st gill slits (第 1 鰓孔間隔) ; 15, clasper length (交接器長) ; 16, nuchal thorn (項部棘) ; 17, number of tail thorn rows (尾部棘列數) ; 18, number of tail thorns (尾部棘數)

Appendix 2 Catalogue number, sampling region, locality, accession number of mtCR 597 bp in INSDC (International Nucleotide Sequence Database Collaboration), haplotype code, inclusion in morphological comparisons, total length (mm), and sex of specimens of *Okamejei kenojei* examined in this study. Y=included in morphological comparisons; N=not included in morphological comparisons; - =data unknown; M=male; F=female. The specimens examined here were deposited in the fish collections of Kyoto University, Kyoto, Japan (FAKU), Kochi University, Kochi, Japan (BSKU), National Museum of Nature and Science, Tsukuba, Japan (NSMT-P), Pukyong National University, Busan, Korea (PKU), Hokkaido University Museum, Hakodate, Japan (HUMZ), Noto Marin Center, Ishikawa, Japan (NMCI-P), Kagoshima University Museum, Kagoshima, Japan (KAUM-I), Kanagawa Prefectural Museum of National History, Odawara, Japan (KPM-NI), and Osaka Museum of National History, Osaka, Japan (OMNH-P).

Catalogue number	Region	Locality	Accession No.	Haplotype codes	Morpho. Comp.	TL (mm)	Sex
FAKU 140514	East China Sea	Nagasaki	LC386653	Ok1	Y	197	F
FAKU 140515	East China Sea	Nagasaki	LC386654	Ok9	Y	224	F
FAKU 140516	East China Sea	Nagasaki	LC386655	Ok2	Y	211	F
FAKU 140517	East China Sea	Nagasaki	LC386656	Ok9	Y	281	M
FAKU 140518	East China Sea	Nagasaki	LC386657	Ok1	Y	380	F
FAKU 140662	East China Sea	Nagasaki	LC386658	Ok10	Y	174	F
FAKU 140663	East China Sea	Nagasaki	LC386659	Ok9	Y	206	M
FAKU 140664	East China Sea	Nagasaki	LC386660	Ok1	Y	311	F
FAKU 140665	East China Sea	Nagasaki	LC386661	Ok9	Y	410	F
FAKU 140666	East China Sea	Nagasaki	LC386662	Ok9	Y	407	F
FAKU 140667	East China Sea	Nagasaki	LC386663	Ok1	Y	343	M
FAKU 140668	East China Sea	Nagasaki	LC386664	Ok9	Y	180	M
FAKU 140669	East China Sea	Nagasaki	LC386665	Ok10	Y	185	M
FAKU 140670	East China Sea	Nagasaki	LC386666	Ok3	Y	211	M
FAKU 140671	East China Sea	Nagasaki	LC386667	Ok9	Y	340	M
FAKU 140672	East China Sea	Nagasaki	LC386668	Ok9	Y	329	F
FAKU 140673	East China Sea	Nagasaki	LC386669	Ok10	Y	398	F
FAKU 140674	East China Sea	Nagasaki	LC386670	Ok2	N	421	F
FAKU 140527	East China Sea	Nagasaki	LC386671	Ok1	N	286	F
FAKU 140528	East China Sea	Nagasaki	LC386672	Ok1	Y	408	M
FAKU 140529	East China Sea	Nagasaki	LC386673	Ok9	N	399	F
FAKU 140530	East China Sea	Nagasaki	LC386674	Ok10	N	380	F
FAKU 140531	East China Sea	Nagasaki	LC386675	Ok1	N	364	F
FAKU 140532	East China Sea	Nagasaki	LC386676	Ok9	N	361	F

FAKU 140533	East China Sea	Nagasaki	LC386677	Ok1	Y	351	F
FAKU 140534	East China Sea	Nagasaki	LC386678	Ok9	Y	322	F
FAKU 140535	East China Sea	Nagasaki	LC386679	Ok1	N	400	M
FAKU 140536	East China Sea	Nagasaki	LC386680	Ok9	N	343	M
FAKU 140537	East China Sea	Nagasaki	LC386681	Ok1	Y	392	M
FAKU 140526	East China Sea	Nagasaki	LC386682	Ok9	Y	246	F
FAKU 140538	East China Sea	Nagasaki	LC386683	Ok1	N	196	M
BSKU 23971	East China Sea	Nagasaki			Y	98	M
BSKU 25510	East China Sea	Nagasaki			Y	104	F
BSKU 25511	East China Sea	Nagasaki			Y	97	M
NSMT-P 53304 (1/6)	East China Sea	Nagasaki			Y	164	F
NSMT-P 53304 (2/6)	East China Sea	Nagasaki			Y	167	F
NSMT-P 53308 (1/4)	East China Sea	Nagasaki			Y	392	M
NSMT-P 53308 (2/4)	East China Sea	Nagasaki			Y	325	M
PKU 51136	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386684	Ok1	N	-	-
PKU 51138	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386685	Ok1	N	-	-
PKU 51282	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386686	Ok8	N	-	-
PKU 51284	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386687	Ok1	N	-	-
PKU 51286	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386688	Ok1	N	-	-
PKU 51288	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386689	Ok1	N	-	-
PKU 51290	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386690	Ok2	N	-	-
PKU 51292	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386691	Ok1	N	-	-
PKU 51294	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386692	Ok1	N	-	-
PKU 51296	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC386693	Ok2	N	-	-
FAKU 77059	Yellow Sea	Central part of Yellow Sea			Y	426	F
FAKU 77060	Yellow Sea	Central part of Yellow Sea			Y	415	F

FAKU 77061	Yellow Sea	Central part of Yellow Sea			Y	417	F
FAKU 77062	Yellow Sea	Central part of Yellow Sea			Y	430	F
FAKU 77063	Yellow Sea	Central part of Yellow Sea			Y	440	M
FAKU 77064	Yellow Sea	Central part of Yellow Sea			Y	428	M
NSMT-P 43698	Yellow Sea	Chinese coast of southern Yellow Sea			Y	455	M
FAKU 75195	Sea of Japan	Tsushima, Nagasaki			Y	339	M
FAKU 80585	Sea of Japan	Tsushima, Nagasaki			Y	361	F
FAKU 134674	Sea of Japan	Yamaguchi	LC386694	Ok3	Y	104	M
FAKU 143614	Sea of Japan	Yamaguchi	LC386695	Ok4	Y	260	M
FAKU 145367	Sea of Japan	Yamaguchi	LC386696	Ok2	Y	392	F
FAKU 145392	Sea of Japan	Yamaguchi	LC386697	Ok1	Y	400	M
FAKU 145396	Sea of Japan	Yamaguchi	LC386698	Ok2	Y	424	F
FAKU 145372	Sea of Japan	Yamaguchi			Y	196	M
FAKU 145385	Sea of Japan	Yamaguchi			Y	164	F
BSKU 116603	Sea of Japan	Shimane	LC386699	Ok2	Y	288	M
BSKU 116611	Sea of Japan	Shimane	LC386700	Ok2	Y	435	M
BSKU 116612	Sea of Japan	Shimane	LC386701	Ok3	Y	416	M
FAKU 140686	Sea of Japan	Shimane	LC386702	Ok2	Y	370	M
FAKU 141234	Sea of Japan	Shimane	LC386703	Ok7	Y	424	M
FAKU 141235	Sea of Japan	Shimane	LC386704	Ok2	Y	390	M
FAKU 141236	Sea of Japan	Shimane	LC386705	Ok2	Y	308	M
FAKU 141237	Sea of Japan	Shimane	LC386706	Ok2	Y	323	M
FAKU 141238	Sea of Japan	Shimane	LC386707	Ok6	Y	359	F
FAKU 141239	Sea of Japan	Shimane	LC386708	Ok2	N	303	F
FAKU 141242	Sea of Japan	Shimane	LC386709	Ok2	Y	423	F
FAKU 141243	Sea of Japan	Shimane	LC386710	Ok2	Y	354	F
FAKU 141241	Sea of Japan	Shimane	LC386711	Ok2	Y	272	M
BSKU 40578	Sea of Japan	Shimane			Y	397	M
FAKU 141240	Sea of Japan	Shimane			Y	421	M
HUMZ 107424	Sea of Japan	Tottori			Y	362	F
HUMZ 107425	Sea of Japan	Tottori			Y	276	F

HUMZ 107426	Sea of Japan	Tottori			Y	347	F
HUMZ 107428	Sea of Japan	Tottori			Y	393	M
FAKU 131449 (1/2)	Sea of Japan	Hyogo			Y	353	M
FAKU 131449 (2/2)	Sea of Japan	Hyogo			Y	288	F
FAKU 137179	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386712	Ok4	N	446	F
FAKU 134720	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386713	Ok4	Y	129	M
FAKU 138895	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386714	Ok2	Y	430	M
FAKU 139875	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386715	Ok4	N	397	M
FAKU 139970	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386716	Ok4	Y	376	F
FAKU 140513	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386717	Ok4	N	104	M
FAKU 140599	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386718	Ok4	Y	455	M
FAKU 140802	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386719	Ok4	N	403	M
FAKU 135754	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386720	Ok4	Y	403	F
FAKU 142393	Sea of Japan	Wakasa Bay	LC386721	Ok1	N	104	M
FAKU 130249	Sea of Japan	Wakasa Bay			Y	276	F
FAKU 140848	Sea of Japan	Wakasa Bay			Y	103	F
FAKU 137317	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386722	Ok2	Y	413	F
FAKU 137318	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386723	Ok5	Y	422	F
FAKU 137319	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386724	Ok2	Y	412	M
FAKU 137320	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386725	Ok4	Y	392	F
FAKU 137322	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386726	Ok2	N	376	M
FAKU 137323	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386727	Ok2	Y	448	M
FAKU 137324	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386728	Ok2	Y	370	F
FAKU 137708	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386729	Ok2	N	413	F
FAKU 137709	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386730	Ok5	N	414	F
FAKU 137710	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386731	Ok2	N	381	M
FAKU 137711	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386732	Ok5	N	406	M
NMCI-P 1770	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386733	Ok5	N	370	M
NMCI-P 1836	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386734	Ok2	N	420	F
NMCI-P 1926	Sea of Japan	Toyama Bay	LC386735	Ok5	N	181	M
FAKU 137321	Sea of Japan	Toyama Bay			Y	419	M
FAKU 143091	Sea of Japan	Toyama Bay			Y	165	M
FAKU 141227	Sea of Japan	Niigata	LC386736	Ok2	Y	453	M
FAKU 141228	Sea of Japan	Niigata	LC386737	Ok2	Y	397	M

FAKU 141229	Sea of Japan	Niigata	LC386738	Ok2	Y	388	F
FAKU 141230	Sea of Japan	Niigata	LC386739	Ok2	Y	421	F
FAKU 141231	Sea of Japan	Niigata	LC386740	Ok2	Y	430	F
FAKU 141232	Sea of Japan	Niigata	LC386741	Ok2	Y	381	F
FAKU 141233	Sea of Japan	Niigata	LC386742	Ok2	Y	388	F
FAKU 141661	Sea of Japan	Niigata			Y	408	M
HUMZ 52821	Sea of Japan	Niigata			Y	134	F
FAKU 140883	Sea of Japan	Yamagata	LC386743	Ok2	Y	431	F
FAKU 140884	Sea of Japan	Yamagata	LC386744	Ok2	Y	411	F
KAUM-I 26593	Sea of Japan	Yamagata			Y	316	M
NSMT-P 74491	Sea of Japan	Yamagata			Y	201	M
FAKU 97576	Sea of Japan	Akita	LC386745	Ok2	N	-	F
FAKU 97577	Sea of Japan	Akita	LC386746	Ok2	N	-	F
FAKU 97578	Sea of Japan	Akita	LC386747	Ok2	N	-	M
FAKU 97579	Sea of Japan	Akita	LC386748	Ok2	N	-	M
FAKU 97580	Sea of Japan	Akita	LC386749	Ok2	N	-	M
FAKU 97581	Sea of Japan	Akita	LC386750	Ok2	N	-	F
FAKU 141499	Sea of Japan	Akita	LC386751	Ok2	Y	415	F
FAKU 141500	Sea of Japan	Akita	LC386752	Ok2	Y	457	F
FAKU 141501	Sea of Japan	Akita	LC386753	Ok2	Y	417	F
FAKU 141502	Sea of Japan	Akita	LC386754	Ok2	Y	427	F
FAKU 141503	Sea of Japan	Akita	LC386755	Ok2	Y	411	F
FAKU 141504	Sea of Japan	Akita	LC386756	Ok2	Y	399	M
FAKU 141505	Sea of Japan	Akita	LC386757	Ok2	N	376	M
KPM-NI 20036	Sea of Japan	Akita			Y	402	F
NSMT-P 74443 (1/3)	Sea of Japan	Akita			Y	276	M
HUMZ 181	Sea of Japan	Aomori			Y	224	M
BSKU 116210	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386758	Ok1	Y	407	M
Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386759	Ok2	N	-	F
Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386760	Ok2	N	-	F
Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386761	Ok1	N	-	F
Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386762	Ok2	N	-	F
Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386763	Ok2	N	-	F

Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386764	Ok2	N	-	F
Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386765	Ok2	N	-	F
Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386766	Ok2	N	-	F
Uncatalogued	Sea of Japan	Tsugaru Strait	LC386767	Ok2	N	-	M
BSKU 116212	Sea of Japan	Tsugaru Strait			Y	365	M
BSKU 116213	Sea of Japan	Tsugaru Strait			Y	346	M
BSKU 116214	Sea of Japan	Tsugaru Strait			Y	431	F
BSKU 116215	Sea of Japan	Tsugaru Strait			Y	328	F
NSMT-P 44703	Sea of Japan	Tsugaru Strait			Y	266	F
KAUM-I 30827	East coast of Kyushu Is.	Kagoshima			Y	392	F
FAKU 137594	East coast of Kyushu Is.	Miyazaki	LC386768	Ok12	Y	153	F
BSKU 37800	East coast of Kyushu Is.	Bungo Strait			Y	436	F
BSKU 37801	East coast of Kyushu Is.	Bungo Strait			Y	471	F
BSKU 38949	East coast of Kyushu Is.	Bungo Strait			Y	390	M
OMNH-P 11410	East coast of Kyushu Is.	Bungo Strait			Y	185	M
OMNH-P 24430	East coast of Kyushu Is.	Bungo Strait			Y	239	M
OMNH-P 24558	East coast of Kyushu Is.	Bungo Strait			Y	317	F
FAKU 140521	Osaka Bay	Osaka	LC386769	Ok13	Y	429	M
FAKU 140522	Osaka Bay	Osaka	LC386770	Ok13	Y	415	M
FAKU 140523	Osaka Bay	Osaka	LC386771	Ok13	Y	433	M
FAKU 140524	Osaka Bay	Osaka	LC386772	Ok13	N	428	M
FAKU 140525	Osaka Bay	Osaka	LC386773	Ok13	N	379	M
FAKU 141282	Osaka Bay	Osaka	LC386774	Ok13	Y	452	F
FAKU 143152	Osaka Bay	Osaka	LC386775	Ok13	Y	341	F
FAKU 143153	Osaka Bay	Osaka	LC386776	Ok13	Y	385	F
FAKU 143154	Osaka Bay	Osaka	LC386777	Ok13	Y	395	F
FAKU 143155	Osaka Bay	Osaka	LC386778	Ok13	Y	405	F
FAKU 143156	Osaka Bay	Osaka	LC386779	Ok13	Y	380	F
FAKU 143157	Osaka Bay	Osaka	LC386780	Ok13	N	369	F
FAKU 143158	Osaka Bay	Osaka	LC386781	Ok13	N	421	F

FAKU 143159	Osaka Bay	Osaka	LC386782	Ok13	Y	411	F
FAKU 143160	Osaka Bay	Osaka	LC386783	Ok13	Y	379	F
FAKU 143161	Osaka Bay	Osaka	LC386784	Ok13	Y	409	F
FAKU 143162	Osaka Bay	Osaka	LC386785	Ok13	Y	428	F
FAKU 143164	Osaka Bay	Osaka	LC386786	Ok13	Y	323	M
FAKU 143165	Osaka Bay	Osaka	LC386787	Ok14	Y	399	M
FAKU 143166	Osaka Bay	Osaka	LC386788	Ok13	Y	411	M
FAKU 143167	Osaka Bay	Osaka	LC386789	Ok13	Y	414	M
FAKU 143168	Osaka Bay	Osaka	LC386790	Ok13	Y	396	F
FAKU 143169	Osaka Bay	Osaka	LC386791	Ok13	Y	503	F
FAKU 143170	Osaka Bay	Osaka	LC386792	Ok13	Y	435	M
BSKU 42492	Osaka Bay	Osaka			Y	433	F
FAKU 63258	Osaka Bay	Osaka			Y	393	F
FAKU 63260	Osaka Bay	Osaka			Y	408	F
FAKU 143163	Osaka Bay	Osaka			Y	447	F
OMNH-P 8766	Osaka Bay	Osaka			Y	419	M
OMNH-P 8767	Osaka Bay	Osaka			Y	424	F
OMNH-P 8772	Osaka Bay	Osaka			Y	409	M
BSKU 115544	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba	LC386793	Ok11	Y	430	M
BSKU 115545	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba	LC386794	Ok11	Y	506	M
BSKU 115546	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba	LC386795	Ok11	N	373	F
BSKU 115547	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba	LC386796	Ok11	N	510	F
BSKU 115548	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba	LC386797	Ok11	N	460	F
BSKU 115549	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba	LC386798	Ok11	N	496	F
BSKU 115550	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba	LC386799	Ok11	Y	419	F
BSKU 115849	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba	LC386800	Ok11	N	485	F
BSKU 115844	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba			Y	497	F
BSKU 115846	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba			Y	381	M
BSKU 115847	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba			Y	372	F

BSKU 115851	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba			Y	472	M
BSKU 115857	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba			Y	332	M
FAKU 139510	Pacific coast of northern Japan	Chosi, Chiba			Y	142	F
BSKU 112301	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki	LC386801	Ok11	Y	482	F
BSKU 112302	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki	LC386802	Ok11	Y	478	F
BSKU 112175	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki	LC386803	Ok11	Y	481	M
BSKU 112176	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki	LC386804	Ok11	Y	376	M
BSKU 112177	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki	LC386805	Ok11	Y	446	F
BSKU 112173	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	454	M
BSKU 112174	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	511	M
BSKU 112186	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	332	F
BSKU 112187	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	519	F
BSKU 112188	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	473	F
BSKU 112189	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	500	F
BSKU 112190	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	482	F
BSKU 112191	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	532	F
BSKU 112192	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	490	F
BSKU 112197	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	412	F
BSKU 112198	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	460	F
BSKU 112199	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	533	F
BSKU 112200	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	346	F
BSKU 112201	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	450	F
BSKU 112202	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	462	F

BSKU 112297	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	472	M
BSKU 112298	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	454	M
BSKU 112299	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	496	M
BSKU 112300	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	349	M
BSKU 112303	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	392	F
NSMT-P 110527 (1/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	167	M
NSMT-P 110527 (2/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	109	F
NSMT-P 110527 (3/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	108	F
NSMT-P 110527 (4/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	121	F
NSMT-P 110527 (5/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	100	M
NSMT-P 110527 (6/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	115	M
NSMT-P 110527 (7/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	101	M
NSMT-P 110527 (8/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	98	M
NSMT-P 110527 (9/9)	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	104	M
OMNH-P 25965	Pacific coast of northern Japan	Ibaraki			Y	281	M
FAKU 139486	Pacific coast of northern Japan	Fukushima	LC386806	Ok11	Y	416	M
FAKU 139485	Pacific coast of northern Japan	Fukushima	LC386807	Ok11	Y	382	F
FAKU 139487	Pacific coast of northern Japan	Fukushima	LC386808	Ok11	Y	382	F
FAKU 139488	Pacific coast of northern Japan	Fukushima	LC386809	Ok11	Y	449	F
FAKU 139489	Pacific coast of northern Japan	Fukushima	LC386810	Ok11	Y	444	F
FAKU 139490	Pacific coast of northern Japan	Fukushima	LC3868111	Ok11	N	401	M
FAKU 139491	Pacific coast of northern Japan	Fukushima	LC386812	Ok11	Y	475	M
BSKU 114938	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386813	Ok11	N	412	M

BSKU 114940	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386814	Ok11	Y	524	F
BSKU 114941	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386815	Ok11	N	484	M
BSKU 114942	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386816	Ok11	Y	566	M
BSKU 114943	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386817	Ok11	N	505	M
BSKU 114944	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386818	Ok11	N	548	M
BSKU 114945	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386819	Ok11	N	560	M
BSKU 114949	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386820	Ok11	Y	536	F
BSKU 114950	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386821	Ok11	N	519	F
BSKU 114951	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386822	Ok11	N	507	F
BSKU 114952	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386823	Ok11	Y	544	M
BSKU 114953	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386824	Ok11	N	393	M
BSKU 114954	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386825	Ok11	N	556	F
BSKU 114955	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386826	Ok11	Y	478	M
BSKU 114967	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386827	Ok11	N	496	M
BSKU 114968	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386828	Ok11	N	502	F
BSKU 114969	Pacific coast of northern Japan	Miyagi	LC386829	Ok11	N	560	M
BSKU 114939	Pacific coast of northern Japan	Miyagi			Y	523	F
BSKU 115289	Pacific coast of northern Japan	Miyagi			Y	528	M
BSKU 115316	Pacific coast of northern Japan	Miyagi			Y	185	F
BSKU 115317	Pacific coast of northern Japan	Miyagi			Y	327	F
BSKU 115320	Pacific coast of northern Japan	Miyagi			Y	332	F
BSKU 115321	Pacific coast of northern Japan	Miyagi			Y	346	F
HUMZ 208694	Pacific coast of northern Japan	Miyagi			Y	161	M

FAKU 139467	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386830	Ok11	Y	452	F
FAKU 139468	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386831	Ok11	Y	494	F
FAKU 139469	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386832	Ok1	Y	418	F
FAKU 139470	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386833	Ok11	Y	454	M
FAKU 139471	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386834	Ok11	Y	500	M
FAKU 139472	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386835	Ok11	Y	489	M
FAKU 97514	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386836	Ok1	N	-	F
FAKU 97515	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386837	Ok11	N	-	F
FAKU 97516	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386838	Ok1	N	-	-
FAKU 97517	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386839	Ok11	N	-	F
FAKU 97518	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386840	Ok1	N	-	M
FAKU 97519	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386841	Ok11	N	-	-
FAKU 97520	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386842	Ok1	N	-	M
FAKU 97568	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386843	Ok11	N	-	F
FAKU 97569	Pacific coast of northern Japan	Iwate	LC386844	Ok11	N	-	F
BSKU 114965	Pacific coast of northern Japan	Aomori	LC386845	Ok1	N	489	F
FAKU 145194	Pacific coast of northern Japan	Aomori	LC386846	Ok11	Y	189	F

Appendix 3 Catalogue number, sampling region, locality, accession number of COI 592 bp in INSDC (International Nucleotide Sequence Database Collaboration), haplotype code, inclusion in morphological comparisons, total length (mm), and sex of specimens of *Beringraja pulchra* examined in this study. Y=included in morphological comparisons; N=not included in morphological comparisons; - =data unknown; M=male; F=female. The specimens examined here were deposited in the fish collections of Kyoto University, Kyoto, Japan (FAKU), Kochi University, Kochi, Japan (BSKU), National Museum of Nature and Science, Tsukuba, Japan (NSMT-P), Pukyong National University, Busan, Korea (PKU), and Hokkaido University Museum, Hakodate, Japan (HUMZ).

Catalogue number	Region	Locality	Accession No.	Haplotype code	Morpho. Comp.	TL (mm)	Sex
FAKU137712	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414185	Bp2	Y	474	F
FAKU137969	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414186	Bp1	Y	766	F
FAKU137970	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414187	Bp1	Y	761	F
FAKU138173	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414188	Bp5	Y	795	F
FAKU138174	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414189	Bp1	Y	887	F
FAKU138550	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414190	Bp7	Y	1002	F
FAKU138551	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414191	Bp1	Y	937	F
FAKU138836	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414192	Bp1	N	969	F
FAKU138837	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414193	Bp1	Y	1041	F
FAKU138838	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414194	Bp3	Y	576	F
FAKU138839	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414195	Bp1	Y	753	F
FAKU138840	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414196	Bp6	Y	767	F
FAKU138841	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414197	Bp1	Y	910	F
FAKU141975	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414216	Bp4	Y	464	M
FAKU141976	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414217	Bp3	N	ca. 1143	F
FAKU141987	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414215	Bp4	N	ca. 1100	F
FAKU142277	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414218	Bp9	Y	670	M
FAKU142278	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414219	Bp7	Y	601	M
FAKU142279	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414220	Bp4	Y	571	M
FAKU142280	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414221	Bp1	N	ca. 718	F
FAKU142281	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414222	Bp1	Y	751	M
FAKU142282	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414223	Bp3	N	ca. 1035	F
FAKU201459	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414198	Bp1	N	-	-
FAKU201460	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414199	Bp4	N	-	-
FAKU201461	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414200	Bp1	N	-	-
FAKU201465	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414201	Bp2	N	-	-
FAKU201466	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414202	Bp4	N	-	-

FAKU201467	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414203	Bp4	N	-	-
FAKU201468	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414204	Bp3	N	-	-
FAKU201469	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414205	Bp1	N	-	-
FAKU201470	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414206	Bp1	N	-	-
FAKU201471	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414207	Bp4	N	-	-
FAKU201472	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414208	Bp3	N	-	-
FAKU201473	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414209	Bp2	N	-	-
FAKU201474	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414210	Bp4	N	-	-
FAKU201475	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414211	Bp4	N	-	-
FAKU201476	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414212	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414213	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC414214	Bp3	N	-	-
FAKU141136	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	755	F
FAKU141137	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	789	M
FAKU141139	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	561	M
FAKU141694	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	452	F
FAKU141912	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	656	M
FAKU141913	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	545	M
FAKU141914	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	491	M
FAKU141915	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	479	M
FAKU141916	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	542	F
FAKU141982	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	463	F
FAKU141986	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	665	M
FAKU141989	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	950	M
FAKU142286	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	569	M
FAKU142287	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	564	M
FAKU142805	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	485	F
FAKU142806	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	497	M
FAKU142807	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	825	M
HUMZ131142	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	532	M
HUMZ131193	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	556	F
HUMZ132502	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	479	M
HUMZ20300	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	498	F
HUMZ20311	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	415	M
NSMT-P59390	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	336	M

BSKU116211	Pacific Ocean	Hokkaido	LC414224	Bp1	Y	688.48	M
FAKU141782	Pacific Ocean	Hokkaido	LC414225	Bp1	Y	741.35	F
HUMZ13609	Pacific Ocean	Hokkaido			Y	199.17	M
HUMZ22316	Pacific Ocean	Hokkaido			Y	558.18	F
BSKU123774	Sea of Japan	Hokkaido	LC414259	Bp8	Y	785	M
FAKU141489	Sea of Japan	Hokkaido	LC414233	Bp4	Y	424	M
FAKU141490	Sea of Japan	Hokkaido	LC414234	Bp4	Y	384	M
FAKU141491	Sea of Japan	Hokkaido	LC414235	Bp1	N	ca. 328	M
FAKU141492	Sea of Japan	Hokkaido	LC414236	Bp6	Y	356	F
FAKU141493	Sea of Japan	Hokkaido	LC414237	Bp1	Y	324	F
FAKU141494	Sea of Japan	Hokkaido	LC414238	Bp2	Y	328	F
FAKU141495	Sea of Japan	Hokkaido	LC414239	Bp3	Y	314	F
FAKU141496	Sea of Japan	Hokkaido	LC414240	Bp5	Y	322	F
FAKU141497	Sea of Japan	Hokkaido	LC414245	Bp8	Y	363	M
FAKU141498	Sea of Japan	Hokkaido	LC414246	Bp5	Y	393	F
FAKU141772	Sea of Japan	Hokkaido	LC414247	Bp1	Y	245	F
FAKU141773	Sea of Japan	Hokkaido	LC414248	Bp3	Y	276	F
FAKU143146	Sea of Japan	Hokkaido	LC414249	Bp3	Y	708	F
FAKU143147	Sea of Japan	Hokkaido	LC414250	Bp1	Y	687	M
FAKU143148	Sea of Japan	Hokkaido	LC414251	Bp1	Y	684	M
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414226	Bp3	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414227	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414228	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414229	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414230	Bp4	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414231	Bp2	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414232	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414241	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414242	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414252	Bp12	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414253	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414243	Bp11	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414244	Bp4	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414254	Bp3	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414255	Bp1	N	-	-

Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414256	Bp3	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414257	Bp1	N	-	-
Without voucher	Sea of Japan	Hokkaido	LC414258	Bp10	N	-	-
FAKU143968	Sea of Japan	Hokkaido			Y	306	F
HUMZ109905	Sea of Japan	Hokkaido			Y	418	F
HUMZ109957	Sea of Japan	Hokkaido			Y	496	M
FAKU142782	Sea of Japan	Shimane	LC414287	Bp1	Y	957	M
PKU6126	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414260	Bp1	N	-	-
PKU6969	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414261	Bp1	N	-	-
PKU6970	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414262	Bp1	N	-	-
PKU58276	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414263	Bp4	N	-	-
PKU58278	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414264	Bp1	N	-	-
PKU58282	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414265	Bp1	N	-	-
PKU58284	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414266	Bp1	N	-	-
PKU58286	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414267	Bp1	N	-	-
PKU58288	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414268	Bp1	N	-	-
PKU58372	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414269	Bp4	N	-	-
PKU58374	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414270	Bp1	N	-	-
PKU58376	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414271	Bp1	N	-	-
PKU58378	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414272	Bp1	N	-	-
PKU58380	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414273	Bp1	N	-	-
PKU58382	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414274	Bp4	N	-	-
PKU58384	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414275	Bp1	N	-	-
PKU58386	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414276	Bp1	N	-	-
PKU58388	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414277	Bp1	N	-	-
PKU58390	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414278	Bp1	N	-	-

PKU58392	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414279	Bp1	N	-	-
PKU58452	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414280	Bp1	N	-	-
PKU58454	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414281	Bp1	N	-	-
PKU58456	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414282	Bp1	N	-	-
PKU58458	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414283	Bp1	N	-	-
PKU58460	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414284	Bp4	N	-	-
PKU58462	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414285	Bp1	N	-	-
PKU58464	Sea of Japan	Gyeongsangbuk-do, Korea	LC414286	Bp1	N	-	-
Without voucher (<i>n</i> = 52)	Sea of Japan	Ulleungdo, Korea			Y	420–978 (681 ± 172)	-
PKU5439	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414305	Bp2	N	-	-
PKU5440	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414306	Bp2	N	-	-
PKU5441	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414307	Bp2	N	-	-
PKU5442	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414308	Bp2	N	-	-
PKU5443	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414309	Bp3	N	-	-
PKU5444	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414310	Bp2	N	-	-
PKU5445	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414311	Bp1	N	-	-
PKU5446	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414312	Bp2	N	-	-
PKU5447	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414313	Bp3	N	-	-
PKU5448	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414314	Bp2	N	-	-
PKU5449	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414315	Bp3	N	-	-
PKU5450	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414316	Bp2	N	-	-
PKU5451	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414317	Bp1	N	-	-
PKU5452	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414318	Bp2	N	-	-
PKU5453	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414319	Bp2	N	-	-
PKU5454	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414320	Bp2	N	-	-
PKU5455	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414321	Bp2	N	-	-
PKU5456	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414322	Bp2	N	-	-
PKU5457	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414323	Bp1	N	-	-
PKU5458	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414324	Bp2	N	-	-
PKU5459	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414343	Bp1	N	-	-
PKU5460	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414344	Bp1	N	-	-

PKU5461	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414345	Bp2	N	-	-
PKU5462	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414346	Bp2	N	-	-
PKU5463	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414347	Bp2	N	-	-
PKU5464	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414348	Bp1	N	-	-
PKU5465	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414349	Bp3	N	-	-
PKU5466	Yellow Sea	Jeollanam-do, Korea	LC414350	Bp3	N	-	-
FAKU75281	Yellow Sea	off Jeollanam-do, Korea			Y	401	M
FAKU86535	Yellow Sea	off Jeollanam-do, Korea			Y	392	F
Without voucher (n = 20)	Yellow Sea	Heuksando, Korea			Y	597–1230 (771 ± 187)	-
PKU1758	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC414288	Bp2	N	-	-
PKU1759	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC414289	Bp2	N	-	-
PKU1760	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC414290	Bp3	N	-	-
PKU1761	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC414291	Bp2	N	-	-
PKU1762	Yellow Sea	Chungcheongnam-do, Korea	LC414292	Bp3	N	-	-
PKU5469	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414293	Bp2	N	-	-
PKU5470	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414294	Bp2	N	-	-
PKU5471	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414295	Bp2	N	-	-
PKU5472	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414296	Bp2	N	-	-
PKU5473	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414297	Bp2	N	-	-
PKU5474	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414298	Bp2	N	-	-
PKU5475	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414299	Bp2	N	-	-
PKU5476	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414300	Bp3	N	-	-
PKU5477	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414301	Bp1	N	-	-
PKU5478	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414302	Bp2	N	-	-
PKU5479	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414303	Bp2	N	-	-
PKU5480	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414304	Bp2	N	-	-
PKU5481	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414325	Bp2	N	-	-
PKU5482	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414326	Bp2	N	-	-
PKU5483	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414327	Bp1	N	-	-
PKU5484	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414328	Bp2	N	-	-
PKU5485	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414329	Bp1	N	-	-
PKU5486	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414330	Bp2	N	-	-

PKU5487	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414331	Bp2	N	-	-
PKU5488	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414332	Bp2	N	-	-
PKU5489	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414333	Bp3	N	-	-
PKU5490	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414334	Bp1	N	-	-
PKU5491	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414335	Bp1	N	-	-
PKU5492	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414336	Bp1	N	-	-
PKU5493	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414337	Bp3	N	-	-
PKU5494	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414338	Bp1	N	-	-
PKU5495	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414339	Bp2	N	-	-
PKU5496	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414340	Bp1	N	-	-
PKU5497	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414341	Bp2	N	-	-
PKU5498	Yellow Sea	Incheon-si, Korea	LC414342	Bp2	N	-	-
Without voucher (<i>n</i> = 55)	Yellow Sea	Daechongdo, Korea			Y	336–1022 (565 ± 179)	-

Appendix 4 Catalogue number, sampling region, locality, accession number of COI 660 bp in INSDC (International Nucleotide Sequence Database Collaboration), haplotype code, inclusion in morphological comparisons, total length (mm), and sex of specimens of *Bathyraja smirnovi* examined in this study. Y=included in morphological comparisons; N=not included in morphological comparisons; - =data unknown; M=male; F=female. The specimens examined here were deposited in the fish collections of Kyoto University, Kyoto, Japan (FAKU), Kochi University, Kochi, Japan (BSKU), National Museum of Nature and Science, Tsukuba, Japan (NSMT-P), Kanagawa Prefectural Museum of National History, Odawara, Japan (KPM-NI), and Zoological Institute, Russian Academy of Science, St. Petersburg, Russia (ZIN).

Catalogue number	Region	Locality	Accession No.	Haplotype code	Morpho. Comp.	TL (mm)	Sex
FAKU137702	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426811	Bs1	Y	1094	M
FAKU137767	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426810	Bs1	Y	1006	F
FAKU137796	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426813	Bs3	Y	970	M
FAKU137797	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426814	Bs1	Y	1003	M
FAKU137820	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426815	Bs1	Y	1065	F
FAKU137861	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426818	Bs6	Y	1042	M
FAKU137971	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426819	Bs1	Y	1088	F
FAKU138836	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426820	Bs1	Y	955	F
FAKU141972	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426833	Bs1	N	ca. 1050	-
FAKU141973	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426834	Bs1	N	ca. 1015	-
FAKU141974	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426835	Bs1	N	ca. 985	-
FAKU144560	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426823	Bs1	N	ca. 1068	F
FAKU144582	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426824	Bs4	N	ca. 1020	F
FAKU144585	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426825	Bs7	N	ca. 1075	F
FAKU144607	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426826	Bs1	N	ca. 1018	F
FAKU144673	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426827	Bs1	Y	989	F
FAKU144677	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426828	Bs1	Y	1049	M
FAKU144678	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426829	Bs4	Y	771	M
FAKU144679	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426830	Bs1	N	ca. 1188	M
FAKU144680	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426831	Bs1	Y	648	M
FAKU144682	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426832	Bs1	Y	244	F
FAKU146274	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426839	Bs1	Y	748	F
FAKU201462	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426809	Bs1	Y	1050	F
FAKU201464	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426812	Bs1	Y	931	M
Without voucher	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426821	Bs1	N	-	-
Without voucher	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426822	Bs5	N	-	-
Without voucher	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426836	Bs1	N	-	-

Without voucher	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426837	Bs1	N	-	-
Without voucher	Sea of Okhotsk	Hokkaido	LC426838	Bs1	N	-	-
FAKU200793	Sea of Okhotsk	Hokkaido			Y	356	M
ZIN19051 (Paratype)	Sea of Okhotsk	Magadan, Russia			Y	524	F
BSKU123770	Sea of Japan	Hokkaido	LC426841	Bs1	Y	871	F
BSKU123771	Sea of Japan	Hokkaido	LC426842	Bs1	Y	824	M
BSKU123772	Sea of Japan	Hokkaido	LC426843	Bs2	Y	912	M
BSKU123773	Sea of Japan	Hokkaido	LC426844	Bs1	Y	270	M
FAKU138527	Sea of Japan	Hokkaido	LC426840	Bs2	Y	852	M
NSMT-P77254	Sea of Japan	Hokkaido			Y	238	M
Without voucher	Sea of Japan	Aomori	LC426845	Bs1	N	-	-
FAKU139873	Sea of Japan	Akita	LC426846	Bs1	Y	735	M
FAKU139874	Sea of Japan	Akita	LC426847	Bs1	Y	1054	M
FAKU140330	Sea of Japan	Akita	LC426848	Bs1	Y	975	M
FAKU140353	Sea of Japan	Akita	LC426849	Bs9	Y	466	M
KPM-NI23351	Sea of Japan	Akita			Y	238	M
FAKU145608	Sea of Japan	Yamagata	LC426850	Bs1	Y	249	M
FAKU145609	Sea of Japan	Yamagata	LC426851	Bs2	Y	232	M
FAKU145610	Sea of Japan	Yamagata	LC426852	Bs1	Y	240	F
FAKU132237	Sea of Japan	Niigata	LC426859	Bs1	N	-	-
FAKU132238	Sea of Japan	Niigata	LC426860	Bs2	Y	712	F
FAKU132239	Sea of Japan	Niigata	LC426861	Bs1	Y	630	F
FAKU132240	Sea of Japan	Niigata	LC426862	Bs1	Y	442	F
FAKU132241	Sea of Japan	Niigata	LC426863	Bs1	N	-	-
FAKU141020	Sea of Japan	Niigata	LC426853	Bs1	Y	738	M
FAKU141030	Sea of Japan	Niigata	LC426854	Bs1	Y	234	F
FAKU141031	Sea of Japan	Niigata	LC426855	Bs1	Y	235	M
FAKU141032	Sea of Japan	Niigata	LC426856	Bs1	Y	292	F
FAKU141033	Sea of Japan	Niigata	LC426857	Bs2	N	ca. 858	M
FAKU141042	Sea of Japan	Niigata	LC426858	Bs1	Y	210	M
FAKU132667	Sea of Japan	Toyama	LC426864	Bs1	Y	930	F
BSKU110850	Sea of Japan	Ishikawa	LC426866	Bs1	N	396	M
BSKU110851	Sea of Japan	Ishikawa	LC426865	Bs1	N	296	M
FAKU132599	Sea of Japan	Ishikawa	LC426871	Bs1	Y	393	M
FAKU132618	Sea of Japan	Ishikawa	LC426867	Bs1	Y	642	M

FAKU132619	Sea of Japan	Ishikawa	LC426868	Bs1	Y	263	M
FAKU132620	Sea of Japan	Ishikawa	LC426869	Bs2	Y	288	M
FAKU132621	Sea of Japan	Ishikawa	LC426870	Bs1	Y	450	F
BSKU107613	Sea of Japan	Shimane	LC426875	Bs1	N	420	M
BSKU107637	Sea of Japan	Shimane	LC426874	Bs2	N	265	F
BSKU107652	Sea of Japan	Shimane	LC426873	Bs1	N	310	F
BSKU110846	Sea of Japan	Shimane	LC426872	Bs1	N	242	F
FAKU140586	Sea of Japan	Shimane	LC426876	Bs2	N	256	F
FAKU140587	Sea of Japan	Shimane	LC426877	Bs1	N	273	F
FAKU140588	Sea of Japan	Shimane	LC426878	Bs8	N	323	F
FAKU140589	Sea of Japan	Shimane	LC426879	Bs2	Y	394	F
FAKU140590	Sea of Japan	Shimane	LC426880	Bs1	Y	520	F
FAKU140591	Sea of Japan	Shimane	LC426881	Bs1	N	251	F
FAKU140592	Sea of Japan	Shimane	LC426885	Bs2	N	259	F
FAKU140593	Sea of Japan	Shimane	LC426886	Bs2	Y	300	F
FAKU140594	Sea of Japan	Shimane	LC426887	Bs1	Y	317	F
FAKU140595	Sea of Japan	Shimane	LC426888	Bs1	Y	403	M
FAKU141390	Sea of Japan	Shimane	LC426889	Bs10	Y	273	M
FAKU141391	Sea of Japan	Shimane	LC426890	Bs1	Y	299	M
FAKU141392	Sea of Japan	Shimane	LC426891	Bs1	N	261	M
FAKU141393	Sea of Japan	Shimane	LC426892	Bs2	Y	355	F
FAKU141394	Sea of Japan	Shimane	LC426893	Bs1	Y	342	F
FAKU141395	Sea of Japan	Shimane	LC426894	Bs2	N	273	F
FAKU141603	Sea of Japan	Shimane	LC426882	Bs1	N	258	M
FAKU141604	Sea of Japan	Shimane	LC426883	Bs1	N	575	M
FAKU141605	Sea of Japan	Shimane	LC426884	Bs2	Y	972	M
BSKU107589	Sea of Japan	Shimane			Y	518	F
BSKU107612	Sea of Japan	Shimane			Y	489	M
BSKU110392	Sea of Japan	Shimane			Y	988	F
BSKU110393	Sea of Japan	Shimane			Y	778	M
FAKU71541	Sea of Japan	Shimane			Y	408	M
FAKU138525	Sea of Japan	Shimane			Y	597	M
FAKU138526	Sea of Japan	Shimane			Y	814	M
FAKU139102	Sea of Japan	Shimane			Y	237	M
FAKU139107	Sea of Japan	Shimane			Y	655	F

FAKU139108	Sea of Japan	Shimane			Y	765	F
FAKU139109	Sea of Japan	Shimane			Y	630	M
FAKU140220	Sea of Japan	Shimane			Y	812	F
FAKU140221	Sea of Japan	Shimane			Y	605	F
FAKU140222	Sea of Japan	Shimane			Y	617	F
FAKU140223	Sea of Japan	Shimane			Y	550	F
FAKU140585	Sea of Japan	Shimane			Y	294	M
FAKU140596	Sea of Japan	Shimane			Y	976	M
FAKU141606	Sea of Japan	Shimane			Y	665	F
BSKU107612	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426896	Bs2	N	487	M
BSKU107674	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426897	Bs1	N	779	M
BSKU110394	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426895	Bs3	Y	869	M
FAKU140596	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426898	Bs1	N	980	M
FAKU141896	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426899	Bs1	N	326	M
FAKU141897	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426900	Bs1	Y	354	M
FAKU141898	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426901	Bs1	Y	346	M
FAKU141899	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426902	Bs1	N	353	F
FAKU141900	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426903	Bs1	Y	371	F
FAKU141901	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426904	Bs2	Y	243	F
FAKU141902	Sea of Japan	Yamaguchi	LC426905	Bs1	Y	530	M