水生動物 第 2020 巻 令和 2 年 10 月



瀬戸内海を中心とした西南日本に生息する トビハゼの遺伝的多様性と分化

Genetic diversity and differentiation of the mudskipper, *Periophthalmus modestus*, inhabiting southwestern Japan centered on the Seto Inland Sea

阪本憲司¹*・徳永隆史¹・中野優作¹・池田恵里花¹・高尾清人¹・清水則雄²・ 野ロ大毅³・田中麻衣³・高木基裕⁴

Kenji Sakamoto^{*}, Takashi Tokunaga, Yusaku Nakano, Erika Ikeda, Kiyoto Takao, Norio Shimizu, Daiki Noguchi, Mai Tanaka, Motohiro Takagi

¹ 福山大学生命工学部海洋生物科学科, 広島県尾道市因島大浜町 452-10 福山大学附属内海生物 資源研究所

2広島大学総合博物館,広島県東広島市鏡山1-1-1

3株式会社日本総合科学 DNA 多型検査室, 広島県福山市水呑町 456-2 FML Group Office 4F

4愛媛大学南予水産研究センター,愛媛県南宇和郡愛南町船越 1289-1

¹Fukuyama University, Faculty of Life Science and Biotechnology, Department of Marine Bio-science, Research Institute of Marine Bioresouces, Fukuyama University, 452-10 Ohama, Innoshima, Onomichi, Hiroshima 722-2101, Japan.

²Hiroshima University Museum, 1-1-1 Kagamiyama, Higashi-hiroshima, Hiroshima, 739-8524, Japan.
 ³Nippon Total Science, INC., FML Group Office 4F, 456-2 Minomi, Fukuyama, Hiroshima 720-0832, Japan.

⁴Ehime University, South Ehime Fisheries Research Center, 1289-1 Funakoshi, Ainan, Minamiuwa, Ehime 798-4292, Japan.

*Corresponding author; e-mail: sakamoto@fukuyama-u.ac.jp

Abstract

Genetic diversity and population structure of the mudskipper, *Periophthalmus modestus*, were investigated using mitochondrial control region (D-loop) sequence analysis. Sixty-eight haplotypes were detected in 196 individuals collected at 19 localities [Seto Inland Sea (n=11), Pacific coast (n=4: Mie Prefecture, Ehime Prefecture, Kochi Prefecture and Chiba Prefecture), Japan Sea coast (n=1), Ariake Sea (n=1) and Okinawa Prefecture (n=2: Haneji flats and Sashiki flats)], and an average haplotype diversity of h=0.923 was obtained. Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that Edo R., Ibi R., Souzu R., Arita R., Kashima R., Haneji F., and Sashiki F. populations were isolated from Seto Inland Sea populations. No significant genetic differentiation was observed among Seto Inland Sea populations. These results suggest that the regional populations in Seto Inland Sea have a metapopulation structure.

Key words: Gobiidae; mudskipper, *Periophthalmus modestus*; mitochondrial DNA; genetic diversity; endangered

緒言

トビハゼ属魚類は世界で 17 種が存在し (Larson and Takita 2004)、日本ではトビハゼ *Periophthalmus modestus* とミナミトビハゼ *P. argentilineatus* の 2 種が生息している。日本 においては、ミナミトビハゼが奄美大島以南 (岩田 1989)から与那国島(沖縄県 2018) にかけての泥干潟に生息する一方、トビハゼ は沖縄島から東京湾までの泥干潟に生息し ている(川那部・水野 1998)。本種を含めた トビハゼ属の種は、空気呼吸に適した皮膚構 造をもつことで半陸生適応しており(田村

1977; Zhang et al. 2003)、水中から出て両生生 活を行う魚類として特異な生物学的特徴を 有している (Graham 1997)。成魚の雄は泥干 潟に巣穴を掘ってこの穴に成熟雌を誘う求 愛行動をとる (的場・道津 1977)。本種の稚 魚は孵化後約 30-50 日程度の浮遊生活のの ち干潟面での底生生活に移ると考えられて いる (小林ら 1972; 萩原ら 1993; 田中 1999)。トビハゼの生活様式は、夏期を中心 とした活動期と冬期を中心とした休止期に 大別され (的場・道津 1977)、夏期は干潟が 露出する干潮時に泥面上で摂餌行動をとり、 満ち潮によって泥面が水没する時間帯は水 際へ移動して次の干潮を待つ。一方、冬期は 巣穴の中で越冬する。

瀬戸内海沿岸は、潮の干満が大きく、外洋 からの波浪の影響が少ないため、良質の泥干 潟が形成されやすい(池辺 2011)。 戦後の高 度経済成長に伴う工場立地の埋め立てや護 岸工事などに干潟が利用され(清水ら 2011)、 瀬戸内海の干潟面積は1898年~2006年の間 に約5割が消失した(国交省2007)。また、 工場排水や生活排水の流入に伴う水質汚染 や環境変化などによって、干潟特有の生物の 多くが減少そして絶滅の危機に直面してい る (環境省 2007)。トビハゼにおいても全国 的に個体数が減少しており、環境省のレッド リスト(2007, 2020)において危惧種(NT: Near Threatened)に指定されている。瀬戸内海沿 岸域の各県においては、岡山県(2020)、愛媛 県(2014)および福岡県(2014)で絶滅危惧 II 類に、広島県(清水ほか 2011; 広島県 2014) で準絶滅危惧種に指定されている。また、三 重県(2015)において絶滅危惧 IA 類に、高 知県(2018)において絶滅危惧 II 類に、佐賀 県(2016)において準絶滅危惧種に、沖縄県

(2018)において絶滅危惧 IB 類に指定され ている。このような危機的状況にある本種の 保全を検討するにあたって、遺伝的集団構造 及び各地域における遺伝的多様性の把握が 重要な基礎資料となる。本研究では、ミトコ ンドリア DNA の D-loop 領域多型に基づき、 瀬戸内海を中心とした日本各地における本 種の遺伝的多様性と地域集団間の分化程度 を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

供試魚

DNA 解析に供したトビハゼの採取地点を、 Fig. 1 と Table 1 に示す。採取地点は、瀬戸内 海の中央部から西部にかけての 11 地点の河 口干潟(岡山県の高梁川・大島川、広島県の芦 田川・新川・藤井川・沼田川、愛媛県の国領 川・中山川、山口県の佐波川・木屋川、福岡県 の竹馬川)と、三重県の揖斐川、愛媛県の僧都 川、高知県の四万十川、佐賀県の有田川・鹿島 川の河口干潟および沖縄県の羽地干潟・佐敷 干潟の西南日本に位置する計18地点とした。 なお、西南日本のトビハゼ標本群との比較の ため、千葉県・江戸川河口干潟の標本を追加 した。各地点の現地においてタモ網を用いて 個体を採取した。採取は、視認できる個体数 をもとに最小限の個体数に留め、個体群への 影響が極力小さくなるよう配慮した。なお、 今回の調査地点(四万十川)を含む高知県で は 2007 年 10 月 2 日付で本種が高知県希少野 生動植物に指定され、今回の標本個体は指定 以前に採取可能であった貴重な標本である。

すべての標本は 70~90%エタノールで固定 された個体あるいは鰭の一部である。固定さ れた個体からは尾鰭の一部を切除した。これ らの鰭組織から全 DNA を抽出した。なお、沖

縄島(羽地・佐敷)の標本個体は同所にも生息 するミナミトビハゼと種判別が可能な成魚個 体であり、ミナミトビハゼの同領域の塩基配 列とも比較し、トビハゼであることを追認し た。

DNA 解析

全 DNA の抽出と精製は、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いて行った。ミトコ ンドリア DNAD-loop 領域は、ユニバーサルプ



Fig. 1. Location of collection sites of the mudskipper, *Periophthalmus modestus*. Solid circles indicate sampling sites.

Table 1. Collection data of mudskipper, Periophthalmus modestus.

Prefecture	Sampling	Abbreviation	Collection date	Sample	No. of
	localities				individuals
Chiba	Edo River	EDO	Sep., 2002	adult	10
Mie	Ibi River	IBI	Aug., 2002	adult, juvenile	7
Okayama	Takahashi River	TKH	Aug., 2017	adult, juvenile	10
	Oshima River	OSM	Aug., 2017	adult, juvenile	10
Hiroshima	Ashida River	ASD	Aug., 2016, 2017	adult, juvenile	17
	Shin River	SIN	Aug., 2016, 2017	adult, juvenile	16
	Fujii River	FUJ	Aug., 2016, 2017	adult, juvenile	26
	Nuta River	NUT	Aug., 2016	adult, juvenile	7
Yamaguchi	Saba River	SAB	July, 2016	adult, juvenile	10
	Koya River	KOY	Aug., 2017	adult, juvenile	8
Ehime	Kokuryo River	KOK	July, 2016	adult, juvenile	7
	Nakayama River	NAK	July, 2015, 2016	adult, juvenile	26
	Souzu River	SOU	May, 2009	fin	7
Kochi	Shimanto River	SMT	Aug., 2002	adult	5
Fukuoka	Chikuma River	CHI	Aug., 2004	adult, juvenile	7
Saga	Arita River	ARI	Aug., 2017	adult	5
	Kashima River	KAS	Aug., 2017	adult, juvenile	6
Okinawa	Haneji Flats	HAN	June, 2002	adult	4
	Sashiki Flats	SAS	Nov., 2002	adult	8

ライマー L15924: 5'-AGCTCAGCGCCAGAG CGCTCTTGTAAA-3' (Kocher et al. 1993) と H16498: 5'-CCTGAAGTAGGAACCAGATG-3' (Meyer et al. 1990) を用いて PCR 法により増 幅した。PCR は、KOD-Plus-Ver.2 (TOYOBO) を用い、初期熱変性94℃,2分・[熱変性98℃, 15 秒; アニーリング 54℃, 30 秒; 伸長反応 68℃,1分]·35 サイクルの条件で行った。PCR 産物の塩基配列を DNA シーケンサーABI 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いて決定した。得られた部分塩基配列296 bp を MEGA7 Ver. 7.0 (Kumar et al. 2016) と DnaSP (Version 5.10; Librado and Rozas, 2009) を用いて分析し、各塩基配列にはハプロタイ プ名を付け、International Nucleotide Sequence Database Collection (INSDC) に登録した (accession numbers LC589372-LC589439)。各 地点標本の遺伝的多様性解析と異質性検定に は Arlequin Ver. 3.5.2.2 (Excoffier et al. 2005) を用い、ハプロタイプ多様度、ヌクレオチド 多様度およびペアワイズ Fst 値を算出した。 また、平均距離法(UPGMA)によるハプロタ イプ間の系統関係とハプロタイプネットワー クを、SplitsTree Ver. 4.16.1 (Huson and Bryant 2006)を用いて構築した。

結果

19 地点から採取した 196 個体の DNA 解析 の結果、68 種類のハプロタイプが検出された (Appendix 1)。このうち 19 地点の全てにお いて固有のハプロタイプが 1 つ以上検出され た。また、複数の地点で共通するハプロタイ プが 16 種類見られた。各地点標本のハプロタ イプ多様度は、沖縄島・佐敷で 0.250 と最も低 く、佐賀県・鹿島川では 1.000 であり、19 地 点中 16 地点で 0.8 以上であった。一方、瀬戸 内海の芦田川と愛媛県太平洋側の僧都川では ハプロタイプ多様度が 0.8 未満(0.706 と 0.476) であった。各地点標本のヌクレオチド多様度 は、沖縄島・佐敷の 0.00833 から愛媛県・国領 川の 0.02127 で、平均 0.01632 あった (Appendix 1)。

ハプロタイプ間の系統関係を平均距離法 (UPGMA)で示す(Fig. 2)。その結果、3つ のクレード(I-III)が見られ、さらに、クレ ードIIIは2つのサブクレード(III-1, III-2)に 分かれた。瀬戸内海のハプロタイプはI-IIIの 全てのクレードに含まれた。沖縄島(羽地・佐 敷)のハプロタイプは全てクレードIIに含ま れ、有明海(鹿島川)のハプロタイプは、クレ ードIとサブクレードIII-1に含まれた。沖縄 島の羽地で検出されたハプロタイプ(Hap.21-23)と佐敷で検出されたハプロタイプ(Hap.43, 44)は、クレードIIの中で、それぞれ独立し たクラスターを形成した。

検出された 68 種類のハプロタイプのうち、 Hap.1 が江戸川から木屋川までの本州および 四国の13 地点で検出された (Appendix 1)。 また、Hap.3 が江戸川、芦田川、新川、藤井川、 佐波川および中山川の6地点で検出された。 さらに、Hap.9 が江戸川、揖斐川、高梁川、四 万十川および有田川で検出された。一方、沖 縄島の羽地と佐敷においては、それぞれ固有 のハプロタイプが検出され、その他の地点と 共有するものは検出されなかった。他方、瀬 戸内海の11地点(高粱川・大島川・芦田川・ 新川・藤井川・沼田川・佐波川・木屋川・国領 川・中山川および竹馬川)に注目してみると、 2地点以上で共有するハプロタイプが13種類 (Hap.1, 3, 4, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 19, 20, 30, 52) 検出された。そのうち、これら全ての地点で 検出された Hap.1 のほか、Hap.3 が 5 地点(芦



Fig. 2. UPGMA tree based on 68 haplotypes detected in the mudskipper, *Periophthalmus modestus* from the sampling sites. Numerals indicate haplotype numbers shown in Table 2.

Table 2. Results of analysis of molecular variance (AMOVA) of genetic structure among populations of mudskipper, *Periophthalmus modestus*.

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	Probability of variance
Among populations Within regions	19	166.336	0.50082	19.46	< 0.00
Within populations	196	483.102	2.07340	80.54	< 0.00

田川・新川・藤井川・佐波川・中山川)で検出 された。また、Hap.6(芦田川・新川・藤井川・ 竹馬川)、Hap.12(大島川・新川・藤井川・沼 田川)および Hap.14(大島川・新川・藤井川・ 中山川)が、それぞれ4地点で検出された。

検出されたハプロタイプにもとづいて階層 化した地点標本間と地点標本内の AMOVA 検 定を行った。その結果、地点標本間の変異は 19.46%であり、地点標本内の変異は 80.54%で、 いずれも有意であった (Table 2)。

Fst 値を求めた結果、江戸川・揖斐川・僧 都川・鹿島川・有田川・羽地・佐敷の7地点 において、他の多くの地点との間に有意な遺 伝的分化(p<0.05)が認められた(Table
3)。一方、瀬戸内海沿岸域の干潟11地点
(高梁川・大島川・芦田川・新川・藤井川・
沼田川・佐波川・木屋川・国領川・中山川お
よび竹馬川)では、全ての地点標本間に有意

な分化は認められなかった。また、検出され た 68 種類のハプロタイプについてハプロタ イプネットワークを作成したところ、沖縄島 のほかに瀬戸内海の大きなグループが存在し

(Fig. 3)、瀬戸内海で検出された 48 種類の ハプロタイプのうち 37 種類がこのグループ に含まれていた。

Okinawa	HAN SAS	0.0000* 0.0000*	0.0000* 0.0000*	0.0000* 0.0000*	0.0000* 0.0000*	0.0000* 0.0000*	0.0000* 0.0000*	0.0000* 0.0000*	*0000.0 0.0000*	0.0000* 0.0000*	*0000.0 *0000.0	0.0000* 0.0000*	0.0000* 0.0000*	*0000.0 0.0000*	0600.0 0600.0	0.0000* 0.0000*	*0000.0 0.0000*	*0000.0 0.0000*		0.773 —
ga	KAS	0.2973	0.0811	0.0000*	0.0000*	*0000.0	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0600.0	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0600.0	0.3604	0.0180	0.5946		0.572	0.667
Sa	ARI	0.1622	0.0721	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0090	0.3514	0.3604	0.0270	0.0000*	0.0000*	0.1351	0.0180		-0.083	0.635	0.748
Fukuoka	CHI	0600.0	0600.0	0.7568	0.5586	0.7207	0.7387	0.6847	0.6036	0.4414	0.3874	0.9910	0.4505	0.0000*	0.4955		0.351	0.262	0.452	0.535
Kochi	SMT	0.1802	0.0360	0.3784	0.2973	0.4144	0.4505	0.1892	0.2973	0.8559	0.1712	0.6757	0.0991	0.0000*		-0.035	0.145	0.043	0.464	0.569
	sou	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*		0.624	0.660	0.501	0.448	0.882	0.953
Ehime	NAK	0.0000*	0.0000*	0.2703	0.1622	0.2072	0.1802	0.4054	0.1712	0.0811	0600.0	1660.0	I	0.668	0.128	-0.005	0.496	0.421	0.546	0.511
	KOK	0.0000*	0.0000*	0.5856	0.8469	0.6036	0.7207	0.2342	0.7207	0.6577	0.5586	I	0.059	0.593	-0.069	-0.083	0.297	0.217	0.380	0.431
guchi	КОҮ	0.0000*	0.0000*	0.3604	0.3604	0.2432	0.1712	0.0631	0.0811	0.2791		-0.050	0.130	0.706	0.088	-0.018	0.459	0.373	0.532	0.508
Yama	SAB	0.0721	0600.0	0.3514	0.2613	0.4865	0.5405	0.1712	0.2973		0.044	-0.058	0.085	0.574	-0.084	-0.033	0.264	0.180	0.440	0.451
	NUT	0600.0	0600.0	0.4324	0.3423	0.2703	0.3243	0.3694		0.041	0.081	-0.023	0.022	0.668	0.050	-0.032	0.371	0.304	0.498	0.565
sihma	FUJ	0.0000*	0.0000*	0.6577	0.0811	0.4595	0.2613	I	-0.003	0.053	0.087	0.025	-0.008	0.600	0.057	-0.042	0.408	0.329	0.496	0.468
Hiros	SIN	0.0000*	0.0000*	0.4685	0.5856	0.9369		0.006	0.022	-0.027	0.022	-0.044	0.031	0.635	-0.018	-0.054	0.397	0.314	0.498	0.497
	ASD	0.0000*	0.0000*	0.6667	0.4685	I	-0.048	-0.010	0.011	-0.024	0.010	-0.055	0.027	0.632	-0.022	-0.062	0.386	0.294	0.494	0.488
ama	OSM	0.0000*	0.0000*	0.3153		-0.013	-0.036	0.037	-0.007	0.017	0.007	-0.060	0.048	0.681	0.038	-0.029	0.444	0.367	0.512	0.541
Oky	TKH	0.0000*	0.0000*		0.009	-0.050	-0.018	-0.028	-0.022	0.008	0.020	-0.045	0.005	0.649	-0.011	-0.070	0.365	0.272	0.491	0.515
Mie	IBI	0.0811		0.469	0.549	0.446	0.452	0.476	0.536	0.309	0.591	0.400	0.557	0.862	0.216	0.481	0.262	0.127	0.808	0.888
Chiba	EDO	I	0.105	0.311	0.364	0.291	0.292	0.340	0.334	0.131	0.405	0.246	0.411	0.574	0.058	0.288	0.091	0.002	0.612	0.662
Sampling	localiteies	EDO	IBI	TKH	OSM	ASD	SIN	FUJ	NUT	SAB	КОҮ	KOK	NAK	SOU	SMT	CHI	ARI	KAS	HAN	SAS

考察

トビハゼの生息場所には、成魚の生存のみ ならず、繁殖に必要な産卵巣をつくることが できる泥干潟や、浮遊生活期にある仔稚魚の 生存に適した海洋環境、さらに幼魚の上陸に 適した干潟環境が必要である。本研究の中心 に据えた瀬戸内海の沿岸域は、潮の干満が大 きく、外洋からの波浪の影響が少ないため、 各所で泥干潟がみられる。しかし、波浪の影 響が少なく平坦な干潟は埋め立てなどに利用 されやすく、瀬戸内海も例外ではない。瀬戸 内海の環境保全については、瀬戸内海環境保 全特別措置法の改正(平成27年10月)によ り、藻場、干潟その他の沿岸域の良好な環境 の保全、再生及び創出等の取組の推進が盛り 込まれた (環境省 2018)。環境省は、瀬戸内海 における藻場・干潟の分布調査を平成27年度 ~29 年度の3年間に亘って実施している。今 回の調査地点が含まれる瀬戸内海中部海域

(備後灘・燧灘・安芸灘・広島湾・伊予灘)お よび瀬戸内海西部海域(周防灘・豊後水道・響 灘)では、調査された9エリアおよび8エリ アの干潟において既往調査(平成元年~2年 度)との比較により、干潟面積が中部海域で は2エリアで増加し、その他の7エリアでは 変化が無かった。また、西部海域では、すべて のエリアで変化は見られていない(環境省 2018)。今回調査した瀬戸内海の各地点におけ るハプロタイプ多様度は多くの地点で 0.8 以 上であり、瀬戸内海の干潟面積が維持されて いることが遺伝的多様性を保つためのひとつ の要因であると推察される。

瀬戸内海沿岸域の11 地点において、2 地点 以上で共通するハプロタイプが13 種類検出 された。そのうち、すべての地点で共通して いた Hap.1 のほか、Hap.3 が5 地点で検出され



Fig. 3. Haplotype network based on the genetic distance for 68 haplotypes detected in mudskipper, *Periophthalmus modestus* from the sampling sites. Numerals indicate haplotype numbers shown in Table 2.

た。また、Hap.6、Hap.12 および Hap.14 が、 それぞれ4地点で検出された。さらに、瀬戸 内海沿岸域の干潟11地点では、すべての個体 群間に有意な分化は認められなかった。ハプ ロタイプネットワークでは、沖縄島に加えて、 瀬戸内海の大きなグループが得られた。瀬戸 内海グループには、瀬戸内海の各地点標本か ら検出された48 種類のハプロタイプのうち の約77.1%(37 種類)が含まれており、メタ 個体群構造をとっていることが示唆された。

汽水性生物や潮間帯性生物の現在の集団成 立過程にとって、更新世に起こった海進と海 退のサイクルが重要な地史的出来事であった とされている(川根・和田 2015)。例えば、ト ビハゼと同じく浮遊性幼生期をもつ汽水性甲 殻類のクマノエミオスジガニ(Kawate et al. 2012)やタイワンヒライソモドキ(川根・和田 2015)、両側回遊魚のシロウオ (Kokita and Nohara 2011) などにおいて、日本沿岸域にお ける更新世の海進・海退のサイクルがそれら の分布拡大と集団分化に影響したとされてい る。約2万年前の最終氷期には、瀬戸内海の ほとんどが陸地で、豊後水道と伊予灘の一部 の海域を除いて陸上であり(井内 1998)、氷 期が終わると気温の上昇に伴って海面も上昇 し、約1万年前に現在の瀬戸内海の基盤とな る地形が形成された。その間、現在の沿岸域 が形成される過程で、隣接する干潟ではトビ ハゼの交流があったと考えられる。一方で、 海進による汽水域の分断によって地域集団間 の地理的距離が加わり、海進後の遺伝的交流 は制限されてきたと推察される。今回の解析 結果によって検出されたハプロタイプ分布に は地理的な偏りがあり、個体群間で遺伝子流

動が制限されていることが示され(Table 2)、 隣接する個体群間において地理的な分化が生 じている可能性が示唆された。さらに、トビ ハゼは朝鮮半島や中国大陸沿岸にも生息して おり(明仁ら 2013)、今後はこのような個体 群との遺伝的な関係についても検討する必要 がある。

沖縄島個体群(羽地・佐敷)においては他の 地点とハプロタイプを共有しておらず、日本 列島本土との隔離が示された。このことから、 沖縄島個体群は本土個体群との遺伝子流動が 制限された独自の個体群として捉えられる。 九州と沖縄島の間には、琉球列島の西側に沿 って東シナ海を北上し、トカラ海峡から東へ 抜けて太平洋を流れる黒潮による島嶼生物の 分布拡大に対する障壁が存在する(松浦・瀬 能 2012; 本村 2012)。高木ら(2019)は、沖 縄島と九州以北のクサフグ個体群間に遺伝的 異質性を認め、回遊を妨げる黒潮障壁の存在 を裏付けている。向井・杉本(2006)は、トビ ハゼのミトコンドリア DNA の NADH dehydrogenase subunit 5 (ND5) 遺伝子領域の部 分塩基配列分析により、東京から沖縄に生息 する本種の遺伝的集団構造を調べ、種子島と 沖縄島の個体群が遺伝的に独立しており、ま た本州や九州の地域個体群間にも遺伝的分化 が生じつつあることを示した。今回の解析結 果においても、沖縄島と本土のトビハゼ個体 群間に大きな遺伝的差異が認められ、黒潮障 壁による隔離が示唆された。

沖縄島では、トビハゼとミナミトビハゼが 同所的に生息している。ミナミトビハゼは、 南アフリカからサモアに至るインド・太平洋 の広い範囲に分布し、琉球列島では沖縄島の 他、久米島、宮古島、池間島、石垣島、小浜島、 西表島、与那国島に広く分布する。沖縄島で はほぼ全域に生息し、トビハゼの局限分布と は対照的である(沖縄県 2018)。沖縄島では、 これまでに行われた大規模な埋め立て事業に よって多くの生息地が消失したと考えられて おり、現在の生息地はそれらによって縮小・ 分断された結果残された貴重な生息地とされ ている(沖縄県 2018)。佐敷のハプロタイプ 多様度が 0.250 と極めて低かったのは、ミナ ミトビハゼとの競争に加え、生息干潟の縮小 や消失が要因であると推察される。また、羽 地においてはハプロタイプ多様度が 0.833 と 比較的高かったものの、内海の埋め立てなど が行われており(沖縄県 2018)、個体群密度 や遺伝的多様性の低下が懸念されるため、今 後の干潟環境の変化を注視する必要がある。

本研究の解析結果から、トビハゼのハプロ タイプ多様度は多くの調査地点で 0.8 以上で あり、遺伝的多様性の高さが窺えた。一方、ハ プロタイプ多様度が比較的低い地点(芦田川・ 僧都川・佐敷)も確認された。本種が生息する 干潟は瀬戸内海の沿岸に沿って連続的な形成 がみられず、その分布域も限られている。さ らに、生息域の環境は人間活動の影響を受け やすく干潟が分断化され、それぞれの面積も 縮小する過程で個体群の孤立が進み、局所絶 滅を招く恐れがある。このことを踏まえ、本 種の保全を検討するにあたっては、個体群の 形成過程を考慮し、生息地点や隣接する地点 間ごとの適切な保全対策が求められる。

謝辞

本研究を行うにあたり、調査にご協力頂い た株式会社いであの中村匡聡様と岡村哲郎様、 石崎公康様、桜井 雄様、田端重夫様、笠岡市 立カブトガニ博物館の東川洸二郎様ならびに 福山大学の横山勇一氏と益田雄基氏に心から

感謝申し上げる。なお、本研究は福山大学グ リーンサイエンス研究センターの助成を受け、 福山大学私立大学研究ブランディング事業 「瀬戸内の里山・里海学」の一環として実施 した。

引用文献

- 明仁・坂本勝一・池田祐二・藍澤正宏 (2013). ハゼ亜目.日本産魚類検索:全種の同定. 第三版. (編)中坊徹次.東海大学出版 会,東京, p.1347-1608,2109-2211.
- 愛媛県 (2014). https://www.pref.ehime.jp/ reddatabook2014/detail/04_06_001190_3.ht ml (閲覧 2020 年 9 月 16 日).
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. (2005). Arlequin version 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evol. Bioinform. 1: 47–50.
- 福岡県 (2014). https://www.fihes.pref.fukuoka. jp/kankyo/rdb/rdbs/detail/201400050 (閲覧 2020 年 9 月 16 日).
- Graham, J. B. (1997). Air-breathing fishes: evolution, diversity, and adaptation. San Diego. Academic Press.
- 広島県 (2014). https://www.pref.hiroshima.lg.jp/ soshiki/47/investigation-tobihaze.html (閲覧 2020 年 9 月 16 日).
- Huson, D. H., Bryant, D. (2006). Application of phylogenetic networks in evolutionary studies, Mol. Biol. Evol. 23: 254–267.
- 池辺一仲里裕子 (2011). http://pro.tok2.com/ ~mudskipper/files/japanese/J-distribution. html#section1 (閲覧 2020 年 9 月 16 日).
- 井内美郎 (1998). 瀬戸内海の成立と地形・地 質.新・瀬戸内海文化シリーズ1「瀬戸 内海の自然と環境」(編著)柳 哲雄. (監 修)合田 健. 神戸新聞総合出版センター, 兵庫, p.12–33.
- 岩田明久 (1989). トビハゼ. 日本の淡水魚. (編・監修)川那部浩哉・水野信彦・細 谷和海. 山と渓谷社, 東京, p. 644.
- 環境省 (2007). 第 7 回自然環境保全基礎調査 浅海域生態系調査(干潟調査)報告書(平 成 19).

環境省 (2018). 瀬戸内海における藻場・干潟

- 分布状況調查. http://www.env.go.jp/ water/heisa/survey/result_setonaikai.html (閲覧 2020年9月16日).
- 環境省 (2020). 汽水・淡水魚類レッドリスト. http://www.env.go.jp/press/press.php?serial= 16264 (閲覧 2020 年 9 月 16 日).
- 川根昌子・和田恵次 (2015). 汽水性希少カニ 類 タイワンヒライソモドキ
 Ptychognathus ishii Sakai, 1939 (モクズガ ニ科)の日本沿岸における遺伝的集団構
 造. 日本ベントス学会誌 70: 13-20.
- Kawate, M., Wada, K., Umemoto, A., Miura, T. (2012). Genetic population structure and life history characteristics of the rare brackishwater crab *Deiratonotus kaoriae* Miura, Kawane and Wada, 2007 (Brachyura, Camptandriidae) in western Japan. J. Crust. Biol. 32: 119–125.
- 小林知吉・道津喜衛・三浦信男 (1972). トビハ ゼの卵発生及び仔稚魚の飼育. 長崎大学 水産学部研究報告 33: 49-62.
- Kocher, T. D., Conyoy, J. A., McKaye, K. R, Stauffer, J. R. (1993). Similar morphologies of cichlid fish in Lakes Tanganyika and Malawi are due to convergence. Mol. Phylogenet. Evol. 2: 158–165.
- 高知県 (2018). https://www.pref.kochi.lg.jp/ soshiki/030701/reddatabook-animal.html (閲 覧 2020 年 9 月 16 日).
- Kokita, T., Nohara K. (2011). Phylogeography and historical demography of the anadromous fish *Leucopsarion petersii* in relation to geological history and oceanography around the Japanese Archipelago. Mol. Ecol. 20: 143–164.
- 国土交通省中国地方整備局港湾空港部 (2007). 瀬 戸 内 海 の 環 境 デ ー タ ベ ー ス . https://www.pa.cgr.mlit.go.jp/chiki/suishitu/ seto/env/env_002.html (閲覧 2020 年 9 月 16 日).
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for bigger datasets. Mol. Biol. Evol. 33: 1870–1874.
- Larson, H. K., Takita, T. (2004). Two new species of *Periophthalmus* (Teleostei: Gobiidae: Oxudercinae) from northern Australia, and a re-diagnosis of *Periophthalmus novaeguineansis*. Beagle 20: 175–185.
- Librado, P., Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25: 1451–1452.
- 的場 実・道津善衛 (1977). 有明海産トビハ
- Aquatic Animals | October 23, 2020 | Sakamoto et al. AA2020-8

ゼの産卵前行動.長崎大学水産学部研究 報告 43:23-33.

- 松浦啓一・瀬能 宏 (2012). 黒潮と魚たち. 黒 潮と魚たち. (編) 松浦啓一. 東海大学 出版会, 秦野, p. 3-16.
- 三 重 県 (2015). http://www.pref.mie.lg.jp/ common/content/000401551.pdf (閲覧 2020年9月16日).
- Meyer, A., Kocher, T. D., Basasibwaki, P., Wilson, A. C. (1990). Monophyletic origin of Lake Victoria Africa cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequence. Nature 347: 550–553.
- 向井孝彦・杉本真奈美 (2006). 日本産トビハ ゼのミトコンドリア DNA 多型に基づく 遺伝的集団構造の解析. 魚類学雑誌 53: 151-158
- 岡山県 (2020). https://www.pref.okayama.jp/ uploaded/life/656841_5702289_misc.pdf(閲 覧 2020年9月16日).
- 沖縄県 (2018). http://www.pref.okinawa.jp/site/ kankyo/shizen/hogo/okinawa_rdb_doubutu. html (閲覧 2020 年 9 月 16 日).
- 佐賀県 (2016). https://www.pref.saga.lg.jp/

kiji00354260/3_54260_42532_up_6rbyjtwj. pdf(閲覧 2020 年 9 月 16 日).

- 清水則雄・内藤順一・大塚 攻・坂井陽一・橋 本博明 (2011). 準絶滅危惧ハゼ科トビハ ゼ Periophthalmus modestus の広島県にお ける現状.広島大学総合博物館研究報告 3:97-102.
- 高木基裕・登山賢斗・山田裕貴・酒井治己 (2019). 沖縄島のクサフグ個体群の遺伝 的異質性. Fauna Ryukyuana 49: 1–11.
- 田村 修 (1977). 陸に上がった魚の謎―呼 吸・排泄の仕組み. アニマ 53: 24-28.
- Tamura, K., Nei, M., Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 11030–11035.
- 田中正彦 (1999). 江戸川放水路におけるトビ ハゼの生態. 千葉県生物学会(編). pp. 887-897. 千葉県動物誌. 文一総合出版, 東京.
- Zhang, J., Taniguchi, T., Takita, T., Ali, A. B. (2003). A study on the epidermal structure of *Periophthalmodon* and *Periophthalmus* mudskippers with reference to their terrestrial adaptation. Ichthyol. Res. 50: 310–317.

Received: 31 August 2020 | Accepted: 21 October 2020 | Published: 23 October 2020

Aquatic Animals | October 23, 2020 | Sakamoto et al. AA2020-8

Hanlotyne	Chiba	Mie	Okaya	ama		Hirosih	ıma		Yamag	uchi		Ehime		Kochi	Fukuoka	Saga	Okinawa	Accession
ad Goodman	EDO	IBI	TKH	OSM	ASD	SIN	FUJ	NUT	SAB	КОҮ	KOK	NAK	SOU	SMT	CHI	ARI KAS	HAN SAS	number
Hap. 1	1		4	3	6	5	8	7	3	2	7	9		7	2			LC589372
Hap. 2					1													LC589373
Hap. 3	4				2	1	4		2			2						LC589374
Hap. 4				1	e,					1								LC589375
Hap. 5					1	1	3											LC589376
Hap. 6					1	1	7								1			LC589377
Hap. 7	7												5			1		LC589378
Hap. 8	1																	LC589379
Hap. 9	1	б	7											1		1		LC589380
Hap. 10	1																	LC589381
Hap. 11							1											LC589382
Hap. 12				1		1	1	1										LC589383
Hap. 13			1				3					3						LC589384
Hap. 14				1		1	1					4						LC589385
Hap. 15						1	1					7						LC589386
Hap. 16							1											LC589387
Hap. 17							1											LC589388
Hap. 18						1												LC589389
Hap. 19						7						1						LC589390
Hap. 20										1					1			LC589391
Hap. 21																	2	LC589392
Hap. 22																	1	LC589393
Hap. 23																	1	LC589394
Hap. 24		1																LC589395
Hap. 25		1														2 1		LC589396
Hap. 26		1																LC589397
Hap. 27		1																LC589398
Hap. 28												С						LC589399
Hap. 29											1							LC589400
Hap. 30											1	7						LC589401
Hap. 31											1							LC589402
Hap. 32											1							LC589403
Hap. 33											1							LC589404
Hap. 34				1														LC589405
Hap. 35				1														LC589406
Hap. 36				1														LC589407
Hap. 37				1														LC589408

Appendix 1. Frequency distribution of 68 haplotypes in 19 local samples of mudskipper Periophthalmus modestus in Japan. See Table 1 for detailed information of local samples.

ype																				
q	DO IE	L It	KH C	MSC	ASD	SIN	FUJ	NUT	SAB	КОҮ	KOK	NAK	SOU	SMT	CHI	ARI	KAS	HAN	SAS	number
													2							LC589409
								1												LC589410
								1												LC589411
								1												LC589412
								1												LC589413
																			7	LC589414
																			1	LC589415
															1					LC589416
															1					LC589417
															1					LC589418
									1											LC589419
									1											LC589420
									1											LC589421
									1											LC589422
			1						1											LC589423
														1						LC589424
														1						LC589425
												1								LC589426
												1								LC589427
												1								LC589428
																7				LC589429
																	1			LC589430
																	1			LC589431
																	1			LC589432
																	1			LC589433
										б										LC589434
										1										LC589435
			1																	LC589436
			1																	LC589437
						1														LC589438
						1														LC589439
uals	10 7		10	10	17	16	26	7	10	8	L	26	7	5	7	5	9	4	8	
ype	6 5		9	8	9	11	11	9	7	5	9	11	7	4	9	б	9	б	2	
stity 0.	844 0.8.	57 0.	.844 0.	.933 (0.706	0.908	0.874	0.952	0.911	0.857	0.952	0.908	0.476	0.900	0.952	0.800	1	0.833	0.250	
ersity 0.0	1437 0.00	444 0.0	1356 0.0	01326 0.	01221 0	.01333 0	0.01252 (0.01587	0.01911	0.01238	0.02127	0.01073	0.00159	0.020	0.01556	0.015	0.01733	0.00833	0.001	