

ミトコンドリア DNA 分析によるムツゴロウの 遺伝的集団構造

兼森雄一・竹垣 毅・夏苺 豊

〒852-8521 長崎市文教町1-14 長崎大学大学院生産科学研究科

(2006年1月19日受付; 2006年4月14日改訂; 2006年4月18日受理)

キーワード: 有明海, 遺存種, 遺伝的多様性, 絶滅危惧種, 大陸, 地理的隔離, ハゼ科, 瓶首効果, 八代海

魚類学雑誌
Japanese Journal of
Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 2006

Yuichi Kanemori, Takeshi Takegaki* and Yutaka Natsukari. 2006. Genetic population structure of the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* inferred from mitochondrial DNA sequences. Japan. J. Ichthyol., 53(2): 133-141.

Abstract The genetic population structure of the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* was investigated based on nucleotide sequence data from the mitochondrial control region (472 bp) of 131 individuals collected from four localities in Ariake Bay, two in Yatsushiro Bay, Kyushu, Japan, one in Korea (Suncheon) and one in China (Zhe Jiang). A total of 53 composite haplotypes were observed from 49 permutation sites. The estimated haplotype tree and pairwise *F_{st}* showed genetic differentiation among the Suncheon, Zhe Jiang and Japanese populations. The structures of the haplotype tree and network, and low genetic diversity of the Japanese populations compared to that at Zhe Jiang suggested that a bottleneck effect had occurred in the former after being isolated from the continental population by rising sea levels (i.e., relictual species). Based on the number of unique haplotypes in the Japanese populations and nucleotide substitution rate, the estimate of the divergence time for the Japanese and Zhe Jiang populations was much greater than that expected for the apparently relictual species distributed in Ariake Bay. The Ariake and Yatsushiro populations formed a single group in the haplotype tree, although the estimate of pairwise *F_{st}* showed a significant difference between the populations, probably associated with the differences in frequency of the most dominant haplotype. Accordingly, the two populations seemed to be genetically differentiated from each other, probably due to the geographical isolation.

*Corresponding author: Graduate School of Science and Technology, Nagasaki University, 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan (e-mail: takegaki@nagasaki-u.ac.jp)

△ ムツゴロウ *Boleophthalmus pectinirostris* は日本, 朝鮮半島および中国大陸沿岸に分布する水陸両生のハゼ科魚類である (Murphy, 1989; Yang et al., 2003; Jeong et al., 2004). 日本では有明海とその南に連なる八代海の泥干潟の一部にのみ生息し (明仁ほか, 2000), これらの海域の特産魚となっている (田北, 2000). 本種は有明海奥部で古くから食用とされている水産有用種であるだけでなく, 有明海の泥干潟の象徴種として観光資源のひとつに位置づけられており (例えば, 佐

賀県芦刈町), 社会的にも重要な魚種である. しかし, 1970年代から個体数と生息面積の減少が顕著になり, 漁獲量も激減している (佐賀農林水産統計, 1959-2004). 現在は絶滅のおそれのある野生生物として環境省のレッドデータブックで絶滅危惧II類に選定されており (環境省, 2003), 本種の保護・管理対策が急務となっている.

生物資源, 特に絶滅危惧種の保護・管理には, 実施単位とすべき遺伝的に独立した個体群を識別し, 個体群の絶滅確率を左右する遺伝的多様性を

把握しておく必要があるため(鷲谷・矢原, 1996; 小池・松井, 2003), 対象となる個体群の内部や個体群間の遺伝的変異の理解が不可欠である(Feral, 2002; Ward, 2002). ムツゴロウの遺伝的な集団構造は過去にアロザイム分析によって検討され, 韓国(木浦)と日本の有明海の個体群間には遺伝的な差違があることが示唆されているが(佐賀県有明水産振興センター, 1993), 国内の有明海と八代海の海域間の遺伝的分化については検討されていない.

ムツゴロウを含む有明海の特産生物の多くは, 中国大陸と陸続きだった1.5–1.8万年前の最終氷期に日本に分布域を広げ, その後の海水面の上昇によって取り残された大陸沿岸性遺存種と考えられており(宮地ほか, 1953; 佐藤・田北, 2000), 中国大陸沿岸域に共通種や近縁種が分布している. しかし, これまでにその系統地理が遺伝的に検証された例は限られており(佐藤・田北, 2000), 分化のプロセスを解明するには至っていない.

本研究では, ムツゴロウの遺伝的集団構造を解明する一貫として, ミトコンドリアDNA塩基配列を用いて, 日本の個体群が大陸個体群を起源とする遺存種であることの分子的証拠を得ることを目的とする. さらに, 日本と大陸の個体群の遺伝的距離や遺伝的多様性を比較し, 遺存種形成に至る分化の歴史的プロセスを考慮した上で, 日本国内の有明海と八代海の個体群間の遺伝的分化の程度を検討する.

材料と方法

材料 標本には, 有明海の4地点(本明川,

$n=9$; 六角川, $n=14$; 唐人川, $n=15$; 緑川, $n=12$)と八代海の2地点(松橋, $n=33$; 鏡川, $n=11$)で採集した94個体と, 韓国南岸の順天湾で採集した10個体および現地の市場で購入した17個体, 中国浙江省寧海県の市場で購入した10個体の合計8地点131個体のムツゴロウを用いた(Table 1, Fig. 1). 標本は1991年から2004年にかけて集められ, 有明海本明川のサンプルは干拓事業により諫早湾が閉め切られる以前に採集されたものである. また, 系統樹を作成する際の外群として, 1995年にマレーシアのパナンで採集された同属の *Boleophthalmus dussumieri* を1個体用いた(Table 1).

DNA抽出-PCR増幅-シークエンス DNAの抽出は凍結保存した供試魚の筋肉片または鱗からフェノール・クロロホルム法で行った(Asahida et al., 1996). ミトコンドリアDNAの調節領域のPCR増幅(Saiki et al., 1988)にはL15998-ProとH884-12Sのプライマーセット(Miya and Nishida, 2000)を用いた. TaqポリメラーゼにはZ Taq DNAポリメラーゼ(宝酒造)を用いて, 鋳型DNAを100 ng, 10×Z-Taq Bufferを5 μ l, dNTP Mixture (2.5 M each)を4 μ l, 各プライマーをそれぞれ0.1 μ l (100 pmol/ μ l), Taqポリメラーゼを0.5 μ l (2.5 units)に滅菌蒸留水を加えて総量を50 μ lにした反応液で行った. PCR装置にはIcycler(バイオラッド社)を用いて, 98°Cで1分間加熱した後, 98°Cで5秒間, 64°Cで5秒間, 72°Cで20秒間の温度サイクルを30回繰り返し, 最後に72°Cで2分間加熱した. 得られたPCR産物(3–5 μ l)を1.5%アガロースゲルによって電気泳動した後, エチジウムブロマ

Table 1. Sampling locations, sampling methods, year of collection and the number of *Boleophthalmus pectinirostris* samples used for mtDNA analysis

Species	Locality	Year	<i>n</i>
<i>Boleophthalmus pectinirostris</i>			
Ariake Bay	Honmyo River (field)	1991	9
	Rokkaku River (field)	1991, 2004	14 (6, 8)
	Tojin River (field)	2002	15
	Midori River (field)	1991, 2004	12 (3, 9)
Yatsushiro Bay	Matsubase (field)	2002	33
	Kagami River (field)	2004	11
	Korea	Suncheon (market, field)	2003, 2004
China	Yuexi Zheng (market)	2004	10
Outgroup <i>B. dussumieri</i>			
Malaysia	Kuala Selangor (field)	1995	1

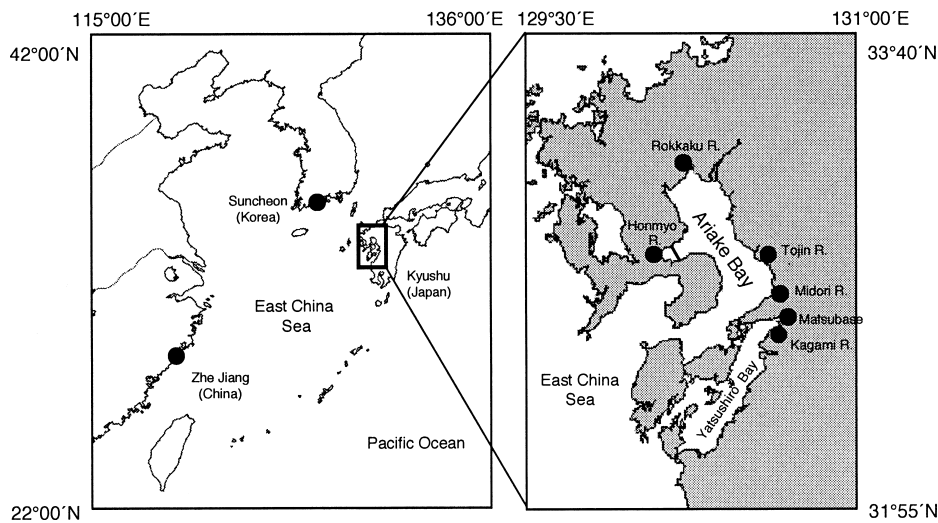


Fig. 1. Sampling localities of *Boleophthalmus pectinirostris* in Korea, China (left) and Japan (right). The solid line across part of Ariake Bay (Isahaya Bay) indicates a sea dike (samples from Honmyo River collected before construction of the sea dike).

イド染色して増幅の確認を行った。PCR産物をUltraClean PCR Clean-up Kit (エムオーバイオラボラトリーズ社)を用いて処理した後、BigDye Terminator Kit ver. 3 (アプライドバイオシステムズ社)を用いてシーケンス反応を行った。塩基配列の決定にはABI PRISM 3100 Genetic Analyzerを用いた。

データ解析 塩基配列の多重アライメントにはCLUSTAL X (Thompson et al., 1997)を用いた。MEGA2 (Kumar et al., 2001)を用いて木村の2変数モデル (Kimura, 1980) によって遺伝距離を計算し、それに基づいてUPGMA法 (Sokal and Michener, 1958) による系統樹を作成してハプロタイプの系統関係を推定した。擬似データセットを1,000回作出することによるブートストラップ確率として系統樹の各枝における信頼性を求めた。個体群間の分岐年代を推定するためにMEGA2を用いて平均塩基置換率を算出した。また、個体群間の遺伝的構造を比較するため、PAUP*4.0b10 (Swofford, 2002)を用いて最節約樹を推定し、無根ネットワークとして示した。さらに、ARLEQUIN ver 2.001 (Schneider et al., 2001)を用いて、個体群の分化の程度を示すペアワイス F_{st} 値 (Slatkin, 1995) の計算を行った。また、個体群の遺伝的多様性を明らかにするために、ARLEQUIN ver 2.001 (Schneider et al., 2001) によってハプロタイプ多様度と塩基多様度を求めた。

結 果

全131個体についてミトコンドリアDNAの調節領域前半の472 bpをそれぞれ決定した。それらには49塩基座 (10.4%) で塩基置換がみられ、合計53個のハプロタイプが検出された (Table 2)。海域間で共通するハプロタイプは、有明海と八代海の間でのみ確認された (Table 2)。日本と韓国、日本と中国および韓国と中国の個体群間の平均塩基置換率はそれぞれ1.4%、2.6%、2.6%であった。

遺伝的集団構造 UPGMA法で作成したハプロタイプ系統樹では、ブートストラップ値 (49–78) は高くはなかったが、浙江省のグループが分岐した後日本と順天湾のグループが分岐し、順天湾の1ハプロタイプ (h47) を除いて日本、順天湾、浙江省の3グループに分かれた (Fig. 2)。一方で、有明海と八代海の固有のハプロタイプはそれぞれまとまったグループを形成しなかった (Fig. 2)。

系統樹と同様にハプロタイプネットワークにおいても、日本、順天湾、浙江省は3グループに分かれ、日本の個体群は1つにまとまった (Fig. 3)。浙江省のグループでは各ハプロタイプ間の塩基置換数が多いためネットワークが大きく広がっていたが、日本と順天湾のグループはそれぞれグループ内で最も優占的なハプロタイプ (日本: h1, 順天湾: h32) を中心とする花火型の構造となった (Fig. 3)。日本と順天湾の個体群は、浙江省の個体群よりもハプロタイプ多様度 (h) と塩基多様度 (π)

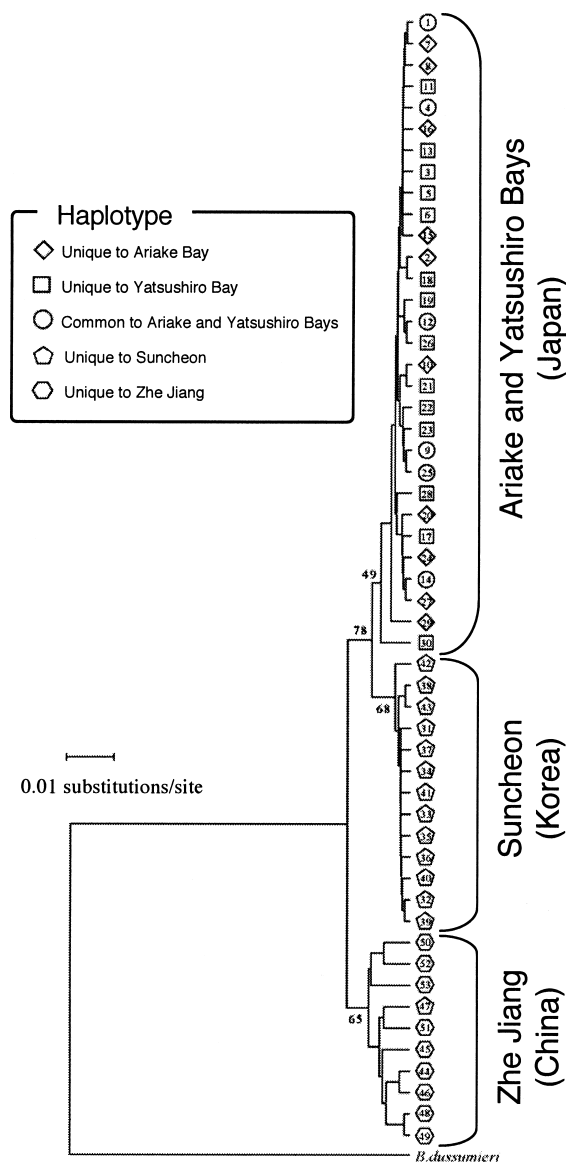


Fig. 2. UPGMA tree based on genetic distances estimated from mtDNA control region haplotypes (472 bp) of *Boleophthalmus pectinirostris* and one outgroup taxa (*B. dussumieri*). Numbers beside internal branches indicate bootstrap probabilities based on 1,000 pseudoreplicates. Numbers inside haplotype symbols indicate the number of each haplotype (Table 2).

の値がいずれも小さかった (Table 3) .

有明海と八代海の遺伝的分化 国内で最も優占的なハプロタイプ (h1) の有明海における出現頻度 (44.4–64.3%) は八代海 (9.1–36.4%) よりも高かった (Fig. 4) . 有明海と八代海のそれぞれ同一海域内の採集地点間には有意な遺伝的分化がみられなかったが (有明海: $F_{st} = -0.035$ – -0.012 ; 八代海:

0.029) , 海域間には有意な分化が認められた (Table 4) . 有明海と八代海間の分化の程度は, それぞれの海域の個体群と順天湾および浙江省の個体群を比べた値よりも低かった (Table 4) .

考 察

大陸沿岸性遺存種 ハプロタイプ系統樹では, ブートストラップ値 (49–78) がやや低い, 日本と韓国順天湾と中国浙江省の個体群がそれぞれ独立したグループを形成した. これらの個体群はそれぞれ地理的に大きく隔たれており, また, F_{st} 検定ではいずれの個体群間にも有意差が認められたことから, 各個体群がそれぞれ遺伝的に分化していると考えられた.

系統樹は, まず日本と順天湾の個体群と浙江省の個体群が, 続いて日本の個体群と順天湾の個体群が分岐していた. また, 日本と順天湾の個体群は浙江省の個体群よりも塩基多様度とハプロタイプ多様度の値が小さく, 過去に個体群の個体数が減少して遺伝的多様性が失われる創始者効果もしくはボトルネック効果を受けたことが示唆された (Nei et al., 1975) . このことは, ハプロタイプのネットワーク構造が不連続であることや, 浙江省の個体群のネットワークが大きく広がっているのに対して, 日本と順天湾の個体群のネットワークがそれぞれ優占的なハプロタイプを中心に比較的小さな塩基置換率で放散した花火型になっていることから支持された (小池, 2003) . これらの結果から, 日本のムツゴロウ個体群は, 地理的隔離を受けて大陸の個体群から分断された創始者個体群に由来することが示唆され, いわゆる大陸沿岸性遺存種であると考えられた (宮地ほか, 1953) .

有明海にはムツゴロウの他にワラスボ *Odontamblyopus laceped* やハゼクチ *Acanthogobius hasta* などの魚類をはじめ貝類や甲殻類, 多毛類など様々な分類群で, 大陸に同種や近縁種が分布する大陸沿岸性遺存種と考えられる種が数多く生息している (佐藤・田北, 2000) . その起源は日本列島が中国大陸と陸続きだった今から 1.5–1.8 万年前の最終氷期に, 大陸から日本列島まで分布を広げた内湾性種群の一部が, その後の海水面の上昇によって日本各地の内湾に取り残されたことに始まるとされているが (下山, 2000) , これまでにその系統関係が遺伝的に検証された例はごくわずかにすぎない (佐藤・田北, 2000) . 例えば, 二枚貝のアゲマキ *Sinonovavula constricta* においては, 国内産と韓国産の個体群が地方品種レベルの遺伝距離

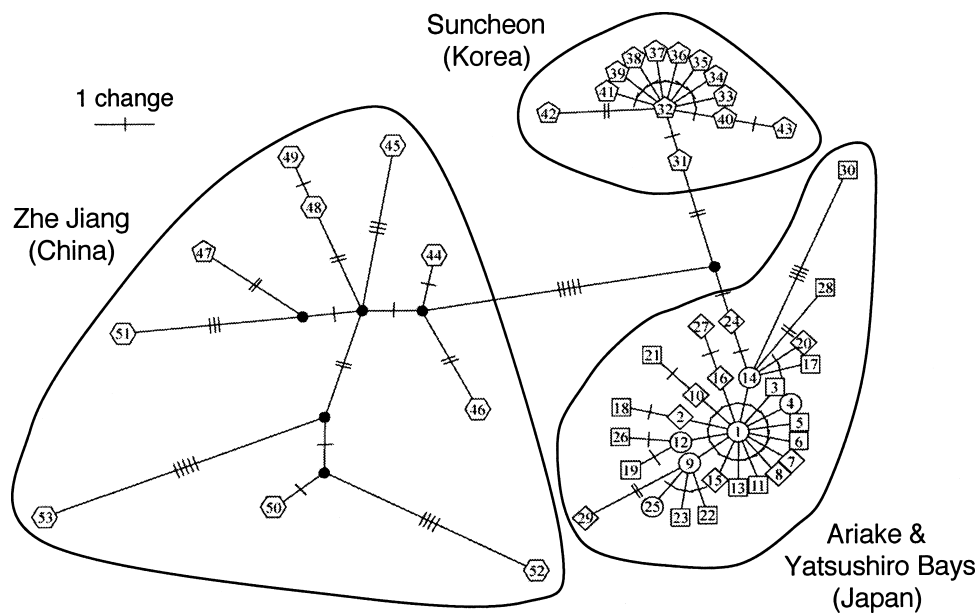


Fig. 3. Parsimony network of the mtDNA control region haplotypes (472 bp) of *Boleophthalmus pectinirostris*. Base substitutions are indicated by slashes on the network. See Fig.2 and Table 2 for description of symbols and numbers. Small black circles indicate hypothetical haplotypes.

(Neiの遺伝距離 $D=0.012$) にあることがアロザイム分析によって示され、両個体群が地史的にごく新しい時代に分化したことが示唆されている(古川ほか, 1996)。しかし、本研究で確認された日本のムツゴロウ個体群に固有の多数のハプロタイプがわずかに1万数千年で出現したとは考えにくく、より古い時代に大陸から分化したと推察される。東アジアに分布するトミヨ属個体群の分岐年代の推定に用いられたミトコンドリアDNAの調節領域の進化速度 $0.98\text{--}2.71\%/100$ 万年 (Takahashi and Goto, 2001) を本研究に適用すると、日本のムツゴロウ個体群が大陸から分岐してから $96\text{--}265$ 万年が経過していると推定された。また、哺乳類で報告されている同じ調節領域の非常に速い進化速度の推定値 $10.6\%/100$ 万年 (Loftus et al., 1994) を適用したとしても分岐後 24 年以上が経過している計算になり、最終氷期に日本に取り残されたことで

大陸の個体群から分岐したと考えられているこれまでの有明海における大陸遺存種の起源とは異なると考えられた。

全世界的な海面上昇と下降は過去 70 万年間に $7\text{--}8$ 万年周期で繰り返されており (Emiliani, 1978), 前述の推定分岐年代から日本のムツゴロウ個体群が大陸から分化した後に少なくとも数回の海面上昇と下降を経験していると考えられる。低海面期の海面はいずれも現在よりも約 100 m も低く、有明海は陸化していたと考えられており、化石記録からも有明海特産種と類似した大陸の内湾性の貝類が過去の海面変動に同調するように繰り返し九州に分布したことが明らかになっている (下山, 2000)。日本のムツゴロウ個体群が最終氷期以前に有明海に分布していた証拠はないが、大陸から分化した後は大陸個体群と交流することなく、海岸線の進退に伴って分布域を移動させなが

Table 3. Measures of genetic diversity within populations. Number of haplotypes (nh); haplotype diversity (h) and nucleotide diversity (π) within eight mudskipper populations from Japan, Korea and China

	ni	nh	$h \pm SD$	$\pi \pm SD$
Japan	94	30	0.794 ± 0.041	0.0031 ± 0.0021
Suncheon	27	14	0.775 ± 0.086	0.0041 ± 0.0027
Zhe Jiang	10	9	0.978 ± 0.054	0.0138 ± 0.0081

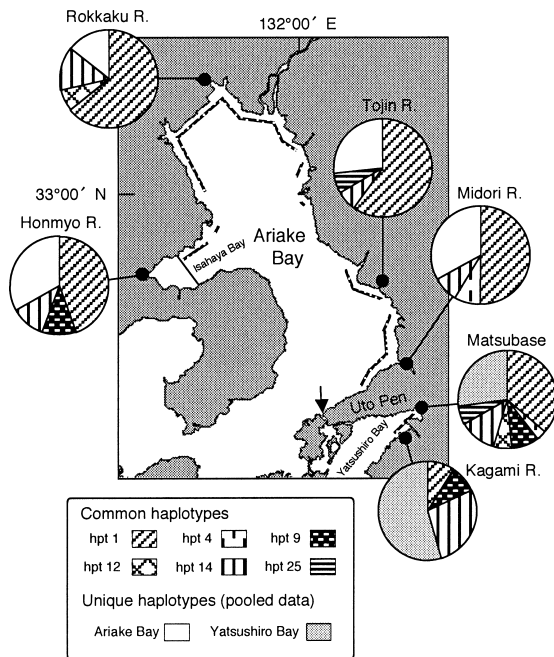


Fig. 4. Haplotype frequencies in 6 Japanese populations (4 in Ariake Bay and 2 in Yatsushiro Bay) of *Boleophthalmus pectinirostris*. The pie diagrams illustrate each common haplotype between the Ariake and Yatsushiro Bay populations, and pooled unique haplotypes in the Ariake and Yatsushiro Bay populations, respectively. Shaded lines along the coast indicate the distribution range of *Boleophthalmus pectinirostris* observed in 2003 (Takegaki et al., 2005). Arrow indicates Misumi Channel.

ら個体群が維持されたと推察される。

系統樹とハプロタイプネットワークでは、韓国順天湾から検出されたハプロタイプ (h47) が中国浙江省のグループに入った。これらの個体群間で現在、遺伝的交流があるとは考えにくい。朝鮮半島と大陸の間で過去に移住が2回以上あった可能性が示唆された。塩基置換率の値から順天湾

Table 4. Pairwise estimates of F_{st} based on mtDNA data

	<i>n</i>	A	Y	S
Ariake Bay	50	—		
Yatsushiro Bay	44	0.039*	—	
Suncheon	27	0.275**	0.167**	—
Zhe Jiang	10	0.199**	0.074**	0.136**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

の個体群も日本の個体群とほぼ同時期に浙江省の個体群から分化したと考えられることから、海水面の変動が繰り返される過程でそのような移住があった可能性も考えられる。しかし、このようなハプロタイプは1つしか検出されなかったため、この仮説を検証するには、今後両個体群のより多くのサンプルの解析および両個体群の間に位置する中国北部沿岸の個体群の調査が必要と思われる。また、本種は、韓国と中国でも食用にされていることから、過去に両個体群間で人為的な移植があった可能性も否定できない。

有明海と八代海の個体群間の遺伝的分化 有明海と八代海のムツゴロウ個体群は系統樹では1つのグループにまとまったが、両海域で最も優占的なハプロタイプ (h1) の出現頻度は有明海で有意に高かった (F_{st} 検定)。このハプロタイプ1は、ハプロタイプネットワークで日本のグループの中心に位置する最も祖先的なハプロタイプであり、有明海と八代海の個体群間でその出現頻度に異なる傾向がみられたことは、元々1つだった両海域の個体群が遺伝的な母体を共有しながらも分化しつつあることを示唆している。本研究と同様に、アラビア湾内外のバショウカジキ *Istiophorus platypterus* 個体群でも、個体群間の遺伝的分化がハプロタイプ間の遺伝的距離ではなく、ハプロタイプの頻度差によって示されている (Hoolihan and Premanandh, 2004)。有明海と八代海のムツゴロウ個体群間の系統的な差違は外部形態の比較からも示唆されており (佐賀県有明水産振興センター, 1993)、本研究はこの報告を支持する結果となった。

海洋生物では一般に分散能力が遺伝子流動のレベルに強く関与していると考えられている (Waples, 1987; Palumbi, 1992; Doherty et al., 1995; Shulman and Bermingham, 1995)。ムツゴロウは干潟に加入後は主に干潮時の干潟上で活動するため、長距離分散する機会はほとんど浮遊仔魚期に限られると考えられる。干潟の泥巣穴内に産み付けられた本種の卵は、孵化までの約1週間、雄親によって保護され (道津, 1974)、孵化仔魚は巣穴を離れて再び干潟に着底するまでの約1ヶ月間浮遊生活を行う (古賀ほか, 1989)。主要な分布域である有明海奥部では、浮遊仔魚が河口域だけでなく沿岸海域の表層付近でも採集されており (佐賀県有明水産振興センター, 1993)、潮位差が最大で4 mを超える有明海と八代海では、浮遊仔魚は潮流に乗って湾内に広く分散する可能性があ

る。しかし、両海域における本種の分布域は宇土半島を挟んで約30 kmにわたって途切れているだけでなく (Fig. 4; 竹垣ほか, 2005), 両海域をつなぐ3つの瀬戸はいずれも幅が狭く, 分布域の境界に最も近い宇土半島先の三角ノ瀬戸の幅は約300 mに過ぎない (Fig. 4)。また, 両海域間の海水交換量は, それぞれの海域が外海と交換する流量の1%に未だないと推定されているほか (安井ほか, 1954, 1955), 漂流ハガキを用いた有明海と八代海の表層水の流動特性調査においても, それぞれの海域で投入されたハガキは両海域を繋ぐいずれの瀬戸も通過することはなかった (南部, 1966)。これらのことから, 本種の浮遊仔魚が有明海と八代海を交流する可能性は極めて低いと推察される。

干潟に加入後のムツゴロウは, 最初の冬を迎える前には雌雄ともに各個体が巣穴を所有し (竹垣未発表データ), その周辺の干潟表面に摂餌なわばりを形成するため定住性は高いと考えられるが, 季節的に最大で2 kmも移動する成魚が標識再捕調査により確認されている (小野原・古賀, 1992)。しかし, 両海域の分布域を分断する宇土半島沿岸には本種が移動可能な泥干潟はなく, また遊泳して移動できる距離でもないと思われる。本種と同様に有明海の泥干潟を生息場所として利用するハゼ科魚類ワラスボは, より遊泳性が高いにもかかわらず八代海に分布を拡大するには至っていない (田北, 2000)。このように有明海と八代海の間では個体の自由な往来が制限されているため, 本研究で検出された両海域間の遺伝的差異は地理的隔離によるものと考えられる。

これらの結果から, 国内のムツゴロウの保護・管理を実施する際には, 有明海と八代海の個体群をそれぞれ独立した遺伝的ユニットとして区別し, それぞれ固有の保護・管理計画を策定する必要性が示された。特に八代海における本種の分布域内の干潟総面積は約8 km²に過ぎず (竹垣ほか, 2005; 国土地理院発行2002年修正5万分の1地形図に基づき推定), 本種の遺伝的多様性を保全するために, その生息地を早急に保護区に制定する必要がある。本研究では, 有明海の局所個体群間に遺伝的な分化は見られなかったが, より微細な遺伝的構造の解析によって変異が検出される可能性もあることから (渡辺・西田, 2003), 有明海内においても遺伝的側面に配慮のない人為的移入は避けるべきであろう (田北ほか, 2000)。

謝 辞

本研究の遂行ならびに本論文の作成に終始懇切なるご指導, ご助言を賜った岐阜大学の向井貴彦博士に心より感謝申し上げます。本研究のサンプルの入手にあたっては, 韓国釜慶大学の白根旭博士, 長崎魚市株式会社の呉永平氏, 長崎大学の田北徹名誉教授, 満潮隆寛氏, 吉田雄氏, 佐藤淳哉氏に御協力頂いた。また, 本研究をすすめるに当たり, 貴重な御意見と励ましを賜った長崎大学の和田年史博士に感謝する。なお, 本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金基盤研究B海外学術調査 (課題番号: 15405028) によって行われた。

引用文献

- 明仁・坂本勝一・池田祐二・岩田明久. 2000. ハゼ亜目. 中坊徹次 (編), pp. 1139–1310, 1606–1628. 日本産魚類検索: 全種の同定, 第2版. 東海大学出版会, 東京.
- Asahida, T., T. Kobayashi, K. Saitou and I. Nakayama. 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea. *Fish. Sci.*, 62: 727–730.
- Doherty, P. J., S. Planes and P. Mather. 1995. Gene flow and larval duration in seven species of fish from the Great Barrier Reef. *Ecology*, 76: 2373–2391.
- 道津善衛. 1974. 有明海の魚族たち, ムツゴロウとトビハゼ. 西日本新聞社 (編), pp. 144–182. 九州・沖縄の生き物たち1. 西日本新聞社, 福岡.
- Emiliani, C. 1978. The case of the ice age. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 37: 349–352.
- Feral, J. P. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 268: 121–145.
- 古川泰久・夏苺 豊・吉本宗央. 1996. アゲマキの生態: 国内産と韓国産との集団遺伝学的な比較. 佐賀県有明水産振興センター研究報告, 17: 15–18.
- Hoolihan, J. P. and J. Premanandh. 2004. Intraspecific phylogeographic isolation of Arabian Gulf sailfish *Istiophorus platypterus* inferred from mitochondrial DNA. *Mar. Biol.*, 145: 465–475.
- Jeong, S. J., K. H. Han, J. K. Kim and D. S. Sim. 2004. Age and growth of the blue spot mudskipper (*Boleophthalmus pectinirostris*) in the mud flat of southwestern Korea. *J. Korean Fish. Soc.*, 37: 44–50.
- 環境省. 2003. 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物: レッドデータブック4, 汽水・淡水魚類. 財団法人自然環境センター, 東京. 230 pp.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequence. *J. Mol. Evol.*, 16: 111–120.
- 古賀秀昭・野田進治・野口敏春・青戸 泉. 1989. ムツゴロウの人工増殖に関する研究III. ふ化及び仔稚

- 魚飼育．佐賀県有明水産振興センター研究報告，11: 17-28．
- 小池裕子．2003．種内多型と保全遺伝学．小池裕子・松井正文（編），pp. 40-58．保全遺伝学．東京大学出版，東京．
- 小池裕子・松井正文．2003．生物多様性と保全遺伝学．小池裕子・松井正文（編），pp. 3-18．保全遺伝学．東京大学出版，東京．
- Kumar, S., K. Tamura, I. B. Jakobsen and M. Nei. 2001. MEGA2: Molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, 17: 1244-1245.
- Loftus, R. T., D. E. MacHugh, D. G. Bradley, P. M. Sharp and P. Cunningham. 2001. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 2757-2761.
- Miya, M. and M. Nishida. 2000. Use of mitogenomic information in teleostean molecular phylogenetics: a tree-based exploration under the maximum-parsimony optimality criterion. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 17: 437-455.
- 宮地傳三郎・黒田徳米・波部忠重．1953日本近海の生物地理区について．*生物科学*，5: 145-148．
- Murdy, E. O. 1989. Taxonomic revision and cladistic analysis of the oxudercine gobies (Gobiidae; Oxudercinae). *Rec. Australian Mus., Suppl.*, 11: 1-93.
- 南部豊揮．1966．有明海・不知火海における漂流カード調査．昭和41年度熊本県水産試験場事業報告書，99-127．
- Nei, M., T. Maruyama and R. Chakraborty. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29: 1-10.
- 小野原隆幸・古賀秀昭．1992．ムツゴロウの生態Ⅴ，標識放流からみた個体成長と移動．佐賀県有明水産試験場報告，14: 1-8．
- Palumbi, S. R. 1992. Marine speciation on a small planet. *Trends Ecol. Evol.*, 7: 114-118.
- 佐賀県有明水産振興センター．1993．ムツゴロウの増殖法と生態の研究（1986-1992年度の研究成果）．佐賀県有明水産振興センター，佐賀．55 pp．
- 佐賀農林水産統計．1959-2004．佐賀県の海面漁業・養殖業生産額．九州農政局佐賀統計・情報センター，佐賀．
- Saiki, R. K., D. H. Gelfand, S. Stoffel, S. Scharf, R. Higuchi, R. Horn, K. B. Mullis and H. A. Frlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA-polymerase. *Science*, 239: 487-491.
- 佐藤正典・田北 徹．2000．有明海の生物相と環境．佐藤正典（編），pp. 10-35．有明海の生きものたち．海游舎，東京．
- Schneider, S., J. M. Kueffer, D. Roesslo, and L. Excoffier. 2001. ARLEQUIN ver. 2.001: a software for population genetic data analysis. *Genetics and Biometry Laboratory, Dept. of Anthropology, University of Geneva*.
- 下山正一．2000．有明海の地史と特産種の成立．佐藤正典（編），pp. 37-48．有明海の生きものたち．海游舎，東京．
- Shulman, M. J. and E. L. Bermingham. 1995. Early life histories, ocean currents, and the population genetics of Caribbean reef fishes. *Evolution*, 49: 897-910.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457-462.
- Sokal, R. R. and C. D. Michener. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationship. *Univ. Kansas Sci. Bull.*, 28: 1409-1438.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP*4.0: phylogenetic analysis using parsimony (beta version 8). Smithsonian Institution, Washington DC.
- Takahashi, H. and A. Goto. 2001. Evolution of East Asian ninespine sticklebacks as shown by mitochondrial DNA control region sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 21: 135-155.
- 竹垣 毅・和田年史・兼森雄一・夏 苺 豊．2005．有明海・八代海沿岸の河口干潟におけるムツゴロウの分布と生息密度．*魚類学雑誌*，52: 9-16．
- 田北 徹．2000．魚類．佐藤正典（編），pp. 213-252．有明海の生きものたち．海游舎，東京．
- 田北 徹・福田 宏・佐藤正典．2000．真の自然保護に向けて．佐藤正典（編），pp. 354-355．有明海の生きものたち．海游舎，東京．
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin and D. G. Higgins. 1997. Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.*, 24: 4876-4882.
- Waples, R. S. 1987. A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. *Evolution*, 41: 385-400.
- Ward, R. D. 2002. Genetics of fish population. Pages 200-224 in P. J. B. Hart and J. D. Reynolds, eds. *Handbook of fish biology and fisheries*, Vol. 1. Blackwell, Oxford.
- 鷲谷いづみ・矢原徹一．1996．保全生態学入門，遺伝子から景観まで．文一総合出版，東京．270 pp．
- 渡辺勝敏・西田 睦．2003．淡水魚類．小池裕子・松井正文（編），pp. 227-240．保全遺伝学．東京大学出版，東京．
- Yang, K. Y., S. Y. Lee and G. A. Williams. 2003. Selective feeding by the mudskipper (*Boleophthalmus boddarti*) on the microalgal assemblage of a tropical mudflat. *Mar. Biol.*, 143: 245-256.
- 安井善一・赤松英雄・中村 勲．1954．有明海の潮汐について．長崎海洋気象台（編），pp. 3-40．有明海の総合開発に関連した海洋学的研究 (I)．長崎海洋気象台，長崎．
- 安井善一・赤松英雄・城松 幸．1955．八代海の潮汐について．長崎海洋気象台（編），pp. 3-36．有明海の総合開発に関連した海洋学的研究 (II)．長崎海洋気象台，長崎．