



AFLP 解析による種同定に基づく九州北部海域におけるメバル複合種群の計数形質

安武由矢¹・高橋 洋²・望岡典隆³

Author & Article Info

¹九州大学大学院生物資源環境科学府（福岡市）

y.yasutake.448@gmail.com (corresponding author)

²国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産大学校（下関市）

hiroshi@fish-u.ac.jp

³九州大学大学院農学研究院（福岡市）

mochioka@agr.kyushu-u.ac.jp

Received 17 December 2021

Revised 25 December 2021

Accepted 26 December 2021

Published 27 December 2021

DOI 10.34583/ichthy.15.0_33

Yoshiya Yasutake, Hiroshi Takahashi and Noritaka Mochioka. 2021. Meristic characters of the *Sebastes inermis* species complex in northern Kyushu based on species identification by AFLP analysis. Ichthy, Natural History of Fishes of Japan, 15: 33–37.

Abstract

Kai and Nakabo (2008) clarified the meristic characters of the *Sebastes inermis* species complex in Japan. However, the sample size was unevenly distributed among the sampling areas and the sample size in Kyushu was quite small. Therefore, the meristic characters were examined using specimens from northern Kyushu identified by AFLP genetic analysis. About 97% of the specimens with 15 pectoral fin rays were *S. inermis*, and all fish with 17 pectoral fin rays were *S. cheni*. The specimens with 16 pectoral fin rays included *S. ventriosus* and *S. cheni*. The mode of pectoral fin rays in *S. cheni* was 16 rays, which was different from the previous report of 17 rays. In northern Kyushu, it is difficult to identify specimens with 16 pectoral fin rays using meristic characters, because the number of anal fin rays and pored lateral line scales overlap.

スズキ目メバル科のメバル属 *Sebastes* 魚類は世界で約 110 種が知られ、そのほとんどが北太平洋に生息しており (Imamura, 2004; Nelson et al., 2016), 日本では 33 種以上が知られている (Kai et al., 2003). これまで、標準和名“メバル”と呼ばれてきた種は、2008 年に遺伝的に 3 種、すなわち、アカメバル *Sebastes inermis* Cuvier, 1829, クロメバル *S. ventriosus* Temminck and Schlegel, 1843 およびシロメバル *S. cheni* Barsukov, 1988 に分類され、これらはメバル複合種群 *Sebastes inermis* species complex と総称されて

いる (Kai and Nakabo, 2008). 本属魚類はその多くの種が漁獲の対象となっている水産有用種であり、特にシロメバルは令和 2 年度施行の改正漁業法において拡大された資源評価対象魚種に選定されている (水産庁, 2021). しかし、3 種に分類されて以降、資源管理に必要なそれぞれの種の生活史に関する知見はいまだ少なく (明田ほか, 2012; Kamimura et al., 2014), その原因に 3 種の識別の難しさがある. 3 種は増幅断片長多型 (Amplified Fragment Length Polymorphism; AFLP) 解析 (Vos et al., 1995) による特定の断片を検出することにより識別される (Kai and Nakabo, 2008). 形態識別形質としては、鮮時の体色や胸鰭軟条数、臀鰭軟条数、側線有孔鱗数および鰓耙数があげられるが、体色は成魚の鮮時のみ有効な識別形質で、固定保存標本や仔稚魚には適用できないことが多い (Kai and Nakabo, 2008). 胸鰭軟条数、臀鰭軟条数、側線有孔鱗数および鰓耙数の計数形質は 3 種で最頻値は異なるが、その範囲には重複がみられることが報告されている (Kai and Nakabo, 2008). 他属の魚類では計数形質は地域的な変異がみられることも知られているが (Kinoshita et al., 2000; Shigenobu et al., 2007), Kai and Nakabo (2008) で用いられた 129 標本のうち、日本海側 (石川, 福井, 京都) の標本が 5 割以上を占める 69 標本、瀬戸内海産 (和歌山, 大阪, 兵庫, 岡山, 香川, 徳島) の標本が約 3 割の 35 標本、太平洋産 (岩手, 静岡, 三重) の標本が約 2 割の 22 標本であり、九州の標本は長崎産の 3 標本のみであった. そこで、本研究では九州北部海域のメバル複合種群を AFLP 解析によって同定し、3 種の胸鰭軟条数、臀鰭軟条数および側線有孔鱗数の範囲を明らかにすることを目的とした.

材料と方法

材料 九州北部海域産として山口県下関市: 27 個体, 福岡県福津市津屋崎: 14 個体, 福岡県福岡市博多湾: 17 個体, 福岡県糸島市: 33 個体, 佐賀県唐津市: 13 個体の計 113 個体 (標準体長 42.3–248.5 mm), 比較用の標本として宮城県石巻市: 17 個体, 三重県津市なぎさまち: 14 個体, 三重県鳥羽市答志島: 14 個体, 大分県佐伯市: 6 個体, 長

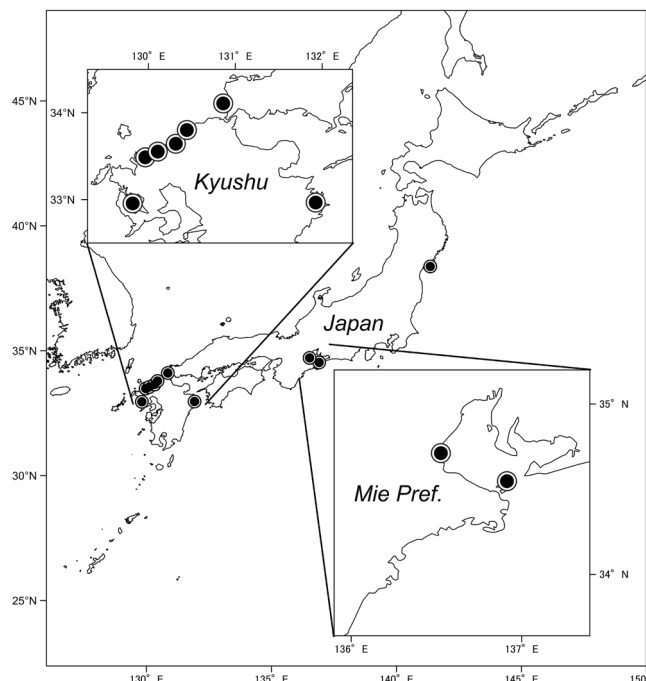


Fig. 1. Collection sites (solid circles) of specimens examined in this study.

岐阜県西海市大村湾：3 個体の計 54 個体（101.2–251.8 mm）を用いた（Fig. 1）。解析に用いた個体の一部は標本として、九州大学総合博物館（KYUM）に収蔵した。

計測 標本は漁獲物と釣獲物があるが、ともに氷冷もしくは冷凍で保存し、胸鰭軟条数、臀鰭軟条数、側線有孔鱗数を計数した。その後、右胸鰭を切除し、99% エタノールに入れ冷凍庫で保存した。

DNA 抽出と AFLP 解析 右胸鰭の一部を切り出し、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いて、キットに添付されている手順で DNA の抽出を行った。AFLP 解析の手順は、Vos et al. (1995) の標準的な方法に修正を加えた Takahashi et al. (2017) に記載されている方法に従った。はじめに、全ゲノム DNA を制限酵素 *EcoRI* および *MseI* で消化した。次のヌクレオチドを含む 6 種類の *EcoRI*/*MseI* 選択的プライマーの組み合わせのそれぞれについて AFLP フィンガープリントを得た：AAC/CAC, ACG/CTA, AGT/CAC, AGA/CAC, AGC/CTA, ATC/CAC。各 *EcoRI* 選択的プライマーは、5' 末端を蛍光色素（Applied Biosystems,

Foster City, CA, USA）で標識した。各選択的 PCR 産物は、GeneScan 500 ROX サイズスタンダードおよび Hi-Di-Formamide (Applied Biosystems) と混合し、ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いて電気泳動により分離し、AFLP 座を検出した。50–500bp の範囲の明確な断片を GeneMapper ソフトウェア（Applied Biosystems）を用いて自動的に検出し、その後、他の断片との近接性およびシグナル強度に基づいて手動で校正した。得られた AFLP 座の情報を用いて Kai and Nakabo (2008) で示されている多型のうち Table 1 に示す 5 座の有無で 3 種の識別を行った。また、識別した結果を STRUCTURE (Pritchard et al., 2000; Hubisz et al., 2009) に取り入れ LOCPIOR モデルに基づいて 100,000 回の burn-in を行った後、50,000 回の MCMC シミュレーションを各 K について 10 回反復した。K=3 の結果から CLUMPP (Jakobsson and Rosenberg, 2007) を用いて各個体の 3 種の q 値を算出した。戻し交配の識別精度を考慮し、実際には雑種である個体をあやまって純粋と判定してしまう可能性を極力排除するために、雑種の判別をする q 値のしきい値は 0.02 を適用した（Vähä and Primmer, 2006; Takahashi et al., 2017）。2 種以上の q 値がしきい値より大きい個体は雑種とし、後の解析から除いた。

結 果

AFLP 解析により、167 個体のうち 20 個体が雑種と判断された。標本の識別に用いた AFLP 座 5 座の出現頻度は Table 1 に示す。雑種を除いた九州北部海域の 99 個体のうち 36 個体（42.3–237.5 mm）はアカメバル、22 個体（44.4–248.5 mm）はクロメバル、41 個体（52.3–231.5 mm）はシロメバルにそれぞれ同定された。比較に用いた他海域では 48 個体のうち 10 個体（101.2–186.4 mm）はアカメバル、2 個体（149.6, 248.5 mm）はクロメバル、36 個体（128.0–251.8 mm）はシロメバルにそれぞれ同定された。Table 2 に供試標本の計数形質を示す。

アカメバル *Sebastes inermis* Cuvier, 1829 (Fig. 2)

九州北部 胸鰭条数 15–16（最頻値 15）；臀鰭条数 III, 7–8（軟条の最頻値 7）；側線有孔鱗数 37–46（最頻値

Table 1. The AFLP fragment used in this study and the frequency distribution of presence of specific AFLP fragments in the *Sebastes inermis* species complex.

AFLP fragment			This study			Kai and Nakabo (2008: table 1)		
			<i>S. inermis</i>	<i>S. ventriosus</i>	<i>S. cheni</i>	<i>S. inermis</i>	<i>S. ventriosus</i>	<i>S. cheni</i>
<i>MseI</i>	<i>EcoRI</i>	Size (bp)	<i>n</i> = 46	<i>n</i> = 24	<i>n</i> = 77	<i>n</i> = 38	<i>n</i> = 48	<i>n</i> = 44
CAC	AAC	250.6	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
CAC	AAC	309.8	0.11	0.00	1.00	0.03	0.00	0.95
CTA	AGC	364.7	1.00	1.00	0.00	1.00	1.00	0.00
CTA	AGC	140.5	0.61	0.00	0.00	0.84	0.00	0.00
CTA	AGC	344.6	0.00	0.83	0.00	0.00	0.83	0.00

Table 2. Counts of genetically examined specimens of the *Sebastes inermis* species complex.

		Pectoral fin rays							Anal fin rays							Pored lateral line scales											
		14	15	16	17	6	7	8	9	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49				
Northern Kyushu	<i>S. inermis</i>	—	28	8	—	—	30	6	—	—	2	3	9	5	2	8	2	1	2	2	—	—	—				
	<i>S. ventricosus</i>	—	—	22	—	—	16	6	—	—	—	—	1	—	1	1	1	6	3	2	5	2	—				
	<i>S. cheni</i>	—	1	24	16	—	16	25	—	—	—	—	2	5	10	11	5	5	2	—	1	—	—				
		—	8	1	1	—	1	7	2	—	—	1	1	1	3	2	—	1	—	—	—	—	—				
comparison area	<i>S. inermis</i>	—	—	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—				
	<i>S. ventricosus</i>	—	1	7	28	—	6	30	—	—	2	—	1	3	6	5	5	8	2	4	—	—	—				
	<i>S. cheni</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—					
Kai and Nakabo (2008: table 3)	<i>S. inermis</i>	1	33	4	—	1	32	5	—	1	—	4	3	11	5	7	4	3	—	—	—	—	—				
	<i>S. ventricosus</i>	—	1	42	4	—	24	23	—	—	—	—	—	—	—	—	8	6	10	11	7	4	1				
	<i>S. cheni</i>	—	—	9	35	1	7	35	1	—	1	3	3	2	12	9	9	2	2	1	—	—	—				



Fig. 2. *Sebastes inermis* from Itoshima, Fukuoka, Japan (KYUM-PI-05998, male, 170.7 mm SL).



Fig. 3. *Sebastes ventricosus* from Shimonoseki, Yamaguchi, Japan (KYUM-PI-05910, female, 183.2 mm SL).



Fig. 4. *Sebastes cheni* from Tsu, Mie, Japan (KYUM-PI-05993, male, 153.2 mm SL).

39). 標本：KYUM-PI-05998，他 5 個体，福岡県糸島市；KYUM-PI-05901，KYUM-PI-05929，他 3 個体，福岡県福津市津屋崎；KYUM-PI-05906–05908，KYUM-PI-05962，他 5 個体，山口県下関市；14 個体，佐賀県唐津市；2 個体，福岡県福岡市博多湾。

その他の海域 胸鰭条数 15–17（最頻値 15）；臀鰭条数 III, 7–8（軟条の最頻値 7）；側線有孔鱗数 37–44（最頻値 41）。 標本：KYUM-PI-05978，KYUM-PI-05980，KYUM-PI-05987，KYUM-PI-05989，KYUM-PI-05996，三重県鳥羽市 答志島；KYUM-PI-05890，KYUM-PI-05891，KYUM-PI-05894，KYUM-PI-05897，大分県佐伯市；1 個体，長崎県西海市大村湾。

クロメバル *Sebastes ventricosus* Temminck & Schlegel, 1843 (Fig. 3)

九州北部 胸鰭条数 16；臀鰭条数 III, 7–8（軟条の最頻値 7）；側線有孔鱗数 39–48（最頻値 44）．標本：KYUM-PI-05905, 他 1 個体, 佐賀県唐津市；KYUM-PI-05925, KYUM-PI-05926, KYUM-PI-05967, KYUM-PI-05990, 他 3 個体, 福岡県糸島市；KYUM-PI-05928, 他 1 個体, 福岡県福岡市博多湾；KYUM-PI-05909, 他 2 個体, 福岡県福津市津屋崎；KYUM-PI-05900, KYUM-PI-05910, KYUM-PI-05911, KYUM-PI-05913, KYUM-PI-05949, 他 3 個体, 山口県下関市．

その他の海域 胸鰭条数 16；臀鰭条数 III, 7；側線有孔鱗数 43．標本：KYUM-PI-05988, KYUM-PI-05997, 三重県鳥羽市答志島．

シロメバル *Sebastes cheni* Barsukov, 1988 (Fig. 4)

九州北部 胸鰭条数 15–17（最頻値 16）；臀鰭条数 III, 7–8（軟条の最頻値 8）；側線有孔鱗数 39–47（最頻値 42）．標本：KYUM-PI-05902, KYUM-PI-05919, KYUM-PI-05959, 他 11 個体, 福岡県糸島市；KYUM-PI-05904, KYUM-PI-05938, 他 3 個体, 福岡県福津市津屋崎；13 個体, 福岡県福岡市博多湾；9 個体 山口県下関市．

その他の海域 胸鰭条数 15–17（最頻値 17）；臀鰭条数 III, 7–8（軟条の最頻値 8）；側線有孔鱗数 37–46（最頻値 44）．標本：KYUM-PI-05914, KYUM-PI-05931–05936, KYUM-PI-05946, KYUM-PI-05948, KYUM-PI-05950, KYUM-PI-05952–05955, KYUM-PI-05957, KYUM-PI-05961, 宮城県石巻市；KYUM-PI-05915–05918, KYUM-PI-05927, KYUM-PI-05939, KYUM-PI-05940, KYUM-PI-05945, KYUM-PI-05958, KYUM-PI-05960, KYUM-PI-05985, KYUM-PI-05991, KYUM-PI-05993, KYUM-PI-05999, 三重県津市なぎさまち；KYUM-PI-05979, KYUM-PI-05983, KYUM-PI-05986, KYUM-PI-05995, 三重県鳥羽市答志島；2 個体, 長崎県西海市大村湾．

考 察

本研究では AFLP 解析の結果から 167 個体のうち 12% にあたる 20 個体は雑種であると判定された．雑種のうち 1 個体は純粋なアカメバルとクロメバルを親に持つ雑種 F1 であると考えられる．2 個体は雑種 F1 と純粋な種の戻し交雑, アカメバルとシロメバルの雑種 F1 とアカメバルの交雑個体, およびアカメバルとクロメバルの雑種 F1 とクロメバルの交雑個体と考えられる．残りの 17 個体はさらに後代の雑種と考えられる．これらの雑種の計数形質は 3 種のいずれとも異なるような特異な計数形質を持つことはなかった．すなわち, 雑種の識別は, 計数形質からの識別では難しく, 現状では AFLP 解析に基づく必要がある．こ

のことを留意したうえで計数形質による識別について考察する．

アカメバルおよびクロメバルの胸鰭軟条数と臀鰭軟条数の最頻値は九州北部海域, 比較に用いた他海域, Kai and Nakabo (2008) の間で一致した．しかし, シロメバルの胸鰭軟条数の最頻値は九州北部海域の 16 と比較に用いた他海域の 17 で異なり, 臀鰭軟条数も比較に用いた他海域では 8 割以上が最頻値の 8 をもつのに対し, 九州北部海域では 7 軟条の個体と 8 軟条の個体が概ね 4 : 6 と割合が大きく異なった．比較に用いた他海域と Kai and Nakabo (2008) の最頻値は胸鰭軟条数で 17, 臀鰭軟条数は 8 で一致したことから本種の胸鰭軟条数および臀鰭軟条数の違いは九州北部海域に特異的であると考えられる．メバル複合群種 3 種の識別において胸鰭軟条数を判断基準とすることが多いが, 九州北部海域では胸鰭軟条数が 15 の個体は 97% がアカメバルであり, また, 17 の個体は 100% がシロメバルであった．比較に用いた他海域では胸鰭軟条数が 15 の個体は 89% がアカメバル, 17 の個体は 97% がシロメバルであり, Kai and Nakabo (2008) では 15 の個体は 97% がアカメバル, 17 の個体は 90% がシロメバルであった．いずれの海域でも約 9 割で識別が可能であり, 特に九州北部海域では精度が高いことから, 胸鰭軟条数 15 と 17 の個体は識別が可能であると考えられる．

一方で九州北部海域の胸鰭軟条数が 16 の個体は 15% がアカメバル, 41% がクロメバル, 44% がシロメバルであり, 本形質から 3 種を識別することは困難である．Kai and Nakabo (2008) は, 胸鰭軟条数が 16 の個体は 7% がアカメバル, 76% がクロメバル, 16% がシロメバルであり, クロメバルの側線有孔鱗数は他の 2 種よりも比較的多いことで識別が可能としている．九州北部海域では 3 種の臀鰭軟条数と側線有孔鱗数の範囲が大きく重複するため, 胸鰭軟条数が 16 の個体を計数形質から識別することは困難であると考えられる．

本研究では冷凍で輸送された標本を多く含むため体色による識別と AFLP 解析による識別の比較は行っていないものの, 鮮時の体色がわかる標本においては, 雑種と判断されたものを除くと Kai and Nakabo (2008) の記述と異なる個体は認められなかった．九州北部海域の個体においても Kai and Nakabo (2008) の示した鮮時の体色による 3 種の識別法が有効であるとする, 成魚の場合は計数形質を用いて識別することが困難な個体を体色から識別することは可能と考えられる．

Kai and Nakabo (2008) の記述と本研究の計数形質により, 胸鰭軟条数が 15 の個体はアカメバル, 17 の個体はシロメバルに同定される．また, 胸鰭軟条数が 16 の個体のうち, 鮮時の体色として, 体の背面および体側が暗赤色から茶色, 腹部がやや白色からオレンジ色, 胸鰭と臀鰭は濃

い赤色からオレンジ色の個体はアカメバル、体の背面が青味がかった黒色、腹部が濃い銀色、胸鰭が黒色、後端が暗く白っぽい臀鰭を持つ個体はクロメバル、体の背面と体側が暗褐色、腹部が淡褐色または白味がかった色、胸鰭は赤褐色または淡褐色、臀鰭は淡褐色で後端は薄暗い個体はシロメバルと識別できると考えられる。

謝 辞

本研究にあたり、有限会社丸十タナカの皆さま、佐賀玄海漁業協同組合の皆さま、宗像漁業協同組合津屋崎支所金生丸の西住芳弘氏、九州大学大学院生物資源環境科学府附属水産実験所の辻川雅昭船長、公益財団法人ふくおか豊かな海づくり協会の大石隆一氏、宮城県水産技術総合センターの矢倉浅黄氏、三重大学大学院生物資源学研究科の淀太我博士、阿部公哉氏、金子太一氏、三重県水産研究所の笹木大地氏、宮崎大学大学院農学工学総合研究科の緒方悠輝也氏、北九州市立自然史・歴史博物館の日比野友亮博士、九州大学生物資源環境科学府の松重一輝氏、高橋杜明氏には標本の収集にご協力いただいた。また、水産大学校生物生産学科の沖村美和子氏、松村海斗氏には実験を補助していただいた。京都大学舞鶴水産実験所の甲斐嘉晃博士には研究に対する助言をいただいた。以上の方々にこの場を借りて厚く御礼申し上げる。本研究の一部は、日本科学協会の笹川科学研究助成による助成（研究番号：2018-7032）を受けたものです。

引用文献

- Hubisz, M. J., D. Falush, M. Stephens and J. K. Pritchard. 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x. (Apr. 2009), 9: 1322–1332 (Sep. 2009). [URL](#)
- Imamura, H. 2004. Phylogenetic relationships and new classification of the superfamily Scorpaenoidea (Actinopterygii: Perciformes). *Species Diversity*, 9: 1–36. [URL](#)

- Jakobsson, M. and N. A. Rosenberg. 2007. CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23: 1801–1806. [URL](#)
- Kai, Y. and T. Nakabo. 2008. Taxonomic review of the *Sebastes inermis* species complex (Scorpaeniformes: Scorpaenidae). *Ichthyological Research*, 55: 238–259.
- Kai, Y., K. Nakayama and T. Nakabo. 2003. Molecular phylogenetic perspective on speciation in the genus *Sebastes* (Scorpaenidae) from the Northwest Pacific and the position of *Sebastes* within the subfamily Sebastinae. *Ichthyological Research*, 50: 239–244.
- Kamimura, Y., M. Kawane, M. Hamaguchi and J. Shoji. 2014. Age and growth of three rockfish species, *Sebastes inermis*, *S. ventriosus* and *S. cheni*, in the central Seto Inland Sea, Japan. *Ichthyological Research*, 61: 108–114.
- Kinoshita, I., T. Seikai, M. Tanaka and K. Kuwamura. 2000. Geographic variations in dorsal and anal ray counts of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, in the Japan Sea. *Environmental Biology of Fishes*, 57: 305–313. [URL](#)
- Nelson, J. S., T. C. Grande and M. V. H. Wilson. 2016. *Fishes of the world*. 5th ed. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken. 752 pp.
- Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959. [URL](#)
- Shigenobu, Y., K. I. Hayashizaki, T. Asahida, H. Ida and K. Saitoh. 2007. Stock structure of Japanese flounder inferred from morphological and genetic analyses. *Fisheries Science*, 73: 1104–1112. [URL](#)
- Takahashi, H., A. Toyoda, T. Yamazaki, S. Narita, T. Mashiko and Y. Yamazaki. 2017. Asymmetric hybridization and introgression between sibling species of the pufferfish *Takifugu* that have undergone explosive speciation. *Marine Biology*, 164 (90).
- Vähä, J. P. and C. R. Primmer. 2006. Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci. *Molecular Ecology*, 15: 63–72.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijmans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Friters, J. Pot, J. Paleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407–4414. [URL](#)
- 明田勝章・淀太我・甲斐嘉晃・吉岡基. 2012. 若狭湾西部海域におけるメバル複合種群の食性比較. *水産増殖*, 60: 207–214. [URL](#)
- 水産庁. 2021. 資源評価スケジュールについて. 水産政策審議会 第108回資源管理分科会 配付資料. [URL](#) (14 Nov. 2021)