

博士学位論文

サルボウガイの資源管理に関する  
分子遺伝生態学的研究

Molecular genetic ecological studies on the stock management  
of ark shell *Scapharca kagoshimensis*

鳥取大学大学院連合農学研究科

田中 智美

2014

## 目 次

第1章 序論	1
第2章 サルボウガイ近縁種からの分子系統解析マーカーの探索	
2.1. 緒言	18
2.2. 材料と方法	22
2.3. 結果	25
2.4. 考察	30
第3章 国内におけるサルボウガイ地域集団の遺伝特性	
3.1. 緒言	35
3.2. 材料と方法	37
3.3. 結果	40
3.4. 考察	47
第4章 中海におけるサルボウガイ稚貝の遺伝構造	
4.1. 緒言	50
4.2. 材料と方法	53
4.3. 結果	56
4.4. 考察	64
第5章 総括	69
摘 要	82
謝 辞	86
引用文献	87
学位論文の基礎となる学会誌公表論文	101
参考論文	102
付 録	103

## 第 1 章 序論

### フネガイ科二枚貝

二枚貝と人間とのかかわりは古く、日本神話の昔から伝承され、「古事記」(712 年)や「出雲風土記」(733 年)に登場するキサカイヒメは赤貝を、ウムガヒメは蛤をそれぞれ神格化したものとされている。我々は、昔から海や川に産する二枚貝を食料、生活道具および貨幣など様々に利用してきた。特に、周年を通して容易に採取可能であることから狩猟採集時代から二枚貝は重要な動物性タンパク源であった。現在でも潮干狩りにその名残をとどめ、観光レジャー資源としての側面も併せ持つ重要な水産資源である。貝塚などの遺跡から出土する二枚貝は多岐に亘るが、ハマグリ類、アサリ類、ホタテ類、シジミ類、カキ類、アカガイ類など現在も食用される身近な二枚貝と大差ない(武田 2004)。

アカガイ類は、二枚貝綱翼形亜綱フネガイ目フネガイ科に分類される二枚貝である。フネガイ目に分類される二枚貝は世界中の内湾性の海に分布し、およそ 200 種が記録され(Geological Survey 1983; 白井 1997; Lee and Kim 2003)、その内日本近海には記載種の 25%に相当する 23 属 51 種が報告されている(奥谷 2001)(Table 1-1)。フネガイ科二枚貝を特徴付ける形質はいくつかあるが、大きささまざまなサイズの貝殻を有し、その貝殻は等殻または左殻が大きい不等殻となる。一般に貝殻表面に強い放射肋をそなえ、種によってその本数が異なる。また、閉殻筋は双筋であり後閉殻筋痕が前閉殻筋痕より大きい。套線は湾入せず、水管を欠く。水槽実験では潜泥したアカガイ *Scapharca broughtonii* が外套膜で入水管および出水管に相当する二孔を形成し、泥表面から出していることが観察されている(沼口 1998)。この二孔から海水交換し、呼吸と同時に飼料を取り入れていると考えられる。最も特徴的な形質の一つは、二枚貝などの多くの無脊椎動物が呼吸色素にヘモシアニンを持つのに対し、フネガイ科二枚貝のそれはヘモグロビンであるため、体液が赤色を呈する。そのため、日本では「赤貝」や「血貝」、英語では「blood clam」や「bloody ark」と称される(川名 1988)。

Table 1-1 List of Arcidae in Japan

Genus	Species	Distribution in Japan	
<i>Arca</i>	<i>avellana</i>	Southern Hokkaido and southward to tropical Indo-Pacific	
	<i>navicularis</i>	Boso Peninsula and southward	
	<i>ventricosa</i>	Kii Peninsula and southward	
	<i>boucardi</i>	Southern Hokkaido to Okinawa	
<i>Barbatica</i>	<i>lima</i>	Southern Hokkaido and southward	
	<i>virescens</i>	Southern Hokkaido and southward	
	<i>cometa</i>	Shikoku and southward	
	<i>lacerate</i>	Amami Island to westward	
	<i>fusca</i>	Kii Peninsula and southward	
	<i>cruciata</i>	Kii Peninsula and southward	
	<i>stearnsii</i>	Boso Peninsula and southward	
	<i>hachijoensis</i>	Izu Island to Kyushu	
	<i>Mimarcaria</i>	<i>aizoi</i>	Kochi to Goto Islands
<i>matsumotoi</i>		Boso Peninsula to Kyushu	
<i>Barbarca</i>	<i>tenella</i>	Kii Peninsula and southward	
<i>Caraliarca</i>	<i>tamikoae</i>	Izu Island to Goto Islands	
<i>Nipponarca</i>	<i>bistrigata</i>	Boso Peninsula and southward	
<i>Acar</i>	<i>plicata</i>	Southern Hokkaido and southward	
	<i>congenita</i>	Boso Peninsula and southward	
	<i>soyoae</i>	Sagami Bay to Goto Islands	
<i>Trisidos</i>	<i>kiyoi</i>	Seto Island Sea to northern Kyushu	
<i>Hawaiarca</i>	<i>uwaensis</i>	Boso Peninsula to Kyushu	
	<i>yamamotoi</i>	Kii Peninsula to Miyakojima Island and Goto Islands	
<i>Samacar</i>	<i>pacifica</i>	Honshu to Kyushu	
<i>Bentharca</i>	<i>xenophorica</i>	Suruga Bay to Kyushu	
	<i>asperula</i>	Off Torishima Islands	
	<i>tenuis</i>	Ie and Shimoji-Irabu Islands	
	<i>decorata</i>	Ie and Shimoji Islands	
	<i>irregularis</i>	Ie and Shimoji-Irabu Islands	
	<i>excavata</i>	Southern Hokkaido to Kyushu	
	<i>Bathyarca</i>	<i>kyurokusimana</i>	Southern Hokkaido to Kyushu
		<i>sagamiensis</i>	Sagami Bay, 550-700m deep
		<i>japonica</i>	Wakayama Prefecture
	<i>Vitracar</i>	<i>alibida</i>	Kii Peninsula to Okinawa
<i>Anadara</i>	<i>antiquata</i>	Okinawa and southward	
<i>Scapharca</i>	<i>broughtonii</i>	Southern Hokkaido to Kyushu	
	<i>satowi</i>	Boso Peninsula to Kyushu	
	<i>globosa ursus</i>	Seto Island Sea, Ariake Sea and Omura Bay	
	<i>inaequivalvis</i>	Boso Peninsula to Kyushu	
	<i>kagoshimensis</i>	Tokyo Bay to Ariake Sea	
	<i>trosheli</i>	Mutsu Bay to Kyushu	
	<i>Dilvarca</i>	<i>ferruginea</i>	Boso Peninsula and southward
<i>Tosarca</i>	<i>vellicata</i>	Okinawa and southward	
<i>Kikaiarca</i>	<i>kikaizimana</i>	Enshu-nada Sea to Shikoku	
<i>Tegillarca</i>	<i>granosa</i>	Ise Bay and westward	
<i>Arcopsis</i>	<i>interplicata</i>	Boso Peninsula to Kyushu	
	<i>symmetrica</i>	Boso Peninsula and westward	
	<i>polycymoides</i>	Wakayama Prefecture	
<i>Estellarca</i>	<i>olivacea</i>	Tokyo Bay and southward	
<i>Spinearca</i>	<i>fausta</i>	Boso Peninsula to Kagoshima	
<i>Didimarca</i>	<i>tenebrica</i>	Boso Peninsula to Amakusa	

食料資源としてのフネガイ科二枚貝に対する需要は世界的に増加傾向にあり、その生産量も増加している (FAO 2004a; b). 主に、南アメリカやアジアにおいて 1991 年から 2000 年の間にフネガイ科二枚貝類の漁獲量は 27%増加し (FAO 2004a; b), アメリカ東海岸においても重要な水産資源となってきた (McGraw *et al.* 2001; Power and Walker 2002). また、東南アジアや東アジアではフネガイ科二枚貝の養殖が盛んである (FAO 2004b). 例えばマレーシアのペラク州は約 1,200 ヘクタールの養殖場を有している (FAO 2012). 国際連合食糧農業機関 (Food and Agriculture Organization, FAO) の水産統計年報によると、1995 年から 1999 年におけるフネガイ科二枚貝類の年生産量は 1,415 トンから 6,503 トンである. 一方、同年における養殖量は 252,233 トンから 315,811 トンにおよび (FAO 2012), 産業としても重要な水産資源であることが伺える.

国内でもフネガイ科二枚貝は最も古くから利用されてきた二枚貝の一種である. 縄文時代早期 (約 9500 年前) のものとされる日本最古の貝塚からはフネガイ科二枚貝の一種であるサルボウガイ *S. kagoshimensis* が出土しており、その当時から食用されていたと考えられている (白井 1997). さらに日本最古の貝の古典「本草和名鈔」(約 1000 年前) にアカガイが記されていることから人間活動との係わりが深いことが推察される. フネガイ科二枚貝の内、*Scapharca*, *Anadara* および *Tegillarca* の 3 属に分類される二枚貝は、潮間帯上部から水深 50m 以浅の砂底から泥底に棲息し、中型から大型種が多く、採集が容易なため食用される重要な水産資源である. 特に、アカガイやサトウガイ *S. satowi* は寿司種、サルボウガイは缶詰の原料として全国的に利用されている. また、クイチガイサルボウ *S. inaequalvis*, クマサルボウ *S. globosa ursus*, リュウキュウサルボウ *Anadara antiquata* およびハイガイ *Tegillarca granosa*などは全国的な市場には流通しないが各地方で食用されている.

水産利用されるフネガイ科二枚貝 3 属 7 種を同定する際は貝殻が重要な指標となる. これらは、一般に貝殻表面に強い放射肋を備えており、種ごとにその本数が異なる. そのため、放射肋は成貝の殻のサイズとともに形態識別の指標となっている (奥谷 2001) (Figure 1-1; Table 1-2). 例えば、サルボウガイは、

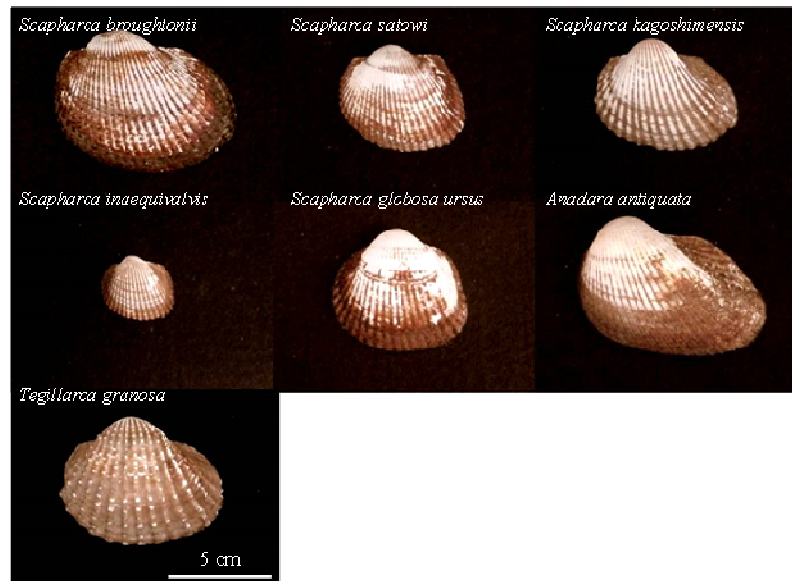


Figure 1-1. Photos of left valve of 7 Arcidae species.

Table 1-2 Morphological and geographical characterization of 7 Arcidae species

Species	Morphological and geographical characterization		
	Approximate number of radial ribs	Size of adult individual	Distribution in Japan
<i>Scapharca broughtonii</i>	42	Large	Southern Hokkaido to Kyushu
<i>Scapharca satowi</i>	38	Large	Boso Peninsula to Kyushu
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	32	Medium	Tokyo Bay to Kyushu
<i>Scapharca inaequivalvis</i>	32	Medium	Boso Peninsula to Kyushu
<i>Scapharca globosa ursus</i>	34	Medium to Large	Ariake Sea and Omura Bay
<i>Anadara antiquata</i>	38	Medium to Large	Okinawa
<i>Tegillarca granosa</i>	20	Medium to Large	Ise Bay to Kyushu

放射肋数が 32 本前後で殻のサイズは中型，アカガイは 42 本前後で大型，サトウガイは 38 本前後で大型，クマサルボウは 34 本前後で中大型とされている (Table 1-2)。しかし，サルボウガイ，クイチガイサルボウやクマサルボウのように放射肋数や殻のサイズが近似する近縁種では，特に放射肋数が明瞭でない幼若個体など，形態形質のみで識別することは著しく困難である。また，国産と中国産のアカガイは形態学的にも遺伝学的にも亜種または種レベルで異なることが報告されているが (Yokogawa 1997; 岩崎ら 2004)，近年は殻付き活貝でなく統計対象とならない剥き身による輸入量や流通量が増加している (柴田ら

2006). このように剥き身でも流通するアカガイ類を形態形質のみで判別することは著しく困難であり，食の安心・安全の観点からも形態のみによらない高精度な種判別法の確立が求められる。

### サルボウガイ

サルボウガイは，内湾性の二枚貝であり，水産上利用価値の高い二枚貝の一種である。その分布域は広く，太平洋沿岸では青森以南，日本海沿岸では新潟以南，沖縄，台湾，韓国や中国におよぶ（日下部 1959; 奥谷 2001）。サルボウガイは産する各地方により呼称を異にすることからも馴染み深い二枚貝であることが伺える。その一例を示すと，東京湾（関東）ではコアカ，三河湾（中部）ではチンメ，笠岡湾（山陽）ではモガイ，中海（山陰）ではアカガイ，有明海（九州）ではミロクガイなど様々な呼び方がある。また，中国では毛蚶，韓国では새고막と表記する（日下部 1959）。

サルボウガイは雌雄異体で卵巣は朱色，精巣は乳白色を呈する。サルボウガイの産卵期は6月中旬から10月中旬であり，その盛期は中海では7月中旬から8月下旬（藤森 1929），有明海では7月下旬から8月中旬である（田中 1954）。日下部（1959）および高見・井上（1981）の報告によれば，サルボウガイの産卵は海底の水温が次第に上昇して25℃を超えたときに開始される。受精後7分で第1極体の放出がみられ，50分後には2細胞となる。さらに2時間後には4から8細胞，3から4時間で桑実期，20時間前後で貝殻が完成し，D型幼生と呼ばれる Veliger 幼生となり，旋回しながら上昇と下降を繰り返し遊泳する。受精後2日目には殻長90 μm，5日目に95から110 μmに達し，受精後一週間で殻頂が膨らみ，殻長120から180 μm程の Umbo 幼生となる。さらにその後1週間で Full-grown 幼生となり殻長0.25 mm程度に成長すると付着期に入る。付着期に入った幼生は，はじめは足を伸張して匍匐前進し，付着物を選び，足糸を分泌して付着する。付着生活に入ると，成貝と同様の炭酸石灰を主成分とする貝殻を形成し稚貝となる。付着後の貝殻形成は極めて速やかであり，殻長0.4mm前後から放射肋が明瞭になり始める。付着生活に入ってから3から6ヶ月で殻長10から15mmに達すると底生生活に移る。付着物から離れてもすぐには潜砂

せず、湖底の石や貝殻に付着する。この頃には成長に従い、自ら足糸を切って移動し、凹所に密集する性質がある。潜砂した後も土中の固形物に足糸で付着する。成貝になるとほとんど移動しない (Figure 1-2)。サルボウガイは2年で親貝となり、その寿命は10年余りである。

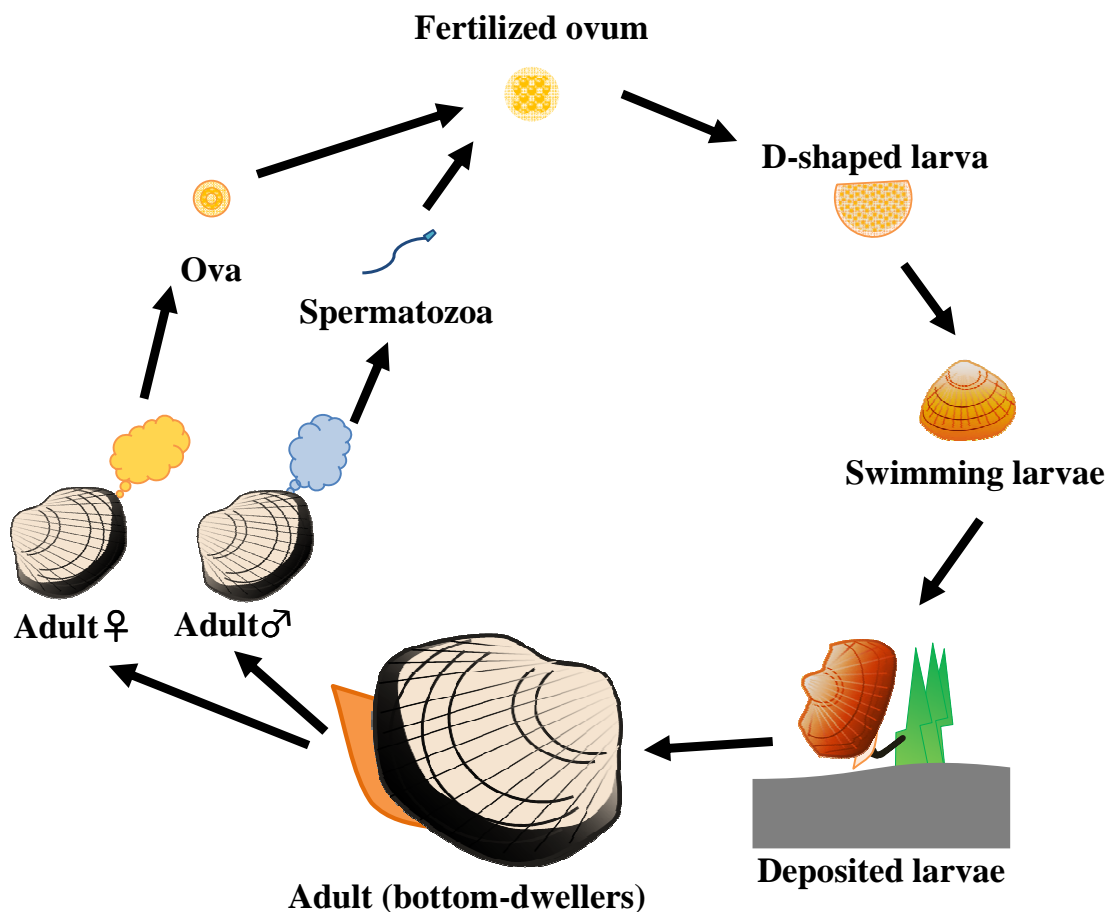


Figure 1-2. Reproductive cycle of *Scapharca kagoshimensis*.

### サルボウガイの生産と利用

サルボウガイは、潮下帯上部から水深 20m の砂泥底に棲息し、潮干狩りでアサリ *Ruditapes philippinarum* に混ざって獲られることもあるが、主に貝桁曳きや鋤簾によって漁獲される。サルボウガイの全国統計から、1956年から2006年までの全国および産地ごとのサルボウガイ生産量を整理した (農林水産省 2007)。



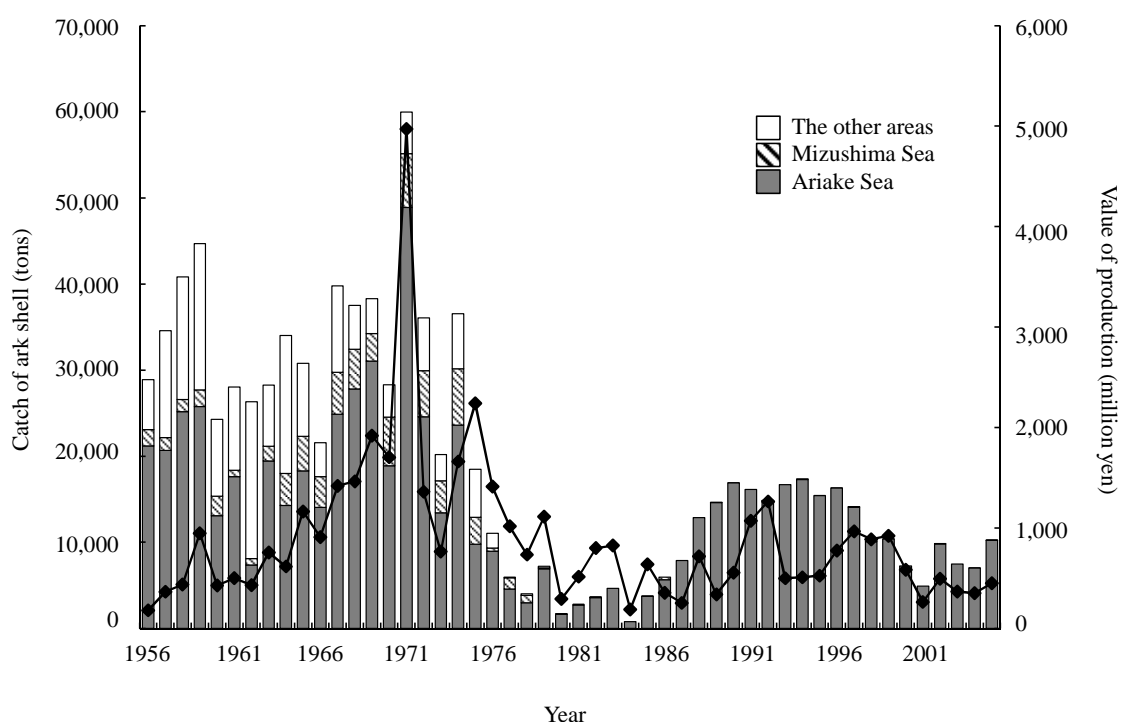


Figure 1-3. Production of *Scapharca kagoshimensis* in Japan. Bar and line represent catch of ark shell and value of production, respectively. Gray bar; Ariake Sea, shaded bar; Mizushima Sea, blank bar; other fishing areas.

**全国：**全国のサルボウガイ生産量は1970年代前半までは概ね2万トン以上であり、最盛期の1971年には59,949トンの生産量があった（Figure 1-3）。この頃までの主要産地は、東京湾（東京都・千葉県）、大阪湾（大阪府）、水島灘（岡山県）、有明海（佐賀県・福岡県）、豊前海（大分県）および中海（島根県）などであった（Figure 1-4）。しかし、1980年代以降は有明海を除く多くの漁場が衰退し、1984年には全国の生産量が767トンまで落ち込んだ。近年は1万トン前後が生産されているが、その99%以上を有明海が占め、加えて水島灘で僅かに産するのみである（Figure 1-3）。

**東京湾：**1960年までは1万トンから3万トンの漁獲があり、1958年には31,963トンに達している。このうち東京が10,352トンおよび千葉が21,611トンであり、これは全国生産量の約50%を占めていることから、国内有数の漁場だったことが伺える。しかし、1962年に生産量が1万トンを下回ると減少し続け1970年

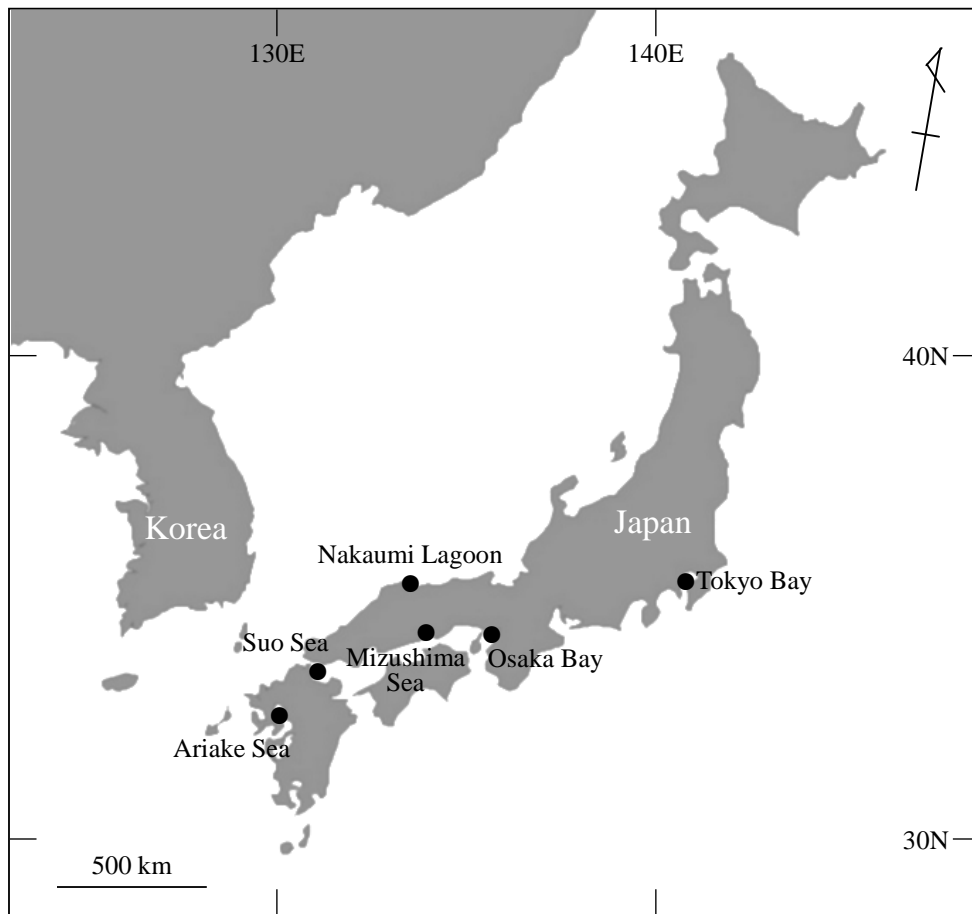


Figure 1-4. Map of major fishing areas of *Scapharca kagoshimensis* in Japan.

代後半以降は漁獲統計に記録されなくなった (Figure 1-5).

**大阪湾:** 年による変動が激しいことが特徴であるが、増減を繰り返しながらも 1960 年代前半にかけて生産量が増加し、1964 年に 15,500 トンの生産量を記録した。この 1960 年代前半には全国の生産量の約 40%を占めていたが、1960 年代後半には生産量が 1 万トンを下回り、1970 年代後半以降は漁獲統計に記録されなくなった (Figure 1-5)。

**水島灘:** 1950 年代後半の 1 千トン前後から 1970 年代には 7 千トン弱まで増加しており、全国の生産量の約 15 から 20%を継続して占める主要産地であった。水島灘は笠岡湾の埋め立てに伴って生産量は減少していったが (Figure 1-5)、サルボウガイ種苗の供給基地として現在も主要産地となっている。

**周防灘:** 1960 年代後半から 1970 年代前半にかけて一時的に 1 千トン台を記録

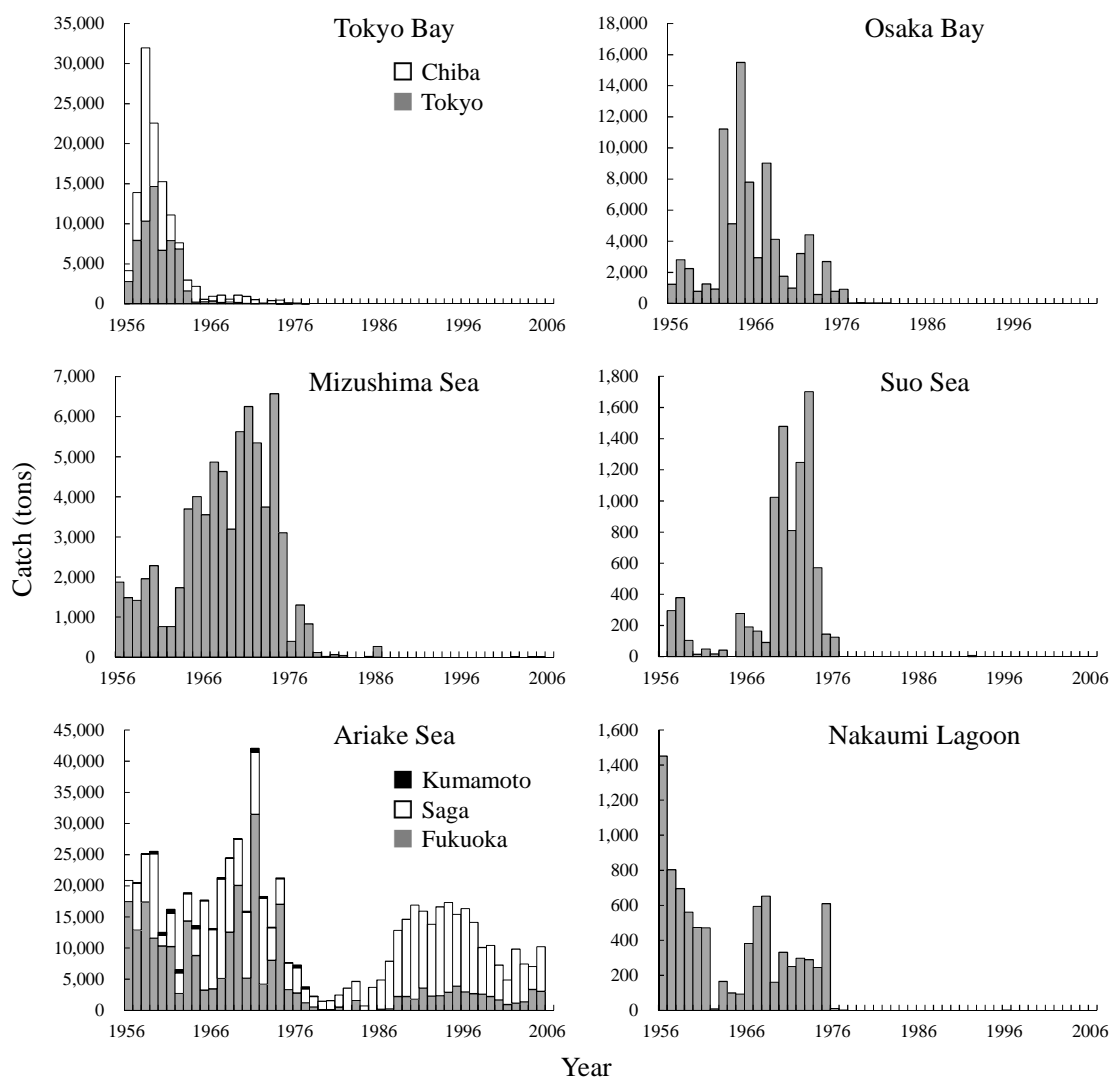


Figure 1-5. Productions of *Scapharca kagoshimensis* in major fishing areas in Japan.

しているものの、その後は生産量が急減し、漁獲統計に記録されなくなった。

**有明海：**生産量の多くは湾奥部の佐賀県および福岡県が占める。年による変動が激しいものの、1980年代までは概ね1万トン以上の漁獲があるが、1980年代以降減少し、1990年代に一時的に回復するものの現在は1万トン前後となっている。全国生産量に占める割合も大きく、国内有数のサルボウガイ漁場となっている (Figure 1-5)。

**中海：**年による生産量の変動が激しく1百トン台から1千トン台まで大きく変動するが、最盛期には1,500トン台を記録している。かつて中海は国内有数の

採苗水域であり、重要なサルボウガイ生産拠点であったが、生産量は1977年の漁獲統計を最後に記録されていない。

サルボウガイの一大産地である有明海北西部の佐賀県有明海漁業協同組合鹿島支所が管轄する漁場では約60人の漁業者からなるサルボウ部会が操業している。天然漁場と養殖漁場は区別されており、漁期はそれぞれ天然漁場が通年、養殖漁場は例年ノリ養殖後の4月末から約2ヶ月間サルボウ漁業が解禁される。



Figure 1-6. Ark shell processing factory in North Ariake Sea, Saga Prefecture. Process of weighing and counting (A); process of making stripped ark shell flesh (B).

天然漁場では 20 m 程の長鋤簾を用い、動力は使用不可、養殖漁場では 8 m 程の鋤簾を用い、動力を使用して漁獲する。漁獲したサルボウガイは、殻付き活き貝として出荷する以外に、漁業者が缶詰加工用に処理した軟体部（剥き身）を出荷している。同様の処理場は有明海周辺に 7 箇所あり、1 日約 20 トンの殻付きサルボウガイの処理が可能であり、市販の赤貝缶詰製品 12,000 トンを製造するために 3 トンの剥き身が使用される。剥き身処理用の機械は元々ホタテ類を剥き身にするための機械であったが、漁業協同組合がサルボウガイ用に改良した（佐賀県有明海漁業協同組合鹿島支所 私信）。サルボウガイは、「選別および計量」と「剥き身処理」の 2 工程を経て出荷される（Figure 1-6）。「選別および計量」は、まず、水洗いしながら篩および目視により小石、死貝や混獲物を取り除く。混獲物にはサルボウガイ近縁種のクマサルボウやハイガイが入ることがある。目合いの異なる篩で殻長 25 mm 以上の大サイズと 25 mm 未満の中サイズに選別し、1 箱 30 kg で計量することで漁獲量を算出する。漁業者ごとに「箱数」および「kg」が出力される（Figure 1-6-A）。次いで、「剥き身処理」は、サルボウガイを約 80°C の煮沸により開殻する。シェイカーと流水により貝殻と軟体部を分け、水に浮く軟体部はコンベアーで運ぶ。貝殻は回収し、水質浄化などに再利用される。目視により混入物などを確認し、約 10 kg ずつ袋詰して出荷される（Figure 1-6-B）。

### サルボウガイ資源

サルボウガイは、天然発生による豊凶の差が極めて大きいことが知られており（日下部 1959）、「3 年間豊漁が続けば、次の 3 年間は不漁になる」といわれるほど漁獲量は安定しない（島根新聞社 1961）。戦後の経済成長や人口増加に伴う食料増産を受け、1970 年代にサルボウガイ生産量および生産額はピークを迎えるが、その後は生産量および生産額ともにほとんど回復することなく低迷を続けている（Figure 1-3）。一方、稚貝期に他物に付着する性質を利用した天然採苗および地蒔き式養殖は古くから経験的に実施されていた（島根県水産試験場 1983）。サルボウガイの採苗技術は 1880 年代に島根県の中海で開発された（日下部 1959）。その後、1910 年以降に福岡県、佐賀県および岡山県で次々に採苗実験が実施され採苗可能であることは確かめられたが、十分な付着数は得られ

ず、経済的に成功しなかった。その後、1937年に中海で大量採苗可能であることが立証された。当時、サルボウガイの生育適地は全国に亘っていたが、養殖するための種苗の供給は極めて少量であり、大量採苗可能な水域は島根県の中海のみであったことから、国内唯一の種苗供給の拠点として中海産種苗は全国の漁場へ出荷され、特に有明海や水島灘へは複数回に亘って移植された。しかし、1950年代後半から中海産種苗が減少し始めると、水島灘産種苗が中海へ再放流されるようになった。また、1960年代前半に大阪湾で一時的な大豊漁になった際は、その時期生産量が落ち込んでいた中海、有明海および水島灘へ大阪湾産成貝が移植されるなど全国の漁場間で盛んに放流および移植が実施された。

#### 中海におけるサルボウガイ

中海は、島根県と鳥取県にまたがって位置する湖であり、その面積は86.2 km<sup>2</sup>と日本で5番目に大きい (Figure 1-7)。湖北東部の境水道により日本海と繋がっているため、海水が流入する汽水湖であり、その塩濃度は海水の約1/2である。中海はかつて大規模干拓・淡水化事業が中止になった経緯があり、堤防や水門の設置、その後の堤防の開削や開門の撤去など環境変化が複数回起こっている (Table 1-3)。この干拓事業は「昭和の国引き」と呼ばれ、1963年の事業開始以降、堤防および水門の建設や埋め立てなどが進行してきた。中海の北西部には、本庄工区と称される面積約17 km<sup>2</sup>の湖内最大の干拓地が計画された。この本庄工区と中海本湖とを仕切るために南西側に大海崎堤防および東側に森山堤防が建設され (Figure 1-7)、1980年代以降は大海崎堤防の一部の開削部分を通じてのみ中海を経由した水交換がされるようになった。それに伴って魚介類の出入りがあるものの、約30年に亘って中海は本庄工区と中海本湖水域とに二分された状態にあった。しかし、2002年に本庄工区の干拓および淡水化事業中止が決定し、2008年から中浦水門の撤去および森山堤防の一部開削が着工され、2009年3月に中浦水門の撤去、2009年5月に森山堤防の一部開削、2010年6月に西部承水路の撤去が完了したことにより、中海湖内をとりまく物理的、生物的環境への変化が予想されている (高安 2004 ; 横尾ら 2010) (Table 1-3)。

中海は、隣接する宍道湖と同様に漁業が主産業であり、かつては汽水域に棲

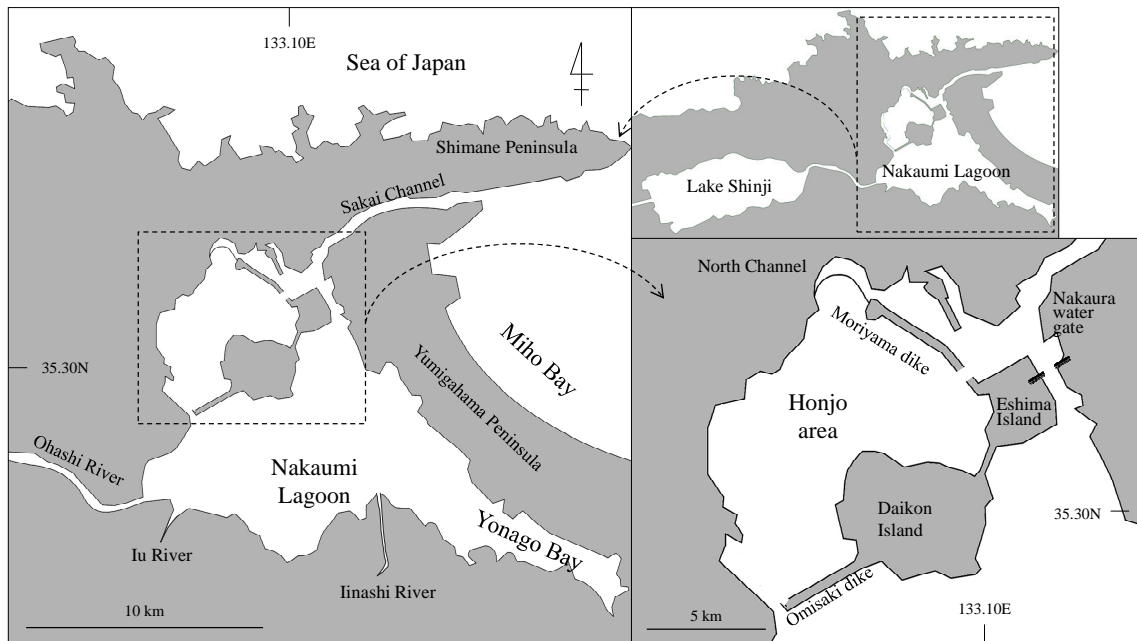


Figure 1-7. Maps of Nakaumi Lagoon.

Table 1-3 A brief history of the project of desalination and land reclamation in Nakaumi Lagoon

Year	Event
1954	Proposed the plan of Nakaumi reclamation (Shimane Prefecture)
1960	Worked out the basic plan of the project (Farm Ministry)
1968	Full-fledged start of the National Nakaumi Reclamation and Desalination Project
1969	Start of the Honjo works area
1974	Closeout of the Nakaura water gate construction
1981	Closing of the Moriyama dike
1988	Adjournment of desalination and break of the Honjo works
2000	Cancellation of the reclamation project
2002	Cancellation of the desalination project
2005	Start of removal the Nakaura water gate
2008	Start of open-out part of the Moriyama dike
2009	Finished removal of the Nakaura water gate Finished open-out part of the Moriyama dike
2010	Finished removal of the West Channel

息する魚介類やアマモ *Zostera marina*, オゴノリ *Gracilaria vermiculophylla* などの海藻類が豊富に漁獲され、中でもサルボウガイは中海のシンボリック的存在であ

った。現在では宍道湖が国内有数のヤマトシジミ *Corbicula japonica* の産地として有名であるが、1960年代ごろまでは中海の方が宍道湖の数倍もの漁獲高を誇っていた。しかし、中海におけるサルボウガイ生産量は1970年ごろには大きく衰退し（伊藤 1998; 國井 2002; 森脇・道根 2007）、スズキ類などの魚類を中心に3百トンから4百トンが漁獲される程度である。中海周辺の山陰地域においてサルボウガイは中海に広く分布し、たくさん棲息していることから身近で重要な二枚貝資源であり、収入源であった。過去には漁場をめぐって漁業者による「赤貝紛争」が起こったほどである（島根県警察本部 1978; 吉岡 1989; 門脇 1991）。中海周辺の食文化にも深くかかわっており、赤貝めしや殻蒸しなどに調理され普段の食事から正月料理としても欠かせないものとなっている。

中海におけるサルボウガイ漁業は、そりこ舟と呼ばれる一人乗りの小船を用い、丸い船底を利用して左右にローリングさせることにより効率的に桁網で貝を採る方法で漁獲されていた（Figure 1-8）。そりこ舟による漁は過酷な労働であり、熟練の技術が必要であったとされている（伊藤 2011）。さらに、中海では古くから採苗した稚貝を沖に放流し蓄養する地蒔き式養殖していた。夏に採苗して冬まで蓄養することで、成貝としての商品価値および冬の味覚として重要が高まる合理的な生産方法をとっており、この手法を「活かし（いかし）」と称し（伊藤 2011）、漁場は「場区（ばく）」や「借区（かりく）」と称された。また、先述したように中海では全国に先駆けて天然採苗技術を確立して全国へ種苗を出荷していた。このことから中海ではサルボウガイの増養殖に関する研究や取り組みが盛んであったことが伺える。中海で確立されたこの養殖方法は、1903年に大阪で開催された第五回内国勸業博覧大会に島根県から出品され、三等賞に表彰されている（牛尾 1904; 伊藤 2011）。この「活かし」の技術はその後にも発展し、1940年代には「育養・輪番・採集」という増養殖の生産システムが確立された（伊藤 2011）。漁獲統計が残っている1950年以降の島根県におけるサルボウガイの漁獲量の推移まとめると、1950年から1961年にかけては比較的まとまった漁獲があり、豊凶の波がありながらも、最盛期の1955年にはおよそ1,610トンの漁獲があった（Figure 1-8）。その後、水質や底質の悪化、さらには大規模干拓・淡水化事業に伴う堤防建設などの様々な影響により生産量は激



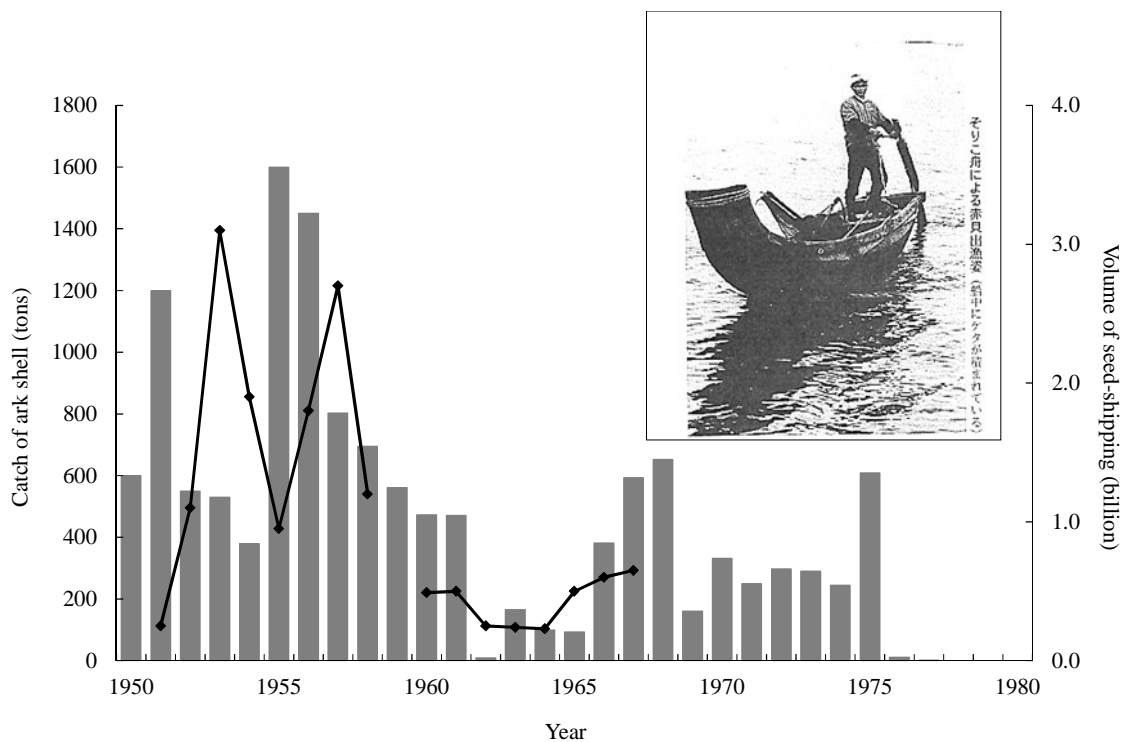


Figure 1-8. Production of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon. Bar and line represent catch amount and seed shipping volume, respectively. Photo is Soriko-bune in Nakaumi Lagoon reference from Kadowaki (1989).

減し、1960年代後以降は数百トン台で推移していたが、1977年の2トンの漁獲を最後に統計上漁獲がなくなった。一方、種苗出荷量は漁獲量の多かった1950年から1958年にかけて年間10億から30億個の種苗を有明海や水島灘を中心に出荷していた。しかしその後の生産量減少に伴い、種苗出荷量も激減し、1960年代に数億個で推移した後、サルボウガイの天然採苗も廃れていった（島根県水産技術センター 2008）（Figure 1-8）。しかし近年、漁業者から、刺網の網を噛んで揚がってくるあるいはアサリに混ざって獲れるなどの情報提供を受け、島根県水産技術センターと中海漁業協同組合が共同調査した結果、大根島東側において2歳貝以上の母貝集団および当歳貝の存在が確認された（島根県水産技術センター 2008; 道根ら 2009）。その後水産技術センターによる採苗試験の結果、天然採苗可能であることも確認され、サルボウガイ復活の機運が高まっている。

## サルボウガイ復活と資源管理

世界的に水産物の需要の増加が見込まれるなか、水産資源の持続的かつ安定的な利用への関心は高まっており、そのためには資源管理が不可欠である。また、我が国は世界有数の水産国として国際的な水産資源の管理に積極的に貢献していく必要があり、得られた情報や開発された技術を同様の水産資源を利用する地域へ提供することは責務である。今後世界における水産物の供給は、主に養殖業によって支えられるとされており (FAO 2008)、FAO の遺伝育種専門家会議は、養殖および移植などの生産活動の意義を認めたが、それらがもたらす遺伝的攪乱を危惧し、適切な対応策を講じる必要性を報告している (FAO 1995)。水産物の遺伝資源の多くは天然資源であり、集約的に生産する増養殖であっても天然生物と同等であると指摘し、現状に配慮し遺伝資源の保全と利用のための施策に関し勧告している (FAO 1995)。

国内では、食用二枚貝の多くが棲息する沿岸域は人間活動と隣接しているため、過去の大規模な干拓、埋め立ておよび河川改修などによる漁場あるいは棲息地の喪失、さらに底質悪化や貧酸素水塊の発生などの環境悪化によって、近年その漁獲量は減少している (農林水産省 2007)。秋田県の八郎潟では干拓により事実上シジミ漁業が消滅し (古丸ら 2010)、福岡県や佐賀県の有明海では原因不明の大量斃死によりアゲマキ *Sinonovacula constricta* の漁獲は皆無となっている (吉本 1998; 大隈ら 2003)。国内における二枚貝資源の減少を受け、資源増産や補填を目的とした産地間の移植および海外産成貝や種苗の輸入量は増加している。シジミ類では 2001 年に漁獲量を輸入量が上回り (中村 2000)、アカガイ類では 1986 年から 2003 年における生産量の 95 % を海外産が占めていた (柴田ら 2006)。さらに、アサリは海外産種苗に依存している (大越 2004)。一方、安易な移植および放流は遺伝的攪乱や外来種および病原生物の侵入が危惧される。また、海外からの輸入を今後も継続的に維持できるとは限らない。サルボウガイでも全国各地で豊凶の差による漁獲量維持や資源補填を目的とした産地間移植が報告されている (日下部 1959)。また、近年は海外から輸入されるアサリ種苗にサルボウガイが混入していることが確認されており (大越 2004)、アサリ種苗とともに海外産サルボウガイが国内に放流されている可能性

が高いことから、遺伝的攪乱が懸念される。また、資源量の大きな変動によりサルボウガイの詳細な遺伝構造は不明である。

近年、分子遺伝学的手法の発展により、二枚貝類においても集団の遺伝的多様性の評価、種同定を含む系統解析、遺伝資源の維持・増殖・評価、集団の生殖様式の推定あるいは成立過程の推定など遺伝構造解析、親子鑑定など遺伝子マーカーが適用される場面が増えてきているが、フネガイ科二枚貝の分子遺伝学的研究例は少なく、国内におけるサルボウガイの遺伝的多様性や遺伝構造に関しては研究例がない。本研究では、サルボウガイの資源復活および資源管理に必要な基礎的情報としてサルボウガイの遺伝生態学的知見を蓄積することを目的とした。まず、第2章では遺伝生態学的知見を得るために必要なDNAマーカーを探索した。次いで、第3章では国内におけるサルボウガイ地域個体群の遺伝構造を詳細に解析し遺伝特性を解明した。さらに、第4章では中海におけるサルボウガイの遺伝構造を詳細に解析し生産構造を解明した。最後に第5章では、得られた知見からサルボウガイの資源管理に関する遺伝的リスク管理をまとめた。

## 第2章 サルボウガイ近縁種からの分子系統解析マーカーの探索

### 2.1. 緒言

真核細胞の細胞質に存在するミトコンドリアは、ATP 生産能力の優れた好気性細菌の一種が真核生物の先祖細胞に寄生し、そのまま定着して共生関係にあるものとされている。そのため、ミトコンドリアには核 DNA とは異なる環状の2本鎖 DNA が存在し、細胞質とは独立して細胞呼吸に関与するタンパク質群を合成している。ミトコンドリア DNA は、ミトコンドリア毎に数十から数百コピー存在する(凌 2004; 設楽 2005)。脊椎動物のミトコンドリア DNA は、約 16,000 塩基対からなり、ほとんどの種で違いがない (Brown 1983)。また、その構造は分類群を越えてよく保存されており、チトクローム *c* 酸化酵素サブユニット I-III (COI, COII, COIII), チトクローム *b* (Cyt *b*), NADH 脱水素酵素や ATP 合成酵素などの 13 種類のタンパク質コード遺伝子, 2 種類のリボソーム RNA 遺伝子 (rRNA), 22 個のトランスファーRNA (tRNA) および 1 個の非転写領域で構成される (Doda *et al.* 1981; Clayton 2003)。

二枚貝類のミトコンドリア DNA は、脊椎動物のように構造が分類群を越えて保存されておらず、遺伝子や非翻訳領域の配置や数が多様であるため、全塩基配列の解読が遅れている。しかし、近年、イタボガキ科カキ類 12 種、イタヤガイ科ホタテ類 7 種、マルスダレガイ科ハマグリ類 5 種を始め、タイラギ *Atrina pectinata*, アゲマキ *Sinonovacula constricta* およびトリガイ *Fulvia mutica* といった二枚貝類のミトコンドリア DNA 全塩基配列が明らかになってきている (Figure 2-1)。フネガイ科二枚貝では、アカガイ *Scapharca broughtonii* のミトコンドリア DNA 全塩基配列が明らかとなっており、脊椎動物の構造と比較すると、全長が 46,985 塩基対と長く、タンパク質コード遺伝子が 1 種類少ない、tRNA が 20 個多い、単純反復配列の非翻訳領域が 4 個存在するなど他の二枚貝類と比較しても著しく特異な構造を持つ (Liu *et al.* 2013) (Figure 2-1)。

ミトコンドリア DNA は母性遺伝することが知られており、核 DNA のような

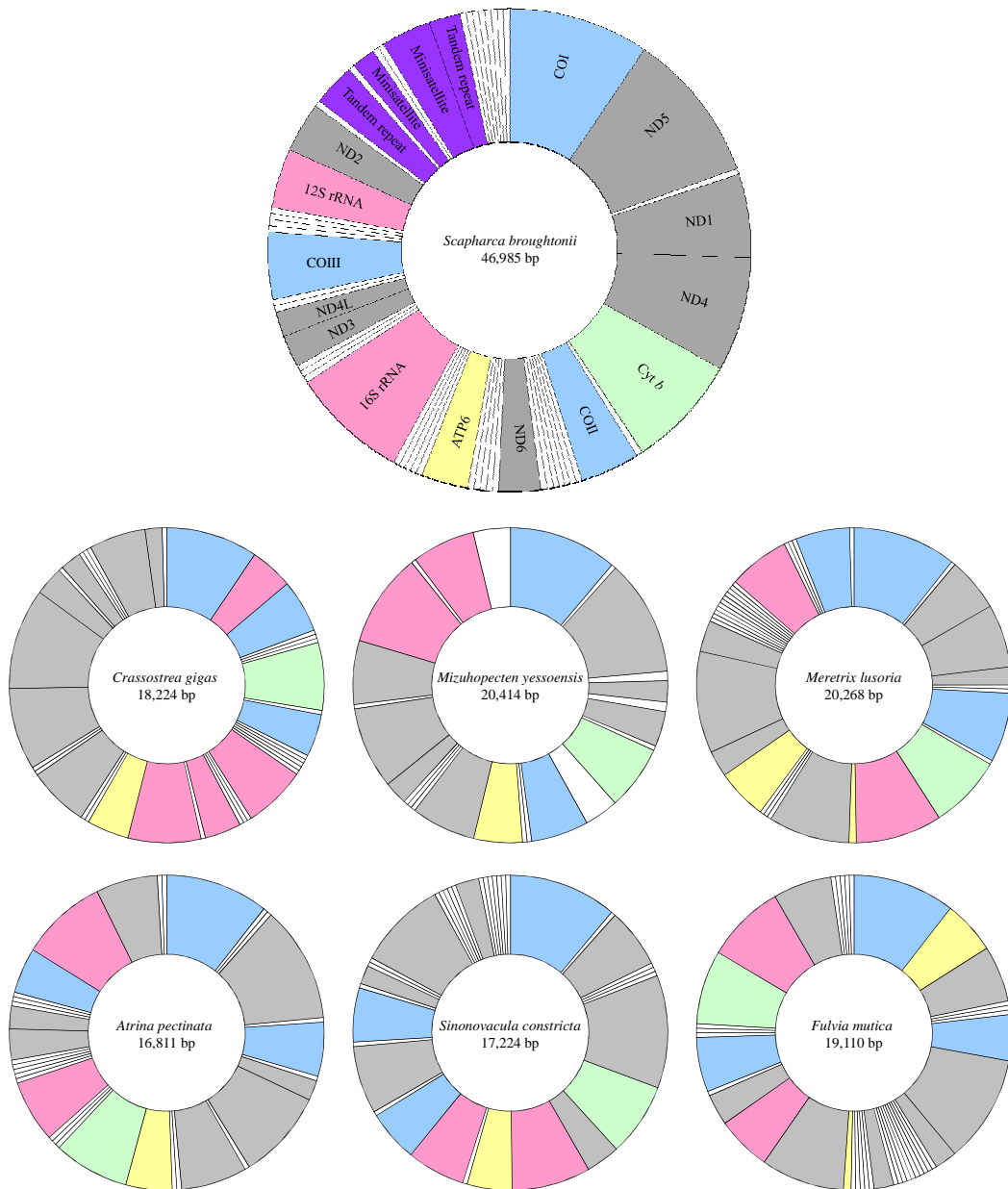


Figure 2-1. Schematic diagrams of complete mitochondrial DNA of *Scapharca broughtonii* (NC\_020787), *Crassostrea gigas* (NC\_001276), *Mizuhopecten yessoensis* (NC\_009081), *Meretrix lusoria* (NC\_014809), *Atrina pectinata* (NC\_020028), *Sinonovacula constricta* (NC\_018375) and *Fulvia mutica* (NC\_022194). COI (II and III); cytochrome *c* oxidase ubunit I (II and III), ND1 (2, 3, 4, 4L, 5 and 6); NADH dehydrogenase subunit 1 (2, 3, 4, 4L, 5 and 6), 12S and 16S rRNA; 12S and 16S ribosomal RNA; Cyt *b*; cytochrome *b*, ATP6; ATP synthase F0 subunit 6, blank; transfer RNA.

組み換えが起こらないことから生物種や遺伝集団などの識別を目的とした分子系統解析によく用いられる (Brown *et al.* 1979; 1982; Wilson *et al.* 1985). ミトコンドリア DNA の様々な領域を分子系統解析マーカーとした種判別や集団遺伝構造解析の報告例は、二枚貝類でも散見される (Banks *et al.* 1993; O’Foighil *et al.* 1995;1998; Jozefowicz and O’Foighil 1998; Hedgecock *et al.* 1999; Lapegue *et al.* 2002; Lam and Morton 2003;2006; Colombo *et al.* 2004; Wang *et al.* 2004; 荒西ら 2006; 関根ら 2006; 荒西・飯塚 2007; 飯塚・荒西 2008; Wang and Guo 2008; Iidzuka *et al.* 2010; 古丸ら 2010; 飯田ら 2012). しかし、他の二枚貝類と比較してフネガイ科二枚貝では分子系統解析マーカーを使用した報告例が少なく、全塩基配列が解読されているのはアカガイのみである。フネガイ科二枚貝のうち、サルボウガイ近縁種 3 属 7 種における部分塩基配列の GenBank 国際データベースへの登録数は、遺伝学的手法でよく用いられる 16S rRNA 遺伝子や Cyt *b* 遺伝子などがほとんどなく、これは他の二枚貝類と比較しても少ない (Table 2-1).

Table 2-1 Number of registered mitochondrial DNA of 7 Arcidae species in GenBank

Species	Mitochondrial DNA			
	COI	16S rRNA	Cyt <i>b</i>	12S rRNA
<i>Scapharca broughtonii</i>	143	1		1
<i>Scapharca satowi</i>	2			
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	5			
<i>Scapharca inaequalvis</i>	1			
<i>Scapharca globosa ursus</i>	2			2
<i>Anadara antiquata</i>	3			2
<i>Tegillarca granosa</i>	116			2

Blank represents no data.

本章では、アカガイ、サトウガイ *S. satowi*, サルボウガイ *S. kagoshimensis*, クマサルボウ *S. globosa ursus*, クイチガイサルボウ *S. inaequalvis*, リュウキュ

ウサルボウ *Anadara antiquata* およびハイガイ *Tegillarca granosa* のサルボウガイ近縁種 3 属 7 種を用い，二枚貝の分子系統解析に用いられることが多いミトコンドリア DNA の COI 遺伝子，16S rRNA 遺伝子，Cyt *b* 遺伝子および 12S rRNA 遺伝子を対象とした PCR (polymerase chain reaction) により DNA 増幅を確認し，塩基配列を解析することにより分子系統解析に利用可能な精度を有している DNA マーカーを探索した。

## 2.2. 材料と方法

### i) 試料

本研究に供したサルボウガイ近縁種 3 属 7 種の採集地, 採集年月および形態情報を Table 2-2 に示した. 試料は, 殻長, 殻高, 殻幅および放射肋数を計測した後, 開殻して軟体部重量を計測し, 閉殻筋を分離して DNA 調製まで -20°C で冷凍保存した.

Table 2-2 Sample profiles of 7 Arcidae species

Species	Collection Site	Collection date	Shell length (mm)	Shell height (mm)	Shell width (mm)	Radial ribs
<i>Scapharca broughtonii</i>	Kagawa	April, 2008	78.02	57.59	42.65	44
			77.18	56.11	38.33	38
<i>Scapharca satowi</i>	Shimane	November, 2009	38.34	32.89	25.36	37
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	Saga	March, 2008	44.14	34.33	27.42	34
			43.68	33.77	27.72	33
<i>Scapharca inaequalvis</i>	Oita	September, 2009	11.48	10.29	6.55	32
<i>Scapharca globosa ursus</i>	Kumamoto	June, 2008	47.99	41.78	33.62	34
			47.80	41.60	32.78	34
<i>Anadara antiquata</i>	Okinawa	April, 2008	66.71	47.23	44.73	36
			60.25	46.04	42.16	36
<i>Tegillarca granosa</i>	Saga	March, 2008	57.81	44.25	39.41	21
			53.51	41.70	37.77	19

### ii) ゲノム DNA 調製

改変 Urea-SDS-Proteinase K 法に従い, 凍結した閉殻筋より全ゲノム DNA を調製した (Aranishi and Okimoto 2004; 2005; Aranishi 2006). 閉殻筋約 20 mg を 200  $\mu$ l の抽出溶液 (10 mM Tris-HCl pH 7.5, 20 mM EDTA pH 8.0, 1% SDS, 4 M urea, 25  $\mu$ g Proteinase K) に懸濁し, 55°C にて 60 分間攪拌加熱した. 25  $\mu$ l の 5 M NaCl を添加し十分に混合した後, フェノール溶液 (phenol : chloroform : isoamyl alcohol = 25 : 24 : 1) およびクロロホルム溶液 (chloroform : isoamyl alcohol = 24 : 1) を用いて精製し, 引き続きエタノールにより沈殿した. DNA 沈殿をエタノールで洗浄して十分に乾燥した後, 10T0.1E 溶液 (10 mM Tris-HCl pH 7.5, 0.1 mM EDTA pH 8.0) に再溶解した. なお, DNA 溶液の濃度および純度は, Eppendorf 社製 BioPhotometer により測定した.



### iii) PCR 増幅反応

PCR 増幅は、MgCl<sub>2</sub> 終濃度を 2.0 mM に調整したプロメガ社製 GoTaq Green Master Mix, 各 0.5 μM の各プライマーセットおよび 20 ng の DNA 溶液を含む 11 μl で反応した。なお、プライマーの塩基配列および会合温度は Table 2-3 に示した。Techne 社製 TC-312 サーマルサイクラーによる PCR 条件は、95 °C で 2 分間の初期変性後、95 °C で 10 秒間の変性/各会合温度で 20 秒間の会合/72 °C で 40 秒間の伸長を 40 回繰り返し、72 °C で 5 分間の最終伸長により終了した。PCR 産物を Invitrogen 社製 SYBR Gold Nucleic Acid Gel Stain を含む島津製作所社製 DNA-1000 Reagent Kit と混合し、島津製作所社製 MCE-202 マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA により分析した。

Table 2-3 List of primer sequences and annealing temperature

Primer set	Primer sequence (5' to 3')	Annealing temperature (°C)	Reference
COI-1	LCO1490 GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G HCO2198 TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA	52	Folmer <i>et al.</i> (1994)
COI-2	ATY GGN GGN TTY GGN AAY TG ATN GCR AAY TTY GGN TC	48	Matsumoto and Hayami (2000)
COI-3	CGCIF ATT GGG GGG TTT GGT AAC TG CGCIR ATT GTA AAC AAA GCA CCC AT	56	Iidzuka (2009)
COI-4	L GGT GTG TGT TTA AGA TTT CAC A HCO2198 TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA	50	Lee and Kim (2003) Folmer <i>et al.</i> (1994)
16S-1	16Sar CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT 16Sbr CCG GTC TGA ACT CAG ATC ATG T	50	Palmby <i>et al.</i> (1991)
16S-2	16Sar CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT 16Sbr CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T	54	Kessing <i>et al.</i> (1989)
Cytb-1	UCYTB151F TGT GGR GCN ACY GTW ATY ACT AA UCYTB272R GCR AAN AGR AAR TAC CAY TC	48	Merritt <i>et al.</i> (1998)
12S-1	SSU-1 GTG GAT CCA TTA GAT ACC C SSU-2 ACT GGT ACC TTG TTA CGA CTT	45	Berschick (1997)

### iv) 塩基配列解析

PCR 産物は、Amersham Biosciences 社製 ExoSAP-IT で処理して未反応プライマーおよび遊離 dNTP を除去した後、Applied Biosystems 社製 BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit を使用し、Applied Biosystems 社製 3730xl DNA Analyzer により塩基配列を解読した。得られた塩基配列は BLAST 相同性検索ソフトウェアで検索するとともに(Altschul *et al.* 1990), Clustal W プログラムを

使用して多重整列解析し (Thompson *et al.* 1994), 各塩基配列間の遺伝距離を二変数法により算出した後 (Kimura 1980), MEGA version 5.05 プログラムを使用して近隣結合系統樹を作成した (Tamura *et al.* 2011). なお, 系統樹の信頼性は, 1,000 回のリサンプリングによるブートストラップ検定で評価した. なお, 分子系統樹の作成ではヌノメアカガイ *Cucullaea labiata* (AB050892) およびベニエガイ *Barbatia fusca* (AB050899) を外群として使用した. 本研究により得られた塩基配列は, GenBank 国際データベースにアカガイ AB690346; サトウガイ AB690347; サルボウガイ AB690348; クイチガイサルボウ AB690349; クマサルボウ AB690350; リュウキュウサルボウ AB690351; ハイガイ AB690352 として登録した (Appendix 3).

## 2.3. 結果

### i) ゲノム DNA 調製

サルボウガイ近縁種3属7種の殻長, 殻高, 殻幅および放射肋数を計測した。ただし, サトウガイおよびクイチガイサルボウは1個体のみであり, クイチガイサルボウは稚貝, その他6種は成貝であった (Table 2-2)。ゲノム DNA を調製した全てのサンプルからミトコンドリア DNA を含む全 DNA が調製された。最終標品の 260 nm および 280 nm における吸光度を測定し, 純度と DNA 量を求めた結果, 全てのサンプルから PCR 反応に必要な量の DNA が測定された。

### ii) PCR 増幅反応

二枚貝の分子系統解析や種判別で既往知見のあるミトコンドリア DNA の COI 遺伝子 4 マーカー, 16S rRNA 遺伝子 2 マーカー, 12S rRNA 遺伝子および Cyt *b* 遺伝子各 1 マーカーの合計 8 マーカーを対象として PCR 法による DNA 断片の増幅を検討した結果 (Table 2-4), COI 遺伝子を対象としたプライマーセット COI-1 による DNA 断片の増幅は, アカガイ, クマサルボウ, リュウキュウサルボウおよびハイガイで確認されたが, それ以外の種では確認されなかった。また, プライマーセット COI-2 および COI-3 による DNA 断片の増幅は, 全ての種で確認されなかった。一方, プライマーセット COI-4 による DNA 断片の増幅は, クイチガイサルボウで増幅強度に個体差があったが, 全ての種で

Table 2-4 PCR amplification of 7 Arcidae species

Species	Mitochondria DNA							
	COI				16S rRNA		Cyt <i>b</i>	12S rRNA
	COI-1	COI-2	COI-3	COI-4	16S-1	16S-2	Cytb-1	12S-1
<i>Scapharca broughtonii</i>	○	×	×	○	×	×	×	
<i>Scapharca satowi</i>	×	×	×	○				
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	×	×	×	○	×	×	△	×
<i>Scapharca inaequalvis</i>	×	×	×	○				
<i>Scapharca globosa ursus</i>	○	×	×	○	×	×	×	
<i>Anadara antiquata</i>	○	×	×	○	×	×	×	
<i>Tegillarca granosa</i>	○	×	×	○	×	×	×	

Open circle, open triangle, cross mark, and blank represent amplification of all specimens, amplification of a part of specimens, no amplification, and not tested, respectively. Used primers are listed in Table 2-3.

確認された (Figure 2-2). また, 16S rRNA 遺伝子, Cyt *b* 遺伝子および 12S rRNA 遺伝子を対象とした各プライマーセットによる DNA 断片の増幅は, サルボウガイで Cyt *b* 遺伝子の DNA 断片の増幅のみ確認され, その他の種では確認されなかった. 二枚貝での既往知見があり, 汎用性の高いプライマーセットを用いたにもかかわらず, 1 プライマーセットを除いて DNA 断片の増幅が確認されなかったことから, その困難さ故にフネガイ科二枚貝のミトコンドリア DNA マーカーがこれまで開発されてこなかったことが推察された.

### iii) 塩基配列解析

全ての種で DNA 断片の増幅が確認されたプライマーセット COI-4 を用いて塩基配列を解読し, DNA マーカーとしての精度を検討するため, 全 7 種より相同な 481 塩基対の配列を決定した. 当該塩基配列を BLAST 相同性検索ソフトウェアで検索した結果, アカガイ, サトウガイ, サルボウガイおよびリュウキュウサルボウはそれぞれデータベース上の同種の COI 遺伝子の塩基配列と高い相同性を示し, それらの生物種と供試貝種が一致したとみなした. また, クイチガイサルボウおよびクマサルボウは相同性の高い塩基配列が少なく, 近縁種であるサルボウガイ, リュウキュウサルボウおよび *Anadara sativa* との相同性が上位に検出された. さらにハイガイも *A. sativa* との相同性が上位に検出された. これらの貝種は, 登録されている COI 遺伝子の塩基配列情報が少ない, あるいは使用しているマーカー部位が異なることによって同種の塩基配列情報との相同性が検出されなかったと推察された. しかし, 全ての種で得られた塩基配列は COI 遺伝子であり, 多重整列解析した結果, 塩基の挿入および欠失は確認されず, 481 塩基対中 111 箇所塩基置換が確認された (Table 2-5). *Anadara* および *Scapharca* を比較すると, 塩基置換は 25 箇所から 84 箇所であったが, *Anadara* のリュウキュウサルボウと *Scapharca* のサルボウガイ間および *Anadara* のリュウキュウサルボウと *Scapharca* のクイチガイサルボウ間の各塩基置換は, 30 箇所および 25 箇所であり, *Scapharca* 内の塩基置換 15 箇所から 74 箇所と比較しても少なかった (Table 2-6). 次いで, 全種間の塩基置換数および塩基置換率を比較した結果, 最も塩基置換が少なかったのはアカガイとハイガイ間の 2 箇所 0.4% であり, 最も塩基置換

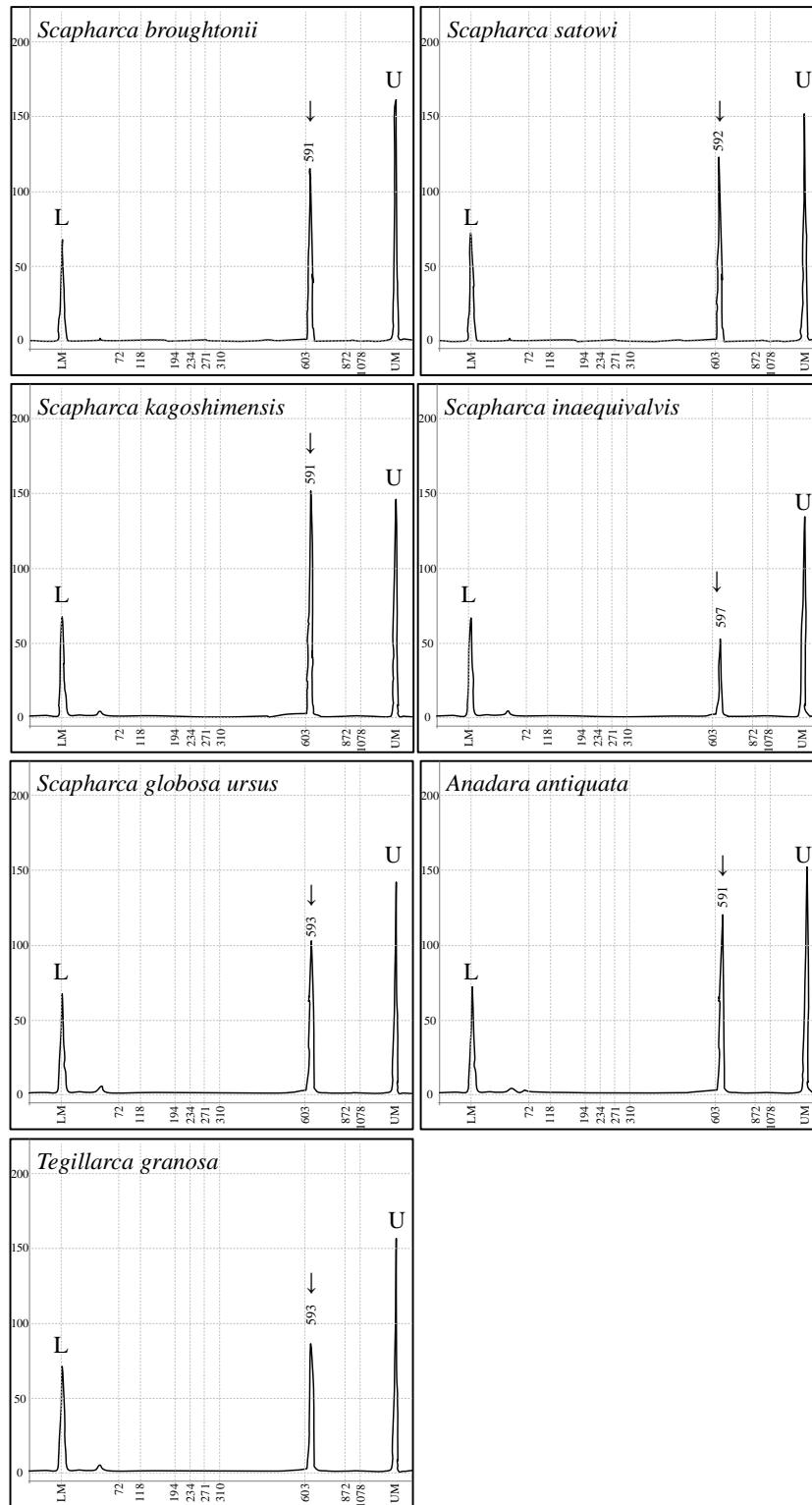


Figure 2-2. Electropherograms for PCR amplification of the mitochondrial DNA COI gene from 7 Arcidae species. L, lower marker; U, upper marker; arrow and number, PCR product.

Table 2-5 Variable sites of the mitochondrial DNA COI gene of 7 Arcidae species

Species	2	4	17	19	20	23	26	28	31	32	35	39	41	44	49	50	51	52	56	59	62	65	68	71	72	74	85	86		
	Nucleotide variable site																													
<i>Scapharca broughtonii</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T	G	C	C	T	T	A	A	A	G	C	A	A	T	T	T	T	C	A	G	T	
<i>Scapharca satowi</i>	.	.	C	.	A	C	A	.	.	A	A	.	G	C	G	.	T	T	T	G	T	.	G	G	T	G	T	G	A	A
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	A	.	C	A	A	C	A	.	.	A	.	T	.	.	G	G	.	.	T	C	.	T	C	.	T	G	.	G	G	
<i>Scapharca inaequivalvis</i>	A	.	C	A	A	C	A	A	G	.	.	T	.	G	G	.	.	T	C	C	.	T	C	C	.	T	G	.	G	
<i>Scapharca globosa ursus</i>	A	A	C	.	A	C	A	A	G	.	.	T	.	G	G	.	.	T	C	C	.	T	C	C	.	T	G	.	G	
<i>Anadara antiquata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
<i>Tegillarca granosa</i>	.	NS	.	NS	.	.	.	.	NS	.	.	NS	NS	NS	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	NS	
codon position	3	2	3	2	3	3	3	2	2	3	3	3	1	3	3	2	3	1	2	3	3	3	3	3	3	1	3	2	3	
Species	98	101	104	116	118	119	122	128	132	143	152	155	160	165	167	170	173	176	177	184	185	187	191	197	203	206	218	220		
	Nucleotide variable site																													
<i>Scapharca broughtonii</i>	A	A	T	G	T	A	A	T	T	G	A	T	G	T	A	T	A	T	T	G	G	G	C	T	T	T	T	G	T	
<i>Scapharca satowi</i>	.	T	G	.	G	T	C	A	A	A	G	C	.	C	.	.	.	A	.	A	A	.	T	.	C	A	A	A	G	
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	G	.	A	A	.	T	.	A	.	A	.	.	.	G	.	C	C	C	C	.	C	A	T	.	A	C	G	.	G	
<i>Scapharca inaequivalvis</i>	G	.	A	A	.	T	.	A	.	A	.	.	.	G	C	.	C	C	.	C	.	C	T	.	A	C	G	.	G	
<i>Scapharca globosa ursus</i>	G	.	A	A	.	T	.	A	.	A	.	.	.	G	.	C	C	C	.	C	.	C	T	.	A	C	G	.	G	
<i>Anadara antiquata</i>	.	.	A	A	A	.	T	.	.	A	.	.	.	G	.	C	C	C	.	C	.	C	A	T	.	A	.	.	G	
<i>Tegillarca granosa</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
codon position	3	3	3	3	2	3	3	3	1	3	3	3	2	1	3	3	3	3	1	2	3	2	3	3	3	3	3	3	2	
Species	221	230	236	239	242	245	246	251	256	259	262	267	275	277	278	281	284	286	294	295	298	299	307	314	317	322	325	332		
	Nucleotide variable site																													
<i>Scapharca broughtonii</i>	A	C	T	T	T	A	C	G	T	T	T	G	G	C	A	A	T	A	T	A	C	G	G	T	T	T	G	T	T	
<i>Scapharca satowi</i>	G	T	.	A	A	G	.	A	.	.	.	.	T	T	T	G	C	G	.	G	.	A	A	C	C	.	.	.	A	
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	G	.	C	A	.	T	.	.	.	.	.	T	T	T	G	C	G	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
<i>Scapharca inaequivalvis</i>	G	.	C	A	.	T	.	.	.	.	.	T	T	T	G	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
<i>Scapharca globosa ursus</i>	G	.	A	C	A	.	T	.	A	A	T	T	T	T	.	C	.	A	G	.	.	.	.	.	.	G	A	A	.	
<i>Anadara antiquata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
<i>Tegillarca granosa</i>	.	NS	.	.	.	.	NS	.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	.	.	.	NS	NS	.	NS	NS	NS	.	.	.	.	.		
codon position	3	3	3	3	3	3	1	3	2	2	2	1	3	2	3	3	3	2	1	2	2	3	2	3	3	2	2	2	3	
Species	341	344	347	357	362	369	371	374	383	385	386	392	408	409	410	413	419	422	443	446	449	452	455	458	460	464	471			
	Nucleotide variable site																													
<i>Scapharca broughtonii</i>	G	A	A	T	A	C	A	T	T	T	T	T	T	A	G	T	A	G	T	T	T	T	G	T	T	G	T	C		
<i>Scapharca satowi</i>	.	.	.	.	C	T	A	.	A	.	A	G	.	.	.	C	.	.	C	.	.	A	G	G	.	.	.	T		
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	A	G	G	.	G	T	G	.	.	.	C	C	.	G	.	.	.	C	.	C	.	A	G	C	A	C	T	T		
<i>Scapharca inaequivalvis</i>	A	G	C	G	T	G	.	.	.	G	.	C	C	.	G	.	C	.	C	C	.	A	G	C	A	C	T	T		
<i>Scapharca globosa ursus</i>	A	.	G	.	G	T	G	.	.	G	.	C	C	.	G	.	C	.	C	C	.	.	G	G	.	C	T	T		
<i>Anadara antiquata</i>	A	.	G	.	G	T	G	.	.	G	G	.	C	G	A	C	C	C	C	C	.	A	G	C	A	C	T	T		
<i>Tegillarca granosa</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
codon position	3	3	3	1	3	1	3	3	1	2	3	3	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	1	

Dots represent matches with nucleotides present in *Scapharca broughtonii*. NS and under lines are nonsynonymous substitution site and intraspecific variation, respectively. Numbers refer to positions of base pairs from the start to fragment.

が多かったのはサトウガイとリュウキュウサルボウ間の 84 箇所 で 20.2 % であつた (Table 2-6). 当該塩基配列から作成した 3 属 7 種および相同性解析で上位に検出された *A. sativa* (AB034692), さらに外群としてヌノメアカガイ (AB050892) およびベニエガイ (AB050899) の近隣結合系統樹では, 属単独でクレードを形成しなかつたものの, 全種間のブートストラップ値が 63 以上であつた (Figure 2-3).

Table 2-6 Pairwise sequence divergences of the mitochondrial DNA COI gene of 7 Arcidae species

Species	Pairwise sequence divergences						
	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>Scapharca broughtonii</i>		0.135	0.112	0.139	0.106	0.172	0.004
2 <i>Scapharca satowi</i>	59		0.165	0.176	0.162	0.202	0.135
3 <i>Scapharca kagoshimensis</i>	49	70		0.032	0.043	0.065	0.112
4 <i>Scapharca inaequalvis</i>	60	74	15		0.045	0.054	0.134
5 <i>Scapharca globosa ursus</i>	47	69	20	21		0.070	0.106
6 <i>Anadara antiquata</i>	73	84	30	25	32		0.166
7 <i>Tegillarca granosa</i>	2	59	49	58	47	71	

Above and below diagonal indicate mean distance values calculated by the Kimura's two-parameter distance method and number of nucleotide substitutions, respectively.

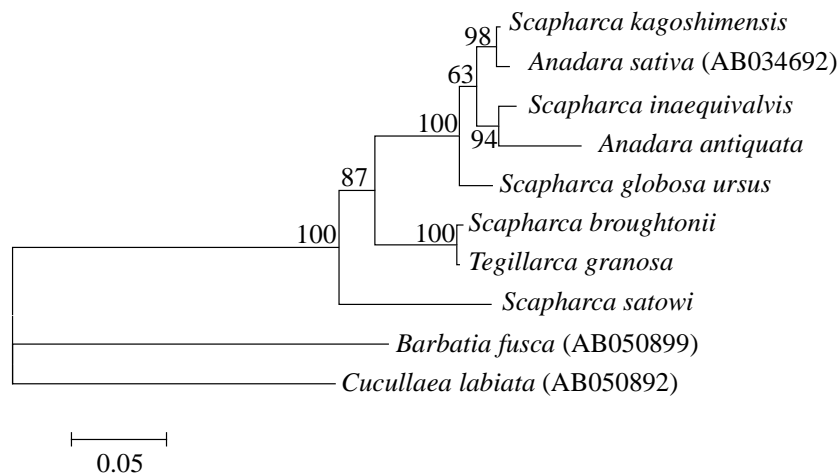


Figure 2-3. Neighbor-joining tree of 7 Arcidae species with *Anadara sativa*, *Barbatia fusca* and *Cucullaea labiate* inferred from the mitochondrial DNA COI gene. Bootstrap values higher than 50 are shown at nodes.

## 2.4. 考察

PCR 法により遺伝子を増幅する際、プライマーと鋳型となる塩基配列との会合が重要になる。一般にプライマーを設計する際、プライマーの 3'末端と鋳型となる塩基配列間で 2 塩基対以上ミスマッチする配列は増幅が成功しないことが知られており、これを利用して故意にミスマッチを挿入してプライマーの特異性を上げる手法もある（岩田ら 2007; Wang and Guo 2008）。本章では二枚貝の分子系統解析や種判別で既往知見のあるミトコンドリア DNA の 4 遺伝子領域 8 マーカーを対象として PCR 法による DNA 断片の増幅を検討したが (Table 2-4), COI 遺伝子を増幅する 1 プライマーセットを除いて DNA 断片の増幅が確認されなかったことから、フネガイ科二枚貝の塩基配列と既報のプライマー間の特異性は低いことが示唆された。

遺伝子の塩基酸配列を比較解析する分子系統解析では、進化速度がきわめて重要となる。DNA の塩基配列に突然変異が起こり、塩基がランダムに置き換わっていくことを塩基置換といい、塩基配列における単位時間あたりの塩基置換の回数を進化速度というが、全ての系統で進化速度の有意差が検出されない遺伝子は少なく、個体レベル、個体群レベルや種間レベルのうち、どのレベルを検出するかによって分析領域を選定する必要がある（小池・松井 2003a）。フネガイ科二枚貝では、二枚貝の種判別に適しているとされている 16S rRNA 遺伝子を指標とした報告例はほとんどない（Aranishi and Iidzuka 2007）。一方、COI 遺伝子領域を指標として、対象とした種や産地は異なるが、韓国および日本で最近報告されている（松本・速水 2001; Lee and Kim 2003）。

Lee and Kim (2003) は、韓国産のアカガイ (AY040551), サトウガイ (AY040552) およびサルボウガイ (AY040553) の 3 種を対象に COI 遺伝子 599 塩基対を解析し、3 種間の塩基変異数および塩基置換率を比較解析している。その結果、塩基変異数および塩基置換率は 27 から 48 箇所および 4.7 から 12.4% であり、マガキ *Crassostrea gigas* (AF177226) を外群とした近隣結合系統樹では 3 種は単系統のクレードを形成すると報告している。本研究では、Lee and Kim (2003) より解析鎖長が短い COI 遺伝子 481 塩基対であったが、アカガイ、サトウガイおよび



サルボウガイの3種間の塩基変異数および塩基置換率は49箇所から70箇所および11.2から16.5%であり、韓国産の同種間と比較すると、日本産は多型性が高いことが明らかとなった (Table 2-6)。また、松本・速水 (2001) は、日本産のアカガイ (AB050894)、サトウガイ (AB050898)、サルボウガイ (AB034692)、ハゴロモ *Diluvarka tricenica* (AB050896)、ハイガイ (AB050897)、フィリピン産のリウキュウサルボウ (AB050895) および中国産のホソウネハイガイ *Tegillarca nodifera* (AB050893) の4属7種のCOI遺伝子906塩基対をアミノ酸に変換し系統樹により解析した結果、Lee and Kim (2003) と同様に単系統のクレードを形成することが報告されている。本研究では、既往知見では解析事例がないクマサルボウを加えたフネガイ科二枚貝3属7種の近隣結合系統樹でも、外群としたベニエガイおよびヌノメアカガイとは異なる単系統のクレードを形成することも明らかとなった (Figure 2-3)。

当該遺伝子領域部分塩基配列は、種間レベルの変異を検出する精度を有している可能性が示唆されたが、種間多型を検出する場合、種内レベルの変異が大きいと種内変移を種間レベルの多型として検出する恐れがある。従って、種内レベルの変異を検討するため、中海 (島根県)、有明海 (佐賀県および熊本県)、水島灘 (岡山県) および大阪湾 (大阪府) の国内5地点からサルボウガイ成貝5個体ずつ合計25個体を用いて、当該遺伝子領域481塩基対を同様に解析した結果、合計25個体から0塩基から7塩基の変異による9種類のハプロタイプが得られ (Table 2-7)、種内の平均塩基置換率は0.33%であった。なお、有明海産ミノエガキ *C. ariakensis* 159個体の当該遺伝子領域600塩基対における平均塩基置換率は0.49% (田中 2011) 国内主要4産地におけるヤマトシジミ *Corbicula japonica* 188個体500塩基対では0.47%であったことから (未発表)、サルボウガイ種内の塩基置換率は比較的低いことが明らかとなった。さらに、サルボウガイと近縁種との変異塩基数を比較すると、最小でクイチガイサルボウ間の11塩基、最大でサトウガイ間の75塩基であり (Table 2-7)、当該遺伝子領域は、種内変異が種間変異を超えないことが明らかとなった。さらに、本研究に供した全ての試料と近隣結合系統樹を作成した結果、これら一連の解析結果と同様の結果を示し (Figure 2-4)、サルボウガイの種内変異は種間変異より有意に小さいこ

Table 2-7 Number of haplotypes and variable nucleotides of the mitochondrial DNA COI gene of 25 *Scapharca kagoshimensis* individuals and 6 Arcidae species

	Samples	Haplotypes									Number of variable nucleotide
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>Scapharca kagoshimensis</i>											
Nakaumi Lagoon (Shimane)	5	1	4								0-1
Ariake Sea (Saga)	5	1		3	1						0-2
Ariake Sea (Kumamoto)	5	3		1		1					0-3
Mizushima Sea (Okayama)	5				2		1	1	1		1-4
Osaka Bay (Osaka)	5				3					2	1-5
Total	25	5	4	4	7	1	1	1	1	1	0-7
vs.											
<i>Scapharca kagoshimensis</i>											
<i>Scapharca broughtonii</i>											49-56
<i>Scapharca satowi</i>											68-75
<i>Scapharca inaequivalvis</i>											11-18
<i>Scapharca globosa ursus</i>											18-25
<i>Anadara antiquata</i>											28-35
<i>Tegillarca granosa</i>											49-56

とが明らかとなった。サルボウガイは、過去に産地間の種苗や成員の移動履歴が残っている（島根県水産試験場 1908; 1920; 1923; 1958; 1961; 1963; 日下部 1959）。特に中海と有明海間、中海と水島灘間および有明海と水島灘間は盛んに移動があったが、中海や水島灘では特異的なハプロタイプが確認され、有明海は一部の地点と同じクレードを形成していることから移植履歴と照らし合わせると過去の移植の影響を評価できる可能性がある。

以上の結果から、本章で用いたミトコンドリア DNA の COI 遺伝子部分領域は種内多型の影響を受けない種間レベルの変異を検出する精度を有した DNA マーカーであることが示唆された。COI 遺伝子は、ミトコンドリアの電子伝達系の反応に関与する酵素の一種であるチトクローム *c* 酸化酵素サブユニット I の遺伝情報をコードしている (Desjardins and Morais 1990)。タンパク質をコードしている領域は、塩基変異によりアミノ酸が変化すると、タンパク質の機能に関わるため、アミノ酸変異を伴わない同義置換が多いコドンの第三位で変異が起こりやすい (石黒 2007)。そのため、遺伝的な制約が弱く、前述した 16S rRNA

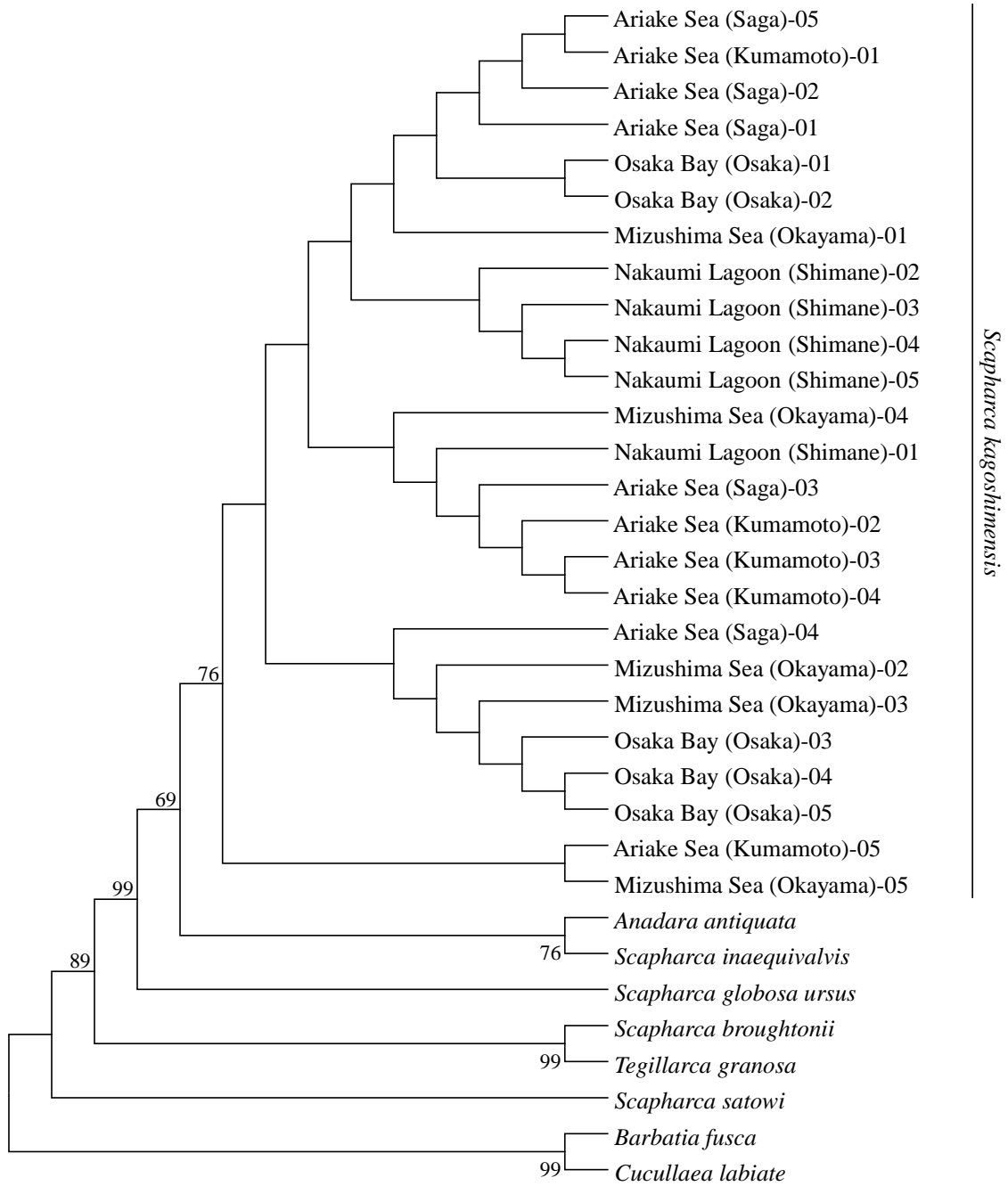


Figure 2-4. Neighbor-joining tree of 25 *Scapharca kagoshimensis* individuals and 6 Arcidae species with *Barbatia fusca* and *Cucullaea labiate* as outgroup inferred from the mitochondrial DNA COI gene. Bootstrap values higher than 50 are shown at nodes.

遺伝子と比較すると進化速度が大きいいため、種内変異の検出によく用いられる。本章で COI 遺伝子のマーカーの精度を検討した結果、種内レベルだけでなく種間レベルの両方の検出に有効であることが示唆された。これまでの二枚貝類の分子系統解析では、16S rRNA 遺伝子により種判別した後、COI 遺伝子で集団遺伝構造を解析するという二段階の手順を経ている報告が多いが (Wang *et al.* 2004; 飯塚 2009; 野田 2010), COI 遺伝子領域で種内レベルおよび種間レベルの両方を検出できれば、ミトコンドリア DNA を指標とした分布生態調査をより簡易化することが可能となるため、サルボウガイにおける COI 遺伝子は、非常に有用なマーカーであると推察された。

本研究に供した *Scapharca*, *Anadara* および *Tegillarca* の形態識別の指標の一つとなっている放射肋数は、同属間でも大きく異なり、その範囲は他属のそれとも重複している (Table 1-2; Table 2-2)。一方、分子系統解析により、同属の中でも放射肋数が近似していることが、必ずしも系統的に近縁であるとは限らないことも示された (Figure 2-3)。また、*Anadara* と *Scapharca* は、前者がほぼ等殻で放射肋上に細溝を生じるのに対して、後者は左殻が右殻より大きい不等殻で放射肋上に平滑または結節を生じるため、形態的に区別できるとされている (波部 1977)。しかし、*Anadara* 類の化石種には放射肋上に細かい条線を有する種群と結節を有する種群の2つに大別されており、*Anadara* 現生種の分類は更なる検討を要する (松本・速水 2001)。本研究における分子系統解析でも、*Anadara* のリュウキュウサルボウは *Scapharca* のクレードに含まれており、遺伝的にも *Scapharca* と *Anadara* の分類の再検討が必要であろう。

なお、本研究では分析時間が短く、PCR 産物の検出精度が高いマイクロチップ電気泳動法を採用した (Sinville and Soper 2007)。当該方法は、一定比率の修正により PCR 産物の正確な鎖長が算出されるためマイクロサテライトマーカーの反復数が推定でき、一般的なマイクロサテライト解析へのデータへの転用も可能であるため (岩崎ら 2009)、数十塩基差で複数の DNA 断片を増幅するマルチプレックス PCR (multiplex-PCR) 解析への転用に適しており、大量の検体を分析しなければならないフィールド研究に最適な分析方法となる。

## 第3章 国内におけるサルボウガイ地域集団の遺伝特性

### 3.1. 緒言

分子遺伝学的手法の発展により、二枚貝類においても集団の遺伝的多様性の評価、遺伝資源の維持・増殖・評価、集団の生殖様式の推定あるいは成立過程の推定など遺伝子マーカーが適用される場面が増えてきている。系統地理学は、種内の遺伝的多様性や遺伝系統の地理的分布パターンについて、種分化以降の分布形成過程を推定するものである (Avies *et al.* 1987)。種内の地理的集団間の遺伝的な差異は、対立遺伝子の頻度の違いによって捉えられ、その程度は集団隔離後の経過時間に比例すると考えられている。近年、ミトコンドリア DNA 分析の進歩により、種間レベルの系統関係を推定することから種内レベルの系統関係を推定する領域まで拡大した。また、ミトコンドリア DNA 分析によって得られるハプロタイプには個体による差があり、これらのハプロタイプはある祖先個体で起きた突然変異によって生み出され、代々受け継がれてきたものであることが明らかになった (高橋 2010)。このような遺伝子マーカーを適用することで個体群の由来や遺伝的特性を調査することが可能となった。

浮遊幼生期をもつ海産動物は、海流の影響を受けるため大きな分散能力を持つと考えられており、そのため遺伝子流動 (gene flow) を容易にさせ、遺伝的差異が認められないとされる (Avisé *et al.* 1987; Waples 1998)。例えば、日本沿岸から東シナ海に分布し、1ヶ月間の浮遊幼生期をもつヤリイカ *Loligo bleekeri* ではミトコンドリア DNA 調節領域の塩基配列分析によって日本周辺の4集団間に遺伝的差異がないことが明らかとなっている (伊藤ら 2006)。また、世界中の熱帯域から温帯域に分布し、ある程度の大きさになるまで浮遊生活するとされているキンメダイ *Beryx splendens* でも同じく調節領域の塩基配列分析により日本周辺の3集団間で (秋元ら 2003)、また制限酵素断片長多型 (PCR-RFLP) 分析により日本周辺およびニュージーランド周辺の集団間で遺伝的差異がないことが報告されている (柳本ら 1996)。これに対し、浮遊幼生期を持たない種や浮遊幼生期が短い種では、個体群間で遺伝的分化が明瞭に認められるとされ

る (Riginos and Nachman 2001). 例えば, 浮遊幼生期のみ移動しその後ほぼ移動性がなくなる二枚貝類のうち, 3 から 10 日間と比較的短い浮遊幼生期をもつヤマトシジミ *Corbicula japonica* では, ミトコンドリア DNA COI 遺伝子の塩基配列分析によって国内に 3 つの明瞭な地理的分化が認められている (飯田ら 2012). また, 4 から 5 日間と浮遊幼生期が短いクロアワビ *Haliotis discus discus* では, 核 DNA のマイクロサテライト分析により国内の地理的に近い集団間でも遺伝的差異が認められている (原 2008). しかしながら, 岩場に付着するカメノテ類では, 長期間の浮遊幼生期を持っていても, 海流, 地形や温度障壁などによって地域集団が形成されるという報告もあり (Lewis and Thorpe 1994; Van Syoc 1994), 生物種によって異なっている.

生物種内における遺伝的多様性は, 集団間の遺伝的分化により維持されている. この遺伝的分化は, 変動する環境への適応を可能とするとともに, 生物種そのものを安定的に維持するために最も重要な生態メカニズムとされている (谷口 1999). 天然集団では, 遺伝的変異に一定のバランスが保たれ, 短期間あるいは長期間に亘り遺伝的多様性が変動しつつも遺伝的分化が保持される. 一方, 養殖集団などの人為的に形成された集団では, 遺伝的変異に一定のバランスが保たれず, 経時的に遺伝的多様性が縮小するとされている (谷口 1999). 種内における遺伝的に独立した集団単位を明らかにすることは, 生物生産を適切に管理するために不可欠である. 形態による識別が難しい種では, 詳細な遺伝的情報の集積とその活用が重要になってくる. しかし, 浮遊幼生期が 2 から 3 週間あり (日下部 1959; 高見・井上 1981), 過去に頻繁に移植されているサルボウガイ *Scapharca kagoshimensis* の地域集団構造に関する, 日本広域に亘る調査地点や集団解析可能なサンプル数によるまとまった研究はこれまで報告がない. 集団遺伝構造解析には, 核 DNA よりも進化速度が大きいミトコンドリア DNA が適しており, 中でも COI 遺伝子は特に進化速度が大きく, 個体変異を蓄積していることから頻繁に分析対象とされているため, 本章では, 第 2 章で検討したミトコンドリア DNA の COI 遺伝子マーカーを用いて, サルボウガイの国内における遺伝的多様性や遺伝構造を解明することを目的とした.

### 3.2. 材料と方法

#### i) 試料

本研究に供したサルボウガイの採集地および採集年月日を Figure 3-1 および Table 3-1 に示した. 試料は, 殻長, 殻高, 殻幅および殻付き重量を計測した後, 開殻して軟体部重量を計測し, 閉殻筋を分離して DNA 調製まで $-20^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存した.

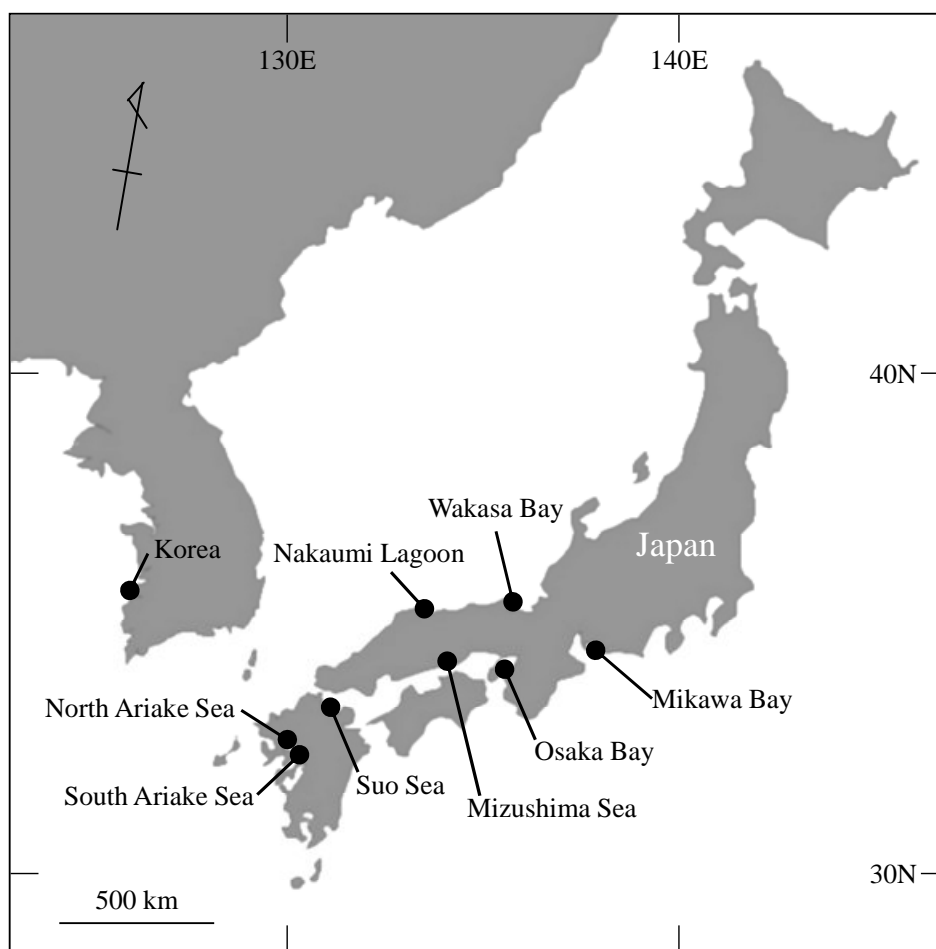


Figure 3-1. Locations of sample collection of *Scapharca kagoshimensis* in Japan and Korea.

#### ii) ゲノム DNA 調製

第2章に準じて改変 Urea-SDS-Proteinase K 法 (Aranishi and Okimoto 2004; 2005; Aranishi 2006) により全ゲノム DNA を調製した.

Table 3-1 Genetic variability of *Scapharca kagoshimensis* in Japan and Korea based on the mitochondrial DNA COI sequence data

Location	Sampling date	Number of individuals	Number of haplotypes	Number of nucleotide substitutions	Haplotype diversity	Nucleotide diversity (%)
Japan						
Nakaumi Lagoon	21 May 2009	36	15	11	0.876±0.039	0.366±0.234
North Ariake Sea	14 May 2008	30	9	7	0.848±0.039	0.321±0.213
South Ariake Sea	9 May 2008	29	13	7	0.934±0.021	0.389±0.247
Suo Sea	24 September 2009	15	8	15	0.791±0.105	0.594±0.363
Mizushima Sea	7 December 2011	31	8	7	0.650±0.090	0.223±0.161
Osaka Bay	12 March 2008	23	12	17	0.779±0.091	0.399±0.255
Wakasa Bay	14 December 2009	14	7	14	0.846±0.074	0.547±0.340
Mikawa Bay	28 June 2011	27	13	15	0.863±0.052	0.521±0.314
Korea						
Yellow Sea	14 November 2008	20	6	9	0.447±0.137	0.194±0.149

### iii) PCR 増幅反応

サルボウガイのミトコンドリア DNA COI 遺伝子領域 636 塩基対を PCR 増幅するため、5'-GGTGT GTGTT TAAGA TTTCA CA-3' および 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3' のプライマーセットを用いた (Tanaka and Aranishi 2013). PCR 増幅は、MgCl<sub>2</sub> 終濃度を 2.0 mM に調整したプロメガ社製 GoTaq Green Master Mix, 各 0.5 μM のミトコンドリア DNA の COI 遺伝子プライマーセットおよび 20 ng の DNA 溶液を含む 11 μl で反応した. Techne 社製 TC-312 サーマルサイクラーによる PCR 条件は、95°C で 2 分間の初期変性後、95°C で 10 秒間の変性/50°C で 20 秒間の会合/72°C で 40 秒間の伸長を 40 回繰り返す、72°C で 5 分間の最終伸長により終了した. PCR 産物を Invitrogen 社製 SYBR Gold Nucleic Acid Gel Stain を含む島津製作所社製 DNA-1000 Reagent Kit と混合し、島津製作所社製 MCE-202 マイクロチップ電



気泳動装置 MultiNA により分析した。

iv) 塩基配列解析

PCR 産物は, Amersham Biosciences 社製 ExoSAP-IT で処理して未反応プライマーおよび遊離 dNTP を除去した後, Applied Biosystems 社製 BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit を使用し, Applied Biosystems 社製 3730xl DNA Analyzer により塩基配列を解読した。ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子領域の部分塩基配列は MEGA version 5.0 プログラム (Tamura *et al.* 2011) の ClustalW (Thompson *et al.* 1994) を使用して多重整列解析し, ハプロタイプを整理した。ハプロタイプ多様度  $h$  および塩基多様度  $\pi$  は, Arlequin ver. 3.5.1.3 (Excoffier and Lischer 2010) を用いて算出した。集団遺伝学的解析は, 各地点間の固定指数ペアワイズ  $\Phi_{ST}$  およびミスマッチ分布を Arlequin ver. 3.5.1.3 を用いて算出した。 $\Phi_{ST}$  値の多重検定は, Bonferroni の補正を適用し (Rice 1989), 各集団間の遺伝距離を二変数法 (Kimura 1980) により算出した後, PHYLIP (Felsenstein 2005) の neighbor プログラムを使用して近隣結合系統樹を作成した。ハプロタイプネットワーク図は, TCS version 1.21 プログラム (Clement *et al.* 2000) を用いて統計上の信頼度 95% をもつ統計学的最節約ネットワーク樹 (Templeton *et al.* 1992) を作成した。また, ミスマッチ分布は, 10,000 回のブートストラップ反復による集団拡大モデルのシミュレーション値と比較し, シミュレーション値との有意差検定 sum of squared deviation (SSD) および Harpending's raggedness index ( $H_{ri}$ ) は Arlequin ver. 3.5.1.3 を用いて算出した。突然変異と遺伝的浮動の平衡からの乖離の程度を検討は, 中立性検定 Tajima's  $D$  および Fu's  $F_S$  を適用し, Arlequin ver. 3.5.1.3 を用いて算出した。なお, 整理したハプロタイプは GenBank 国際データベースに AB854359 から AB854417 まで登録した (Appendix 4)。

### 3.3. 結果

#### i) ゲノム DNA 調製

ゲノム DNA を調製した全てのサンプルからミトコンドリア DNA を含む全 DNA が調製された。最終標品の 260 nm および 280 nm における吸光度を測定し、純度と DNA 量を求めた結果、全てのサンプルから PCR 反応に必要な量の DNA が測定された。

#### ii) PCR 増幅反応

PCR 増幅反応の結果、全 225 個体から、標的としたミトコンドリア DNA の COI 遺伝子と推定される約 630 bp の DNA 断片が増幅された。ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子領域の部分塩基配列を、フォワードプライマーを用いて解読した結果、COI 遺伝子領域部分塩基配列 555 bp が再現的に解読できた。

#### iii) 塩基配列解析

塩基配列を CLUSTALW 解析ソフトウェアにより相同性解析した結果、43 箇所の塩基変異により 59 種類のハプロタイプが得られた (Table 3-2)。各集団に 7 から 17 箇所の塩基変異が確認されたが、挿入および欠失はなかった。得られた 59 ハプロタイプのうち、14 種類が集団間に共通するハプロタイプ H01 から H14 であり、そのうち H01、H02 および H14 の 3 種類のハプロタイプが日本と韓国間の共通ハプロタイプであった (Table 3-3)。各集団におけるハプロタイプ数の最小と最大は、韓国の 6 ハプロタイプおよび中海の 15 ハプロタイプであった (Table 3-1)。

ハプロタイプ多様度  $h$  および塩基多様度  $\pi$  を算出した結果、日本の 8 集団の  $h$  は  $0.650 \pm 0.090$  から  $0.934 \pm 0.021$  であり、 $\pi$  は  $0.223 \pm 0.161\%$  から  $0.594 \pm 0.363\%$  であった (Table 3-1)。これらの結果から、日本のサルボウガイは比較的遺伝的多様性が高いことが明らかとなった。一方、韓国の  $h$  は  $0.447 \pm 0.137$  であり、 $\pi$  は  $0.194 \pm 0.149\%$  であったことから (Table 3-1)、韓国と日本のサルボウガイを比較すると、韓国は遺伝的多様度を示す  $h$  および  $\pi$  が有意に低い値であることが明らかとなった。



Table 3-3 Haplotype frequencies of *Scapharca kagoshimensis* in Japan and Korea based on the mitochondrial DNA COI sequence data

Haplotype	Japan									Korea	Total
	Nakaumi Lagoon	North Ariake Sea	South Ariake Sea	Suo Sea	Mizushima Sea	Osaka Bay	Wakasa Bay	Mikawa Bay			
H01	2	6	4	7	18		3	9	15	64	
H02	11	3	3						1	18	
H03	1	1	4		2	11				19	
H04	4		1		4	2	5	1		17	
H05		9	2							11	
H06	1	2	4							7	
H07		5	2							7	
H08		2	3							5	
H09			1				2			3	
H10				2	3			1		6	
H11	1				1					2	
H12	1					1				2	
H13	1						1			2	
H14				1	1				1	3	
H15	5									5	
H16	4									4	
H17	1									1	
H18	1									1	
H19	1									1	
H20	1									1	
H21	1									1	
H22		1								1	
H23		1								1	
H24			2							2	
H25			1							1	
H26			1							1	
H27			1							1	
H28				1						1	
H29				1						1	
H30				1						1	
H31				1						1	
H32				1						1	
H33					1					1	
H34					1					1	
H35						1				1	
H36						1				1	
H37						1				1	
H38						1				1	
H39						1				1	
H40						1				1	
H41						1				1	
H42						1				1	
H43						1				1	
H44							1			1	
H45							1			1	
H46							1			1	
H47								5		5	
H48								2		2	
H49								2		2	
H50								1		1	
H51								1		1	
H52								1		1	
H53								1		1	
H54								1		1	
H55								1		1	
H56								1		1	
H57									1	1	
H58									1	1	
H59									1	1	
Number of individuals	36	30	29	15	31	23	14	27	20	225	

集団間の固定指数ペアワイズ  $\Phi_{ST}$  は, 0.045 から 0.416 となった(Table 3-4). これらの値は, 周防灘若狭湾間および周防灘三河湾間を除いて有意に高い数値を示した. これらの結果から, サルボウガイの遺伝子流動は地理的に隣接した有明海の2地点間であっても制限されていることが示された. さらに,  $\Phi_{ST}$  値から近隣結合系統樹を作成した結果, 5つの独立したクラスターに分けられることが明らかとなり, それぞれ中海, 有明海, 大阪湾, 若狭湾およびその他の集団であった (Figure 3-2).

Table 3-4 Pairwise  $\Phi_{ST}$  among *Scapharca kagoshimensis* in Japan and Korea based on the mitochondrial DNA COI sequence data

	Nakaumi Lagoon	North Ariake Sea	South Ariake Sea	Suo Sea	Mizushima Sea	Osaka Bay	Wakasa Bay	Mikawa Bay
North Ariake Sea	0.174**							
South Ariake Sea	0.075*	0.066*						
Suo Sea	0.261**	0.304**	0.283**					
Mizushima Sea	0.227**	0.298**	0.272**	0.066*				
Osaka Bay	0.167**	0.346**	0.147**	0.318**	0.340**			
Wakasa Bay	0.191**	0.284**	0.172**	0.052	0.083*	0.125**		
Mikawa Bay	0.240**	0.276**	0.275**	0.045	0.078*	0.331**	0.124**	
Korea	0.218**	0.259**	0.289**	0.135*	0.069*	0.416**	0.206**	0.102**

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.0033$  following Bonferroni correction (k=36)

ハプロタイプネットワーク図は, 中海, 有明海および水島灘が1から5塩基置換による複雑な灌木樹形であり, 共通ハプロタイプを多く含んでいた (Figure 3-3). 一方, 周防灘, 大阪湾, 若狭湾, 三河湾および韓国は, 4塩基以上の連続した消失ハプロタイプを含む樹形であり, 低頻度のユニークハプロタイプを多く含んでいた (Figure 3-3). そのハプロタイプ頻度に地理的な傾向は認められなかった (Table 3-3; Figure 3-3). 系統地理的解析のためミスマッチ分布を作成し, 中立性検定をした. その結果, 中海および有明海のミスマッチ分布は, 実測値とシミュレーション値が近接する単峰型を示した (Figure 3-4).

一方、水島灘および韓国は L 字型を示し、その他の集団は多峰型であった (Figure 3-4). ミスマッチ分布検定の SSD および  $H_{ri}$  は両方とも全ての集団で有意差を示さなかった (Table 3-5). Tajima's  $D$  検定は、有明海で正の値を  
 その他集団では負の値を示したが、Fu's  $F_S$  検定では、全ての集団が、負の値を示した (Table 3-5).

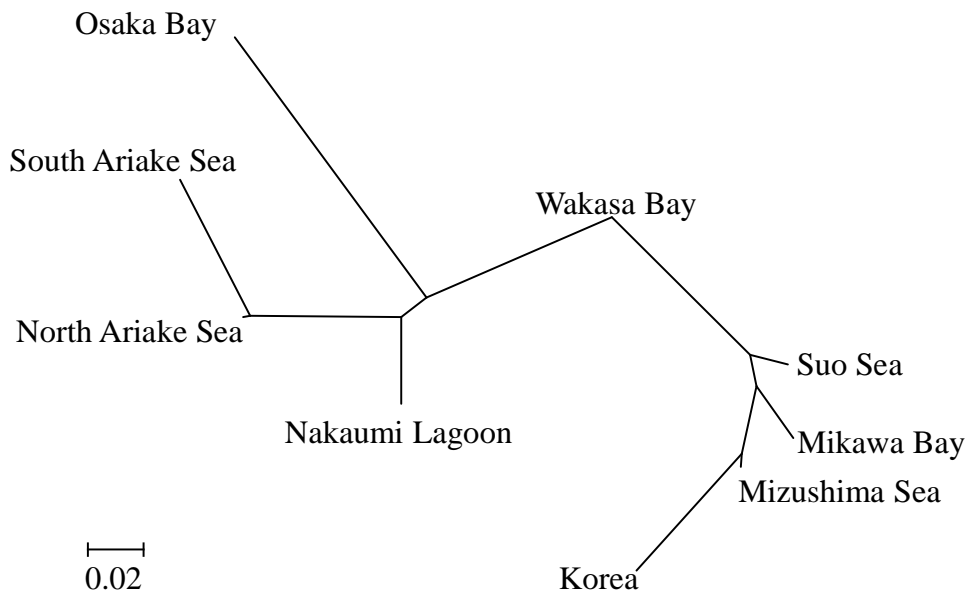


Figure 3-2. Neighbor-joining tree of *Scapharca kagoshimensis* in Japan and Korea based on pairwise  $\Phi_{ST}$  values.

Table 3-5 Neutrality test and goodness of fit test for *Scapharca kagoshimensis* in Japan and Korea based on the mitochondrial DNA COI sequence data

	Neutrality test				Goodness of fit test			
	Tajima's $D$	$p$	Fu's $F_S$	$p$	SSD	$p$	$H_{ri}$	$p$
Nakaumi Lagoon	-0.725	0.275	-8.736	0.000**	0.001	0.890	0.045	0.500
North Ariake Sea	0.028	0.574	-2.637	0.068	0.004	0.390	0.064	0.380
South Ariake Sea	0.627	0.772	-6.538	0.003**	0.009	0.190	0.073	0.140
Suo Sea	-1.141	0.138	-1.402	0.201	0.026	0.630	0.081	0.510
Mizushima Sea	-0.859	0.194	-2.997	0.026	0.005	0.750	0.042	0.930
Osaka Bay	-1.880	0.022*	-6.202	0.000**	0.014	0.430	0.060	0.570
Wakasa Bay	-1.260	0.089	-0.858	0.273	0.016	0.380	0.041	0.800
Mikawa Bay	-0.887	0.212	-5.001	0.009**	0.008	0.660	0.023	0.830
Korea	-1.976	0.014*	-2.030	0.052	0.013	0.260	0.136	0.760

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.02$

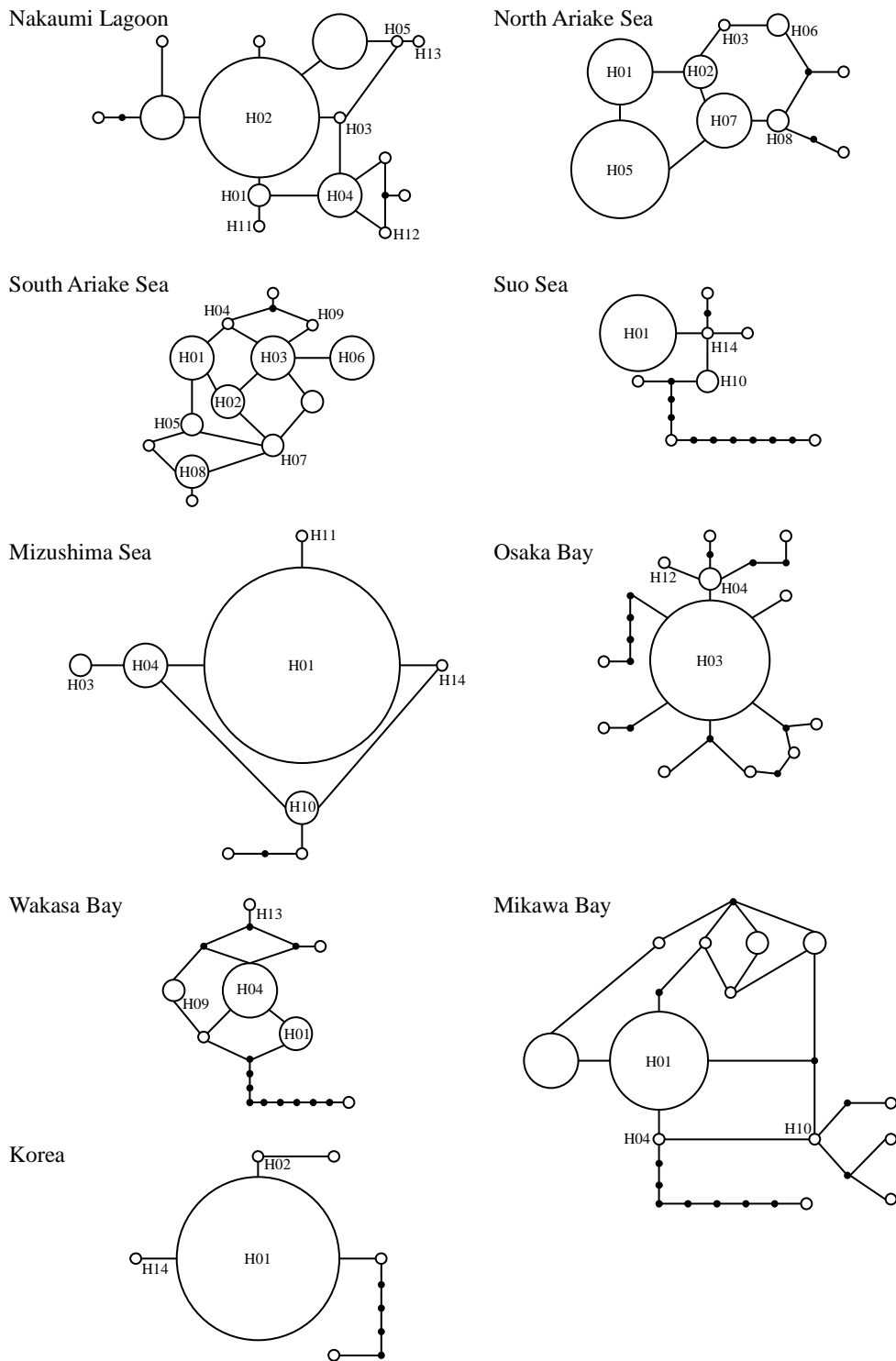


Figure 3-3. Haplotype networks of *Scapharca kagoshimensis* in Japan and Korea. Circle size is proportional to the frequency of each haplotype, and 14 common haplotypes are represented by H01-H14. Circle, dot, and line are haplotypes, hypothetical missing intermediates, and one mutational step, respectively.

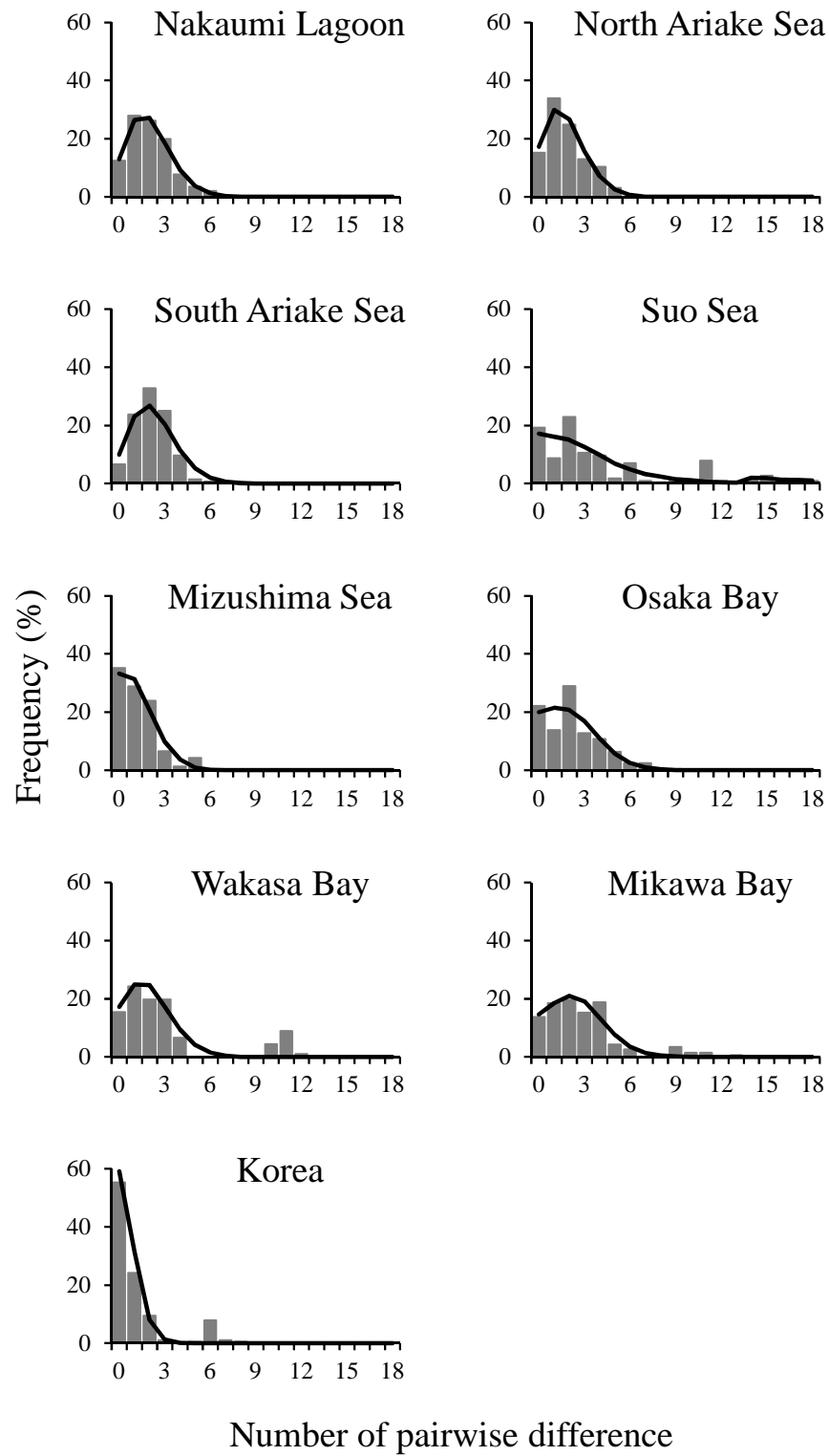


Figure 3-4. Mismatch distributions of *Scapharca kagoshimensis* in Japan and Korea. Bars and lines are observed and simulated values, respectively.



### 3.4. 考察

本章では、日本 8 集団および韓国 1 集団のサルボウガイの遺伝的多様性および遺伝構造を詳細に解析した。

塩基配列内の塩基置換を分析し、ハプロタイプネットワーク図やミスマッチ分布図を作成することにより、個体群動態を推察することができる。比較的近年に一斉放散した個体群は、ハプロタイプネットワーク図が花火型樹形となり、ミスマッチ分布図はピークの強い L 字型を示すことが知られている (Rogers and Harpending 1992; 小池・松井 2003b) (Figure 3-5)。さらに、時間経過に従って、ハプロタイプネットワーク図は灌木樹形となり、ミスマッチ分布図のピークの位置が塩基置換数の大きいほうへ移動していくことが経験およびシミュレーションにより知られている (Rogers and Harpending 1992; 小池・松井 2003b; Figure 3-5)。

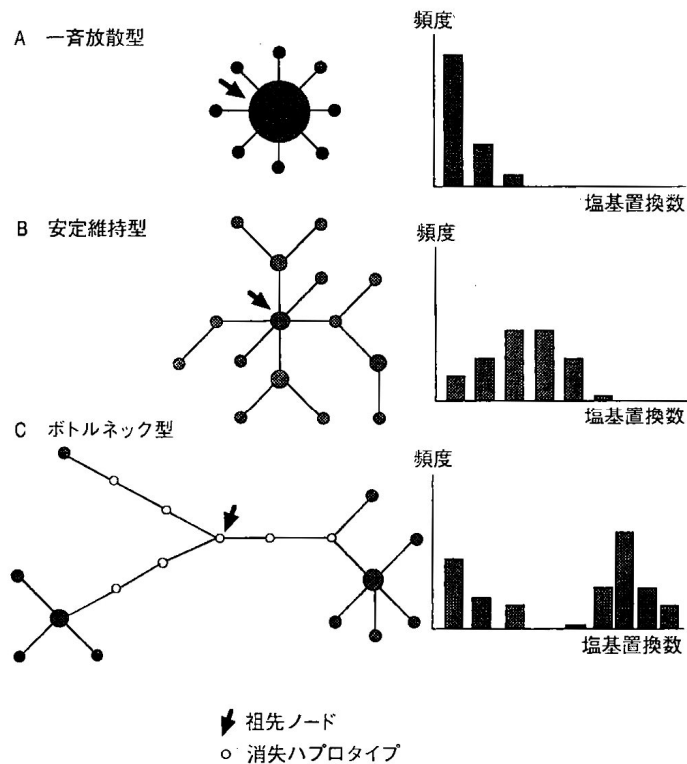


図 3-9 ネットワーク樹と塩基置換頻度分布の関係に関する概念図。

Figure 3-5. Conceptual diagram of haplotype networks and mismatch distributions originated from Koike and Matsui (2003b).

各集団の遺伝構造を詳細に検討すると、中海、有明海および水島灘は比較的長時間個体群が維持されていた。これら 4 集団のハプロタイプネットワーク図は個体群内部で分化が進む過程でハプロタイプが連続的に残っており、ハプロタイプ間も複雑につながりあっていた (Figure 3-3)。ミスマッチ分布図でも、中海および有明海は塩基置換が連続する緩やかな単峰型となり、ピークの裾が広がっていることから、これらの集団はより長い時間個体群が維持されていたことが示唆された (Figure 3-4)。また、水島灘は塩基変異が連続するものの、0 塩基置換や 1 塩基置換に強いピークがある L 字型となり、限られたハプロタイプが近年多数放出されていることが示唆された (Figure 3-4)。一方、周防灘、大阪湾、若狭湾、三河湾および韓国は過去に個体数の大きな減少が起こっていた。これら 5 集団のハプロタイプネットワーク図は、4 つ以上の消失ハプロタイプが連なっていた (Figure 3-3)。これは、個体群内部で分化が進む過程で複数のハプロタイプが喪失したことを示しており、その後の個体数の回復により複数の放散クレードがある不連続なネットワークであった (Figure 3-3)。ミスマッチ分布図でも、塩基置換が途切れてピークが分離した明瞭な二峰型あるいは複数回の放散を示す多峰型となっていたことから過去にボトルネックのような個体数の大きな増減を繰り返していることが示唆された (Figure 3-4)。

集団間のペアワイズ  $\Phi_{ST}$  値を元に作成した近隣結合系統樹から、中海、有明海、大阪湾および若狭湾がそれぞれ独立したクラスターを形成しており、海域ごとに独立していたが、残りの周防灘、水島灘、三河湾および韓国で一つのクラスターを形成し、地理的關係を反映していなかった (Figure 3-2)。しかし、サルボウガイのハプロタイプ頻度や組成は明瞭に各集団で異なっており (Table 3-3; Figure 3-3)、全集団間のペアワイズ  $\Phi_{ST}$  は、全 36 組中 34 組で有意差が認められることから (Table 3-4)、各集団が独立した遺伝構造を保持していることが示唆された。韓国と国内集団が類似の遺伝的組成を保有していた例がヤマトシジミ *Corbicula japonica* でも報告されており、遺伝的起源を異にするか、あるいは単純な地理的距離によらない隔離機構が存在し、集団独自の遺伝的組成を持つに至った可能性を指摘している (飯田ら 2012)。サルボウガイ集団にも当てはまる可能性が考えられるが、各集団とも独自の遺伝的組成を持ち、明瞭な遺

伝的分化が認められることから、サルボウガイは地域固有の環境に適応した地域独自の遺伝構造を発達させていることが推察された。

Tajima's  $D$  値や Fu's  $F_S$  値はもともと分子進化の自然選択に対する中立性を検定するために考案されて指数であり、これらの値が有意な値をとる場合、自然選択などにより分子進化が中立でない、すなわち塩基置換がランダムでないと判断される。個体数の急激な縮小や拡大を経験した集団は、これらの値が負の値をとることが知られており、過去の集団サイズ拡大の傍証として使用される (Mousset *et al.* 2004)。有明海を除く全ての集団で Tajima's  $D$  値が負の値となり (Table 3-5)、北部および南部有明海は正の値を示したが有意差が認められなかった。さらに、全9集団の Fu's  $F_S$  値は負の値を示し、過去の集団サイズの拡大の可能性が推察された (Table 3-5)。これは Tajima's  $D$  値や Fu's  $F_S$  値が負の値を示したこと、ミスマッチ分布の適合度検定の SSD および  $H_{ri}$  で有意差が検出されなかったことから支持された (Table 3-5)。以上の結果から、国内における各サルボウガイ集団は、短期間の急速な集団サイズの拡大またはボトルネックのような集団サイズの縮小を経験していることが示唆された。サルボウガイは、いくつかの漁場で豊漁と大量斃死を繰り返しており (日下部 1959)、このような資源量の大きな変動の痕跡であることが推察された。

## 第4章 中海におけるサルボウガイ稚貝の遺伝構造

### 4.1. 緒言

環境変動などにより個体数の減少が著しい種では、近親交配や遺伝的浮動により遺伝的多様性の喪失が容易に進行する恐れがあることから、資源回復策を施す際は、棲息地の保全や復元とともに遺伝的に識別される個体群や遺伝的多様性を把握するなどの遺伝子レベルでの適切な対応が求められるため（谷口 2007）、個体群内部の遺伝的差異の理解が必要である（Ward 2002）。一般に、汽水域の底生無脊椎動物の多くは、生活史の初期に浮遊幼生期をもつことが知られており、この浮遊生活期を経て底生生活に入る。多くの二枚貝類も同様であり（菅原 1991; 関口・木村 1999; 島根県内水面水産試験場 2003; Kimura *et al.* 2004）、幼生が個体群へ加入するまでの一連の過程において、浮遊幼生は潮流によって受動的に分散する（大垣 2001）。そのため、親資源量とそれに由来する加入量との間に密度依存的生存過程が成り立ち難いが、加入量とそれに由来する親資源量との密度依存的生存過程は成り立ちやすい（関口・石井 2003）。

浮遊幼生期をもつ二枚貝類の個体群維持あるいは更新の機構に関して、幼生加入の視点から調べた研究は非常に少ない（南部ら 2006）。この原因は、浮遊幼生の種同定が困難であること、浮遊幼生の分散および着底過程の把握が困難なことにある（関口 1992; 関口・木村 1999; 石井・関口 2002）。Miyawaki and Sekiguchi (1999; 2000) は、伊勢湾におけるアサリ *Ruditapes philippinarum*、イソシジミ *Nattallia japonica* およびホトトギスガイ *Musculista senhousia* のコホート分離の結果、幼生加入量の変動が個体群動態を決定していると報告している。同じく Ishii *et al.* (2001a; b) は、有明海におけるアサリおよびホトトギスガイのコホート分離の結果、浮遊幼生量とそれを反映した着底量の変動が個体群動態を決定していると報告している。さらに、木曾三川におけるヤマトシジミ *Corbicula japonica* 浮遊幼生の密度変動解析の結果、浮遊幼生は潮汐によって海域と河川内へ輸送され（Sekiguchi *et al.* 1991）、有明海におけるアサリおよびホトトギスガイの幼生加入過程から、アサリ資源量の変動にはホトトギスガイ加

入以外の環境要因との関連が報告されている（関口・石井 2003）．これらの研究は，二枚貝の幼生加入過程が個体群動態の解析に必要であることを強調しており（南部ら 2006），これらの資源量の変動機構を把握しようとする場合は，成長段階の資源量を決定している機構や要因を究明することが不可欠である（関口・石井 2003）．

閉鎖性の高い海域における幼生分散では，地形によって海水の流動が低下し，閉鎖性海域内外での海水交換の低下あるいは流入水の影響により，閉鎖性水域内の適地での着底が促されると推測される（中田 1986）．中海におけるサルボウガイ *Scapharca kagoshimensis* の漁場の変遷から，サルボウガイの着底場所は，海水の流入と密接な関わりが伺える（宮本・初田 2008）．その変遷をまとめると，1920年代までにおけるサルボウガイの主な漁場は大根島の南部から東部水域であり，大根島沖や南東部水域で採苗試験が実施されていた（島根県水産試験場 1908; 1920; 1923）（Figure 4-1）．しかし，境港の突堤延長による中海と日本海間の海水交換の減少により（早栗 1955; 鳥取県水産試験場 1959），1930年頃には南西水域と大根島北部の本庄水域へと移り（島根県水産試験場 1934），1950年代には南西水域を中心に母貝養殖試験や採苗試験が実施された（島根県水産試験場 1958; 1961; 1963）（Figure 4-1）．その後，1960代後半になると，漁場は海水の流入口に最も近い江島沖となった（門脇 2005）（Figure 4-1）．そして現在，サルボウガイの主な棲息域は，海水の流入口に近い大根島の東沖となっており（Sakurai *et al.* 2007），これが母貝集団であると考えられている（道根ら 2009）（Figure 4-1）．中海におけるサルボウガイの個体群の維持機構および棲息域の拡大や縮小の過程を解明するためには，幼生分散を明らかにする必要があるが，ネットサンプリングなどによる幼生分散の研究例はあるものの，遺伝学的手法を用いた幼生分散の研究例は少ない．さらに，サルボウガイの浮遊幼生あるいは付着稚貝の詳細な生産構造は解明されていない．

本章では，中海で天然発生する稚貝の詳細な遺伝構造を2ヶ年に亘って蓄積することにより，サルボウガイの生産構造を解明することを目的とした．中海全域から天然採苗された稚貝を用いて第2章および第3章により種内変異の検

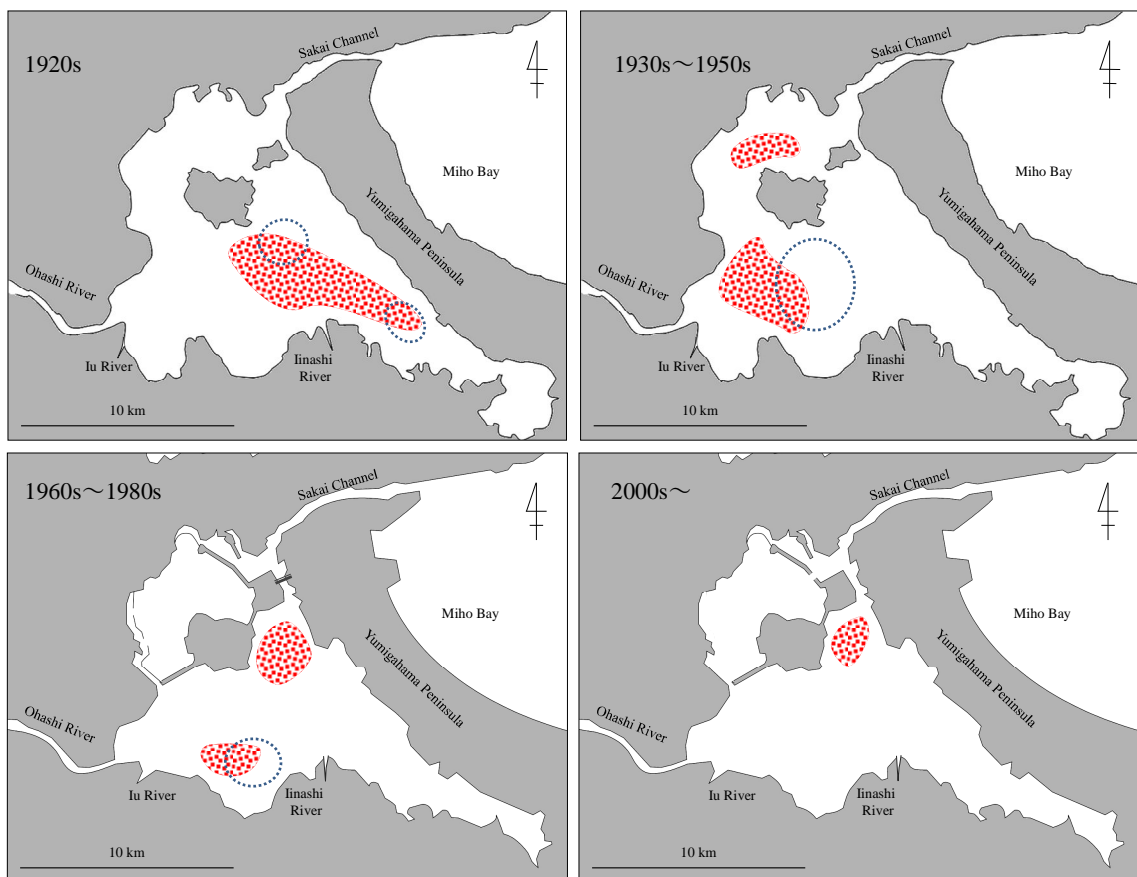


Figure 4-1. Habitat changes of ark shell in Nakaumi Lagoon from 1920s to the present. Red colored area and dotted circle represent fishing area and seed collection area, respectively.

出に有効であると確認されたミトコンドリア DNA の COI 遺伝子を指標として、中海における遺伝子流動および遺伝構造を詳細に解析した。

## 4.2. 材料と方法

### i) 試料

中海湖内 9 地点で島根県水産技術センターにより天然採苗された 2009 年 266 個体および 2010 年 220 個体の合計 486 個体の稚貝を用いた (Table 4-1; Figure 4-2). 試料は, 殻長, 殻高および殻幅を計測した後, 開殻して足部を分離して DNA 調製に供するまで -20°C で冷凍保存した. 採苗器を設置した地点は, 本庄工区内に St. 1 から St. 3 を, 中海本湖に St. 4 から St. 10 を, 米子湾に St. 11 を設定した. なお, 江島南部に設置した St. 7 および森山堤防外側に設置した St. 8 は採苗器の流出あるいは採苗数が少なかったため本研究では除外した. 採苗器はそれぞれ 2009 年 9 月 2 日に設置し 2009 年 12 月 14 日に回収および 2010 年 8 月 17 日に設置し 2010 年 11 月 18 日に回収した.

Table 4-1 Sample profiles of *Scapharca kagoshimensis* larvae in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010

Locality	Number of individuals	Colleter		Sample profile (average; mm)		
		Water depth (m)	Amount of seed collection	Shell length	Shell height	Shell width
2009	St. 1	30	5.0	17.43	14.59	9.73
	St. 2	30	6.0	15.72	13.30	8.70
	St. 3	29	6.0	16.08	13.15	8.93
	St. 4	29	5.0	14.33	11.60	7.59
	St. 5	30	7.0	16.05	13.22	8.51
	St. 6	30	7.0	14.41	12.05	7.86
	St. 9	30	6.0	16.34	13.06	8.87
	St. 10	29	5.0	14.19	11.86	7.46
	St.11	29	7.0	16.64	14.37	10.11
	In total	266		29,884		
	2010	St. 1	28	5.0	14.07	11.80
St. 2		29	6.0	15.34	12.78	8.34
St. 3		25	6.0	13.73	11.77	7.37
St. 4		19	5.0	12.60	10.13	6.80
St. 5		21	7.0	13.52	11.17	7.30
St. 6		28	7.5	14.94	12.68	8.77
St. 9		14	6.0	12.48	10.69	7.15
St. 10		26	5.0	12.92	10.81	7.02
St.11		30	7.0	12.61	10.58	6.72
In total		220		301,331		
Total		486		331,215		

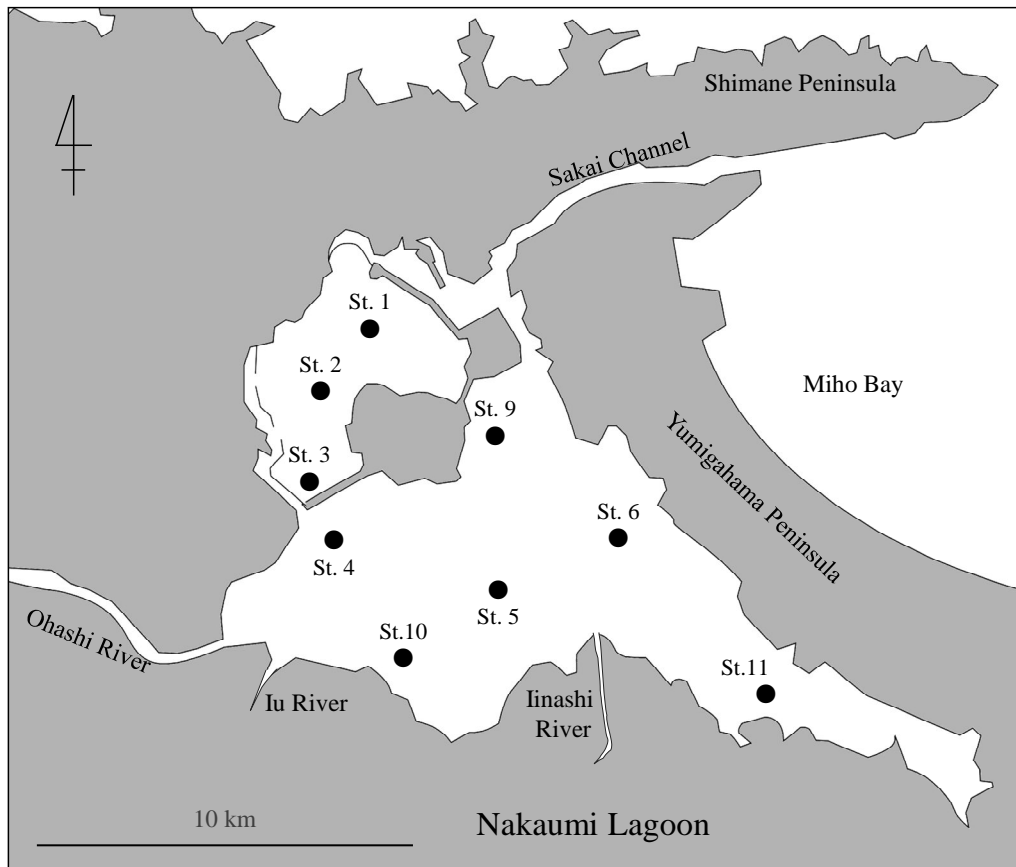


Figure 4-2. Locations of sample collection in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010.

ii) ゲノム DNA 調製

第 2 および第 3 章に準じ、改変 Urea-SDS-Proteinase K 法 (Aranishi and Okimoto 2004; 2005; Aranishi 2006) により全ゲノム DNA を調製した。

iii) PCR 増幅反応

第 3 章に準じ、ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子プライマーセット 5' GGT GTG TGT TTA AGA TTT CAC A 3' および 5' TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA 3' (Tanaka and Aranishi 2013) を含む合計 11  $\mu$ l の PCR 反応溶液により増幅した。第 2 および 3 章に準じ、PCR 産物をマイクロチップ電気泳動装置により分析した後、塩基配列を解読した。



iv) 塩基配列解析

第3章に準じ、MEGA version 5.0 プログラム (Tamura *et al.* 2011) の ClustalW (Thompson *et al.* 1994) により多重配列解析した後、Arlequin ver. 3.5.1.3 (Excoffier and Lischer 2010) によりハプロタイプ多様度  $h$ , 塩基多様度  $\pi$ , 地点間の固定指数ペアワイズ  $\Phi_{ST}$  およびミスマッチ分布, シミュレーション値との有意差検定 sum of squared deviation (SSD) および Harpending's raggedness index ( $H_{ri}$ ), 中立性検定 Tajima's  $D$  および Fu's  $F_S$  を算出した. 地点間の遺伝距離を二変数法 (Kimura 1980) により算出した後, PHYLIP (Felsenstein 2005) の neighbor プログラムを使用して近隣結合系統樹を作成した.

#### 4.3. 結果

##### i) ゲノム DNA 調製

ゲノム DNA を調製した全てのサンプルからミトコンドリア DNA を含む全 DNA が調製された。最終標品の 260 nm および 280 nm における吸光度を測定し、純度と DNA 量を求めた結果、全てのサンプルから PCR 反応に必要な量の DNA が測定された。

##### ii) 塩基配列解析

全 486 個体から得られたミトコンドリア DNA の COI 遺伝子領域 555 塩基対を相同領域として解析した結果、挿入あるいは欠失による塩基配列長の多型は確認されなかった。合計 119 種類のハプロタイプが確認され (Appendix 5), 2009 年は 34 箇所の塩基変異によって区別される 70 種類のハプロタイプ (Appendix 1), 2010 年は 45 箇所の塩基変異によって区別される 64 種類のハプロタイプが確認された (Appendix 2)。また、全 119 ハプロタイプのうち、2009 年および 2010 年の両年に 14 種類のハプロタイプが共通して出現し、全供試個体の 65.2% を占めていた (317/486 個体)。一方、残りの 105 種類のハプロタイプのうち 2009 年に 9 種類、2010 年に 9 種類の共通ハプロタイプがそれぞれ出現し、残りの 87 種類が各年各地点固有のハプロタイプであった (Table 4-2)。

遺伝的多様度を算出した結果、2009 年における地点毎のハプロタイプ多様度  $h$  は  $0.858 \pm 0.048$  から  $0.952 \pm 0.018$ , 塩基多様度  $\pi$  は  $0.313 \pm 0.208$  から  $0.534 \pm 0.320\%$  であり、地中海で自然発生する稚貝の遺伝的多様性は高い水準にあった (Table 4-3)。一方、2010 年における地点毎の  $h$  は  $0.671 \pm 0.103$  から  $0.989 \pm 0.031$ ,  $\pi$  は  $0.205 \pm 0.153$  から  $0.939 \pm 0.542\%$  であり、2009 年と比較すると特に St. 1, St. 10 および St. 11 において遺伝的多様性が低下していた (Table 4-3)。

各地点間の固定指数ペアワイズ  $\Phi_{ST}$  を算出した結果、2009 年の各地点間は  $-0.015$  から  $0.331$  ( $p=0.000 \pm 0.000$  から  $0.835 \pm 0.009$ ) であり、2010 年は  $-0.008$

Table 4-2 Haplotype frequencies of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010 (1/2)

	Common haplotype											Unique haplotype																										
	h01	h02	h03	h04	h05	h07	h08	h11	h14	h19	h20	h22	h27	h54	h06	h09	h10	h12	h13	h15	h16	h17	h18	h71	h72	h73	h74	h75	h76	h77	h78	h79						
2009																																						
St.1	1		1	3	1	6		1	1	1	2	1		3	2	2																						
St.2	1		1		2																																	
St.3	4		4	6	3	1		1						1		1																						
St.4	7		1	3	4			1		1																												
St.5	2		9	5	1		2																															
St.6	10		4	1	2	5				1				1																								
St.9	3		2	4	3	3		2	1					1	3	1	1	1	2		1																	
St.10	5		8	3	1			3						2	1																							
St.11	5		7		1		1							3	1																							
In total	41	44	27	23	20	7	6	3	2	2	2	2	1	1	10	4	4	3	3	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
2010																																						
St.1	2		9		2					1															1	2		1										
St.2	5		2		1					4														4														
St.3	3		6		2			1		1														3	1		1											
St.4	1		3		1					1														2	2		2											
St.5	1		3		2			2		2														1	3		1											
St.6	2		7		1					1														1	1		1											
St.9	1		2		1					1														1	1		1											
St.10	1		2		15					1														1	1		1											
St.11	7		30		55		13	2	1	12	1	2	1	10	1	1	1	1	1	1	1	1	11	9	5	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
Total	48	74	82	56	22	8	18	4	4	3	12	3	1	2	10	4	4	3	3	2	2	2	11	9	5	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2			
2009																																						
St.1	5	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
St.2																																						
St.3																																						
St.4																																						
St.5																																						
St.6																																						
St.9																																						
St.10																																						
St.11																																						
In total	5	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
2010																																						
St.1																																						
St.2																																						
St.3																																						
St.4																																						
St.5																																						
St.6																																						
St.9																																						
St.10																																						
St.11																																						
In total	5	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		

Table 4-2 Haplotype frequencies of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010 (2/2)

		Unique haplotype																												
		h56	h57	h58	h59	h60	h61	h62	h63	h64	h65	h66	h67	h68	h69	h70	h80	h81	h82	h83	h84	h85	h86	h87	h88	h89	h90	h91	h92	
2009	St.1																													
	St.2																													
	St.3																													
	St.4																													
	St.5																													
	St.6																													
	St.9																													
	St.10		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	St.11																													
	In total	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
2010	St.1																1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	St.2																													
	St.3																													
	St.4																													
	St.5																													
	St.6																													
	St.9																													
	St.10																													
	St.11																													
	In total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	Total	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		Unique haplotype																												
		h93	h94	h95	h96	h97	h98	h99	h100	h101	h102	h103	h104	h105	h106	h107	h108	h109	h110	h111	h112	h113	h114	h115	h116	h117	h118	h119		
2009	St.1																													
	St.2																													
	St.3																													
	St.4																													
	St.5																													
	St.6																													
	St.9																													
	St.10																													
	St.11																													
	In total	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	Total	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
2010	St.1																													
	St.2																													
	St.3																													
	St.4																													
	St.5																													
	St.6																													
	St.9																													
	St.10																													
	St.11																													
	In total	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	Total	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		

Table 4-3 Genetic variability of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010

Locality	Haplotype diversity	Nucleotide diversity (%)	Number of transition	Number of transversion		
2009	St.1	0.929±0.028	0.467±0.286	6	6	
	St.2	0.897±0.043	0.367±0.236	4	7	
	St.3	0.879±0.029	0.313±0.208	3	5	
	St.4	0.874±0.037	0.376±0.241	8	7	
	St.5	0.867±0.041	0.377±0.241	6	6	
	St.6	0.858±0.048	0.381±0.243	5	8	
	St.9	0.952±0.018	0.417±0.261	5	5	
	St.10	0.889±0.039	0.383±0.244	5	7	
	St.11	0.916±0.036	0.534±0.320	5	9	
	2010	St.1	0.897±0.051	0.614±0.361	8	16
		St.2	0.936±0.025	0.408±0.257	5	6
St.3		0.930±0.036	0.771±0.441	6	15	
St.4		0.971±0.027	0.744±0.433	4	13	
St.5		0.938±0.026	0.676±0.396	3	8	
St.6		0.921±0.036	0.454±0.280	4	8	
St.9		0.989±0.031	0.939±0.542	9	13	
St.10		0.671±0.103	0.212±0.157	2	4	
St.11		0.681±0.078	0.205±0.153	1	4	

Table 4-4 Pairwise  $\Phi_{ST}$  value of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010

2009	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4	St. 5	St. 6	St. 9	St. 10	St. 11
St. 1									
St. 2	0.240*								
St. 3	0.239*	-0.004							
St. 4	0.320*	0.032	0.031						
St. 5	0.251*	-0.014	-0.007	0.044					
St. 6	0.331*	0.050	0.054	-0.015	0.066*				
St. 9	0.253*	0.007	0.000	0.021	0.013	0.012			
St. 10	0.289*	0.038	0.051	0.034	0.029	0.028	0.015*		
St. 11	0.286*	0.103*	0.087	0.067*	0.096*	0.033	0.023	0.026	
2010	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4	St. 5	St. 6	St. 9	St. 10	St. 11
St. 1									
St. 2	0.168*								
St. 3	0.025	0.049							
St. 4	0.033	0.081*	-0.008						
St. 5	0.076*	0.164*	0.049*	0.008					
St. 6	0.094*	0.058*	0.024	0.075*	0.162*				
St. 9	0.086*	0.018	0.003	0.025	0.113*	0.030			
St. 10	0.018	0.375*	0.147*	0.160*	0.193*	0.249*	0.261*		
St. 11	0.018	0.336*	0.118*	0.157*	0.206*	0.179*	0.241*	0.012	

\*  $p < 0.01$

から  $0.375$  ( $p=0.000\pm 0.000$  から  $0.898\pm 0.009$ ) であった (Table 4-4). また,  $\Phi_{ST}$  値から近隣結合系統樹を作成した結果, 2009 年は, St. 1 のみが独立したクラスターを形成していたが, 2010 年は St. 1, St. 10 および St. 11, その他の地点の 3 つのクラスターを形成していた (Figure 4-3).

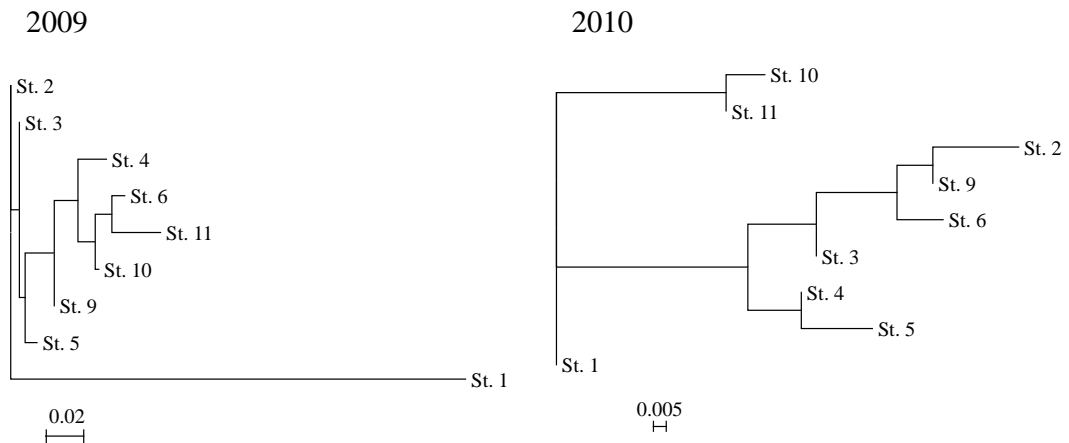


Figure 4-3. Neighbor-joining tree of *Scapharca kagoshimensis* in Nakumi Lagoon based on pairwise  $\Phi_{ST}$  values each of 2009 and 2010.

隣接する地点間でどの程度同一ハプロタイプを共有するか, ハプロタイプ共有率を算出した. その結果, 2009 年において湖中央部の St. 9 を中心とした St. 9 から St. 5 間および St. 9, St. 4, St. 3 から St. 2 間では, 同じハプロタイプを共有する割合が 70%以上であり, これらの地点間では幼生の移動が多く起こっていた. 湖北部の St. 1 は, 隣接する St. 2 間であっても 30%と低く, 他の地点間とも 10%台とほとんど幼生の移動が起こっていなかった. 湖南部では, St. 11 から St. 10 間および St. 11, St. 6 から St. 9 間でハプロタイプを共有する割合が 50%以上であり, 湖中央部に次いで高い割合であった. 一方, 2010 年では, 湖北部の St. 1 が湖南部の St. 10 および St. 11 間で 70%以上, 湖南部の St. 10 から St. 11 間では 80%以上に上がっており, 幼生の移動が盛んになっていた (Figure 4-4).

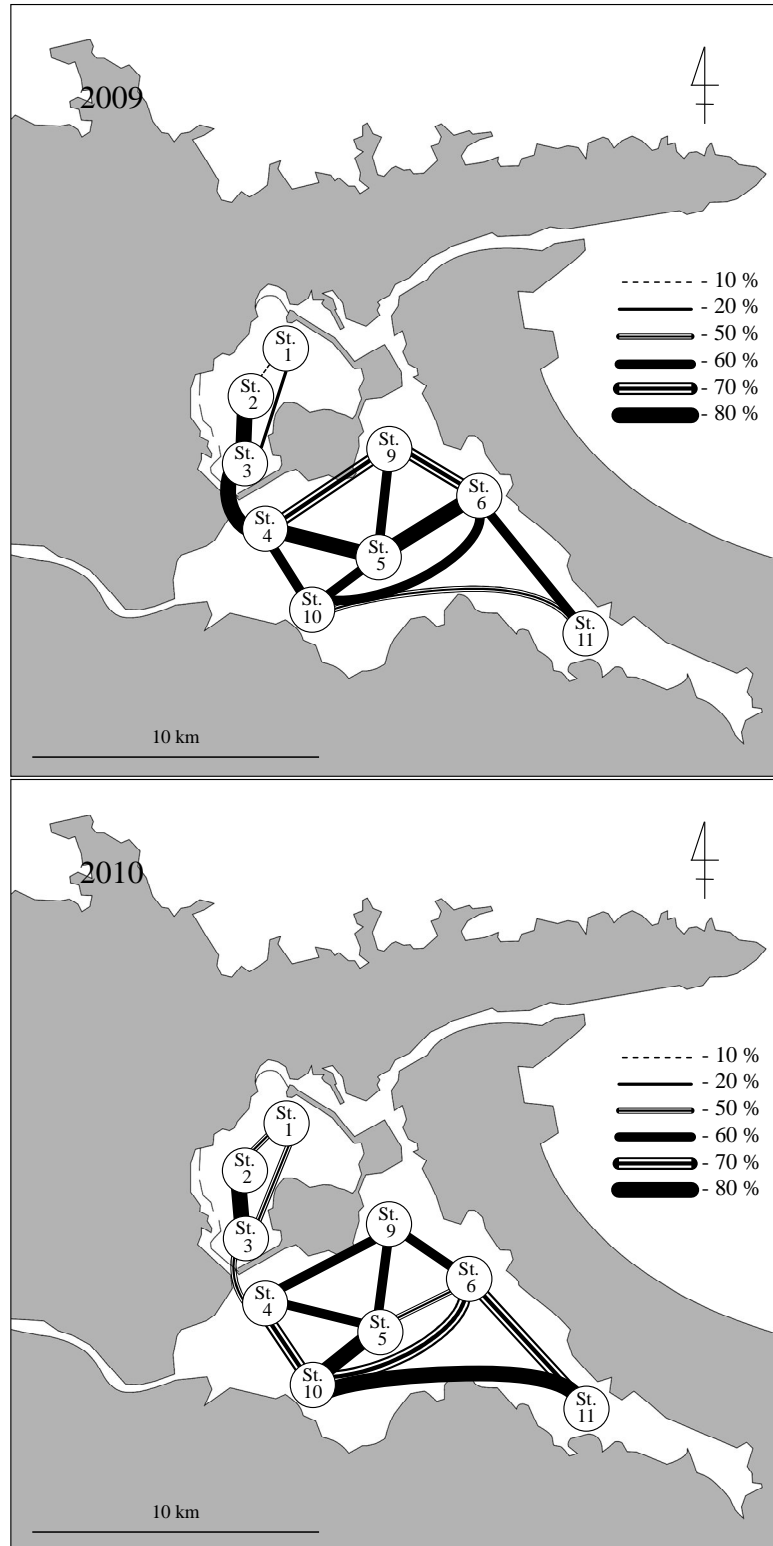


Figure 4-4. Haplotype coincidence of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010. Line weight is proportional to the frequency of shared haplotype.

各地点の個体群変動を明らかにするために、単一集団の pure demographic expansion を仮定してミスマッチ分布を比較解析した結果、2009年の全地点がシミュレーションに近い単峰型を示した (Figure 4-5)。また、シミュレーション値との有意差を SSD 検定および Hri 検定により判断した結果、どの地点もシミュレーション値との間に有意差は検出されなかった (Table 4-5)。一方、2010年は St. 1, St. 3, St. 5 および St. 9 で多峰型となり、シミュレーション曲線とは大きく異なる形を示したが (Figure 4-5)、シミュレーション値との有意差を SSD 検定および Hri 検定により判断した結果、SSD 検定において St.1 および St. 3 で有意差を示したものの、その他の地点ではシミュレーション値との間に有意差は検出されなかった (Table 4-5)。また、中立性検定 Tajima's  $D$  および Fu's  $F_S$  は、全ての地点から負の値が算出された (Table 4-5)。なお、 $D$  値は全ての地点で有意差が認められなかったが ( $p < 0.01$ )、 $F_S$  値は2009年では全地点、2010年では St.11 を除く全地点で有意差が認められた ( $p < 0.02$ ; Table 4-5)。

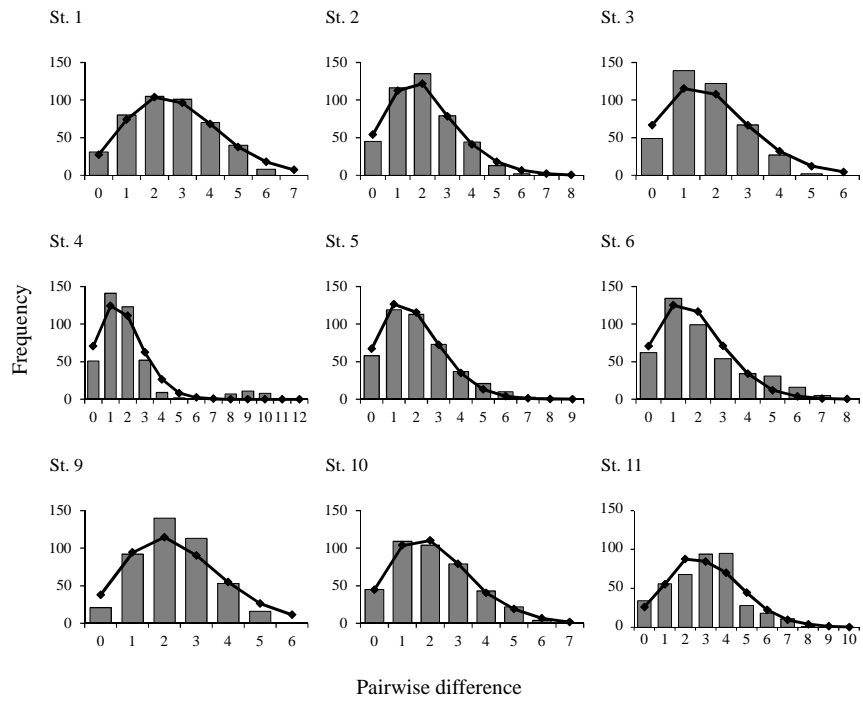
Table 4-5 Neutrality test and goodness of fit test for *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010.

Locality	Neutrality test				Goodness of fit test					
	Tajima's $D$	$p$	Fu's $F_S$	$p$	SSD	$p$	Hri	$p$		
2009	St.1	-0.48694	0.357	-9.51586**	0.000	0.00075	0.88	0.03166	0.75	
	St.2	-0.86553	0.197	-9.98913**	0.000	0.00237	0.64	0.05732	0.38	
	St.3	-0.46301	0.386	-3.95762**	0.006	0.00554	0.39	0.08277	0.19	
	St.4	-1.55014*	0.042	-5.42971**	0.003	0.01002	0.20	0.09391	0.17	
	St.5	-1.01937	0.162	-5.25310**	0.004	0.00057	0.94	0.03744	0.70	
	St.6	-1.18318	0.118	-6.52846**	0.000	0.00657	0.30	0.04869	0.50	
	St.9	-0.27409	0.411	-10.56004**	0.000	0.00850	0.19	0.07028	0.16	
	St.10	-1.00835	0.165	-6.66839**	0.002	0.00065	0.93	0.04139	0.66	
	St.11	-0.58364	0.310	-10.26589**	0.000	0.00803	0.22	0.03667	0.39	
	2010	St.1	-1.60674*	0.041	-9.24088**	0.000	0.15014*	0.00	0.03214	0.98
		St.2	-0.61928	0.280	-11.02707**	0.000	0.00501	0.29	0.06051	0.21
St.3		-0.83685	0.206	-5.50815**	0.011	0.15088*	0.01	0.01508	1.00	
St.4		-0.57272	0.319	-8.60052**	0.001	0.00217	0.88	0.01864	0.76	
St.5		0.79585	0.812	-2.64511**	0.089	0.00898	0.56	0.0285	0.58	
St.6		-0.60703	0.313	-10.33755**	0.000	0.00528	0.33	0.05598	0.47	
St.9		-1.04000	0.161	-7.48698**	0.001	0.02879	0.42	0.04045	0.48	
St.10		-0.74727	0.253	-6.45751**	0.000	0.00106	0.96	0.03148	0.99	
St.11		-0.26343	0.449	-1.25649	0.179	0.00483	0.39	0.04858	0.75	

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.02$



2009



2010

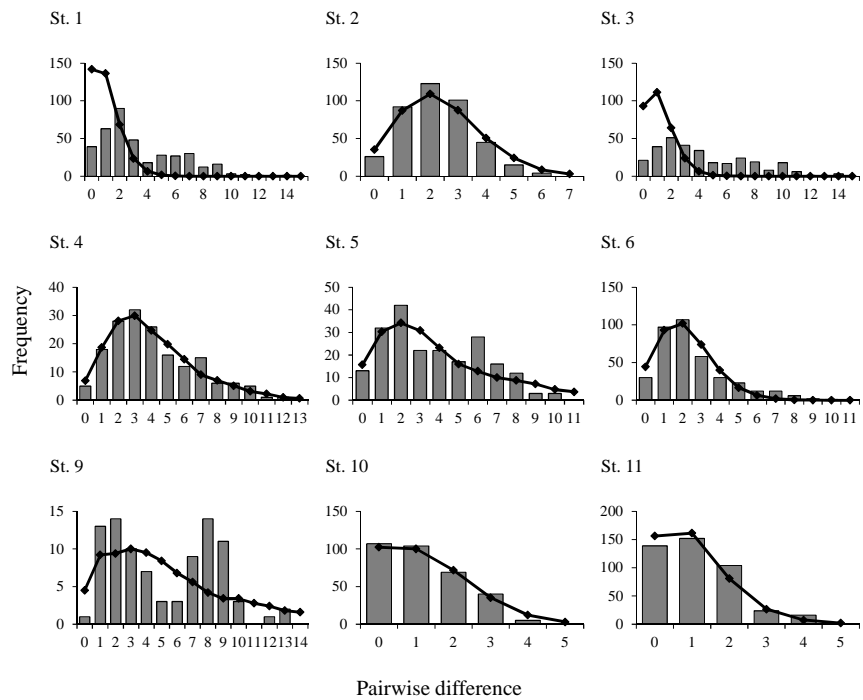


Figure 4-5. Mismatch distributions of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010. Bars and lines are observed and simulated values, respectively.

#### 4.4. 考察

本章では、地中海で天然発生する稚貝を地中海全域から採集し、2ヶ年の遺伝子流動や生産構造を詳細に解析した。湖内で自然発生する稚貝は2ヶ年に亘ってほぼ全地点において高い遺伝的多様性を示した (Table 4-3)。第3章で使用した地中海のサルボウガイ成貝も同様に高い遺伝的多様性を示したことから、自然状態の再生産において近親交配や遺伝的浮動が起きている可能性は低いと推察された。

地点間の遺伝子流動とハプロタイプ共有率から、2009年における稚貝の分散および個体群構造を検討した。本庄工区内の St. 1 は、隣接する St. 2 間とも遺伝子流動が制限され (Table 4-4)、ハプロタイプ共有率も低かったことから (Figure 4-4)、他の地点とは独立していることが示唆された。St. 1 におけるハプロタイプ多様度および塩基多様度が比較的高かったことから (Table 4-3)、湖北部は St. 1 を分散の中心とする1つのグループを形成していることが推察された (Figure 4-6)。湖中央部の St. 9 は、共通ハプロタイプの割合が大きく (13/16 ハプロタイプ; Table 4-2)、遺伝的多様度も高かったことから (Table 4-3)、St. 9 が分散の中心であることが推察された。St. 9 は、St. 5 および St. 4、St. 3 から St. 2 へと盛んな稚貝の交流と遺伝子流動が認められるため (Table 4-4; Figure 4-4)、湖中央部には、St. 9 を中心とする1つのグループを形成していることが推察された (Figure 4-6)。地中海に現存するサルボウガイのまとまった集団が St. 9 付近に分布していることから支持された (道根ら 2009)。米子湾の St. 11 は、ハプロタイプ数が最も多く、ユニークハプロタイプの割合が大きかった (10/17 ハプロタイプ; Table 4-2)。遺伝的多様度も高かったことから (Table 4-3)、St. 11 も St. 1 および St. 9 同様に分散の中心であることが推察された。湖南部の St. 11 から St. 10 間のハプロタイプ共有率は高いが (Figure 4-4)、湖中央部の St. 3、St. 5、St. 6 および St. 9 とも遺伝子流動が認められることから (Table 4-4)、湖南部には St. 11 を中心として湖中央部とは緩やかに区別される1つのグループを形成していることが推察された (Figure 4-6)。これらの結果から、2009年には湖北部、湖中央部および湖南部の少なくとも3つの局所個体群が存在していたことが示唆された。

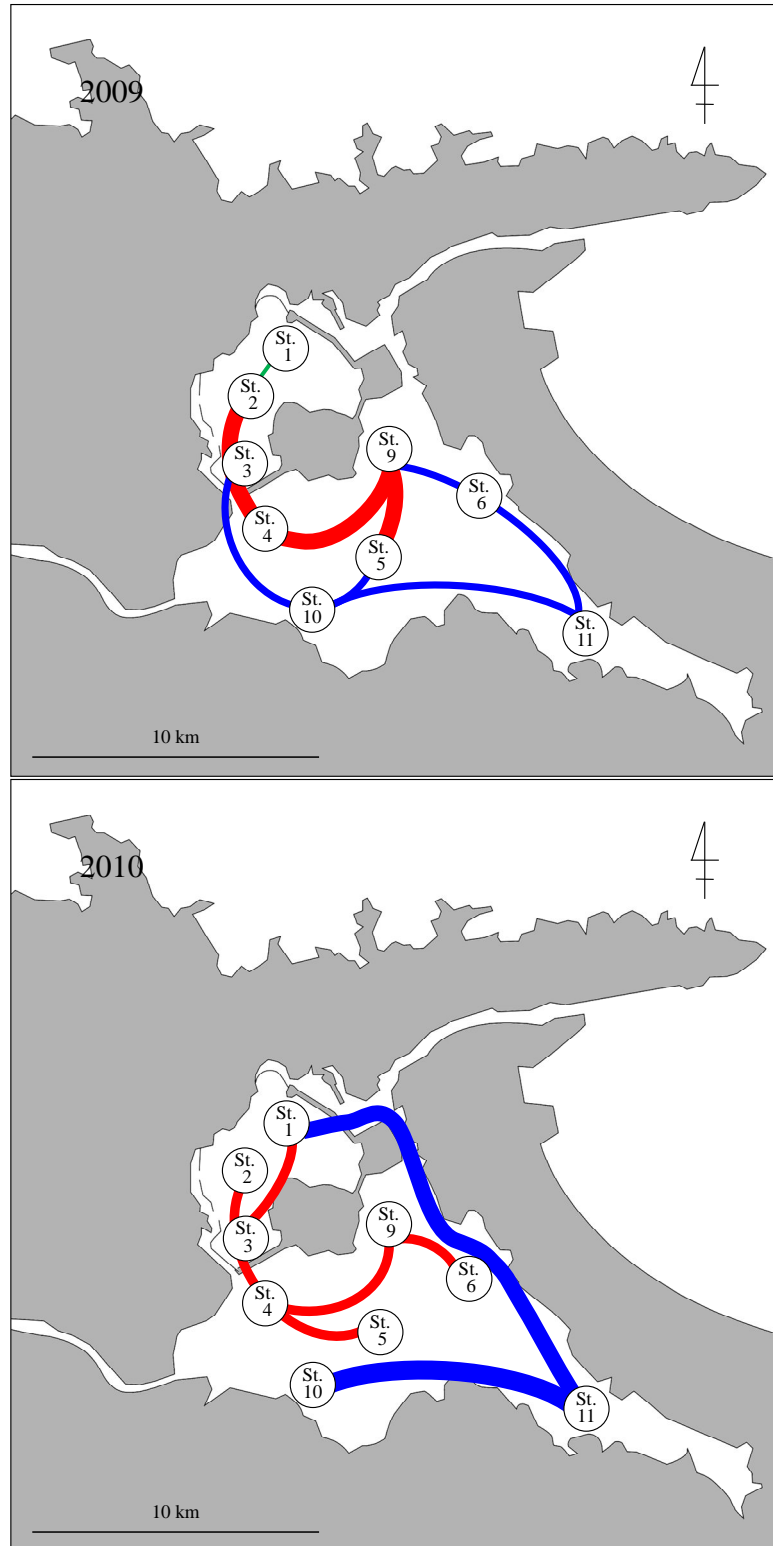


Figure 4-6. Haplotype coincidence with pairwise  $\Phi_{ST}$  values of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon each of 2009 and 2010. Green, red and blue lines are Northern, Central and Southern dispersal routes, respectively. Line weight is proportional to the frequency of shared haplotype.

同様に、2010年における稚貝の分散および個体群構造を検討すると、2009年との大きな違いが湖北部および湖南部で認められた。まず、湖北部の St. 1 は、同じ本庄工区内の St. 3 との遺伝子流動が認められた (Table 4-4)。次いで、湖南部は、St. 10 から St. 3 間、St. 10 から St. 5 間あるいは St. 11 から St. 6 間の湖中央部と湖南部間の遺伝子流動が制限されていた (Table 4-4)。一方、St. 10 から St. 11 間の稚貝の交流および遺伝子流動は盛んになっており、南部の独立性が上がっていた (Table 4-4; Figure 4-4)。さらに、最も大きな変化は St. 11 と St. 1 間で遺伝子流動が盛んになっていた (Table 4-4)。なお、湖中央部は、ハプロタイプ共有率が低下したものの、2009年同様に1つのグループを形成していた (Table 4-4; Figure 4-4)。これらの結果から、2010年には湖北部から湖中央部および湖北部から湖南部の少なくとも2つの局所個体群が存在していたことが示唆された (Figure 4-6)。

中海湖内の2ヶ年における局所個体群構造の変化の原因は、環境的側面および生物的側面の大きく2つのことが推察された。まず、中海では2009年5月に約3 km ある森山堤防が約600 m に亘って一部開削され、2010年6月には西部承水路も撤去が完了している。この環境変化によって湖内の潮流が変化し、幼生分散が変化したことが推察された。森山堤防が一部開削される以前は、本庄工区は西部承水路の2つの水門を通じてのみ中海と水交換されていたが、堤防の一部開削によって北部からの水交換が可能となり、承水路の撤去によってより水交換が盛んになることは容易に推察される。特に堤防が開削されるまでは、湖内で発生した幼生が外へ向かう潮流によって境水道から日本海へ流出し無効分散になっていたものが、開削によって北部水域へ幼生が供給され、2010年に採苗されたと推察された。堤防の一部開削や承水路が撤去される以前は、本庄工区の最奥部である St. 1 は潮流の影響を受け難く、隣接する地点間であっても幼生の交流が起き難かったと考えても不思議ではなく、湖北部が独立した1つの個体群を形成していたことを支持するものであると推察された。森山堤防の一部開削は、2009年の採苗時には既に完了しているものの、湖内の局所個体群構造や各地点におけるミスマッチ分布図がいずれも安定維持型の生産構造を維持していたことから (Figure 4-5)、開削の影響は見出されなかった。

次いで、2ヶ年の採苗数を比較すると、2009年と2010年では約10倍の差があることから (Table 4-1)、夏季の水温の違いを比較した。二枚貝の産卵は水温や塩濃度に依存することが知られているが、中海は塩濃度がほぼ一定であるため (徳岡ら 2001)、サルボウガイの産卵は夏季の水温に依存すると考えられる。サルボウガイの産卵は、湖底の水温が25°Cに達したときに開始され、その盛期は27°Cであるとされている (日下部 1959)。夏季の平均水温を比較してみると、2009年は水温の上昇が緩い傾向が認められ、7月から10月の平均水温は19.9°Cから26.7°Cで推移していた (島根県水産技術センター 2009) (Figure 4-7)。このため、継続して産卵可能であったのは、7月下旬から8月下旬までの約1ヶ月間と推測された。一方、2010年は猛暑であり (気象庁 2010)、水温の上昇も速い傾向が認められ、7月から10月の平均水温は23.4°Cから30.8°Cで推移していた (島根県水産技術センター 2010) (Figure 4-7)。なお、2010年10月のデータは計測器のメンテナンスにより欠測であったが、10月に入っても25°C以上で推移したと推測された。このため、継続して産卵可能であったのは、2009年よりも長い、7月上旬から10月までの約3ヶ月間と推測された。このような産卵期間の差が産卵数の差につながり、採苗数の差となっていることが示唆された。さらに、産卵期間の差は分散期間の差でもあり、2009年の1ヶ月間と2010年の3ヶ月では季節変化を伴うことが予測された。季節の変化は、風向や湖内の潮流などの変化をもたらし、幼生分散に影響したことによって2010年のような遺伝子流動が引き起こされたと推察された。

局所個体群構造の変化による生産構造の変化を明らかにするために、各地点のミスマッチ分布図を比較すると、2009年は、全ての地点で単峰型であり (Figure 4-5)、SSDおよびHriに有意差がなかった (Table 4-5)。このことから、2009年までは安定維持型の生産構造を有していることが示唆された。一方、2010年には、湖北部のSt. 1および湖中央部のSt. 3、St. 5およびSt. 9で単峰型から二峰型へ、湖南部のSt. 10およびSt. 11ではL字型へ変化が認められた (Figure 4-5)。St. 1、St. 3、St. 5およびSt. 9における二峰型への変化は、2010年に異なる塩基置換を持つハプロタイプが放散に加わっていることを示しており、そのハプロタイプの相同性を検討した結果、St. 10およびSt. 11が放出したハプロタイプで

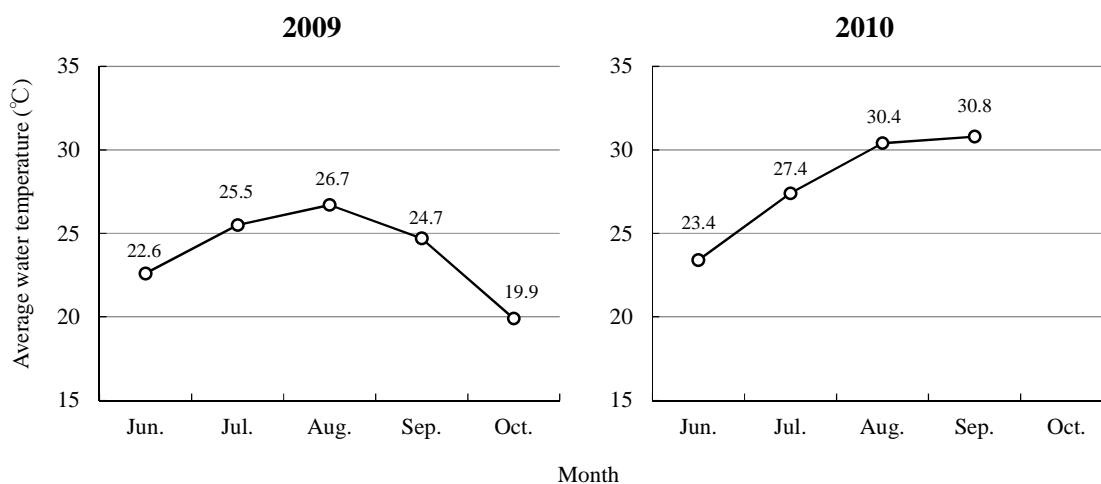


Figure 4-7. Monthly average water temperature in Ohashi River from June to October each of 2009 and 2010.

あることが示唆された。湖南部は共通ハプロタイプの割合が大きくなっており、特定の遺伝子型を大量に放出していることを示していた (Table 4-2)。湖北部や湖中央部の個体群内に湖南部の遺伝子型を持つ幼生が大量に分散したことにより、これらの地点で生産構造が変化したと推察された。

中海のサルボウガイは、少なくとも 2 つの局所個体群によるメタ個体群構造を保持していることが明らかとなった。中海におけるサルボウガイ成貝の棲息は、一部水域のみで確認されており (清川ら 1996; 1997; 道根ら 2009)、中海奥部における底生生物調査ではサルボウガイはほとんど出現しない (清川ら 1997; 中村ら 1997)。しかし、江島沖以外の本庄工区内でも成貝が確認されており、中には殻長 70 mm 近く成長した個体も調査で見ついている。また、中海漁師によれば、ヘドロに覆われ生息が疑われる中海南部あるいは米子湾付近においても成貝が確認されていることから、これらの個体が稚貝の供給源となり、湖北部および湖南部で再生産している可能性が推察された。

## 第5章 総括

本研究では、サルボウガイ *Scapharca kagoshimensis* の資源復活および資源管理に必要な基礎的情報としてサルボウガイの遺伝生態学的知見を蓄積することを目的とした。まず、第2章では遺伝生態学的知見を得るために必要なDNAマーカーを探索した。次いで、第3章では国内におけるサルボウガイ地域個体群の遺伝構造を詳細に解析し遺伝特性を解明した。さらに、第4章では中海におけるサルボウガイの遺伝構造を詳細に解析し生産構造を解明した。最後に第5章では、得られた知見からサルボウガイの資源管理に関する遺伝的リスク管理をまとめた。

### DNA多型マーカーから得られる分子遺伝学的情報

水産生物資源の特性は、家畜や栽培植物と異なり無主物性や自己調節的更新性を有しており、漁獲、捕食や環境条件などの変動により再生産が左右される。また、養殖対象種の場合、生産された個体（種苗）と天然個体が共存状態にある。水産における天然個体の遺伝資源は、育種素材としての存在意義が大きく、その保全は重要な課題である（谷口 2012）。例えば、日本における二枚貝養殖は、海域に棲息する天然個体群に依存している場合が多く、現在の生産を維持するためには母貝を天然資源として管理する必要がある、健全な状態の遺伝的多様性の保持が不可欠である。家畜育種や植物育種では、血統登録システムや種子の保存により、育種系統の維持管理が個体レベルで実施されているが、水産育種では集団レベルで実施されるため、血統登録システムは成立しない（谷口 2011）。したがって、水産資源については、DNA多型などの遺伝子マーカーを採用し、集団レベルでの管理が不可欠となる（谷口 2012）。フネガイ科二枚貝は赤貝として馴染み深く、水産食料資源としての利用価値が高いにもかかわらず、国内におけるフネガイ科二枚貝の種判別や遺伝的多様性を評価する分子遺伝学的な研究事例は著しく少ない（松本・速水 2001）。これはフネガイ科二枚貝のミトコンドリアDNAマーカーの開発が困難であることが一因であることが示唆された（Tanaka and Aranishi 2013）（Table 2-4）。

遺伝子マーカーを用いた手法では、個体群間の遺伝学的距離から、個体群間の隔離された時間が推定できるメリットがあり、種内分化を考察する上で重要な情報が得られる。その種内レベルの遺伝学的評価には、遺伝的多型を内包するタンパク質や DNA をマーカーとして用いるが、ミトコンドリア DNA の中でも比較的進化速度が大きい COI 遺伝子などのアミノ酸コード領域は、種内レベルから属間レベルの個体群内の多型性や系統解析に適している（松井・小池 2003）。本研究で検討した COI 遺伝子マーカーは、サルボウガイ近縁種において、種内レベルだけでなく種間レベルの多型を検出する有用な遺伝子マーカーであることが明らかとなった（Tanaka and Aranishi 2013）（Figure 2-4; Table 2-7）。カキ類では、*Crassostrea* 5 種の種判別に COI 遺伝子の種特異的な一塩基多型（Single Nucleotide Polymorphism; SNPs）を利用した種特異的プライマーを設計し、簡便で迅速に複数種を同時に判別できるマルチプレックス PCR 種判別法が開発されている（Wang and Guo 2008）。本研究で供試したフネガイ科二枚貝のうち、アカガイ *S. broughtonii*、サトウガイ *S. satowi*、サルボウガイ *S. kagoshimensis* およびクマサルボウ *S. globosa ursus* の塩基配列から種特異的プライマーを設計し（Table 5-1）、種特異的マーカーによるマルチプレックス PCR 種判別法を開発した。種間の一塩基多型が 3'末端になるよう設計し、3'末端から 2 塩基目の一塩基多型に隣接する箇所に mismatches を挿入することによって種特異性を上げた。本研究で使用したプライマーセット COI-4 および種特異的プライマーを用いて PCR 条件を検討した結果、アカガイ、サトウガイおよびサルボウガイを判別できることが示唆されたが、クマサルボウは十分な増幅が得られなかった（Figure 5-1）。より精度が高く、複数種を同時に判別できるマルチプレックス PCR 種判別法を開発するためには、種内変異のより詳細な検証が必要であろう。

COI 遺伝子はデータベースに登録された豊富な DNA データが利用できることから使用頻度は高く（Avice 1994）、カキ類でも COI 遺伝子は最も高精度な分子遺伝マーカーとされており（Boudry *et al.* 1998; 2003）、本研究で検討したフネガイ科二枚貝においても COI 遺伝子は種間あるいは種内における遺伝的多様度や集団遺伝構造解析において有用な分子系統解析マーカーであった。



Table 5-1 List of species-specific reverse primer sequences

Species	Primer	Primer sequence (5' to 3')
<i>Scapharca broughtonii</i>	AK-R	TAA GGG CAC TAA CCA ATT ACG A
<i>Scapharca satowi</i>	ST-R	CTG GGC TTT TAT GAA AAA TTC CT
<i>Scapharca kagoshimensis</i>	SR-R	CAA CAC AGG CAA AGA AAG CTA
<i>Scapharca globosa ursus</i>	KM-R	GGA ATT AAA ACA AAA AAC CGA GG

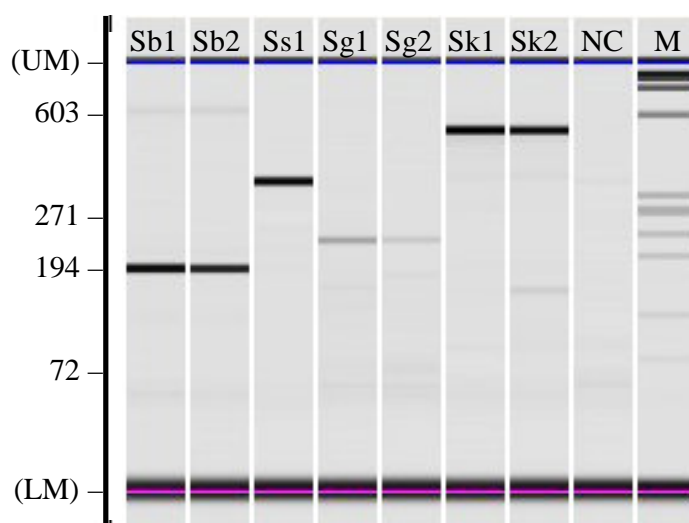


Figure 5-1. Electropherogram for multiplex PCR amplification of the mitochondrial DNA COI gene from 4 *Scapharca* species. Sb, *Scapharca broughtonii*; Ss *S. satowi*; Sg, *S. globosa ursus*; Sk, *S. kagoshimensis*; NC, negative control; M, molecular weight marker; LM, lower marker; UM, upper marker.

水産生物の遺伝標識には、ミトコンドリア DNA の他にも核 DNA のマイクロサテライトなどが用いられる。特にマイクロサテライト DNA は極めて高い多型性を示し、個体識別の能力に優れていることから様々な種で親子鑑定による放流効果の推定に利用されている（高木・谷口 1996; 砂田ら 2006）。サルボウガイでは、Chen *et al.* (2009)により 12 アリルセットおよび Feng *et al.* (2009)により 14 アリルセットが報告されている。第 2 章において使用した国内 5 地域のサルボウガイ成員合計 25 個体を対象に既報の合計 26 アリルセットによる PCR 増幅

反応後、マイクロチップ電気泳動により確認した結果、3 アリルセットにおいて同座のホモ接合体はシングルピーク、ヘテロ接合体はダブルピークとして正しく検出された。しかし、残りの 23 マーカーは DNA 増幅が確認されない、またはヌルアリルや 3 本以上のピークを検出したため、本研究ではマイクロサテライトマーカーを使用しなかった。しかし、マイクロサテライトマーカーを用いることが可能になれば、放流個体識別が可能となり、放流種苗の生残率や健苗性を推定できる。また、天然集団において出現頻度が低いアリルを保有する親貝を識別し、その親貝から生産された人工種苗を放流できれば遺伝的多様性を保持し、再生産への寄与を追跡調査が可能となる（砂田ら 2008）。

#### サルボウガイの移植による資源増産

二枚貝は他の水棲生物と比較すると移動性が乏しいことから、地域集団に固有の環境特性を有し、地域集団間あるいは集団内の遺伝的隔離が進んでいる可能性がある。一方、日本における水産資源は、移植を前提とした養殖や放流が盛んであり（村上 1999）、水産重要二枚貝類は、頻繁な人為的移植により在来個体群ならびに海外起源の移入生物の人為的移動が頻繁に起こっていることが予想される。実際に利根川のヤマトシジミ *Corbicula japonica* では、宍道湖および涸沼から移植放流によって漁獲量の回復を図った歴史があり（中村 2000）、ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子を解析した結果、宍道湖と涸沼の影響を受けた遺伝的組成を示した（飯田ら 2012）。また、国内産地間だけでなく海外産種苗が盛んに移植放流されているアサリ *Ruditapes philippinarum* でも、アイソザイム解析の結果、人為的移植による遺伝子組成の変化および複数の繁殖集団の混合が示唆されている（尾庭 1990）。

サルボウガイは中海を中心として地域間での盛んな移植および放流履歴が残っているにもかかわらず、ハプロタイプ頻度や組成は各集団で異なっており（Table 3-3; Figure 3-3）、特に国内の 8 集団では、ほとんどの集団間で遺伝的分化が認められ（Table 3-4）、各集団が独自の遺伝構造を有していたことから（Figure 3-3）、サルボウガイは、地域固有の環境に適応した地域固有の遺伝構造を発達させていることが推察された（Tanaka and Aranishi 2014）。すなわち、過去の移植

が成功していないことが示唆された。漁獲が記録されている地域を比較すると、1960年代半ばに豊漁だった大阪湾や有明海から同時期に不漁だった中海、周防灘および水島灘などの漁場へ生産量維持や資源補填を目的に成魚が移植されている (Figure 1-5)。しかし、移植をした漁場はいずれも 1970年代後半には漁場が衰退している (Figure 1-5)。本研究によってサルボウガイは各集団が独立した遺伝構造を保持していることが明らかとなった (Tanaka and Aranishi 2014)。遺伝的に独立した集団構造を有していることは、すなわち放流個体が放流先で再生産に寄与していないことを示している。そのような個体を資源増産目的に大量に移植することは、放流個体が再生産に寄与しないだけでなく、移植先の在来集団の棲息環境を圧迫する危険性を孕んでいる。そのため、放流によって一時的に生産量が上がったとしても、放流個体と在来集団の間で棲息環境の競争が起きていると推測され、サルボウガイの産地間移植が成功しなかった要因であることが推察された。また、遺伝的組成が明確に異なる地域集団間での移出入は、例え同種であっても、地域固有の遺伝形質の保全という観点から今後も避けるべきである (飯田ら 2012)。

#### サルボウガイ資源および漁場利用

遺伝的多様性には地理的に隔離された集団間における遺伝的差異と集団内の個体間における遺伝的差異があり (小池・松井 2003a)、個体が保持するゲノム情報は個体発生の過程で、一定条件下で発現しながら個体を形成する。この発現条件は棲息環境の条件を含んでおり、個体ごとのゲノム情報の違いは集団として棲息環境の条件の変化に対応するために必要である。つまり、遺伝的多様性は集団または生物種が環境変化に適応して生存することを可能にしており、その減退は適応能力の低下を招き、延いては集団全体の崩壊まで危惧される (谷口 2007)。また、遺伝的多様性は、生物進化の基礎となり、天然集団内で長期・短期的に変動している。このことから、遺伝的多様性の保全は、遺伝資源を保全・利用するだけでなく、天然集団が未来で進化する可能性にも配慮することであり、生物多様性を保全することに通じる。近年では、遺伝育種技術を用いた養殖事業の成功例が評価され、水産養殖現場からの品種改良のニーズが高まっている (谷口 2001)。その選抜育種の素材となりうる天然遺伝資源を確保する

という点でも、遺伝的多様性を保持した天然資源の維持や管理は重要である。

国内のサルボウガイは、比較的高い遺伝的多様性を維持しており (Table 3-1)、移植による集団間の遺伝的攪乱は見出されなかったが、周防灘、大阪湾、若狭湾および三河湾では集団内での遺伝構造の攪乱が認められた (Figure 3-3; 3-4)。これらの地域は、かつての主要産地あるいは未利用漁場であり、現在は天然個体群となっている。サルボウガイは自然発生による豊凶の差が激しいことが知られていることから (日下部 1959)、潜在的に再生産が不安定であると考えられる。そのため、資源量の大きな変動が生産構造に影響を及ぼしている可能性が推察された。一方、中海、有明海および水島灘は安定維持型あるいは近年の放散が認められた (Figure 3-3; 3-4)。これらの地域でも年による変動が認められるが (Figure 1-5)、近年の中海や水島灘と有明海では資源状態が大きく異なっている。中海や水島灘では稚貝は十分に発生するものの成長する前にほとんどが死滅するが、有明海は現在も漁場として国内のサルボウガイ生産をまかなっている。中海や水島灘におけるサルボウガイは資源量こそ少ないものの、安定的な再生産構造が維持されていたことが示唆された。特に中海では、近年サルボウガイ資源を復活させるために島根県、鳥取県および島根大学によって生産技術の開発に取り組みられたことから、稚貝を上手く成長させることが出来れば、中海の漁場利用は十分可能であると推察された。

#### 中海におけるサルボウガイの遺伝的リスク管理①

中海はかつて赤潮の発生や底質環境の悪化などによりサルボウガイ資源が減少し、漁場のサルボウガイが全滅するほどの被害を受け、1970年代後半以降はほぼ絶滅状態が続いていた (Figure 1-8)。現在でも中海奥部では、夏季に湖底が貧酸素化し、底質は硫化水素が発生することから (Sakai *et al.* 2004)、幼生の供給があるが多くが無効分散になっている可能性がある。そのため、サルボウガイ資源の回復には、生残率を上げる飼育あるいは生残率の高い個体からの種苗生産が必要である。島根県水産技術センターではサルボウガイ資源を復活させるため、既に天然採苗技術および人工種苗生産技術が開発されている (佐々木・勢村 2009; 佐々木ら 2010; 2011)。さらに、実用化を目指して漁業者による採苗、

放流および養殖が開始され（佐々木・勢村 2009; 佐々木ら 2010; 2011），2013 年末に初出荷された。しかし，天然採苗は年による変動を受けやすく（Table 4-1），放流後も夏季の貧酸素などにより斃死するなど，資源増大への課題は多い。同じ二枚貝であるアサリでも大量の種苗生産および放流がなされてきたが，必ずしも種苗放流が資源増大に結びついておらず，その効果をより正確に把握することが求められている（松川ら 2008）。隣接する宍道湖においてもワカサギ *Hypomesus nipponensis* 資源回復のため，およそ 100 年に亘って種苗生産や他産地からの種苗放流がなされてきたが，資源増大に結びついていない（横尾ら 2013）。しかし，ミトコンドリア DNA Cyt *b* 遺伝子領域の塩基配列分析によって，宍道湖で採集された成魚から，宍道湖由来ハプロタイプと他産地由来ハプロタイプがともに出現することが確認され，遺伝的多様性を保全した放流事業実施するためには，遺伝的なモニタリングに基づいた放流を検討すべきであるとしている（横尾ら 2013）。放流個体の再生産状況や遺伝的多様性への影響などを判定する方法は遺伝標識の利用が考えられるが，サルボウガイのみならず他の水産生物種においても実際に開発および応用されている例は少ない。そこで，本格的なサルボウガイの復活を前に，本研究で得られた知見から，サルボウガイの資源管理における遺伝的リスク管理を検討した。

天然採苗は，海域に棲息する天然個体群に依存するため，種苗生産を安定的に維持するためには湖内の遺伝的多様性の保持が不可欠である。中海には少なくとも 2 つの局所個体群からなるメタ個体群構造が認められたが，水温が大きく異なる 2 ヶ年にあっても湖中央部および湖南部には遺伝的つながりが変化しない局所個体群が認められた（Figure 4-6）。従って，天然採苗を実施する際は，これら局所個体群の放散の中心を基点に実施し，種苗は採苗した地点あるいは局所個体群内部に放流することによって現在の遺伝的多様性や遺伝構造を維持することが可能である（Figure 5-2）。あるいは，夏季の水温が十分に上がらず，採苗数が少ないと予想される年は，2009 年のように明瞭な 3 つの局所個体群を形成する可能性がある。その場合は，湖北部でも採苗を実施することで，採苗数を確保することが出来る。一方，水温が十分に上がり，採苗数が多いと予想される年は，2010 年のような 2 つの居所個体群を形成する可能性がある。その

場合は、北部水域まで幼生が分散することが予測されることから、湖北部を避けることによって遺伝的攪乱を避けることが可能となる。いずれの場合も、湖中央部で採苗した稚貝を湖南部に放流したり、またその逆のことをしたりすると、遺伝的攪乱を引き起こすため、このような放流は避けるべきである。また、局所的個体群は、部分的な絶滅と再定着が繰り返し起こるとされており (Frankham *et al.* 2007), 全地点の中立性検定やミスマッチ分布の計算値の結果からも過去の放散が認められた (Table 4-5)。このような局所個体群の場合、母貝場の保護、棲息適地の回復、および種苗放流などの対策および管理を施す一方で、堤防の一部開削やそれに伴う潮流の変化、水温の動向といった環境変化が顕著に生産構造に影響すると推測されることから、中海におけるサルボウガ

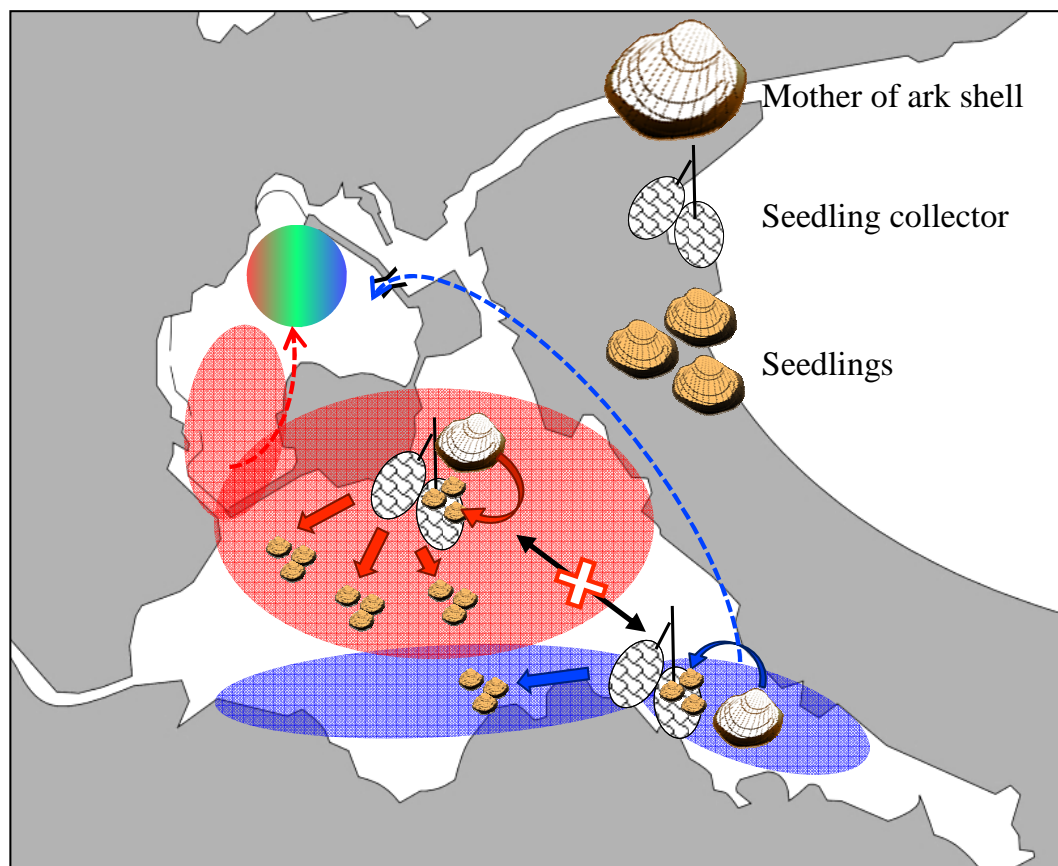


Figure 5-2. General idea of natural seedling collection in Nakaumi Lagoon. Green, red and blue areas represent local populations of Northern, Central and Southern groups, respectively. Red and blue dashed lines represent expected gene flow, respectively.

イ資源の増殖および管理には、局所個体群の遺伝特性に配慮し、遺伝的多様性の減少を最小化する採苗および放流が必要である。

人工種苗生産では、飼育環境を積極的にコントロールすることによって年による自然発生の変動に依らず種苗生産が可能であり、形質の優れた特定の親から次世代を生産することで優れた養殖品種を作り出す「育種」が可能となる。一方、限られた親から種苗を生産するため、近郊弱性を招いたり遺伝的多様性が消失する危険を孕んでいる。そのため、母貝を天然資源として管理する必要があり、健全な状態の遺伝的多様性の保持が不可欠である。生産における優れた形質のことを「健苗性」といい、健苗性とは種苗性の一部で、「形態」、「機能」、「行動」そして「生態」という4つの階層のうちの基本的な「形態」と「機能」

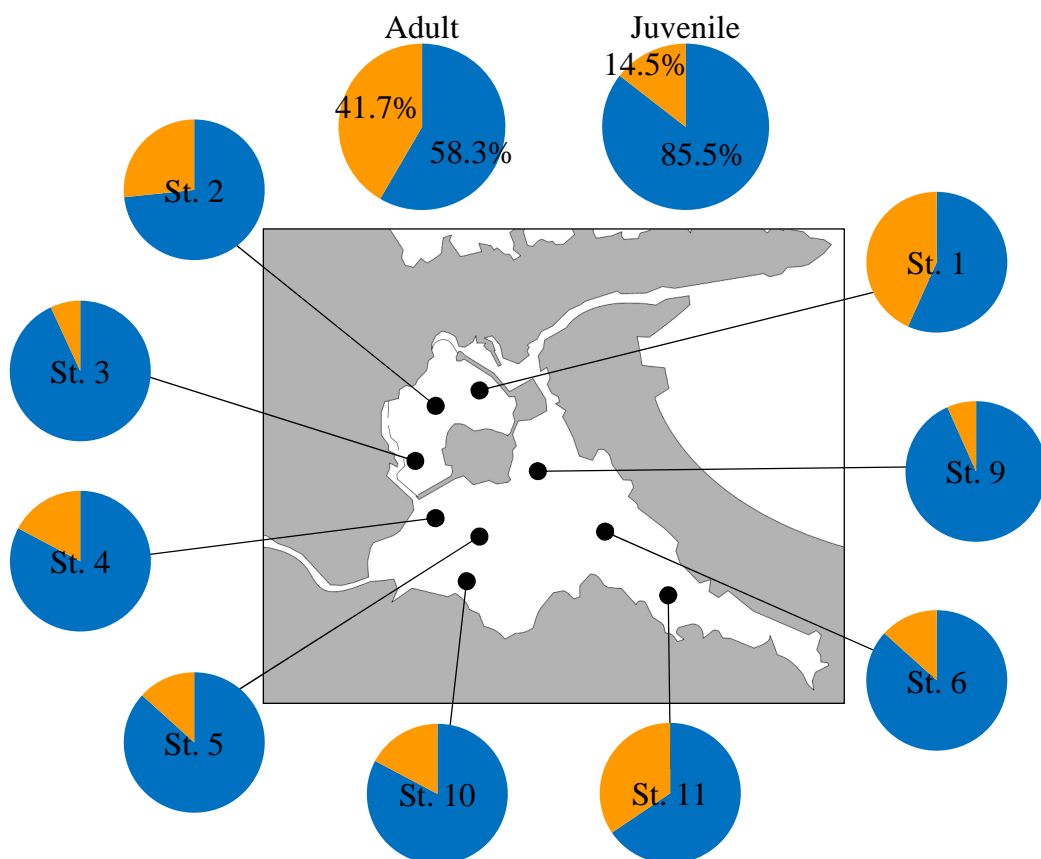


Figure 5-3. Frequencies of haplotype of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon. Blue and orange represent common haplotype and unique haplotype, respectively.

の 2 つを含むとされている (塚本 1993)。また、種苗性には人間の都合も加味され、養殖用と放流用では必ずしも評価は一致しない。現在の中海における健苗性とは、生残率の高い親貝を確保し、種苗を得ることであるため、健苗性評価としてハプロタイプ頻度を比較した。第 3 章で解析した中海産サルボウガイ成貝および第 4 章で解析したサルボウガイ稚貝における共通ハプロタイプおよびユニークハプロタイプの出現頻度を検討した。その結果、成貝では共通ハプロタイプは 58.3%およびユニークハプロタイプは 41.7%であったが、稚貝では 85.5%および 14.5%であった (Figure 5-3)。仮に、中海における環境が均一であり、発生する稚貝の生残率がハプロタイプに依らず一定であるならば、稚貝のハプロタイプ頻度は成貝の頻度を継承するはずである。しかし、本研究で得られた結果は、成貝と稚貝で頻度が明瞭に異なっていたことから、ハプロタイプによって生残に差があると推察された。中海 9 地点におけるハプロタイプ頻度を比較した結果、湖北部および湖南部でユニークハプロタイプが高頻度で出現していることから (Figure 5-3)、これらの個体群の個体を生産に用いることが出来れば、健苗性の高い親貝になる可能性が高い。

#### 中海におけるサルボウガイの遺伝的リスク管理②

中海は夏季に湖底が貧酸素化し、硫化水素が発生するため (Sakai *et al.* 2004)、生存や成長を阻害すると考えられている。そこで、鳥取県衛生環境研究所による硫化水素存在下の室内モデル実験において生残した個体を用い (Miyamoto and Iwanaga 2012)、第 3 章および第 4 章で得られた塩基配列データとともに遺伝特性を詳細に解析し、夏季の中海でも生残可能な遺伝系統の選別を検討した。室内モデル実験は、水温 28°C の無酸素下で抗生物質による硫化水素の発生を抑制した抑制系と抑制しなかった対照系を設定して 3 回繰り返した。中海より採集した稚貝 10 個体を 1L 容器、成貝 8 個体を 2L 容器に収容し、半数致死時間  $LT_{50}$  を算出した。室内モデル実験で半数致死時間 50% ( $LT_{50}$ ) 以降を生残可能個体とした結果、稚貝では生死に関係なく共通ハプロタイプの出現頻度が高かったが、成貝の生残個体 10 個体はユニークハプロタイプのみであった (Table 5-2)。次いで、COI 遺伝子の推定アミノ酸 184 残基を相同解析した結果、成貝の生残個体には 15 残基の非同義的アミノ酸置換が確認され、そのうち 3 残基は高頻度で生



残個体に出現していた (Table 5-3). この特徴的な非同義的置換を有するユニークハプロタイプの個体は主に湖南部で出現し, 硫化水素耐性の高い遺伝系統である可能性が推測された (Figure 5-4). 湖南部に棲息する個体あるいは湖南部で採苗された種苗は, 健苗性の高い個体である可能性が推察された.

Table 5-2 Numbers of individuals and haplotypes with survival experiment

			Number of individuals	Number of common haplotypes	Number of unique haplotypes
Juvenile	Below	LT <sub>50</sub>	11	9	2
	Over	LT <sub>50</sub>	17	13	4
Adult	Below	LT <sub>50</sub>	6	4	2
	Over	LT <sub>50</sub>	10	0	10

LT<sub>50</sub>; Lethal time, 50%

Table 5-3 Non-synonymous substituted point of adult 16 individuals of *Scapharca kagoshimensis* based on mitochondrial DNA COI gene estimated 184 amino acid sequences

Survival days	Haplotype		Variable sites															
	Type	Number	29	33	<b>81</b>	84	86	92	101	104	105	106	<b>126</b>	127	147	163	<b>172</b>	178
15	Common	h71	Val	Ile	<b>Trp</b>	His	Ser	Gly	Phe	Met	Met	Ser	<b>Arg</b>	Met	Val	Ser	<b>Gly</b>	Gln
18	Common	h04	.	.	.	.	.	Val	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
20	Unique	h73	Gly	Met	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	.	.	Lys	.	<b>Gln</b>	.	.	.	.	<b>Glu</b>
20	Unique	h75	.	.	<b>Tyr</b>	.	.	.	.	Lys	Lys	.	<b>Gln</b>	.	.	.	.	<b>Glu</b>
21	Common	h20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
21	Common	h08	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
24	Unique	h76	Gly	Met	<b>Tyr</b>	.	Ile	.	Leu	.	.	Ile	<b>Gln</b>	.	.	.	.	<b>Glu</b>
26	Unique	h77	.	.	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	.	Lys	Lys	.	<b>Gln</b>	.	.	.	.	<b>Glu</b>
26	Unique	h78	.	Met	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	.	.	.	Ile	<b>Gln</b>	.	.	Ile	.	<b>Glu</b>
27	Unique	h79	Gly	.	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	.	.	Lys	Ile	<b>Gln</b>	Lys	.	.	.	<b>Glu</b>
27	Unique	h73	Gly	Met	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	.	.	Lys	.	<b>Gln</b>	.	.	.	.	<b>Glu</b>
27	Unique	h80	Gly	.	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	.	.	Lys	.	<b>Gln</b>	.	Gly	Ile	.	<b>Glu</b>
27	Unique	h81	Gly	.	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	.	.	.	Ile	<b>Gln</b>	.	Gly	.	.	<b>Glu</b>
27	Unique	h82	.	Met	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	Leu	.	.	.	<b>Gln</b>	.	.	.	.	<b>Glu</b>
29	Unique	h83	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
31	Unique	h74	.	.	<b>Tyr</b>	Gln	.	.	.	Lys	Lys	Ile	<b>Gln</b>	.	.	.	.	<b>Glu</b>

Double line represents lethal time, 50% (LT<sub>50</sub>). Above and below are below LT<sub>50</sub> and over LT<sub>50</sub>, respectively. Bold types are survival individuals-specific nonsynonymous substitutions.

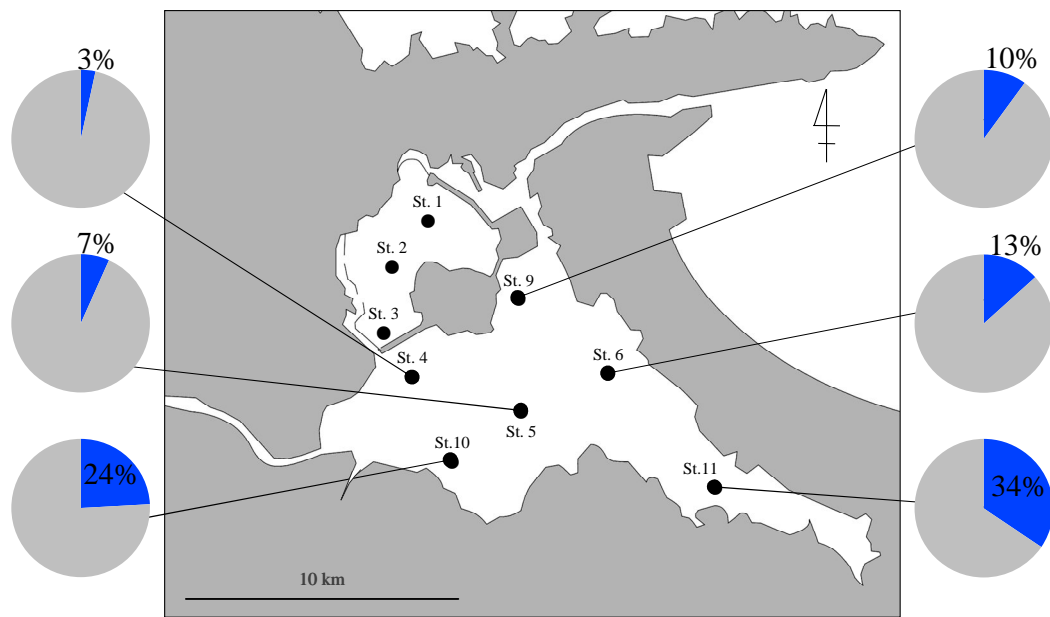


Figure 5-4. Frequencies of nonsynonymous substitutions of *Scapharca kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon. Blue is survival individuals-specific nonsynonymous substitutions.

現在の中海では母貝集団が限られているため、親貝は貴重であり、また、人工種苗生産に使用するためには、生かしたまま健苗性を評価する必要がある。そこで生成貝から DNA 試料を採集する方法として、採血による DNA 調製を検討した。合計 5 個体のサルボウガイ成貝、テルモ社製テルモシリンジ 1 ml およびテルモ社製注射針 22G を用いて、貝殻周縁部から採血した (Figure 5-5)。血液は卓上遠心機により血球と血清に分離し、血球のみを用いた (Figure 5-5)。本研究に準じて改変 Urea-SDS-Proteinase K 法 (Aranishi and Okimoto 2004; 2005; Aranishi 2006) により全ゲノム DNA を調製した。最終標品の 260 nm および 280 nm における吸光度を測定し、純度と DNA 量を求めた結果、純度は平均 2.76 であり、DNA 量は 49.5  $\mu\text{g/ml}$  であった。ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子を PCR 増幅した結果、全ての血液から DNA の増幅が確認された (Figure 5-5)。採血後の生残および産卵試験は未検討であるが、生存させた状態で採苗前に健苗性を評価できればより効率的な種苗生産が可能になる。

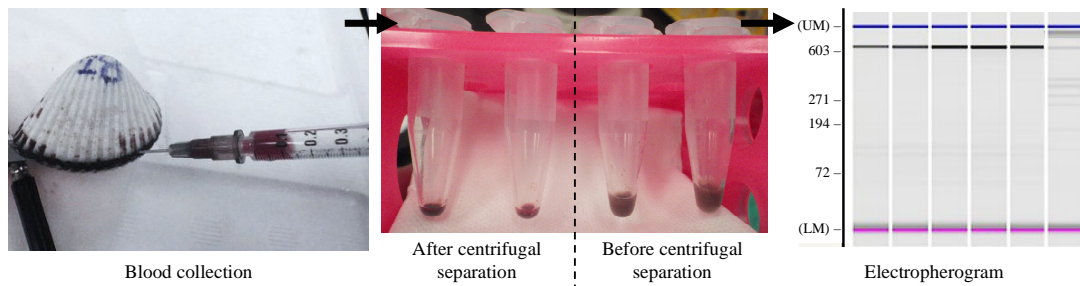


Figure 5-5. Blood collection and electropherogram for PCR amplification of *Scapharca kagoshimensis*.

### 中海におけるサルボウガイの資源再生に向けて

個体群内部の遺伝的多様性を維持し、生残能力や再生産能力の低下を防止するためには、資源管理に遺伝的リスク管理を導入することが不可避である。本研究においてサルボウガイ集団間に明確な遺伝的差異が捉えられたことにより過去の無秩序な移植放流による漁場の衰退が推察され、サルボウガイは在来個体群を単位とした保全および生産管理が必要であることが明らかとなった。さらに、中海は複数の局所個体群によるメタ個体群構造を有していることが明らかとなり、遺伝的攪乱防止の観点から、種苗確保および放流は局所個体群に配慮する必要がある。本研究によって得られた知見から、中海湖内の遺伝的マップを作成したことにより (Figure 5-2; 5-3; 5-4), 生産に用いる全個体を遺伝的手法による分析を経なくても健苗性の高い個体を確保できる可能性が示唆された。サルボウガイを含む二枚貝類の多くは濾過食性であることから、赤潮を抑制する効果があり (鬼塚ら 2002; 中田・山室 2004), 漁業によるサルボウガイの漁獲は、富栄養化した中海からの栄養塩の除去につながる (Nakamura *et al.* 1988; 山口・相崎 2003)。今後、放流や垂下養殖などを実施する際、遺伝的リスク管理を導入することによって適切な資源管理が可能となり、サルボウガイ資源の増大および漁業再興が可能となる。サルボウガイの復活は水産振興だけでなく、中海の水質浄化、生態系構造の安定化および観光資源としての活用など多面的な効果が期待される。

## 摘 要

本研究では、サルボウガイ *Scapharca kagoshimensis* の資源復活および資源管理に資する遺伝生態学的知見の蓄積を目的とし、ミトコンドリア DNA マーカーの探索から集団遺伝構造解析までの一連の研究により、サルボウガイの詳細な生産構造を解明した。

第 1 章では、サルボウガイの水産利用についてまとめ、それに関連した遺伝学的問題点を分析した。サルボウガイは国内で水産利用される二枚貝である。その生産量は年変動が大きく、資源量の維持や補填を目的に漁場間で頻繁に移植されたため、遺伝的攪乱が危惧されている。さらに、山陰地域の中海において 1970 年代以降消滅していた本種資源の復活が取り組まれており、今後の持続的かつ安定的な生産には、遺伝的多様性を考慮した資源管理が重要である。

第 2 章では、分子遺伝学的手法で汎用されるミトコンドリア DNA についてまとめ、本種近縁種 3 属 7 種から DNA マーカーを探索した。ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子 4 マーカー、16S rRNA 遺伝子 2 マーカー、Cyt *b* 遺伝子および 12S rRNA 遺伝子各 1 マーカーの合計 8 マーカーを PCR 法により検討した結果、COI 遺伝子 1 マーカーのみで全種からの増幅が確認された。塩基配列の比較解析および近隣結合系統樹により、当該マーカーは本研究に利用可能な精度を有していた。

第 3 章では、本種の遺伝的多様性や地理的分布パターンについて、種分化以降の分布形成過程を推定した。ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子マーカーを用い、国内 8 集団および韓国 1 集団を対象としてハプロタイプ解析および集団遺伝学的解析により集団間の遺伝子流動や集団毎の遺伝構造を詳細に検討した結果、各集団はそれぞれ遺伝的に独立していることが明らかとなり、本種は各地の棲息環境に適応した固有の遺伝構造を発達させていることが示唆された。

第 4 章では、中海で自然発生するサルボウガイ稚貝を用いて詳細な再生産構造を検討した。湖内 9 地点から天然採苗された 2009 年 266 個体および 2010 年 220 個体の合計 486 個体を対象として、第 3 章に準じて解析した結果、2009 年は湖北部、湖中央部および湖南部の 3 つの局所個体群が、2010 年は湖中央部および湖南部の 2 つの局所個体群が確認され、中海の本種はメタ個体群構造を保持していることが明らかとなった。

第 5 章では、本種の資源管理における遺伝的リスク管理について検討した。本種は過去に漁場間で移植による資源増産が実施されたが、何れも成功していない。本研究により、本種は明瞭な地域集団を形成しており、各集団を単位とした資源管理が必要であることが示唆された。さらに、中海の地域集団内部に複数の局所個体群が確認されたことから、本種資源の復活を目指した採苗や放流を実施する際は、地域集団の遺伝特性を詳細に把握し、遺伝的リスク管理に基づいた資源管理が必要である。

## Summary

The aim of the present study was to investigate the genetic diversity and reproductive structure of ark shell *Scapharca kagoshimensis* in Japan, and to consider genetic risk management for stock management of *S. kagoshimensis*.

In the chapter 1, information about utilization in fisheries of *S. kagoshimensis* and about genetic issues for stock management was compiled from foregoing researches. *S. kagoshimensis* has a high economic value for fisheries in Japan. Its seedlings and adults had been transplanted among fishing areas. It was therefore concerned with its genetic disturbance among not only current but also former fishing areas in Japan. Furthermore, stock recovery of *S. kagoshimensis* has been undertaken in Nakaumi Lagoon. Stock management of *S. kagoshimensis* resources is therefore necessary for long-term sustainable fisheries and aquaculture.

In the chapter 2, a reliable DNA marker was investigated from mitochondrial DNA using 7 Arcidae species belonging to *Scapharca*, *Anadara*, and *Tegillarca*. PCR amplification of partial COI, 16S rRNA, 12S rRNA, and Cyt *b* genes was performed using a total of 8 primer sets. Only the set of *Scapharca*-specific forward primer and universal reverse primer for the partial COI gene successfully yielded single PCR products from all 7 Arcidae species. Thus, nucleotide sequences of 481 bp portion of this COI gene were determined, and the sequence analysis and a phylogenetic tree showed that this partial COI gene was available DNA marker in this study.

In the chapter 3, the genetic characteristic of *S. kagoshimensis* among 8 populations in Japan and 1 population in Korea were thoroughly compared by nucleotide sequence analysis of a 555 bp portion of the mitochondrial DNA COI gene. All of 8 populations in Japan were evaluated to be relatively high levels of genetic diversity compared with Korea. In addition, the results of haplotype analysis and

mismatch distribution analysis showed the independent genetic structures were maintained in each population.

In the chapter 4, reproductive structure of *S. kagoshimensis* in Nakaumi Lagoon was analyzed using a total of 486 seedlings in 2009 and 2010 cohorts by the same method of the chapter 3. Both cohorts were evaluated to be relatively high levels of the genetic diversity, excepted for southern area in 2010 cohort. Genetic structure of both cohorts was confirmed that there existed at least 2 or 3 local populations in 2009 and 2010. These results suggest that meta-population structure is maintained in Nakaumi Lagoon.

In the chapter 5, the results of the present study were comprehensively summarized, and considered to genetic risk management for stock management of *S. kagoshimensis*. Notably, *S. kagoshimensis* in Japan had independent genetic structures with little effect of past transplantations. These results indicated that past transplantations did not succeed due to a lack of genetic risk management. Because meta-population structure was existed in Nakaumi Lagoon, stock management of *S. kagoshimensis* resources based on genetic risk management was necessary for long-term sustainable fisheries and aquaculture.

## 謝 辞

研究室配属当初から博士論文に到達する全ての過程において終始御指導と激励を賜り，私事に至るまで数多くの御助言を賜りました島根大学汽水域研究センター教授 荒西太士先生に深甚なる感謝の意を表します。

本論文をまとめるにあたって，生態学的視点から数多くの御助言および御指導を賜りました島根大学汽水域研究センター教授 國井秀伸先生，遺伝学的視点から数多くの御助言および御指導を賜りました鳥取大学農学部教授 松本晃幸先生，水産経済学的視点から数多くの御助言を賜りました島根大学生物資源科学部教授 伊藤康宏先生，水産現場の視点から数多くの御助言を賜りました島根県水産技術センター 勢村均博士に深く感謝の意を表します。

本研究の試料採集に協力してくださいました沖縄国際大学経済学部講師 山川彩子先生，島根大学生物資源科学部准教授 山口啓子先生，鳥取県衛生環境研究所 宮本康博士，島根県水産技術センター 佐々木正氏ならびに開内洋氏，熊本県水産研究センター 中根基行博士，大分県北部振興局 都留久美子氏，大阪府水産技術センター 有山啓之氏，京都府水産技術センター 今西裕一氏，佐賀県有明海漁業協同組合鹿島支所 峰松滝継氏，所員および組合員の皆様，西三河漁業協同組合 高須芳光氏に深く感謝致します。

公私に亘り大変お世話になりました研究室の先輩，同期および後輩の皆様にご礼申し上げます。

最後に，進学および研究の継続に理解を示し支えてくれた家族に心から感謝します。



## 引用文献

- 秋元清治, 瀬崎啓次郎, 三谷勇, 渡部終五 (2003) ミトコンドリア制御領域の塩基配列分析による日本周辺漁場におけるキンメダイの集団遺伝構造の解析. 神奈川県水産総合研究所研究報告, 8: 89–97.
- Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W. and Lipman D.J. (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403–410.
- Aranishi F. (2006) A novel mitochondrial intergenic spacer reflecting population structure of Pacific oyster. *Journal of Applied Genetics*, 47: 119–123.
- Aranishi F. and Iidzuka Y. (2007) Multiplex PCR diagnosis for *Crassostrea* oyster discrimination of *C. sikamea* and *C. gigas*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 2: 173–177.
- 荒西太士, 飯塚祐輔 (2007) 九州南東岸における南方種ニセマガキの出現記録. 自然環境復元研究, 3: 21–25.
- Aranishi F. and Okimoto T. (2004) Genetic relationship between cultured populations of Pacific oyster revealed by RAPD analysis. *Journal of Applied Genetics*, 45: 435–443.
- Aranishi F. and Okimoto T. (2005) Sequence polymorphism in a novel noncoding region of Pacific oyster mitochondrial DNA. *Journal of Applied Genetics*, 46: 201–206.
- 荒西太士, 沖本宜音, 飯塚祐輔, 工藤康介, 平野琢也, 大久保誠 (2006) 分子進化解析による *Crassostrea* 属の異所的種分化. 宮崎大学農学部研究報告, 52: 21–27.
- Avise J.C. (1994) *Molecular markers: natural history and evolution*. Chapman & Hall, New York. 511 pp.
- Avise J.C., Arnold J. and Ball R.M. (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review Ecology System*, 18: 489–522.
- Banks M.A., Hedgecock D. and Water C. (1993) Discrimination between closely related

- Pacific oyster species (*Crassostrea*) via mitochondrial DNA sequences coding for large subunit rRNA. *Molecular Marine Biology Biotechnology*, 2: 279–291.
- Berschick P. (1997) One primer pair amplifies small subunit ribosomal DNA from mitochondria, plastids and bacteria. Mitochondria, plastids and bacteria. *Biotechniques*, 23: 494–498.
- Boudry P., Heurtebise S., Collet B., Cornette F. and Gérard A. (1998) Differentiation between populations of the Portuguese oyster, *Crassostrea angulata* (Lamarck) and the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), revealed by mtDNA RFLP analysis. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 226: 279–291.
- Boudry P., Heurtebise S. and Lapègue S. (2003) Mitochondrial and nuclear DNA sequence variation of presumed *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata* specimens: a new oyster species in Hong Kong? *Aquaculture*, 228: 15–25.
- Brown W.M. (1983) Evolution of animal mitochondrial DNA. In: Nei M. and Koehn R. (eds.), *Evolution of Genes and Proteins*. Sinauer Associates, Sunderland, pp 62–88.
- Brown W.M., George M. and Wilson A.C. (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76: 1967–1971.
- Brown W.M., Prager E.M., Wang A. and Wilson A.C. (1982) Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of molecular evolution*, 18: 225–239.
- Chen S.Y., Ji H.J., Xu S.X., Zhang Z.W. and Xu X.F. (2009) Polymorphic microsatellite DNA markers for the ark shell *Scapharca subcrenata* (bivalve: Arcidae). *Conservation Genetics*, 10: 1409–1412.
- Clayton D. (2003) Mitochondrial DNA replication: what we know. *IUBMB life*, 55: 213–217.
- Clement M., Posada D. and Crandall K. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9: 1657–1660.
- Colombo F., Trezzi I., Bernardi C., Cantoni C. and Renon P. (2004) A case of identification of pectinid scallop (*Pecten jacobaeus*, *Pecten maximus*) in a frozen

- and seasoned food product with PCR technique. *Food Control*, 15: 527–529.
- Desjardins P. and Morais R. (1990) Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome: a novel gene order in higher vertebrates. *Journal of molecular biology*, 212: 599–634.
- Doda J.N., Wright C.T. and Clayton D.A. (1981) Elongation of displacement-loop strands in human and mouse mitochondrial DNA is arrested near specific template sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78: 6116–6120.
- Excoffier L. and Lischer H.E.L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564–567.
- FAO (1995) Expert consultation on utilization and conservation of aquatic genetic resources. *Fisheries Report*, 491: 1–58.
- FAO (2004a) *Fishery statistics. Capture production 2002*. FAO, Rome. 654 pp.
- FAO (2004b) *Fishery statistics. Aquaculture production 2002*. FAO, Rome. 206 pp.
- FAO (2012) *State of world fisheries and aquaculture 2012*. FAO, Rome. 209 pp.
- Felsenstein J. (2005) *PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.6*. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- 凌楓 (2004) ミトコンドリア DNA 遺伝の基本的分子機構. *生化学*, 76: 1417–1430.
- Feng Y.W., Li Q. and Kong L.F. (2009) Isolation and characterization of 14 polymorphic microsatellite loci in the ark shell *Scapharca subcrenata* (Bivalvia: Arcidae). *Conservation Genetics*, 10: 1125–1127.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R. and Vrijenhoek R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294–299.
- Frankham R., Ballou J.D. and Briscoe D.A. (2007) 保全遺伝学入門 (西田睦, 高橋洋, 山崎裕治, 渡辺勝敏訳). 文一総合出版, 東京都. 751 pp.
- 藤森三郎 (1929) 有明海干潟利用研究報告. 福岡県水産試験場報告, 544–546.

- Geological Survey (1983) *Geological Survey Professional Paper Volume 1228*.  
Government Printing Office, Washington DC.
- 波部忠重 (1977) Subclass PTERIMORPHIA 翼形亜綱. 「日本産軟体動物分類学  
二枚貝綱／掘足綱」 (波部忠重編) 図鑑の北隆館, 東京. pp 28–50.
- 原素之 (2008) アワビ野生集団の遺伝的管理. 動物遺伝育種研究, 36: 105–115.
- Hedgecock D., Li G., Banks M.A. and Kain Z. (1999) Occurrence of the Kumamoto  
oyster *Crassostrea sikamea* in the Ariake Sea, Japan. *Marine Biology*, 133:  
65–68.
- 石黒直哉 (2007) サクラマス 3 種のミトコンドリアゲノム全塩基配列の比較. 福  
井工業大学研究紀要, 37: 243–250.
- 石井亮, 関口秀夫 (2002) 有明海のアサリの幼生加入過程と漁場形成. 日本ベン  
トス学会誌, 57: 151–157.
- Ishii R., Kawakami S., Sekiguchi H. Nakahara Y. and Jinnai Y. (2001a) Larval  
recruitment of the mytilid *Musculista senhousia* in Ariake Sound, southern Japan.  
*Venus*, 60: 37–55.
- Ishii R., Sekiguchi H., Nakahara Y. and Jinnai Y. (2001b) Larval recruitment of the  
manila clam *Ruditapes philippinarum* in Ariake Sound, southern Japan.  
*Fisheries Science*, 67: 579–591.
- 飯田雅絵, 菅野愛美, 木島明博 (2012) mtDNA-COI 領域のシークエンス分析によ  
るヤマトシジミの地域集団構造. 日本水産学会誌, 78: 934–944.
- 飯塚祐輔 (2009) 南九州における天然ガキの保全遺伝学的研究. 宮崎大学修士論  
文. 101 pp.
- 飯塚祐輔, 荒西太士 (2008) 九州に分布するイタボガキ科カキ類の DNA 鑑定.  
LAGUNA (汽水域研究), 15: 69–76.
- Iidzuka Y., Mito T., Noda K., Iwasaki T., Tanaka T., Yokoo T. and Aranishi F. (2010)  
Population genetic structure of Yamato-shijimi clam in Lake Shinji, Japan.  
*Research Report of the Research and Education Center for Inlandwater  
Environment Shinshu University*, 6: 115–123.
- 伊藤欣吾, 柳本卓, 岩田容子, 宗原弘幸, 桜井泰憲 (2006) ミトコンドリア DNA  
の塩基配列分析によるヤリイカの遺伝的集団構造. 日本水産学会誌, 72:

905-910.

- 伊藤康宏 (1998) 干拓事業と漁業問題－中海干拓事業の現代史的課題－. 「漁業考現学」 (地域漁業学会編) 農林統計協会, 東京. pp 198-213.
- 伊藤康宏 (2011) 山陰の魚漁図解. 今井出版, 鳥取県. 181 pp.
- 岩崎敬二, 木村妙子, 木下今日子, 山口寿之, 西川輝昭, 西榮二郎, 山西良平, 林育夫, 大越健嗣, 小菅丈治, 鈴木孝男, 逸見泰久, 風呂田利夫, 向井宏 (2004) 日本における海産生物の人為的移入と分散: 日本ベントス学会自然環境保全委員会によるアンケート調査の結果から. 日本ベントス学会誌, 59: 22-43.
- 岩崎健史, 田中智美, 飯塚祐輔, 菱田泰宏, 蕭聖代, 荒西太士 (2009) マガキ属自然交雑個体の二対立遺伝子解析. LAGUNA (汽水域研究), 16: 13-18.
- 岩田祐士, 武島弘彦, 田子泰彦, 渡辺勝敏, 井口恵一朗, 西田睦 (2007) ミトコンドリア SNP 標識で追跡した放流琵琶湖産アユの行方. 日本水産学会誌, 73: 278-283.
- Jozefowicz C.J. and O'Foighil D. (1998) Phylogenetic analysis of southern hemisphere flat oysters based on partial mitochondrial 16S rDNA gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 10: 426-435.
- 門脇朝吉 (1991) 意東の赤貝騒動記－幻の貝となった中海の赤貝の話－. 「東出雲町夜話」 (吉儀幸吉編) 21 世紀に伝える会, 島根. pp 160-166.
- 門脇義雄 (2005) 中海の赤貝漁. 「宍道湖・中海の貝類」 (古林敏彦・山口勝秀・黒崎光恵・越川敏樹編) 島根県立宍道湖自然館, 島根. pp 46-48.
- 川名興 (1988) 和名別方言集. 「日本貝類方言集－民俗・分布・由来」 (川名興編) 未来社, 東京. pp 195-199.
- Kessing B., Croom H., Martin A., McIntosh C., Mcmillan O.W and Palumbi S. (1989) *The Simple Fool's Guide to PCR*. Department of Zoology, University of Hawaii, Honolulu.
- 気象庁 (2010) 報道発表資料平成 22 (2010) 年夏の日本の平均気温について. <http://www.jma.go.jp/jma/press/1009/01a/temp10jsum.pdf>
- 清川智之, 向井哲也, 山根恭道, 中村幹雄 (1996) 中海・宍道湖底質改良実証実験事業サルボウ天然稚貝発生状況調査. 島根県水産試験場事業報告,

205–206.

清川智之, 重本欣史, 中村幹雄 (1997) 宍道湖・中海水産振興対策調査事業有用水産動物調査 (アサリ・サルボウ). 島根県水産試験場事業報告, 235–237.

Kimura T., Soutome Y. and Sekiguchi H. (2004) Larval development of the brackish water clam *Corbicula japonica* (Bivalvia: Corbiculidae), with special reference to morphological comparison with concurrent tidal flat bivalves. *VENUS*, 63: 33–48.

Kimura M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111–120.

小池裕子, 松井正文 (2003a) 生物多様性と保全遺伝学. 「保全遺伝学」 (小池裕子, 松井正文編) 東京大学出版会, 東京. pp 3–18.

小池裕子, 松井正文 (2003b) 種内多型と保全遺伝学. 「保全遺伝学」 (小池裕子, 松井正文編) 東京大学出版会, 東京. pp 40–58.

古丸明, 堀寿子, 柳瀬泰宏, 尾之内健次, 加藤武, 石橋亮, 河村功一, 小林正裕, 西田睦 (2010) 日本, 韓国, 中国産シジミ類の mtDNA 16S rDNA 塩基配列分析による種判別. 日本水産学会誌, 76: 621–629.

國井秀伸 (2002) 宍道湖・中海で起こったこと. 科学, 72: 87–89.

日下部台次郎 (1959) サルボウの採苗とその育成に関する研究. 広島大学水畜産学部紀要, 2: 183–239.

Lam K. and Morton B. (2003) Mitochondrial DNA and morphological identification of a new species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) cultured for centuries in the Pearl River Delta, Hong Kong, China. *Aquaculture*, 228: 1–13.

Lam K. and Morton B. (2006) Morphological and mitochondrial-DNA analysis of the Indo-West Pacific rock oysters (Ostreidae: *Saccostrea* species). *Journal of Molluscan Studies*, 72: 235–245.

Lapegue S., Boutet I., Leitao A., Heurtebise S., Garcia P., Thiriou-Quievreux C. and Boudry P. (2002) Trans-Atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. *Biological Bulletin*, 202: 232–242.

- Lee S.Y. and Kim S.H. (2003) Genetic variation and discrimination of Korean arkshell *Scapharca* species (Bivalvia, Arcoida) based on mitochondrial COI gene sequences and PCR-RFLP. *Korean Journal of Genetics*, 25: 309–315.
- Lewis R.I. and Thorpe J.P. (1994) Temporal stability of gene frequencies within genetically heterogeneous populations of queen scallop *Aequipecten (Chlamys) opercularis*. *Marine Biology*, 121: 117–126.
- Liu Y.G., Kurokawa T., Sekino M., Tanabe T. and Watanabe K. (2013) Complete mitochondrial DNA sequence of the ark shell *Scapharca broughtonii*: An ultra-large metazoan mitochondrial genome. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part D*, 8: 72–81.
- 松川康夫, 張成年, 片山知史, 神尾光一郎 (2008) 我が国のアサリ漁獲量激減の要因について. 日本水産学会誌, 74: 137–143.
- 松井正文, 小池裕子 (2003) 生物進化と保全遺伝学. 「保全遺伝学」(小池裕子, 松井正文編), 東京大学出版会, 東京. pp 19–39.
- Matsumoto M. and Hayami I. (2000) Phylogenetic analysis of the family Pectinidae (Bivalvia) based on mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I. *Journal of Molluscan Studies*, 66: 477–488.
- 松本政哲, 速水格 (2001) リュウキュウサルボウ亜科 (Anadarinae) の分子系統と分類形質. 化石, 69: 25–34.
- McGraw K.A., Castagna M. and Conquest L.L. (2001) A study of the arkshell clams, *Noetia ponderosa* (Say 1822) and *Anadara ovalis* (Bruguiere 1789), in the Oceanside lagoons and tidal creeks of Virginia. *Journal of Shellfish Reserch*, 20: 185–195.
- Merritt T.J.S and Shi L. (1998) Universal cytochrome *b* primers facilitate intraspecific studies in molluscan taxa. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 7: 7–11.
- 道根淳, 原修一, 木村秀, 青山喜久雄 (2009) 中海におけるサルボウガイの桁曳き網調査. 島根県水産技術センター研究報告, 2: 71–73.
- 宮本康, 初田亜希子 (2008) 塩分と水温に応じたサルボウ (*Scapharca kagoshimensis*) の濾過速度と生残率の変化. LAGUNA (汽水域研究), 15:

13–18.

- Miyamoto Y. and Iwanaga C. (2012) Biochemical responses to anoxia and hypoxia in the ark shell *Scapharca kagoshimensis*. *Plankton & benthos research*, 7: 167–174.
- Miyawaki D. and Sekiguchi H. (1999) Interannual variation of bivalve populations on temperate tidal flats. *Fisheries Science*, 65: 817–829.
- Miyawaki D. and Sekiguchi H. (2000) Long-term observations on larval recruitment processes of bivalve assemblages on temperate tidal flats. *Benthos research*, 55: 1–16.
- 森脇晋平, 道根淳 (2007) 中海における漁獲量変動. 島根県水産技術センター研究報告, 1: 41–48.
- Mousset S., Derome N. and Veuille M. (2004) A neutrality test based on the mismatch distribution. *Molecular Biology and Evolution*, 21: 724–731.
- 村上興正 (1999) 海洋漁業における生物多様性の保全と移入種利用. 月刊海洋号外, 17: 134–140.
- 中村幹雄 (2000) 日本のシジミ漁業. たたら書房, 鳥取. 265 pp.
- Nakamura M., Yamamuro M., Ishikawa M. and Nishimura H. (1988) Role of the bivalve *Corbicula japonica* in the nitrogen cycle in a mesohaline lagoon. *Marine Biology*, 99: 369–374.
- 中村幹雄, 清川智之, 山根恭道, 内田浩, 福井克也 (1997) 宍道湖・中海水産振興対策検討調査事業 宍道湖・中海の底質環境と底生生物調査. 島根県水産試験場事業報告, 205–228.
- 南部亮元, 水野知巳, 川上貴史, 久保田薫, 関口秀夫 (2006) 木曾三川感潮域における二枚貝浮遊幼生の着底場所および着底時期. 日本水産学会誌, 72: 681–694.
- 中田喜三郎, 山室真澄 (2004) 宍道湖・中海を対象とした生態系モデル—懸濁物食性二枚貝の効果. 海洋と生物, 26: 267–278.
- 中田尚宏 (1986) 東京湾におけるシャコ幼生の分布について. 神奈川県水産試験場研究報告, 7: 17–22.
- 野田圭太 (2010) 天然資源保全のためのシカメガキの分子遺伝学的研究. 島根大



学修士論文. 80 pp.

農林水産省 (2007) 長期累年統計. 「漁業・養殖生産統計年報」 (農林水産省大臣官房統計情報部編) 農林統計協会, 東京.

沼口勝之 (1998) アカガイ垂下養殖の可能性と問題点. 中央水研ニュース No. 22.

O'Foighil D., Gaffney P.M. and Hilbish T.J. (1995) Difference in mitochondrial 16S ribosomal gene sequences allow discrimination among American [*Crassostrea virginica* (Gmelin)] and Asian [*C. gigas* (Thunberg) *C. ariakensis* Wakiya] oyster species. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 192: 211–220.

O'Foighil D., Gaffney P.M., Wilbur A.E. and Hilbish T.J. (1998) Mitochondrial cytochrome oxidase I gene sequences support an Asian origin for the Portuguese oyster *Crassostrea angulata*. *Marine Biology*, 131: 497–503.

大越健嗣 (2004) 輸入アサリに混入して移入する生物—食害生物サキグロタマツメタと非意図的移入種. 日本ベントス学会誌, 59: 74–82.

奥谷喬司 (2001) 二枚貝綱・翼形亜綱・フネガイ目・フネガイ上科・フネガイ科. 「日本近海産貝類図鑑」 (奥谷喬司編) 東海大学出版会, 神奈川. pp 845–855.

鬼塚剛, 柳哲雄, 門谷茂, 山田真知子, 上田直子, 鈴木學 (2002) ムラサキイガイ養殖による洞海湾浄化の試み. 海の研究, 11: 403–417.

大隈斉, 江口泰蔵, 山口忠則, 川原逸朗, 伊藤史郎 (2003) 有明海におけるアゲマキ人工種苗の成長と成熟. 佐賀県有明水産試験場研究報告, 21: 45–50.

大垣俊一 (2001) 紀伊半島南部沿岸の海況. *Argonauta*, 5: 9–21.

尾庭きよ子 (1990) 貝類における地域集団の遺伝的分化と種分化. 東北大学博士学位論文.

Palumbi S.R., Martin A.P., McMillan W.O., Romano S., Stice L. and Grabowsky G. (1991) *The simple fool's guide to PCR. 2nd ed.* University of Hawaii, Honolulu.

Power A.J. and Walker R.L. (2002) Growth and gametogenic cycles of the blood ark, *Anadara ovalis* (Btugiere, 1789), in coastal Georgia. *Journal of Shellfish Reserch*, 21: 157–162.

- Rice W.R. (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43: 223–225.
- Riginos C. and Nachman M.W. (2001) Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous of habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Molecular Ecology*. 10: 1439–1453.
- Rogers A.R. and Harpending H. (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9: 552–569.
- Sakai S., Nakaya M. and Takayasu K. (2004) Hydrogen sulfide distribution in bottom and pore waters during an anoxic period in Lake Nakaumi, Japan. *LAGUNA*, 11: 65–68.
- Sakurai M., Yamaguchi K. Ishikura M. and Ueda K. (2007) Environmental examinations for habitat and tolerance of *Scapharca subcrenata* in Lake Nakaumi. *Proceedings of International Symposium Restoration and Sustainability of Estuaries and Coastal Lagoons*, 222.
- 佐々木正, 開内洋, 勢村均 (2010) 二枚貝資源復活プロジェクト (サルボウガイ). 平成 22 年度事業報告書, pp 91.
- 佐々木正, 開内洋, 勢村均 (2011) 二枚貝資源復活プロジェクト (サルボウガイ). 平成 23 年度事業報告書, pp 90.
- 佐々木正, 勢村均 (2009) 二枚貝資源復活プロジェクト (サルボウガイ). 平成 21 年度事業報告書, pp 83.
- 関口秀夫 (1992) 河口・沿岸域における浮遊幼生の滞留機構—生物の移動と環境の流動特性の関連—. *月刊海洋*, 24: 485–491.
- 関口秀夫, 石井亮 (2003) 有明海の環境変異—有明海のアサリ漁獲量激減の原因について—. *海の研究*, 12: 21–36.
- 関口秀夫, 木村妙子 (1999) 初期生活史 二枚貝類. 「軟体動物学概説 (下巻)」 (波部忠重, 奥谷喬司, 西脇三郎編) サイエンス社, 東京. pp 48–64.
- Sekiguchi H., Saito H. and Nakao H. (1991) Spatial and temporal distributions of planktonic and benthic phases of bivalves in a tidal estuary. *Benthos Research*, 40: 11–21.

- 関根寛, 山川紘, 高沢進吾, 林影萍, 鳥羽光晴 (2006) 日本および中国沿岸域におけるアサリ COX1 遺伝子の地理的変異. *Venus*, 65: 229–240.
- 柴田輝和, 加藤惣一郎, 河野一郎, 飯田隆重 (2006) 千葉県九十九里浜産サトウガイの価格形成要因. 千葉県水産総合研究センター研究報告, 1: 27–32.
- 島根県警察本部 (1978) 第四節漁業騒動「島根県警察史〈明治・大正編〉」(島根県警察史編さん委員会編) 島根県警察本部, 島根. pp 923–936
- 島根県内水面水産試験場 (2003) 宍道湖・中海水産振興対策検討調査事業－有用水産動物生態調査(ヤマトシジミ)－. 平成 13 年度島根県内水面水産試験場事業報告, 112–117.
- 島根新聞社 (1961) 生まれ変わる中海. 島根新聞社, 島根. 75 pp.
- 島根県水産技術センター (2008) 中海のサルボウガイ復活を目指して. どびっくす No. 35.
- 島根県水産技術センター (2009) 平成 21 年度宍道湖・中海水質情報. <http://www.pref.shimane.lg.jp/suigi/naisuimen/suisitu/suisitu.html>.
- 島根県水産技術センター (2010) 平成 22 年度宍道湖・中海水質情報. <http://www.pref.shimane.lg.jp/suigi/naisuimen/suisitu/suisitu.html>.
- 島根県水産試験場 (1908) 中海藻介養殖準備調査報告. 明治四十一年度島根県水産試験場事業報告. 63–73.
- 島根県水産試験場 (1920) 中海調査. 大正九年度島根県水産試験場事業報告. 73–108.
- 島根県水産試験場 (1923) 藻介養殖試験. 大正十二年度島根県水産試験場事業報告. 94–95.
- 島根県水産試験場 (1934) 中海赤潮調査報告. 島根県水産試験場, 島根. 94 pp.
- 島根県水産試験場 (1958) モガイ(母貝)の養殖場調査報告. 昭和 29～31 年度島根県水産試験場事業報告. 870–926.
- 島根県水産試験場 (1961) モガイ採苗試験. 昭和 32～34 年度島根県水産試験場事業報告. 241–284.
- 島根県水産試験場 (1963) モガイ採苗試験. 昭和 34～36 年度島根県水産試験場事業報告. 306–359.
- 島根県水産試験場 (1983) 島根県水産試験場八十年史. 398 pp.

- 設楽浩志 (2005) ミトコンドリアDNAの母性遺伝-精子由来ミトコンドリアの運命. *生化学*, 77: 339–343.
- Sinville R. and Soper S.A. (2007) High resolution DNA separations using microchip electrophoresis. *Journal of Separation Science*, 30: 1714–1728.
- 白井祥平 (1997) アカガイ (赤貝) 類. 「貝 III」 (白井祥平編) 法政大学出版社, 東京. pp 815–831.
- 早栗操 (1955) 中海の漁業概観. 鳥取県水産試験場研究報告, 35: 1–15.
- 菅原義雄 (1991) カキ. 「海洋生物の付着機構」 (梶原武監修) 恒星社厚生閣, 東京. pp 62–75.
- 砂田桃代, 菅野愛美, 小林俊将, 遠藤敬, 井ノ口伸幸, 木島明博 (2006) マイクロサテライトDNA標識によるエゾアワビ人工種苗の親子判定および放流効果推定への利用. *水産増殖* 36: 49–55.
- 高橋洋 (2010) 第I部第3章系統地理額の方法論. 「淡水魚類地理の自然史」 (渡辺勝敏, 高橋洋) 北海道大学出版, 北海道. pp 29–48.
- 高木基裕, 谷口順彦 (1996) ミニサテライトおよびマイクロサテライト DNA 領域多型と魚類遺伝・育種研究への応用. *水産育種*, 23: 1–12.
- 高見東洋, 井上泰 (1981) サルボウガイの人工種苗生産に関する研究— I 産卵誘発と種苗飼育. 山口県内海水産試験場報告, 8: 21–26.
- 高安克己 (2004) 中海干拓・淡水化計画の経緯と残された課題. [http://kisuiiki.jp/old/symposium/intsem2/Intl\\_Presen\(J\)/6.Takayasu\\_J\\_.pdf](http://kisuiiki.jp/old/symposium/intsem2/Intl_Presen(J)/6.Takayasu_J_.pdf)
- 武田淳 (2004) 貝と人のかかわり: 利用にみる地域資源と文化. *佐賀大学農学部彙報*, 89: 31–53.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. and Kumar S. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731–2739.
- Tanaka T. and Aranishi F. (2013) Mitochondrial DNA Markers for PCR-Based Phylogenetic Analysis of Ark Shells. *Open Journal of Marine Science*, 3: 182–189.
- Tanaka T. and Aranishi F. (2014) Genetic variability and population structure of ark

- shell in Japan. *Open Journal of Marine Science*, 1: 8–17.
- 田中智美 (2011) 有明海におけるスミノエガキの保全遺伝学的研究. 島根大学修士論文. 74 pp.
- 田中弥太郎 (1954) 有明海産重要二枚貝の産卵期—1~3—. *日本水産学会誌*, 19: 1157–1167.
- 谷口順彦 (1999) 魚介類の遺伝的多様性とその評価法. *海洋と生物*, 21: 280–289.
- 谷口順彦 (2001) 遺伝育種研究の進歩と生物生産. 「遺伝的多様性と水産増殖に関する研究レビュー」 (白石学編) 中央水産研究所, 神奈川. pp 1–16.
- 谷口順彦 (2007) 魚類集団の遺伝的多様性の保全と利用に関する研究. *日本水産学会誌*, 73: 408–420.
- 谷口順彦 (2011) 魚介類養殖育種の現状と展望. *動物遺伝育種研究*, 39: 16–25.
- 谷口順彦 (2012) 遺伝マーカーによる水産増殖資源の保全とリスク管理. *水産育種*, 41: 169–172.
- Templeton A.R., Crandall K.A. and Sing C.F. (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, 132: 619–633.
- Thompson J.D, Higgins D.G. and Gibson T.J. (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, 22: 4673–4680.
- 徳岡隆夫, 三瓶良和, 板坂尚孝, 亀井健史 (2001) 中海における塩分躍層の動態についての新知見. *LAGUNA (汽水域研究)*, 8: 57–66.
- 鳥取県水産試験場 (1959) 中海干拓基本調査報告書.
- 塚本勝巳 (1993) 種苗の質. 「水産学シリーズ 93 放流魚の健苗性と育成技術」 (北島力編). 恒星社厚生閣, 東京. pp 102–115.
- 牛尾軍太郎 (1904) 博覽會紀念: 一名・興産餘師, 牛尾軍太郎, 島根. 415 pp.
- Van Syoc R.J. (1994) Genetic diversity between subpopulations of the eastern Pacific goose barnacle *Pollicipes elegans*: mitochondria cytochrome c subunit I nucleotides sequence. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 336–346.

- Waples R.S. (1998) Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity*, 89: 438–450.
- Ward R.D. (2002) Genetics of fish population. In Hart P.J.B. and Reynolds J.D. (eds.), *Handbook of fish biology and fisheries*, vol. 1. Blackwell, Oxford. pp 200–224.
- Wang H. and Guo X. (2008) Identification of *Crassostrea ariakensis* and related oysters by multiplex species-specific PCR. *Journal of Shellfish Research*, 27: 489–493.
- Wang H., Guo X., Zhang G. and Zhang F. (2004) Classification of Jinjiang oysters *Crassostrea rivularis* (Gould, 1861) from China, based on morphology and phylogenetic analysis. *Aquaculture*, 242: 137–155.
- Wilson A.C., Cann R.L., Carr S.M., George M., Gyllensten U.B., Helm-Bychowski K.M., Higuchi R.G., Palumbi S.R., Preger E.M., Sage R.D. and Stoneking M. (1985) Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26: 375–400.
- 柳本卓, 久保島康子, 菊池康司 (1996) PCR-RFLP 分析によるキンメダイの mtDNA の地理的変異性について. 「北洋底魚資源調査研究報告集」 (北海道区水産研究所編) 北海道区水産研究所, 北海道. pp 273–291.
- 山口啓子, 相崎守弘 (2003) 底生生物の浄化作用—ヤマトシジミを中心として—. 「エコテクノロジーによる河川・湖沼の水質浄化—持続可能な水環境の保全と再生—」 (島谷幸宏, 細見正明, 中村圭吾編), ソフトサイエンス社, 東京. pp 31–43.
- Yokogawa K. (1997) Morphological and genetic differences between Japanese and Chinese red ark shell *Scapharca broughtonii*. *Fisheries Science*, 63: 332–337.
- 横尾俊博, 桑原正樹, 田中智美, 堀之内正博, 荒西太士 (2013) 宍道湖産ワカサギにおける野外集団と放流種苗の遺伝的差異. *水産増殖*, 61: 407–409.
- 横尾俊博, 水戸鼓, 岩崎健史, 佐々木正, 道根淳, 荒西太士 (2010) 中海水域において定置網で採集された魚類とその季節変化. *陸水学雑誌*, 71: 11–18.
- 吉本宗央 (1998) 九州沿岸域の主要漁業種の資源の現状と問題点. 有明海湾奥部におけるアゲマキ資源の変動. *水産海洋研究*, 62: 121–125.
- 吉岡博 (1989) 中海における赤貝紛争の変遷 (一). 「安来市史研究紀要 (二)」 (安来市教育委員会編) 安来市教育委員会, 島根. pp 63–74.

## 学位論文の基礎となる学会誌公表論文

### 第2章

Tanaka T. and Aranishi F. (2013) Mitochondrial DNA Markers for PCR-Based Phylogenetic Analysis of Ark Shells. *Open Journal of Marine Science*, 3: 182–189.

### 第3章

Tanaka T. and Aranishi F. (2014) Genetic variability and population structure of ark shell in Japan. *Open Journal of Marine Science*, 4: 8–17.

## 参考論文

岩崎健史, 田中智美, 飯塚祐輔, 菱田泰宏, 蕭聖代, 荒西太士 (2009) マガキ属自然交雑個体の二対立遺伝子解析. *LAGUNA* (汽水域研究), 16: 13–18.

Iidzuka Y., Mito T., Noda K., Iwasaki T., Tanaka T., Yokoo T. and Aranishi F. (2010) Population genetic structure of Yamato-shijimi clam in Lake Shinji, Japan. *Research Report of the Research and Education Center for Inlandwater Environment Shinshu University*, 6: 115–123.

横尾俊博, 桑原正樹, 田中智美, 堀之内正博, 荒西太士 (2013) 宍道湖産ワカサギにおける野外集団と放流種苗の遺伝的差異. *水産増殖*, 61: 407–409.



# 付 録

Appendix 1. Variable sites of *Scapharca kagoshimensis* in 2009 based on the mitochondrial DNA COI sequence data in the chapter 4 (1/2).

	Variable sites																												
	3	7	2	2	3	3	4	4	5	6	7	7	8	8	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
h01	A	T	C	T	A	A	G	T	G	C	G	A	G	T	T	T	T	A	G	A	G	G	C	T					
h02	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h03	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h04	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h05	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h06	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h07	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h08	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h09	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.
h14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.
h19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h21	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h22	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h23	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h24	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h25	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h26	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h27	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h28	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h29	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h31	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h32	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h33	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h34	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h35	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h36	.	.	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h37	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h38	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h39	.	G	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h40	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h41	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h42	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h43	.	G	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h44	G	G	.	.	T	G	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h45	.	G	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h46	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h47	.	G	.	.	.	G	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h48	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
h49	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
h50	.	G	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	
h51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	
h52	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	T	.	.	.	.	
h53	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h54	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	
h55	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h56	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	T	.	.	.	.	
h57	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	T	.	.	.	
h58	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
h59	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
h60	.	.	.	.	.	.	.	T	.	A	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
h61	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
h62	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
h63	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	
h64	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h65	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.	.	.	.	
h66	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h67	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h68	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h69	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h70	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	

Dots represent matches with nucleotides present in h01.

Appendix 1. Variable sites of *Scapharca kagoshimensis* in 2009 based on the mitochondrial DNA COI sequence data in the chapter 4 (2/2).

	Variable sites														
	3 1 9	3 4 1	3 5 6	3 7 9	3 8 2	4 4 2	4 6 6	5 0 3	5 1 2	5 1 7	5 1 8	5 1 9	5 2 3	5 2 9	5 3 6
h01	G	A	G	G	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	A
h02	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h03	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h04	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h05	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h06	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h07	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h08	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h09	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h11	T	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h12	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h13	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h14	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
h15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h17	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	.
h18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h19	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h20	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	.
h21	T	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h22	T	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h23	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h24	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h25	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	.
h26	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	.
h27	.	.	.	A	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	.
h28	T	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h29	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	.
h31	T	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	.
h32	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h33	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	.
h34	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.
h35	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h36	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h37	T	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h38	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	C
h39	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h40	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h41	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h42	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	.	.	.	.	.
h43	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h44	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	T	A	.
h45	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h46	.	.	.	A	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	.
h47	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h48	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h49	.	.	.	A	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h50	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	.
h51	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h52	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h53	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
h54	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	.
h55	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	C
h56	.	.	.	.	.	G	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h57	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h58	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h59	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
h60	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h61	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h62	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h63	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
h64	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
h65	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h66	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h67	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h68	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
h69	.	G	.	.	A	G	.	.	G	G	.	.	.	.	.
h70	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Dots represent matches with nucleotides present in h01.



Appendix 2. Variable sites of *Scapharca kagoshimensis* in 2010 based on the mitochondrial DNA COI sequence data in the chapter 4 (2/2).

	Variable sites																						
	2 6 0	2 6 3	2 6 5	2 7 7	3 1 9	3 4 1	3 7 1	3 7 9	3 8 2	4 4 0	4 4 2	4 6 6	4 7 9	4 9 0	5 9 3	5 0 3	5 0 3	5 5 5	5 5 2	5 7 7	5 9 9	5 6	
h01	T	T	C	G	G	A	T	G	T	T	T	T	T	G	C	T	C	T	A	T	A		
h02	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h03	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h04	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h05	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h07	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h08	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h11	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
h19	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h21	.	.	.	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h22	.	.	.	T	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h27	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	
h54	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h71	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h72	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h73	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h74	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h75	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h76	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h77	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
h78	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h79	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h80	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	
h81	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h82	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h83	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	
h84	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h85	.	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
h86	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
h87	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h88	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h89	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h90	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h91	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h92	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h93	C	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h94	.	G	.	.	.	G	.	A	.	G	.	.	.	.	.	T	G	G	A	.	.	.	
h95	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h96	C	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h97	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	G	.	C	.	.	
h98	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h99	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h100	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h101	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h102	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h103	.	.	.	.	.	.	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h104	.	G	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	G	.	C	.	.	
h105	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h106	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h107	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h108	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h109	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h110	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h111	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h112	C	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
h113	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	
h114	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	G	A	.	.	.	
h115	C	G	.	.	.	.	A	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
h116	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	C	.	.	G	G	.	.	.	.	
h117	.	.	.	.	.	A	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	
h118	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	
h119	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	

Dots represent matches with nucleotides present in h01.

>*Scapharca broughtonii* (AB690346)

TGATAATTGGCGGATTTGGTAATTGGTTAGTGCCCTTACTTATTGGGAAAAGGGACATATCACATCCTCGTCTAAATAATTTTAGTTATTGAATTTTACCAGGTGC  
TTTATTTATGGTAATAATATCTGCTTTAATTGAGGGGGGGTTGGAACCTGGTTGAACATTATATCCACCCTTATCAAGGTGAATCTTTCATAAAAAGTCCGCTTTA  
AATATGGTAGTTCTTTCCCTTCATATTGCTGGACTTGGGTCAATAAAGTCTGTAAATTTCAAAAAGTACAATAATCACAACCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTG  
AGCGAATACCTGTTTTTTGTTGGTCAATATTTGTAACGCTTGTATTGTTGCTACTTTCTTTCCTGTGTTGGCTGGAGGGTAACTATATTATTGACGGATCGTCA  
TGAAATAGTCTTTTTTTCGTCCTCAGGGTGGTGAATCCTTTACTATTTCAACA

>*Scapharca satowi* (AB690347)

TAATAATTGGCGGATTTGGTAATTGATTAGTACCATTACTGATCGGGAGATTGGATATGTCTCATCCGCGGTTGAATAATTTTAAATATTGAATTTTACCTGGGGC  
TTTATTTATGGGATTATATCCGCTATAATTGAGGGAGGGTTGGACCGGTTGAACACTATATCCACCCTTATCAAAAAGTGAATTTTTCATAAAAAGCCAGCTTTA  
AATATAGGGGTTCTTTCTCTTCATATTGACGGGCTTGGATCAATAAAGTCTGTAAATTTTAAAGTACAATAATCACAAGTCAATTTTTGCTTTAATCCCTG  
AGCGAATACCTGATTTTTGTTGGTCAATATTTGTAACGCTTGTATTGTTGTTACTATTTCTTTCCTGTATTGGCCGGAGGGTAACTATATTATTGACGGATCGCCA  
TGAAATAGTCTTTTTTTCGTCCTCAGGGGGGGAAATCCTTTATTATTCAACA

>*Scapharca kagoshimensis* (AB690348)

TAATAATTGGCGGATTCGAAAACGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAGGAGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTGCAGGAGC  
TTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAACCTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCCGCTTTA  
AATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTGGGTCAATAAAGTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCAGAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTG  
AGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTGTTGTTGCTTTCTTTCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCA  
TGAAATAGTCTTTTTTTCGTCCTCAGGGTGGCGAAAACCTTTATTATTCAACA

>*Scapharca inaequalvis* (AB690349)

TAATAATTGGCGGATTCGAAAACGATTAGGGCCCTTATTTATTGGGAGGAGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTGCAGGAGC  
TTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAACCTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTAAATTTTCAAAAAGCCGGCTTTA  
AATATGGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTGGGTCAATAAAGTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCAGAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTG  
AGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTGTTGTTGCTTTCTTTCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGACCGTCA  
TGAAATAGTCTTTTTTTCGTCCTCAGGGGGGGAAAACCTTTATTATTCAACA

>*Scapharca globosa ursus* (AB690350)

TAATAATTGGCGGATTCGAAAACGATAAGGGCCCTTATTTATTGGGAGGAGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTGCAGGAGC  
TTTATTTATGGTAATAATATCTGCTTTAATTGAGGGGGGGTTGGAACCTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGGTGAATTTTTCATAAAAATCCGCTTTA  
AATATGGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTGGGTCAATAAAGTCTTTAAATTTTATAAGCACAATAATCAGACCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTG  
AGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCAATGTTTGAACGCTTGGTTGTTGTTGCTTTCTTTCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCA  
TGAAATAGTCTTTTTTTCGTCCTCAGGGGGGGAAAACCTTTATTATTCAACA

>*Anadara antiquata* (AB690351)

TAAAAATTGGCGGATTCGAAAACGATTAGGGCCCTTATTTATTGGGAGGAGGACATATCTCACCCCTGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTGCAGGAGC  
TTTATTTATAGAAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAACCTGGTTAAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTAAATTTTCAAAAAGTCCGGCTTTA  
AATATGGGGGTTCTTTCCCTTCATAATCGCAGGATTGGGTCAAAAAAATTTCTTTAAATTTTATAAGCACAATAATCAGAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTG  
AGCAAAAACCTGTTTTTTGTTGATCAATGTTTGAACGCTTGGTTGTTGTTGCTTTCTTTCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGACCGCCA  
TGAAATAGTCTTTTTTTCGTCCTCAGGGGGGGAAAACCTTTATTATTCAACA

>*Tegillarca granosa* (AB690352)

TGATAATTGGCGGATTTGGTAATTGGTTAGTGCCCTTACTTATTGGGAGAAGGGACATATCACATCCTCGTCTAAATAATTTTAGTTATTGAATTTTACCAGGTGC  
TTTATTTATGGTAATAATATCTGCTTTAATTGAGGGGGGGTTGGAACCTGGTTGAACATTATATCCACCCTTATCAAGGTGAATCTTTCAAAAAGTCCGCTTTA  
AATATGGTAGTTCTTTCCCTTCATATTGCTGGACTTGGGTCAATAAAGTCTGTAAATTTCAAAAAGTACAATAATCACAACCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTG  
AGCGAATACCTGTTTTTTGTTGGTCAATATTTGTAACGCTTGTATTGTTGCTACTTTCTTTCCTGTGTTGGCTGGAGGGTAACTATATTATTGACGGATCGTCA  
TGAAATAGTCTTTTTTTCGTCCTCAGGGTGGTGAATCCTTTACTATTTCAACA

Appendix 3. The partial nucleotide sequence of 7 Arcidae species obtained from 481 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 2.

>H01 (AB854359)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H02 (AB854360)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H03 (AB854361)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H04 (AB854362)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H06 (AB854363)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H09 (AB854364)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H10 (AB854365)

TTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (1/9).

>H11 (AB854366)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AATTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H12 (AB854367)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H13 (AB854368)

TTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H14 (AB854369)

TTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H15 (AB854370)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H16 (AB854371)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAATCCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H17 (AB854372)

TTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAGAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (2/9).

>H18 (AB854373)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAGAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H19 (AB854374)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AATTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H20 (AB854375)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H21 (AB854376)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGTGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H27 (AB854377)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H28 (AB854378)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGCCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H29 (AB854379)

TTTTAAGGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (3/9).



>H30 (AB854380)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTACCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTTGGTTG  
TTGTTGCTTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H31 (AB854381)

) TTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGG  
GAGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
ACTGGTTGAACATTGTACCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAA  
TAAGTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTTGGTTG  
GTTGTTGCTTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCTTTA  
TTATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H32 (AB854382)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGAAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTACCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAA  
AATTTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTTGGTTG  
TTGTTGCTTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H33 (AB854383)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTACCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAA  
AATTTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTTGGTTG  
TTGTTGCTTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H34 (AB854384)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTACCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAA  
AAGTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTTGGTTG  
TTGTTGCTTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H35 (AB854385)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTACCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAA  
AAGTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTTGGTTG  
TTGTTGCTTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H36 (AB854386)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTACCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAA  
AAGTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTTGGTTG  
TTGTTGCTTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (4/9).

>H37 (AB854387)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTGCGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H38 (AB854388)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTGCGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACCTTGTTCACCCTTCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H39 (AB854389)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTGCGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H40 (AB854390)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTGCGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCAAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H41 (AB854391)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTGCGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCAAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H42 (AB854392)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTGCGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H44 (AB854393)

TTTAAATGTAATTGTTACAAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTGCGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (59).

>H45 (AB854394)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H46 (AB854395)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGAAACTGATTAGGGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGAAATATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGCCATGTAATATTTCTTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H47 (AB854396)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H48 (AB854397)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H49 (AB854398)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H50 (AB854399)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AATAATTGGCGGATTCGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAGGAGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCT  
TTATTTATAGAAATATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGAACTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTTAA  
ATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAATAAAGTCTTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCTGAG  
GCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTGTTGCTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCAT  
GTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCCTTATTTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H51 (AB854400)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (6/9).

>H52 (AB854401)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGAAATATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTCCGTCCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H53 (AB854402)

TTTTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAGATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H54 (AB854403)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAGATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGGAGACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H55 (AB854404)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAGATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H56 (AB854405)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGGGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGCCTGCTTTAAATAGGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAATTTCTTTTTCCGTCCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H57 (AB854406)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTCCGTCCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H58 (AB854407)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGGGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAAAAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAACGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (7/9).

>H59 (AB854408)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGAAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H05 (AB854409)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGAAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H07 (AB854410)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGAAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H08 (AB854411)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGAAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H22 (AB854412)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGAAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H23 (AB854413)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGAAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

>H24 (AB854414)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTGTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGAAATAGTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (8/9).

>H25 (AB854415)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGTCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCTTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H26 (AB854416)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGTCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCTTTAT  
TATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

>H43 (AB854417)

TTATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATTGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGG  
AGGAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTTGGAA  
CTGGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGGTCAATAAT  
AAGTTCCTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGTCTTGGTTG  
TTGTTGCTTCTTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTCTTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCTTTAT  
AATTTCAACATCTGTTTTGATTTT

Appendix 4. The partial nucleotide sequence of 59 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 3 (9/9).

>h01

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h02

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h03

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h04

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h05

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h06

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h07

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (1/17).

>h08

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h09

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h10

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h11

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
TTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h12

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
TTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h13

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h14

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (2/17).



>h15

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h16

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h17

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGAGACCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h18

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h19

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
TTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h20

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCCTCAAGGGGCGGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h21

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
TTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (3/17).

>h22

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
TTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h23

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAATCCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h24

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAATCCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h25

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAGACCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h26

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAGACCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h27

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h28

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
TTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (4/17).

>h29

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGGGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h30

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h31

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
TTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAGACCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h32

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h33

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h34

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h35

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (5/17).

>h36

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCAATTATAAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h37

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
TTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h38

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h39

ATAATGGAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATGATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h40

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h41

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h42

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGCCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (6/17).

>h43

ATAATGGAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATGATAAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h44

ATGATGGAATTGTTACTAGTCATGCCTTTTTGATAAATTTTTTTTTTAATATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTTATAA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h45

ATAATGGAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATGATAAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h46

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h47

ATAATGGAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATGATAAATTTTTTTTTTTATTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h48

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h49

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCAAATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAAAAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (7/17).

>h50

ATAATGGAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATGATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h51

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAATCCTGCTTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h52

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAATCCTGCTTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h53

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h54

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h55

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h56

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGTTTTTTGTTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTTGAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (8/17).

>h57

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAAC  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCTCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h58

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAACG  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h59

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAAC  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h60

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGAATTCGGAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAAC  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h61

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAAC  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h62

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGAAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAAC  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGGGTTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h63

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTTAATTGAGGGAGGGGTGGAAC  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (9/17).

>h64

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTATTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h65

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTATTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h66

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTATTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h67

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGAAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h68

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAATAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h69

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCAGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAAAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h70

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (10/17).



>h71

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h72

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h73

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h74

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h75

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h76

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h77

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCTTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (11/17).

>h78

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTAAAAATCCTGAGCAAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h79

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTAAAAATCCTGAGCAAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h80

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTAAAAATCCTGAGCAAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h81

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTAAAAATCCTGAGCAAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGCCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h82

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTAAAAATCCTGAGCAAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h83

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTAAAAATCCTGAGCAAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h84

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTAAAAATCCTGAGCAAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (12/17).

>h85

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATCCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAATAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h86

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAATAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h87

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGATCTTTATTTATAGTAATTATAACTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAATAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h88

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAATAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h89

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCCGGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAATAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h90

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAATAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h91

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAATAACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (13/17).

>h92

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGCCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATAACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h93

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGCCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATAACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGAAACCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h94

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATCCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGCCTGCTTAAATATGGGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATAACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGGCGAAACCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h95

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGCCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATAACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h96

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGCCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCAATAACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h97

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGCCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATAACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCTTTATTA  
TTTACCATCTGTTTTGATTTTTTG

>h98

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGCCTGCTTAAATATGGTGGTCTTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTTGTTTTAATCCTGAGCGAATAACCTGTTTTTTGTTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGAAACCCTTTATTA  
TTTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (14/17).

>h99

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h100

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h101

TTAATGTAATTGTTACAAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATACTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h102

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h103

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h104

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCCGGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCAAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTTCCACATCTGTTTTGATTTTTG

>h105

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAATTTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATACTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGTTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (15/17).

>h106

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTAACTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h107

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTAAACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTAACTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h108

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h109

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h110

ATAATGGAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGTGGTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGTGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h111

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

>h112

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCCTATCAAGCTGAATTTTCAAAAAGCCCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (16/17).

>h113

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h114

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCCACCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATAA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h115

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGGGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h116

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATCCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTAAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h117

TTAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCACAATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h118

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

>h119

ATAATGTAATTGTTACTAGTCATGCCTTTATAAATAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAAATGGCGGATTCGGAAACTGATTAGTGCCCTATTTATTGGGAG  
GAGGGACATATCTCACCCCTCGTTTGAATAAATTTAGGTATTGAATTTGCCAGGAGCTTTATTTATAGTAATTATATCTGCTTAAATTGAGGGAGGGGTGGAACT  
GGTTGAACATTGTATCCACCCTATCAAGCTGAATTTTTCATAAAAAGTCTGCTTAAATATGGGGGTTCTTCCCTTCATATCGCAGGATTTGGTCAATAATAA  
GTTCTTTAAATTTATGAGCAGGATAATCACAGCTCGGTTTTTGTTTAATTCCTGAGCGAATACCTGTTTTTGTGATCGATGTTGTAACGCTCTGGTTGTT  
GTTGCTTTCTTGCCTGTGTTGGCCGGAGGGTAACTATACTGTTGACGGATCGTCATGTAATAGTTCTTTTCCGTCTCAAGGGGCGGAAACCCCTTTATTA  
TTCAACATCTGTTTTGATTTTTTG

Appendix 5. The partial nucleotide sequence of 119 haplotypes obtained from 555 bp of the mitochondrial DNA COI gene in the chapter 4 (17/17).