

東アジア地域に生息するアラムシロ *Nassarius festivus* の 分子系統学的研究

香取 祥人¹・坂田 健²・林 誠司³・久保 弘文⁴

- (1 天草市立御所浦白亜紀資料館 〒 866-0313 熊本県天草市御所浦町御所浦 4310-5)
(2 群馬県立前橋東高等学校 〒 371-0002 群馬県前橋市江木町 800)
(3 名古屋大学大学院環境学研究科 〒 464-8601 愛知県名古屋市千種区不老町 D2-2)
(4 沖縄県水産海洋研究センター 〒 901-0354 沖縄県糸満市字喜屋武 1528)

Molecular phylogenetic study of *Nassarius festivus* in East Asia

Yoshito Kandori¹, Ken Sakata², Seiji Hayashi³, Hirofumi Kubo⁴

- (1 Goshoura Cretaceous Museum, 4310-5 Goshoura, Goshoura Town, Amakusa City, Kumamoto 866-0313, Japan)
(2 Maebashi Higashi Highschool, 800 Egi Town, Maebashi City, Gunma 371-0002, Japan)
(3 Graduate School of Environmental Studies, Nagoya University, D2-2 Furo Town, Chikusa-ku, Nagoya City, Aichi 464-8601, Japan)
(4 Okinawa Prefectural Fisheries Research and Extension Center, 1528 Kyan, Itoman City, Okinawa 901-0354, Japan)

Abstract

Nassarius festivus (Nassariidae: Gastropoda) is the most common marine scavenger with an extensive range throughout the East and Southeast Asia. Recent studies on genetic variation of nassariid gastropods in China have revealed two divergent lineages within this species; however, little is known about its phylogeographic structure and demographic history. To address this point more extensively, we performed a molecular phylogenetic analysis by combining our newly sequenced mitochondrial COI gene fragment in 180 individuals (from mainland Japan, Okinawa and China) with published data (239 individuals in total). The results revealed two distinct clusters: one lineage comprised individuals restricted to China (A) and the other comprised individuals from mainland Japan and Okinawa, with a small number of Chinese individuals (B). Large genetic differences were observed between these two divergent clusters because of a probable split of the ancestral population between China and Japan. Sporadic existence of Chinese individuals in cluster B may represent post-vicariant dispersal from Japan to China. Most Okinawa individuals were present in the peripheral part of cluster B, indicating that they represent a stochastically introduced population from mainland Japan, possibly via coastal China.

Keywords: *Nassarius festivus*, mitochondrial DNA, COI, Japan, China

はじめに

アラムシロ *Nassarius festivus* (Powys, 1835) はオリイレヨフバイ科に属する腐肉食性の腹足類であり、北海道以南の日本、琉球列島、韓国、中国、台湾、フィリピンに分布する(黒田ほか, 1971; 久保, 1995)。本種は干潟や河口域などの潮間帯に生息し、「掃除屋」として干潟環境の保全に貢献している。アラムシロは東アジアの潮間帯生態系における重要種であ

るにもかかわらず、分子系統学的な見地からの研究がほとんど存在しない。近年では Zou *et al.* (2012) が本種内に2つの系統が存在することを示したが、この研究ではサンプルの分布域が中国大陸沿岸に限られており、また用いられた個体数も十分とは言えず、種内全体における系統関係の解明には、より詳細な研究が必要である。

香取による研究（未発表データ）によって、日本本土のアラムシロ集団と、中国大陸沿岸の一地域である香港の集団では殻のプロポーシオンに有意な差があることが判明しているが、形態的に差異のある両者の間に遺伝的な隔たりが存在するのかどうかは明らかになっていない。

また久保 (2005) は、本種は沖縄においてはマテガイ *Solen strictus* Gould, 1861, タマキビ *Littorina brevicula* (Philippi, 1844), ソトオリガイ *Laternula marilina* (Reeve, 1863) などと共に羽地内海と塩屋湾のみに生残した大陸系遺存種と考えられ、大陸沿岸域や日本本土の個体群とは遺伝的に分化している可能性が高く、琉球列島の干潟環境の成立を探る上で貴重である、としている。

そこで本研究では、日本本土、琉球列島、中国大陸沿岸間におけるアラムシロの系統関係を明らかにするため、ミトコンドリア DNA cytochrome oxidase subunit I 領域（以下 COI）を用いて分子系統学的研究を行った。

材料と手法

1) サンプルの採集

2006年から2011年にかけて合計180個体のアラムシロ *N. festivus* を採集した。サンプリング地点は、日本本土6地点（宮城県本吉郡南三陸町、宮城県石巻市万石浦、千葉県市川市三番瀬、三重県松阪市松名瀬、岡山県倉敷市、鹿児島県垂水市）、琉球列島1地点（沖縄県名護市羽地湾）、香港4地点（海星湾 [Star Fish Bay]、東涌 [Tung Chung]、大潭 [Tai Tam]、黄竹湾 [Wong Chuk Bay]）の計11地点である。サンプルの採集地点や個体数などの詳細は、Zou *et al.* (2012) の解析個体のデータとともに、図1に記している。

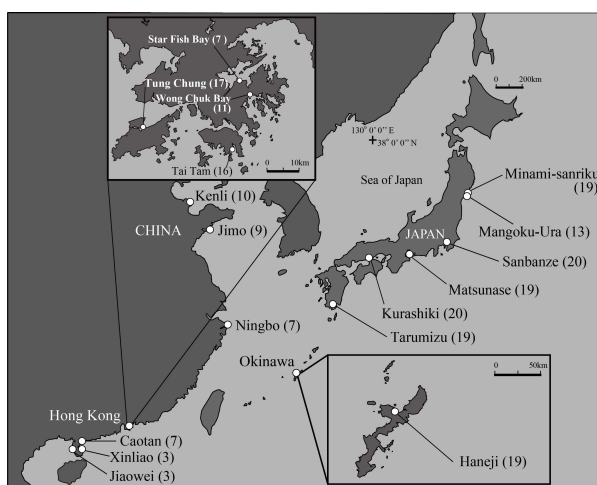


図1. サンプリングマップ

小括弧内の数字はその地点の個体数を示す。

2) DNA 抽出と増幅、配列決定

最初に、殻口内部よりサンプルの軟体部を剥離したのち、軟体部腹足部より約50mgの筋肉をメスによって切り出した。その後 High Pure PCR template preparation kit (Roche Diagnostics) もしくは Chelex method (Aranishi & Okimoto, 2006) により全 DNA の抽出を行った。

本研究に用いた領域はミトコンドリア DNA COI 領域の590塩基対であり、この領域をポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって増幅した。プライマーには LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') および HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAA AATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994) を用いた。PCR 条件は、94 ° C で3分間の pre-denature ののち、94 ° C で30秒、50 ° C で30秒、72 ° C で60秒を35サイクル行い、最後に72 ° C で1分間 final extension を行った。

High Pure PCR product purification kit (Roche Diagnostics) によって PCR 産物の精製を行ったのち、ABI PRISM BigDye terminators version 3.0 Cycle sequencing Kit (Applied Biosystems) を用いて双方向よりサイクルシーケンシングを行った。シーケンシングプライマーには PCR に用いたプライマーと同じ物を用いた。それらの反応物の配列決定は、名古屋大学遺伝子実験施設の ABI3100 automated DNA sequencer (Applied Biosystems) によるシーケンス解析サービスに委託した。

決定された DNA 配列は、Sequencher 4.1 (Gene Codes, Ann Arbor, MI) によって編集、コンティグの作成を行った後、MacClade 4.03 PPC (Maddison & Maddison, 2001) を使用しアライメントとユニークなハプロタイプ（遺伝子型）の特定を行った。

3) 系統解析

本研究で決定した配列に、Zou *et al.* (2012) の中国大陸沿岸6地点（山東省墾利 [Kenli]、山東省即墨 [Jimo]、浙江省寧波 [Ningbo]、広東省草潭鎮 [Caotan]、広東省新寮島 [Xinliao]、広東省角尾湾 [Jiaowei]）、39個体のデータを加え、解析に用いた。本研究では系統解析に即し、ハプロタイプネットワークと2種の手法（最尤法：以下 ML 法、およびベイズ法）で作成された系統樹を使用した。ハプロタイプネットワークでは、NETWORK 4.5.1.6 および Network Publisher 1.2.0.0 (Fluxus Technology Ltd.) を用い、中点連結ネットワークを作成した（図2）。ML 系統樹の作成には PhyML 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003; Guindon *et al.*, 2005) を用い、ベイズ系統樹の作成には MrBayes v.3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) を使用した。ベイズ法における系統解析のモデル選択には MrModeltest 2.3 (Nylander, 2008) を用い、モデルには HKY+G が選ばれた。

結果

本研究における解析個体数は前述の通り 219 (新たな採集個体 180, Zou *et al.* (2012) のデータから 39) であるが, 重複するハプロタイプを統合した結果, そのハプロタイプ数は合計で 92 となった。

ハプロタイプネットワークは, 大きく二つのクラスター A と B に分かれた。クラスター A は中国大陸沿岸の集団のみから構成されるが, 山東省の個体はほとんど含まない。一方クラスター B はすべての日本本土, 沖縄集団の個体を含み, さらに山東省の集団のほとんどがこのクラスターに含まれ, 広東省や香港の個体も少数含まれている。この両クラスター間のギャップは非常に大きく, 25 の塩基置換で隔てられている (図 2)。

また, クラスター B の内部は大きく 2 つのサブクラスターに分けることができ, それぞれサブクラスター Ba, Bb と呼称する。サブクラスター Ba は主に東日本の集団および沖縄の全個体, 中国大陸沿岸の

集団からなるが, 一方のサブクラスター Bb は主に西日本の集団からなり, 少数の東日本の集団の個体を含むものの, 沖縄や中国大陸沿岸の集団は含まない (図 2)。

2 種類作成した系統樹はハプロタイプネットワークとおおむね調和的であり, その結果を支持するものであった。すべての系統樹でクラスター A, クラスター B (および 2 つのサブクラスター) が単系統で再現された。各クラスターの支持率 (ブートストラップ値, 事後確率による) は, メインクラスターである A と B に関しては高い水準であったが, サブクラスター Ba と Bb については支持率が低く, この分化に関しては不確定な部分が残った。

考察

本研究の結果からは, 東アジア地域におけるアラムシロの系統においていくつかの新知見が得られたのでそれらについて論じたい。

東アジア全体で一つの種と考えられていた“アラムシロ”の中に 2 つの系統が存在するという事は Zou *et al.* (2012) で既に明らかにされていたが, 彼らの研究では解析対象が中国大陸沿岸内の集団だけに限定されていたため, この 2 系統が「中国大陸沿岸集団のみから構成される系統」と, 「日本本土, 沖縄, 一部の中国大陸沿岸集団 (主に山東省) からなる系統」であることは, 今回初めて明らかとなった。ハプロタイプネットワークにおけるクラスター間の距離を見る限り, 両者が同一種であるとは考えにくく, 定量的な議論のため Meyer & Paulay (2005) の手法に従い両系統間の遺伝的距離を推測したところ, その距離は 0.060 となった。これは同論文の図表によると別種間の距離に相当する (図 3)。

両者の分化の時期や過程については, 追加の解析や詳細な検討が必要となるので本論においては軽く触れておくに留めたい。まず分化の時期については, COI 遺伝子を分子時計として用い, その変異速度と

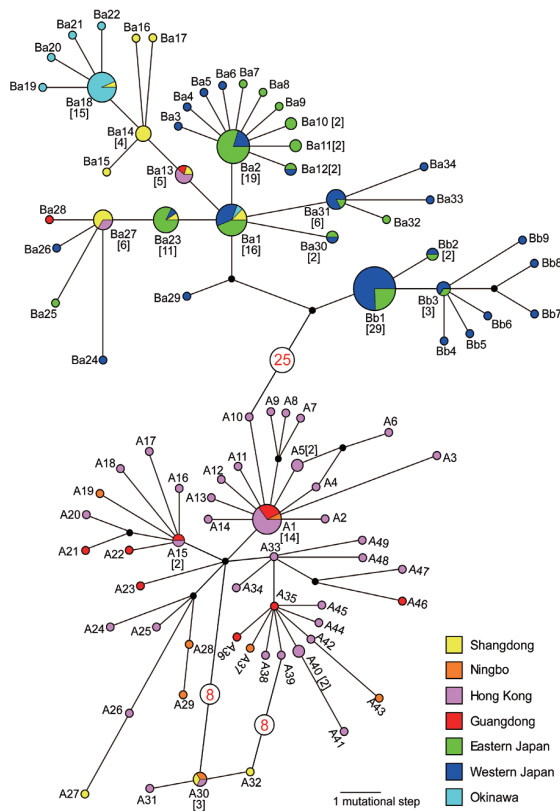


図 2. 中点連結ハプロタイプネットワーク

円の面積は同一ハプロタイプ内の個体数に比例している。括弧内数字はハプロタイプ内に含まれる個体数。実線は隣接するハプロタイプとの塩基置換数を示すが, 長大なものは省略し赤字でその距離を示している。実線上の黒丸は推測される仮想的な突然変異のステップ。

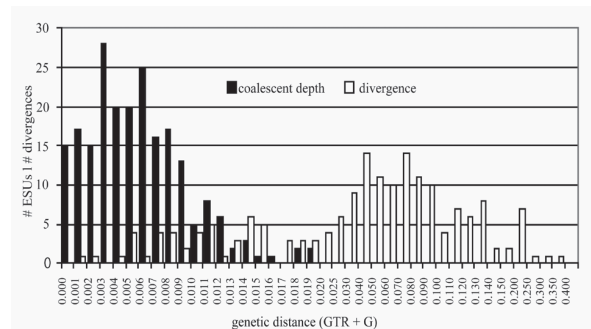


図 3. タカラガイ科の ESU (Evolutionary Significant Unit : 進化的重要単位) 間・内の遺伝的距離の頻度分布 (Meyer & Paulay, 2005 より引用改変)

して約 2.4%/Myr を適用すると (Hellberg & Vacquier, 1999), 両系統の分化はおよそ 250 万年前に起こったと推定される。この時期は、沖縄トラフの拡大初期や慶良間ギャップの形成時期に相当し (井上, 2007), これらの地史的イベントが両者の分化に関与していると考えられる。

次に、日本本土と中国大陸沿岸との遺伝的交流の可能性について考察する。中国大陸沿岸の集団から日本型のハプロタイプが見つかった (図 2. ハプロタイプ Ba13, 14, 27 など) ことから、日本本土との間に何らかの遺伝的交流があることが考えられる。このような系統地理学的パターンは、植物 (Lee *et al.*, 2013) や、陸貝 (Miura *et al.*, 2013) でも報告されており、その原因を更新世中期から後期の東シナ海の陸橋を介した、日本列島から大陸への集団の移動にあると推定している。

アラムシロの場合、戦前～戦中における大陸への入植に伴う人為的移入の可能性を完全に排除はできないが、山東省におけるサブクラスター Ba の出現比率の高さ (16/19) を考慮すると、陸橋を経由した自然移入のほうが無理のない解釈といえる。

最後に沖縄のアラムシロについて論じたい。沖縄の集団は前述の通り大陸沿岸系遺存種であると考えられていたが、今回の結果によれば日本本土の集団と同じ系統に属しており、大陸系遺存種であるとは考えにくい。

沖縄集団のハプロタイプのほとんどは、日本本土のハプロタイプが優占的で、かつ内側に配置されるサブクラスター Ba において、末端部に放射状クラスターとして内包されている。このことは過去における集団の極端な縮小によるボトルネックか、少数個体の移入による創始者効果によるものと推察される。

沖縄集団の中に、サブクラスター Ba の祖先的なハプロタイプである Ba1 を持つ一個体が確認されているものの、大半は最も派生的な部分に位置する Ba18 群 (Ba18 と放射状クラスターを形成する 4 つのハプロタイプ) から構成されているため、サブクラスター Ba の分化直後から沖縄で存続した遺存的集団ではなく、二次的移入を起源とする集団である可能性が高い。

これらをふまえ、人為的移入と自然移入の可能性について議論をしてみる。まず人為的な移入については、沖縄の水産種苗の流通史等を確認する必要があるが、Ba18 群が単一のハプロタイプから分化したとすれば、一般的な進化速度から考えると有史以降の人為的な移入の可能性は低い。

次に自然移入の可能性を考えてみる。アラムシロは、4-5 週間程度の浮遊幼生期間を持つので (網尾,

1957), 潮流に乗って長距離を移動することは可能である。問題は日本本土や大陸沿岸から沖縄本島への自然移入が、海況的に可能かどうかである。藤枝ほか (2014) による漂着ライターを用いた分析によれば、少数ではあるが日本本土と大陸からの漂着ライターが、沖縄本島及び琉球列島まで到達している。ライターと浮遊幼生の潮流中での挙動は異なるので、参考程度の傍証であるが、陸域の範囲が広がる低海水準期であれば自然移入のチャンスはより大きくなるであろう。なお、本研究のハプロタイプネットワークでは、沖縄個体の大半が属する Ba18 群は山東省固有のハプロタイプより派生しており、かつ Ba18 を有する個体が山東省から一個体見つかった。現段階では、沖縄集団の起源について日本本土～中国大陸沿岸経由の移入が示唆されるが、個体数とサンプリングポイントを増やした上での検証が必要と思われる。

まとめ

東アジア地域の 2 ヶ国 11 地点より 180 個体のアラムシロを採集、ミトコンドリア DNA COI 領域 590 塩基対を配列決定し、先行研究の 6 地点 39 個体分のデータと合わせ、計 219 個体のデータに基づくハプロタイプネットワークおよび 2 種類の系統樹により系統解析を行った。その結果、東アジア地域のアラムシロは、別種レベルに相当する 2 つのクラスター A, B に大きく分かれることが判明した。クラスター A は中国大陸沿岸集団のみから構成され、B は日本本土、沖縄集団の全てと少数の中国大陸沿岸集団 (主に山東省) から構成された。クラスター B 内はさらに 2 つのサブクラスター Ba および Bb に分けられ、前者は東日本の集団を主に、沖縄、中国大陸沿岸の集団を含み、後者は西日本の集団を主として、日本本土の個体のみから構成されている。また、ハプロタイプネットワークの樹形から、大陸系の遺存種と考えられてきた沖縄のアラムシロは、日本本土の集団から派生し、琉球列島へ移入したと推定される。これらは日本列島や琉球列島の地史の変遷によって引き起こされたものと考えられるが、分化・移動の時期やプロセスの議論のためには、さらなるデータや解析の追加が必要である。

謝辞

本研究の一部は、日本学術振興会の「組織的な若手研究者等海外派遣プログラム」(名古屋大学環境学研究科「基礎環境学を担う若手人材育成プログラム」) の支援を受けて行った。

また、本研究を進めるにあたり、多くの方々にご協力をいただいた。野外でのサンプルや現地情報の

収集に当たっては、東邦大学理学部大越健嗣博士、南三陸町自然環境活用センター太齋彰浩氏（現・南三陸町企画課）、アクアリサーチラボ生森佳治氏、香港城市大学張肇堅博士、香港大学 Gray A. Williams 博士（順不同）に協力いただいた。議論にあたっては、名古屋大学大学院環境学研究科生物圏進化学研究室の皆様や、御所浦白亜紀資料館の皆様にも多くの的確な助言をいただいた。

以上の方々に深く感謝致します。

引用文献

- 網尾 勝 (1957) : アラムシロ *Tritia (Hinia) festiva* (Powys), ムシロガイ *Nassarius livescens* (Philippi) の卵嚢及び孵化幼生に就いて. 水産講習所研究業績, **6** (2), p.123–132.
- Aranishi, F. and Okimoto, T. (2006) : A simple and reliable method for DNA extraction from bivalve mantle. *Journal of Applied Genetics*, **47** (3), p.251–254.
- 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** (5), p.294–299.
- 藤枝 繁・大倉よし子・小島あずさ (2014) : 漂着ディスプレイザブルライターの流出地と漂着地の関係から求めた日本沿岸における漂着物の流れ. 漂着物学会誌, **12**, p.29–42.
- Guindon, S. and Gascuel, O. (2003) : A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, **52** (5), p.696–704.
- Guindon, S., Lethiec1, F., Duroux1, P. and Gascuel, O. (2005) : PHYML Online - a web server for fast maximum likelihood-based phylogenetic inference. *Nucleic Acids Research*, **33**, p.557–559.
- Hellberg, ME. and Vacquier, VD. (1999) : Rapid evolution of fertilization selectivity and Lysin cDNA sequences in teguline gastropods. *Molecular Biology and Evolution*, **16** (6), p.839–848.
- 井上卓彦 (2007) : 東シナ海における地質構造発達史—研究レビュー. 地質ニュース, (633), p.37–44.
- 久保弘文 (1995) : 海の貝・川の貝. In 生態 / 検索図鑑 沖縄の海の貝・陸の貝, 沖縄出版, p.15–210.
- 久保弘文 (2005) : アラムシロ. In 改訂・沖縄県の絶滅の恐れのある野生生物 (動物編)—レッドデータ沖縄—, 沖縄県, p.359–360.
- 黒田徳米・波部忠重・大山 桂 (1971) : 相模湾産貝類. 生物学御研究所, 741p.
- Lee, JH., Lee, DH. and Choi, BH. (2013) : Phylogeography and genetic diversity of East Asian *Neolitsea sericea* (Lauraceae) based on variations in chloroplast DNA sequences. *Journal of Plant Research*, **126** (2), p.193–202.
- Maddison, DR. and Maddison, WP. (2000) : MacClade 4. analysis of phylogeny and character evolution. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Meyer, CP. and Paulay, G. (2005) : DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology*, **3** (12), p.2229–2238.
- Miura, O., Köhler, F., Lee, T., Li, J. and Foighil, DÓ. (2013) : Rare, divergent Korean *Semisulcospira* spp. Mitochondrial haplotypes have Japanese sister lineages. *Journal of Molluscan Studies*, **79**, p.86–89.
- Nylander, J. (2008) : MrModeltest 2.3 (program for selecting DNA substitution models using PAUP*). Uppsala, Sweden: Evolutionary Biology Centre.
- Ronquist, F. and Huelsenbeck, JP. (2003) : MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, **19** (12), p.1572–1574.
- Zou, S., Li, Q. and Kong, L. (2012) : Monophyly, distance and character-based multigene barcoding reveal extraordinary cryptic diversity in *Nassarius*: A complex and dangerous community. *PLOS ONE*, **7** (10), p.1–9.

(2016年1月31日受理)

付録 1. 本論図中ハプロタイプの実験ナンバー (Voucher No.)・産地・Accession No.・出典の対応表

図中のハプロタイプID	実験ナンバー(個体ID)	産地	Accession no.	Reference	図中のハプロタイプID	実験ナンバー(個体ID)	産地	Accession no.	Reference	
A1	Na126 (NUGB-NA0117)	Star Fish Bay, Hong Kong, China	AB642657	This study	Ba10	Na066 (NUGB-NA0058)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642615	This study	
	NaTC001 (NUGB-NA0119)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642667	This study		Na067 (NUGB-NA0059)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642615	This study	
	NaTC006 (NUGB-NA0124)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642667	This study		Na004 (NUGB-NA0003)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642606	This study	
	NaTC015 (NUGB-NA0131)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642667	This study		Na035 (NUGB-NA0028)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642606	This study	
	NaTT010 (NUGB-NA0142)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642667	This study		Na096 (NUGB-NA0048)	Matsunase, Mie, Japan	AB642618	This study	
	NaTT015 (NUGB-NA0146)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642667	This study		Na072 (NUGB-NA0084)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642618	This study	
	NaWC004 (NUGB-NA0155)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642667	This study		Na125 (NUGB-NA0116)	Star Fish Bay, Hong Kong, China	AB642653	This study	
	NaWC008 (NUGB-NA0156)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642667	This study		NaTT004 (NUGB-NA0136)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642653	This study	
	NaWC009 (NUGB-NA0159)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642667	This study		NaTT016 (NUGB-NA0147)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642653	This study	
	JGA1 (LSGB23401A1)	Jaowei, Guangdong, China	JQ975431	Zou <i>et al.</i> , (2012)		XG1 (LSGB23401C1)	Xinliao, Guangdong, China	JQ975448	Zou <i>et al.</i> , (2012)	
A2	XG2 (LSGB23401C2)	Xinliao, Guangdong, China	JQ975432	Zou <i>et al.</i> , (2012)	KSD12 (LSGB23401D12)	Kenli, Shandong, China	JQ975459	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	JQ2 (LSGB23401A2)	Jaowei, Guangdong, China	JQ975433	Zou <i>et al.</i> , (2012)	JSB8 (LSGB23401B8)	Jimo, Shandong, China	JQ975443	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	CGE7 (LSGB23401E7)	Caotan, Guangdong, China	JQ975434	Zou <i>et al.</i> , (2012)	JSB7 (LSGB23401B7)	Jimo, Shandong, China	JQ975444	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	NZF8 (LSGB23401F8)	Nirngbo, Zhejiang, China	JQ975435	Zou <i>et al.</i> , (2012)	KSD6 (LSGB23401D6)	Kenli, Shandong, China	JQ975454	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	NaTC007 (NUGB-NA0125)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642643	This study	JSB4 (LSGB23401B4)	Jimo, Shandong, China	JQ975442	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	NaWC012 (NUGB-NA0162)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642671	This study	KSD4 (LSGB23401D4)	Kenli, Shandong, China	JQ975452	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	NaTC003 (NUGB-NA0121)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642640	This study	Na161 (NUGB-NA0170)	Haneji, Okinawa, Japan	JQ975453	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	NaTT009 (NUGB-NA0141)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642658	This study	Na17 (NUGB-NA0015)	Haneji, Okinawa, Japan	JQ975449	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	NaWC001 (NUGB-NA0152)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642658	This study	Na141 (NUGB-NA0163)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	NaTC008 (NUGB-NA0140)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642657	This study	Na142 (NUGB-NA0164)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
A3	NaTC011 (NUGB-NA0143)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642659	This study	Na143 (NUGB-NA0165)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	NaTC014 (NUGB-NA0130)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642648	This study	Na145 (NUGB-NA0167)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	Na124 (NUGB-NA0115)	Star Fish Bay, Hong Kong, China	AB642637	This study	Na147 (NUGB-NA0169)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	NaTC019 (NUGB-NA0150)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642650	This study	Na155 (NUGB-NA0177)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	NaWC007 (NUGB-NA0157)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642658	This study	Na149 (NUGB-NA0171)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	NaTT017 (NUGB-NA0147)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642658	This study	Na150 (NUGB-NA0172)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	NaTC012 (NUGB-NA0128)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642646	This study	Na151 (NUGB-NA0173)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	NaTC006 (NUGB-NA0183)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642655	This study	Na152 (NUGB-NA0174)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	NaTC005 (NUGB-NA0123)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642642	This study	Na153 (NUGB-NA0175)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	CGE2 (LSGB23401E6)	Caotan, Guangdong, China	JQ975440	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na156 (NUGB-NA0176)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
A16	NaTC013 (NUGB-NA0129)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642647	This study	Na157 (NUGB-NA0179)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	Na123 (NUGB-NA0114)	Star Fish Bay, Hong Kong, China	AB642636	This study	Na158 (NUGB-NA0180)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study		
	Na127 (NUGB-NA0118)	Star Fish Bay, Hong Kong, China	AB642638	This study	KSD11 (LSGB23401D11)	Kenli, Shandong, China	JQ975458	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	A19	NZF5 (LSGB23401F5)	Nirngbo, Zhejiang, China	JQ975441	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na144 (NUGB-NA0166)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642672	This study	
	A20	NaTC016 (NUGB-NA0132)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642649	This study	Na159 (NUGB-NA0181)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642675	This study	
	A21	CGE1 (LSGB23401E1)	Caotan, Guangdong, China	JQ975421	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na169 (NUGB-NA0178)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642674	This study	
	A22	XG3 (LSGB23401C3)	Xinliao, Guangdong, China	JQ975439	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na154 (NUGB-NA0176)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642673	This study	
	A23	CGE4 (LSGB23401E4)	Caotan, Guangdong, China	JQ975430	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na23	Na011 (NUGB-NA0010)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642605	This study
	A24	NaTT020 (NUGB-NA0151)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642655	This study	Na025 (NUGB-NA0018)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642605	This study	
	A25	Na121 (NUGB-NA0112)	Star Fish Bay, Hong Kong, China	AB642634	This study	Na027 (NUGB-NA0020)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642605	This study	
A26	NaTC017 (NUGB-NA0133)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642650	This study	Na031 (NUGB-NA0024)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642605	This study		
	A27	JSB1 (LSGB23401B1)	Jimo, Shandong, China	JQ975438	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na032 (NUGB-NA0025)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642605	This study	
	A28	NZF1 (LSGB23401F1)	Nirngbo, Zhejiang, China	JQ975436	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na033 (NUGB-NA0028)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642605	This study	
	A29	NZF7 (LSGB23401F7)	Nirngbo, Zhejiang, China	JQ975437	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na037 (NUGB-NA0030)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642605	This study	
	A30	NaTT018 (NUGB-NA0149)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642663	This study	Na038 (NUGB-NA0031)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642605	This study	
	A31	JSB8 (LSGB23401B8)	Jimo, Shandong, China	JQ975423	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na039 (NUGB-NA0032)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642605	This study	
		NZF3 (LSGB23401F3)	Nirngbo, Zhejiang, China	JQ975424	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na118 (NUGB-NA0109)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642605	This study	
		NaWC011 (NUGB-NA0161)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642640	This study	KSD10 (LSGB23401D10)	Kenli, Shandong, China	JQ975457	Zou <i>et al.</i> , (2012)	
		A32	JSB3 (LSGB23401B3)	Jimo, Shandong, China	JQ975422	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na043 (NUGB-NA0036)	Matsunase, Mie, Japan	AB642608	This study
		A33	NaTT012 (NUGB-NA0144)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642660	This study	Na079 (NUGB-NA0071)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642620	This study
A34		NaTC019 (NUGB-NA0135)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642652	This study	Na119 (NUGB-NA0110)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642632	This study	
A35		CGE3 (LSGB23401E3)	Caotan, Guangdong, China	JQ975426	Zou <i>et al.</i> , (2012)	NaTC011 (NUGB-NA0127)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642645	This study	
A36		JGA3 (LSGB23401A3)	Jaowei, Guangdong, China	JQ975425	Zou <i>et al.</i> , (2012)	NaWC005 (NUGB-NA0156)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642645	This study	
A37		NZF2 (LSGB23401F2)	Nirngbo, Zhejiang, China	JQ975427	Zou <i>et al.</i> , (2012)	JSB10 (LSGB23401B10)	Jimo, Shandong, China	JQ975445	Zou <i>et al.</i> , (2012)	
A38		NaTC009 (NUGB-NA0126)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642644	This study	JSB12 (LSGB23401B12)	Jimo, Shandong, China	JQ975447	Zou <i>et al.</i> , (2012)	
A39	NaWC003 (NUGB-NA0154)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642656	This study	KSD2 (LSGB23401D2)	Kenli, Shandong, China	JQ975450	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	A40	Na122 (NUGB-NA0113)	Star Fish Bay, Hong Kong, China	AB642635	This study	KSD7 (LSGB23401D7)	Kenli, Shandong, China	JQ975455	Zou <i>et al.</i> , (2012)	
	NaWC002 (NUGB-NA0153)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642635	This study	CGE5 (LSGB23401E5)	Caotan, Guangdong, China	JQ975460	Zou <i>et al.</i> , (2012)		
	A41	NaTT005 (NUGB-NA0137)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642654	This study	Na096 (NUGB-NA0088)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642626	This study	
	A42	NaTT013 (NUGB-NA0145)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642651	This study	Na090 (NUGB-NA0052)	Matsunase, Mie, Japan	AB642617	This study	
	A43	NZF6 (LSGB23401F6)	Nirngbo, Zhejiang, China	JQ975428	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na069 (NUGB-NA0081)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642617	This study	
	A44	NaTC004 (NUGB-NA0122)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642641	This study	Na041 (NUGB-NA0034)	Matsunase, Mie, Japan	AB642607	This study	
	A45	NaTC002 (NUGB-NA0120)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642639	This study	Na048 (NUGB-NA0041)	Matsunase, Mie, Japan	AB642607	This study	
	A46	CGE2 (LSGB23401E2)	Caotan, Guangdong, China	JQ975429	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na049 (NUGB-NA0042)	Matsunase, Mie, Japan	AB642607	This study	
	A47	NaTT007 (NUGB-NA0139)	Tai Tam, Hong Kong, China	AB642656	This study	Na062 (NUGB-NA0054)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642607	This study	
A48	NaWC010 (NUGB-NA0160)	Wong Chuk Bay, Hong Kong, China	AB642659	This study	Na108 (NUGB-NA0100)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642607	This study		
	A49	NaTC018 (NUGB-NA0134)	Tung Chung, Hong Kong, China	AB642651	This study	Na116 (NUGB-NA0097)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642607	This study	
	Ba1	Na034 (NUGB-NA0027)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642613	This study	Na065 (NUGB-NA0057)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642614	This study	
	Na036 (NUGB-NA0029)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642613	This study	Na093 (NUGB-NA0085)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642624	This study		
	Na040 (NUGB-NA0033)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642613	This study	Na091 (NUGB-NA0083)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642623	This study		
	Na044 (NUGB-NA0037)	Matsunase, Mie, Japan	AB642613	This study	Na001 (NUGB-NA0001)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642633	This study		
	Na059 (NUGB-NA0051)	Matsunase, Mie, Japan	AB642613	This study	Na009 (NUGB-NA0008)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642633	This study		
	Na061 (NUGB-NA0053)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642613	This study	Na042 (NUGB-NA0056)	Matsunase, Mie, Japan	AB642633	This study		
	Na063 (NUGB-NA0055)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642613	This study	Na047 (NUGB-NA0040)	Matsunase, Mie, Japan	AB642633	This study		
	Na071 (NUGB-NA0063)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642613	This study	Na050 (NUGB-NA0043)	Matsunase, Mie, Japan	AB642633	This study		
Ba2	Na073 (NUGB-NA0065)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642613	This study	Na052 (NUGB-NA0045)	Matsunase, Mie, Japan	AB642633	This study		
	Na085 (NUGB-NA0077)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642613	This study	Na055 (NUGB-NA0047)	Matsunase, Mie, Japan	AB642633	This study		
	Na087 (NUGB-NA0079)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642613	This study	Na057 (NUGB-NA0049)	Matsunase, Mie, Japan	AB642633	This study		
	Na102 (NUGB-NA0094)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642613	This study	Na064 (NUGB-NA0056)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642633	This study		
	Na114 (NUGB-NA0105)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642613	This study	Na070 (NUGB-NA0062)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642633	This study		
	Na146 (NUGB-NA01168)	Haneji, Okinawa, Japan	AB642613	This study	Na075 (NUGB-NA0067)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642633	This study		
	JSB11 (LSGB23401B11)	Jimo, Shandong, China	JQ975446	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na076 (NUGB-NA0068)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642633	This study		
	KSD8 (LSGB23401D8)	Kenli, Shandong, China	JQ975456	Zou <i>et al.</i> , (2012)	Na078 (NUGB-NA0070)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642633	This study		
	Na005 (NUGB-NA0004)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na082 (NUGB-NA0074)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642633	This study		
	Na006 (NUGB-NA0005)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na084 (NUGB-NA0076)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642633	This study		
Ba3	Na007 (NUGB-NA0006)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na086 (NUGB-NA0078)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642633	This study		
	Na008 (NUGB-NA0007)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na092 (NUGB-NA0084)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642633	This study		
	Na010 (NUGB-NA0009)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na094 (NUGB-NA0086)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642633	This study		
	Na012 (NUGB-NA0011)	Mangoku-Ura, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na098 (NUGB-NA0090)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642633	This study		
	Na021 (NUGB-NA0015)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na099 (NUGB-NA0091)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642633	This study		
	Na023 (NUGB-NA0016)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na101 (NUGB-NA0093)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
	Na024 (NUGB-NA0017)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na103 (NUGB-NA0095)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
	Na026 (NUGB-NA0019)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na107 (NUGB-NA0099)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
	Na028 (NUGB-NA0021)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na109 (NUGB-NA0101)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
	Na029 (NUGB-NA0022)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na110 (NUGB-NA0102)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
Ba4	Na030 (NUGB-NA0023)	Minami-sanriku, Miyagi, Japan	AB642604	This study	Na112 (NUGB-NA0104)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
	Na037 (NUGB-NA0029)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642604	This study	Na115 (NUGB-NA0106)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
	Na080 (NUGB-NA0072)	Sanbanze, Chiba, Japan	AB642604	This study	Na117 (NUGB-NA0108)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
	Na081 (NUGB-NA0073)	Kurashiki, Okayama, Japan	AB642604	This study	Na120 (NUGB-NA0111)	Tarumizu, Kagoshima, Japan	AB642633	This study		
	Na088 (NUGB-NA0080)	Kurash								