

日本近海に生息するイカナゴ個体群の遺伝的分化

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	岡本, 浩明 山崎, 文雄 三島, 清吉
巻/号	54巻8号
掲載ページ	p. 1297-1304
発行年月	1988年8月

日本近海に生息するイカナゴ個体群の遺伝的分化^{*1,*2}

岡本浩明, 山崎文雄, 三島清吉

(1987年12月7日受付)

Genetic Divergence among Sand-lance *Ammodytes personatus*
Populations in JapanHiroaki Okamoto,^{*3} Fumio Yamazaki,^{*3} and Seikichi Mishima^{*3}

Genotypes at 10 enzyme loci were analyzed by horizontal starch gel electrophoresis for each of 11 populations of sand-lance *Ammodytes personatus* in Japan. Allele frequencies at each locus were calculated for each population. There were clear differences of allele frequencies at three loci (α -Gpdh, Me-2, Sod) between populations north of Iwate Prefecture and those south of Miyagi Prefecture. A cluster analysis based on genetic similarities calculated from allele frequencies at all 10 loci observed suggests that sand-lance among the Pacific coast of Japan are composed of two population groups; northern and southern groups. The boundary exists between Iwate and Miyagi Prefecture. Geographic distribution of these two groups is consistent with that of two groups previously described by morphological studies. Genetic distance between these groups falls within the values of intraspecific marine teleost populations. Comparison of genetic similarities and mean heterozygosities among populations suggests that the southern group has a smaller-scale genetic divergence and more homogeneous genetic structure than the northern group.

イカナゴ *Ammodytes personatus* は、日本周辺に広く分布し、とりわけその稚魚は食物として古くから利用されている。Hatanaka and Okamoto¹⁾ は、本種を形態的に研究し、太平洋沿岸に生息するイカナゴが脊椎骨数により金華山沖を境として、その北と南の2群に分けられることを指摘した。それ以後、児玉,²⁾ Hashimoto and Kawasaki³⁾ は形態と生態的特性に差がある2群が仙台湾に混在することを示し、特に Hashimoto and Kawasaki³⁾ は α -グリセロリン酸脱水素酵素の多型を用いて、両群が異なる任意交配集団であることを明らかにした。

一方、北口⁴⁾ は計数形質によって、宗谷岬東方水域においては、夏期にイカナゴとその近縁種のキタイカナゴ *A. hexapterus* が混在していることを示唆した。最近 Hashimoto⁵⁾ は、日本海側を含む本邦のイカナゴ属魚類の形態と卵数を詳細に比較し、日本周辺の本属魚類は3つの血縁グループから構成されていることを示唆した。それらは、北海道の北方海域に生息するグループ1、北海道から太平洋側では仙台湾まで、日本海側では

鳥取県まで分布するグループ2、それより南に分布するグループ3である。グループ1は、従来キタイカナゴに分類されてきた群に、またグループ2と3はイカナゴの2群にそれぞれ相当すると考えられるが、Hashimoto⁵⁾ は、この3つのグループは各々亜種としての分類学的関係にあると推定している。しかし、これまでに調査されてきた形質の多く、とりわけ計数形質は生息環境によって変化する可能性があり、⁶⁾ しかもイカナゴは北海道から九州までの日本各地沿岸に分布し、⁷⁾ その生息環境も南北で大きく異なっていることから、それらの類縁関係を正確に推定するには環境の影響を受けにくい遺伝的形質を用いて各群の特徴を把握する必要がある。そこで本研究では、日本各地のイカナゴ個体群についてアイソザイムによる遺伝的組成の解析を行い、それらの遺伝的類縁関係を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

供試したイカナゴは、1984年4月から1985年6月にかけて日本沿岸11地点から、すくい網、定置網、地

*1 北海道大学水産学部北洋水産研究施設業績第193号 (Contribution No. 193 from the Research Institute of North Pacific Fisheries, Faculty of Fisheries, Hokkaido University).

*2 本研究の要旨は昭和62年度日本水産学会春季大会において発表した。

*3 北海道大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Minato 3, Hakodate 041, Japan).

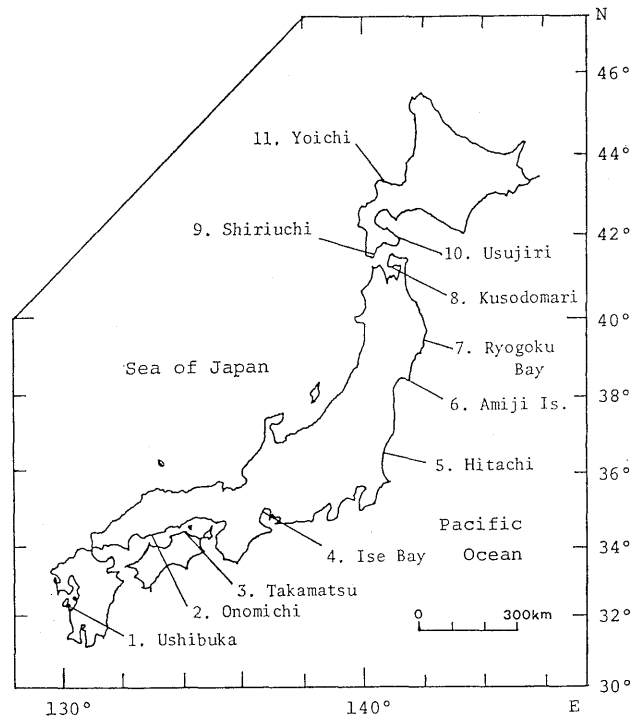


Fig. 1. Locations of sand-lance populations sampled.

Table 1. Enzymes and tissues used for investigation of protein variability in sand-lance

Enzyme	E. C. number	Locus	Tissue examined	Buffer* system
Alpha-glycerophosphate dehydrogenase (α -GPDH)	1.1.1.8	α -Gpdh	Muscle	2
Isocitrate dehydrogenase (IDH)	1.1.1.42	<i>Idh-1</i> <i>Idh-2</i>	Muscle Liver	1 1
Lactate dehydrogenase (LDH)	1.1.1.27	<i>Ldh-2</i> <i>Ldh-3</i>	Muscle Eye	1 1
Malate dehydrogenase (MDH)	1.1.1.37	<i>Mdh-1</i> <i>Mdh-2</i>	Muscle Liver	1 1
Malic enzyme (ME)	1.1.1.40	<i>Me-2</i>	Muscle	2
Phosphoglucomutase (PGM)	2.7.5.1	<i>Pgm</i>	Muscle	2
Superoxide dismutase (SOD)	1.15.1.1	<i>Sod</i>	Liver	3

* 1: citrate-N(3-aminopropyl)diethanolamine buffer at pH 6.9,⁸⁾

2: tris-citrate buffer at pH 8.0,⁹⁾

3: discontinuous tris-citric acid at pH 8.5.¹⁰⁾

曳網などによって採集した (Fig. 1)。標本は、採集後 -20°C で凍結保存し、その後ドライアイスにより凍結したまま実験室に持ち帰り、再び -20°C で保存した。各個体より眼、肝臓、筋肉を摘出し、ほぼ等量の蒸留水を滴下し再凍結し、その後解凍した際にしみ出した粗抽出液を電気泳動用の試料とした。

以上の試料を用い、水平式デンブングル電気泳動法により7種類の酵素の多型を解析した。調べた酵素、それに用いた組織と緩衝系を Table 1 に示した。デンブン

ゲル濃度は 12% とし、泳動は 5°C 、 4 mA/cm^2 で3時間行った。ただし、SOD の場合には 3°C 、 4 mA/cm^2 で約2時間泳動した。泳動後、各酵素を基質特異的に染色した。染色液は、Shaw and Prasad¹¹⁾ および Harris and Hopkinson¹²⁾ の方法を一部改変して作製した。染色されたバンドの組織特異性と個体変異の出現様式にもとづき、遺伝子座と各遺伝子座にある対立遺伝子を推定した。各対立遺伝子は便宜的に伊勢湾の個体群において最も卓越した対立遺伝子のバンドの位置と原点の間の距

Table 2. Allele frequencies observed at 10 loci in 11 sand-lance populations

Locus	Alleles	Populations										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>α-Gpdh</i>	39	0	0	0.008	0	0	0.033	0	0	0.014	0	0
	100	0.993	1.000	0.992	1.000	0.992	0.992	0.758	0.680	0.720	0.700	0.723
	178	0.007	0	0	0	0.008	0.008	0.208	0.320	0.280	0.286	0.277
	<i>N</i>	68	60	60	60	60	60	60	50	50	70	65
<i>Idh-1</i>	<i>h</i>	0.0139	0	0.0159	0	0.0159	0.0159	0.3822	0.5648	0.4032	0.4280	0.4005
	67	0	0	0	0	0	0.008	0	0	0	0	0
	100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.992	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	<i>N</i>	68	60	60	60	60	60	50	50	50	70	65
<i>Idh-2</i>	<i>h</i>	0	0	0	0	0	0.0159	0	0	0	0	0
	44	0	0	0.008	0	0	0.008	0	0	0.010	0	0
	100	1.000	1.000	0.992	1.000	0.992	0.992	1.000	1.000	0.950	0.971	0.962
	140	0	0	0	0	0	0.008	0	0	0.040	0.029	0.038
<i>Ldh-2</i>	145	0	0	0	0	0.008	0	0	0	0	0	0
	<i>N</i>	30	60	60	50	60	60	60	50	50	70	65
	<i>h</i>	0	0	0.0159	0	0.0159	0.0159	0.0159	0	0.0958	0.0563	0.0731
	100	1.000	0.992	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Ldh-3</i>	500	0	0.008	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>N</i>	68	60	60	60	60	60	60	50	50	70	65
	<i>h</i>	0	0.0159	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Mdh-1</i>	<i>N</i>	68	60	60	60	60	60	60	50	50	70	65
	<i>h</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	55	0	0	0.008	0	0	0	0	0.010	0	0	0
	100	1.000	1.000	0.992	1.000	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	1.000	1.000
<i>Mdh-2</i>	<i>N</i>	68	60	60	60	60	60	60	50	50	70	65
	<i>h</i>	0	0	0.0159	0	0	0	0	0.0198	0	0	0
	100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	<i>N</i>	68	60	60	60	60	60	60	50	50	70	65
<i>Me-2</i>	82	0	0	0	0	0.033	0	0.642	0.625	—	0.707	0.692
	100	1.000	1.000	0.975	1.000	0.958	0.992	0.267	0.325	—	0.221	0.269
	132	0	0	0.008	0	0	0.067	0.067	0.025	—	0.021	0.310
	147	0	0	0.017	0	0.008	0.008	0.025	0.025	—	0.050	0.008
<i>h</i>	28	40	60	60	60	60	60	50	50	70	70	65
	0	0	0.0490	0	0.0811	0.0159	0.5144	0.5025	—	—	0.4484	0.4602

Table 2. (Continued)

Locus	Alleles	Populations												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
<i>Pgm</i>	25	0	0	0	0	0.008	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0.017	0.008	0.017	0.008	0	0	0	0	0
	100	0.993	1.000	0.992	1.000	0.958	0.983	0.975	0.967	0.990	0.990	0.993	0.992	0.992
	183	0.007	0	0.008	0	0.017	0.008	0.008	0.017	0.010	0.010	0.007	0.008	0.008
	283	0	0	0	0	0	0	0	0.008	0	0	0	0	0
<i>Sod</i>	<i>N</i>	68	60	60	60	60	60	60	50	50	70	65	65	65
	<i>h</i>	0.0139	0	0.0159	0	0.0816	0.0336	0.0490	0.0645	0.0198	0.0139	0.0159	0.0159	
	70	0	0	0	0.008	0.025	0.017	0.067	0.100	0.170	0.129	0.185	0.185	
	100	1.000	1.000	1.000	0.992	0.975	0.983	0.933	0.900	0.830	0.864	0.808	0.808	
	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.007	0.008	0.008	
	<i>N</i>	68	60	60	60	60	60	60	50	50	70	65	65	
	<i>h</i>	0	0	0	0.0159	0.0488	0.0334	0.1250	0.1800	0.2822	0.2368	0.3128	0.3128	
	<i>H</i>	0.0028	0.0016	0.0113	0.0016	0.0243	0.0115	0.1009	0.1332	—	0.1183	0.1345	0.1345	

N: number of fish analyzed; *h*: heterozygosity in each locus; *H*: average heterozygosity over 10 loci.

離を 100 として、それとの相対的距離によって表した。これをもとに、それぞれの個体群について各遺伝子座ごとに対立遺伝子頻度とヘテロ接合体率 (*h*)、ならびに各遺伝子座での *h* を平均した平均ヘテロ接合体率 (*H*) を求めた。

宮城県の網地島からの標本については、脊椎骨数のモードの差によって区別される金華山以北の群由来の個体と以南の群由来の個体が混合している可能性があるため、脊椎骨数 (Urostyle を含まない) を軟 X 線を用いて計数し、標本内での両群の混合の有無を推定した。

個体群間での遺伝的類縁関係の評価には Nei¹³⁾ の *I* 値 (遺伝的類似度) と *D* 値 (遺伝的距離) を用いた。また、*I* 値から UPGMA 法¹⁴⁾ によりクラスター分析を行い、デンドログラムを作成した。

結 果

対立遺伝子の地理的分布 日本各地のイカナゴ個体群で認められた 10 遺伝子座における対立遺伝子頻度と各遺伝子座のヘテロ率 (*h*) と 10 座における平均ヘテロ率 (*H*) をまとめて Table 2 に示した。*α-Gpdh*, *Me-2*, *Sod* の 3 遺伝子座で対立遺伝子が 5% 以上の頻度で出現した。この 3 座にある主要な対立遺伝子によるバンドの出現パターンを Fig. 2 に示す。

α-Gpdh 座の泳動像において、1 本バンドを示す個体と 3 本バンドを示す個体が観察された (Fig. 2-a)。*α-GPDH* が 2 量体の酵素であることから、1 本バンドはホモ個体、また 3 本バンドは 2 対立遺伝子をもつヘテロ個体であると推定された。また、*Me-2* 座の泳動像では、1 本バンドを示す個体と 5 本バンドを示す個体が観察され、*ME* が 4 量体酵素であることから、1 本バンドはホモ個体、5 本バンドはヘテロ個体であると推定された (Fig. 2-b)。*Sod* 座においては *α-Gpdh* 座と同様に 1 本バンドと 3 本バンドが観察され、1 本バンドはホモ個体、3 本バンドはヘテロ個体であると推定された (Fig. 2-c)。

α-Gpdh において、宮城県以南の 6 個体群 (牛深, 尾道, 高松, 伊勢湾, 日立, 網地島) では *α-Gpdh*(100) の頻度が 0.992 以上に達しており、*α-Gpdh* (178) の頻度は非常に低かった (0.000-0.008)。しかし、岩手県以北の 5 個体群 (両石湾, 九艘泊, 知内, 白尻, 余市) では *α-Gpdh* (100) の頻度は宮城県以南の 6 個体群に比べて低く (0.680-0.758), 逆に *α-Gpdh* (178) の頻度は高かった (0.208-0.320, Fig. 3)。*Me-2* において、宮城県以南の 6 個体群では *Me-2* (100) の頻度が 0.958 以上であったのに対し、岩手以北の 4 個体群 (両石湾, 九艘泊, 白尻, 余市) では、その頻度は宮城県以南の個体群に比べて著しく低く (0.221-0.343), 宮城県以南ではほとんど出現

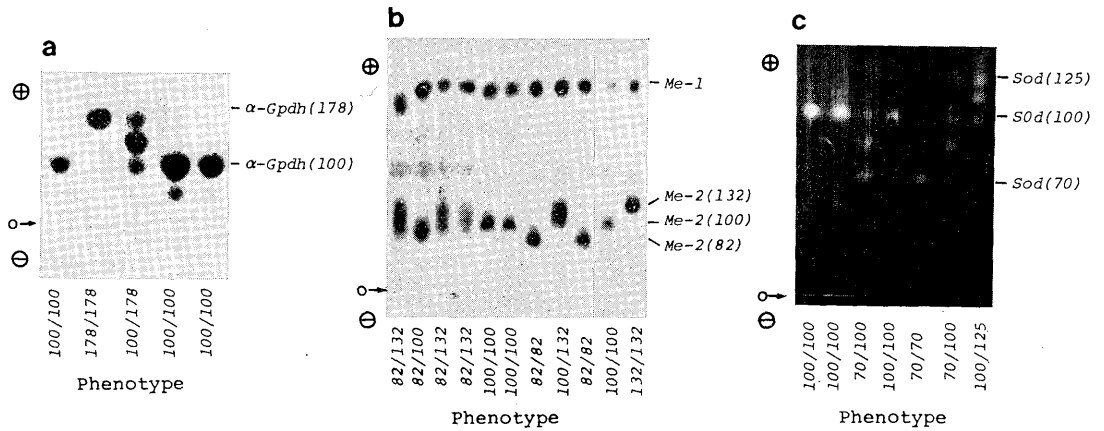


Fig. 2. Allelic variations at the α -Gpdh (a), Me-2 (b), and Sod (c) loci in sand-lance.

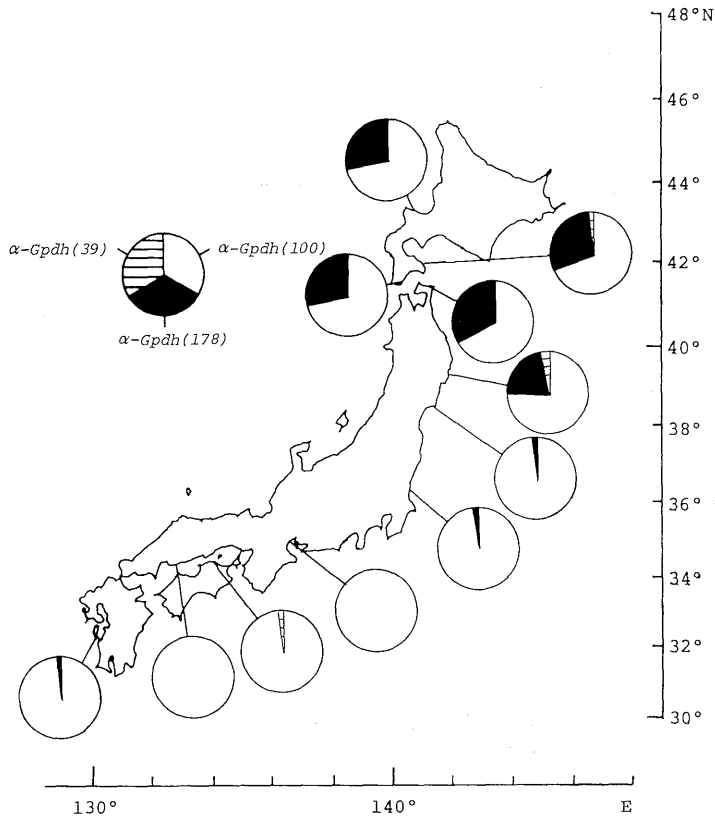


Fig. 3. Geographic distribution of the alleles at the α -Gpdh locus in sand-lance.

しなかった Me-2 (82) が高頻度 (0.625-0.707) で出現した。Sod においても宮城以南の個体群では Sod (100) の頻度は 0.975 以上に達していたのに対し、岩手以北ではその頻度はわずかながら低く (0.808-0.933), Sod (70) の頻度が高い (0.067-0.185) 傾向が認められた。すなわち、 α -Gpdh, Me-2, Sod のいずれの遺伝子座においても宮城県と岩手県の間を境として対立遺伝子頻度が大きく

異なることが認められた。

遺伝的類似度とヘテロ率による各個体群の特徴、類縁関係の分析 各個体群間の遺伝的類似性を検討するため、10 遺伝子座の対立遺伝子頻度にもとづいて遺伝的類似度 (I 値) と遺伝的距離 (D 値) を求めた (Table 3)。知内の標本では Me-2 の解析を行わなかったため、この分析から除外した。このマトリックスをもとにデン

Table 3. Matrix of Nei's genetic identity (above diagonal) and distance (below diagonal) calculated from 10 loci among 10 populations of sand-lance

	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11
1. Ushibuka		1.0000	.9999	1.0000	.9998	1.0000	.9453	.9451	.9320	.9361
2. Onomichi	.0000		.9999	1.0000	.9997	.9999	.9450	.9447	.9317	.9357
3. Takamatsu	.0001	.0001		.9999	.9998	.9999	.9467	.9463	.9335	.9373
4. Ise Bay	.0000	.0000	.0001		.9998	1.0000	.9451	.9449	.9319	.9361
5. Hitachi	.0002	.0003	.0002	.0002		.9999	.9499	.9496	.9372	.9413
6. Amiji Is.	.0000	.0001	.0001	.0000	.0001		.9457	.9456	.9327	.9369
7. Ryogoku Bay	.0563	.0566	.0548	.0565	.0514	.0558		.9984	.9983	.9976
8. Kusodomari	.0565	.0569	.0552	.0567	.0517	.0559	.0016		.9986	.9982
10. Usujiri	.0704	.0707	.0688	.0705	.0649	.0697	.0017	.0014		.9994
11. Yoichi	.0660	.0665	.0648	.0660	.0605	.0652	.0024	.0018	.0006	

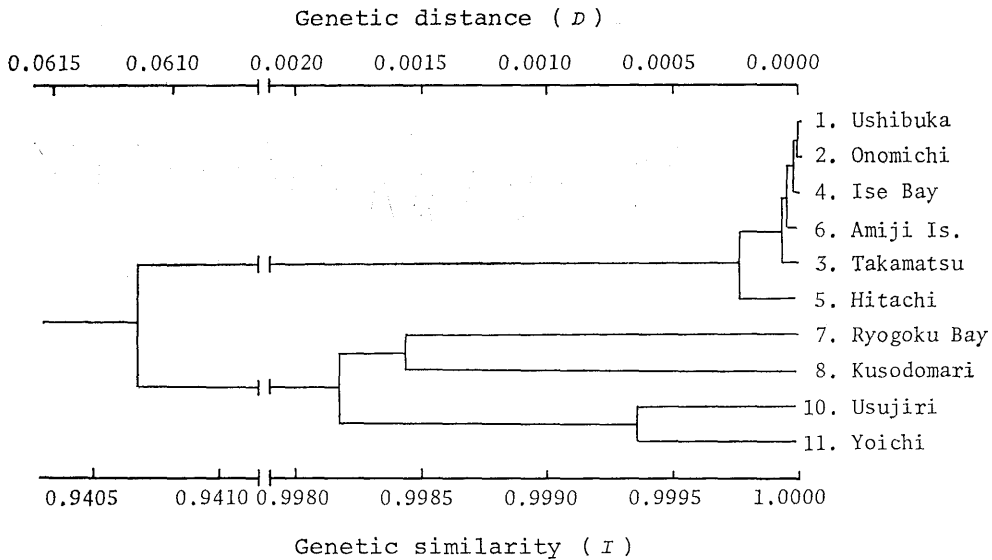


Fig. 4. Dendrogram of genetic relationships in 10 populations of sand-lance.

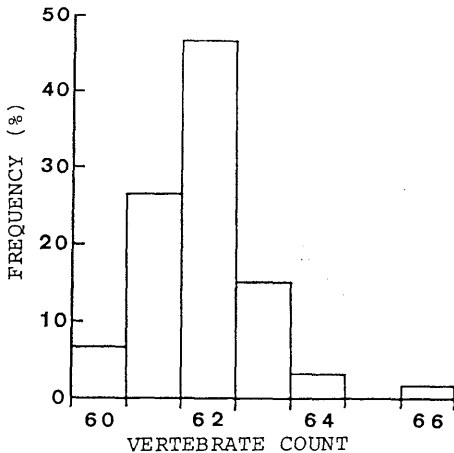


Fig. 5. Frequency distribution of vertebral count in sand-lance sampled from Amiji Island.

ドログラムを作成した (Fig. 4)。日本各地のイカナゴ個体群は $D=0.0612$ ($I=0.9407$) で宮城県以南と岩手県以北の2つの群に大別された。個体群間の I 値を比較すると、宮城以南の個体群間での I 値 (0.9997-1.0000, 平均 0.9999) は、岩手以北 (0.9450-0.9994, 平均 0.9984) に比べて大きく、かつ範囲がせまい傾向が認められた。次に、平均ヘテロ接合体率 H を比較すると、宮城以南の個体群における H (0.0016-0.0243, 平均 0.0089) は岩手以北 (0.1099-0.1355, 平均 0.1248) よりも著しく低いことが示された。

網地島からの標本における脊椎骨数 網地島の標本の脊椎骨数は範囲が 60~66 個で、その頻度分布は、明らかに 62 個にただ1つのモードを示した (Fig.5)。

考 察

本研究で調査した太平洋側を中心とする 11 地点にお

けるイカナゴ個体群の α -Gpdh, Me-2, Sod の対立遺伝子頻度は宮城県と岩手県を境として大きく変化した。さらに、10 遺伝子座すべての対立遺伝子頻度をもとに作成したデンドログラムにおいても宮城県以南と岩手県以北の2つの群に類別されることが示唆された。従って、日本の太平洋岸に生息するイカナゴは、宮城県と岩手県を境として以南と以北の2つの遺伝的集団からなると考えられる。

Hatanaka and Okamoto¹⁾ は北海道から伊勢湾にかけてのイカナゴの脊椎骨数 (Urostyle を含まない) を計数し、太平洋側には金華山以北の脊椎骨数 64 個にモードを持つ系群 (64 系群) と以南の 62 個にモードを持つ系群 (62 系群) の2系群が存在し、金華山沖においてその2系群が混合している可能性を示唆した。今回、遺伝的形質により明らかになった2群の境界が宮城県と岩手県の間にあることから、この両群は Hatanaka and Okamoto¹⁾ が示唆した金華山以南群と以北群にそれぞれ相当すると考えられる。

本研究における採集地点の1つである網地島周辺は金華山以南群と以北群の混合水域であると言われており、²⁾ 今回の標本においても両群が混合していれば、本地点の個体群の遺伝的特徴が正確に把握できないのではないかと懸念があった。しかし、網地島からの標本の脊椎骨数の計数結果は 62 個に単一のモードを持つ単峰型を示し、しかも集団遺伝的解析により本地点の個体群は明らかに宮城以南の群に属していたことより、この標本は金華山以南の 62 系群に由来し、以北の 64 系群の個体が混入している可能性は少ないと推定された。

これまで、多くの魚種についてアイソザイム解析によって各分類レベル間での遺伝的距離 D が算出されているが、その結果を見ると例外はあるものの分類群が異なっても同じ分類レベル間での値はかなり類似しており、同種個体群間では平均 0.05 (0.002-0.065)、種間では平均 0.30 (0.025-0.609)、属間では平均 0.90 (0.580-1.21) といった値が得られている。¹⁰⁾ 今回、岩手以北群と宮城以南群の間で求められた D 値 (0.0612) は海産魚の同種個体群間での値としてはかなり高いように思われるが、種間ほどは高くない。各分類レベル間での D の平均値と比較すると、種間の 0.30 よりも同種個体群間の 0.05 に近く、また範囲も 0.002-0.065 の中に含まれることから、本結果の D は同種個体群間の値に相当すると考えられる。ただし、両群間の遺伝的類縁関係をより正確に評価するには、より多くの遺伝子座について解析を行い、さらにキタイカナゴなどの近縁種間での解析を行うことによって本属における分類レベル間での D 値を相対的に検討することが望ましい。

各地域個体群間における I 値を比較すると、宮城以南

の群は岩手以北の群に比べ個体群間の遺伝的分化が小さく、遺伝的に非常に類似している。また、宮城以南における平均ヘテロ接合体率は岩手以北に比べ非常に低いことから、宮城以南の群は、全体的に遺伝的変異が小さい集団であるとみなせる。この宮城以南の群におけるホモ化現象が、どのような原因によって生じたのかについて、今回の結果から推論することは困難である。

今後、対立遺伝子の地理的分布をより多くの地点にわたり調査すると同時に、多型酵素間の活性特性の差異、ならびに異なる遺伝子型を持つ個体間での特定の環境要因に対する耐性の違いの有無などを実験的に調べる必要がある。

謝 辞

本研究をまとめるにあたり、御校閲頂いた北海道大学水産学部教授島崎健二博士、助教後藤昇博士、ならびに信州大学理学部助手高田啓介博士に謝意を表す。また、標本の採集に快くご協力頂き、かつ有益な御助言と貴重な資料を与えられた熊本県水産試験場、福岡県福岡水産試験場、大分県水産試験場、広島県水産試験場、香川県水産試験場、大阪府水産試験場、山口県外海水産試験場、島根県水産試験場、福井県水産試験場、三重県伊勢湾水産試験場、茨城県水産試験場、宮城県水産試験場、東北区水産研究所、岩手県水産試験場、岩手県栽培漁業センター、青森県水産試験場、青森県水産増殖センター、北海道中央水産試験場の方々に心より感謝申し上げる。

文 献

- 1) M. Hatanaka, and R. Okamoto: *Tohoku J. Agri. Res.*, **1**, 57-67 (1957).
- 2) 児玉純一: 宮城水試報告, **10**, 1-14 (1980).
- 3) H. Hashimoto and T. Kawasaki: *Tohoku J. Agri. Res.*, **31**, 173-197 (1981).
- 4) 北口孝郎: 北水試報告, **21**, 17-30 (1979).
- 5) H. Hashimoto: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**, 1357-1365 (1984).
- 6) Å. V. Tånging: *Biol. Rev.*, **27**, 169-193 (1952).
- 7) 橋本博明: 水産の研究, **4**(4), 78-81 (1985).
- 8) J. W. Clayton and D. N. Tretiak: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **29**, 1169-1172 (1972).
- 9) J. W. Clayton and J. H. Gee: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **26**, 3049-3053 (1969).
- 10) G. J. Ridgway, S. W. Sherburne, and R. D. Lewis: *Trans. Am. Fish. Soc.*, **99**, 147-151 (1970).
- 11) C. R. Shaw and R. Prasad: *Biochem. Genet.*, **4**, 297-320 (1970).
- 12) H. Harris and D. A. Hopkinson: *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*, North Holland, Amsterdam, Netherlands, 1976.

- 13) M. Nei: *Amer. Natur.*, **106**, 283-292 (1972). CA., 1973, pp. 217-234.
- 14) P. H. Sneath and R. R. Sokal: *Numerical Taxonomy*, Freeman and Co., San Francisco, CA., 1973, pp. 217-234.
- 15) J. B. Shaklee, C. S. Tamaru, and R. S. Waples: *Pacific Science*, **36**, 141-157 (1982).