

五十嵐浜におけるコタマガイのアイソザイム遺伝子座でみられたホモ過剰

誌名	日本海区水産研究所研究報告 = Bulletin of Japan Sea Regional Fisheries Research Laboratory
ISSN	00214620
巻/号	40
掲載ページ	p. 239-243
発行年月	1990年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



短 報

五十嵐浜におけるコタマガイ のアイソザイム遺伝子座でみ られたホモ過剰

栗 原 肇¹⁾

Observation on Homozygote Excess of Equilateral Venus, *Gomphina melanaegis* in Igarashi-hama, Niigata

Hajime KURIBARA¹⁾

Abstract

Isozyme analysis with the starch gel electrophoresis was made on the whole soft body of *Gomphina melanaegis* collected from the coastal waters of Igarashi-hama, Niigata in 1988. Three isozymes coded by 3 loci, *Lap-1*, *Mdh-1* and *Mdh-2* were clearly detected. *Lap-1* and *Mdh-2* exhibited polymorphism, and homozygote excess was observed in these two loci. Observed individual numbers which have both *Lap-1* (129/129) and *Mdh-2* (183/183) were more than those expected from the Hardy-Weinberg equilibrium, suggesting that the *G. melanaegis* analyzed here were of a mixture of genetically different groups.

key words *Gomphina melanaegis*, isozyme, heterozygosity, homozygote excess

1988年に、五十嵐浜で採集したコタマガイ (*Gomphina melanaegis*) を用いてアイソザイム分析した結果、Leucine aminopeptidase (LAP) と Malate dehydrogenase (MDH) でホモ過剰が観察された。その要因について検討した。

報告に先立ち、御校閲を賜った日本海区水産研究所梅沢敏 前介類増殖研究室長、小林時正魚類増殖研究室長ならびに材料の採集に協力を賜った資源増殖部各位に感謝する。

材料及び方法

供試コタマガイは1988年4月から10月にかけて、新潟市新川左岸の五十嵐浜汀線域の1.2kmの間に5点の調査点を設け、ジョレン (網幅30cm, 高さ15cm, 網目合1cm) により採集した。分析したコタマガイの殻長範囲 (平均) はそれぞれ4月12日が11.3~35.0mm (19.5mm), 6月5日が11.7~42.0mm (24.5mm), 7月5日が10.6~40.7mm (21.6mm), 8月2日が12.4~31.7mm (20.9mm) 10月5日が14.2~51.2mm (26.1mm) であった。殻長、全重量等の測定後-80℃で凍結保存し、4カ月以内に軟体部全体を用いて藤尾 (1984) の方法に準拠して酵素のアイソザイム分析を行った。

遺伝子座の命名は複数の遺伝子座のみられた場合、原点からの移動距離の大きなものから-1, -2, ..., とした。対立遺伝子は、遺伝子座ごとに最も卓越して出現したものの泳動距離を100とし、それに対する相対値で表した。

結果及び考察

5 酵素で10遺伝子座 (*Ck-1*, *Ck-2*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Lap-3*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mpi-1*,

1989年12月12日受理, 日本海区水産研究所業績A第466号

1) 〒951 新潟市水道町1丁目5939-22
日本海区水産研究所
(Japan Sea National Fisheries Research Institute, Suido-cho, Niigata 951, Japan)

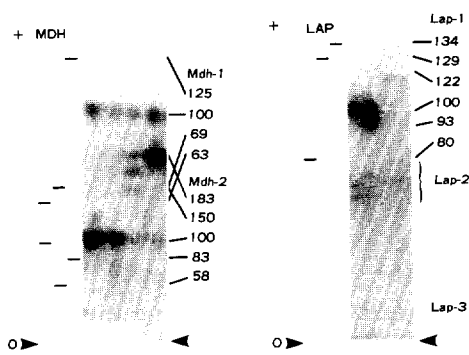


Fig. 1. Electropherograms of LAP and MDH in *Gomphina melanaegis*.

Mpi-2, *Odh*) が推定された。変異性の高かった LAP, MDH のサイモグラムパターンを図1に示した。

LAP では、陽極側に3つのゾーンが出現した。これらはバンドのパターンからそれぞれ固有の遺伝子座であると推定され、陽極側から順に *Lap-1*, *Lap-2*, *Lap-3* とした。*Lap-2*, *Lap-3* では活性が弱く遺伝子型の推定が困難であったため、本報告では *Lap-1*

だけを解析に用いた。*Lap-1* ではホモ接合体は1本バンド、ヘテロ接合体はモノマーと推定される2本バンドで、6個の対立遺伝子が観察された。

MDH では、陽極側に泳動する2つのゾーンが出現した。これらはバンドのパターンからサブユニット構造がダイマーと推定され、それぞれに独立した遺伝子座と解釈し、*Mdh-1*, *Mdh-2* とした。*Mdh-1* では4個、*Mdh-2* では5個の対立遺伝子が観察された。

採集日別に *Lap-1*, *Mdh-1*, *Mdh-2* の3遺伝子頻度を表1に示した。卓越して出現した対立遺伝子の頻度が0.95以下の多型を示した遺伝子座は、*Lap-1*, *Mdh-2* の2遺伝子座であった。

採集したコタマガイが Hardy-Weinberg の平衡状態に達しているかどうか確かめるため、遺伝子座ごとのヘテロ接合体の観察値 (ho) と期待値 (he) (LEWONTIN and HUBBY 1966) を求め、表2に示した。その結果、*Mdh-1* では各採集日とも観察値は期待値に

Table 1. Gene frequency of three isozymes of *G. melanaegis* collected on five different dates in 1988. 'n' is the number of individuals analyzed.

Locus	Allele	Sampling date					Total
		Apr. 12	June 5	July 5	Aug. 2	Oct. 5	
<i>Lap-1</i>	n	32	39	87	61	44	263
	134	0	0	0	0	0.057	0.010
	129	0.094	0.128	0.080	0.049	0.102	0.086
	122	0.375	0.256	0.397	0.393	0.341	0.363
	100	0.500	0.590	0.512	0.508	0.455	0.510
	93	0.031	0.026	0.011	0.049	0.034	0.029
	80	0	0	0	0	0.011	0.002
<i>Mdh-1</i>	n	42	40	88	65	54	289
	125	0	0	0.011	0	0	0.003
	100	1.000	1.000	0.983	0.992	0.982	0.990
	69	0	0	0	0	0.009	0.002
	63	0	0	0.006	0.008	0.009	0.005
<i>Mdh-2</i>	n	42	40	88	65	54	289
	183	0.071	0.150	0.176	0.092	0.130	0.130
	150	0	0.013	0.017	0	0	0.007
	100	0.929	0.824	0.807	0.900	0.861	0.858
	83	0	0.013	0	0	0.009	0.003
	58	0	0	0	0.008	0	0.002

Table 2. Observed (ho) and expected (he) heterozygosity from Hardy-Weinberg equilibrium from isozymes from *G. melanaegis*.

Locus		Apr. 12	June 5	July 5	Aug. 2	Oct. 5
<i>Lap-1</i>	ho	0.59	0.39	0.58	0.51	0.66
	he	0.60	0.57	0.58	0.58	0.66
	(ho-he)/he	-0.02	-0.32	0.00	-0.12	0.00
<i>Mdh-1</i>	ho	0	0	0.03	0.02	0.04
	he	0	0	0.03	0.02	0.04
	(ho-he)/he	—	—	0.00	0.00	0.00
<i>Mdh-2</i>	ho	0.05	0.10	0.05	0.02	0.02
	he	0.13	0.30	0.32	0.18	0.24
	(ho-he)/he	-0.62	-0.67	-0.84	-0.89	-0.92

Table 3. Differences between observed and expected number of individuals belonging to each allele of *Lap-1* and *Mdh-2* of *G. melanaegis*.

Locus	Allele	Number of Individuals				χ^2 -value ^{a)}	
		Hetero	Homo	Others	Total		
<i>Lap-1</i>	134	Observed	3	1	259	263	— ^{c)}
		Expected	4.95	0.02	258.03	263	
	129	Observed	15	15 ^{b)}	233	263	19.70**
		Expected	41.15	1.93	219.92	263	
	122	Observed	133	29	101	263	2.29
		Expected	121.64	34.68	106.68	263	
	100	Observed	133	68	62	263	0.04
		Expected	131.43	68.78	62.79	263	
	93	Observed	9	3 ^{b)}	251	263	2.26
		Expected	14.57	0.21	248.22	263	
	80	Observed	1	0	262	263	— ^{c)}
		Expected	1.00	0.00	262.00	263	
<i>Mdh-2</i>	183	Observed	5	35 ^{b)}	249	289	17.10**
		Expected	65.27	4.87	218.86	289	
	150	Observed	1	0	288	289	— ^{c)}
		Expected	3.97	0.01	285.02	289	
	100	Observed	12	242	35	289	198.86**
		Expected	70.37	212.82	5.81	289	
	83	Observed	2	0	287	289	— ^{c)}
		Expected	1.99	0.00	287.01	289	
	58	Observed	1	0	288	289	— ^{c)}
		Expected	1.00	0.00	288.00	289	

**Significant at $p < 0.01$ a) $\chi^2 = \sum (f - \hat{f})^2 / \hat{f}$: Observed value, \hat{f} : Expected value.

b) Combined with 'Others' because expected value is less than 5.00.

c) Unable to calculate.

Table 4. Observed and expected individual numbers of the genotype of *Lap-1* and *Mdh-2* locus of *G. melanaegis*.

		<i>Mdh-2</i>			Others	Total
		(183/183)	(183/100)	(100/100)		
<i>Lap-1</i>	(134/134)	1 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.0)
	(134/129)	2 (0.0)	0 (0.1)	0 (0.3)	0 (0.0)	2 (0.4)
	(134/100)	1 (0.1)	0 (0.6)	0 (2.0)	0 (0.0)	1 (2.7)
	(129/129)	10 (0.0)	0 (0.4)	5 (1.4)	0 (0.2)	15 (2.0)
	(129/122)	1 (0.3)	2 (3.7)	3 (12.1)	0 (0.3)	6 (16.4)
	(129/100)	0 (0.4)	1 (5.2)	5 (17.0)	1 (0.5)	7 (23.1)
	(122/122)	2 (0.6)	0 (7.7)	26 (25.5)	1 (0.9)	29 (34.7)
	(122/100)	8 (1.5)	1 (21.7)	109 (71.8)	4 (2.4)	122 (97.4)
	(122/93)	0 (0.1)	0 (1.2)	5 (4.1)	0 (0.1)	5 (5.5)
	(100/100)	7 (1.2)	1 (15.3)	59 (50.4)	1 (1.5)	68 (68.4)
	(100/100)	0 (0.1)	0 (1.7)	3 (5.7)	0 (0.3)	3 (7.8)
	(93/93)	0 (0.0)	0 (0.1)	3 (0.0)	0 (0.1)	3 (0.2)
	(93/80)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.0)
Others	0 (0.1)	0 (1.0)	0 (3.2)	0 (0.1)	0 (4.4)	
Total	32 (4.4)	5 (58.7)	219 (193.5)	7 (6.4)	263 (263.0)	

一致した。しかし *Mdh-2* はホモ過剰を示し、*Lap-1* も採集日によりホモ過剰がみられた。

そこで、*Lap-1*、*Mdh-2* について、対立遺伝子ごとに観察値と期待値とを比較した結果、*Lap-1* (129)、*Mdh-2* (183)、*Mdh-2* (100) の3対立遺伝子でホモ過剰であった(表3)。すなわち、*Lap-1*、及び *Mdh-2* のホモ過剰は、*Lap-1* (129)、*Mdh-2* (183)、*Mdh-2* (100) をホモ接合体として保有した個体が遺伝学的に期待される割合より多かったためである。

次に、*Lap-1* と *Mdh-2* のホモ過剰を引き起こした個体が両遺伝子座に共通のものかどうかを調べるため、遺伝子型別に出現個体数を期待値とともに表4にまとめた。それによると *Mdh-2* (183/183) の個体でかつ *Lap-1* (129/129) のものの観察値が期待値に比べて大きいことが明らかとなり、*Lap-1* と *Mdh-2* のホモ過剰は *Mdh-2* (100) の卓越する集団に、*Lap-1* (129) および *Mdh-2* (183) の頻度が高い集団が混合した結果と考えられる。

ホモ過剰の生じた原因として、①繁殖時期

の異なる集団の存在、②地理的な隔離機構の存在、③遺伝子型による生残率の違い等が考えられる。

FUJIO (1979), OZAKI and FUJIO (1985) はマガキで、YAMANAKA and FUJIO (1984) はムラサキイガイで、ONIWA *et al.* (1988) はアサリでホモ過剰を観察し、原因については地域的小集団の混合と考えた。また、木島ら (1987) はアサリについて繁殖期の長いこと、遺伝的分化のレベルは低いが採集地間の遺伝子頻度には差が見られたことから、時空間的に多くの繁殖単位をつくる結果であろうと考えた。今回明らかになったコタマガイのホモ過剰の形成要因について、今後検討される必要がある。

文 献

- FUJIO, Y. (1979) Enzyme polymorphism and population structure of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku J. Agr. Res.*, **30**, 32-42.
- 藤尾芳久 (1984) アイソザイム分析法による魚介類の遺伝的特性の解明に関する研究。昭和58年農林水産業特別試験研究費補助金による研究報告書, 65pp.

- 木島明博・谷口順彦・森 直樹・萩原寿太郎
(1987) アサリの遺伝変異と繁殖構造. 高知大海洋生物研報, **9**, 173-181.
- LEWONTIN, R. C. and HUBBY, J. L. (1966) A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, **54**, 595-609.
- ONIWA, K., NAKANO, M. and FUJIO, Y. (1988) Heterozygosity within and between geographical populations of the short-necked clam, *Ruditapes philippinarum*. *Tohoku J. Agr. Res.*, **38**(1-4), 49-60.
- OZAKI, H. and FUJIO, Y. (1985) Genetic differentiation in geographical populations of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*) around Japan *Tohoku J. Agr. Res.*, **36**(1), 49-84.
- YAMANAKA, R. and FUJIO, Y. (1984) Heterozygosity within and between geographical populations of the bay mussel, *Mytilus edulis*. *Tohoku J. Agr. Res.*, **34**(3-4), 73-84.