



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	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
Author(s)	伊藤, 欣吾; 柳本, 卓; 岩田, 容子 他
Citation	日本水産学会誌, 72(5), 905-910 https://doi.org/10.2331/suisan.72.905
Issue Date	2006
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/35248
Rights	本文データは学協会の許諾に基づきCiNiiから複製したものである
Type	journal article
File Information	sakurai-69.pdf



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

伊藤 欣吾,^{1*} 柳本 卓,² 岩田 容子,³ 宗原 弘幸,⁴ 桜井 泰憲³

(2005 年 12 月 26 日受付, 2006 年 4 月 17 日受理)

¹青森県水産総合研究センター, ²水産総合研究センター北海道区水産研究所,
³北海道大学大学院水産科学研究科, ⁴北海道大学北方生物圏フィールド科学センター

Genetic population structure of the spear squid *Loligo bleekeri* based on mitochondrial DNA

KINGO ITO,^{1*} TAKASHI YANAGIMOTO,² YOKO IWATA,³
HIROYUKI MUNEHARA⁴ AND YASUNORI SAKURAI³

¹Aomori Prefectural Fisheries Research Center, Ajigasawa, Aomori 038-2761, ²Hokkaido National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Kushiro, Hokkaido 085-0802, ³Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, ⁴Field Science Center for Northern Biosphere, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-1613, Japan

The sequence of the mitochondrial DNA noncoding region 4 (mtDNA NC4) was analyzed to investigate the genetic population structure of the spear squid *Loligo bleekeri* using 545 individuals captured at six sites around Japan. MtDNA NC4 sequences of 506-528 bp were determined. A total of 55 variable nucleotide sites were detected, defining 48 haplotypes. The average haplotype diversity (0.670) and average nucleotide diversity (0.003) indicated a low level of genetic diversity in the spear squid. Analysis of molecular variation (AMOVA) indicated that most of the genetic variation was distributed within populations. The analysis of haplotype frequency distribution and F_{ST} values showed no significant difference among the six sampling sites. These data indicate no genetic structuring of spear squid population around Japan.

キーワード : mtDNA, noncoding region, 遺伝的集団構造, ヤリイカ

ヤリイカ *Loligo bleekeri* は、北海道から九州までの日本の沿岸海域、韓国沿岸、東シナ海および黄海に分布し、日本各地で漁業資源となっている。¹⁾ ヤリイカの産卵は九州から北海道までの広い沿岸域で確認されており、岩棚などに卵嚢を付着させて行われていることが知られている。²⁾ 本種は、約 1 ヶ月間の浮遊幼生期を経て底層生活に移行し、水温上昇に伴って深場へと移動し、夏季から秋季にかけて水深 100~200 m の陸棚域で成長する。冬季になると産卵場を求めて移動し、産卵後は約 1 年間の生活史を終える。集団構造については、標識放流結果や漁獲変動の類似性から、日本海側では山口・島根県沖の陸棚上を中心とした能登半島の西側から東シナ海に至る集団と、青森県沿岸（太平洋側を含む）を中心とした能登半島の東側から北海道西岸に至る集団、太平洋側では常磐沿岸を中心とした三陸から房総付近まで

と、四国沿岸を中心とした中部地方から九州に至る間の集団にわかれるとして、日本周辺に 4 つの地方集団が存在すると推測されている。³⁾ 最近では、対馬暖流系群と太平洋系群の 2 つの集団に分けて資源評価が行われている。⁴⁾ また、青森県では冬季と春季で産卵群の来遊経路、産卵水深、体サイズおよび雌雄比に違いがあるとして、2 つの産卵群が存在すると報告されている。⁵⁾ しかし、アイソザイムを用いた遺伝学的手法では、日本海側と太平洋側の標本間に遺伝的差異は見られていない。⁶⁾ このように、生態学的手法と遺伝学的手法で異なる結果になっており、更なる検討が必要である。そこで、本研究ではアイソザイムよりも変異性が高いミトコンドリア DNA（以下、mtDNA と略記する）の地理的変異性を検討した。

* Tel. : 81-173-72-2171. Fax : 81-173-72-2778. Email : kingo_ito@pref.aomori.lg.jp

試料および方法

遺伝的集団構造解析に用いる遺伝マーカーを選択するための予備実験として, mtDNA の CO I の前半, 16S rRNA の前半, 非コード領域の NC4, NC8, NC16 の 5 つの領域⁷⁾の塩基配列を調べた。分析には, 2004 年 1~5 月に青森県深浦町, 千葉県および愛知県の沿岸で採集されたヤリイカ計 12 個体を用いた。各領域を増幅する際のプライマーは, CO I 前半には 5'-TTT CCA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' (LBCO1F) と 5'-TAC ACT TCT GGG TGC CCA AAA AAT CA-3' (LBCO1R) を, 16S rRNA 前半には 5'-CCG GTC TGA ACT CTG ATC AT-3' (LB16SF) と 5'-CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3' (LB16SR) を, NC4 (Fig. 1) には 5'-GAA AGG CTT TGA ACC TAT TCC-3' (LBNC4F) と 5'-ATG ATC TGA GTT CAG ACC GG-3' (LBNC4R) を, NC8 には 5'-GTA ATA AAT AAA CAA ACC GCT-3' (LBNC8F) と 5'-GAT TAA AAG TCT AGT GCT TAC T-3' (LBNC8R) を, NC16 には 5'-CTA TGC ACT GAT CTG CCA-3' (LBNC16F) と 5'-TTA TTA GAG GTA GAT GGT ATT-3' (LBNC16R) を用いた。

上記 5 つの領域のうち, 予備実験の解析から変異が最も多いと推定された NC4 領域について, 日本周辺の地理的変異を調べた。分析に用いたヤリイカは, 2004

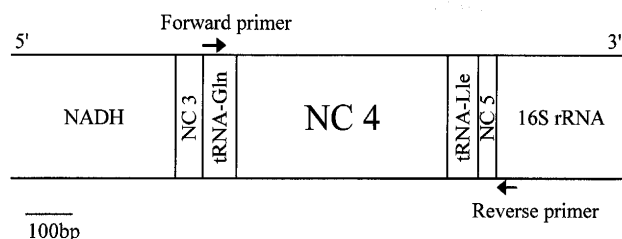


Fig. 1 Schematic diagram of mtDNA NC4 region of the spear squid. Horizontal arrows show the positions of primer used for PCR amplification and sequence analysis.

年 12 月 1 日から 2005 年 7 月 20 日にかけて, 4 つの地方集団³⁾と推測されている海域を代表して島根県, 青森県深浦町, 宮城県, 愛知県の沿岸で漁獲された個体を用いた (Fig. 2, Table 1)。また, 青森県で異なる 2 つの産卵群⁵⁾が考えられていることから, 青森県深浦町での標本採集は冬季と春季に分けて行い, さらに, その冬季の標本と同一の集団と考えられている八戸市沿岸で漁獲された個体も標本採集した (Fig. 2, Table 1)。なお, 全ての標本について, 雄では精莖の有無, 雌では輸卵管内卵の有無を調べて, 成熟の判定を行った。

ヤリイカは, 生物測定後, 筋肉 0.1 g を採取して蒸留水で洗浄後, 1.5 mL チューブに入れて冷凍保存した。標本を解凍後, 500 μ L の TNE 溶液 (100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM EDTA (pH 8.0), 1.4 M NaCl, 2% CTAB (cetyl trimethylammonium bromide), 0.2% 2-mercaptoethanol) と 150 μ g/mL プロテイナーゼ K 3 μ L を加えて, 50°C 恒温槽内で緩やかにシェーキングさせながら一晩かけて組織の溶解を行い, フェノール・クロロフォルム法により粗全 DNA を抽出した。⁸⁾ PCR 反応

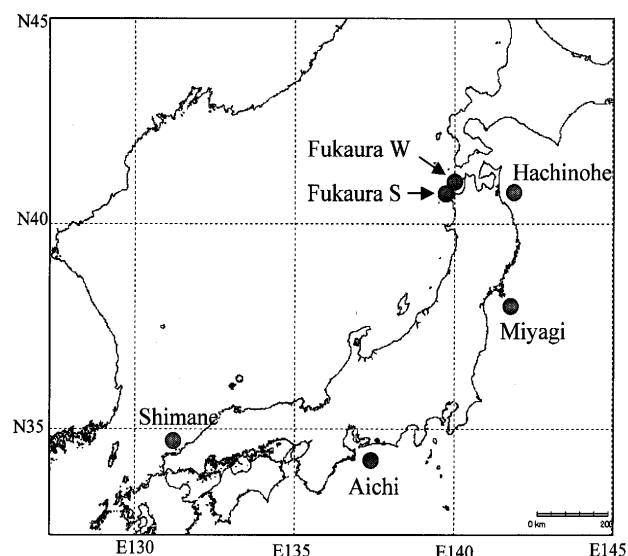


Fig. 2 Sampling sites of the spear squid *Loligo bleekeri*.

Table 1 Sampling sites, date, number of specimens, size of mantle length, and maturing condition of the spear squid

Sampling site	Date	n	Average size (mm)	Size range (mm)	% of individuals			
					Male		Female	
					Immature	Mature	Immature	Mature
Shimane	Feb-05	93	236.8	163-363	0	56	2	42
Fukaura Spring	Apr-05	95	258.6	154-365	0	55	0	45
Fukaura Winter	Jan-05	94	261.4	183-347	0	56	0	44
Hachinohe	Dec-04	94	180.8	159-206	32	5	63	0
Miyagi	Dec-04	84	172.6	158-192	62	11	27	0
Aichi	Jul-05	85	63.7	43-93	80	0	20	0

では, *Taq* Polymerase に Takara *Taq*TM を, サーマルサイクラーに GeneAmp PCR system 9600 (Applied Biosystems 社) を用いた。反応溶液は, dNTPMixture 0.2 mM, 各プライマー 25 pmol, *Taq* Polymerase 1.5 units, 粗全 DNA 溶液 50 ng を含む 12.3 μ L とした。反応条件は 94°C で 2 分間加熱, 95°C 30 秒, 54°C 30 秒, 72°C 30 秒のサイクルを 43 回で, その後 72°C で 5 分間伸長反応させ, 4°C で保存した。増幅産物に ExoSAP-IT (Amersham Biosciences 社) 0.25 μ L を加えて, 37°C 30 分, 80°C 15 分の温度条件で精製した。精製後, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequence Kit (Applied Biosystems 社) によるシークエンス反応を行い, ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems 社) によって電気泳動して塩基配列を決定した。

塩基配列は Clustal W⁹⁾ によるアライメントを行った後, DnaSP ver. 4.0¹⁰⁾ を用いてハプロタイプ頻度を計算した。Roff and Bentzen¹¹⁾ のモンテカルロシミュレーション法により, 標本間のハプロタイプ頻度の有意差検定を行った。また, 遺伝子解析ソフト Arlequin ver. 2000¹²⁾ を用いて, AMOVA (analysis of molecular variance) 解析を行い, ハプロタイプ多様度 (h), 塩基多様度 (π), 純塩基置換係数 (d_A), および遺伝的分化係数 (F_{ST}) を求めた。ハプロタイプ間の MST (minimum spanning tree) を求め, Tree View¹³⁾ により樹形を作成した。なお, 標本間の有意差検定にはボンフェローニの補正を行った。

決定した塩基配列について, CO I 前半, 16S rRNA 前半, NC8 および NC16, 並びに NC4 の主要な 3 種類のハプロタイプを GenBank に登録した (accession number AB243832-AB243834, AB252858-AB252861)。

結 果

遺伝的集団構造解析に用いる遺伝マーカーを選択するための予備実験で, ヤリイカ 12 個体について, mtDNA の 5 ヶ所の塩基配列を調べた。その結果, CO I 前半 (570 bp) と 16S rRNA 前半 (462 bp) には変異が確認されず, 非コード領域である NC4 (506-520 bp), NC8 (508 bp) および NC16 (509 bp) には各々 5, 3 および 3 つの多型が確認された。また, NC4 には 3' 末端に位置する AT の繰返し数に多型があった。これら 5 つの領域のうち NC4 が最も変異が多かったので, 以下の解析には NC4 を用いた。

地理的変異を調べるために採集した 545 個体のヤリイカについて, NC4 領域 506~528 bp の塩基配列を決定した。塩基配列を比較したところ, 55 の部位で変異が確認され, また, 3' 末端の AT の繰返し数に変異が見られた。AT の繰返しを除いたハプロタイプは 48 種類 (Table 2) で, AT の繰返し頻度は 6~17 回であった

(Table 3)。なお, AT の繰返し部位も含めたハプロタイプ数は 95 種類であったが, 標本間の遺伝的分化の有意差検定では 48 種類のハプロタイプと同様の結果が得られたので, 95 種類のハプロタイプによる解析結果を除いた。AT の繰返しを除いた 48 種類のハプロタイプ頻度をみると, ハプロタイプ 1, 27, 35 が全体の 87% を占め, その他のハプロタイプは各々 1% 未満であった。ハプロタイプの MST (Fig. 3) を作成したところ, 主要 3 種類のハプロタイプ (1, 27, 35) にはそれぞれ 1 塩基のみ異なるマイナーなハプロタイプがかたまってクラスターを形成しており, 各クラスターには 2~4 塩基異なるハプロタイプが 1~2 つ含まれていた。また, 主要ハプロタイプ間の塩基置換率は 1~2 塩基であった。

標本間のハプロタイプ頻度, および AT 繰返し数の頻度について Roff and Bentzen¹¹⁾ の χ^2 検定後, ボンフェローニ補正を行ったところ有意差は見られなかった ($p > 0.05$)。ハプロタイプ多様度は 0.563~0.727 の範囲であり高くなく, 塩基多様度は 0.0025~0.0036 の範囲で低かった (Table 4)。また, ハプロタイプ多様度に標本間での有意差は見られなかった ($p > 0.05$)。標本間の平均塩基置換率は, 1.441~1.798% の範囲であり, 標本内の平均塩基置換率 (1.270~1.848%) と比較して同程度であった。純塩基置換係数は -0.016~0.042% と低い値であった。AMOVA 解析の結果, 標本全体の分散 (0.0001) と F_{ST} (-0.00006) は極めて小さく, F_{ST} の p 値は 0.4154 で有意差はなかった。また, 標本間の F_{ST} について Exact test を行ったところ, 有意差は見られなかった ($p > 0.05$, Table 5)。

6 つの標本を, 日本海 (島根, 深浦春, 深浦冬) と太平洋 (八戸, 宮城, 愛知) に分けて, 海域間の F_{ST} について Exact test を行ったところ, 有意差は見られなかった ($F_{ST} = 0.00082$, $p > 0.05$)。また, 北側の海域 (深浦春, 深浦冬, 八戸, 宮城) と南側の海域 (島根, 愛知) に分けた場合も, 海域間の F_{ST} に有意差は見られなかった ($F_{ST} = 0.00093$, $p > 0.05$)。

考 察

ヤリイカ mtDNA の 5 つの領域について塩基配列を調べたところ, NC4 領域において最も高い変異が見られた。調べた 5 つの領域のうち CO I 領域前半には変異が確認されなかったが, アメリカケンサキイカ *Loligo Pealei* とアメリカヤリイカ *Loligo plei* では CO I 領域に変異が見られている。¹⁴⁾ アメリカケンサキイカはメキシコ湾に注ぐミシシッピ川の河口域を境に, アメリカヤリイカはフロリダ半島を境に西側と東側の集団で CO I 領域のハプロタイプ頻度が有意に異なり, 集団間の F_{ST} が各々 0.295, 0.112 で有意な遺伝的分化が認められている。¹⁴⁾ これらのことから, ヤリイカの種内分化の程度

Table 2 The variable sites and haplotype frequencies of NC 4 region of the spear squid

Haplo- type	Variable site																												Sampling site												
																													Sh	FS	FW	Ha	Mi	Ai	Total						
	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	4	4	4	4													
	5	9	0	1	6	6	8	8	9	2	3	3	3	4	5	5	6	6	6	6	8	8	8	8	8	9	9	0								3	6	6	8		
1	9	9	9	6	8	9	0	4	8	7	6	7	8	5	3	7	1	2	6	9	2	3	4	6	7	1	8	0	8	2	3	2									
1	A	T	T	C	A	C	C	A	G	A	C	C	T	C	C	A	C	T	C	A	A	C	T	T	C	T	C	A	A	C	C	C	C	59	50	42	45	43	43	282	
2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
6	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	2	
10	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
12	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
15	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
16	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	.	2	
17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	2			
18	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
20	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
21	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	2	3		
22	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
23	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	2		
24	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
25	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	2		
26	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	1	4			
27	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	14	18	13	10	17	14	86
28	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
29	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
30	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
31	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
32	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
33	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	1	.	1	2			
34	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	1	.	1	2			
35	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	12	17	23	20	15	18	105
36	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	
37	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	2
38	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1		
39	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	.	2	
40	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	1	1	.	2		
41	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
42	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
43	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	1	.	1			
44	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	1	.	1	3			
45	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	T	G	A	G	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	1	1	2	1	.	3	
46	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	C	.	.	.	.	.	1	1	2	.	.	4	
47	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	C	.	.	.	.	.	1	.	3	1	.	5	
48	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	C	.	.	.	.	.	1	.	1	.	2		
Total																																	93	95	94	94	84	85	545		

Sh, Shimane; FS, Fukaura Spring; FW, Fukaura Winter; Ha, Hachinohe; Mi, Miyagi; Ai, Aichi.

は、アメリカケンサキイカとアメリカヤリイカに比べて低いと推察された。

本研究では、日本沿岸に存在すると推測されている4

つの集団³⁾を代表する漁場から標本を採集して解析を行ったが、変異性が高いと考えられる mtDNA NC4 領域の多様性からは集団間に遺伝的分化は認められなかつ

た。また、青森県の産卵期が異なる2つの群間⁵⁾でも遺伝的分化は認められなかった。ハプロタイプのネットワーク樹を見る限り、塩基置換数が少ない一斉放散した型¹⁵⁾と考えられた。藤尾ら⁶⁾は、島根県～北海道および福島県のヤリイカについて、14 遺伝子座を用いたアイソザイム分析を行ったところ、集団間の遺伝的距離には大きな差はなく、 F_{ST} は 0.015 で遺伝子流動が生じていると報告している。本研究によるヤリイカ全体の F_{ST}

は 0.0005 であり、藤尾ら⁶⁾の報告より低い値となり、各群れの間には遺伝的な交流があると考えられた。

ヤリイカは、瀬戸内海と北海道東部を除く日本の広い沿岸域で産卵していることが観察されている。²⁾しかし、青森県～岩手県北部の海域では、秋季の索餌期に日本海側から津軽海峡を経て添加される集団と、太平洋側の常磐海域から北上してくる集団の境界域にあたり、わずかであるが混じりあう可能性があるが、産卵期にはそ

Table 3 Frequencies number of AT repeat of NC 4 region of the spear squid

Number of (AT)repeat	Sampling site						Total
	Sh	FS	FW	Ha	Mi	Ai	
6	16	15	14	13	11	11	80
7	28	31	29	21	17	22	148
8	11	9	9	8	14	10	61
9	12	19	19	24	23	21	118
10	9	11	13	11	7	12	63
11	5		2	2	1	4	14
12	9	5	3	3	5	2	27
13	1	3	4	6	2	1	17
14			1	1	1	2	5
15					1		1
16	2	1		3	2		8
17		1		2			3
Total	93	95	94	94	84	85	545

Sh, Shimane; FS, Fukaura Spring; FW, Fukaura Winter; Ha, Hachinohe; Mi, Miyagi; Ai, Aichi.

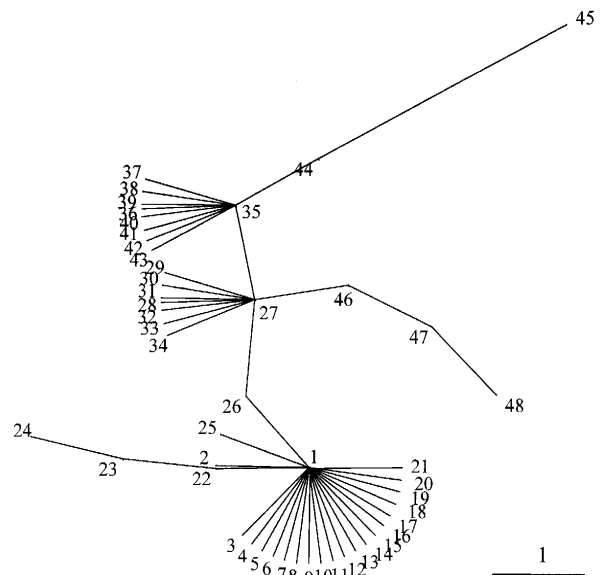


Fig. 3 MST of mtDNA NC4 region of the spear squid. Numerals indicate haplotype number in Table 2. Bar 1 substitution.

Table 4 Values for haplotype diversity (h), nucleotide diversity (π), and the mean number of pairwise differences in the spear squid

Sampling sites	n	No. haplotypes	Haplotype diversity (h)	Nucleotide diversity (π)	Mean no. pairwise differences
Shimane	93	10	0.563 ± 0.053	0.0025 ± 0.002	1.270 ± 0.807
Fukaura S	95	13	0.661 ± 0.041	0.0031 ± 0.002	1.588 ± 0.952
Fukaura W	94	17	0.727 ± 0.035	0.0035 ± 0.002	1.776 ± 1.038
Hachinohe	94	20	0.719 ± 0.004	0.0036 ± 0.002	1.848 ± 1.070
Miyagi	84	11	0.672 ± 0.041	0.0032 ± 0.002	1.596 ± 0.957
Aichi	85	11	0.678 ± 0.041	0.0033 ± 0.002	1.672 ± 0.991

Table 5 Pairwise F_{ST} values (below the diagonal) and pairwise $F_{ST} p$ values (above the diagonal) of mtDNA NC4 region among the six sampling sites in the spear squid

	Shimane	Fukaura S	Fukaura W	Hachinohe	Miyagi	Aichi
Shimane		0.144	0.027	0.045	0.054	0.099
Fukaura S	0.008		0.685	0.459	0.874	0.974
Fukaura W	0.019	-0.006		0.910	0.964	0.811
Hachinohe	0.026	-0.004	-0.008		0.919	0.784
Miyagi	0.018	-0.008	-0.009	-0.009		0.910
Aichi	0.011	-0.010	-0.008	-0.008	-0.010	

の海域に分布しなくなる。¹⁶⁾ 青森県～岩手県北部の沿岸域は、冬-春季に親潮の南下の影響で水温は8℃以下になり、産卵に不適な水温¹⁷⁾に覆われる。しかし、親潮の南下勢力が弱い年は産卵可能な水温であり、産卵する可能性がある。このように、日本海側と太平洋側の集団が、索餌期に交流する可能性と、境界域で産卵する可能性を有する限り、遺伝子流動は妨げられないと考えられた。また、ヤリイカは約1ヶ月間の浮遊幼生期を持ち、さらに産卵期には水温変化に応答して分布移動することから、¹⁸⁾ 海流の変化によっては遺伝子流動が生じる可能性は十分にある。

新谷³⁾が示した4つの集団は、漁場の推移や標識放流試験の結果から判断されたものであるが、本研究のmtDNA塩基配列分析では、それら4つの集団間には遺伝的分化は認められなかった。今回用いた八戸、宮城、愛知のサンプルは、索餌回遊している成長途上の未熟個体が主であり、今後、特定の産卵場に接岸来遊する産卵個体をサンプルとして検討する必要がある。また、より高感度のマイクロサテライト領域などについて検証が必要であるが、カリフォルニアヤリイカ *Loligo opalescens* で応用された例でも集団の分化は検出されず、遺伝子流動の働きにより種内分化が妨げられていると報告されている。¹⁹⁾ 海産魚では、漁業資源学的にみて集団が分離しているとみられても、両者の間に毎世代わずかの混合があればもはや集団遺伝学的レベルでは両者はほぼ均一になってしまう例が多い²⁰⁾とされており、ヤリイカはこの1例と考えられる。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、標本を提供して頂いた愛知県水産試験場の富山 実氏、宮城県水産研究開発センターの永木利幸氏、鳥根県水産試験場の為石起司氏、およびDNA分析のご助言ならびに分析機器を提供して頂いた青森県グリーンバイオセンターの初山慶道博士には厚く御礼申し上げます。また、研究の機会を与えて下さった青森県水産総合研究センターの澤田 満所長をはじめ、分析の補助を頂いた職員の皆様に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Natsukari Y, Tashiro M. Neritic squid resources and cuttlefish resources in Japan. *Mar. Behav. Physiol.* 1991; **18**: 149-226.
- 2) 伊藤欣吾. 我が国におけるヤリイカの漁獲実態. 青森水試研報 2002; **2**: 1-10.
- 3) 新谷久男. ヤリイカの生活様式と資源状態. 水産「技術と経営」, 水産技術経営研究会, 東京. 1988; **276**: 58-69.
- 4) 水産庁増殖推進部・独立行政法人水産総合研究センター編. 我が国周辺水域の漁業資源評価 (第3分冊), 水産庁増殖推進部, 東京. 2005; 1427-1444.
- 5) 田村眞通, 石川 哲, 赤羽光秋. ヤリイカの生態と大規模増殖場開発事業の展開方法-II. 栽培技研 1981; **10**: 47-54.
- 6) 藤尾芳久, 木島明博, 佐藤雅希, 山洞 仁. イカ類の遺伝的変異性と集団構造. 平成15年度イカ類資源研究会議報告, 水産総合研究センター日本海区水産研究所, 新潟. 2004; 185-191.
- 7) Tomita K, Yokobori S, Oshima T, Ueda T, Watanabe K. The cephalopod *Loligo bleekeri* mitochondrial Genome: Multiplied noncoding regions and transposition of tRNA genes. *J. Mol. Evol.* 2002; **54**: 486-500.
- 8) Iwata Y, Munehara H, Sakurai Y. Characterization of microsatellite markers in the squid, *Loligo bleekeri* (Cephalopoda: Loliginidae). *Mol. Ecol. Notes* 2003; **3**: 392-393.
- 9) Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W. improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids. Res.* 1994; **22**: 4673-4680.
- 10) Rozas J, Sanchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 2003; **19**: 2496-2497.
- 11) Roff DA, Bentzen P. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: 2 and the problem of small sample sizes. *Mol. Biol. Evol.* 1989; **6**: 539-545.
- 12) Schneider S, Roessli D, Excofier L. *Arlequin ver 2000: A software for population genetics data analysis*. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland. 2000.
- 13) Page RDM. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput. Appl. Biosci.* 1996; **12**: 357-358.
- 14) Herke SW, Foltz DW. Phylogeography of two squid (*Loligo pealei* and *L. plei*) in the Gulf of Mexico and north-western Atlantic Ocean. *Mar. Biol.* 2002; **140**: 103-115.
- 15) 小池裕子. 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. 2003; 40-58.
- 16) 伊藤欣吾, 高橋進吾, 筒井 実, 桜井泰憲. 三陸海域におけるヤリイカの漁獲変動に及ぼす水温環境の影響. 平成14年度イカ類資源研究会議報告, 水産総合研究センター北海道水産研究所, 釧路. 2003; 20-26.
- 17) 伊藤欣吾, 桜井泰憲. ヤリイカの卵発生に及ぼす低水温の影響. 青森水試研報 2001; **1**: 1-8.
- 18) 伊藤欣吾, 佐藤晋一, 桜井泰憲. 北部日本海におけるヤリイカの漁獲変動に及ぼす水温環境の影響. 平成15年度イカ類資源研究会議報告, 水産総合研究センター日本海区水産研究所, 新潟. 2004; 49-56.
- 19) Reichow D, Smith MJ. Microsatellites reveal high levels of gene flow among populations of the California squid *Loligo opalescens*. *Mol. Ecol.* 2001; **10**: 1101-1109.
- 20) 岡崎登志夫. 系群. 「現代の水産学」水産学シリーズ100 (日本水産学会出版委員会編) 恒星社恒星閣, 東京. 1994; 71-78.