

太平洋ニシンの集団遺伝学的特性と 種内分化に関する研究

小林 時 正*

Biochemical analyses of genetic variability and divergence of populations in Pacific herring

Tokimasa KOBAYASHI

Abstract

Pacific herring (*Clupea pallasii*) discussed in this study is one of the industrially important species living in the cold coastal and offshore waters north of 35°N in the Pacific. The spawning grounds are distributed north of the Yellow Sea on the Asian side, and are also found, on the U.S. side, in a wide area ranging from the vicinity of San Diego, California in the south to the Eastern Siberian Sea and the Beaufort Sea in the Arctic Ocean. In recent years the southern limits of the spawning grounds off the Japanese Islands have been found in Ishikari Bay in the Sea of Japan and Mangoku Inlet in the Pacific. Herrings living in Pacific Ocean are consisted of many populations having own inherent morphological and behavioral characteristics regarding growth, maturation age, life span, fecundity, vertebral number, environmental conditions of spawning ground, etc. It is important to clarify the population structure for rational management of fisheries. However, most of the effort have been employed on studies of morphological differences among areas.

Annual catch of herring in Japan was over 400,000 tons from late in the 19th century to early in the 20th century, with a peak of 970,000 tons in 1897. The high level of the production in those days was mainly from the Hokkaido-Sakhalin population that spawned in coastal waters of high salinity, and migrated widely. However, the population has steadily declined thereafter, resulting in continual catch fluctuation. Since then the targeted populations has shifted to the local populations whose feeding migration area is small. But the amount of catch from the local populations was small in quantity. On the other hand, the improvement of techniques for so-called, mass seedling production in recent years has realized releasing of a considerable number of artificial herring fry. An attempt to breed the resources propagation for some local populations has been continued in Japan. Since a proper fisheries management for effective use of herring stock should be basically constructed for each Mendel population, making establishing the method to identify populations and clarifying their genetic population structure are the most important task to be addressed. In this

1993年2月5日受理 遠洋水産研究所業績 第303号

* 遠洋水産研究所 (National Research Institute of Far Seas Fisheries ; 7-1, Orido 5-Chome, Shimizu, 424 Japan)

aspect genetic variations in enzyme molecules are suitable for hypothesizing the relationships among populations, because the biochemical analyses have provided good information on discriminating populations for some fish species so far. Another important aspect of the study is to learn about genetic characteristics inherent to the wild populations, because releases of artificial seeds for enhancement of resources may have a substantial impact on those populations in genetic characteristics.

In this study biochemical analysis by means of allozymic study was carried out using the electrophoresis for 18 population samples collected in the area covering between Yellow Sea and California in the North Pacific Ocean. Based on the evaluation of intraspecific differentiation the genetic population structure was clarified, and evolutionary aspects in populations of Pacific herring were discussed in this study.

1. Life Types of Pacific Herring

The life pattern of herring population seems to reflect the processes of adaptation to environments where herring live through long time period. The formations of such life patterns are closely related to environmental conditions at various developing stages of herrings' lives. These life patterns may be classified in a variety of ways, depending upon the aspects focused upon. Focusing on the physiological adaptation and feeding migration patterns as they relate closely to environmental conditions on spawning grounds, the author of this study classified the populations in the vicinity of Japanese waters into following four types through a combination of physiological adaptation patterns and feeding migration patterns for the purpose of identifying their relationship with regard to hereditary characteristics ;

- I. Lagoon small migration type: spawn in brackish lakes and inlets, and migration distance is relatively short :
Lake Obuchi, Lake Yudo, Lake Furen, Lake Notoro, Lake Saroma populations ;
- II. Oceanic wide migration type: spawn on the neritic coast in high salinity waters, and migration range is wide :
Hokkaido-Sakhalin population ;
- III. Oceanic small migration type : spawn in bays or inlets in high salinity waters and migration area is relatively small populations :
Ishikari Bay, Mangoku Inlet ;
- IV. Intermediate type of I and II :
Terpenia, DeKastri populations.

2. Materials and Methods

A total of 2,385 individuals of 18 population samples were collected at respective spawning grounds from Yellow sea to San Francisco Bay excluding the Russian waters other than the area of northwest coast of Sakhalin. All samples were stored frozen below -20°C until processed. Horizontal starch gel electrophoresis was performed upon drip or supernatant from tissue samples, white muscle, liver, heart and vitreous fluid of eye. Three buffer systems, CAEA (Numachi et al.,

1979), MF(Markert and Faulhaber,1975) and RW(Ridgway et al.,1970) were used to resolve banding patterns. The genotypes were directly assumed from the phenotypes detected by zymogram method. The system of locus and allele nomenclature suggested by Shaklee et al. (1990) was used. 29 loci were analyzed for hereditary study and allelic frequencies of 25 loci were used for calculating the genetic distances "D" (Nei,1972) between samples. Amount of intrapopulation variability was evaluated by the proportion of loci polymorphic(P) and heterozygosity(H). Degree of intrapopulation differentiation was evaluated by coefficient of gene differentiation (G_{ST}), fixation index (F_{ST}) and genetic distance (D). Dendrograms based on estimates of the genetic distances were constructed using the unweighted-pair-group method with arithmetic means (UPGMA) of Sokal and Sneath (1963).

3.Results

(i) Polymorphic loci and allele frequencies

In 18 population samples genetic variations were found in 28 loci of 15 enzymes that appeared to represent gene products except for Mannose-6-phosphate isomerase(MPI). The number of variant loci ranged from 8 (Mangoku Inlet) to 17 (Lake Yudo and Hokkaido-Sakhalin). The significant difference of the number of variant loci among samples is related to the alleles rarely appeared. 9 polymorphic loci having variant allele frequencies of 0.05 or greater were detected in Adenosine deaminase (*ADA*), Esterase (*Est*), Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH-1*), Glucose-6-phosphate isomerase (*GPI*), Isocitrate dehydrogenase (*sIDHP*), Malic enzyme (*mMEP*), Malate dehydrogenase (*sMDH-2*), Peptidase (*PEP-4*) and Phosphoglucomtase (*PGM*). The number of polymorphic loci in the populations from the Yellow Sea and the Bering Sea was 4 to 6, as compared with 7 to 8 for populations from south of the Gulf of Alaska. Characteristics of allelic frequencies of five highly polymorphic loci (*ADA*, *GAPDH-1*, *sIDHP*, *mMEP*, *PGM*) are as follows.

ADA :

One zone of activity was detected with seven allelic products (Fig.7). While the population samples from the Yellow Sea and the Bering Sea indicated dominant frequencies of allele *ADA*100* at 88% to 98%, those from south of the Gulf of Alaska indicated the same frequencies of allele *ADA*100* as *ADA*87*.

GAPDH-1

Three zones of activity represent the products of three loci were observed among heart,liver and eye tissues (Fig.11). None of *GAPDH-1*-182* emerged from the population samples from the Yellow Sea and the Bering Sea except for only 2% of the sample from the Bristol Bay. However, the population samples from south of the Gulf of Alaska indicated that the higher frequencies, such as 83% in San Francisco Bay and Puget Sound, 67% in Sitka and 48% in Kodiak Island. Higher frequencies of the allele were observed in southern areas.

sIDHP

One zone of activity with 8 alleles detected in liver tissue (Fig.14a). Alleles of *sIDHP*82*, *sIDHP*91* and *sIDHP*100* are noted for different characteristics of their respective allele frequencies. As far as the frequencies of *sIDHP*91* from the Yellow Sea and the Bering Sea are concerned, the

populations from the Yellow Sea and the oceanic small migration type were dominant at 50 to 55%, compared with 29 to 40% for other populations in the Bering Sea, and 9 to 17% for those from south of the Gulf of Alaska. In contrast, the frequencies of *SIDHP*82* were as high as 30 to 40% only from the population samples south of the Gulf of Alaska.

mMEP

Two zones of activity appeared on gels stained for ME. The faster zone, *mMEP*, was observed having single-banded homozygotes and five-banded heterozygotes of four allelic products in white muscle tissue (Fig.18). While the frequencies of *mMEP*100* were 40 to 60% for the population samples from the yellow Sea and the Bering Sea, those from south of the Gulf of Alaska were 80 to 85%.

PGM

One zone of activity was observed with one banded homozygotes and two banded heterozygotes in white muscle and liver tissue. Six alleles detected and the alleles of *PGM*82* and *PGM*100* represented nearly 100% (Fig. 23). The dominant allele is replaced between the Yellow Sea and the Bering Sea on the one hand and the south of the Gulf of Alaska on the other.

With regarded to the allelic frequencies of *GAPDH-1*, *SIDHP* and *mMEP*, a gradual geographical cline is noted for the population samples south of the Gulf of Alaska, but not for those the Yellow Sea and the Bering Sea.

(ii) Average heterozygosity (H)

Regarding to the average heterozygosity obtained from 29 loci, the sample of Ishikari Bay population indicated the smallest level of 0.063, and the sample of Kodiak Island population was the largest at 0.109. The values south of the Gulf of Alaska was 0.092 to 0.109, higher than those of 0.063 to 0.084 in the Yellow Sea and the Bering Sea. On the other hand, the H value of the populations of the oceanic small migration type was 0.065 on the average, smaller than that of the lagoon small migration type 0.081 on the average. This is attributed to the bottleneck effect caused by the fact that the population of the oceanic wide migration type which was assumed to have been a large one has recently become dramatically smaller. The average value of all the samples was 0.084 (Hs), a little higher than the values obtained from other species (Powell 1975, Fujio and Kato 1979), which points a higher genetic variability of herring.

(iii) Genetic distance (D) and population structure

Measures of genetic distance, D, between each pair of samples are presented in Appendix Table 4. The smallest D value was 0.0002 in Bristol Bay and Norton Sound, and the largest one was 0.0695 in San Francisco Bay and Norton Sound. A dendrogram using the UPGMA method of cluster analysis indicated that the samples were clustered into two groups which were divided by Alaska Peninsula and Aleutian archipelago: the populations in an area from Yellow Sea to Bering Sea, and the populations in the Gulf of Alaska and southward. The D value (0.054) between the two groups points out a higher level of intraspecific population and an advanced stage of speciation among them. In the vicinity of Japan, comparatively large speciation is noted between the population in the

Yellow Sea and other populations.

(iv) Ecological characteristics and genetic similarity relationship

According to the observation of the relationship between life types and the genetic characteristics of the populations in the waters off Japan, clear geographic cline is not found in allelic frequencies. Rather, similar relationship was found within the populations of same life types. It was considered that the intermingling among same life type populations was occurred to some extent.

(v) Evolutionary divergence of Pacific herring

The genetic speciation among herring populations is considered to be caused mainly by geographical isolation (accounting for oceanic structures such as straits, peninsula and archipelagoes) between the Yellow Sea and the Sea of Japan, and between Bering Sea and the Gulf of Alaska. Reproductive isolation is also to be an important factor of genetic divergence. For instances, three populations with different genetic characteristics are being spawned in Ishikari Bay and two populations in Lake Notoro as well as in Ishikari Bay at different spawning seasons and in different spawning areas estimated by the physiological selection according to water temperature and salinity by each population.

Furthermore, it was indicated that the Hokkaido-Sakhalin population of the oceanic wide migration type is genetically closer to the lagoon small migration type than the oceanic small migration type. The explanation of the reason is based on a few assumptions as follows: the population of the lagoon small migration type grew to a large number, and consequently the expansion of spawning grounds in to the ocean occurred because of the extraordinary high population density. Some individuals hatched in the ocean areas adopted the feeding migration style in the ocean areas. After a series of generations, they acquired the life pattern of the oceanic wide migration type, physiologically and ecologically. In other words, they converted their life style from lagoon small migration type to oceanic wide migration type. However, it is explained that, as the time of isolation period between the groups is short, genetic differentiation has not yet been fully achieved.

The population structure of Pacific herring was clarified in accordance with the genetic variabilities. It was also clarified in this study that geographical and reproductive isolations have played an important role in the formation and preservation of populations and genetic divergence for Pacific herring.

目 次

1 緒論	10
2 材料と方法	13
2.1 標本の採集と保存	13
2.2 採集標本の集団の属性	13
2.2.1 アジア側のニシン集団の生物学的特性の概要	16
2.2.1.1 万石浦集団	16
2.2.1.2 尾鯨沼集団	16
2.2.1.3 湧洞沼集団	17
2.2.1.4 風蓮湖集団	17
2.2.1.5 能取湖集団	18
2.2.1.6 佐呂間湖集団	19
2.2.1.7 石狩湾集団	19
2.2.1.8 テルベニア集団	19
2.2.1.9 北海道サハリン集団	20
2.2.1.10 デカストリ集団	20
2.2.1.11 黄海集団	21
2.2.2 北米大陸側に分布するニシンの生物学的特性の概要	21
2.2.2.1 サンフランシスコ湾の集団	21
2.3 太平洋ニシンの生態的特性による生活型の分類	22
2.4 電気泳動法	22
2.4.1 粗抽出液の調整	22
2.4.2 緩衝液	24
2.4.3 でんぷんゲルの作製	24
2.4.4 でんぷんゲル電気泳動	24
2.4.5 でんぷんゲルの染色	25
2.4.6 でんぷんゲルの保存	26
2.5 遺伝子座および対立遺伝子の命名法	26
2.6 集団遺伝的分析方法	26
2.6.1 ハーディ・ワインバーク平衡のあてはめ	26
2.6.2 多型的遺伝子座の割合(P)	26
2.6.3 平均ヘテロ接合体率(H)	27
2.6.4 対立遺伝子頻度の均質性の検定 (χ^2 検定)	27
2.6.5 遺伝子分化指数 (Coefficient of gene differentiation ; G_{ST})	27
2.6.6 固定指数 (Fixation index ; F_{ST})	27
2.6.7 遺伝的距離 (Genetic distance ; D)	28
2.6.8 集団間の類縁関係	28
3 酵素分子の電気泳動像の変異と遺伝的支配	28

3.1	ニシン科魚類の遺伝的特徴	28
3.2	ニシンのこれまでの酵素分子変異に関する研究	28
3.3	組織によるアイソザイム系の発現	29
3.4	各遺伝子座の変異	30
a.	アスパルテートアミノトランスフェラーゼ	30
	(2.6.1.1 Aspartate aminotransferase ; AAT)	
b.	アデノシンデアミナーゼ	30
	(3.5.4.4 Adenosine deaminase ; ADA)	
c.	アコニテートヒドラーゼ	31
	(4.2.1.3 Aconitate hydratase ; AH)	
d.	エステラーゼ (3.1.1.1 Esterase ; EST)	31
e.	フルクトースビスフォスファターゼ	31
	(3.1.3.11 Fructose-bisphosphatase ; FBP)	
f.	グルコースリン酸イソメラーゼ	32
	(5.3.1.9 Glucose-6-phosphate isomerase ; GPI)	
g.	グルタミン酸脱水素酵素	32
	(1.4.1.3 Glutamate dehydrogenase ; GLUDH)	
h.	グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素	32
	(1.2.1.12 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ; GAPDH)	
i.	グリセロール3リン酸脱水素酵素	33
	(1.1.1.8 Glycerol-3-phosphate dehydrogenase ; G3PDH)	
j.	ヒドロキシブチレート脱水素酵素	33
	(1.1.1.30 3-Hydroxybutyrate dehydrogenase ; HBDH)	
k.	イソクエン酸脱水素酵素	33
	(1.1.1.42 Isocitrate dehydrogenase ; IDHP)	
l.	乳酸脱水素酵素	34
	(1.1.1.27 L-Lactate dehydrogenase ; LDH)	
m.	リンゴ酸脱水素酵素	34
	(1.1.1.37 Malate dehydrogenase ; MDH)	
n.	マリック酵素 (1.1.1.40 Malic enzyme ; MEP)	35
o.	マンノースフォスフェイトイソメラーゼ	35
	(5.3.1.8 Mannose-6-phosphate isomerase ; MPI)	
p.	オクタノール脱水素酵素	35
	(1.1.1.73 Octanol dehydrogenase ; ODH)	
q.	ペプチダーゼ (3.4.11 Peptidase ; PEP)	36
r.	フォスフォグルコン酸脱水素酵素	36
	(1.1.1.44 Phosphogluconate dehydrogenase ; PGDH)	
s.	フォスフォグルコムターゼ	36
	(5.4.2.2 Phosphoglucomutase ; PGM)	
t.	ソルビトール脱水素酵素	38

(1.1.1.14 Sorbitol dehydrogenase ; SDH)	
u. スーパーオキシサイドディスミューターゼ	38
(1.15.1.1 Superoxide dismutase ; SOD)	
4 遺伝的変異と集団構造	38
4.1 アジア側のニシン集団の生化学的遺伝変異	39
4.1.1 多型的遺伝子座とハーディ・ワインバーグ平衡	39
4.1.2 多型的遺伝子座と対立遺伝子頻度	39
4.1.3 集団における変異保有量	41
4.1.4 遺伝子頻度の均質性	41
4.1.5 集団間の遺伝的距離(D)と集団構造	42
4.2 北米大陸側のニシン集団の生化学的遺伝変異	44
4.2.1 多型的遺伝子座とハーディ・ワインバーグ平衡	44
4.2.2 多型的遺伝子座と対立遺伝子頻度	44
4.2.3 集団における変異保有量	47
4.2.4 遺伝子頻度の均質性	47
4.2.5 集団間の遺伝的距離(D)と集団構造	49
4.3 太平洋ニシンの変異保有量	49
4.3.1 平均ヘテロ接合体率	49
4.3.2 遺伝子分化指数 (G_{ST})	50
4.3.3 固定指数 (F_{ST})	50
4.3.4 集団間の遺伝的距離と集団構造	51
5 太平洋ニシンの生態的特性と遺伝的分化	53
5.1 隔離による集団分化	54
5.1.1 地理的隔離	54
5.1.1.1 アリューシャン列島による隔離	54
5.1.1.2 対馬海峡と朝鮮海峡による隔離	55
5.1.2 生殖的隔離	55
5.2 太平洋ニシンの産卵特性と産卵場の環境特性	57
5.3 湖沼性集団と海洋性集団の関係	58
5.4 ニシン集団の生活型と遺伝的類縁関係	59
5.5 ニシン集団の生活型の多様性とその意義	60
6 要約	61
6.1 研究の背景	61
6.2 方法と材料	61
6.3 結果	62
6.3.1 遺伝的多型と遺伝的支配および平均ヘテロ接合体率	62
6.3.2 アジア側の集団の遺伝的組成	63
6.3.3 北米側の集団の遺伝的組成	63
6.3.4 太平洋ニシンの遺伝的分化	63
6.3.5 ニシン集団の遺伝的分化と生態的特性	63

6.4 おわりに	64
7 謝辞	64
8 参考文献	64
9 付表	73
1. サハリン北西岸で採集した標本の年齢別平均体長（尾叉長）	74
2. 太平洋ニシンの遺伝的特性の解析に用いた18集団標本の対立遺伝子頻度数	75
3. サハリン北西岸（デカストリ集団）および北海道西岸（北海道サハリン集団）で採集した 標本の対立遺伝子頻度数	76
4. 太平洋ニシンの集団間の遺伝的距離	77

1 緒 論

生物は再生産を通じて種を維持している。水産の分野では、生物だけがもっているこの特性を最大限有効に活用し、漁業の対象としている種の個体群数量を一定の水準に維持しながら、それに見合った適切な漁獲量、漁獲努力量、漁期、漁場などを設定する資源管理型漁業への転換が計られようとしている。これら水産生物の種は、系群あるいは系統群と呼ばれるいくつかの集団から構成されており、それぞれの集団は分布、回遊、寿命などに関して固有の生活史特性や数量変動様式を持っている。このため、水産生物の適切な資源管理方法を策定するためにも資源を構成する単位である個々の繁殖集団を識別することが基本的に重要である。このため多くの魚種で集団の特性に関する研究が蓄積されてきた。太平洋ニシン (*Clupea pallasii* VALENCIENNES) は北太平洋に広く分布する産業的に重要な種であり、集団の研究は国内的、国際的にも重要な課題とされている。本研究は主に酵素分子の遺伝的変異を標識にしてニシンの集団構造を集団遺伝学的に明らかにし、これと各集団の生態学的特性を合わせて、ニシンの集団構造を時空間的に検討し、進化的観点から検討したものである。

ニシンは太平洋と大西洋の北部水域に広く分布する冷水性の魚種であり、大西洋ニシン (*Clupea harengus* LINNE) が外洋水に近い比較的高塩分で水温の高い水深約10mから200mの範囲の海底の主に砂、砂利、石等に産卵するのに対して太平洋ニシンは、大西洋ニシンより低塩分で、より低水温域の潮間帯または亜潮間帯に繁茂する水生植物(アマモ類、ヒバマタ類、コンブ類など)に卵を産む特徴がある。また、脊椎骨数は大西洋ニシンと比較して少ないこと、地理的に両者は隔離されていること、さらに、太平洋ニシンは春季にだけ産卵するのに対して、大西洋ニシンは春季に産卵する集団と秋季に産卵する集団があることなど生態的、形態的な違いから別種とする研究者が多い。

太平洋側でのニシンの産卵場は、アジア側、アメリカ大陸側ともに北緯35度付近より北側に断続的に分布している(Svetovidov, 1952)。アジア側では黄海と渤海湾に面した山東半島や遼東半島の沿岸から(Tang, 1980)、朝鮮半島東岸(Park and Yeon, 1981)、ピョートル大帝湾、沿海州(Ambroz, 1931)、オホーツク海(Kaganovsky and Polutov, 1950; Ayushin, 1947)、ベーリング海西岸に、また、アメリカ側では、カリフォルニアのサンディエゴ付近を南限として(Miller and Schmidtke, 1956)、サンフランシスコ湾(Scofield, 1918; Spratt, 1981)、トマレス湾(Scofield, 1952; Hardwick, 1973)、フンボルト湾(Rabin and Barnhart, 1977; 1986)に、オレゴン州からワシントン州にかけてはコロンビア川河口周辺の潟湖やピュージェット湾奥部にも小さな産卵場があることが知られている(Scattergood *et al.*, 1959; Penttila and Day, 1976; Trumble, 1980)。ブリティッシュコロンビア州ではジョージア海峡、ヴァンクーバー島、クイーンシャーロット諸島の沿岸が主要な産卵場となっている(Tester, 1949; Taylor, 1964)。アラスカ州ではカシュエークス、シトカ、コディアック島等のアラスカ湾とベーリング海東部のプリストル湾からノートン湾が大きな産卵場になっている(Haegele and Schweigert, 1985)、北方ではベーリング海峡を越えてアジア側ではチャウンスカヤ湾から北氷洋に注ぐコリマ川、インディギルガ川、ヤナ川河口域等の東シベリア海(Novikov, 1967)、アメリカ側ではピュフォート海まで分布している。日本列島での分布は、日本海側では富山県までとなっているが(落合・田中, 1986)近年では稀に佐渡島周辺で成熟した個体が出現するものの(小林・野田, 1989)、毎年産卵群が漁獲される水域としては北海道の石狩湾周辺かそれ以北である。また、太平洋側では利根川で卵が産みつけられた藻を採集した記録があるが(北浜・藤本, 1956)、近年では茨城県の瀬沼で産卵する群が南限と考えられ、仙台湾北部の万石浦周辺および下北半島の尾駮沼でも産卵が観察されている。日本周辺

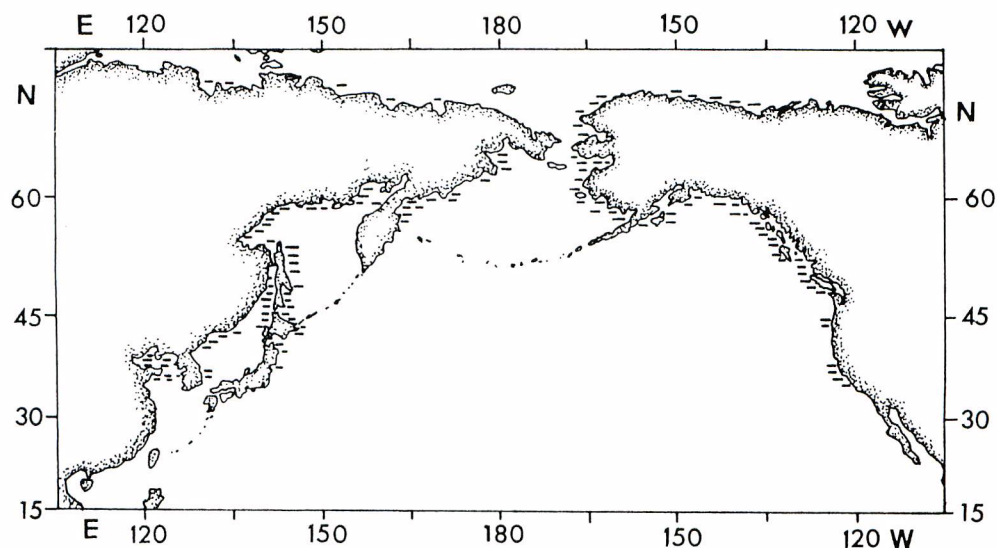


Fig.1. Map showing the geographic distribution of the spawning grounds of Pacific herring.

海域はアジア側の分布域としては南縁に当たることから、環境の変動により近年資源状態は極めて低い水準で推移しており、分布の南限は20世紀の初めと比較して北に偏っている傾向にある。

ところで、我が国ではニシンは古い時代から食用として利用され、縄文時代の遺跡からニシンの骨が発見されている(西川, 1984)。しかし、ニシン漁業の歴史は比較的新しく、15世紀中葉に北海道の日本海側の南部地方で始まったといわれている。18世紀になるとさらに太平洋側の日高、十勝地方を除いて南千島から離島を含め、沿岸域に漁場が広がり、漁獲量は1830-40年には年間7.5万トン、1845-59年には同じく約15万トンと推定されるほどになった(石田, 1952)。そして1897年には北海道の沿岸だけで産卵期に漁獲されたニシンは97万トンに達し、過去最高の水準になった。この漁獲量のほとんどは北海道サハリン系群、別名春ニシンと呼ばれた集団で占められていた。この集団は1950年代までは約50万トンの漁獲量をもたらしたが、1930年代後半からは、産卵場が日本海側の南部から規則的に消滅していき、1958年には、最も主要な漁場であった北海道西岸での漁獲は皆無に等しくなった(Motoda and Hirano, 1963)。さらに1963年にはオホーツク海側でも漁獲量は著しく低い水準となってこの集団の産卵場は北海道周辺から消滅した。近年では、サハリンの南西部、アニワ湾及びテルペニア湾の限られた狭い水域に産卵場があると考えられている。ところが、1985年から1988年にかけて北海道北部の沿岸域で1983年発生群が一時的に数万トン漁獲され、この年級群は1987, 1988の両年に北海道北部の沿岸で産卵していることが確認された。筆者らは、この1983年発生群を20数年ぶりに来遊した北海道サハリン集団と推定したが、これについては後で詳述する。一方、この北海道サハリンニシンとは異なり、比較的狭い水域を生活領域とするニシン集団の存在が知られている。それらは厚岸湖、尾駮沼、湊沼などで産卵するそれぞれ独立した集団で、汽水性の湖沼内で産卵することから湖沼性ニシンと呼ばれた。これらの集団の分布範囲は比較的狭く、産卵場周辺の限られた水域で漁獲される程度に資源量が小さかったことから、北海道サハリン集団が全盛であった当時は産業的価値が低かった。しかしながら、北海道サハリン集団の資源が衰退していく過程で、厚岸や田代島周辺で産卵する局地的な集団の資源量が増大傾向を示し注

目された(平野, 1961)。

20世紀に入るとニシンの漁獲量は前述したように年による好漁, 不漁の差が大きくなり, 来遊量の予測が重要な課題となった。このため資源の変動傾向を把握するには資源の再生産単位である集団構造をまず把握し, それぞれの集団に固有の生活様式と資源の変動機構を明らかにする必要性が生じて, 集団構造の解析と各集団の分布回遊域および年級群構成に関する研究が開始された。ニシンの集団構造の解析についてはすでに大西洋ニシンについて Heincke (1898) によって研究されていた古典的手法が取り入れられ, 鱗による年齢査定と年級群構成の解析並びに鰭条数や脊椎骨数等の計数形質や形態特性, 相対成長等による解析が行われた。その後, 成長, 成熟, 孕卵数, 鱗紋等の特徴や標識放流試験による分布, 移動等の生態的特性についての比較研究が広く行われた。これまでに日本周辺のニシン集団に関する研究は, 半田(1924), 山口(1926a, b), 藤田・小久保(1927), Kokubo and Tezuka(1938), 近藤(1965), 三上他 (1968), 入江 (1980), 菅野 (1982), 小林 (1983), 児玉 (1987) らによって行われている。これらの報告を総括すると, 日本周辺には大きく分けて比較的高塩分の沿岸域で産卵する海洋型集団と汽水性の湖沼や内湾で産卵する湖沼型集団に分けられる。前者はさらに回遊範囲の広い広域型と大きな回遊をしない地域型からなっており, 広域型に含まれる集団としては北海道サハリン集団が, 地域型としては石狩湾, 万石浦 (田代島) の集団である。後者の湖沼型としては涸沼, 尾駱沼, 湧洞沼, 厚岸湖, 風蓮湖, 能取湖, 佐呂間湖等の集団が含まれる。このように日本周辺には環境に適応して生活型に違いがみられるいくつかの集団が分布していることが明らかになった。この他, 前述したように黄海からベーリング海にかけてのアジア側と, アラスカからカリフォルニアにかけての北米側の海域にもそれぞれ独立した固有の集団が分布しており, 本研究では北米から極東にかけての太平洋とその隣接海域に分布している集団をも研究の対象とした。それぞれの集団の生物学的特性については, 2章で述べる。しかし, 北米側に分布するニシンについては産卵場の環境条件, 回遊範囲, 成長, 成熟等の比較研究にもとづく生活型についてはまだよくわかっていない集団が多い。

ところで集団間の異同の識別方法としては前述したようにいくつかの手法があるが, これまで多くの魚種で用いられてきた形態や計数形質には, 環境的要素(Tåning, 1952; Hempel and Blaxter, 1961)と遺伝的要素とが錯綜した結果として現れている。そのため, それらの形質の異同が環境要因によって生じたのか, それとも遺伝的要因によるものであるのかを的確に把握することが困難な点がある(沼知, 1974)。本研究では結果の解釈にあいまいさが残る形態あるいは計数形質によらず遺伝的特性による集団の分析法を採用した。この遺伝的手法を用いることによって集団内の遺伝的変異を量的に把握し, それによって集団内, 集団間の遺伝的分化と変異の保有機構を明らかにすることができる。このためには容易に, また再現性よく遺伝的変異が検出でき, 表現型から遺伝子型が直接推定できるような形質を選択することが必要である。本研究で用いた酵素分子の変異はDNAを鋳型にほとんど直接合成されるタンパク質の変異であり, 発現した表現型に環境要因がほとんど関与しない。また, 卵内での発生初期を除けば発育段階, 性別, 栄養状態などの個体の生理, 生態的条件にも発現が影響されない(Odense *et al.*, 1966)ことから, 集団研究には好適な形質であると考えられる。さらに, 酵素分子の変異は世代を越えた有効な標識となることから, 集団の遺伝的組成を究明するうえで極めて適した特徴を持った形質である。ところで従来, 同じ反応を触媒する酵素は生物の種類によって分子構造に多少の違いはあっても1酵素はほぼ類似した1つの分子型を持っているものと考えられていた。しかし, タンパク質を荷電と分子の大きさで分離するゲル電気泳動法を用いた研究が進展した結果, 酵素は一般にどのような生物, あるいは1つの細胞の中においてさえもただ1つの分子型として存在していることはむしろまれで, いくつかの分子型として存在していることが明らかになった(Markert, 1963)。しかも, 同じ反応を触

媒する酵素の分子的多型, いわゆるアイソザイムのなかには多分子型の種類やそれらの泳動度が異なるような対立遺伝子による変異が一般に存在していることが判明した。酵素の泳動の変異は, タンパク質の構造的変異であって, 関与している遺伝子の突然変異, すなわちコードしている DNA 分子のうちの1つか2つの塩基の入れ替えによって, それに対応しているアミノ酸が置換して酵素分子の荷電に差が生じたものである。この差はゲル電気泳動法と酵素の特異的染色法を組み合わせたザイムグラム法によって検出され, それぞれに関与している遺伝子型をザイムグラムから推定できる。筆者は本研究において, この酵素分子の変異の解析から太平洋に分布するニシンの各集団が保有している遺伝的特性と遺伝的分化の程度を明らかにし, 遺伝子頻度組成から集団間の遺伝的類縁関係を推定するとともに, ニシンの各集団に内在する形態的・生態的特徴の多様性や, それぞれの集団が生息する環境への適応様式である生活型と遺伝的な関係について考察し, ニシン集団の生態的分化と遺伝的分化について検討した。

2 材料と方法

2.1 標本の採集と保存

集団構造の解析に用いた試料は広く北太平洋の各地, アメリカ大陸側ではサンフランシスコ湾からベーリング海にかけて, アジア側では日本の太平洋岸, それにサハリン周辺から日本海の各地と黄海にかけて1979年から1990年の間に採集した24標本群, 計2,385尾である。Table 1 および Fig. 2 に標本群の採集地点, 採集日, 分析した尾数と遺伝子座数をまとめて示した。尾駁沼, 風蓮湖, 湧洞沼, 佐呂間湖, 能取湖, 石狩湾およびアメリカ大陸側のピュージェット湾の標本群は筆者が採集したもので, その他の標本群は, 万石浦は宮城県水産試験場, 厚田, 石狩は石狩地区水産技術普及指導所, 留萌, 鬼鹿, 初山別, 稚内沿岸およびサハリン西岸北部水域の標本は北海道立稚内水産試験場にそれぞれ依頼して採集した。また, 1980年の能取湖の標本群は北海道大学水産学部菅野泰次博士から, 黄海の標本群は西海区水産研究所下関支所から提供されたものである。さらに, サンフランシスコ湾, アラスカ湾, ブリストル湾及びノートン湾の標本群は北海道水産物加工協同組合連合会が輸入したものを分与していただいた。

標本の1部は鮮魚の状態で実験に供し, 他は漁獲後1昼夜以内に凍結して -30°C 以下で保存し分析に使用した。本研究で対象とした酵素はこの凍結条件下で安定して維持され, 1年以上経過しても染色や遺伝子型判定に支障があるような活性の低下や変性はなかった。

2.2 採集標本の集団の属性

ニシンはこれまでに集団を識別する方法として脊椎骨数, 鰭条数, 稜鱗数等の計数形質の比較や成長, 鱗相, 孕卵数, 産卵場等の生態的特性の違いなどが用いられてきた。このようにして識別された集団には産卵場が地理的にかなり広い範囲にわたっていたり, あるいは汽水性の湖沼, 内湾等に限られる集団もある。したがって, ニシンの場合, 集団を代表する標本を採集するためには第1義的には産卵場と産卵期とから他の集団と明確に区別して行う必要がある。しかし, ほぼ同じ時期に地理的に隣接する産卵場で採集したような場合には採集した標本がどの集団を代表するのか明確にする必要がある。そのため, 従来の生物学的特性の比較とともに, 遺伝子頻度の特性からそれらが相互に識別されるか, それとも同一と見なされる集団に属するのかを検討した。

本研究で用いた標本は Table 1 に示したようにアジア側では最西端に分布する黄海, 日本周辺の13ヶ所, それに日本海北部のサハリン北西岸の2ヶ所で採集した18標本, それと北米側のベーリング海で2ヶ所, アラスカ湾で2ヶ所, さらに南部のワシントン州とカリフォルニア州の各1ヶ所の計6ヶ所で採集

Table 1. Samples of Pacific herring examined in the present study. Sample unumbers correspond to numbers in Figure 2.

Population	Sample No.	Sampling location	Date of Collection			No. of Fish	No. of Loci examined
Yellow Sea							
	1	Yellow Sea	36°15'	123°15'	'84 Dec. 25	100	29
Dekastri							
A	2	Sakhalin NW	50°44'	141°46'	'88 May 16	100	29
	3	Sakhalin NW	50°49'	141°43'	'88 May 23	100	29
Mangokuura							
	4	Mangoku Inlet			'83 Feb. 15	82	29
Obuchinuma							
	5	Lake Obuti			'85 Mar. 25	99	29
Yudonuma							
	6	Lake Yudo			'85 Apr. 23	172	29
Furenko							
	7	Lake Furen			'83 Apr. 17	100	29
Notoroko							
	8	Lake Notoro			'80 May 7	81	29
Saromako							
	9	Lake Saroma			'83 May 21	100	29
Wakkanai							
	10	West coast of Wakkanai			'83 Apr. 27	100	29
Terpenia							
	11	Teshio			'85 Jun. 6	100	29
HokkaidoSakhalin							
B	12	Shosanbetsu			'87 May 11	100	29
	13	Onishika			'87 May 12	100	29
	14	Rumoi			'87 May 7	100	29
	15	Atsuta			'87 May 5	94	29
Ishikariwan							
	16	Ishikari			'83 Mar. 17	97	29
San Francisco Bay							
	17	San Francisco Bay			'83 Jan. 15	100	29
Puget Sound							
	18	Puget Sound			'82 Jan. 15	100	29
Sitka							
	19	Sitka Island			'83 May 20	100	29
Kodiak							
	20	Kodiak Island			'83 May 20	100	29
Bristol Bay							
	21	Bristol Bay			'90 May —	100	29
Norton Sound							
	22	Norton Sound			'90 May —	100	29
	*	23	Lake Notoro		'79 May —	80	3
	*	24	Lake Notoro		'79 May —	80	3

* : 能取湖で産卵する集団の識別だけに用いた標本

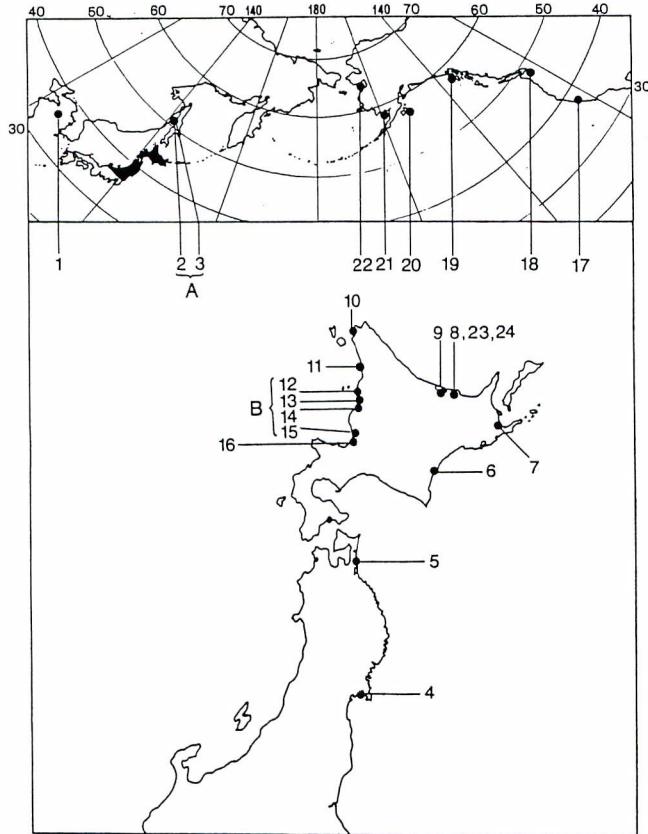


Fig.2. Map showing the locations of the samples used in this study.
Numbers of the locations correspond to sample numbers in Table 1.

したものである。このうち、採集した標本がどの集団に属するのかを産卵場、産卵期、年齢組成、脊椎骨数および成長等の特徴について比較検討して推定した。その結果、黄海、万石浦、尾駮沼、湧洞沼、風蓮湖、1981年5月に採集された能取湖、佐呂間湖、石狩湾、サンフランシスコ湾、ピュージェット湾、シトカ島、コディアック島、プリストル湾それにノートン湾の標本はそれぞれその海域に固有の集団に属するものと推定された。また、天塩で採集した標本はテルペニア集団を代表する標本と推定された。一方、1987年5月に採集した初山別、鬼鹿、留萌、厚田の4標本（標本番号12、13、14、15）は北海道サハリン集団および1988年5月にサハリン北西岸で採集した2標本（標本番号2、3）はデカストリ集団と推定されたが、これらの標本が遺伝的にも均質な標本として扱ってよいか、付表3に示した対立遺伝子頻度数を用いて標本間の遺伝子頻度の均質性を χ^2 法（木村、1960）により検討した。その結果、初山別、鬼鹿、留萌、厚田の4標本間にはどの遺伝子座においても統計的に有意である仮説は棄却された。また、サハリン北西岸の2標本も同様であった。このことから、北海道西岸の4標本は北海道サハリン集団、サハリン北西岸の2標本はデカストリ集団から採集されたものと判断し、集団標本の対立遺伝子頻度はそれぞれの標本の対立遺伝子頻度数を単純平均して求めた。そして新たに標本番号を北海道サハ

リン集団はA, デカストリ集団はBとし, 付表2にその頻度数を示した. また, 稚内で採集した標本は形態的特性が北海道サハリン集団に類似するが4.1.4で述べるように遺伝子頻度に他のいずれの集団とも統計的な有意差が検出され, これまでに報告されていない集団である可能性があることから固有の集団として扱った. さらに, 能取湖で1979年に採集した2標本は能取湖に出現した2集団を識別するために3遺伝子座だけについて解析した. したがって, アジア側では12集団標本, 北米側では6集団標本の合わせて18集団標本について遺伝子頻度の比較検討を行った.

以下に採集した標本がどの集団に属しているのかを特定するのに用いた各集団の生物学的諸特性と産卵期の環境について概略を記した. なお, 年齢査定は鱗に形成される輪紋数を光学顕微鏡下で計測し, 1輪を1年とした. 体長は尾叉長を計測し, 脊椎骨数には尾部棒状骨を含めて計数した.

2.2.1 アジア側のニシン集団の生物学的特性の概要

2.2.1.1 万石浦集団

万石浦は仙台湾の北東部に位置する面積7 km²程度の内湾で, 幅50~100m, 長さ約1.2kmの水路で外海とつながっている. 万石浦集団はこの万石浦とその周辺海域を主産卵場とし, 児玉(1987, 1988)によれば, 産卵期は12月下旬から3月下旬である. 本研究で用いた標本は2月に万石浦近くの竹野浜で刺網により漁獲されたもので, 産卵直前の成熟した親魚である. 脊椎骨数は53~56個の範囲にあり, モードは54個に, 次いで55個が多くこの2つで約90%を占めた. 平均値は54.4個(N=153)であった(Table 2). 主産卵期の1月には万石浦奥部で水温1.3~4.2°C, 塩分31~33であり, 外海に通じる水路部では水温4.0~7.3°C, 塩分32~34である. 成長は満1歳で体長(肉質体長)12.5cm, 2歳で24.2cm, 3歳で28.3cm, 4歳で30.0cm, 5歳で31.1cmである. また, 2歳で多くが成熟し, 産卵する. 一方, 7歳以上のニシンがこれまで採集されていないので寿命は比較的短いと推定されている(児玉, 1987). 藤田・小久保(1927)が田代島ニシンと呼んだ集団と万石浦集団は産卵場の形成される位置から同一と推定されるが, 脊椎骨数や鰭条数等の計数形質や成長, 寿命など万石浦集団と比較する資料はほとんど無い.

2.2.1.2 尾駱沼集団

本研究で用いた標本は3月25日に尾駱沼の中で刺網により漁獲されたもので産卵直後の体長26~30cmの範囲にあった親魚である. 脊椎骨数は52~56個であり, 平均54.3個であった(Table 2).

尾駱沼は下北半島の太平洋側に湖口のある面積3.7km², 周囲12kmの汽水湖で, 東西に3.5km, 南北に1.5kmのほぼ三角形をしている. 太平洋とは長さ1.5kmの尾駱川で接続し, 潮汐により海水が流入して湖の水位が変動している. 尾駱沼に流入する河川の水量が小さいため(手塚, 1939), 湖の最奥部まで海水の影響を受け(Kokubo and Tezuka, 1938), 湖全体の動物相は汽水性を示し, 出現魚種は37科58種であるが, 大部分は海からの索餌または産卵のために回遊してくる種である(頼, 1978). ニシンは12月上旬から遡上を始め3月まで続き, 盛期は1, 2月である(手塚, 1939). 尾駱沼は冬期に結氷し, 3月中旬から4月上旬に解氷するが, ニシンはこの解氷期直後の約10日間に集中して産卵する. この時期の水温は6°C前後, 塩分は9~11で, 沖合の海水の約30%の濃度で, 産卵は水温がその年の最低になった時期に当たる(Kokubo and Tezuka, 1938). 産卵場は尾駱沼の中央部のコアマモ, ホザキノフサモ, ヒロハノエビモなど密生した水域で, この水生植物に卵が産みつけられ, 孵化した稚魚は5月下旬から6月上旬まで湖内で育成し, 全長7cm, 体重2.7g程になって降海する(手塚, 1939). 尾駱沼集団は2歳で一部産卵に加入し, 3歳でほとんどが成熟する. 成長も比較的早く, 2歳で全長26~28cm, 8歳では34cmに達する(頼, 1978).

2.2.1.3 湧洞沼集団

北海道太平洋側の十勝川河口付近に位置する湧洞沼は周囲20km、面積4.5km²、最大水深3.5m、平均1.3mの海跡湖で、冬期には流砂によって湖口が閉塞し、全面結氷するが、4月下旬には融雪による水位上昇によって湖口が開かれ海とつながる。ニシンは海水が湧洞沼に流入を始める時期に合わせて進入し産卵する。この時期は年により変化するが、おおよそ4月下旬から5月の上旬で、産卵は1週間程度の短期間である。産卵期の湖内の環境条件は水温、塩分の観測が行われていないので明かではないが、湧洞沼内の塩分濃度は沿岸域の海水よりも低く、汽水になっていると考えられる。解析に用いた標本は4月23日に湧洞沼内で刺網により漁獲された産卵親魚で、体長は19~29cmの範囲にあり、19~24cmの満2歳魚が90%以上を占め、それより高齢魚の割合はわずかであった。体長は1歳で16.0cm、2歳で22.5cm、3歳で26.5cm、4歳で28.5cmであった。脊椎骨数は53~56個の範囲にあり、平均値は54.3個(N=320)であった (Table 2)。

2.2.1.4 風蓮湖集団

風蓮湖は北海道東部の根室湾に面した周囲96km、面積 57.5km²の淡水の影響の強い低塩水湖で、湖口付近は水深13m程であるが湖内は全般的に浅く、通称潮切りと呼ばれる幅約100~300m、水深4~6mの滞筋が発達している。底質は腐食性の砂泥域が広く分布しており、滞筋と湖口周辺及び湖奥部の河口域を除いて、ほぼ全域にアマモが成育している。12月中、下旬から4月上旬頃まで湖面は完全結氷する。風蓮湖には、解氷後に湖内に入って産卵する集団と、5月中旬から6月上旬に湖内に入るが産卵の確認されていない集団との2つの集団が出現する。このうち湖内で産卵する集団は風蓮湖固有の集団であり本研究ではこの集団を風蓮湖集団とし、湖内奥部で1983年4月中旬に刺網で漁獲した産卵直前あるいは産卵後の個体を標本とした。風蓮湖集団は5~6月に出現する集団と比較して成長が良く、孕卵数は同一体長で比較すると多い傾向がみられ (未発表)、一部は10月頃に湖に回帰し湖内で越冬する。しかし、多

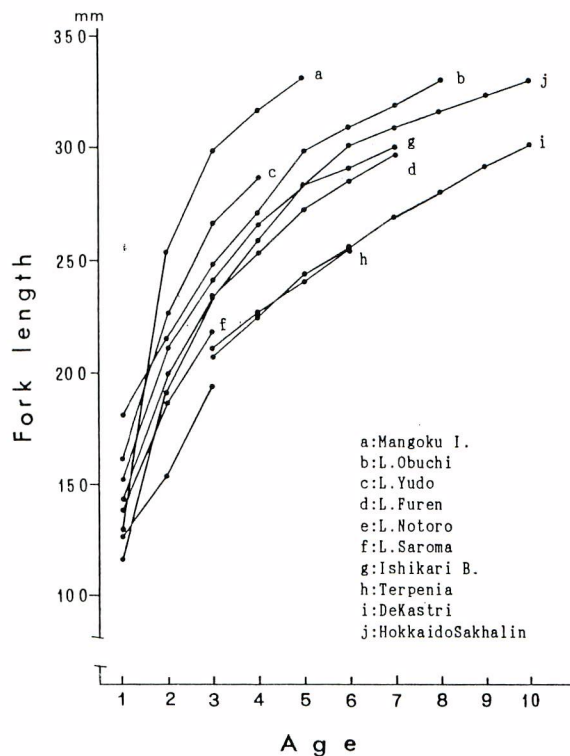


Fig.3. Comparison of body length of the Pacific herring distributed in the vicinity of northern Japan and Sakhalin.

a : Mangoku I. (Kodama,1978), b : L.Obuchi (Rai,1978), c : L.Yudo, d : L.Furen, e : L.Notoro, f : L.Saroma, g : Ishikari B. (Irie,1980), h : Terpenia (Frolov,1968), i : DeKastri (Kozlov,1968), j : Hokkaido Sakhalin (Fujita and Kokubo,1927).

くは沿岸域で越冬し、4月の解氷が始まる頃に湖内に進入し産卵する。産卵の始まる時期の水温は2°C前後、塩分は18~23であった。卵は立ち枯れしたアマモに産みつけられているのが観察され、仔稚魚の採集結果から約15日間で孵化し、稚魚は6月になると湖外に移動すると考えられる(小林他, 1987)。2歳で性成熟が始まる。漁獲物の年齢構成は2~7歳で、主体は例年2歳である。体長は年級群によって違いがあるが満1歳で約15cm, 2歳で21cm, 3歳で24cm, 4歳で26.5cm, さらに7歳では30cmとなる(未発表)。脊椎骨数は52~56個, このうち54個が約60%を占め, 平均値は54.0個(N=138)であり, 菅野(1983b)の値とほぼ同じであった(Table 2)。

2.2.1.5 能取湖集団

能取湖はオホーツク海に面した周囲35km, 面積58km², 最大水深23m, 平均8.6mの海跡湖である。湖は約100mの水路を経てオホーツク海につながっているが10月から翌年4月までの半年間は漂砂の堆積により水路は閉塞され, 冬期には湖面は結氷する。

産卵はオホーツク海とつながる4月下旬に始まる。菅野(1983b)によれば能取湖には周年湖内に生息する小型のニシン(湖内型)と, 秋から翌春にかけて外海から湖に回遊する大型のニシン(回帰型)の2群が存在し, 産卵期は湖内型は4月下旬~5月下旬, 回帰型は4月下旬から6月下旬である。産卵場は湖内型が湖南部および東西の両岸の水深3~8m付近にあり, 表層水温は4~13°Cであるのに対して, 回帰型の産卵場は湖中央部にあり, アマモ, コアマモ等の枯死して沈積した葉片に卵が産み付けられる。産卵期の表層水温は5~18°Cである。塩分は16~27である(菅野, 1989a)。両群には成熟する年齢とそ

Table 2. Composition and mean of vertebral number of samples of Pacific herring. Sample numbers correspond to numbers in Fig.2.

Sample Number and Location	Date of Collection	No. of Fish	No. of Vertebrae								Mean
			50	51	52	53	54	55	56	57	
1 Yellow Sea	'84 Dec. 28	130			2.3	42.3	50.8	4.6			53.58
2 Sakhalin NW1	'88 May 16	150				25.3	64.7	10.0			53.85
3 Sakhalin NW2	'88 May 23	104			1.9	27.9	53.8	16.4			53.85
4 Mangoku I.	'83 Feb. 15	153				8.5	48.3	41.2	2.0		54.37
5 L. Obuchi	'86 Mar. 27	111			0.9	9.0	58.5	28.8	2.7		54.28
6 L. Yudo	'85 Apr. 23	320				9.7	50.3	37.8	2.2		54.33
7 L. Furen	'83 Apr. 17	138				20.3	62.3	17.4			53.97
8 L. Notoro	'81 May 7	81				2.5	58.0	39.5			54.37
9 L. Saroma	'83 May 17	149			2.7	29.5	55.7	12.1			53.77
10 Wakkanai	'83 Apr. 27	100				10.0	50.0	37.0	3.0		54.33
11 Teshio	'85 Jun. 6	94				23.4	54.3	19.1	3.2		54.02
12 Shosanbetsu	'87 May 11	74				16.2	50.0	31.1	2.7		54.20
13 Onishika	'87 May 12	111				13.5	57.7	26.1	2.7		54.18
14 Rumoi	'87 May 7	138				9.4	63.0	24.7	2.9		54.21
15 Atsuta	'87 May 5	148			0.7	14.2	55.4	27.0	2.7		54.17
16 Ishikari	'83 Mar. 17	97				5.2	39.2	48.4	7.2		54.58
17 San Francisco B.	'83 Jan. —	105	5.7	40.0	44.8	8.6	0.9				51.59
19 Sitka I.	'84 May —	124			2.4	34.7	58.9	4.0			53.65
20 Kodiak I.	'84 May —	121				28.8	54.5	16.7			53.88
21 Bristol B.	'90 May —	96				14.6	62.5	22.9			54.08
22 Norton Sound	'90 Jun. —	76			1.3	21.1	52.6	25.0			54.01

の体長および孕卵数に相違がみられ、脊椎骨数の範囲は52~55個、平均 53.73である(菅野, 1983b)。本研究で解析に用いた標本には尾叉長が雄で146mm、雌で196mmの成熟した生殖巣をもつ個体が観察された。このことからこの標本は菅野(1983b)の指摘する小型の湖内型のニシンと推定された。この標本の脊椎骨数は53~55個、54個にモードがあり、次いで55個が多く、平均は54.4個であり、菅野(1989b)の報告と比較して大きい傾向がみられた。

2.2.1.6 佐呂間湖集団

佐呂間湖は周囲90km、面積150km²、最大水深約20m、平均8.7mの海跡湖であり、2つの湖口でオホーツク海とつながっている(Fig. 2)。1928年以前は秋になると湖口が閉塞し、春になると融雪に伴う増水によって湖水面が上昇し、湖口が自然に掘削される状態が続いていた(大島他, 1966)。この当時の湖口は湖の東端の当沸付近にあり、ニシンは湖口が開かれると湖内に進入し産卵していたと推定される(藤田・小久保, 1927)。1929年には湖の西部に新湖口が掘削され、周年、外海とつながり湖内の水質、特に塩分は河口域を除いて外海水と差はほとんどなくなった(大島他, 1966; 白旗・羽鳥, 1979)。

佐呂間湖には湖内の氷が解け始める4月中、下旬頃に産卵し、体長32cm、体重500gに達するなだニシンと呼ばれる群があるが、近年ではほとんど漁獲対象にならないほどに減少している。このなだニシンとは別に5月中旬頃に産卵する集団があり、この集団を佐呂間湖集団とした。本研究では佐呂間湖別河口付近で5月に刺網により漁獲された産卵直前の成熟した個体を標本として用いた。標本の体長は約18~26cm、体重70~220gで、体長20cm前後の2歳魚が漁獲物標本の多くを占め、脊椎骨数は52~55個、平均値は53.8個(n=149)であった(Table 2)。佐呂間湖集団の産卵場は、湖に流入する佐呂間湖別河口周辺域で産卵直前の個体が多く漁獲され、河口周辺域のアマモ場が産卵場となっている可能性が高い。その周辺域の5月中旬の水温は9~10°C、塩分は19~22であった(白旗・羽鳥, 1979)。

2.2.1.7 石狩湾集団

石狩湾の厚田を中心とした浜益から小樽にかけ、2~3月に産卵するニシン群が存在する。漁獲量は3~50トンと少量ではあるが毎年漁獲されている。このニシンは鱗相の特徴から大きな回遊をしないで石狩湾を主要な分布域とする局地性の集団と推定され、石狩湾ニシンと呼ばれている(三上他, 1968)。本研究ではこの集団を石狩湾集団とし、1983年3月に刺網で漁獲された成熟した親魚を標本とした。三上他(1968)によれば石狩湾集団は3歳で成熟し産卵に加わるとしているが、本研究で用いた標本中には2歳で成熟している雌が1尾みられ、一部は2歳で成熟して産卵に加わるものと推定された。産卵期の水温は6~7°C、塩分は33前後である(茄子川, 1963)。本研究で解析した標本の脊椎骨数は52~57個の範囲にみられ、平均値は54.6個(N=97)で、入江(1980)が求めた平均値54.55個と一致した(Table 2)。

2.2.1.8 テルペニア集団

本研究で用いた標本は天塩川河口周辺で1985年6月上旬に刺網により漁獲された産卵直前の成熟した個体からなっている。脊椎骨数は52~56個の範囲にあり、平均値は54.0個(N=94)であった(Table 2)。Frolov(1950)が得たテルペニア集団の脊椎骨数の平均値は53.91個であった。テルペニア集団は山口(1926a)によりオコック海ニシンと呼ばれ、半田(1924)は東樺太系ニシン、藤田・小久保(1927)は北海種族の混同群および近藤(1965)はオホーツク群と呼んだ。サハリン南部ではアニワニシンあるいはテルペニア地方群と呼ばれている(Frolov, 1968)。北海道サハリン集団が満4歳から産卵するのが多いのに対して、テルペニア集団は満3歳から親魚となり、6歳以上は著しく減少する。産卵群の出現する海域はオホーツク海の紋別、湧別沿岸や日本海の留萌、天塩、石狩湾である。石狩湾はこの集団の日本海側の分布の南限と考えられる。さらに、根室海峡や釧路、根室沖にも形態的に(山口, 1926b)、また

遺伝的に類似したニシンが分布する(未発表)。産卵時期は日本海側では5月中旬から6月下旬で、産卵場は石狩湾や天塩地方では河川水が流入し、その影響を受ける水域での漁獲量が多い傾向がみられる。筆者が1977年の産卵時期に観測した沿岸の塩分は天塩地方で25~29、石狩湾の厚田で27、朝里で30であった。またアニワ湾の北部と東部およびテルペニア湾では5月~6月に産卵するが、アニワ湾の産卵場の塩分はサハリン南西岸よりも低く、また、テルペニア湾では漁獲量の多い6月の塩分は22~28であった(Frolov, 1968)。この集団の成長は能取湖、デカストリの集団に次いで悪い。

2.2.1.9 北海道サハリン集団

日本海では山形から北海道、サハリン南部及びオホーツク海の沿岸、さらにサハリン東岸や南岸のアニワ湾等広い水域で産卵した記録が残されている(石田, 1952)。この集団は前述したように大集団であったが北海道では1955年以降、サハリンでは1960年以降衰退し(Motoda and Hirano, 1963)、現在までその状態が続いている。産卵場は沿岸域に形成され、塩分は32~34と高い。成熟年齢は4~5歳で、寿命は13~16歳と高齢である。成長は比較的良好なもの若齢時の平均は石狩湾、万石浦、尾駮沼の集団より劣るが、テルペニア集団よりはよい。

1920年代初期に調べられた日本海側のニシンの脊椎骨数は54.10~54.30個の範囲にあった(藤田・小久保, 1927)。ところで、1985年から1986年にかけて4月下旬から5月に未成熟主体のニシンが、また1987年から1988年の同時期には成熟したニシンが日本海の石狩湾からオホーツク海の北部沿岸域で漁獲された。この時、採集された標本の年齢組成は1983年発生の単一群によって構成されており、脊椎骨数、出現時期、成熟状態から判断して北海道サハリン集団と推定された(小林・佐々木, 1987)。本研究では1988年に厚田、留萌、鬼鹿、初山別の4カ所で採集した標本を解析に供した。これらの標本の脊椎骨数は52~56個にみられ、モードは54個、次いで55個が多く、平均値は54.2個であった(Table 2)。

2.2.1.10 デカストリ集団

サハリン周辺には、多くの地方集団が分布している(Piskunov, 1952; Frolov, 1950, 1968; Drujinin, 1957; Kozlov, 1968)。これらの集団は産卵場の塩分濃度や地形的特徴から大きく海洋型と湖沼型に分けられ(Kozlov, 1968)、前者には北海道サハリン集団が、後者にはタタール海峡北部の沿海州側のデカストリ湾や北西部のサハリン湾、北東岸のチャイボ湾、ナイボ湾、南東岸のトンナイ湖、南西岸のアイヌスク湖やライシチ湖等で産卵する集団が含まれる(Probatov and Frolov, 1958)。この他にPiskunov (1952)は日本海側に成長速度、年齢組成、産卵時期、孕卵数、水理学的条件の特徴から南サハリン群、シローカヤ・パージ群、それにデカストリ群の3群がいることを示唆している。このうち南サハリン群とシローカヤ・パージ群は北海道サハリン集団に属するとしている。本研究で用いたサハリン北西岸の標本の採集位置はPiskunov (1952)の報告するデカストリ群の分布域である。また付表1に示した標本の年齢別平均体長はKozlov (1968)の値とよく一致する。さらに本研究で用いた標本の脊椎骨数は52~55個の範囲にあり、平均値は53.9個と、Frolov (1950)の53.89個、入江 (1980)の53.87個の報告ともよく一致した。これらのことからサハリン北西岸で採集した2標本はデカストリ集団を代表する集団標本とした。

デカストリ集団は周年タタール海峡の北部海域に生息している。主要な産卵場は沿海州側のデカストリ湾とサハリン側の北緯51度以北に分布しており、産卵は5月中旬から6月中旬に行われ、産卵場の水温は3~11°C、塩分は21~27である(Frolov, 1968)。夏秋期には主にサハリン沿岸の北緯50~51度の海域で索餌行動をしており、北緯48度以南には回遊しない(Kozlov, 1968)。満3歳で96~98%が成熟し産卵に加入する。主要な漁獲対象となる年齢は満3~6歳であり、孕卵数は体長21~22cmで22,900個、22~24cmで26,400個、24~25cmで36,900個である(Piskunov, 1952)。デカストリ集団は形態的にテ

ルベニア集団とよく似ている (Frolov, 1950).

2.2.1.11 黄海集団

黄海に分布するニシンは対馬海峡と朝鮮海峡によって日本海の他の集団と隔離された集団である。主要な産卵場が山東半島東部の栄成と遼東半島南東部の威海沿岸に有り、3～4月に産卵する。索餌域は黄海の中部と北部にあり、越冬場は黄海中部の底層に冷水の分布する海域である。2月になると再び産卵場に移動していく。1900～1938年頃にかけては相当規模の漁業が行われていたが、資源の減少と共に衰退した。しかし、1967年頃から資源は回復し始め、1972年には17万トンが漁獲された。

本研究で分析に供した標本は黄海中部で12月に底曳網により漁獲されたもので、この標本の脊椎骨数は52～56個の範囲にあり、モードは54個、平均値は53.6個(N=130)であった(Table 2)。森田他(1971)は53.4個、Park and Yeon(1981)は53.55個と報告している。黄海集団は満2歳で99%が成熟し、成熟した最小個体は雄で尾叉長 168mm、体重 46g、雌では尾叉長 200mm、体重80gである。寿命は短く6歳以上のものはほとんど漁獲されない (Tang, 1980)。

年齢と尾叉長 (L : mm) の関係は $L_t = 305 [1 - e^{-0.66(t+0.198)}]$ 、年齢と体重 (Wt : g) との関係は $W_t = 253 [1 - e^{-0.66(t+0.198)}]^3$ で示される。また、尾叉長と孕卵数(E)の関係は $E = 7.980L^{3.1707}/10^6$ である (Tang, 1980)。孕卵数は4歳で53,282個、6歳では56,081個である (森田他, 1971)。

2.2.2 北米大陸側に分布するニシンの生物学的特性

北米に分布するこれらニシンの集団研究は産卵期、成長、孕卵数、脊椎骨数、標識放流等に基づいて解析が行われてきた。その結果、カリフォルニアではサンフランシスコ湾、トマレス湾、フンボルト湾などを産卵場とする少なくとも4～8集団が分布しており、オレゴン、ワシントンの各州にも産卵場を異にする集団が分布している。ブリティッシュコロンビア州ではバンクーバー島周辺に9集団、クイーンシャーロット諸島周辺にも若干の集団が分布している (Taylor, 1964)。さらにアラスカ州のアラスカ湾側では南部、中部それにコディアック島周辺に、また、ベーリング海側ではプリストル湾、ユーコン川河口、ノートン湾の3か所に産卵の集中域が知られている。さらに北氷洋側にも別の集団が分布しているのが報告されている。ベーリング海での産卵場はプリストル湾からノートン湾にかけては岩礁性海岸の潮間帯および亜潮間帯のヒバマタ類に産卵するのに対して北緯64度以北のセワード半島では浅い潟、入江および内湾が多く、底質は砂もしくは泥で2m以浅のアマモ類に卵を付着させる (池田, 1980)。アメリカ大陸側の集団についてはサンフランシスコ湾とブリティッシュコロンビア州の集団について系統的に調査が行われているが、その他の集団についてはアジア側の集団ほどに産卵場の環境や成長、形態等の生物学的特性に関する知見は多くない。ここでは本研究で用いたサンフランシスコ湾で産卵する集団の生態的、形態的特徴について概要を述べる。

2.2.2.1 サンフランシスコ湾の集団

サンフランシスコ湾内の浅海域は淡水の影響を受ける汽水域となっており、産卵場は水深4.5m以浅の潮間帯や亜潮間帯に形成され、*Gracilaria spp.* やアマモ (*Zostera sp.*) が繁茂し、ニシン卵がそれらに産着しているのが観察されている。産卵期は12月から3月であるがピークは1月から2月で (Spratt, 1981)、その時期の水温は9～10°C、塩分はおおよそ8～28である (Alderdice and Versen, 1971)。満2歳で成熟産卵し、漁獲物中に2歳魚が卓越して出現する年が多い (Spratt, 1981)。成長は1歳で体長11.3cm、2歳16.1cm、3歳17.5cm、5歳20.0cm、さらに8歳では21.9cmと、3歳以降は成長が遅い。本研究で用いた標本は1983年1月にサンフランシスコ湾で巻網により漁獲された産卵親魚である。標本の脊椎骨数は50～54個の範囲にみられ、モードは52、平均は51.6 (N=105) であった (Table 2)。本研究で用いた集団標本中では、脊椎骨数が最も少ない集団であった。

2.3 太平洋ニシンの生態的特性による生活型の分類

太平洋ニシンには、回遊範囲の狭い集団や広い集団、湖沼や内湾の汽水域で産卵する集団や外海に面した高塩分の沿岸で産卵する集団、成熟年齢が2年と早く寿命が8年前後の集団やそれとは対照的に成熟に4～5年かかり、寿命が15年以上の集団等が存在する。ニシンは生物的にも形態的にも特徴のある多くの集団からなる多様性のある種であり、これらの多様な形質や生態の特徴は歴史的な時間的スケールの中で環境へ適応する生活様式として備わってきたと考えられる。たとえば、湖沼性で大きな回遊をしない集団というのは移動能力はもちろん初産年齢、産卵数、発育速度に海洋性の集団と違いがあり、初産年齢は2歳と早く性成熟し、産卵数は同一年齢と比較すると少なく、発育速度は遅い傾向にある。このような諸形質によって識別された集団の遺伝的な分化過程を推定する上で地理的配置だけではなく生活型も重要な要素である。ところで生活型は、生物がその生活史の個々の段階で環境条件との密接な関連のもとに発現する生活形態であることから、一定の集合と配置によって特徴づけられる集団は一定のまとまりを持っている。また、生活型はいろいろなレベルで把握可能な概念であることから、生活のどの特性に注目するかにより種々の分類が可能である。海洋生物では存在形態や運動形態による区分(西村, 1972)や、成長の遅速や個体数変動様式等(川崎, 1977)が使われる場合がある。筆者は本研究において産卵場の環境条件と移動・回遊の規模を、生活型の識別区分の指標として用い、次のI～IVの生活型に分類した。

- I 汽水域で産卵し、回遊範囲が狭い(湖沼性地域型)
- II 高塩分域で産卵し、回遊範囲が比較的狭い(海洋性地域型)
- III 高塩分域で産卵し、回遊範囲が広い(海洋性広域型)
- IV IとIIIの中間型で、やや低塩分域で産卵し回遊範囲はやや広い(中間型)

すなわち、IおよびIIは集団により産卵場が限定されていて、回遊範囲も比較的狭いことから地域性であり、IIIは産卵場が散在し、回遊範囲が広いことから広域性である。さらにIは産卵場が湖沼のような汽水域に形成されるので湖沼性、IIおよびIIIは高塩分の沿岸域に形成されるので海洋性とした。したがって、同一の生活型に属する集団でも成長の速度、孕卵数、脊椎骨数などに違いがあるものを含んでいる。

本研究で用いたアジア側の集団を前述の定義に従い各生活型にあてはめると、

- I 湖沼性地域型・・・・・・尾駮沼、湧洞沼、風蓮湖、能取湖、佐呂間湖
- II 海洋性地域型・・・・・・万石浦、石狩湾
- III 海洋性広域型・・・・・・北海道サハリン
- IV 中間型・・・・・・テルペニア、デカストリ

のように区分される。なお、黄海および稚内の集団ならびに北米側の集団の産卵場の環境条件あるいは回遊範囲に不明の点が多いので生活型の分類はできなかった。

2.4 電気泳動法

2.4.1 粗抽出液の調製

酵素やアイソザイム系の分布と活性は組織によって違いがあることが知られているので用いる試料として適した組織を決定するために、心臓、肝臓、筋肉、血合肉、腎臓、脳、幽門垂、生殖腺、眼球(網膜と水晶体)および腸管に分けてアイソザイム系と各アイソザイムの染色の強さを調べた。抽出した0.5-2.0gの組織を試験管に入れ、それにほぼ同量のイオン交換水を加えてガラス棒で十分つぶした後、2,200gで3分間遠心分離し、得られた上澄液を電気泳動の試料とした。組織や緩衝液系を変えても同様の結果が得られた遺伝子座については、筋肉、肝臓、心臓および眼球のどれか染色性が最も強い組織を

選んで型判定に用いた。Table 3に用いた組織と緩衝液を遺伝子座別に示した。

また、抽出液として各種の緩衝液を比較検討した結果、抽出性や安定性がイオン交換水とほとんど違いがなかったので、抽出は一貫してイオン交換水を用いた。

Table 3. Enzymes, loci, buffer systems and tissues analyzed in the present study.

Enzyme and abbreviation	E.C.number	Locus	Buffer**	Tissue
Aspartate aminotransferase(AAT)	2, 6,1, 1	<i>sAAT</i>	I	Muscle
		<i>mAAT</i>	I	Muscle
Adenosine deaminase(ADA)	3, 5,4, 4	<i>ADA</i>	II	Muscle
Aconitase(AH)	4, 2,1, 3	<i>mAH</i>	I	Muscle
		<i>sAH</i>	I	Liver
Esterase(Est)	3, 1,1, 1	<i>EST</i>	III	Muscle
Fructose-bisphosphatase(FBP)	3, 1,3,11	<i>FBP</i>	I	Muscle
Glucose-6-phosphate isomerase(GPI)	5, 3,1, 9	<i>GPI</i>	III	Muscle
Glutamate dehydrogenase(GLUDH)	1, 4,1, 3	<i>GLUDH</i>	I	Liver
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)	1, 2,1,12	<i>GAPDH-1</i>	I	Muscle
		<i>GAPDH-2</i>	I	Muscle
		<i>GAPDH-3</i>	I	Heart
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase(G3PDH)	1, 1,1, 8	<i>G3PDH-1</i>	I	Muscle
		<i>G3PDH-2</i>	I	Liver
		<i>G3PDH-3</i>	I	Liver
3-Hydroxybutyrate dehydrogenase(HBDH)	1, 1,1,30	<i>HBDH</i>	I	Liver
Isocitrate dehydrogenase(IDHP)	1, 1,1,42	<i>mIDHP</i>	I	Muscle
		<i>sIDHP</i>	I	Liver
L-Lactate dehydrogenase(LDH)	1, 1,1,27	<i>LDH-1</i>	I	Liver
		<i>LDH-2</i>	I	Liver
Malate dehydrogenase(MDH)	1, 1,1,37	<i>sMDH-1</i>	I	Liver
		<i>sMDH-2</i>	I	Liver
		<i>mMDH</i>	I	Muscle
Malic enzyme(ME)	1, 1,1,40	<i>sMEP</i>	I	Muscle
		<i>mMEP</i>	I	Muscle
Mannose-6-phosphate isomerase(MPI)	5, 3,1, 8	<i>MPI</i>	I	Muscle
Octanol dehydrogenase(ODH)	1, 1,1,73	<i>ODH</i>	I	Liver
Peptidase(PEP)	3, 4,11	<i>PHP-1*¹</i>	II	Muscle
		<i>PHP-2*²</i>	II	Muscle
		<i>PHP-3*³</i>	II	Muscle
		<i>PHP-4*³</i>	II	Muscle
Phosphoglucomutase(PGM)	5, 4,2, 2	<i>PGM</i>	I, III	Muscle
Phosphogluconate dehydrogenase(PGDH)	1,1,1,44	<i>PGDH</i>	I	Liver
Sorbitol dehydrogenase(SDH)	1, 1,1,14	<i>SDH</i>	I	Liver
Superoxide dismutase(SOD)	1,15,1, 1	<i>SOD</i>	I	Liver

Substrate *¹ GlycylLeucyane, *² LeucylGlycylGlycine, *³ PhenylAlanylPlolyne,

*⁴ Buffer systems I : Citrate-N(3-aminopropyle)diethanolamine buffer at pH7.0(CA),
II : Tris-boric acid buffer at pH8.7(MF), III : gel : Tris-citric acid buffer at pH8.5,
electrode : Lithium hydroxide-Boric acid buffer at pH8.1(RW)

2.4.2 緩衝液

本研究では鮮明な泳動像が得られ、バンドの分離能が優れた次の3種類の緩衝液系を用いた。

I. CAEA 緩衝液 (pH7.0)

Clayton and Tretiak (1972) の方法を一部変更した沼知他 (1979) の方法によった。

電極用緩衝液；0.2M クエン酸を N-3アミノプロピルジエタノールアミンで pH が7.2に調整した貯蔵用濃縮液を5倍に希釈して用いた。

ゲル用緩衝液；0.04M クエン酸を N-3アミノプロピルジエタノールアミンで pH が7.5に調整した貯蔵用濃縮液を20倍に希釈して用いた。

II. MF 緩衝液

Markert and Faulhaber (1965) の方法によった。

電極用緩衝液；0.18M トリス (トリスヒドロキシメチルアミノエタン), 0.004M EDTA2Na をホウ酸で pH が8.7になるように調整した。

ゲル用緩衝液；電極用緩衝液を4倍に希釈して用いた。

III. RW 緩衝液

Ridgway *et al.* (1970) の方法によった。

電極用緩衝液；0.06M 水酸化リチウムをホウ酸で pH が8.1になるように調整した。

ゲル用緩衝液；0.03M トリスをクエン酸で pH が8.5になるように調整した後、それに電極用緩衝液を10：1の割合で混合して用いた。

これらの緩衝液を以後、CA, MF および RW とそれぞれ略記する。

2.4.3 でんぶんゲルの作製

でんぶん濃度が上記の緩衝液に対して13%の濃度になるように調整した。フラスコの底にでんぶんが沈澱しないように、よく振とうしながら、沸とう直前まで加熱した後、すみやかにアスピレーターで十分に脱気した。脱気後、直ちにガラス板上のアクリル樹脂製の型枠に流し込み (Fig. 4a), 室温程度に冷えるまで放置した後包装用プラスチック膜で覆った。なお、でき上がったゲルは作製後1日以内に使用した。ゲルは用途に応じて次の3種類の大きさのものを用いた。

(イ) 27.0×14.0×1.0cm

(ロ) 27.0×14.0×0.6cm

(ハ) 14.5×14.0×0.6cm

2.4.4 でんぶんゲル電気泳動

用いたでんぶんゲル水平電気泳動法について、その方法の概略を記す。遠心分離で得られた上澄液を濾紙片 (東洋濾紙 No. 2 ; 2 mm×10mm) に吸わせ、陰極側から約3.5cmの位置で切断したでんぶんゲルの一方に濾紙片の幅とほぼ同じ間隔を置いて並べた。このとき、ゲルの両端の1.5cm程は使用しない。また、10尾ごとに印をつけるため1尾分のスペースをとるか、あるいは標識用色素 (アミドブラック10B水溶液) を使用した (Fig. 4b)。上澄液を吸収した濾紙片を並べ終えたらすみやかにもう一方のでんぶんゲルで濾紙片をはさみ、でんぶんゲルどうしを密着させる (Fig. 4c)。でんぶんゲルと電極槽をつなぐブリッジには、濾紙 (東洋濾紙 No. 2 ; 5 cm×27cm) を2枚重ねとして用いた。ブリッジは予め電極槽用緩衝液に浸した濾紙をでんぶんゲルの端から1.5cm程度かぶさるようにして置いた。このとき、濾紙とでんぶんゲルとの間に空気が入らないように注意した。その後、でんぶんゲルをプラスチック膜で覆い電極をセットした (Fig. 4d)。

通電負荷はでんぶんゲルの断面積 1 cm²当り 5 mA を基準とし、マーカーがほぼ陽極側に 7~8 cm

泳動するまで通電した。なお、アコニターゼおよびイソクエン酸脱水素酵素ではバンドを鮮明に分離するためマーカーの泳動距離を15cmとした。マーカーにCA緩衝液を使用したときにはアミドブラック10Bを、MFおよびRWの緩衝液のときには赤色27号をそれぞれ蒸留水に溶かしたものをを用いた。泳動は3~5°Cに設定した冷蔵庫内で行なったが、高電圧勾配下で高い分離能を得ながら、しかも通電による発熱で泳動像のゆがみや酵素の熱変性が生じないように砕氷を入れたガラス容器を直接でんぶんゲル上に置き、冷却しながら行った。通電時の最大電流及び電圧をTable 4に示した。

Table 4. Maximum voltage and current of supplied electric power in present study in each buffer system.

Buffer system	Supplied electric power	
	Voltage (Max.)	Current (Max.)
CAEA	250V	65mA
MF	250V	55mA
RW	220V	55mA

2.4.5 でんぶんゲルの染色

泳動の終了したでんぶんゲルを1mmの厚さにスライスした。スライスには3cm×30cm×1mmのプラスチック板をでんぶんゲルの両側に1枚ずつ置き、プラスチック板の表面に沿いモノフィラメントのナイロン糸を移動して切断した(Fig.4e)。1枚スライスするごとにプラスチック板を1枚ずつ重ね、ゲルを所定の枚数にスライスした。

染色はHarris and Hopkinson (1976) と Shaw and Prasad (1970) などの方法に準じ35°Cに設定した恒温器中で行なった。

ADA, EST, GAPDH, PEP, PGI 及び PGM の染色には、染色用反応液に2%の寒天液(50°C)を反応液と同量加え、でんぶんゲル上に一様の厚さになるようにかけた。その他はトレイの中で反応液に浸漬して染色した。

2.4.6 でんぶんゲルの保存

泳動、染色を終了したでんぶんゲルは、写真撮影

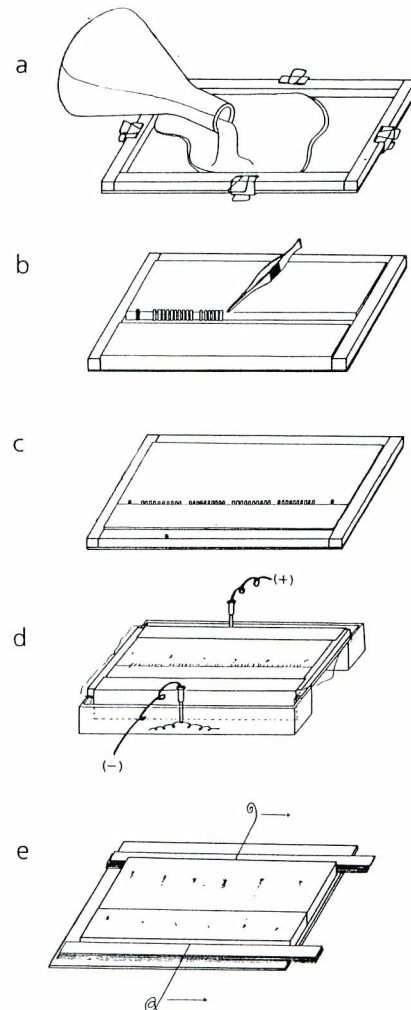


Fig.4. Diagram of the horizontal starch gel electrophoretic method.

a: preparation of a starch gel, b: application of enzyme extracts and applying wicks to a gel, c: gel is separated at the origin(0) and wicks are placed about 1mm apart; wicks with marker dyes are placed every 10 specimens, d: setting up a gel for electrophoresis, e: gel is sliced into 1mm thick each by pulling a piece of nylon thread sliding on the two slicing strips set bothside of the gel.

で保存する方法、酢酸液に浸漬して保存する方法および乾燥処理する方法 (Numachi, 1981) がある。これらの方法にはそれぞれ一長一短があるが、染色の状態が変わらず維持され、保存に便利な乾燥法で保存した。処理方法は、まず、7%酢酸液で反応を停止したのち、でんぷんゲルを水洗し、5%グリセリン溶液に半日程度浸漬した。それをガラス板上でセロファン紙2枚の間に包み込み、60°C前後で乾燥した。

2.5 遺伝子座および対立遺伝子の命名法

1つの酵素で複数の遺伝子座が関与している場合、遺伝子座の命名は Shaklee *et al.* (1990) の方法に準じ、陰極側から順に、1, 2, 3とした。ただし、ESTについては陽極側のものから1, 2とした。対立遺伝子の命名については最も出現頻度が高かった対立遺伝子の泳動距離を100とし、その他の対立遺伝子については、その泳動距離を、卓越して出現した対立遺伝子の泳動距離に対する相対値で示した。なお、陰極側に泳動するものは、陽極側に泳動するものと同様に原点からの距離を相対値としてマイナス(-)で示した。

2.6 集団遺伝的分析方法

各アイソザイム系のそれぞれの遺伝子座についてザイモグラム法によって明らかになった表現型から、個体ごとに遺伝子型を推定した。各集団標本群ごとに求めた表現型、遺伝子型頻度をもとに示すような方法で集団遺伝学的に解析した。また、集団を産卵場の環境条件と回遊の規模で定義した4つの生活型について遺伝的変異性の違いを比較検討した。

2.6.1 ハーディ・ワインバーグ平衡のあてはめ

無作意交配が続けられ、自然選択、突然変異、移住、遺伝的浮動などの要因が働かない理想的な集団では遺伝子頻度、遺伝子型頻度は毎代変わらず、接合対系列 (zygotic array) は配偶子系列の2乗に等しいというハーディ・ワインバーグの法則 (Hardy-Weinberg's law) に従う。各集団標本群に含まれていた表現型の頻度 (観察値) がハーディ・ワインバーグの理想的集団に見られる平衡状態にあるかどうかを χ^2 検定によって調べた。 χ^2 の一般式は

$$\chi^2 = \sum (\text{観察値} - \text{期待値})^2 / \text{期待値} \quad (1)$$

である。期待値は表現型頻度から遺伝子頻度を求め、この遺伝子頻度のもとで無作意に交配したときに期待される表現型頻度を算出することによって求めた。このとき自由度は表現型の自由度 ($m-1$) から、遺伝子型頻度の計算に用いた対立遺伝子の数についての自由度 ($n-1$) を差し引いた ($m-n$) となる。

2.6.2 多型的遺伝子座の割合(P)

集団における遺伝的変異を定量的に表現する尺度の1つとして、多型的遺伝子座率(P)を求めた。対立遺伝子の頻度が0.01あるいは0.05以上の遺伝子座を多型的 (polymorphic) な遺伝子座というが、本研究では対立遺伝子頻度が0.05以上のときに多型的遺伝子座とした。調べた個体数や遺伝子座数に関連して多型的遺伝子座率(P)の推定値の抽出誤差については根井 (1990) により求めた。

2.6.3 平均ヘテロ接合体率(H)

遺伝的変異の程度を示す尺度として、さらに変異の頻度を入れた指数、平均ヘテロ接合体率(H)が用いられることがある。この量はヘテロ接合体の相対的頻度を表しており、遺伝子座数や個体数に影響されることはなく、遺伝子頻度で定義される(根井, 1990)。任意交配集団を考えたとき、ある遺伝子座に対立遺伝子 A1, A2, ..., An が P1, P2, ..., Pn の頻度で存在するとき、この遺伝子座のヘテロ接合体率 h は

$$h = 1 - \sum P_i^2 \quad (2)$$

で示される。そして、r 個の遺伝子座についての平均ヘテロ接合体率(H)は、各遺伝子座についての h の平均で与えられる。

$$H = \sum hi / r \quad (3)$$

任意の個体が特定の遺伝子座についてのヘテロ接合体である確率は、その遺伝子座の h で与えられるので、平均ヘテロ接合体率は任意の個体でのヘテロ接合体の状態である遺伝子座の平均の割合を示している(Lewontin and Hubby, 1966)。

2.6.4 対立遺伝子頻度の均質性の検定 (χ^2 検定)

集団間の対立遺伝子頻度組成の異同から集団の遺伝子給源が同一かどうかを検討するために、ある対立遺伝子の出現頻度の均質性を検定する手法として χ^2 法(木村, 1960)を用いた。対立遺伝子の間に優劣関係がない場合には A 及び B の 2 個の集団の、大きさ N_A , N_B について、対立遺伝子頻度を P_A , P_B とすると

$$\chi^2 = \{2N_A (P - P_A)^2 + 2N_B (P - P_B)^2\} / P (1 - P) \quad (4)$$

で示される。ただし、P は

$$P = (P_A \times N_A + P_B \times N_B) / (N_A + N_B) \quad (5)$$

である。このときの自由度は 1 である。従って、有意水準が 1% では χ^2 (d.f.=1, 0.01)=6.64, 5% では χ^2 (d.f.1, 0.05)=3.86 となり、求めた χ^2 値がこれらより大きければ統計的に有意な差が集団間に存在することになる。なお、1 標本群の尾数が 100 尾のとき、最小頻度数は 0.005 となることから、 P_A , P_B がこれより小さい値をとる場合は比較する意義はきわめて低い。したがって、 P_A , P_B が 0.005 未満あるいは 0.995 より大きい場合は χ^2 検定を行わなかった。

2.6.5 遺伝子分化指数 (Coefficient of gene differentiation ; G_{ST})

集団間の遺伝子組成の分化の程度、すなわち集団間にある変異が種全体の変異に対して占める大きさの尺度として遺伝子分化指数 (G_{ST}) を求めた。調査した集団全体の平均遺伝子頻度を用いて計算した集団全体の平均ヘテロ接合体率を H_T とし、分集団ごとに求めた平均ヘテロ接合体の平均、すなわち分集団内平均ヘテロ接合体率を H_S とすると、この H_T と H_S との差は分集団間の遺伝子頻度組成の差を示し、分集団間平均ヘテロ接合体率 (D_{ST}) と呼ばれ

$$D_{ST} = H_T - H_S \quad (6)$$

で表される。また G_{ST} は H_T に対する D_{ST} の割合、すなわち

$$G_{ST} = D_{ST} / H_T = (H_T - H_S) / H_T \quad (7)$$

によって示され、分集団間の遺伝子組成の分化の相対的な程度を示す (Nei, 1975)。

2.6.6 固定指数 (Fixation index ; F_{ST})

特定の遺伝子座で対立遺伝子頻度が集団間でどれほど分化しているかを示す尺度として固定指数 (F_{ST}) が用いられる (Wright, 1951)。 F_{ST} は各遺伝子座ごとに求められる指数で、各集団から任意にとられた 2 個の配偶子間の相関を表しており、集団の繁殖構造や対立遺伝子に関連する淘汰の様式を理

解するのに有用とされている (根井, 1990).

F_{ST} は、S個の分集団の対立遺伝子kの頻度数 k_i の分散を σ_p^2 とすると

$$F_{ST} = \sigma_p^2 / P (1 - P) \quad (8)$$

で表される。ここで、PはS個の分集団のk対立遺伝子の平均頻度数であり、

$$P = \sum k_i / S \quad (9)$$

で示される。

2.6.7 遺伝的距離 (Genetic distance ; D)

集団間の遺伝的分化の程度を比較するのに Nei(1972)の遺伝的距離(D)を用いて検討した。Nei(1972)によればDは以下のように求められる。集団XとYがあり、i遺伝子座の対立遺伝子jの値を h_{ij} とするとき

$$J_X = \sum \cdot \sum h_{xij}^2 / r \quad (10)$$

$$J_Y = \sum \cdot \sum h_{yij}^2 / r \quad (11)$$

$$J_{XY} = \sum \cdot \sum (h_{xij} \cdot h_{yij}) / r \quad (12)$$

とし、次にIおよびDは(13),(14)式より求める。

$$I = J_{XY} / (J_X \cdot J_Y)^{1/2} \quad (13)$$

$$D = -\log_e I \quad (14)$$

2.6.8 集団間の類縁関係

アジア側の12集団と北米側の6集団の合計18集団と、本研究で標本採集のできなかったブリティッシュコロンビア州、ベーリング海西部水域それに韓国東岸の3集団について、Grant(1981)および Grant and Zhang (1983) から本研究と共通する25遺伝子座の対立遺伝子頻度数を引用し、併せて21集団の相互の遺伝的距離(D)を求め、得られたD値を用いてUPGMA法(Sneath and Sokal, 1973)により dendrogramを推定し、集団間の遺伝的類縁関係を解析した。

3 酵素分子の電気泳動像の変異と遺伝的支配

3.1 ニシン科魚類の遺伝的特徴

ニシンはニシン亜目に含まれ、ニシン亜目はまたイワシ類とも言われている。Ohno *et al.* (1968, 1969)によれば、そのイワシ類に属するカタクチイワシ (*Engrauris mordax*) の染色体数は48個 (染色体腕数48個) で、すべての染色体が末端動原体染色体であるのに対し、ニシンは44個の末端動原体染色体と4対の中部動原体染色体の計52個 (染色体腕数60個) の染色体を持っている。また、DNA量はカタクチイワシが 3.0×10^{-9} mg、ニシンは 2.1×10^{-9} mgであり、ニシン亜目に近いサケ科魚類では染色体腕数が104個、DNA量は $5.8 \sim 6.0 \times 10^{-9}$ mgであると報告し、これらのイワシ類とサケ類の染色体の構成やDNA量の比較研究から、ニシンは2倍体性(diploid)と考えた。電気泳動的分析からもニシンの2倍体性が裏付けられている。しかし、リンゴ酸脱水素酵素(*sMDH-2*)に関与する遺伝子座では、同質重複遺伝子の量的効果とみられる泳動像や (Grant, 1981)、重複を示すアイソザイム系が観察されていることから (Anderson *et al.*, 1981)、ニシンは2倍体であるが、遺伝子座によっては重複があるものと考えられる。

3.2 ニシンのこれまでの酵素分子変異に関する研究

水産生物では1950年代後半から血液型のような免疫遺伝学的研究が行われ1960年代後半からはアイソ

ザイムの研究が始まった。ニシンでは大西洋側で早くから取り組まれ、血液型、トランスフェリン、ヘモグロビンについての研究が行われた。Sindermann and Mairs (1959) はカナダのメイン湾の東西に分布する集団間で赤血球にC抗体を持つ個体の出現頻度に有意な差を検出し、さらにトランスフェリン (Nævdal, 1969), ヘモグロビン (Sindermann and Honey, 1963; Everaertus, 1978), 赤血球抗原 (Sindermann and Mairs, 1959; Truveler, 1971)等の研究から、北欧のニシンには成熟して産卵するまで毎年沖合から沿岸へと回遊を繰り返している沖合回遊群(北海群)と、沿岸を離れずに生活した後一度沖に出て成熟し、再び沿岸に来遊して産卵する沿岸群との間の表現型頻度に、有意な差を見出している(Ligny, 1969)。酵素分子の変異に関する研究では、Odense *et al.* (1966) が乳酸脱水素酵素とアミノトランスフェラーゼの表現型頻度を用いてカナダ側の集団について研究したのが始まりで、その後、エステラーゼの表現型頻度について Nævdal (1969) がノルウェーと北海の群を、Simonarson and Watts (1969) は北海とバルト海の群を、さらに、Ridgway *et al.* (1971) はメイン湾の集団の型頻度を研究し、それぞれの海域に固有の集団が存在することを示唆した。1970年代になってザイモグラム法の発達によって多くの酵素分子の変異性が調べられるようになってからは、遺伝子座の分析数が増大した (Odens and Allen, 1971; Kornfield *et al.*, 1981)。Grant (1981) は20種類の酵素の40遺伝子座の遺伝子頻度組成からヨーロッパ側と北アメリカ側の集団間の遺伝的分化を調べ、また、Ryman *et al.* (1984) は13種類の酵素の17遺伝子座を用い北海とバルト海の集団の遺伝的類縁関係と形態的類似性を考察した。

太平洋側のニシンの生化学的遺伝研究は比較的遅く、1970年代に入ってからで Utter (1972) がフォスフォグルコムターゼとエステラーゼについてワシントン州の集団を調べたのが始まりである。その後、Bogdanov *et al.* (1979) はエステラーゼとパーオキシダーゼについて沿海州、オホーツク海、ベーリング海の集団の対立遺伝子頻度を調べ、Grant (1981), Grant and Utter (1984) は主に北米大陸の集団の遺伝的類縁関係を明らかにした。Grant and Zhang (1983) は朝鮮半島東岸の、小林 (1983) は北海道石狩湾の集団の遺伝的組成を明らかにした。さらに、Rybnikova (1985) はオホーツク海とサハリンの、また、小林他 (1990) は日本の北部海域の各集団の遺伝的類縁関係を推定した。しかし、これまでに太平洋ニシンの分布域から広く標本を採集して、酵素分子の多型を同一手法を用いて集団構造を解析した研究はなく、本研究が最初である。さらに、近年では mtDNA 分析による核酸レベルでの遺伝的変異にもとづく集団の研究も始まった (Kornfield and Bogdanowicz, 1987)。

3.3 組織によるアイソザイム系の発現

遺伝子座が異なる場合にアイソザイムの酵素化学的、物理化学的、免疫化学的性質や組織による発現が異なる場合が多い。たとえばある組織ではA遺伝子座が強く発現し、一方B遺伝子座はきわめて発現が少ないことがある。このような組織の泳動像ではAアイソザイム系が強く、ハイブリッドは薄く、Bアイソザイム系がほとんど染色しない。このような組織はAアイソザイム系の変異の解析に都合がよいが、Bアイソザイム系の変異の分析には不都合で、Bアイソザイム系が強く発現する組織を選ぶ必要がある。このような組織分布の特異性は構造遺伝子にコードしている調節遺伝子によるとされる。

Fig. 5 に CA 緩衝液を用いた場合の乳酸脱水素酵素およびリンゴ酸脱水素酵素の眼球、白身肉、血合肉、肝臓、心臓、腎臓、脳、幽門垂、卵巣、精巣の組織別泳動像を示した。発色の程度が組織により異なり、同じ働きをする酵素でも組織特異性があることから、解析する遺伝子座に適した組織を選ぶ必要がある。

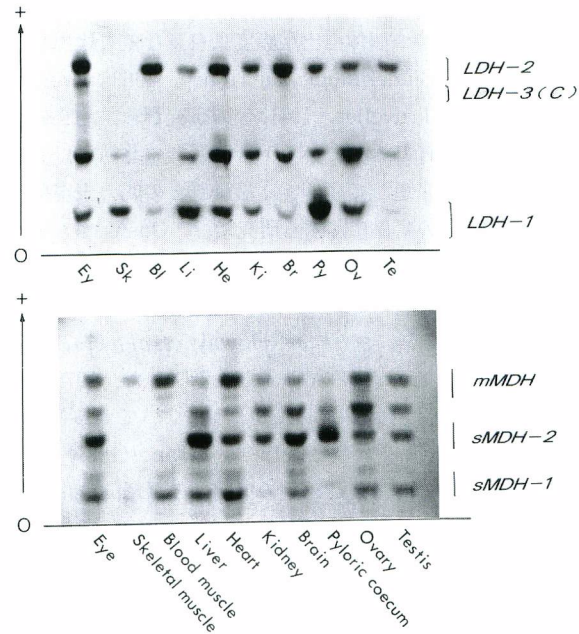


Fig.5. Photographs of electrophoretic patterns of lactate dehydrogenase (LDH; above) and malate dehydrogenase (MDH; below) in ten tissues of Pacific herring.

3.4 各遺伝子座の変異

a. アスパルテートアミノトランスフェラーゼ (2.6.1.1 Aspartate aminotransferase; AAT)

筋肉と心臓で強く発現する陽極側と陰極側に泳動する2つのアイソザイム系が出現した。これらは2つの独立の遺伝子座の支配下にあると考えられ、Odense *et al.* (1966) は陽極側はミトコンドリア型 (*mAAT*) で陰極側は可溶性型 (*sAAT*) であろうと推定している。*mAAT*, *sAAT* においては1本バンドと3本バンドの個体が出現することから、前者は同型接合体、後者は異型接合体と推定され、AATのサブユニット構造が2量体であることを示している。*sAAT* では4対立遺伝子が、また*mAAT* では5対立遺伝子があると推定された (Fig. 6)。このうち *mAAT*81* および *mAAT*85* は北東太平洋の標本群だけで検出された。

b. アデノシンデアミナーゼ (3.5.4.4 Adenosine deaminase; ADA)

1本バンド (同型接合体) と2本バンド (異型接合体) からなるただ1つのアイソザイム系が陽極側に出現する。魚類のADAのサブユニット構造については、ニシン (Grant, 1981), マスノスケ (Kobayashi *et al.*, 1984), マダラ (Grant *et al.*, 1987), コガネガレイ (Grant *et al.*, 1983), オヒョウ (Grant *et al.*, 1983) などで調べられているが、いずれも単量体であることが報告されている。ADAは各組織で活性があるが、筋肉で最も強い染色が得られた。ADAには5対立遺伝子があると考えられたが、ベーリング海とアジア側ではこのうち *ADA*100* が卓越したのに対して、アラスカ湾以南のアメリカ側では *ADA*82* が最も高い頻度で出現した (Fig. 7)。

c. アコニテートヒドロラーゼ

(4.2.1.3 Aconitate hydratase ; AH)

AH はヒトではミトコンドリア型と可溶性型の両者が知られ、各組織に広く分布する (Harris and Hopkinson, 1976). ニシンでは陽極側に泳動する2つのアイソザイム系が出現した。このうち、泳動の速いものは肝臓で強く、遅いものは筋肉でより強く発現し、泳動の遅いアイソザイム系では1本バンドだけが出現したが、速いアイソザイム系では1本バンドのものと2本バンドのものが出現した。バンドの出現パターンからこれらはそれぞれ別の独立した遺伝子座に支配されていると考えられた。陰極側はミトコンドリア型(*mAH*)、泳動の速い陽極側は可溶性型(*sAH*)と推定されている。太平洋ニシンについては本報告が初めてで、ピュージェットサウンドの*sAH*に5対立遺伝子が検出されたが、*mAH*では変異はみられなかった (Fig. 8)。また、大西洋ニシンでは同様に2遺伝子座があると考えられ、*sAH*で5個の対立遺伝子が検出された (Kornfield *et al.*, 1982)。しかしながら、AHは1部の標本群でしか分析していないため、集団構造の解析には用いなかった。

d. エステラーゼ (3.1.1.1 Esterase ; EST)

太平洋ニシンのESTについては Utter (1972), Grant (1981), Bogdanov *et al.* (1979) が報告しているように、最も陽極側に泳動するアイソザイム系以外は同時に複数のアイソザイム系が染色されて出現するので泳動像の遺伝的解釈ができない。したがって、ESTでは最も陽極側に出現する1本バンドを同型接合体、2本バンドを異型接合体とする遺伝子座をEST-1とした、EST-1には5つの対立遺伝子が検出された (Fig. 9)。

e. フルクトースビスフォスファターゼ

(3.1.3.11 Fructose-bisphosphatase ; FDP)

筋肉、心臓、肝臓で同じ泳動距離を示す1本バンドが陽極側に出現した。本報告中では変異はみられなかったが、ニジマスでは5本バンドからなる異型接合体が検出されており、4量体

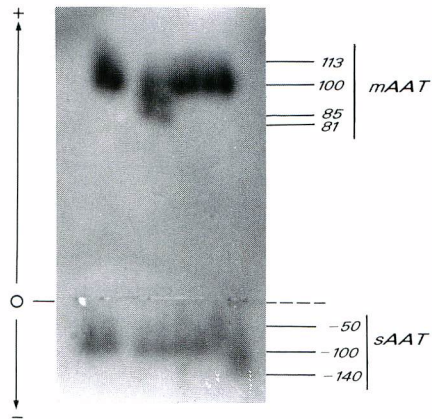


Fig.6. Photograph of electrophoretic patterns of aspartate aminotransferase (AAT) in muscle tissue of Pacific herring.

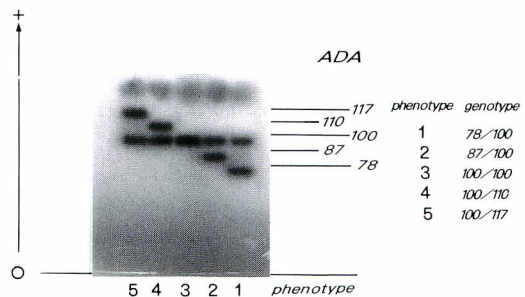


Fig.7. Photograph of electrophoretic patterns of adenosine deaminase (ADA) in muscle tissue of Pacific herring. Five alleles appeared.

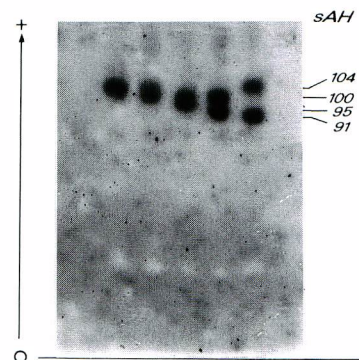


Fig.8. Photograph of electrophoretic patterns of aconitate hydratase (AH) in liver tissue of Pacific herring.

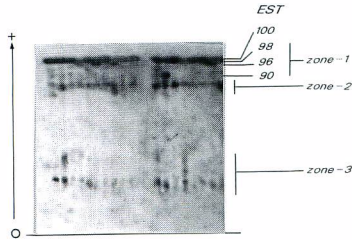


Fig.9. Photograph of electrophoretic patterns of esterase (Est) in muscle tissue of Pacific herring. Zone-1 corresponds to *EST-1* locus.

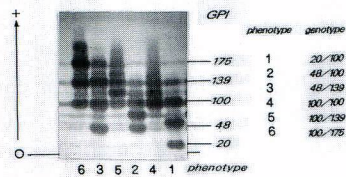


Fig.10. Photograph of electrophoretic patterns of glucose phosphate isomerase (GPI) and five alleles are observed in muscle tissue of Pacific herring.

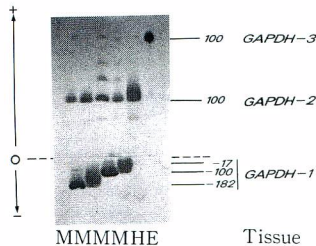


Fig.11. Photograph of electrophoretic patterns of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) in muscle (M), heart (H) and eye (E) tissue of Pacific herring.

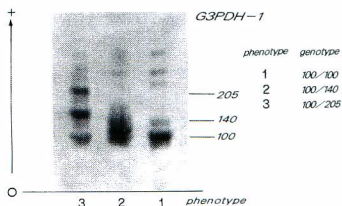


Fig.12. Photograph of electrophoretic patterns of glycerol-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH) in muscle tissue. Three alleles are appeared in this study.

であると考えられる (May, 1980). ニシンで陽極側に出現した1本バンドは, 1遺伝子座支配によると思われる.

f. グルコースリン酸イソメラーゼ

(5.3.1.9 Glucose-6-phosphate isomerase ; GPI)

陽極側に泳動する同型接合体である1本バンドと異型接合体である3本バンドからなる1つのゾーンが出現し, 1遺伝子座からなる7個の対立遺伝子の存在が推定された (Fig.10). 筋肉で最も鮮明なバンドが形成されたが, いずれにおいても陽極側にサテライトバンドが出現した. また, 原点に近い陽極側に比較的鮮明な副次的なゾーンが検出されるが, このゾーンの泳動パターンは主たるゾーンと同一のパターンを示した.

g. グルタミン酸脱水素酵素

(1.4.1.3 Glutamate dehydrogenase ; GLUDH)

肝臓で最も活性の強い1本バンドが出現し, 血合い肉, 心臓, 筋肉ではより活性の弱い1本バンドが出現した. 本報告で用いた標本からは変異は検出されなかったが, 出現した1本バンドは1遺伝子座支配を示すものと思われる. GDHは動物ではミトコンドリアに存在することが知られている (Harris and Hopkinson, 1976).

h. グリセルアルデハイド3リン酸脱水素酵素

(1.2.1.12 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ; GAPDH)

筋肉では陰極側に, 心臓, 眼球では陽極側に泳動するそれぞれの組織に特異的に強く発現する3つのゾーンが出現した. 眼球に特異的な *GAPDH-3* がもっとも陽極よりで, 次いで心臓に特異的な *GAPDH-2* が泳動する. アメリカ大陸側の群からは *GAPDH-2* で変異が知られているが (Grant, 1981), 本研究では検出されなかった. 一方, 陰極側の *GAPDH-1* では変異がみられ, 同型接合体は1本バンド, 異型接合体は5本バンドであったことから, *GAPDH-1* は4量体と推定される. この遺伝子座では3つの対立遺伝子が検出されたが, 本研究の解析に用いた集団標本中には *GAPDH-1*100* と *GAPDH-1*182* の2つの対立遺伝子が出現した. このうち, *GAPDH-1*182* はアラス

カ湾からサンフランシスコにかけてのアメリカ大陸側に特異的に高頻度で出現したが、ベーリング海から黄海にかけてのアジア側の群ではごく稀に出現したにすぎない (Fig.11).

i. グリセロール 3リン酸脱水素酵素 (1.1.1.8 Glycerol-3-phosphate dehydrogenase ; G3PDH)

筋肉で1つのアイソザイム系、肝臓で2つのアイソザイム系が出現し、これらのアイソザイム系は3つの遺伝子座の支配下にあるものと推定された。このうち肝臓の遺伝子座ではいずれも1本バンドのものからなり、変異がみられなかったが、筋肉の遺伝子座では3本バンドのものが出現した。この3本バンドは2量体の異型接合体である。3個の対立遺伝子が検出された (Fig.12).

j. ハイドロオキシブチレート脱水素酵素 (1,1,1,30 3-Hydroxybutyrate dehydrogenase ; HBDH)

肝臓でだけ強く発現する陽極側に泳動する1つのアイソザイム系がある。1本バンドは同型接合体、3本バンドは異型接合体であると推定された (Fig.13)。しかし、HBDHの染色状態は用いた基質により安定性が得られなかったことから大量処理には用いなかった。

k. イソクエン酸脱水素酵素 (1.1.1.42 Isocitrate dehydrogenase ; IDHP)

筋肉と肝臓にそれぞれ特有の陽極側に泳動する2つのアイソザイム系が出現した。IDHは2量体で同型接合体は1本バンド、異型接合体は3本バンドである。Henderson (1965)によれば筋肉や心臓で検出されるIDHはミトコンドリア型 (*mIDHP*)で、肝臓で検出されるIDHは可溶性型 (*sIDHP*)であり、それぞれ独立の遺伝子座によって支配されていると考えられている。*mIDHP*では4個の対立遺伝子が検出されたが変異性が低いのに対し、*sIDHP*では8個の対立遺伝子が検出され、変異性も高かった (Fig.14 a,b)。アジア側及びベーリング海の標本では *sIDHP**100 が卓越したが、アラスカ湾以南の群では *sIDHP**82 が卓越して出現した。

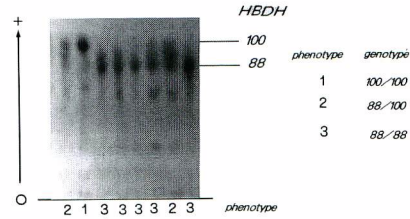


Fig.13. Photograph of electrophoretic patterns of hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH) in liver tissue of Pacific herring.

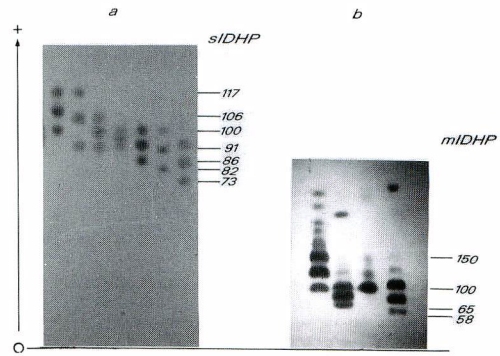


Fig.14. Photographs of electrophoretic patterns of isocitrate dehydrogenase (IDH) in liver tissue (a: *sIDHP*) and muscle tissue (b: *mIDHP*) of Pacific herring.

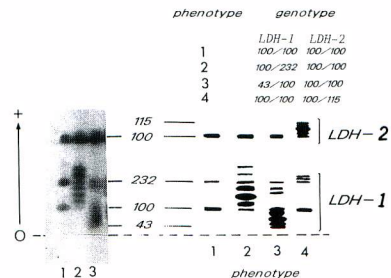


Fig.15. Photograph of electrophoretic patterns of lactate dehydrogenase (LDH) and diagrammatic representation of phenotypes of LDH-1 and LDH-2.

1. 乳酸脱水素酵素 (1.1.1.27 L-Lactate dehydrogenase ; LDH)

肝臓及び筋肉では陽極側に泳動する2つのアイソザイム系が出現する。これらはそれぞれ別の遺伝子座に支配されていると考えられている(Odense *et al.*, 1966 ; Nævdal, 1970)。泳動が速く、筋肉でより強く染色される *LDH-2* では2個、泳動が遅く、肝臓でより強く染色される *LDH-1* では3個の対立遺伝子が検出された。しかし、その出現頻度は極めて低かった。この他に眼球に特異的なバンドが陽極側に出現する (Fig. 5)。このバンドは魚類ではCバンドと呼ばれている (Shaklee *et al.*, 1973)。

m. リンゴ酸脱水素酵素 (1.1.1.37 Malate dehydrogenase ; MDH)

筋肉では、陽極側に泳動する1本バンドと3本バンドからなる1つのアイソザイム系が出現する。MDHは2量体であることから1本バンドは同型接合体、3本バンドは異型接合体と推定され、1つの遺伝子座に支配されていると推定される。筋肉で強く発現するMDHはミトコンドリア型 (*mMDH*) である。肝臓では陽極側に泳動する2つのアイソザイム系がみられ、それぞれ独立した遺伝子座に支配されていると推定された。肝臓で検出されるMDHは可溶性型 (*sMDH*) であり、泳動距離からこれらの

遺伝子座を *sMDH-1*, *sMDH-2*, 筋肉でより強く発現した遺伝子座を *mMDH* とし、合わせて3遺伝子座の存在が推定された (Fig.16)。Grant (1981), Anderson *et al.* (1981) は本研究での *sMDH-2* に相当する遺伝子座を *MDH-4,5* とし、変異の見られるバンドの染色の程度およびパターンから、それは重複していることを報告している。本研究では Fig.16 に示すように *sMDH-2* の変異における染色の強弱から、この遺伝子座が重複している可能性があることを示唆しているようにもみられるが、明確に判定することはできなかった。なお、原点付近の遺伝子座数にも本研究と Grant (1981) の報告とに違いがみられる。この要因の1つとして泳動距離が原点に近い場合、組織液を吸着させる濾紙片の処理方法の違いが考えられる。筆者は上澄液を吸わせた濾紙を泳動終了まではさんでおくのに対し、Grant (1981) はマーカが1 cm 程泳動した後に濾紙を取り除き、再びでんぷんゲルを密着させて泳動させている。そこで *sMDH-1**100/100 の個体と *sMDH-1**-27/100 の個体を用いて泳動し、濾紙を取り除かない場合と取り除いた場合について実験を行った (Fig.17a,b)。その結果、*sMDH-1**100/100 の個体では取り除かなかった場合には陽極側に1本のバンドが染

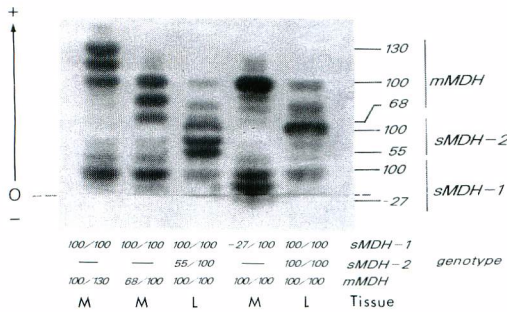


Fig.16. Photograph of electrophoretic patterns of malate dehydrogenase (MDH) in muscle tissue (M) and liver tissue (L).

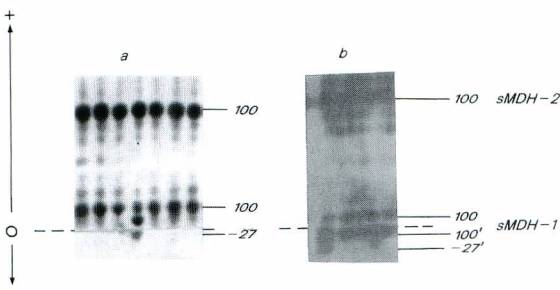


Fig.17. Comparison of electrophoretic patterns of *sMDH-1*. a: wicks were not moved out to the end of electrophoresis, b: wicks were moved out ten minutes later after power supplied.

色され、陰極側には何も出現しなかったが、濾紙を途中で取り除いた場合には原点付近で陽極側に1本、陰極側に1本の計2本のバンドが認められる。次に変異のある個体(*sMDH-1*7/100*)を用いた場合、取り除かない時には *sMDH-1*100* に相当するアロザイムとヘテロダイマーは陽極側に、対立遺伝子 *sMDH-1*27* に相当するアロザイムは陰極側に泳動し、全体で3本のバンドが見られる。これに対し、濾紙を取り除いた場合には *sMDH-1*100* に相当するアロザイムは陽極側に、ヘテロダイマーと *sMDH-1*27* に相当するアロザイムは陰極側に泳動し、陰極側には1遺伝子座に相当するあわせて3本のバンドが出現した。Grant (1981) は原点付近の陰極側に出現したアイソザイム系を1つの遺伝子座と解釈して、これを *Mdh-1* とし、さらに陽極側のアイソザイム系を *Mdh-2* と解釈したと推定され、これが遺伝子座数に差異が生じた要因と推定される。

n. マリックエンザイム (1.1.1.40 Malic enzyme ; MEP)

筋肉及び心臓で活性が高く陽極側に泳動する2つのアイソザイム系が出現する。陽極寄りに泳動するアイソザイム系はミトコンドリア型 (*mMEP*)、原点側の方は可溶性型 (*sMEP*) と推定される。MEP は4量体で5本バンドの異型接合体と1本バンドの同型接合体が出現し、*sMEP* では2個、*mMEP* では4個の対立遺伝子が検出された (Fig. 18)。なお、*sMEP*155* の泳動距離は *mMEP*100* より大きく、これらのアイソザイムバンドの位置が重なって出現するため、*sMEP*155* を持つ個体では *mMEP* の判読が困難となり、この型の個体の *mMEP* の遺伝子型の判定は行わなかった。

o. マンノースフェイトイソメラーゼ (5.3.1.8 Mannose-6-phosphate isomerase ; MPI)

筋肉でより活性が高く、陽極側に泳動する1本バンドが出現する。本研究では変異性が認められなかったが、サケ属等他魚種では単量体と推定される2本バンドと1本バンドの変異が検出されている。

p. オクタノール脱水素酵素 (1.1.1.73 Octanol dehydrogenase ; ODH)

肝臓で陽極側に泳動する1つのアイソザイム系が出現する。*ODH* では3本バンドと1本バンドのものが出現することから2量体と推定される。5個の対立遺伝子が検出され、そのうち *ODH*70* は *SOD*100* とほぼ同位置にあることから *SOD* により発色が阻害され発色が薄れるので注意して型判定が必要がある (Fig. 19)。*ODH* は変異性が高く、集団解析に应用が期待された遺伝子座であった

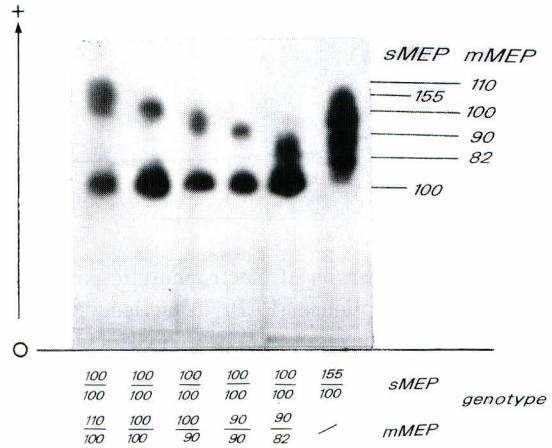


Fig. 18. Photograph of electrophoretic patterns of malic enzyme (ME) in muscle tissue.

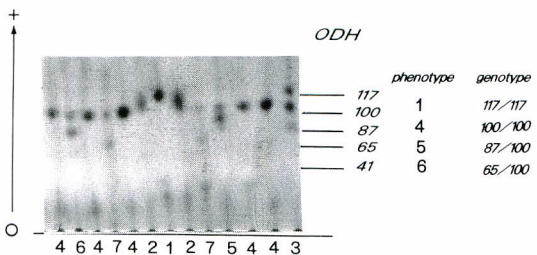


Fig. 19. Photograph of electrophoretic patterns of octanol dehydrogenase (ODH) in liver tissue.

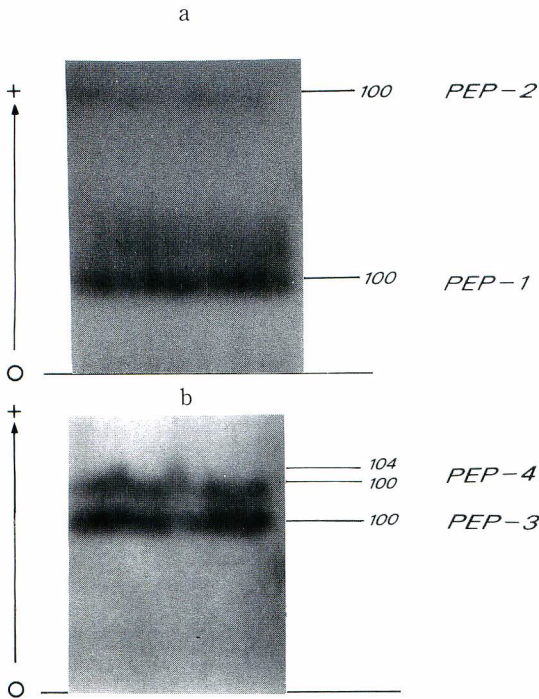


Fig.20. Photograph of electrophoretic patterns of peptidase (PEP) using leucylglycylglycine for PEP-1, glycylleucine for PEP-2, and phenylalanylproline for PEP-3 and PEP-4 as substrates.

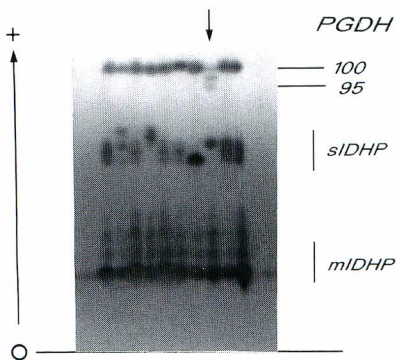


Fig.21. Photographs of electrophoretic patterns of phosphogluconate dehydrogenase (PGDH) in liver tissue. Arrow indicates the valiant alleles.

が基質であるオクタノールのロットによって染色の程度が著しく異なったことにより全標本について解析することができなかった。

q. ペプチダーゼ (3.4.11 Peptidase ; PEP)

ペプチダーゼは用いたどの組織でも検出されたが、筋肉で活性が比較的高かった。基質にグリシルロイシンを使った場合 (PEP-1)、陽極側に泳動する1つのアイソザイム系が出現し、3対立遺伝子が認められた (Fig.20a)。この酵素は2量体とみられるが (Grant, 1981)、異型接合体のサブユニット構成はでんぶんゲル上のバンドのパターンからは明瞭でないため、確定するには至らなかった。

ロイシルグリシルロイシンを基質として使った場合 (PEP-2)、陽極側に泳動する1つのアイソザイム系のみみられる。1本バンドは同型接合体、3本バンドは異型接合体を示す1遺伝子座に支配されていると考えられ、2対立遺伝子が検出された。サブユニット構成は2量体と推定される (Fig.20a)。フェニールアラニルプロリンでは陽極側に2つのアイソザイム系が出現した。泳動距離の大きいアイソザイム系では3個の対立遺伝子が、小さい方では2個の対立遺伝子が検出された (Fig.20b)。

r. フォスフォグルコン酸脱水素酵素

(1.1.1.44 Phosphogluconate dehydrogenase ; PGDH)

筋肉、心臓、肝臓のいずれでも比較的高活性が強く、陽極側に泳動する1つのアイソザイム系が出現する。1本バンドと3本バンドからなり、2量体と推定される。3個の対立遺伝子が検出されたが、変異性は低かった (Fig.21)。

s. フォスフォグルコムターゼ (5.4.2.2 Phosphoglucomutase ; PGM)

筋肉、心臓で活性が高く、陽極側に泳動する1つのアイソザイム系が出現する。CA 緩衝液では、同型接合体は1本バンド、異型接合体は2本バンドで発現するが、RW 緩衝液では同型接合体は2本バンド、異型接合体は3本または4本バンドとなり、どのバンドにもサテライト

バンドが1つ出現した (Fig. 22a, b).

PGM は変異性が高く 7 個の対立遺伝子が検出され, アジア側では $PGM*100$ が卓越し, アメリカ大陸側では $PGM*82$ が卓越して出現した (Fig. 23). PGM について Utter (1972) は太平洋ニシンで筋肉と肝臓のそれぞれに特有の 2 個の遺伝子座を検出し, 陰極側の肝臓の遺伝子座が多型であることを, また, Grant (1981) も筋肉および心臓で 2 遺伝子座を検出し, 2 遺伝子座ともに変異性が高いことを報告している. 大西洋ニシンについては, Lush (1969) は肝臓で 2 遺伝子座を検出し, 陽極側の遺伝子座が多型で

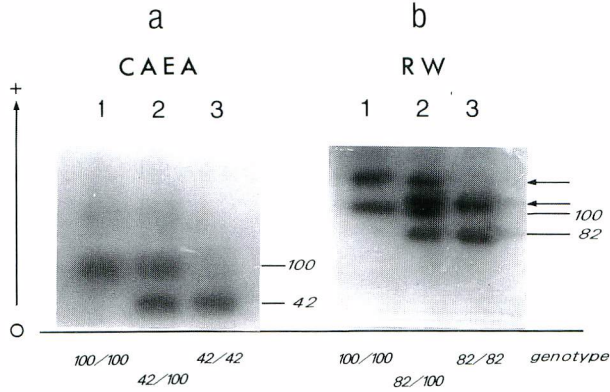


Fig. 22. Arrows indicate the faint satellite bands of PGM identified by different buffer systems (CA) and RW buffer systems. Three individuals were used. Phenotypes (I, II, III) in each buffer system show the same individual respectively. a: CA buffer system used b: RW buffer system used

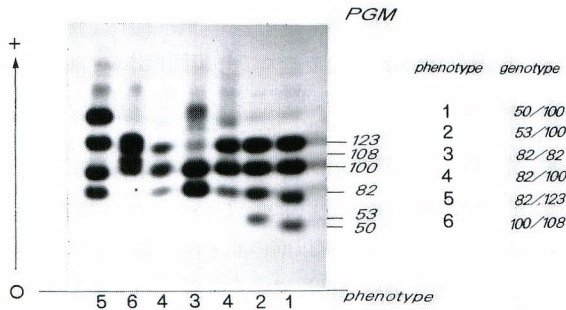


Fig. 23. Photograph of electrophoretic patterns of phosphoglucomutase (PGM) in RW buffer system.

あったことを、また、Kornfield *et al.* (1982) は筋肉だけで2遺伝子座を検出し、陽極側の遺伝子座が多型であったと報告している。本研究では、筋肉や肝臓ではともに同一の1遺伝子座支配のアイソザイムしか認めることができなかった。

t. ソルビトール脱水素酵素 (1.1.1.14 Sorbitol dehydrogenase ; SDH)

肝臓で活性が強く、陽極側に泳動する1本バンドの同型接合体と5本バンドの異型接合体からなる1つのアイソザイム系が出現する。SDHは大西洋ニシンで4量体であることがすでに報告されている(Engel *et al.*, 1970)。本研究では低頻度で見いだされる3個の対立遺伝子が検出されただけであった (Fig.24)。

u. スーパーオキシドディスムターゼ (1.15.1.1 Superoxide dismutase ; SOD)

SODはテトラゾリウム塩の非特異的染色で青く染まったゲル上に白く抜けたバンドとして検出される。陽極側に泳動する1本バンドの同型接合体と3本バンドの異型接合体が検出されたが、ニシンの変異性は低く、異型接合体は風運湖で1尾確認されたにすぎない。大西洋ニシンではLush (1969) およびAnderson *et al.* (1981) も同様な3本バンドの異型接合体を検出している (Fig.25)。

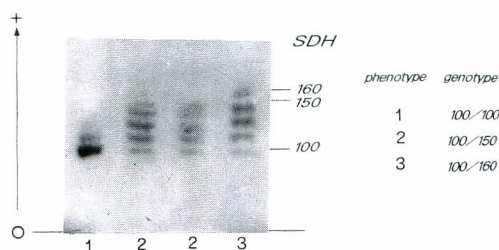


Fig.24. Photograph of electrophoretic patterns of sorbitol dehydrogenase (SDH).

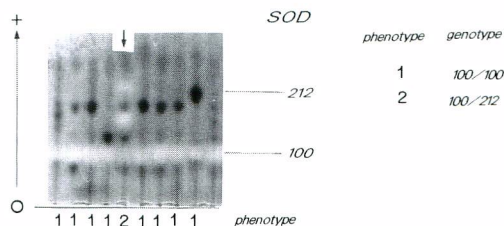


Fig.25. Photograph of electrophoretic patterns of superoxide dismutase (SOD). Arrow indicate the variant.

4 遺伝的変異と集団構造

アジア側の12集団標本と北米側の6集団標本のあわせて18集団標本について、16種類の酵素に関与する29遺伝子座について変異性を分析した。また、太平洋ニシンの集団構造の解析には、これら18集団標本に朝鮮半島東岸 (Grant and Zhang, 1983)、ベーリング海西部およびブリティッシュコロンビア (Grant, 1981) の3集団標本を加え、MPI, PEP-3, PEP-4, SDH の4遺伝子座を除く共通する25遺伝子座の対立遺伝子頻度を用いて遺伝的距離(D)を求め、D値から類縁関係を推定した。その結果、太平洋ニシンはアリューシャン列島を境にアラスカ湾以南の北米側の集団とベーリング海からアジア側にかけての集団に大きく2つのグループから構成されていることが明らかになった。

太平洋に分布するニシン集団の遺伝的変異の特性と集団構造をアジア側と北米側に分けて以下に詳述する。

4.1 アジア側のニシン集団の生化学的遺伝変異

4.1.1 多型的遺伝子座とハーディ・ワインバーグ平衡

アジア側の12集団標本について、分析した16酵素に関与している29遺伝子座の対立遺伝子頻度数を付表2に示した。

それぞれの標本で検出された表現型頻度がハーディ・ワインバーグ平衡で期待される遺伝子型頻度と矛盾しないかを χ^2 検定したところ、すべての標本のすべての遺伝子座で観察値が期待値の範囲内にあり、仮説は棄却されなかったことから、用いた標本はハーディ・ワインバーグ平衡にある任意交配集団から無作為に抽出されたものと推定された。このような集団標本を用いて以下の遺伝的変異性について検討した。

4.1.2 多型的遺伝子座と対立遺伝子頻度

変異は16酵素の22遺伝子座で検出され *GAPDH-1*, *GAPDH-2*, *GAPDH-3*, *G3PDH-2*, *G3PDH-3*, *LDH-1* それに *MPI* の4酵素7遺伝子座では変異が検出されなかった。また、5%以上の頻度で対立遺伝子を保持していた多型的遺伝子座は *ADA*, *EST-1*, *GPI*, *sIDHP*, *mMEP*, *PEP-4* および *PGM* の7遺伝子座で、このうち *GPI*, *sIDHP*, *mMEP* それに *PGM* の4遺伝子座は変異性が高く、すべての標本集団で多型を示した。この7つの多型的遺伝子座の対立遺伝子頻度数 (Table 5) の特徴は次のようである。

ADA: 5対立遺伝子が検出され、多型があったのは湖沼型の佐呂間湖, 能取湖, 風蓮湖, 湧洞沼, 尾駱沼の5標本すべてとテルペニア, 稚内の計7標本であった。しかし、変異の程度は小さく、*ADA**100遺伝子頻度は風蓮湖が0.875で最小であった。生活型では湖沼性地域型が0.875~0.944, 海洋性地域型が0.976~0.982, 海洋性広域型が0.973と海洋性の方がこの対立遺伝子頻度が高かった。

EST: 5個の対立遺伝子が検出されたが、*EST-1**100 以外は稀に出現した対立遺伝子であり、多型は尾駱沼だけで、その値は0.934であった。

GPI: 8対立遺伝子が検出され、このうち *GPI**100 と *GPI**139 とで95%以上を占めた。生活型別にみると *GPI**100 遺伝子頻度は海洋性地域型で0.902~0.911, 湖沼性地域型では0.753~0.800であり、海洋型でこの対立遺伝子頻度が高い。また、黄海では0.610とアジア側では最も低く、次いでデカストリの0.690と日本周辺より低い傾向がみられた。

sIDHP: 7対立遺伝子が検出され、*sIDHP**100 と *sIDHP**91 が卓越して出現した。海洋性地域型では *sIDHP**91 対立遺伝子が最高頻度であるが、湖沼性地域型では *sIDHP**100 がやや高いか同程度であった。テルペニアで *sIDHP**100 が *sIDHP**91 よりやや高く、北海道サハリンは逆に *sIDHP**91 が *sIDHP**100 よりやや高い。黄海は海洋性地域型に似た頻度数を示した。

mMEP: 4対立遺伝子が検出された。このうち黄海の集団標本では *mMEP**100 と *mMEP**90 がほぼ同じ割合で出現したが、その他の集団標本では *mMEP**100 が0.485~0.646と卓越して出現し、地域型では海洋性の万石浦, 石狩湾で *mMEP**100 の遺伝子頻度が湖沼性よりわずかながら高い傾向がみられたが、頻度数と集団の地理的分布との間には明瞭な傾向はみられなかった。

PEP-4: 3個の対立遺伝子が検出されたが変異性は低く、デカストリおよび能取湖の2集団標本だけに多型が検出され、それらの *PEP-4**100 の頻度数は0.950と0.944であった。

PGM: 4対立遺伝子が検出されたが *PGM**100 と *PGM**82 が併せて約99%を占め、このうち、黄海を除いて *PGM**100 の出現頻度がより高く、最高は石狩湾の0.759, 最低は万石浦の0.549で生活型と関連するような一定の傾向はみられなかった。変異性が必ずしも多型的水準に達していないと判定した遺伝子座のうち、*sAAT*, *sMEP* では海洋性地域型より湖沼性地域型の方が変異性がより高い傾向がみられた。

Table 5. Allelic frequencies at polymorphic loci in Asian population samples of Pacific herring.

Sample No. Population		1 Yellow Sea 100	4 Mangoku I. 82	16 Ishikari B. 97	5 L. Obuchi 99	6 L. Yudo 172	7 L. Furen 100	8 L. Notoro 81	9 L. Saroma 100	A DeKastri 200	11 Terpenia 100	B Hokkaido -Sakhalin 394
Sample size	Allele											
<i>ADA</i>	117	0.000	0.000	0.003	0.000	0.015	0.010	0.012	0.015	0.000	0.005	0.004
	110	0.000	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000	0.006	0.030	0.000	0.000	0.008
	100	0.965	0.982	0.976	0.914	0.944	0.875	0.926	0.895	0.978	0.940	0.973
	87	0.000	0.006	0.007	0.000	0.026	0.000	0.000	0.030	0.023	0.000	0.003
	78	0.035	0.012	0.014	0.030	0.015	0.115	0.056	0.030	0.000	0.055	0.012
<i>EST</i>	100	0.970	0.976	0.973	0.934	0.974	0.980	0.970	0.965	0.975	0.975	0.978
	98	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.005	0.016
	96	0.015	0.000	0.024	0.061	0.026	0.000	0.012	0.000	0.000	0.015	0.006
	93	0.005	0.024	0.003	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	90	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.018	0.035	0.000	0.000	0.000
<i>GPI</i>	175	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.001
	155	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
	139	0.390	0.098	0.082	0.242	0.209	0.185	0.235	0.195	0.300	0.225	0.237
	100	0.610	0.902	0.911	0.753	0.791	0.800	0.765	0.795	0.690	0.760	0.748
	48	0.000	0.000	0.007	0.000	0.000	0.010	0.000	0.010	0.008	0.000	0.006
	42	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.001
	20	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
	14	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
<i>sIDHP</i>	117	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.005	0.000	0.005	0.005	0.010	0.001
	106	0.080	0.006	0.048	0.061	0.064	0.050	0.068	0.060	0.052	0.060	0.052
	100	0.375	0.360	0.371	0.404	0.424	0.460	0.531	0.455	0.402	0.460	0.401
	91	0.510	0.542	0.500	0.419	0.442	0.360	0.296	0.390	0.443	0.400	0.442
	86	0.030	0.092	0.078	0.101	0.070	0.085	0.105	0.090	0.088	0.065	0.095
	82	0.005	0.000	0.000	0.015	0.000	0.040	0.000	0.000	0.010	0.005	0.008
	73	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>mMEP</i>	110	0.040	0.000	0.034	0.030	0.015	0.030	0.025	0.040	0.015	0.045	0.044
	100	0.415	0.610	0.646	0.570	0.564	0.500	0.581	0.485	0.618	0.485	0.557
	90	0.425	0.317	0.272	0.380	0.395	0.399	0.388	0.400	0.355	0.440	0.370
	82	0.120	0.073	0.048	0.020	0.026	0.071	0.006	0.075	0.012	0.030	0.029
<i>PEP-1</i>	104	0.010	0.018	0.000	0.020	0.006	0.005	0.056	0.000	0.045	0.010	0.025
	100	0.990	0.982	1.000	0.980	0.994	0.995	0.944	1.000	0.950	0.990	0.975
	95	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000
<i>PGM</i>	123	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.003
	108	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.005	0.000	0.000	0.001
	100	0.490	0.549	0.759	0.672	0.617	0.675	0.611	0.765	0.693	0.660	0.674
	82	0.510	0.451	0.241	0.328	0.363	0.315	0.389	0.230	0.305	0.340	0.322

4.1.3 集団における変異保有量

12集団標本中、変異が認められた遺伝子座の割合は0.28~0.59, 平均0.42 (標準偏差0.15) であった。多型的遺伝子座数は全体では4~6, 平均4.8であった。多型的遺伝子座率(P)で示すと0.14~0.21の間であり, 平均0.17であった。生活型でみると湖沼性地域型は5~6 (平均5.4), 海洋性地域型は4 (同4.0), 海洋性広域型では4, および中間型では5つが多型的遺伝子座であり, 湖沼性の集団が若干高い傾向がみられた (Table 6)。なお, 海洋性ではあるが回遊の規模の不明な稚内および黄海の多型的遺伝子座数はいずれも4であった。

平均ヘテロ接合体率(H)は, 最小の石狩の0.0634から最大の風蓮湖の0.0838の範囲にあり, 平均は0.0789であった。生活型でみると湖沼性地域型が0.0780~0.0838 (平均0.081), 海洋性地域型は0.0634~0.0656 (平均0.065), 海洋性広域型は0.0794および中間型は0.0773~0.0816 (平均0.0795) である。海洋性地域型のヘテロ接合体率が他の生活型に比べて小さく, 湖沼性地域型との間でその差は統計的に有意であった ($P < 0.01$)。このことは, 比較的小規模で隔離されながらも集団を維持している湖沼性集団が, 大集団であったと推定される海洋性集団よりも変異性に富んでいることを示しており, 海洋性の集団が近年, 急激に縮小したことによりびん首効果が生じたと考えられる (Table 6)。

Table 6. Ratio of polymorphic loci and heterozygosity of Asian population samples of Pacific herring used in this study.

Population	Number of variant loci	Proportion of variant loci	Number of polymorphic loci	Proportion of polymorphic loci (P)	Average heterozygosity (H)
Yellow Sea	12	0.41	4	0.14	0.0826
Mangoku I.	8	0.28	4	0.14	0.0656
Ishikari B.	10	0.35	4	0.14	0.0634
L. Obuchi	9	0.31	6	0.21	0.0812
L. Yudo	17	0.59	5	0.17	0.0780
L. Furen	15	0.52	5	0.17	0.0838
L. Notoro	10	0.35	6	0.21	0.0814
L. Saroma	12	0.41	5	0.17	0.0807
DaKastri	14	0.48	5	0.17	0.0773
Terpenia	11	0.38	5	0.17	0.0816
HokkaidoSakhalin	17	0.59	4	0.14	0.0794
Wakkanai	10	0.35	5	0.17	0.0799
Mean(unweighted)	12.1	0.42	4.8	0.17	0.0779
Max.	17	0.59	6	0.21	0.0838
Min.	8	0.28	4	0.14	0.0634

4.1.4 遺伝子頻度の均質性

各集団標本間の対立遺伝子頻度の均質性について χ^2 検定を行った結果, すべての集団標本間で少なくとも1遺伝子座に有意差が認められた (Table 7)。生活型別に有意差の検出された遺伝子座数は湖沼性地域型の集団標本間では2~4遺伝子座, 海洋性地域型間では1遺伝子座, 中間型の標本間では3であった。また, 4.1.2で述べたように各生活型に特異的な対立遺伝子頻度をもつ遺伝子座があることから, 生活型間で有意差のみられる遺伝子座数は, 湖沼性地域型は海洋性地域型の集団標本との間で平均3.8, 海

Table 7. Statistically significant loci detected by χ^2 test between each pair of Asian population samples.

Population	Ye	Ma	Is	Ob	Yu	Fu	No	Sa	De	Te	Ho
Yellow Sea	—										
Mangoku I.	EFG										
Ishikari B.	EGJ J										
L. Obuchi	AEF ADE AEH GJ F										
L. Yudo	EGJ DEF EGI AH H										
L. Furen	AEF AEF AEF AD ADF J HJ G										
L. Notoro	EFG EFG EFI AH AFI GI J										
L. Saroma	ADE AEF ADE DG ADG GIJ GIJ J G G J										
DeKastri	AFG DEG DEG AD DEI ADE ADF ADE J J I GI GI										
Terpenia	BEG BEF ABE AB AB B B BD ABG J G G										
Hollaido Sakhalin	EFG EFG EGJ ADH ADJ AFG AF ADG AG AB J HJ										
Wakkanai	EGJ EFH ACE DH A A F DG AC B AC J G										

* : Significant difference at $\alpha=0.01$.

** : A : ADA, B : sAAT-1, C : mAAT-2, D : EST, E : GPI, F : sIDHP, G : mMEP, H : PEP-1, I : PEP-4, J : PGM

洋性広域型との間で2.8, 中間型との間では2.6であった。また, 地域性海洋型は海洋性広域型および中間型との間にともに4.0, 海洋性広域型と中間型との間に平均2.0の遺伝子座で有意差が認められた。さらに, 黄海は他の集団標本との間に3~6 遺伝子座 (平均3.9), 稚内では1~4 遺伝子座 (平均2.0) に有意差が検出された。

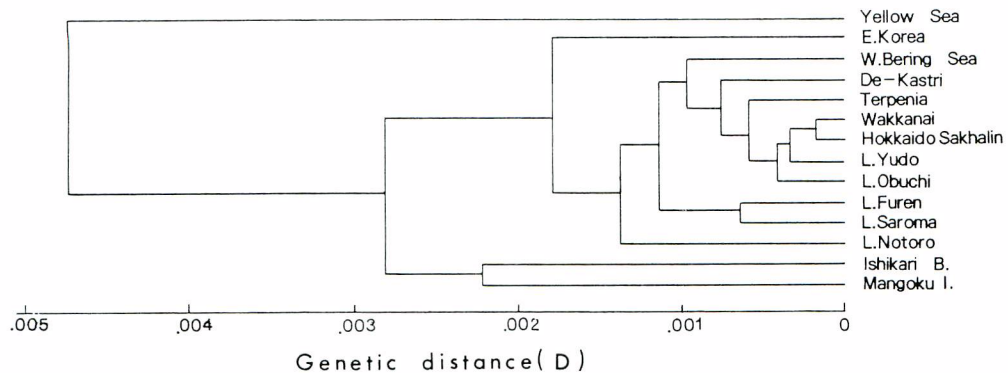
均質性の検定結果は各集団が遺伝的に独立している可能性が高いことを示唆した。この要因としては産卵時期の違い, 海流系の不連続性, 地形などが考えられる。たとえば風蓮湖と佐呂間湖および尾駁沼と湧洞沼では産卵場が隣接しているものの産卵時期に約1ヶ月の時間的差がある。能取湖と佐呂間湖では地理的に近く産卵時期もほぼ同じであるが, 能取湖集団の産卵場である能取湖の湖口は越冬期から産卵期にかけて漂砂で閉塞されて外海と隔離されることから交流が起りにくい(菅野, 1983b)と考えられる。しかしながら, 標識放流結果に示されるように索餌回遊域が, 同じ生活型の集団と重なるような場合には(近藤, 1957)これらの集団間で交流がある可能性がある。しかしながら, 各集団は固有の遺伝子頻度組成を有していることから, 交流は遺伝子頻度を均一化させない程度と推定される。

4.1.5 集団間の遺伝的距離(D)と集団構造

コルフォ湾と韓国東岸の集団(Grant, 1981; Grant and Zhang, 1983)を加えた14集団について, 25 遺伝子座の対立遺伝子頻度数から求めたD値 (Table. 8) は, 北海道サハリンと稚内との間で最小の

Table 8. Nei's standard genetic distances ($D \times 10^4$) between Asian population samples of Pacific herring based on 25 loci.

Population	Ye	Ko	Ma	Is	Ob	Yu	Fu	No	Sa	De	Te	Ho	Wa
Yellow Sea													
Korea-E	757												
Mangoku I.	528	462											
Ishikari B.	910	227	219										
L. Obuchi	375	143	251	225									
L. Yudo	331	197	160	208	48								
L. Furen	475	226	314	265	98	89							
L. Notoro	453	187	350	404	117	101	106						
L. Saroma	596	188	411	213	107	134	66	203					
DeKastri	378	112	327	270	65	92	192	163	174				
Terpenia	327	233	301	307	66	50	54	99	90	127			
Hokkaido Sakhalin	347	139	221	190	36	31	100	124	103	36	54		
Wakkanai	348	166	265	223	38	39	73	137	80	65	41	19	
W. Bering Sea	572	140	307	147	72	102	141	235	102	91	130	62	57

**Fig.26.** Cluster analysis (UPGMA) of genetic distance (D) based on 25 loci between population samples collected in Asian side of Pacific herring.

0.00019から黄海と石狩湾の間の最大0.00910の範囲であった。得られたD値からUPGMA法 (Sneath and Sokal, 1973) で標本群間の類縁関係を求め、デンドログラムとして表した (Fig.26)。まず、黄海の集団はD値が約0.005で分かれ、次いで海洋性地域型である石狩湾と万石浦がD値0.003で他の集団と分離した。さらにD値が0.0018で韓国東岸の集団が分かれた。その後、湖沼性の能取湖、風蓮湖および佐呂間湖の集団が分離した。残りの集団は海洋性と湖沼性、広域型と地域型が混在しており、地理的にもベーリング海西部、サハリン西岸、北海道、本州と水域が広い範囲にわたっている。しかしながら湖沼性と海洋性の中間型に分類されたテルペニアとデカストリの集団は近い位置にあり尾駈沼と湧洞沼の太平洋側に分布する湖沼性集団も近い関係にある。このように、遺伝的類縁関係を示すデンドログラムは同一生活型の集団が比較的近い関係にあることを示している。一方、海洋性広域型の北海道サ

ハリン集団が湖沼性地域型の尾駱沼、湧洞沼の集団と近い関係にあるのは海洋性集団と湖沼性集団との関係を示唆していると考えられ、5.3で両者の関係を推論した。

4.2 北米大陸側のニシン集団の生化学的遺伝変異

4.2.1 多型的遺伝子座とハーディ・ワインバーク平衡

検討した北米側の6集団標本の29遺伝子座の対立遺伝子頻度数を付表2に示した。

それぞれの標本について検出された表現型頻度がハーディワインバーク平衡で期待される遺伝子型頻度と矛盾しないか χ^2 で検定した結果、すべての遺伝子座で観察値は期待値の範囲内にあり、用いた標本はどれも任意交配の行われていた単一の集団から抽出された個体からなるものと推定された。

6標本で変異が検出されたのは17酵素に関与している18遺伝子座で、このうち5%以上の頻度で対立遺伝子が認められた多型的遺伝子座は *ADA*, *EST*, *GPI*, *GAPDH-1*, *sIDHP*, *mMEP*, *sMDH-2*, *PEP-4* および *PGM* の9遺伝子座で、ベーリング海の集団の6遺伝子座 ($P=0.21$) に対し、コディアック島以南の北東太平洋では7~8遺伝子座 ($P=0.24\sim 0.28$) とやや多かった。また、*ADA*, *GPI*, *sIDHP*, *mMEP* と *PGM* の5遺伝子座は両海域で多型が認められた。

4.2.2 多型的遺伝子座の対立遺伝子頻度

前述の多型的遺伝子座のうち、*ADA*, *GAPDH-1*, *sIDHP*, *mMEP* および *PGM* の5遺伝子座ではアラスカ半島およびアリューシャン列島を境にして北部のベーリング海と南部の北東太平洋の両海域の集団標本間に大きな特徴が認められる (Table 9, Fig.27)。その特徴について遺伝子座別に述べる。

ADA；5個の対立遺伝子が検出され、このうちベーリング海における各集団標本は、対立遺伝子 *ADA*100* の頻度数が0.925~0.928と卓越して出現した。一方、コディアック島以南の各集団標本では *ADA*100* と *ADA*87* の対立遺伝子とが、それぞれほぼ半数を占め、コディアック島では *ADA*100* が0.565であったのに対して、*ADA*87* が0.430と若干低く、シトカ以南の集団標本では逆に *ADA*87* が0.505~0.523に対して *ADA*100* が0.436~0.485であり、北部の集団ほど *ADA*100* の割合が高いことを示した。

GAPDH-1；ベーリング海の各集団標本では、この遺伝子座の変異性がきわめて低く、プリストル湾の集団標本に *GAPDH-1*100/-182* の個体が1尾検出された。それに対して、コディアック島では対立遺伝子 *GAPDH-1*182* の頻度が0.480と約半分を占め、さらにシトカでは0.670、ピューゼット湾で0.830、サンフランシスコ湾では0.825と南部ほど高い割合を示し、アラスカ半島およびアリューシャン列島を境にして、この遺伝子座の頻度組成に南北で著しい違いがみられた。

sIDHP；8個の対立遺伝子が検出され、このうちの3個の対立遺伝子の頻度数に特徴が認められた。すなわち、ベーリング海の標本集団では対立遺伝子 *sIDHP*91* の頻度が0.524~0.565と卓越し、次いで *sIDHP*100* が0.310~0.363であったのに対しコディアック島以南の標本集団では *sIDHP*100* が0.479~0.515と卓越し、次いで *sIDHP*82* が0.305~0.400であった。

mMEP；5個の対立遺伝子が検出され、このうちベーリング海の標本集団では *mMEP*100* の頻度が0.458~0.480、*mMEP*90* が0.505~0.518と両者がほぼ同じ高い割合で出現したのに対して、コディアック島以南では *mMEP*100* が0.770~0.865と卓越して出現し、*GAPDH-1* とは反対に北東太平洋での対立遺伝子の分化が小さかった。また、*mMEP*43* はベーリング海では出現しなかったが、北東太平洋ではいずれの標本においても低い頻度ながら出現した。

PGM；6対立遺伝子が検出され、このうちの *PGM*100* と *PGM*82* の2つの対立遺伝子で頻度が1ないし0.995を占め、これ以外の対立遺伝子が出現するのは稀であった。海域別にみるとベーリング海

Table 9. Allelic frequencies at polymorphic loci in North eastern Pacific population samples of Pacific herring.

Sample No. Population		17 San Fran cisco B.	18 Puget S.	19 Sitka I.	20 Kodiak I.	21 Bristol B.	22 Norton S.
Sample size		100	100	100	100	84	100
Locus	Allele						
<i>ADA</i>	117	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005
	110	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000
	100	0.480	0.470	0.485	0.565	0.928	0.925
	87	0.505	0.565	0.510	0.430	0.030	0.010
	78	0.015	0.010	0.000	0.005	0.042	0.060
<i>EST</i>	100	0.935	0.905	0.930	0.955	0.982	0.965
	98	0.000	0.000	0.055	0.035	0.012	0.025
	96	0.010	0.095	0.000	0.005	0.006	0.010
	93	0.055	0.000	0.015	0.000	0.000	0.000
<i>GPI</i>	175	0.000	0.000	0.005	0.005	0.000	0.000
	139	0.180	0.215	0.160	0.210	0.274	0.245
	100	0.815	0.765	0.815	0.770	0.720	0.755
	71	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	48	0.000	0.015	0.020	0.015	0.006	0.000
	42	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>GAPDH-1</i>	-182	0.825	0.830	0.670	0.480	0.006	0.000
	-100	0.175	0.170	0.330	0.520	0.994	1.000
<i>sIDHP</i>	117	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000
	106	0.000	0.005	0.005	0.010	0.060	0.050
	100	0.495	0.485	0.510	0.515	0.363	0.310
	91	0.090	0.125	0.115	0.165	0.524	0.565
	86	0.005	0.000	0.010	0.000	0.053	0.045
	82	0.400	0.385	0.360	0.305	0.000	0.030
	73	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	67	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>mMDH</i>	100	0.960	0.975	0.935	0.925	0.994	1.000
	55	0.040	0.025	0.065	0.075	0.006	0.000
<i>mMEP</i>	110	0.045	0.035	0.030	0.025	0.012	0.010
	100	0.865	0.815	0.795	0.770	0.458	0.480
	90	0.050	0.095	0.155	0.180	0.518	0.505
	82	0.010	0.020	0.000	0.010	0.012	0.005
	43	0.030	0.035	0.020	0.015	0.000	0.000
<i>PEP-4</i>	104	0.010	0.030	0.005	0.020	0.083	0.105
	100	0.990	0.970	0.9950	0.980	0.917	0.895
<i>PGM</i>	123	0.005	0.005	0.005	0.000	0.000	0.000
	100	0.260	0.255	0.290	0.250	0.720	0.725
	82	0.730	0.725	0.680	0.740	0.280	0.275
	71	0.005	0.015	0.025	0.000	0.000	0.000
	53	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000
	28	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000

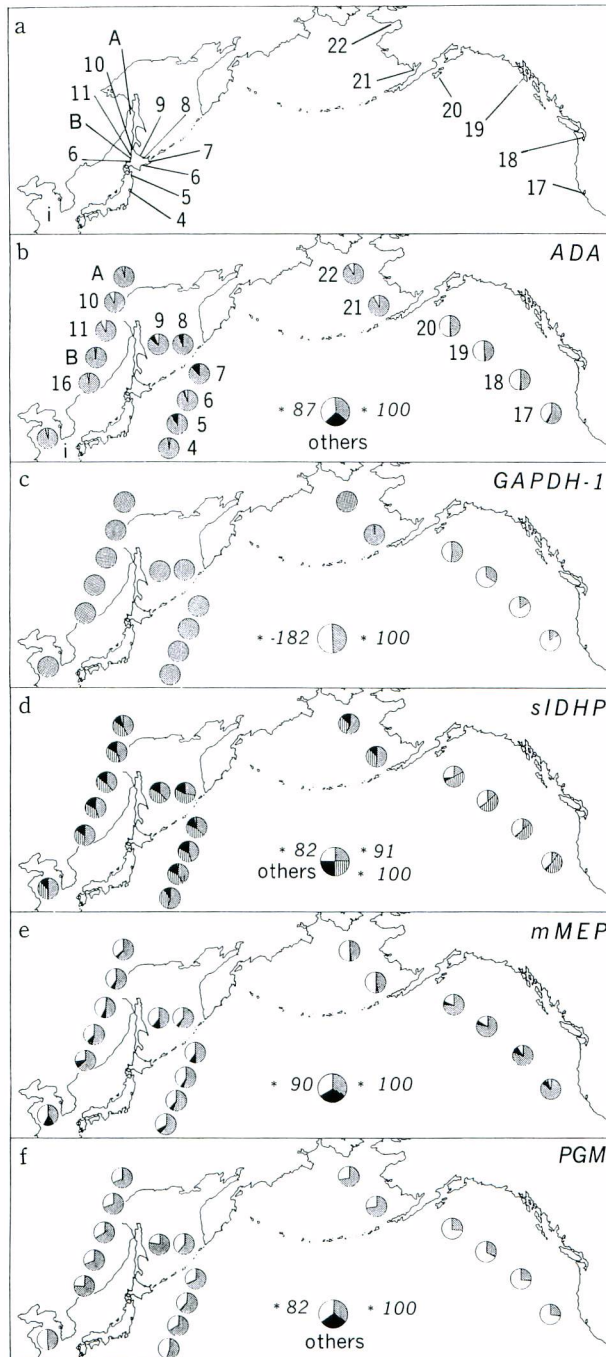


Fig.27. Maps showing the sampling locations (a) and the composition of allelic frequencies of *ADA*(b), *GAPDH-1*(c), *sIDHP*(d), *mMEP*(e) and *PGM*(f).

の集団標本間では対立遺伝子 *PGM*100* の頻度が0.720~0.725に対して、*PGM*82* の頻度が0.275~0.280であったが、北東太平洋の集団標本間では *PGM*100* の頻度が0.255~0.300と低く、それに伴い *PGM*82* の頻度は0.700~0.730と高い頻度で出現した。このように卓越して出現した対立遺伝子が両海域間で置換されていた。

この他の多型を示した遺伝子座のうち、*GPI* では *GPI*100* の頻度数が南に分布する集団ほど高い傾向がみられた。*PEP-4* はベーリング海の集団標本で多型を示したが北東太平洋の集団標本での変異の割合は5%未満であった。一方、変異性が必ずしも多型的水準には達していないと判定した遺伝子座では、*sAAT*、*EST*、*sMDH-2* において北東太平洋の集団の方がベーリング海の集団よりも変異性が高い傾向がみられた。

このように、集団標本の遺伝的組成は *ADA*、*GAPDH-1*、*sIDHP*、*mMEP* および *PGM* の5遺伝子座でベーリング海とアラスカ湾以南の北東太平洋のそれぞれの海域では著しい相違がみられるが、それぞれの海域内ではよく類似していることを示した。なかでも、北東太平洋では北部のコディアック島から南部のサンフランシスコ湾まで約3,000kmにわたり、飛石的に集団が分布しているが、遺伝子頻度組成にはアジア側の集団でみられた不連続性は認められず、対立遺伝子頻度数には地理的勾配が認められた。

4.2.3 集団における変異保有量

多型の遺伝子座率(P)はベーリング海ではともに0.21、北東太平洋では0.24~0.28、平均0.25で、ベーリング海よりも高い (Table 10)。平均ヘテロ接合体率(H)は最小のノートン湾の0.0803から最高のコディアック島の0.1086の範囲にあった。海域別にみるとベーリング海の集団では0.0803~0.0814 (平均0.081標準偏差0.001)、北東太平洋の集団では0.0923~0.1086 (平均0.102標準偏差0.007) となり、平均ヘテロ接合体率は北東太平洋の集団の方が大きかった (Table 10)。この要因として変異性が大きかった6遺伝子座のうち、*mMEP* ではベーリング海の集団で変異性が高かったものの、*ADA* および *GAPDH-1* で北東太平洋の集団だけに変異性が著しく高かったことが上げられる (Table 9)。

4.2.4 遺伝子頻度の均質性

各標本間の対立遺伝子頻度の均質性について χ^2 検定を行った結果、ベーリング海の標本間では有意差の認められる遺伝子座はなかった。この要因としてはアラスカ側の集団は産卵後、夏までは沿岸域で過ごす、秋の終わり頃からともにプリビロフ諸島周辺海域に回遊して越冬するので、越冬場で集団間の

Table 10. Ratio of polymorphic loci and heterozygosity of North eastern Pacific population samples of Pacific herring.

Population	Number of variant loci	Proportion of varinat loci	Number of polymorphic loci	Proportion of polymorphic loci (P)	Average heterozygosity (H)
San Francisco B.	14	0.48	7	0.24	0.0923
Puget S.	15	0.52	7	0.24	0.1028
Sitka I.	13	0.45	8	0.28	0.1035
Kodiak I.	16	0.55	7	0.24	0.1086
Bristol B.	12	0.41	6	0.21	0.0814
Norton S.	9	0.31	6	0.21	0.0803
Mean (unweighted)	13.2	0.46	6.8	0.24	0.0948
Max.	16	0.55	8	0.28	0.1086
Min.	9	0.31	6	0.21	0.0779

Table 11. Statistically significant loci detected by χ^2 test between each pair of North eastern Pacific population samples.

Population	Sa	Pu	Si	Ko	Br
San Francisco B.					
Puget S.	D				
Sitka I.	DGK	DIK			
Kodiak I.	DGK	DK	K		
Bristol B.	ADFGIJK	ADFGIJKL	AEFGIJKL	ADFGHJK	
Norton S.	ADFGIJKL	ADFGIJK	AFGIJKL	AFGIJKL	—

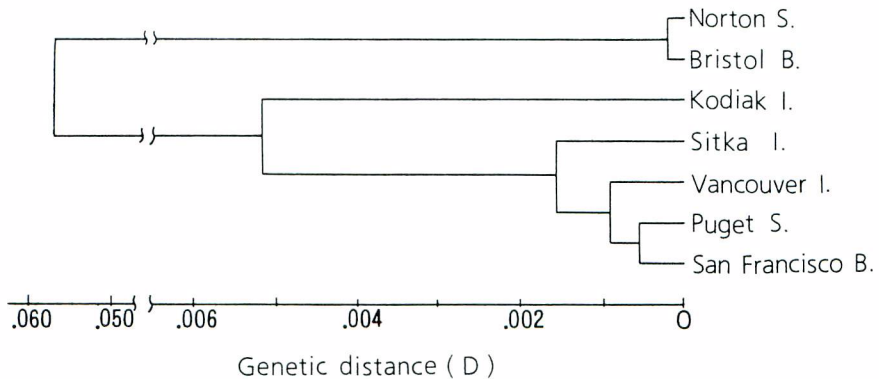
* : Significant difference at $\alpha=0.01$.

** : A : *ADA*, D : *EST*, E : *GPI*, F : *sIDHP*, G : *mMEP*, H : *PEP-1*, I : *PEP-4*, J : *PGM*, K : *GAPDH-1*, L : *mMDH*

Table 12. Nei's standard genetic distances ($D \times 10^4$) between North eastern Pacific population samples of Pacific herring based on 25 loci.

	San Fran- cisco Bay	Puget Sound	Vancou- ver I.*	Sitka I.	Kodiak Island	Bristol Bay
Pu.	56					
Va.*	83	99				
Si.	176	201	97			
Ko.	689	687	456	241		
Br.	6856	6665	6106	5219	3802	
Norton S.	6952	6770	6204	5324	3909	24

* : Allelic Frequency data cited from Grant (1981).

**Fig.28.** Cluster analysis (UPGMA) of genetic distance (D) based on 25 loci between 7 population samples of Pacific herring collected in North eastern Pacific.

混合の可能性がある。このベーリング海の集団標本は北東太平洋の集団標本とに7~8遺伝子座の有意差が認められた。また、北東太平洋の集団標本間では1~3遺伝子座に有意差が検出され、各集団が遺伝的に独立している可能性が高いことを示している (Table 11)。しかし、対立遺伝子頻度数には地理的な勾配が認められ、隣接する集団間で遺伝子の交換が行われている可能性が考えられる。

4.2.5 集団間の遺伝的距離(D)と集団構造

アラスカ、ワシントン、カリフォルニアの6集団に、ブリティッシュコロンビアのバンクーバー島の集団 (Grant, 1981) を加えて遺伝的距離(D)を求め、集団間の類縁関係を検討した。D値はブリストル湾とノートン湾の0.00024が最小で、ついでサンフランシスコ湾とピュージェット湾の0.00056であり、ベーリング海と北東太平洋の南部では隣接する集団間で遺伝的分化の時間が短いことを示している。しかし、ベーリング海と北東太平洋との集団間では0.05219~0.06952と大きな値を示した (Table 12)。これらのD値を基に集団間の類縁関係をデンドログラムで示した。Fig.28は北米大陸側の集団がアラスカ半島およびアリューシャン列島をはさんでベーリング海の集団とアラスカ湾以南の北東太平洋の集団との2つのグループに分かれていることを示している。北東太平洋では遺伝的類縁関係に対立遺伝子頻度数の地理的な勾配が反映されている。

4.3 太平洋ニシンの変異保有量

4.3.1 平均ヘテロ接合体率(H)

アジア側の集団は Table 6に、北米側の集団は Table.10に各集団標本の平均ヘテロ接合体率を示した。最大はコディアック島の0.1086、最小は石狩湾の0.0634であった。さらに遺伝的に類似しているアジアおよびベーリング海と北東太平洋に区分した集団間で平均ヘテロ接合体率を求めたところ、アジアおよびベーリング海の集団標本全体の平均値が0.0783、北東太平洋が同じく0.1018と後者が大きかった (Table 14)。

本研究で解析した18集団標本から推定した太平洋ニシン全体の平均ヘテロ接合体率 (H_s) は0.084 (標

Table 13. Comparison of the values of heterozygosity of fish populations.

Species	H			Author
	Min.	Max.	Mean(H_s)	
<i>Oncorhynchus keta</i>				
Japanese population	0.0319	0.0505	0.040	Okazaki (1982)
North American popu.	0.0532	0.0714	0.0622	Okazaki (1982)
<i>Plecoglossus aitivelis</i>	0.011	0.061		Seki <i>et al.</i> (1988)
<i>Ammodytes personatus</i>				
South from Miyagi	0.0016	0.00243	0.0089	Okamoto <i>et al.</i> (1988)
North from Iwate	0.1099	0.1355	0.1248	Okamoto <i>et al.</i> (1988)
<i>Tribolodon hakonensis</i>	0.019	0.085	0.041	Hanzawa <i>et al.</i> (1988)
<i>Acanthopagurus schlegeli</i>	0.061	0.087		Sugama <i>et al.</i> (1989)
<i>Pagrus major</i>	0.098	0.128	0.113	Taniguchi and Sugama (1990)
<i>Trachurus japonicus</i>	0.023	0.045	0.033	Kijima <i>et al.</i> (1985)
<i>Chrysophrys auratus</i>	0.079	0.084		Smith <i>et al.</i> (1978)
<i>Clupea pallasii</i>	0.0634	0.1086	0.0840	<i>Present report</i>

準偏差0.017)であった。これを Table 13に示したシロサケ、アユ、イカナゴ、ウグイ、クロダイ、マダイ、マアジ、ニュージーランドスナッパー、サンマ、マサバ、ヒラメと平均ヘテロ接合体率 (H_s) を比較すると、日本系シロサケ、マアジ、ウグイの約2倍であり、クロダイ、宮城県以南のイカナゴ、ニュージーランドスナッパー、マサバとほぼ同程度である。しかし、マダイや岩手県以北のイカナゴ、サンマよりは小さい。さらに Fujio and Kato (1979) の調べた8目41種の平均値0.059, Powell (1975) の調べた硬骨魚31種の平均値0.058と比較すると、約1.4倍であり、ニシンの平均ヘテロ接合体率は魚類の中では比較的大きいことが明らかになった (Table 14)。

4.3.2 遺伝子分化指数 (G_{ST})

本研究で用いた18集団標本全体の平均遺伝子頻度から求めた平均ヘテロ接合体率 (H_t) および各標本群の平均ヘテロ接合体率 (H) の平均 (H_s) はそれぞれ0.0979, 0.0835となり、 G_{st} は0.147であった (Table 14)。この G_{st} 値は、前述したように主としてアジア・ベーリンググループと北東太平洋グループの間の遺伝的隔離に基づくものである。この両海域間の *ADA*, *GAPDH-1*, *sIDHP*, *mMEP* の遺伝子頻度組成の大きな差がD値に示されており、遺伝的分化が進んでいることが認められる。その他の魚種について求められた G_{st} 値は、シロサケで0.0723 (Okazaki, 1982), マダイで0.009 (Taniguchi and Sugama, 1990) であり、これらの値と比較して、太平洋ニシンの集団間の分化が大きいたことが示された。

4.3.3 固定指数 (F_{ST})

前述したように太平洋ニシンの各集団はベーリング海とアジア側の集団と北東太平洋との集団との間

Table 14. The indices of genetic divergence of two major Pacific herring groups; Asian and Bering Sea group, and North eastern Pacific Ocean group.

	Asia and Bering Sea group	Eastern-North Pacific group	Over all population
Ht	0.0798	0.1037	0.0979
Hs	0.0783	0.1018	0.0835
Dst	0.0155	0.0019	0.0144
Gst	0.0194	0.0187	0.1465

Table 15. Comparison of fixation index (F_{ST}) in each allele between two major Pacific herring populations; Asian and Bering Sea group, and North eastern Pacific Ocean group.

	Asian and Bering Sea group	North eastern Pacific group	Over all population
<i>ADA*100</i>	0.0187	0.0019	0.2730
<i>EST*100</i>	0.0060	0.0004	0.0140
<i>GPI*100</i>	0.0325	0.0008	0.0266
<i>GAPDH-1*-100</i>	0.0060	0.0273	0.7186
<i>sIDHP*100</i>	0.0126	0.0002	0.0162
<i>sMDH-2*100</i>	0.0044	0.0005	0.0467
<i>mMEP*100</i>	0.0183	0.0016	0.0732
<i>PEP-4*100</i>	0.0388	0.0001	0.0347
<i>PGM*100</i>	0.0263	0.0003	0.1385
Mean	0.0182	0.0037	0.1491

で遺伝的に大きな違いがみられた。Table 15に示した多型的遺伝子座のうちで最も卓越して出現した対立遺伝子の固定指数を2つのグループに分けて計算すると、それらの平均値はアジア・ベーリンググループでは0.0182、北東太平洋グループでは0.0037となり、前者で大きいことがわかった。これは *GPI*, *PEP-4*, *PGM* の卓越して出現する対立遺伝子の頻度数の差に大きく起因している。太平洋全体では平均値は0.1491とさらに大きな値を示す。これは遺伝子分化指数で記したように *ADA*, *GAPDH-1*, *sIDHP*, *mME* の各遺伝子座における卓越して出現する対立遺伝子が両グループ間で置換されていることを反映しているとみてよいであろう。

F_{ST} については日本周辺および東支那海のマダイでも地域間で平均値に違いが認められているが (Taniguchi and Sugama, 1990)、太平洋ニシンよりは海域間の差は小さい。また、本研究で得られた F_{ST} 値はサケ (沼知, 1984) よりも大きい結果が得られた。

4.3.4 集団間の遺伝的距離と集団構造

太平洋ニシンの分布域のうち、オホーツク海北部水域を除くほぼ全海域から採集した集団標本から遺伝的距離 (D) (付表4) を求め、そのD値を用いて遺伝的類縁関係をデンドログラムに示した (Fig. 29)。それによると、太平洋ニシンの各集団はD値が0.054でアラスカ湾以南の北東太平洋グループとアジア・ベーリンググループとに大別される。アジア・ベーリンググループの集団標本と北東太平洋グループの各集団標本間のD値の平均は最小がコディアック島間で0.0335、最高はサンフランシスコ湾と間の0.0625であり、各グループ間内のD値としては最大の黄海と石狩湾と間の0.0091よりも著しく大きい。また、ベーリング海の東部のプリストル湾およびノートン湾の各集団と西部のゴルフ湾の集団間のD値が0.00118および0.00114と比較的小さいが、デンドログラムでは離れて位置している。これはゴルフ湾の集団標本の遺伝子頻度組成がむしろ稚内、北海道サハリン、尾駱沼、デカストリの集団標本の遺伝子頻度組成により似ていることにある。このように太平洋のニシン集団の構成はアラスカ半島とア

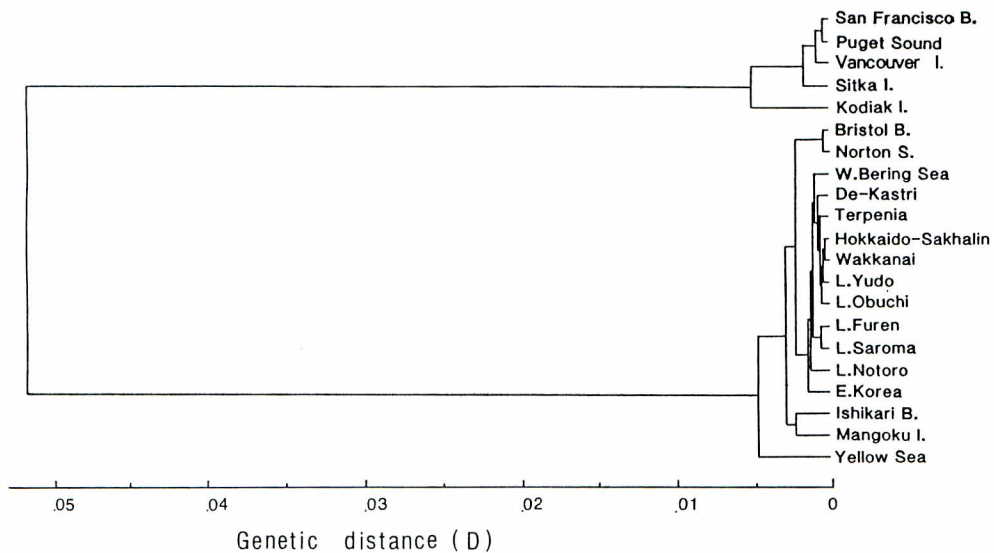


Fig. 29. Cluster analysis (UPGMA) of genetic distance (D) based on 25 loci between population samples of Pacific herring.

リューション列島を境に遺伝的組成に著しい差異があることを示している。

これまでに報告されている魚類について得られた種内集団間のD値を Table 16に示した。主に日本周辺に分布する集団標本から得られたD値はアユ0.0001~0.3170, イカナゴ0.0000~0.0707, ウグイ0.001~0.172, マアジ0.000048~0.001196, マダイ0.000395~0.003983, マイワシ0.0005~0.0019, ヒラメ0.0002~0.0013, イシガレイ0.0002~0.0072である。さらに北太平洋の東西岸に分布する集団標本から得られた値としてはシロサケ0.001~0.006, マダラ0.025, コガネガレイ0.0004~0.0068, オヒョウ0.0097~0.00292である。Shaklee *et al.* (1982)はD値が属間で0.58~1.21, 種間で0.025~0.609, 種内集団間で0.002~0.065とかなりの幅はあるが, おおよその範囲を示している。また, Kijima *et al.* (1986a)は平均値として亜科間で2.290, 属間で2.046, 種間で0.880と Shaklee *et al.* (1982)より高いD値を得ている。これらのD値と本研究で得られた太平洋ニシンのD値とを比較すると, 太平洋ニシンはアジア・ベーリンググループおよび北東太平洋グループの各グループ内では種内集団の範囲すなわち地域集団レベルの範囲内にあり, 集団間の分化はそれほど大きくないことを示しているが, 両グループ間について得られたD値 (0.054)は種内集団としては高いレベルにあり, 両グループ間で分化が進んでいることを示唆している。

Table 16. Ranges of genetic distances of intraspecific populations and the hierarchical level in fish populations.

Species	D (Range)			Author
	Min.	Mean	Max.	
<i>Clupea pallasii</i>	0.00019		0.07939	<i>present report</i>
<i>Plecoglossus altivelis</i>	0.0001		0.3170	Seki <i>et al.</i> (1988)
<i>Ammodytes personatus</i>	0.0000		0.0707	Okamoto <i>et al.</i> (1988)
<i>Tribolodon hakonensis</i>	0.001		0.172	Hanzawa <i>et al.</i> (1988)
<i>Trachurus japonicus</i>	0.000048		0.001196	Kijima <i>et al.</i> (1985)
<i>Pagrus major</i>	0.000395		0.003983	Taniguchi and Sugama (1990)
<i>Sardinops melanosticta</i>	0.0005		0.0019	Taniguchi and Seki (1989)
<i>Palalichthys olivaceus</i>	0.0002		0.0013	Fujio (1989)
<i>Kareius bicoloratus</i>	0.0002		0.0072	Kijima (1989)
<i>Oncorhynchus keta</i>	0.001		0.006	Okazaki (1982)
<i>Gadus macrocephalus</i>		0.025		Grant <i>et al.</i> (1987)
<i>Limanda aspera</i>	0.0004		0.0068	Grant <i>et al.</i> (1983)
<i>Hippoglossus stenolepis</i>	0.00097		0.00292	Grant <i>et al.</i> (1984)
Between				Shaklee <i>et al.</i> (1982)
intraspecific population	0.002		0.065	
species	0.025		0.609	
genus	0.58		1.21	
Between				Kijima <i>et al.</i> (1986)
species		0.880		
genus		2.046		
subfamily		2.290		

5 太平洋ニシンの生態的特性と遺伝的分化

生物は常に均一な個体からなる大きな集団を構成しているとは限らず、いろいろな隔離によって、大集団は多くの小集団から構成されているのが一般的である。太平洋ニシンは2章で明らかなように産卵場の環境条件、成長、成熟過程、回遊範囲の規模、計数形質および遺伝的特性等に固有の特徴を持った集団から構成されている (Table 17)。太平洋ニシンの起源について Svetovidov (1952) は、北氷洋に生息していたニシンが地質学上新世代第3紀の鮮新世にシベリア大陸に沿ってベーリング海峡から太平洋に進出してきたと推定しているが、進出した当時、生態的に、また遺伝的に異なる複数の集団が移動したのか、それとも単一の集団が進出したのかは明かではない。しかし、ベーリング海峡から太平洋に進出した原始集団が地質的なタイムスケールで分布の拡大と縮小を繰り返す過程で生態的に非常に変異性に富む地域集団を形成してきたと考えられる。他の脊椎動物では地球規模の気候変動や地形的構造変化が分布域の拡大・縮小に大きく影響したことが知られているように (湊, 1978), 太平洋ニシンにとっても氷河期の気候変動にともなう海洋環境条件の変化が分布域の拡大・縮小に関係したと考えられる。例えば、生息条件が好適で分布域が拡大していた時期に縁辺域に分布していた集団が、その後の環境条件の悪化にともなう分布域の縮小過程で取り残され、そこでの環境に適応して再生産を維持してきた集団もあろう。このような集団は世代交代によって固有の特性を持った地域集団を形成してきたと想定される。一方、遺伝的には、集団内で発生した変異が隔離によって集団間相互の遺伝子の交流が妨げられることにより、集団内で固定される。したがって、集団の持つ生態的特性と遺伝的特性は密接に関連していると考えられ、地域集団の生態的特徴、特に産卵生態が類似している集団同士では遺伝的特性に類似性がみられたことをすでに述べた。

ところで、太平洋ニシンの場合、どのようにして地域集団が形成されたのか、それにはどのような隔

Table 17. Characteristics of Pacific herring populations distributed in the vicinity of Japan.

Population	Matured age	Mortality age	Distance of migration	Salinity of spawning ground
Mangoku I.* ¹	2	6	short	32-34
Ishikari B.	2	8	short* ²	31-33
L. Obuchi* ³	2	8	short	9-11
L. Yudo	2	5	short	brakish
L. Furen	2	8	short	15-23
L. Notoro* ⁴	2	4	short	16-23
L. Saromo	2	4	short	19-22
DeKastri* ⁵	3	10	medium	21-27
Terpenia* ⁶	3	7	medium	22-29
Hokkaido-Sakhalin* ⁷	4	15	long	33-34

Cited from *1: Kodama (1987,1988), *2: Mikami *et al.* (1968), *3: Tezuka (1939); Rai and Nagamine (1969), *4: Kanno(1983), *5, *6: Frolov(1968); Kozlov (1968), *7: Yamaguchi (1926); Fujita and Kokubo (1927); Nasukawa(1963)

離機構が作用したと考えられるのか、そして集団の持つ生活型の多様性の意義について検討した。

5.1 隔離による集団の分化

Dobzhansky (1970) は隔離機構を大きく地理的隔離、生殖的隔離に分類している。地理的、空間的に隔離されている集団は異所的 (allopatric) 集団であり、何らかの外的要因による異所的集団間の隔離が地理的隔離である。一方の生殖的隔離では、生物自体の中に本来遺伝的に存在する要因によって遺伝子交流が妨げられたり抑制されたりする。この生殖的隔離機構には生態的隔離、季節的隔離、心理的隔離、配偶体的隔離等がある(黒川, 1974)。太平洋ニシンの隔離機構としては地理的な隔離と生態的、季節的、要因による生殖的隔離によって形成されたと推定される集団が存在することから、これらの隔離機構について検討した。

5.1.1. 地理的隔離

5.1.1.1 アラスカ半島とアリューシャン列島による隔離

4.2.5で述べたようにアジアからベーリング海にかけての集団とアラスカ湾以南の北東太平洋の集団とではアラスカ半島とそれに続くアリューシャン列島を境にして遺伝的組成に大きな違いがみられ、アラスカ半島およびアリューシャン列島がこの海域のニシン集団間の gene flow を物理的に妨げていることは明かである。この2つのグループが分岐した遺伝的距離すなわちD値は0.0533であったが、このD値と分岐した時期 (t 年前) との関係をも根井 (1990) は(15)式で示した。

$$t = 5 \times 10^6 \cdot D \quad (15)$$

この関係式が成り立つためには、メンデル集団であること、新しい突然変異は集団内に現存する対立遺伝子とはすべて異なり、突然変異、自然淘汰および遺伝的浮動の効果は、どの集団においても進化時間を通じて平衡状態にあることの仮定が必要であるとしている(根井, 1990)。一方、遺伝的距離と集団間の分岐時期との関係について、他の研究者は(15)式と異なった値を用いている (Gormam and Kim, 1977; Vawter *et al.*, 1980)。しかし、根井(1990)は(15)式を推定するのに用いたタンパク質の種類、電気泳動法によるアミノ酸の違いの検出度、用いた遺伝子座数それにD値と進化時間との非線形的関係を考慮するならば、(15)式は2つの集団ないし種の分岐時間を推定するには有用であるとしている。そこで、(15)式を用いて、太平洋ニシンの2つのグループが分岐した時期を推定すると約26.5万年前となり、地質学的には洪積世中期に相当する。この時期はミンデル氷期、リス氷期等氷河の発達と後退が繰り返され、海面の上昇・下降の変動の激しい時代であった(湊・井尻, 1976)。氷河期には北米大陸の北部は広く氷河に覆われ、シエラネバダ山脈ではカリフォルニア南部まで氷河が広がった。この時、海面は低下してベーリング海峡は陸橋となり、ベーリング海北部の浅い海域は陸地となった (Hopking, 1972)。沿岸域に産卵するニシンにとって、この影響は大きく、産卵場となる沿岸域の好適な条件を求めてアラスカ半島を回り、氷河の南端であるカルフォルニア付近まで好適な環境条件にある水域を求めて南下したと考えられる。その後の温暖期には再び分布域が北に移動し、アラスカ湾以南にいた集団は何らかの要因によってアラスカ半島を回ってベーリング海に進入できなかつたと想定される。この時、アラスカ湾以南に分布していた集団がベーリング海側に移動していたとすれば、現在ベーリング海に分布する集団の対立遺伝子頻度に、アラスカ湾以南の集団にだけ見られるような対立遺伝子が検出される可能性が高いが、そのような特徴を持つ集団はベーリング海ではこれまで採集されていない (Grant, 1981)。おそらく、このようにして約20~30万年前にアラスカ湾以南の集団とベーリング海の集団とが分岐したと推定される。その後の最後の氷河期であったウイスコンシン-ヴェルム期 (約1万年前に終結) の最盛期 (今から約2~1.8万年前) には海面が現在より100mないし140mも低下し、プリピロフ諸島付近まで

の陸棚が陸地となった(Hopking, 1972). この時にはベーリング海に分布したニシンはカムチャツカ半島沿いにアジア側に分布域を移動させたと推定される. その後は温暖化が続き約6,000年前は現在よりも温暖で, 海面が現在と比較して2m程上昇した記録が残されている(湊・井尻, 1976). ベーリング海の3集団の分岐時期は西部のコルフォ湾と, 東部のプリストル湾およびノートン湾の集団とのD値が0.0012と0.0011であることから, 約6,000年前と推定される. また東部のプリストル湾とノートン湾の集団間では0.00024であり約1,200年前と分岐してからの時間はわずかである. ベーリング海の3集団が産卵場としている海岸が現在の位置になったのは約7,000年前以後と推定されることから, 地質学的な知見と比較的よく一致する. これらのことからベーリング海の集団は, おおよそ最後の氷河期以後に分岐したと推定される. ニシン以外にアラスカ半島およびアリューシャン列島が遺伝的な地理的隔離要因となっていると推定される魚種はコガネガレイ(Grant *et al.*, 1983)である. しかし, スケトウダラ(Iwata, 1975; Grant and Utter, 1980), オヒョウ(Grant *et al.*, 1983), マダラ(Grant *et al.*, 1987), シロザケ(Okazaki, 1982)ではその傾向は認められていない.

5.1.1.2 対馬海峡と朝鮮海峡による隔離

黄海は朝鮮海峡と対馬海峡によって日本海と隔たっている. 現在は東シナ海から日本海に恒常的に流れる対馬海流により日本海に分布する冷水性魚類が東シナ海側に回遊することは困難である. しかしながら, 黄海中央部の固有冷水域周辺には日本海を起源とする冷水性魚類であるマダラ, ソウハチ, アブラツノザメ, ウサギアイナメ等15種の分布が知られている(西村, 1974). 台湾ではサクラマスの生息も確認されている(Hosoya *et al.*, 1992). これらの冷水性魚種が東シナ海にまで分布を拡大したのは, かつて日本海から東シナ海に冷水が流れていた時代があり, その時期に移動したと推定される. 日本海の高環境の変遷について大場(1983, 1984)は, 日本海で採集した海底堆積物中の有孔虫群集組成, 酸素同位体比および堆積層について分析し, 次の様に推定している. 最終氷期のウィスコンシン-ヴェルム期の最盛期に近い約3~2万年前には, 対馬海峡から古九州海の低塩分の表面海水が流入していた. 一方, 津軽海峡は約2万年前には開口していて, 親潮がこの頃より本格的に日本海へ流入し, 約1万6千~1万年前には親潮が対馬海峡から東シナ海側へ流出していた. その後約8,000年前にこれまでとは逆に対馬海峡から日本海に対馬暖流が本格的に流入し, 現在と全く同様な海洋環境が約6,500年前に形成された. したがって, 前述の日本海の地史の変遷から推定して, ニシンや他の冷水性魚類が日本海から東シナ海側に移動したのは, 親潮が対馬海峡から東シナ海側へ流出していた約1万6千~1万年前と考えられ, その後, 約1万年前に始まったとされるシナ海側から日本海側への暖水の流入によって, 黄海に取り残されたと推定される. ところで, 黄海の集団と日本周辺の集団とのD値は石狩湾との0.0091が最大で, テルペニアとが最小の0.00327であり, 平均は0.00469である. これから分岐時間を当てはめると約1.5~4.5万年, 平均2.4万年前と推定される. 黄海に移動した集団が現在, 遺伝的に近い集団から分岐したとすれば地質学的な分岐時期の範囲にあるといえるが, 概してそれよりも大きい. 遺伝的距離から進化時間を推定するときの問題としては, 隔離されたそれぞれの集団によって異なる対立遺伝子が固定化され, それによって生じたびん首効果がD値を一時的に増加させ, 進化時間を過大推定する可能性がある(Nei, 1975; Chakraborty and Nei, 1977; Maruyama and Fuerst, 1983, 1984). 4.1.3で, 石狩湾, 万石浦の海洋性地域型集団の平均ヘテロ接合体率が他の地域性集団より小さいのは, 個体群数量が近年急激に減少したことによるびん首効果が作用した可能性を述べたように, 黄海と日本周辺の集団間のD値が地質学的要因によって分岐した時期より大きく推定された要因として, 黄海側の集団においてこのびん首効果が働いた可能性が考えられる.

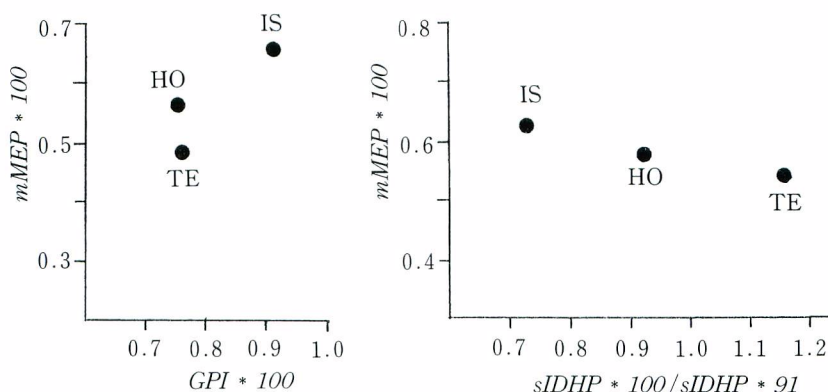


Fig.30. Relationships of alleles between $mMEP*100$ and $GPI*100$ (left), and between $mMEP*100$ and the ratio of $sIDHP*100/sIDHP*91$ (right).

5.1.2 生殖的隔離

石狩湾ではニシンの産卵は早い年は2月中旬から始まり、遅い年は6月上旬まで続く、この間に遺伝的、形態的、生態的に異なる石狩湾、北海道サハリンおよびテルペニアの3つの集団が時期をずらして産卵する季節的隔離が認められる。すなわち石狩湾集団は2月から3月に、北海道サハリン集団は4月から5月上旬に、それにテルペニア集団は5月から6月に産卵する。石狩湾にはこれら3集団が繁殖するのに好適な海洋環境が順次形成されることが示唆される。産卵場の位置は集団により少しづつ異なり、石狩湾集団は石狩湾北部で、北海道サハリン集団は石狩湾北部と銭函周辺で、またテルペニア集団は石狩川河口周辺と朝里周辺にあると考えられ、地域による河川水の影響による塩分濃度の差異や水温との関係があると推定される。これら3集団では産卵期が早い集団ほど脊椎骨数が多い傾向が認められる

(Table 2)。さらに鱗相にも相違が見られ、石狩湾の沿岸域は生態的にも遺伝的にも明らかに違う特性を持った3つの集団が産卵する特徴的な場所であり(小林, 1983)、このような水域は太平洋では他に報告されていない。この3集団を識別する方法としてアイソザイム分析による GPI 、 $sIDHP$ および $mMEP$ の対立遺伝子頻度を対比することで容易に判別できる (Fig.30)。なお、これら3集団は解放的な海洋で生活しており周年同じ海域で一緒に生活しているわけではない。したがって河川生活をするブラウントラウト (Ryman *et al.*, 1979) でみられるような同所的分化 (sympatric speciation) をしている集団とは異なると思われる。ところで、入江 (1980) は石狩湾集団が北海道サハリン集団の一部と推定したが、両者は同じ高塩分域で産卵する海洋性の集団に属するが遺伝的にはかなり離れているといえる。

能取湖でも遺伝的に差異の認められる2つの集団が産卵している。菅野 (1983b) は能取湖に周年湖内で生活する湖内型と産卵のために湖内に回帰する回帰型の2つの生活型のニシンが分布していることを報告している。この回帰型のニシンは生活史のある段階で湖内型から分岐したニシンと推定されることから、遺伝的には同一の集団と考えられる。本研究で分析した標本は2.2.1.5で述べた低成長の湖内型である。ところで1979年に能取湖の湖口近くと湖の奥部の2カ所で採集した標本の $HBDH$ 、 $sIDHP$ 、 ODH の対立遺伝子頻度数を Table 18 に示した。これら3遺伝子座の対立遺伝子頻度から均一性について χ^2 検定した結果 ($\alpha=0.05$)、いずれの遺伝子座においても有意であった。この2標本については GPI 、 $mMEP$ 、 PGM の多型的遺伝子座の解析ができなかったので集団構造解析には使用できなかったが、湖

Table 18. Allelic frequencies of three loci of three spawning samples collected in Lake Notoro in May 1979 and in May 1980. Sample numbers correspond to Table 1.

Sample No.		23* ¹	24* ²	8* ²
Collection Date		May 1979	May 1979	May 1980
Sample size		80	80	81
Locus	Allele			
<i>HBDH</i>	100	0.988	0.388	
	88	0.012	0.612	
<i>sIDHP</i>	117	-	0.013	-
	106	0.077	0.037	0.068
	100	0.359	0.525	0.531
	91	0.385	0.325	0.296
	86	0.179	0.100	0.105
<i>ODH</i>	115	0.187	0.347	
	100	0.637	0.486	
	78	0.025	0.042	
	71	0.075	0.097	
	64	0.063	0.028	
	40	0.013	-	

* 1: Sample 23 caught near the mouth of L.Notoro.

* 2: Sample 24 and 8 caught near the depth of L.Notoro.

奥部で採集した標本の *sIDHP* の頻度数は1980年に採集した能取湖集団のそれとよく一致している。この結果は能取湖には能取湖集団の他にも別の集団が産卵していることを示している。これら2つの集団に遺伝的差異がみられた要因は明かではないが、各集団により湖内の産卵場の水温や塩分等の環境条件に対する適応性に違いがあり、それによって産卵場が隔離されている可能性がある。しかしながら、能取湖では1972年に完成した永久湖口によって湖内の塩分濃度は外海とほとんど変わらなくなり（菊地, 1978）、生物相も著しく変化して、現在では汽水域に適応した能取湖集団は衰退した状態が続いている。

5.2 太平洋ニシンの産卵特性と産卵場の環境特性

太平洋ニシンの原始集団は北氷洋に分布した集団と考えられている (Svetovidov, 1952)。この北氷洋の大西洋側に位置する白海やカラ海の沿岸に分布するニシン集団も形態的、生態的特徴に太平洋ニシンと多くの類似点がみられる。たとえば脊椎骨数が大西洋ニシンに比較して少なく、産卵期は春季の1回であり、産卵は岸辺に近い浅所で、そこに繁茂する海藻や水生植物などに卵を産みつける特性がある。これらは太平洋ニシンに共通した特性である。また、北氷洋に面したシベリア沿岸ではカラ川、オビ川、レナ川、コリマ川などの河口付近でニシンの分布が確認されている (Novikov, 1967; Marti, 1980)。これらの河口域は海水と比較して暖かな河川水が流れ込むことから、その影響で河口周辺域は早めに氷が解けて水温が上昇する。このような河口周辺域にニシンの卵と稚魚の発育に適した水温条件が形成されることから、現在、北氷洋に棲息するニシンは塩分の少ない河口周辺域で産卵している。

ところで、北氷洋から最初にベーリング海に移動してきたニシンは北氷洋は類似した環境にある繁殖場所を見つけて生活し、その後個体群数量が増大したときに分布域を拡大したり、環境の変化に伴って棲息場所を移動したと考えられる。日本およびサハリン周辺のニシンには、河川水の流入する湖沼や内湾などの淡水の影響する水域で産卵する湖沼性集団があり、オホーツク海北部、ベーリング海西部でも

河口付近や潟や入江の低塩分域で産卵することが観察されている (Ayushin, 1947; Panin, 1950). このように低塩分域での産卵は現在の北氷洋のニシンの産卵習性とよく似ている. 北米側に分布するニシンでも産卵場は比較的低塩分の水域に形成されるのが観察されている. コロンビア川河口域では潟湖で産卵が認められている (Scattergood *et al.*, 1959; Trumble, 1979). カリフォルニア北部のフンボルト湾は風蓮湖と同じように滞筋が発達した水深の浅い湾で, アマモが繁茂し, そこで産卵が観察されている (Rabin and Barnhart, 1986). サンフランシスコの北側に位置するトマレス湾は幅が0.7~2.7km, 奥行き20kmの細長い平均水深が4.7mの入江であるが, ここでもニシンはアマモに産卵している (Hardwick, 1973). ピュージェット湾奥部も同様の環境に近い. ベーリング海北東部でも潟湖が産卵場として利用されている. このように北太平洋では分布域の広い範囲にわたって低塩分水域の湖沼や潟, 内湾で産卵するのが普遍的に観察される. すなわち, 太平洋ニシンの持つ最大の特徴は水温, 塩分など環境変化の比較的大きい沿岸の浅所で水生植物や海藻類に卵を産みつける習性を持っていること, 言い替えば再生産にとって重要な時期である卵, 仔魚は環境変化に対して比較的広い適応能力を持っているということがいえる. それは卵のふ化率が実験的に100%海水でも10%海水でも高い値が得られており (Holliday and Blaxter, 1960; Alderdice and Velsen, 1971), また, 太平洋ニシンは胚期に過ごす産卵場の塩分および水温の変化が大きいかかわらず, それにも十分に適応する能力を持っている (McMynn and Hora, 1953; Galkina, 1970; Hay, 1985). さらに海藻などに産みつけられた卵が干満の差によって一時的に露出しても卵の生残率に大きな変化がないことなど (Piskunov, 1952; 田村他, 1951; 田村・大久保, 1953), 太平洋ニシンは発生初期の環境変化に適応する能力の幅が大きという特徴がある. 一方, 太平洋ニシンにとって卵を産みつける基質としては水生植物のアマモ類が最も頻度が高く利用され, 海藻類よりも選択的に利用されている (Panin, 1950; 小林他, 1987). また, サハリンではアマモの減少とニシン来遊量の減少とが密接に関連していると報告されている (Gritsenko and Shilin, 1979). このようにアマモ類がニシンの産卵基質として適していると考えられるが, その要因は明かではない. しかしながら, 太平洋ニシンにとって繁殖に好適な環境指標の1つとして, アマモ類の繁殖域の存在があげられよう.

5.3 湖沼性集団と海洋性集団の関係

石狩湾, 万石浦および北海道サハリンの集団は, 高塩分域で産卵する点でこれまで述べてきた太平洋ニシンの特性とは著しい違いがみられる. 高塩分域で産卵する理由としては, これらの集団がもともと高塩分域で産卵する習性を持ったニシンを祖先型とするのか, それとも, もとは低塩分域で産卵していたものが高塩分域で産卵するように適応したのか, このどちらかと考えられる. 前者の場合, 高塩分域で産卵する習性を持ったニシンは大西洋のスカンジナビアニシンや北海ニシンがそうであるが, このニシンは海岸から離れ, 海底の砂上に産卵する習性を持っている. 北海では産卵場は80~100mの深さにあり, 最も深いところでは200mに達する (Svetovidov, 1949). このような習性を持ったニシンは北氷洋には現在分布しないし, そのような環境条件で繁殖できる水域は北氷洋には無いと考えられる. 太平洋ニシンが北氷洋に起源を持つとすれば前者である可能性は低い. それでは低塩分域で産卵する集団がどのようにして高塩分域で産卵するように適応したのか. 筆者は仮説として「汽水域で生活していた集団が, 大発生にともなう生息密度の極端な変動に対応して, 生活様式の切り替えを行なった」ことが海洋性ニシンの出現を導いたと考えた. その説明として最初に, 集団の個体数変動について検討するが, それには海洋性ニシンの先祖型と考えた湖沼性集団の個体数変動の大きさを, 漁獲量の変動から推定を試みる. これまでに記録として残っている最大の漁獲量は湖沼集団で500トン (山田, 1981), 風蓮湖集

団で200トン、能取湖集団で150トン（菅野，1983b）、尾駮沼集団で80トン（北浜，1974）であり、その他の集団はさらに少ない。しかし、これら湖沼性集団の個体数は年により大きく変動し、風蓮湖では1980年までわずか数トンしか漁獲されなかったのが数年後には50トン、1988年には200トンにまで増大した。また、涸沼ではそれまで数トンであった漁獲量が2年後には400トン以上にまで急激に増大した。この急激な増大は発育初期の生残率が著しく高かったことによる卓越年級群の発生に支えられており、ニシンではこの卓越年級群がしばしば発生する（Hjort，1926；花村，1963）。次に、卓越年級群が発生し個体群数量が増大すると餌は不足することから、餌を求めてより広く移動回遊するようになる。また、繁殖時には、すべての産卵親魚が産卵できる好適な環境条件を備えた湖沼や汽水域の広さが十分ではなくなる場合が生じる。カムチャツカ半島北西岸の集団では、産卵親魚の個体数によって産卵区域が拡大したり縮小したりすることが観察され、親魚数が少ないときには98.5%が汽水の潟や入江で産卵するが、多いときは70%が潟や入江の外で産卵することが知られている（Puroporov，1967）。このように大発生があって、個体群密度がある一定以上になった場合には湖沼に入れずに外海域で産卵する個体が出てきたと考えられる。この場合、卵と仔魚の生残、発育は高塩分でも十分に可能であることはすでに述べた。このようにして外海にまで産卵するように適応できるようになると産卵場に適した水域は広がり、外海に適した集団の個体群数量はますます増大できる可能性を持つ。さらに、個体数が多くなればそれだけ広い海域で索餌行動を行うようになり、エネルギーの配分が繁殖のための成熟よりも個体の運動への割合が高くなって成熟年齢は高齢化し、体長に対する孕卵数は少なくなり、密度依存的な変異が生じる。海洋性集団はこうして派生し、行動、生理、形態といった側面できわめて巧妙に生活様式を変化させることのできた集団と考えられる。このような生息密度の極端な変動に対応して生活様式の切り替えが認められるのは、昆虫ではいずれも個体数変動の振幅の大きい種だけであると指摘している（Iwao，1962）。また、川崎（1992）は1975年以降、マイワシは索餌海域を資源量の急激な増大によって沖合域に拡大し、沿岸性魚種から沖合大回遊性魚種へと劇的な変身をとげ、これを魚類版相変異であると報告している。ニシンとマイワシは、魚類の中でも個体数変動が大きいという共通の特性がある。ニシンにおける生活様式の切り替えの経過は、汽水域から外海の高塩分域で繁殖することができた個体が出現し、それらがその環境に適応して海洋性の集団を形成していったと考えられる。したがって海洋性の北海道サハリン集団が遺伝的に湖沼性集団に近い関係にあるのは、このように湖沼性の集団から海洋性の集団が派生したものの、分岐してから経過した時間が短いことによって、遺伝的分化がまだ達成されていないと考えることにより説明が可能となる。本研究では北海道サハリン集団が湧洞沼や尾駮沼の集団に近いことが示されたが（Fig.26）、現在、北海道サハリン集団は著しく衰退し、生息が確認されている水域はサハリン南西部である。個体群数量が減少すればするほど好適な環境条件の繁殖場に戻ると考えると、むしろ、北海道サハリン集団はサハリン南西海岸付近の湖沼に生息する集団との関連が深いのではないかと推察される。この問題を明らかにするためには、今後サハリン水域での調査研究が必要である。

一方、石狩湾と万石浦の集団は北海道サハリン集団と比較的遠い関係にある（Table 8, Fig.26）。それは北海道サハリン集団のように、湖沼性集団から海洋性集団が長い時間的経過の中で何回か派生したと考えられ、その一つが東北地方に、もう一つが石狩湾に分布を拡大したものの、その後個体群数量が減少し牡鹿半島の田代島周辺や万石浦、石狩湾の北部海域に残ったと推定される。石狩湾と万石浦の集団が遺伝的に遠い関係にあるのは双方が隔離されて長い時間が経過したことを示していると考えられる。

また、湖沼性と海洋性の中間型に位置するデカストリとテルベニアの集団は、湖沼よりも高塩分の水域で繁殖するように適した集団と考えられ、そのような環境条件の存在する水域は湖沼や潟よりも広

いが、海洋性の集団が産卵場とする海域ほどは広くはない。これら両集団の最大年の漁獲量と北海道サハリン集団のそれとを比較すると、デカストリおよびテルペニア集団ではいずれも1/100であり、湖沼性の湖沼集団では1/1000である。個体群数量は産卵場の面積とも関係していると考えられる。

5.4 ニシン集団の生活型と遺伝的類縁関係

太平洋ニシンのアジア側に分布する集団には産卵場の環境条件に対する生理的な適応様式と索餌回遊の行動様式から次の4つの生活型に区分した。これらの生活型に属する集団は固有の生態的特性を持った集団であり、すでに2.3で述べたように

- I. 湖沼性地域型 …… 尾駮沼, 湧洞沼, 風蓮湖, 能取湖, 佐呂間湖
- II. 海洋性の広域型 …… 北海道サハリン
- III. 海洋性地域型 …… 万石浦, 石狩湾
- IV. IとIIの中間型 …… テルペニア, デカストリ

である。同一生活型に属する集団でも遺伝子頻度組成の均質性の検定結果からそれぞれの集団が遺伝的に独立している可能性が高いことが明らかになった。また、生活型の違いは産卵および索餌様式の生理生態的な違いを示しているのに対して遺伝的距離は集団間の時間的隔たりを示しており、本研究の遺伝的類似度から推定した集団構造は4.1.5で述べたように、ここで区分した生活型ごとに比較的近縁な位置関係にあることが示された。一方、菅野(1989b)はアジア側のニシン集団について本研究とほぼ同じ集団を用いて脊椎骨数、臀鰭軟条数、鰓耙数、体長に対する体部分長比等の4計数形質と5体形的形質の類似度から集団間の関係を推定した。それによると大きく4つの群に別れ、第1群は湧洞沼、風蓮湖、厚田(本研究では石狩湾に相当)それにデカストリの4集団、第2群は尾駮沼、能取湖、佐呂間湖の3集団、第3群はオホーツク、カラギン(本研究ではペーリング海西部に相当)の2集団、それに第4群はギジガ湾の集団から構成されている。このうちの第1群と第2群について本研究の結果と比較すると、第1群に海洋性地域型の石狩湾集団、湖沼性地域型の湧洞沼と風蓮湖の集団、それに中間型のデカストリ集団が混在しており、地理的にも生態的にも(菅野, 1983a)近似する集団からなるものではない(菅野, 1983b)。第2群は湖沼性地域型だけの集団により構成されているが遺伝的には比較的離れた位置にある3つの集団から構成されている。菅野(1989a)の推定した集団構造と本研究で推定した集団構造とはこのような違いがみられた。この要因として和石(1974)が指摘するように計数形質や体形的形質等の量的形質がポリジーンによって支配され、表現型と遺伝子型との対応が明確に把握できず、環境の影響を受けやすい形態的特徴の類似性をより強く示したと推定される。これに対して大西洋のニシンについて Ryman *et al.* (1984)は、高塩分域で産卵するスカンジナビアニシンから低塩分域のボスニア海北部で産卵する春産卵群と秋産卵群の集団標本を用いて形態的特性と遺伝的特性を解析して、それぞれに類縁関係を求めて比較したところ、形態的類縁関係と遺伝的類縁関係のデンドログラムには類似性が低いことが明らかになった。そして形態的類縁関係では地理的に、また春産卵群と秋産卵群という生態的に近縁な関係にある集団標本がグループを形成したのに対して、遺伝的類縁関係では地理的にも生態的にも類似した集団からなる明瞭なグループの形成がなかったことを報告している。その要因として、集団標本間の遺伝的距離(D)が0.001以下と小さかったこと、そして G_{ST} 値は0.002と本研究で得られた0.147と比較すると著しく小さく、集団間の遺伝的変異が変異全体の1%未満であったことを上げている。このような、集団間で遺伝的分化が達成されていない場合には集団遺伝学的な集団構造の解析は有効ではないことを示している(Utter *et al.*, 1974)。すなわち、太平洋のニシンでは生活型間での遺伝的分化が比較的大きく達成されていたのに対して、大西洋のニシンでは集団間の交流や、隔離の時間が

短いことによる遺伝的分化が十分に達成されていないことなどから、Ryman *et al.*, (1984) が示した類縁関係は発生初期の環境の類似性をより反映した結果と考えられる。

5.5 ニシン集団の生活型の多様性とその意義

集団は生理・行動上の遺伝的、形態的な変異をもつ個体から構成されている。したがって、この変異性が大きいほど変動する環境下での集団全体としての生き残りの可能性が大きいと考えられる(厳, 1972)。ニシンの繁殖習性は環境条件に対して選択性があり非適応的と考えられるが、卵および胚は塩分や水温の変化、さらにある程度の乾燥に耐える能力をもっており、仔魚も比較的低塩分から(小林他, 1987)、平常海水濃度まで生活することができる(Dushkina, 1973)。この発生初期の段階で見られる生理的な広い閾値は自然界で発生する程度の環境変化に適応する能力を備えていることを示している。したがって汽水域で繁殖を重ねてきたニシンでも、個体数が爆発的に増大した時には、それまで利用していなかったような高塩分の環境条件にある水域で繁殖するように適応できる可能性を持っており、湖沼性地域型、海洋性広域型およびその中間にある生活型という、ニシンの生活型の多様性は環境に適応する能力の広さを示している。太平洋ニシンはこのようにして北太平洋およびその付属海において、それぞれの海域の環境に適応しながら固有の生態的特性を持つ多くの集団を形成して種を維持・繁栄させていると考えられる。集団の持つ変異性は種内分化にとって最も重要で、また基本的な要素であると考えられる。

6 要 約

6.1 研究の背景

水産分野では生物だけが持っている再生産による種族維持の特性を最大限有効に活用し、個体群数量に見合った適切な漁獲量、漁獲努力量、漁期、漁場などを設定する資源管理型漁業への転換が計られようとしている。漁獲対象となる水産生物は系群あるいは系統群と呼ばれる集団から構成され、それぞれの集団は分布、回遊、寿命などの生活史特性や数量変動様式など固有の特性を持っている。その有効利用を図るための適切な管理手法は原則的に資源の構成単位である繁殖集団ごとに策定されるべきことから、個々の集団を識別し、その構造を明らかにすることが基本的に重要な課題である。

本研究で取り上げた太平洋ニシンは太平洋側のおおよそ北緯35度以北の沿岸、沖合の冷水域に棲息する産業的に重要な魚種の一つで、産卵場はアジア側では黄海と渤海湾に面した山東半島や遼東半島の沿岸以北に、また、アメリカ側ではカリフォルニアのサンディエゴ付近を南限とし、北方では北氷洋の東シベリア海、ピュフォート海まで断続的に広い範囲に分布している。日本列島の産卵場の南限は近年では日本海側は石狩湾、太平洋側は茨城県涸沼である。これら各地に棲息するニシンは成長、成熟年齢、寿命、孕卵数、脊椎骨数、産卵場とその環境等、固有の形態的、生態的特性を有する多くの集団から構成されている。

日本におけるニシン漁業は15世紀に始まり、19世紀末から20世紀初頭までの半世紀にわたって40万トン以上が漁獲され、1897年には97万トンの記録がある。この時代の高水準の漁獲量を支えた集団は高塩分の沿岸域で産卵し広く回遊する北海道サハリン集団であった。しかし、その後、この集団は大きな数量変動を繰り返しながら減少傾向をたどり、1955年以降は著しく低い水準で推移している。一方、近年の種苗生産技術の発展にともなってニシンでも大量種苗生産が可能になり汽水性の湖沼や内湾を産卵場とする地域性の強い集団がその対象として取り上げられ、人為的に資源の培養が試みられている。移植

放流効果に伴う在来集団の固有な遺伝的特性への影響が考えられることから、放流以前に在来集団の遺伝的特性を把握しておくことが緊急な課題となっている。

本研究は、ニシンの資源管理と今後における人工ふ化放流と移植の影響評価の基礎として、各集団の遺伝的特性を研究したもので、我が国周辺に分布するニシン集団についての生化学的遺伝変異の研究としては初めてである。また、太平洋北部に棲息する主要な集団についても分析を行い、太平洋ニシンの集団構造および遺伝的特性と生態的特性との関連から太平洋ニシンの種内分化の要因について考察した。

6.2 方法と材料

ニシンの集団研究は、これまでは主に計数形質による形態学的手法、あるいは標識放流法によって研究されているが、本研究では集団間の類縁関係を推定するのに極めて適した形質として、表現型に環境要因がほとんど影響しない酵素分子の変異性を用いた。組織の抽出液を用いて、でんぷんゲル電気泳動法と酵素の特異的染色法を組み合わせたザイモグラムから遺伝子型を推定した。得られた遺伝子頻度組成をもとに太平洋のニシンの各集団が保有する遺伝的特性と遺伝的分化の程度を明らかにし、集団間の遺伝的類縁関係を推定した。遺伝学的研究のために分析した酵素は21種類、そのうち集団分析に利用した酵素と遺伝子座はそれぞれ16種類および29種類である。集団の遺伝的特性である各集団標本群間での表現型頻度、遺伝子頻度、多型的遺伝子座率(P)、平均ヘテロ接合体率(H)、遺伝子分化指数 (G_{st})、固定指数 (F_{ST})、集団間の遺伝的距離(D)について検討した。

本研究の解析には、アジア側ではソ連水域に分布する集団は種々の制約により採集できなかったことから日本周辺に分布する集団と黄海およびサハリン北西岸の12集団標本、北米側ではベーリング海からカリフォルニアまでの6集団標本の計18集団標本を用いた。

6.3 結果

6.3.1 多型的遺伝子座と対立遺伝子頻度

18集団標本を通じ、変異はマンノース 6 磷酸 (MPI) を除く15種類の酵素の24遺伝子座で検出された。変異の検出された遺伝子座数は8 (万石浦集団) ~17 (湧洞沼と北海道サハリン集団) で、集団標本によりかなりの差がある。これは稀に出現する対立遺伝子の保有が集団により異なっていることによる。また5%以上の頻度で対立遺伝子が出現する多型的遺伝子座は、アデノシンデアミナーゼ (ADA)、エステラーゼ (*Est*)、グリセルアルデヒド磷酸脱水素酵素 (*GAPDH-1*)、グルコース磷酸イソメラーゼ (*GPI*)、イソクエン酸脱水素酵素 (*sIDHP*)、マリックエンザイム (*mMEP*)、リンゴ酸脱水素酵素 (*sMDH-2*)、ペプチダーゼ (*PEP-4*) およびフォスフォグルコムターゼ (*PGM*) の9種類である。多型的遺伝子座の保有数は黄海からベーリング海の集団標本が4~6に対しアラスカ湾以南の集団標本は7~8である。この多型的遺伝子座のうち黄海からベーリング海の集団標本では *GPI*, *sIDHP*, *mMEP* それに *PGM* の4遺伝子座、またアラスカ湾以南の集団標本ではこれらに *ADA*, *GAPDH-1* を加えた6遺伝子座で変異性が高く、これらの遺伝子座では各集団標本により対立遺伝子頻度組成に特徴がみられた。*ADA*: 5個の対立遺伝子が検出され、そのうち対立遺伝子 *ADA*100* の頻度は黄海からベーリング海の集団標本で88~98%と卓越して出現する。一方、アラスカ湾以南の集団標本では *ADA*100* は *ADA*87* とほぼ同頻度である。

GAPDH-1: 2個の対立遺伝子が出現した。黄海からベーリング海の集団標本では *GAPDH-1*-182* は Bristol 湾の集団標本の2%を除き出現しない。しかしアラスカ湾以南の集団標本ではサンフランシス

コ湾およびピュージェット湾で83%、シトカで67%およびコディアック島で48%と南部ほど出現頻度が高い。

sIDHP：8個の対立遺伝子が検出され、このうち *sIDHP*82*、*sIDHP*91* および *sIDHP*100* の3つの対立遺伝子頻度は集団により特徴がみられた。このうち *sIDHP*91* の頻度は黄海からベーリング海の集団では、黄海と海洋性地域型の集団が50から55%と卓越するが、そのほかの集団では29から40%であり、さらにアラスカ湾以南の集団標本では9~17%と低い。*sIDHP*82* は逆にアラスカ湾以南の集団標本だけに30から40%の高い頻度で出現する。

mMEP：黄海からベーリング海の集団標本では *mMEP*100* が40から60%であるのに対しアラスカ湾以南の集団標本では80から85%の頻度で出現する。

PGM：検出された6対立遺伝子のうち、*PGM*82* と *PGM*100* の2つでほぼ100%を占め、黄海からベーリング海と、アラスカ湾以南の両海域間で、卓越する対立遺伝子が置換されている。

また、*GAPDH-1*、*sIDHP*、*mMEP* の対立遺伝子頻度数にアラスカ湾以南の集団標本でゆるやかな地理的勾配がみられるが黄海からベーリング海の集団標本にはみられない。

6.3.2 平均ヘテロ接合体率(H)

29遺伝子座から求めた平均ヘテロ接合体率は石狩湾集団標本で0.063と最も小さく、逆にコディアック島集団標本で0.109と最も大きい。海域別にみるとアラスカ湾以南の集団標本のH値は0.092~0.109と、黄海からベーリング海の集団標本のH値の0.063~0.084より大きい。一方、海洋性地域型の集団標本のH値(平均0.065)は比較的小集団ごとに隔離されている湖沼性地域型の集団標本のH値(平均0.081)より小さい。これは大集団であったと推定される海洋性広域型の集団が近年急激に小さくなったことによるびん首効果と考えられる。また、全集団標本間では0.084(Hs)を得た。この値は他魚種で得られた値と比較してやや高く、ニシンの変異性がいくぶん高いことが明らかになった。

6.3.3 遺伝的距離(D)と集団構造

25遺伝子座の対立遺伝子頻度から求めた集団標本間のD値の最小はプリストル湾とノートン湾の0.0002、最大はサンフランシスコ湾とノートン湾の0.0695である。D値から推定した遺伝的類縁関係(UPGMA法)は黄海からベーリング海の集団とアラスカ湾以南の集団の2つのグループに大別される。各グループ内のD値は他の魚種と比較して地域集団レベルにあるが、両グループ間のD値(0.054)は種内集団としては高いレベルにあり、両グループ間で分化が進んでいる。また日本周辺では黄海の集団と他の集団との分化が比較的大きい。

6.3.4 ニシン集団の生態的特性と遺伝的類縁関係

ニシン集団の持つ生活様式は地質的時間経過の中で棲息域への環境適応と生存戦略の様式として備わってきたもので、生活史の個々の段階で環境条件との密接な関連のもとに発現する生活形態である。そのどこに注目するかにより生活の型を種々に分類できる。筆者はニシンの生活型を産卵場の環境条件に対する生理的適応様式と索餌回遊行動様式に注目し、比較的高塩分の沿岸域で産卵する集団は海洋型、汽水性の湖沼や内湾で産卵する集団は湖沼型とし、また索餌回遊行動範囲の広い集団は広域型、狭い集団は地域型とし、これらを組み合わせて4つの生活型に分類した。すると日本周辺の集団は次のように分類される。

- I. 湖沼性地域型・尾駁沼、湧洞沼、風蓮湖、能取湖、佐呂間湖
- II. 海洋性広域型・北海道サハリン
- III. 海洋性地域型・石狩湾、万石浦
- IV. IとIIの中間型・テルペニア、デカストリ

生活型と遺伝的特性との関係を日本周辺の集団についてみると遺伝子組成の地理的勾配は明瞭ではなく、むしろ湖沼性地域型の佐呂間湖と風蓮湖や尾駮沼と湧洞沼、あるいは海洋性地域型の万石浦と石狩湾、それに中間型のテルペニアとデカストリなど、生活型が同じ集団が近い関係にあり、これらの集団間ではある程度の混合があると考えた。

6.3.5 太平洋ニシンの種内分化

ニシン集団の遺伝的分化の要因として黄海と日本海の集団間およびベーリング海とアラスカ湾の集団間では海峡、半島および列島による地理的隔離が考えられた。また石狩湾、能取湖では遺伝的特性に相違がみられる複数の集団が産卵している。その理由として、集団による産卵場の水温あるいは塩分濃度に対する生理的選択により、産卵時期、産卵場所に違いが生じ、生殖的隔離が起きていると考えた。さらに、海洋性広域型の北海道サハリン集団が遺伝的に海洋性地域型の集団よりも湖沼性地域型の集団に近いことが示された。この説明として湖沼性地域型から海洋性広域型への生活様式の切り替えが起こったと考えた。すなわち、湖沼性地域型集団に大発生が起こり、それにともなう生息密度の極端な変動に対応して外海域まで産卵場が拡大し、そこでふ化した個体のなかに海洋域で索餌回遊するものが出現し、それが世代を経て生理的にも生態的にも海洋性広域型の生活様式を獲得していった。しかしながら、まだ隔離の時間は短く遺伝的分化が十分に達成されていない段階にあると推論した。

6.4 おわりに

太平洋ニシンの遺伝学的特性を把握し、それに基づく集団構造を明らかにした。さらに集団の形成・維持に生態学的な知見を加えて太平洋ニシン集団の種内分化を検討した。本研究で明らかにした太平洋ニシンの集団構造と集団の遺伝的特性についての知見は、天然資源の管理方策だけでなく、今後の資源培養管理型漁業を推進するうえでの効果的な移植方法の確立や放流効果の的確な判定のための基礎を構成するものと考ええる。

7 謝 辞

本研究の取りまとめに際して、終始懇切な御指導と御校閲を賜った東京大学海洋研究所教授沼知健一博士に深く感謝申し上げます。御校閲と有益な御助言を賜った東京大学海洋研究所教授石井丈夫博士、東京大学農学部教授清水誠博士、並びに東京大学海洋研究所教授沖山宗雄博士、同助教授岸野久博士に感謝申し上げます。また、本研究を進めるに当たって励ましと有益な御助言を賜った東京大学海洋研究所大槌臨海研究センター助手岩田宗彦博士（現在養殖研究所日光支所魚類育種研究室長）に心から感謝する。また、米国NMFS, Northwest and Alaska Fisheries CenterのFred M.Utter博士（現在スペイン国バルセロナ大学客員教授）には筆者の一年間の米国滞在中、集団遺伝学に関して多くの重要な基礎的知識と技術を賜った。ここに感謝の意を表す。北海道大学水産学部助教授菅野泰次博士には貴重な助言と能取湖ニシンの標本を賜り、さらに元北海道区水産研究所飯塚篤博士、現西海区水産研究所資源管理部底魚生態研究室長入江隆彦博士、元北海道水産試験場近藤平八氏には研究中、終始討論をいただいた。ここに記して厚くお礼申し上げます。

さらに、本研究の標本の採集に当たって数々の便宜を計っていただいた北海道立中央、稚内、網走、釧路、函館の各水産試験場、宮城県水産研究開発センター、西海区水産研究所下関支所、東北区水産研究所八戸支所、日本栽培漁業協会、石狩地区水産業改良普及指導所、別海漁業協同組合、北海道水産加工業協同組合、株式会社ニチロの関係各位に深く感謝の意を表す。

8 参 考 文 献

- ALDERDICE, D.F. and F.P.J. VELSEN 1971 : Some effects of salinity and temperature on early development of Pacific herring (*Clupea pallasii*). J.Fish.Res.Board Can., 28, 1545-1562.
- AMBROZ, A.I. 1931 : The herring (*Clupea harengus pallasii*, C.V.) of Peter The Great Bay. Bull. Pacific Sci. Fish. Institute, 6, 1-312.
- ANDERSON, L., N. RYMAN, R. ROSENBERG and G. STAHL 1981 : Genetic variability in Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) : Description of protein loci and population data. Hereditas, 95, 69-78.
- AYUSHIN, B.N. 1947 : オホーツク海北西部の春ニシン, TINRO, 25 (伊藤元治訳, ソ連北洋漁業関係文献集, 14, 北洋資源研究協議会, 1-43.)
- BOGDANOV, L.V., G.D. FLUSOVA, L.A. BILIM and L.M. SHALOBOD 1979 : A genetic and population study of the Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. 魚類の生化学的集団遺伝学論文集, ソ連邦科学アカデミー細胞学研究所, レニングラード, 74-82. (近藤平八訳)
- CHAKRABORTY, R. and M. NEI 1977 : Bottleneck effects on average heterozygosity and genetic distance with the stepwise mutation model. Evolution, 31, 347-356.
- CLAYTON, J.W. and D.N. TRETIAK 1972 : Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. J.Fish.Res.Board Can., 29, 1169-1172.
- DOBZHANSKY, T. 1970 : Genetics of evolutionary process. Columbia Univ. Press New York.
- DRUJININ, A.D. 1957 : 樺太水域におけるニシン探索, TINRO, 44 (中山登訳, ソ連北洋漁業関係文献集, 17, 北洋資源研究協議会, 66-100.)
- DUSHKINA, L.A. 1973 : Influence of salinity on eggs and larvae of low-vertebral herring reproduction in the coastal waters of the Soviet Union. Mar. Biol., 19, 210-223.
- ENGEL, W., J. OPTHOFF and U. WOLF 1970 : Genduplikation durch polyploide evolution : die Isozyme der Sorbit Dehydrogenase bei Herings- und Lachsartigen Fischen (Isospondyli). Human-genetik, 9, 157-163.
- ENGEL, W., J. SCHMIDTKE and U. WOLF 1971 : Genetic variation of α -glycerophosphate-dehydrogenase isozymes in clupeoid and salmonoid fish. Experientia, 27, 1489-1491.
- EVERAATUS, J.M. 1978 : The haemoglobin of the herring, *Clupea harengus*. Netherland J. Sea Res., 12(1), 1-57.
- FROLOV, A.I. 1950 : 樺太ニシンの地方的形態について, TINRO, 32 (竹村浩吉訳, ソ連北洋漁業関係文献集, 17, 北洋資源研究協議会, 1-10.)
- FROLOV, A.I. 1968 : サハリン水域の湖沼ニシンの分布と生息条件. TINRO, 65, 20-34 (平野義見訳, 日ソ漁業科学技術協力翻訳印刷文献, ニシン編, 水産庁, 81-103.)
- FUJIO, Y. and Y. KATO 1979 : Genetic variation in fish populations. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 45(9), 1169-1178.
- 藤尾芳久・朴重淵・田畑和男 1989 : ヒラメ自然集団と放流集団との遺伝的差異. アイソザイムによる魚介類の集団解析, 日本水産資源保護協会, 419-435.
- 藤田経信・小久保清治 1927 : 鯨の研究. 水産研究彙報, 1, 1-141.

- GALKINA, L.A. 1970 : Fertilization and early developmental stages of eggs of *Clupea harengus pallasii* n. *marisalbi* under fresh-water conditions. Mar. Biol. ,6,303-311.
- GORMAN, G.C. and Y.J.KIM 1977 : Genotypic evolution in the face of phenotypic conservativeness : *Abudefduf* (Pomacentridae) from the Atlantic and Pacific sides of Panama. Copeia, 4,694-697.
- GRANT, W.S. 1981 : Biochemical genetic variation, population structure, and evolution of Atlantic and Pacific herring. Ph.D.Thesis, Univ. of Washington, 1-135.
- GRANT, W.S. 1984 : Biochemical population genetics of Atlantic herring, *Clupea harengus*. Copeia, 357-364.
- GRANT, W.S. and F.M.UTTER 1980 : Biochemical genetic variation in walleye pollock, *Theragra chalcogramma* : Population structure in the south-eastern Bering Sea and the Gulf of Alaska. Can.J.Fish.Aquat.Sci.,37,1093-1100.
- GRANT, W.S. and F.M.UTTER 1984 : Biochemical population genetics of Pacific herring (*Clupea pallasii*). Can.J.Fish.Aquat.Sci.,41,856-864.
- GRANT, W.S. and C.I.ZHANG 1983 : Electrophoretic examination of Korean herring, *Clupea harengus pallasii*. Bull.Fish.Res.Dev.Agency,31,49-60.
- GRANT, W.S., D.J.TEEL, T.KOBAYASHI and C.SCHMITT 1983 : Biochemical population genetics of Pacific halibut (*Hippoglossus stenolepis*) and comparison with Atlantic halibut (*H. hippoglossus*). Can.J.Fish.Aquat.Sci.,41,1083-1088.
- GRANT, W.S., C.I.ZHANG, T.KOBAYASHI and G.STAHL 1987 : Lack of genetic stock discription in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). Can.J.Fish.Aquat.Sci.,44,490-498.
- GRANT, W.S., R.B.BAKKALA, F.M.UTTER, D.J.TEEL and T.KOBAYASHI 1983 : Biochemical genetic population structure of yellowfin sole, *Limanda aspera* of the North Pacific Ocean and Bering Sea. Fish.Bull.,81(4),667-677.
- GRITSENKO, O.F. and N.I.SHILIN 1979 : Reproduction ecology of herring from Nyjsky Bay (Sakhalin Island). БИОЛОГИЯ МОРЯ, 1,58-65.
- HAEGELE, C.W. and J.F.SCHWEIGERT 1985 : Distribution and characteristics of herring spawning grounds and discription of spawning behavior. Can.J.Fish.Aquat.Sci.,42(Suppl.1),39-55.
- 花村宣彦 1963 : 北海道の春ニシンの漁況予測に関する研究. 北水研報告,20,1-66.
- 半田芳男 1924 : 北海道鯵の種類について. 北海之水産,創刊号,25-29.
- HANZAWA, N., N.TANIGUCHI and K.NUMACHI 1988 : Geographical differentiation in populations of Japanese dace *Tribolodon hakonensis* deduced from allozymic variation. Zool.Sci.,5,449-461.
- HARDWICK, J.E. 1973 : Biomass estimates of spawning herring, *Clupea harengus pallasii*, herring eggs, and associated vegetation in Tomales Bay. Calif. Fish Game,59(1),36-61.
- HARRIS, H. and D.A.HOPKINSON 1976 : Handbook of enzyme, electrophoresis in human genetics. American Elsevier Pub.Co., New York.
- HAY, D.E. 1985 : Reproductive biology of Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*). Can.J.Fish.Aquat. Sci.,42,111-126.
- HEINCKE, F. 1898 : Naturgeschichte des Herings. 1 : Die Lokalformen und die Wanderun gen des Herings in den europaischen Meeren. Abh.Deutsh. Seefishereiver.2(1),1-128.
- HEMPEL, G. and J.H.S.BLAXTER 1961 : The experimental modification of meristic characters in

- herring (*Clupea harengus* L.). J.Cons.int.Explor. Mer.,26,336-346.
- HENDERSON,N.S. 1965 : Isozymes of isocitrate dehydrogenase : subunit structure and intracellular location. J.Exp.Zool.,158,263-274.
- 平野義見 1961 : 最近注目されつつある湖沼ニシンについて. 北水試月報,18(7),33-37.
- HJORT,J. 1926 : Fluctuations in the year classes of important food fishes. J.du Conseil,1,5-38.
- HOLLIDAY,F.G.T. and J.H.S.BLAXTER 1960 : The effects of salinity on the developing eggs and larvae of the herring. J.Mar.Biol.Ass.U.K.,39, 591-603.
- HOPKING,D.M. 1972 : The paleoceanography and climatic history of Beringia during late Cenozoic time. Inter-Nord,12,121-150.
- HOSOYA,K., K.CHANG and K.NUMACHI 1992 : Character examination of the basibranchial teeth of formosan salmon. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica, 31 (3), 213-220.
- 池田郁夫 1980 : 北洋海域底魚資源,底魚資源 (青山恒雄編). 恒星社厚生閣,東京,244-284.
- 入江隆彦 1980 : 北海道・樺太周辺水域のニシンの系統群について. 北水研報告,45,1-14.
- 石田昭夫 1952 : ニシン漁業とその生物学的考察. 漁業科学叢書,4,1-57.
- 石和貞男 1974 : 突然変異と集団の変異性. 集団の適応と進化 (大島長造・井上英二・湯浅明・渡辺格編), 現代の遺伝学,5,朝倉書店,東京,109-144.
- IWAO,S. 1962 : Studies on the phase variation and related phenomena in some Lepidopterous insects. Mem.Coll.Agric.Kyoto Univ.,84,1-80.
- 巖俊一 1972 : 生物の異常発生. 生態学講座,32,共立出版,東京,1-83.
- IWATA,M. 1975 : Population identification of walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (PALLAS), in the vicinity of Japan. Mem.Fac.Fish. Hokkaido Univ.,22,193-258.
- KAGANOVSKII,A.G. and I.A.POLUTOV 1950 : ペンジンスキー湾のニシン, TINRO,32 (竹村浩吉訳,ソ連北洋漁業関係文献集,14,北洋資源研究協議会,44-73.)
- 菅野泰次 1982 : オホーツク海北海道近海におけるニシン *Clupea pallasii* の系群構造. 日水誌,48,755-762.
- 菅野泰次 1983a : 日本周辺海域に分布するニシンの系統群とその生態. 栽培技研, 12(2),59-69.
- 菅野泰次 1983b : 能取湖のニシンの生態と極東水域のニシンの個体群構造に関する研究.北海道大学学位論文,1-110.
- 菅野泰次 1989a : 極東水域に分布するニシン *Clupea pallasii* の形態形質の個体群変異. 日水誌, 55,431-439.
- 菅野泰次 1989b : 極東水域に分布するニシン *Clupea pallasii* の形態の個体群変異の要因. 日水誌, 55, 441-445.
- 川崎健 1977 : 魚と環境—大漁・不漁の生物学—,イルカぶっくすII,海洋出版,東京,1-126.
- 木島明博・朴重淵 1989 : マコガレイ属マコガレイおよびマコガレイの種内における遺伝的分化と集団構造. アイソザイムによる魚介類の集団解析,日本水産資源保護協会,436-444.
- KIJIMA,A.,N.TANIGUCHI and A.OCHIAI 1986 : Genetic relationships in the family Carangidae. Indo-pacific Fish Biol. : Proceedings of the Second Int.Conf. on Indo-Pacific Fishes.,840-848.
- 木島明博・谷口順彦・牧野宏・落合明 1985 : マアジの遺伝的分化と繁殖構造. 高知大海洋生物研報,7,49-60.
- 菊地和男 1978 : 能取湖における水質環境の年変化,特に COD と栄養塩について,北水試月報, 35(8),1-15.
- 木村資生 1960 : 集団遺伝学概論. 培風館,東京,156-286.
- 北浜仁 1974 : ニシン漁業略年表. 北水試月報,31(1),1-106.

- 北浜仁・藤本武 1956: 茨城県涸沼産ニシンの一資料—(附)利根川産ニシンについて—。北水試月報,13, 449-457.
- 小林時正 1983: 石狩湾に出現する遺伝学的に異なる産卵ニシンの2群とその考察。北水研報告,48,11-19.
- 小林時正・野田栄吉 1989: 佐渡島周辺で漁獲されたニシンの特性。日本水産学会中部支部例会,講演要旨集,24.
- 小林時正・佐々木正義 1987: 北海道周辺海域における最近のニシン漁況の特徴。水産海洋研究会報,51, 371-373.
- 小林時正・岩田宗彦・沼知健一 1990: 日本の北部海域で産卵するニシン地域性集団の遺伝的分化。日水誌,56(7),1045-1052.
- 小林時正・入江隆彦・猪股東・飯塚篤 1979: オホーツク海北部のニシン資源とその漁業。北水研報告,44, 77-108.
- KOBAYASHI,T.,G.B.MILNER,D.J.TEEL and F.M.UTTER 1984: Genetic basis for electrophoretic variation of adenosine deaminase in chinook salmon. Trans. Amer.Fish.Soc.,113,86-89.
- 小林時正・角谷重幸・小笠原豊・森谷晴男・加畑裕康・山本和久 1987: 風蓮湖におけるニシンの産卵と仔魚の分布。日本水産学会北海道支部大会講演要旨,5-6.
- 児玉純一 1987: 万石浦ニシンの生活史と資源変動—I 分布移動と成長。栽培技研,16(2),111-125.
- 児玉純一 1988: 万石浦ニシンの生活史と資源変動—II 生殖と食性。栽培技研,17(1),49-58.
- KOKUBO,S. and T.TEZUKA 1938: A brief observation on the biology of herring (*Clupea pallasii* C. & V.) which migrates into lake Obuchi,a brackish lake in Aomori prefecture, Japan. Sci. Rep. Tohoku Imp.Univ.,12,639-670.
- 近藤平八 1957: 1955年ニシン標識放流試験結果。北水試月報,14(4), 31-33.
- 近藤平八 1965: 近年の北海道・カラフト周辺のニシン (*Clupea pallasii* C. et V.) の状態について。北水試報告,3,1-18.
- KORNFELD,I.,P.S.SAGNON and B.D.SIDELL 1981: Inheritance of allozymes in Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*). Can.J.Genet.Cytol.,23,715-720.
- KORNFELD,I.,B.D.SIDELL and P.S.GAGNON 1982: Stock definition in Atlantic Herring (*Clupea harengus harengus*): Genetic evidence for discrete fall and spring spawning populations. Can. J.Fish.Aquat.Sci.,39,1610-1621.
- KORNFELD,I. and S.M.BOGDANOWICZ 1987: Differentiation of mitochondrial DNA in Atlantic herring, *Clupea harengus*. Fish.Bull.,85,561-568.
- 黒川治男 1974: 隔離。集団の適応と進化 (大島長造・井上英二・湯浅明・渡辺格編) 現代の遺伝学,5,朝倉書店,東京,109-144.
- KOZLOV,B.M. 1968: 間宮海峡北部におけるニシンの生態と漁業,TINRO,65,3-19 (平野義見訳,日ソ漁業科学技術協力翻訳印刷文献,ニシン編,水産庁,56-68.)
- LEWONTIN,R.C. and J.L.HOBBY 1966: A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural population of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics, 54,595-609.
- LIGNY,W.de 1969: Serological and biochemical studies on fish populations. Oceanog. Mar. Biol. Ann. Rev.,7,411-513.
- LUSH,I.E. 1969: Polymorphism of a phosphoglucosmutase isozyme in the herring (*Clupea harengus*).

- Comp.Biochem.Physiol.,30,391-395.
- MARKERT,C.L. 1963 : Lactate dehydrogenase isozymes : Discussion and recombination of subunits. Science,140,1329-1330.
- MARKERT,C.L. and I.FAULHABER 1965 : Lactate dehydrogenase isozyme patterns of fish. J.Exp. Zool.,159,319-332.
- MARTY,J.J. 1958 : Race formation and marine herring races : Biological premise, Rapp.P.-V.Reun. Cons. int. Explor. Mer.,143(Part 2),58-64.
- MARTI,Y.Y. 1980 : 海産魚類の回遊. 食品工業,モスクワ,246pp. (高昭宏訳,日ソ漁業科学技術協力翻訳印刷文献,資源海洋編,水産庁,1-143.)
- MARUYAMA,T. and P.A.FUERST 1983 : Analyses of the age of genes and the first arrival times in a finite population. Genetics,105,1041-1059.
- MARUYAMA,T. and P.A.FUERST 1984 : Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. I. Allele numbers when populations evolve from zero variability. Genetics,108,745-763.
- MAY B. 1980 : The salmonid genome, evolutionary restructuring following a tetraploid event. Doc. Thesis,Pennsylvania State Univ.,1-199.
- MCMYNN ,R.G. and W.S.HOARS 1953 : Effects of salinity on the development of the Pacific herring. Can.J.Zool.,31,417-432.
- 三上正一・田村真樹・高昭宏 1968 : 石狩湾のニシンについて. 北水試月報,25(7),340-351.
- MILLER,D.J. and J.SCHMIDTKE 1956 : Report on the distribution and abundance of Pacific herring (*Clupea pallasii*) along the coast of central and southern California. Calif. Fish and Game,42(3), 163-187.
- 湊正雄 1978 : 目でみる日本列島の生き立ち. 築地書館,1-24.
- 湊正雄・井尻正二 1976 : 日本列島. 岩波新書,963,岩波書店,東京,1-216.
- 森田祥・飯塚篤・猪股東 1971 : 中国産輸入ニシンについて. 北水研報告,37,41-43.
- MOTODA,S. and Y.HIRANO 1963 : Review of Japanese herring investigations. Rapp. p.-v.Reun.cons. int.Explor.Mer.,154,240-261.
- NÆVDAL,G. 1969 : Studies on blood proteins in herring. FiskDir.Skr.Ser. Havunders.,15,128-135.
- NÆVDAL,G. 1970 : Distributions of multiple forms of lactate dehydrogenase, aspartateaminotransferase and serum esterase in herring from Norwegian waters. FiskDir.Skr.Ser.Havunders.,15, 565-572.
- 茄子川郁夫 1963 : 石狩湾の海況について. 北水試月報,20,375-380.
- NEI,M. 1972 : Genetic distance between populations. Amer.Natur.,106,283-292.
- NEI,M. 1975 : Molecular population genetics and evolution. North-Holland, Amsterdam.
- 根井正利 1990 : 分子進化遺伝学. 五條堀孝・斎藤成也共訳,培風館,東京,pp.1-433.
- 西川豊弘 1984 : 北海道の縄文・続縄文文化の狩猟と漁労・動物遺存体の分析を中心として. 国立歴史民俗博物館研報,4,1-15.
- 西村三郎 1972 : 海洋における生物群集の構造・分布・維持. 生態学シリーズ,海の生態学 (沼田真監修), 築地書館,東京,187-295.
- 西村三郎 1974 : 日本海の成立 生物地理学からのアプローチ. 築地書館,東京,1-227.

- NOVIKOV,A.S. 1967: 東シベリア海における太平洋ニシン *Clupea harengus pallasi* の発見について. 魚類学の諸問題,7,3(44). (崎浦治之訳,日ソ漁業科学技術協力翻訳印刷文献,水産庁,8,95-98.)
- NUMACHI,K.,Y.MATSUMIYA and R.SATO 1972: Duplicate genetic loci and variant forms of malate dehydrogenase in chum salmon and rainbow trout. Bull.Jap.Soc.Sci. Fish.,38,699-706.
- 沼知健一 1974: 資源生物論 (西脇昌治編). 海洋学講座,13,東京大学出版会,東京,5-36.
- NUMACHI,K. 1981: A simple method for preservation and scanning of starch gels. Bioch.Gent.,19, 233-236.
- 沼知健一 1984: アイソザイムによるサケ科魚類の分化と系統の研究. 遺伝,38(1),4-11.
- 沼知健一・長洞幸夫・岩田宗彦 1979: 北西太平洋に分布する通称「シロマス」について. 東大海洋研大槌臨海研究センター報,5,87-102.
- 落合明・田中克 1986: 新版魚類学 (下),恒星社厚生閣,東京,525-537.
- 大場忠道 1983: 最終氷期以降の日本海の古環境. 月刊地球,5,1,37-46.
- 大場忠道 1984: 酸素・炭素同位体比-KH-79-3,C-3 コアの解析を中心にして-. 月刊地球,6,558-566.
- ODENSE,P.H.,T.M.ALLEN and T.C.LEUNG 1966: Multiple forms of lactate dehydrogenase and aspartate aminotransferase in herring (*Clupea harengus harengus* L.). Can.J.Biochem.,44, 1319-1326.
- ODENSE,P.H.,T.M.ALLEN 1971: A biochemical comparison of some Atlantic herring populations. Rapp.p.-v.Reun.cons.int.Explor.Mer.,161,26.
- OHNO,S.,U.WOLF and N.B.ATKIN 1968: Evolution from fish to mammals by gene duplication. Hereditas,59,169-187.
- OHNO,S., J.MURAMOTO, J.KLEIN and N.B.ATKIN 1969: Diploid-tetraploid relationship in clupeoid and salmonoid fish. Chromosomes Today,2,139-147.
- 岡本浩明・山崎文雄・三島清吉 1988: 日本近海に生息するイカナゴ個体群の遺伝的分化. 日水誌,54, 1297-1304.
- OKAZAKI,T. 1982: Genetic study on population structure in chum salmon (*Oncorhynchus keta*). Bull. Far Seas Fish.Res.Lab.,19,25-116.
- 大島和雄・渡辺浩・佐竹俊孝・塩沢孝之・小原昭雄・丸邦義 1966: 北海道サロマ湖の生態学的研究—形成史と底質について—,北水試報告,6,1-32.
- 落合明・田中克 1986: ニシン・キピナゴ・コノシロ,新版魚類学 (下),恒星社厚生閣,東京,525-537.
- PARNIN,K.I. 1950: カムチャツカ北東海岸産ニシンの生物学的資料,TINRO,32 (竹中祐一・昇隆一共訳,ソ連北洋漁業関係文献集,13,北洋資源研究協議会,9-61.)
- PARK,S.C. and I.J.YEON 1981: Morphometric comparison of herring, *Clupea pallasi* Cuvier et Valenciennes,between western waters and eastern waters of Korea. Bull.Fish.Res.Dev.Agency,27,103-109.(In Korean with English abstract)
- PENTTILA,D. and D.DAY 1976: Baitfish management activities in Washington State from July 1, 1974, to December 31,1975. Wash.Dep.Fish.Prog.Rep.,2,1-40.
- PISKUNOV,I.A. 1952: 南樺太西岸の春ニシン,TINRO,37 (大槻尚志訳,ソ連北洋漁業関係文献集,16,北洋資源研究協議会,1-94.)
- POWELL,J.R. 1975: Protein variation in natural populations of animals. in Dobzhansky,T.,M.K. HECHT and W.C.STEERE(eds).Evolutionary Biology, 8,Plenum, New York,1-396.

- PROBATOV, A.N. and A.I.FROLOV 1958: Tunaicha(Tonnai)湖ニシンの起源について. Rostov-na-Dona 国立大学学術報告, 51(6), 33-35. (近藤平八訳, 未刊)
- PUROPOROV, V.G. 1967: 太平洋ニシンの産卵場の諸型について. TINRO, 61. (平野義見訳, 日ソ漁業科学技術協力翻訳印刷文献, 水産庁, 12, 52-56.)
- RABIN, D.J. and R.A.BARNHART 1977: Fecundity of Pacific herring, *Clupea harengus pallasi*, in Humboldt Bay. Calif. Fish and Game, 63(3), 193-196.
- RABIN, D.J. and R.A.BARNHART 1986: Population characteristics of Pacific herring, *Clupea harengus pallasi*, in Humboldt Bay, California. Calif. Fish and Game, 72(1), 4-16.
- 頼茂 1978: 尾駮沼鱚 (湖沼性ニシン) について. 淡水魚, 4, 82-87.
- 頼茂・長峰良典 1969: 尾駮沼ニシン調査. 昭和43年度青森水試事業概要, 230-234.
- RIDGWAY, G.J., S.W.SHERBURNE and R.D.LEWIS 1970: Polymorphism in the esterase of Atlantic herring. Trans. Amer. Fish. Soc., 99, 147-151.
- RIDGWAY, G.J., R.D.LEWIS and S.W.SHERBURNE 1971: Serological and biochemical studies of herring populations in the Gulf of Maine. Rapp. p.-v. Reun. cons. int. Explor. Mer., 161, 21-25.
- RYBNIKOVA, I.G. 1985: Population genetical structure of Okhotsk Sea herring. 太平洋北部のニシン論文集, 太平洋漁業海洋学研究所, ウラジオストック, 57-62. (近藤平八訳)
- RYMAN, N., F.W.ALLENDORF and G.STAHL 1979: Reproductive isolation with little genetic divergence in sympatric populations of brown trout (*Salmo trutta*). Genetics, 92, 247-262.
- RYMAN, N., U.LAGERCRANTZ, L.ANDERSON, R.CHAKRABORTY and R.ROSENBERG 1984: Lack of correspondence between genetic and morphologic variability patterns in Atlantic herring (*Clupea harengus*). Heredity, 53(3), 687-704.
- SCATTERGOOD, L.W., C.J.SINDERMAN and B.E.SKUD 1959: Spawning of north American herring. Trans. Amer. Fish. Soc., 88, 164-168.
- SCOFIELD, N.W. 1918: The herring and the development of the herring industry in California. Calif. Fish Game, 4(2), 65-70.
- SCOFIELD, W.L. 1952: The Tomales Bay herring fishery. Calif. Fish Game, 38(4), 499-504.
- 関伸吾・谷口順彦・田祥麟 1988: 日本及び韓国の天然アユ集団間の遺伝的分化. 日水誌, 54, 559-568.
- 関伸吾・谷口順彦・津田恭敬 1989: マイワシの遺伝的変異と繁殖構造. アイソザイムによる魚介類の集団解析, 日本水産資源保護協会, 301-305.
- SHAKLEE, J.B., K.L.KEPES and G.S.WHITT 1973: Specialized lactate dehydrogenase isozymes: The molecular and genetic basis for the unique eye and liver LDHs of teleost fishes. J. Exp. Zool., 185, 217-240.
- SHAKLEE, J.B., C.S.TAMARU and R.S.WAPLES 1982: Speciation and evolution of marine fishes studied by the electrophoretic analysis of proteins. Pacific Sci. 36(2), 141-157.
- SHAKLEE, J.B., F.W.ALLENDORF, D.C.MORIZOT and G.S.WHITT 1990: Genetic nomenclature for protein-coding loci in fish. Trans. Amer. Fish. Soc., 119, 2-15.
- SHAW, C.R. and R.PRASAD 1970: Starch gel electrophoresis of enzyme—a compilation of recipes. Biochem. Genet., 4, 297-320.
- 白旗総一郎・羽鳥達也 1979: 1978年サロマ湖放流シロザケ稚魚の追跡. さけ別枠 1978, 河川型研究グループレポート, 北水研, 197-245.

- SIMONARSON, B. and D.C. WATTS 1969 : Some fish muscle esterase and their variation in stocks of the herring (*Clupea harengus* L.). The nature of esterase variation. *Comp. Biochem. Physiol.*, 31, 309-318.
- SINDERMAN, C.J. and D.F. MAIRS 1959 : A major blood group system in Atlantic Sea herring. *Copeia*, 228-232.
- SINDERMAN, C.J. and K.A. HONEY 1963 : Electrophoretic analysis of the hemoglobins of Atlantic clupeoid fishes. *Copeia*, 534-537.
- SMITH, P.J., R.I.C.C. FRANCIS and L.J. PAUL 1978 : Genetic variation and population structure in the New Zealand snapper. *New Zealand J. Mar. Fresh. Res.*, 12(4), 343-350.
- SNEATH, P.H.A., and R.R. SOKAL 1973 : Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco.
- SPRATT, J.D. 1981 : Status of the Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*, resource in California 1972 to 1980. *Calif. Fish Game, Fish Bull.*, 171, 1-99.
- SUGAMA, K., N. TANIGUCHI and K. SUMANTADINATA 1989 : Genetic variation and population structure of black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, in Japan. *Bull. Mar. Sci. Fish., Kochi Univ.*, 11, 79-87.
- SVETOVIDOV, A.N. 1949 : 太平洋ニシンの若干の生物学的特徴とそれを条件づける諸要因. *TINRO*, 31, (久保耕司訳, ソ連北洋漁業関係文献集, 13, 北洋資源研究協議会, 1-8.)
- SVETOVIDOV, A.N. 1952 : Clupeidae, fauna of USSR. *Acad. Nauk. SSSR Zool. Inst. N.S.* 48, 1-331. (Translated by Israel program for sci. transl., Jerusalem, 1963).
- TANG, Q. 1980 : Studies on the maturation, fecundity and growth characteristics of Yellow Sea herring, *Clupea harengus pallasii* (Valenciennes). *Mar. Fish. Res.*, 1, 59-76. (In Chinese with English Abstract)
- 田村正・小山田博・大久保正一 1951 : 鯵寄子に関する研究 (第1報), 孵化場試験報告, 6(1,2), 11-31.
- 田村正・大久保正一 1951 : 鯵寄子に関する研究 (第2報), 孵化場試験報告, 8(1,2), 95-107.
- TANIGUCHI, N. and K. SUGAMA 1990 : Genetic variation and population structure of red sea bream in the coastal waters of Japan and East China Sea. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(7), 1069-1077.
- TANING, Å.V. 1952 : Experimental study of meristic characters in fishes. *Biol. Rev.*, 27, 169-193.
- TAYLOR, F.H.C. 1964 : Life history and present status of British Columbia herring stocks. *Bull. Fish. Res. Board Can.*, 143, 1-81.
- TESTER, B.A. 1949 : Population of herring along the west coast of Vancouver Island on the basis of mean vertebral number, with a critique of the method. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 7(7), 403-420.
- 手塚多喜雄 1939 : 尾駮沼の鯵に就て. 尾駮沼の生態研究 (其二). *水産学雑誌*, 45, 63-71.
- 富永義昭・上野輝彌 1981 : 日本産魚名大辞典, 日本魚類学会編, 三省堂, 東京, 437-574.
- TRUMBLE, R.J. 1980 : Herring management activities in Washington State. *Proceedings of the Alaska herring symposium*. 91-113.
- TRUVELLER, C.A. 1971 : A study of blood groups in herring (*Clupea harengus* L.) from the North Sea in connection with the problem of race differentiation. *Rapp. p.-v. Reun. cons. int. Explor. Mer.*, 161, 33-39.
- UTTER, F.M. 1972 : Phosphoglucosylase and esterase polymorphism in Pacific herring in Washington waters. In Simon, R.C. and P.A. Larkin (eds.). *The stock concept in Pacific salmon*. MacMil-

- lan, H.R. Lect. Fish., Univ. Brit. Columbia, Vancouver, B.C., 191-197.
- UTTER, F.M., H.O. HODGINS and F.W. ALLENDORF 1974: Biochemical genetic studies of fishes: Potentialities and limitations. In *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology* (D.C. MALINS and J.R. SARGENT eds.), Academy Press, New York, 213-238.
- VAWTER, A.T., R. ROSENBLATT and G.C. GORMAN 1980: Genetic divergence among fishes of the eastern Pacific and the Caribbean: Support for the molecular clock. *Evolution*, 34(4), 705-711.
- WRIGHT, S. 1951: The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15, London, 323-354.
- 山田静男 1981: 茨城県酒沼に來遊するニシンについて. *さいばい*, 20, 18-20.
- 山口元幸 1926a: 鯨習性に関する調査 (第1冊). 北水試水産調査報告, 17, 1-280.
- 山口元幸 1926b: 鯨習性に関する調査 (第2冊). 北水試水産調査報告, 18, 1-290.
- ZENKIN, V.S. 1979: Biochemical polymorphism and population-genetical analysis of the Atlantic herring, *Clupea harengus*. 魚類の生化学的集団遺伝学論文集, ソ連邦科学アカデミー細胞学研究所, レニングラード, 64-68. (近藤平八訳)

9 付 表

Appendix Table 1. Comparison of average fork length at each age of Pacific herring collected off northwestern coast of Sakhalin. Sample numbers correspond to Table 1.

Sample number	Data of collection	Age							
		3	4	5	6	7	8	9	10
2	May 16, 1988	-	229	247	254	268	278	297	304
	n		5	29	14	9	18	3	2
3	May 23, 1988	205	225	244	257	273	282	292	301
	n	7	16	20	8	5	20	13	2
Kozlov (1968)		206	225	243	256	268	278	292	-

* : Fork length in mm

Appendix Table 2. Composition of allelic frequencies of 29 loci and ratio of polymorphic loci and average heterozygosity of population samples of Pacific herring analyzed in the present study.

Sample No.	1	A	4	5	6	7	8	9	10	11	B	16	17	18	19	20	21	22
Population	Yellow Sea	DeKatri	Mangoku I.	L. Obachi	L. Yodo	L. faren	L. Notoro	L. Saruma	Wakkanai	Terpena	Hokkaido Shikotan	Ihikari B.	San Francisco E.	Page 5	Sika I.	Kodak I.	Bristol B.	Norton S.
Date of collection	88016 23	83015	83023	83043	83047	83047	83047	83047	83047	83058	90056 12	83017	83015	83020	90025	90027	90027	90027
Sample size	100	200	82	99	172	100	81	100	100	100	294	147	100	100	100	100	84	100
Locus	Allele																	
aAT	117	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.010	0.012	0.015	0.005	0.004	0.003	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005
	110	0.000	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000	0.006	0.030	0.020	0.000	0.008	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000
	100	0.965	0.978	0.982	0.914	0.944	0.875	0.926	0.895	0.925	0.910	0.973	0.978	0.480	0.470	0.485	0.565	0.928
	87	0.000	0.022	0.006	0.000	0.028	0.000	0.000	0.030	0.000	0.000	0.003	0.007	0.505	0.515	0.510	0.430	0.030
	78	0.035	0.000	0.012	0.030	0.015	0.115	0.056	0.030	0.045	0.055	0.012	0.014	0.015	0.010	0.000	0.005	0.042
	-200	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012
	-140	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	-100	0.995	1.000	1.000	0.985	0.991	1.000	1.000	1.000	1.000	0.955	0.998	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	0.988
	50	0.000	0.000	0.000	0.015	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000
	113	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.005	0.010	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000
100	1.000	0.995	1.000	1.000	0.994	0.995	0.994	0.985	0.970	0.990	0.996	1.000	0.975	0.980	0.980	0.975	1.000	
87	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	0.000	0.000	
85	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.005	0.010	0.010	0.000	
81	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	
105	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
100	0.975	0.975	0.976	0.934	0.974	0.980	0.970	0.965	0.980	0.975	0.978	0.973	0.935	0.905	0.930	0.955	0.982	
98	0.010	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.016	0.000	0.000	0.000	0.055	0.035	0.012	
96	0.015	0.000	0.000	0.000	0.061	0.026	0.000	0.012	0.000	0.000	0.015	0.006	0.024	0.010	0.095	0.000	0.005	
93	0.005	0.000	0.024	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.055	0.000	0.015	0.000		
90	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.018	0.035	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
175	0.000	0.002	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.005	0.005	0.000	
155	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
139	0.039	0.000	0.098	0.242	0.209	0.185	0.235	0.185	0.240	0.225	0.237	0.082	0.180	0.213	0.160	0.210	0.274	
100	0.061	0.690	0.902	0.753	0.791	0.800	0.765	0.795	0.750	0.760	0.748	0.911	0.815	0.765	0.815	0.770	0.730	
71	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000		
48	0.000	0.008	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.010	0.000	0.000	0.006	0.007	0.000	0.015	0.020	0.015	0.046	
42	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.001	0.000	0.000	0.005	0.000	0.005	0.000	
20	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
14	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
-182	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.825	0.830	0.670	0.480	0.006	
-100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.175	0.170	0.330	0.520	0.904	
GAPDH-2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
GAPDH-3	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
G3PDH-1	205	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
140	0.000	0.002	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
100	0.995	0.998	1.000	0.995	1.000	0.995	1.000	1.000	1.000	0.995	0.996	1.000	0.995	1.000	0.990	1.000	1.000	
570	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
G3PDH-2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
G3PDH-3	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
mDHP	150	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	0.995	1.000	1.000	1.000	
65	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.005	0.005	0.000	0.000	
58	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
117	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.005	0.000	0.010	0.001	0.003	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	
106	0.080	0.052	0.006	0.061	0.064	0.050	0.068	0.060	0.070	0.060	0.052	0.018	0.000	0.005	0.005	0.010	0.060	
100	0.265	0.265	0.304	0.271	0.304	0.271	0.304	0.271	0.304	0.271	0.304	0.271	0.304	0.271	0.304	0.271	0.304	
91	0.510	0.443	0.542	0.419	0.412	0.360	0.296	0.390	0.445	0.400	0.442	0.500	0.090	0.125	0.115	0.165	0.254	
88	0.030	0.088	0.092	0.101	0.070	0.085	0.105	0.090	0.085	0.065	0.095	0.078	0.005	0.000	0.010	0.000	0.053	
82	0.005	0.010	0.000	0.015	0.000	0.040	0.000	0.000	0.005	0.005	0.008	0.000	0.400	0.385	0.360	0.305	0.000	
73	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
87	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
LDH-1	100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	0.990	
43	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	
LDH-2	115	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	1.000	0.995	1.000	0.995	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
-MDH-1	330	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
100																		

Appendix Table 4. Nei's standard genetic distances ($D \times 10^4$) between population samples of Pacific herring based on 25 loci.

Population	Ye	Ko	Ma	Is	Ob	Yu	Fu	Not	Sar	De	Te	Ho	Wa	Be	San	Pu	Va	Si	Br	Nor
Yellow Sea																				
Korea-E	757																			
Mangoku I.	528	462																		
Ishikari B.	910	227	219																	
L. Obuchi	375	143	251	225																
L. Yudo	331	197	160	208	48															
L. Furen	475	226	314	265	98	89														
L. Notoro	453	187	350	404	117	101	106													
L. Saroma	596	188	411	213	107	134	66	203												
DeKastri	378	112	327	270	65	92	192	163	174											
Terpenia	327	233	301	307	66	50	54	99	90	127										
Hokkaido-Sakhalin	347	139	221	190	36	31	100	124	103	36	54									
Wakkanai	348	166	265	223	38	39	73	137	80	65	41	19								
W.Bering Sea	572	140	307	147	72	102	144	235	102	91	130	62	57							
San Fran cisco B.	6334	6151	5828	6386	6031	5912	5986	5693	6443	6179	6234	6201	6253	6509						
Puget S.	6123	6128	5803	6376	5919	5815	5911	5622	6356	6077	6122	6105	6148	6402	56					
Vancouver I.	5628	5458	5233	5724	5323	5240	5288	5037	5722	5469	5539	5514	7939	5788	83	99				
Sitka I.	4829	4703	4397	4913	4527	4411	4460	4224	4860	4687	4676	4691	4717	4966	176	201	97			
Kodiak I.	3239	3399	3009	3644	3165	3028	3139	2849	3564	3291	3279	3298	3332	3629	686	687	456	241		
Bristol B.	378	378	456	417	164	174	220	324	183	160	133	133	102	118	6856	6665	6106	5219	3802	
Norton S.	461	422	420	377	196	211	266	404	238	205	197	166	138	114	6952	6770	6204	5324	3909	24

* : Allelic frequency data of populations of Korea E, W. Bering Sea and Vancouver I. were cited from Grant (1981) and Grant and Zhang (1983).