

## アルゼンチンイレックス 3 群とカナダイレックス の遺伝子頻度の比較

余 川 浩太郎<sup>1)</sup>・和 田 志 郎<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>遠洋水産研究所, (<sup>2)</sup>南西海区水産研究所高知支所)

### 目 的

1991年1月31日から2月25日まで、海洋水産資源開発センターの第2新興丸の南大西洋西部海域いか釣り新漁場開発調査平成2年度第6次航海に、同センターの協力を得て便乗調査をする機会を得た。調査中に漁獲したアルゼンチンイレックス (*Illex argentinus*) には、外套長と成熟度との関係から複数のグループが混在しているように思われた。そこで、採集した標本を外套長と熟度によって、大型成熟群・小型未熟群・小型成熟群(皮いか)の3つのグループに分け、グループ間の遺伝子頻度をアイソザイム分析を用いて比較した。これと同時に、アルゼンチンイレックスと同属で外部形態の良く似ているカナダイレックス (*I. illecebrosus*) との遺伝的差異を調べ、アイソザイム分析でいか類の種の識別が簡便に出来るかどうかを検討した。

### 材料及び方法

調査は大陸棚がアルゼンチン200海里ラインの外側に張り出している、通称“公海南漁場”と呼ばれる水域で行われた(図1)。

この公海南漁場は、アルゼンチン200海里内水域に外国漁船が入域

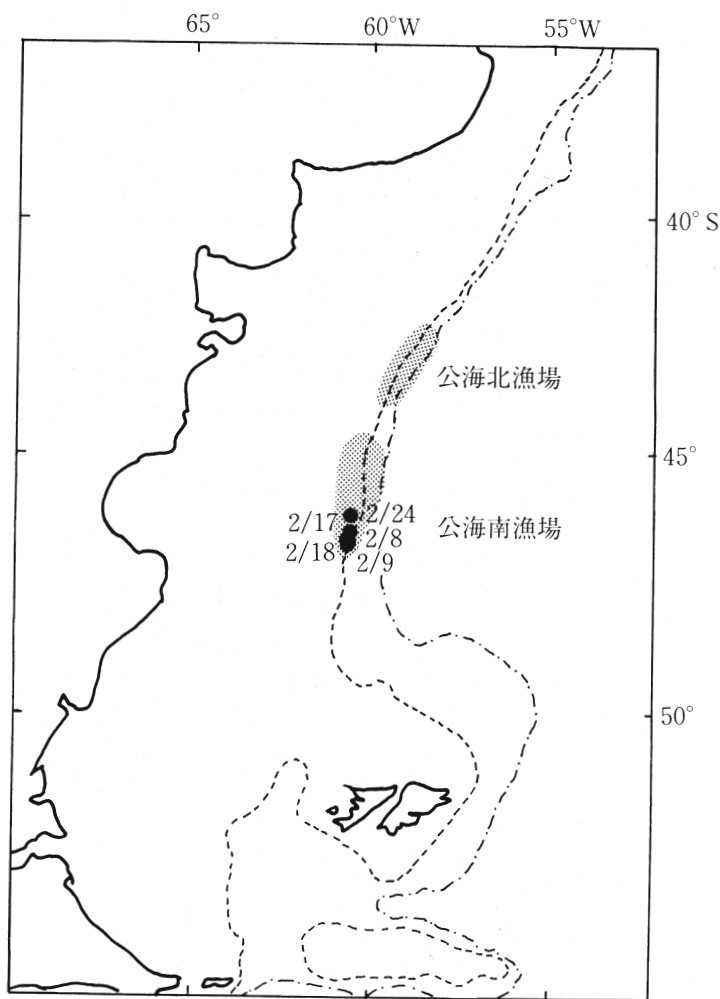


図1. 南西大西洋の公海漁場と、アルゼンチンイレックスの標本採集地点(●)。日付は、標本採集日を示す。

出来なかったために形成された漁場であり、実際にはアルゼンチンイレックスの主群はアルゼンチン200海里水域内にいると考えられている。

調査中の漁獲物は全てアルゼンチンイレックスであり、その中から毎日100匹の外套長測定と、雌雄各10匹ずつの多項目測定を行なった。各個体の熟度は肉眼の観察によって、雄では、精莢囊が空の個体を未熟、精莢囊に精莢が少しある個体を半熟、精莢囊が精莢で充満している個体を成熟として分類した。また雌では、卵巣内の卵があわ粒状になっておらず輸卵管内に卵が無い個体を未熟、卵巣内の卵があわ粒状で輸卵管内に卵が無い個体を半熟、卵巣内の卵があわ粒状で輸卵管内に卵がある個体を成熟とした。

表1. 分析した酵素、遺伝子座、緩衝液

酵 素 名	酵素略名	遺伝子座 <sup>1)</sup>	緩衝液 <sup>6)</sup>	組織
アデニル酸キナーゼ	AK	AK	Tris citrate	白筋
アルギニンキナーゼ	APK	APK-1	CAPM7	白筋
		APK-2	CAPM7	白筋
グルコースリン酸 イソメラーゼ	GPI	GPI	TVB-LB	白筋
グリセルアルデヒド-3 リン酸脱水素酵素	GAPD	GAPD	Tris citrate	白筋
グルコース-6-リン酸 脱水素酵素	G6PD	G6PD	TVB-LB	白筋
イソクエン酸脱水素酵素	IDHP	IDHP-1 <sup>2)</sup>	CAPM7	口球
		IDHP-2	CAPM7	白筋
リンゴ酸脱水素酵素	MDH	MDH-1	CAPM7	眼球
		MDH-2	CAPM7	白筋
マリックエンザイム	ME	ME	Tris citrate	白筋
マンノースリン酸 イソメラーゼ	MPI	MPI	TVB-LB	白筋
ヌクレオチド フォスフォリラーゼ	NP	NP	CAPM7	白筋
ペプチダーゼ	PEP	PEP-1 <sup>3)</sup>	Li-B	肝臓
		PEP-2 <sup>4)</sup>	Li-B	肝臓
		PEP-3 <sup>5)</sup>	Tris citrate	白筋
フォスフォグルコ ムターゼ	PGM	PGM-1	TVB-LB	白筋
		PGM-2	TVB-LB	白筋
6-フォスフォ グルコン酸脱水素酵素	PGD	PGD	Tris citrate	白筋
スーパーオキシド ディムスターゼ	SOD	SOD	Li-B	肝臓

1) 同じ酵素にコードしている複数の遺伝子座が有る場合、陰極側に泳動されたものから順に番号をふった。

2) IDHP-1は白筋の抽出液でも泳動像が得られたが、口球の方がより明瞭な泳動像が得られたため口球を使用した。

3) 基質は、グリシル-DL-ロイシン。

4) 基質は、DL-ロイシルグリシルグリシン。

5) 基質は、L-ロイシル-L-ロイシン。

6) Tris citrate: トリス-クエン酸緩衝液 (pH8.0), (CARVALHO & LONEY 1989)

CAPM7: クエン酸-N (3-アミノプロピル) モルフォリン緩衝液 (pH7.0), (沼知 1989)

TVB-LB: ゲル: 水酸化リチウム-ホウ酸緩衝液 (pH8.4), 電極槽: トリス-ホウ酸緩衝液 (pH8.5), (茅野 1978)

Li-B: ゲル: トリス-クエン酸緩衝液 (pH8.5), 電極槽: トリス-ホウ酸緩衝液 (pH8.1), (RUGWAY et al. 1970)

アルゼンチンイレックスの標本は、調査期間中に多くの漁獲があった公海南漁場の南部岸側から採集した(図1)。また、カナダイレックスの標本は、便乗調査とは別にいか釣り漁船第10祐幸丸に依頼し、1991年8月初旬にカナダのノバスコシア半島沖で採集した。採集した標本は直ちに凍結し、仲積み船で日本まで運ぶ期間も含めて実験直前まで $-20^{\circ}\text{C}$ 以下で保存した。

凍結した各個体の臓器1gに対して0.2mlの蒸留水を加えて15分放置し、解凍によって生じるドロップの希釈液をそのまま電気泳動の試料とした。電気泳動は加水分解澱粉(和光純薬製)を13%の濃度でゲル化し、水平式で、 $4^{\circ}\text{C}$ 、 $5\text{mA}/\text{cm}^2$ 、約5時間泳動した。酵素によっては泳動中の失活や変性を防ぐために、ゲル用緩衝液と電極槽用緩衝液に補酵素ニコチンアミドアデニン・ジヌクレオチドあるいはニコチンアミドアデニン・ジヌクレオチドリノ酸を加えた。

分析した14酵素20遺伝子座の検出に使用した臓器および緩衝液を表1に示した。アルギニンキナーゼの染色法はHARRIS and HOPKINSON (1976)に、その他の酵素は和田(1991)に従った。遺伝子座および対立遺伝子の名称はSHAKLEE *et al.* (1990)に従って、表1に示した略号で表した。

アルゼンチンイレックスの標本群内および標本群間の均質性の検定には $\chi^2$ 法(木村1960)を、また、アルゼンチンイレックスとカナダイレックスの遺伝的分化の指標としてNEI (1972)の遺伝距離Dを用いた。

## 結 果

### 漁獲物の概要

調査期間中の漁獲物の外套長ならびに熟度組成を図2に示した。熟度組成は、多項目測定の結果から外套長階級1cmごとの熟度組成を求め、それを外套長組成に引き延ばして示してある。漁獲物の性

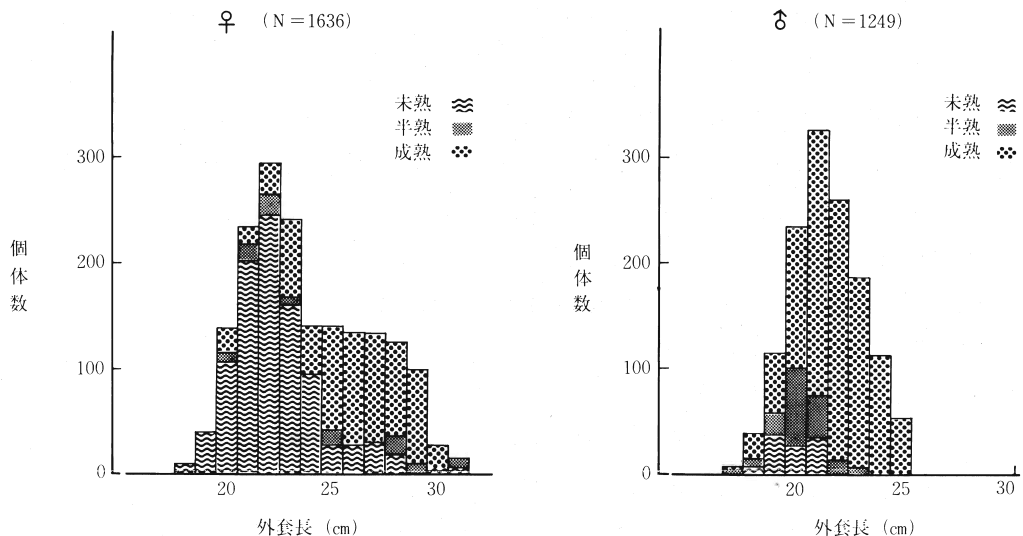


図2. 1991年2月のアルゼンチンイレックスの外套長ならびに熟度組成。

(公海南漁場にて第2新興丸が漁獲)

比は1.3：1で雌の方が多かった。雄は7割以上が成熟個体であったが、一部小型の未熟個体や半熟個体も観察された。雌は、外套長19～24cmの小型の未熟個体と、外套長24～29cmの大型の成熟個体が漁獲の大半を占めた。

漁獲物の中には、皮いかも多数観察された。皮いかは外套長20cm前後と小型であるが全て成熟しており、特に雌では他の成熟個体では見られない交接痕をえらに持っている場合が多かった。調査中皮いかは、北に行くほど、そして沖に行くほど多く漁獲される傾向があった。

#### アイソザイム分析

漁獲物の生物測定結果を受けて、アルゼンチンイレックスの標本を外套長と熟度から、大型成熟群、小型未熟群そして皮いかである小型成熟群の3つのグループに分類した(表2)。また、各標本群の基準を満たしていない個体は分析対象から除外した。

表2. 標本群の名称と分析した標本の外套長、熟度、標本数および採集時期

標本群の名称	雌の外套長	雄の外套長	熟度	標本数	採集時期
アルゼンチンイレックス 小型成熟群	19～22 cm	16～20 cm	成熟	64	'91年2月
アルゼンチンイレックス 小型未熟群	17～22 cm	16～20 cm	未熟	42	'91年2月
アルゼンチンイレックス 大型成熟群	25～30 cm	23～25 cm	成熟	70	'91年2月
カナダイレックス	17～22 cm	17～21 cm	未熟	23	'91年8月

分析した14酵素に関与する20遺伝子座のうち、アルゼンチンイレックスでは *IDHP-1*, *ME*, *NP* の3遺伝子座に多型(変異遺伝子の頻度が5%以上)が認められた。また、変異遺伝子の頻度が5%より低い変異が *IDHP-2* と *PGM-1* に認められた(表3)。このうち *IDHP-1* では4対立遺伝子に支配される4種類の表現型が、*ME* と *NP* では2対立遺伝子に支配される3種類の表現型が、そして *IDHP-1* と *PGM* では2対立遺伝子に支配される2種類の表現型が観察された。図3に *IDHP-1* と *NP* のザイモグラムを示した。

多型が観察された3遺伝子座の各々について、標本群を一つにまとめてハーディ・ワインベルグ平衡からのずれの $\chi^2$ 検定を行った結果、*ME* については有意水準5%で期待値からのずれが検出された(表4)。次に、3つの標本群各々について同様に $\chi^2$ 検定を行なった結果、大型成熟群の *ME* で有意水準5%で期待値からのずれが検出された(表4)。小型成熟群と小型未熟群の間の対立遺伝子頻度の異質性に関する $\chi^2$ 値は *IDHP-1*, *MDH-1*, *SOD* でそれぞれ0.01, 0.40, 0.74であり、両群の間に有意な差は認められなかった。

表 3. 変異及び種間の主対立遺伝子の置換が観察された  
遺伝子座とその遺伝子頻度

遺伝子座 名	対立遺伝子	アルゼンチンイレックス			カナダ
		大型成熟群	小型未熟群	小型成熟群	イレックス <sup>1)</sup>
IDHP-1	117	—	—	.008	—
	100	.919	.917	.913	1.0
	79	.089	.071	.063	—
	56	—	.012	.016	—
IDHP-2	115	.032	.012	.016	—
	100	.968	.988	.984	—
	93	—	—	—	1.0
MDH-2	100	1.0	1.0	1.0	—
	90	—	—	—	1.0
ME	100	.784	.854	.820	1.0
	80	.214	.146	.180	—
NP	100	.593	.683	.625	.239
	50	.407	.317	.375	.761
PEP-3	100	1.0	1.0	1.0	.913
	93	—	—	—	.087
PGD	133	—	—	—	.050
	119	—	—	—	.225
	100	1.0	1.0	1.0	.725
PGM-1	100	.979	.976	.977	1.0
	80	.021	.024	.023	—
SOD	147	—	—	—	1.0
	100	1.0	1.0	1.0	—

1) カナダイレックスの対立遺伝子は、アルゼンチンイレックスの主対立遺伝子の移動距離を100とした時の移動距離を相対値で示した。

表 4. アルゼンチンイレックス 3 群のハーディ・ワインベルグ平衡からのずれの  $\chi^2$  検定。  
( ) 内の数字は、ハーディ・ワインベルグの法則より求めた期待値を表す。

	遺 伝 子 型	主対立遺伝子			$\chi^2$ 値	
		NN	NX	XX の頻度		
小型未熟群	IDHP-1	52 (52)	11 (10)	0 (0)	.91	0.58
	ME	44 (43)	17 (19)	3 (2)	.82	0.63
	NP	25 (25)	30 (30)	9 (9)	.63	0
小型成熟群	IDHP-1	35 (36)	7 (6)	0 (0)	.92	0.35
	ME	30 (30)	10 (10)	1 (1)	.85	0.02
	NP	20 (19)	16 (18)	5 (4)	.68	0.40
大型成熟群	IDHP-1	51 (51)	11 (10)	0 (1)	.91	0.59
	ME	47 (44)	16 (23)	7 (3)	.79	7.22 <sup>2)</sup>
	NP	26 (24)	31 (34)	13 (12)	.59	0.48
標本群全体	IDHP-1	138 (139)	29 (27)	0 (1)	.91	0.08
	ME	121 (115)	43 (54)	11 (6)	.81	6.16 <sup>2)</sup>
	NP	71 (69)	77 (82)	27 (24)	.63	0.64

1) ; Nは主対立遺伝子座を、Xは変異遺伝子座を示している。ただし、IDHP-1においては、Xは3種類の変異遺伝子座を含む。

2) ;  $P < 0.05$ . 3つの遺伝子座を同時に検定していることを考慮すると、有意水準は5%になる。

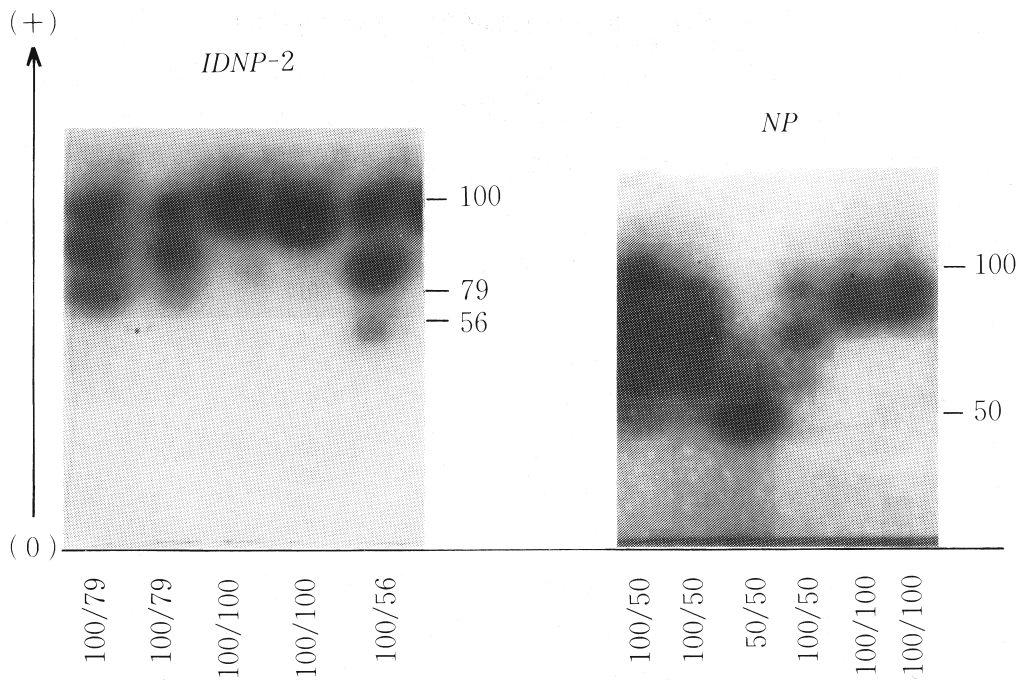


図3. アルゼンチンイレックスの*IDNP-2* (口球) と *NP* (筋肉) のザイモグラム。  
 下の数値は遺伝子型を示している。

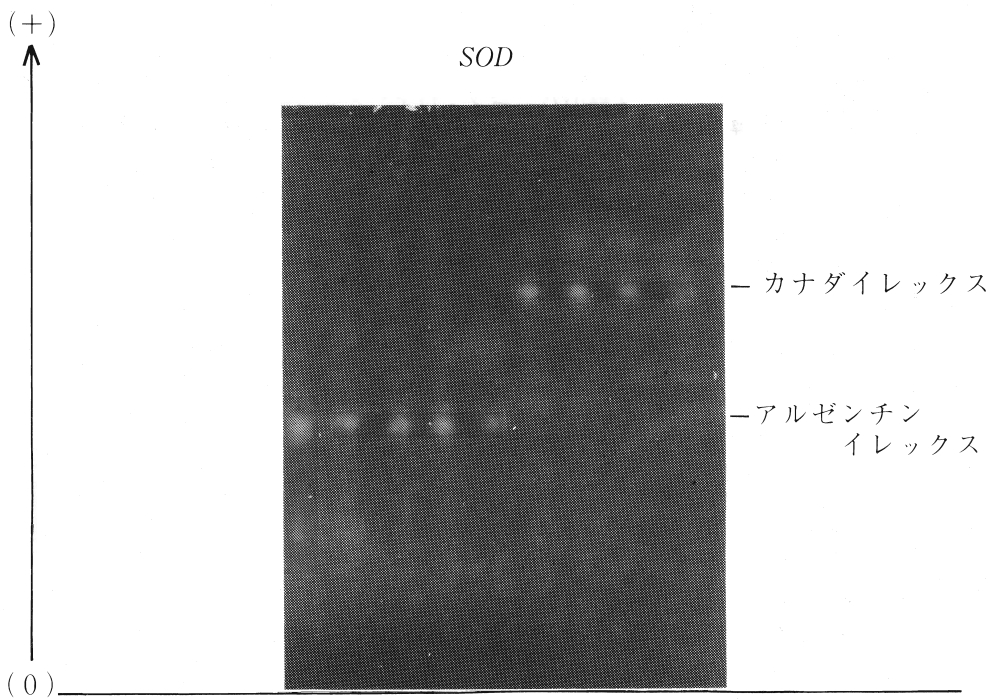


図4. アルゼンチンイレックスとカナダイレックスの*SOD* (白筋) のザイモグラム。

カナダイレックスでは、*NP*、*PEP-3*、*PGD* の 3 遺伝子座に多型が認められた (表 3)。このうち、*PGD* では 3 対立遺伝子に支配される 4 種類の表現型が、*NP* と *PEP-3* では 2 対立遺伝子に支配される 3 種類の表現型が観察された。また、アルゼンチンレックスとカナダイレックスの間では、*IDHP-2*、*MDH-2*、*SOD* の 3 遺伝子座で主対立遺伝子の置換が認められた (表 3)。このうち、*SOD* のザイモグラムを図 4 に示した。調べた 20 遺伝子座すべての対立遺伝子頻度から求めた、両種間の遺伝距離 (D 値) は 0.19 であった。

## 考 察

アイソザイム分析の結果、大型成熟群の *ME* 対立遺伝子頻度がハーディ・ワインベルグ平衡から有意にずれてホモ過剰となっていた (表 4)。大型成熟群の性比は 2 : 1 と雌の方が多かった。このことは、標本採集地点がアルゼンチンレックスの分布の端であったためにサンプリングに偏りが生じた可能性や、大型成熟群の定義が実際の資源構造に沿ったものでなかった可能性を示唆しているとも考えられる。しかしながら、アルゼンチンレックスの分布・回遊経路の中心と思われるアルゼンチン 200 海里内水域の情報がないため、こうした可能性を検討することは現在のところ困難である。

大型成熟群で観察されたホモ過剰について、サンプリングやグループ分けが適切に行われていたと仮定すると、自然界においてホモ過剰を引き起こす要因としては、近親交配と集団の混合が考えられる。本報告で扱ったアルゼンチンレックスのように、寿命が短くて資源尾数が多い生物では近親交配が起こる可能性は低いと考えられるので、複数の集団が混合していたという可能性は十分にあり得る。

HATANAKA (1986) は、1978/79 年に深海丸がアルゼンチン沖の大陸棚と大陸斜面で行ったトロール調査結果から月別の外套長組成を求めた。そして、1978 年 5 月から 7 月にかけて主群と比べて外套長が明らかに小さい一群が出現したこと、12 月から翌年 3 月にかけて調査水域の北部で交接痕を持つ成熟した雌個体の漁獲が認められたことは、アルゼンチンレックスに主群以外の系群が存在することを示唆すると報告している。UOZUMI & SHIBA (1991) は、1989 年ならびに 1990 年に公海南漁場で第 2 新興丸が採集したアルゼンチンレックスの平衡石による日齢査定を行ない、同漁場で 1 ~ 2 月に採集された個体の生まれ月は前年の 3 ~ 8 月であることを示した。そして、生まれ月の遅い個体は早い個体よりも成長が良いこと、また、生まれ月の早い個体は遅い個体よりも早く漁場に移入し、且つ早く移出することを明らかにした。上記の報告は何れも、産卵期の違いから生じた複数の系群が存在することを示唆している。しかし、本研究の結果のように、同程度の外套長と熟度の個体から成るグループの中に遺伝的に異なる集団が存在する可能性を、上記の報告に述べられた理由で説明することは難しい。

一方、川原・斎藤 (1990) はアルゼンチンレックスの産卵期に行った調査の結果から、アルゼンチンレックスの産卵場は、南緯 40° 以北の大陸斜面域である可能性が高いと報告している。産卵場が南北に長い場合には、産卵場所の地理的な隔離によって、サイズが同じであっても遺伝的に異なる集団が生ずる可能性がある。大型成熟群の *ME* の異質性は、こうしたことを反映しているのかもしれない。

ない。

本報告では、外套長と熟度が異なるグループが互いに遺伝的に異なる集団であるとの確たる証拠は得られなかった。今後は、分析個体数を増やし、産卵場所や発生時期別にグループをつくって、MEの異質性の意味を確認することが必要だと思われる。またそれと合わせて、不明な点の多いアルゼンチン200海里内資源についての情報を収集し、アルゼンチンイレックスの回遊経路や分布を明らかにすることが必要だと思われる。

アルゼンチンイレックスとカナダイレックスは、成熟した雄個体でないと見分けがつかないほどよく似た種であるが、アイソザイム分析では、主対立遺伝子が置換している *IDHP-2*, *MDH-2*, *SOD* により容易に識別することが出来た。アイソザイム分析はこの両種の識別について、外部形態では区別のつかない幼いかや稚仔の場合であっても極めて有効であることが判った。現在、アルゼンチンイレックスが属するアカイカ科いか類の分類には多少の混乱が見られるが、その整理にもこの方法が役立つものと期待される。今後は、種間の遺伝的分化を詳しく調べて、アイソザイム分析をいか類の分類にも応用して行きたい。

## 謝 辞

調査にあたっては、海洋水産資源開発センターの小林文典調査員ならびに、第2新興丸の深川栄一船長はじめ18名の乗組員の方々に多大なる御指導、御協力をいただいた。ここに記して厚く御礼申し上げます。

## 参 考 文 献

- CARVALHO, G. R., LONEY, K. H. (1989) Biochemical genetic studies on the Patagonian squid *Loligo gahi* d'Orbigny. I. Electrophoretic survey of genetic. *J. Exp. Biol. Ecol.*, Vol. 126, 231-241.
- HARRIS, H., HOPKINSON, D. A. (1976) Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. American Elsevier Publ. Co. Inc., New York.
- HATANAKA, H. (1986) Growth and life span of short-finned squid *Illex argentinus* in the waters off Argentina. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 52(1), 11-17.
- 川原重幸, 斎藤宏明 (1990) 開洋丸による1989年南西大西洋マツイカ調査. 平成元年度イカ類資源・漁海況検討会議研究報告. 87-92.
- 茅野 博 (1978) カスリショウジョウバエ (*Drosophila hydei* Sturtevant) の長崎市集団における遺伝的変異. 長崎県生物学会誌, 16, 4-12
- 木村資生 (1960) 集団遺伝学概論. 培風館, 東京, 156-286.
- NEI, M. (1972) Genetic distance between populations. *Amer. Nat.*, 106, 283-292.
- 沼知健一 (1989) アイソザイムによる魚介類の集団分析. 海洋生物集団の識別等に関する先導的評価手法の開発事業報告書, 日本水産資源保護協会, 30-63.
- RIDGWAY, G. J., SHERBURNE, S. H. and LEWIS, R. D. (1970) Polymorphism in the esterases of Atlan-



- tic herring. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **99** (1), 147-151.
- SHAKLEE, J. B., ALLENDORF, F. W., MORIZOT, D. C. and WHITT, G. S. (1990) Gene Nomenclature for Protein-Coding Loci in Fish. *Transactions of the American Fisheries Society.*, **119**, 2-15.
- UOZUMI, Y., SHIBA, C. (1993) Growth and age composition of *Illex argentinus* (Cephalopod:Oegopsida) based on the counts of daily rings in statoliths. Recent advances in Cephalopod fisheries biology, Tokai Univ. Press, Tokyo, 587-602.
- 和田志郎 (1991) アイソザイムおよびミトコンドリアDNAによるヒゲクジラ集団の遺伝的分化. 漁業資源研究会議報, 第27号, 1-16.