

耳石を用いたイカナゴ属 2 種の種判別 (短報)

田中伸幸*

Separation using otolith for two species of genus *Ammodytes* (sand lances).
(Short Paper)

Nobuyuki TANAKA*

キーワード：イカナゴ, キタイカナゴ, 宗谷海峡, 耳石, アロザイム

まえがき

北海道の宗谷海峡周辺海域ではイカナゴ属の2種、イカナゴ *Ammodytes personatus* およびキタイカナゴ *Ammodytes hexapterus* が同所的に分布していることが知られている¹⁻³⁾。当海域において両種の成魚は、外見上区別がつかないため漁業上は同一に扱われ、水揚げされている。しかし、資源状態の評価を行う上では、漁獲物中の両者を区別し、それぞれ資源評価を行う必要がある。両種は外見上区別がつかないものの、過去の知見からアロザイムによる生化学的分析で個体識別が可能である^{2,3)}。ただ、資源評価のためには大量の標本を処理しなくてはならず、アロザイム分析より簡便で経費のかからない判別方法が必要とされている。本研究では、両種の耳石輪紋の見え方に着目し、その違いから両種の判別を試みると共に、アロザイム分析結果と比較することでその有効性を検討したので報告する。

材料及び方法

2003年6月から9月にかけて、オットートロールもしくはかけまわし網による沖合底びき網漁業の漁獲物から計6回、イカナゴ類標本を採集した(図1)。標本は、採集後ただちに水産試験場の研究室に搬入し、生鮮状態で1回につき100尾の体長、体重、内臓除去重量、性別、成熟度等について生物測定を行った。また、生物測定後、魚体から耳石およびアロザイム分析用の筋肉(骨格筋)を採集するとともに、一部の個体について脊椎骨数(尾部棒状骨を含む)を計測した。

アロザイム分析

個体毎の種判別のためにLDH(乳酸脱水素酵素)の

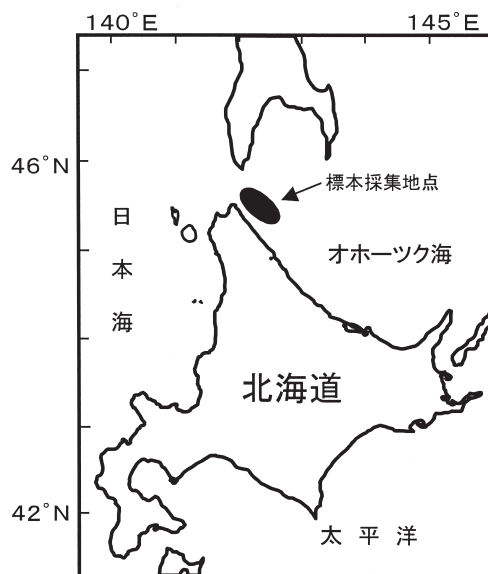


図1 標本採集地点

遺伝子座 *Ldh-2* について、でんぷんゲル電気泳動法を用いた分析^{2,3)}を行った。

採集した筋肉は、電気泳動で分析するまで $-25 \sim -70^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫内で保存した。冷凍庫から取り出した筋肉は、蒸留水を加えてすりつぶし、再度一晩以上 -30°C で凍らせた後、冷凍庫から取り出し、解凍時に得られるドリップを濾紙(No.5C)に吸着させ、でんぷんゲルに貼り付けた。

電気泳動では緩衝液としてC-APM(pH7.0)を使用した。でんぷんゲル濃度は10.5%とし、泳動時間はでんぷんゲルの断面積 1cm^2 当たり5mAで3時間とし、 $4 \sim 5^{\circ}\text{C}$ の恒温庫内で泳動を行った。

耳石の観察

耳石は採集後に水を張ったプレートに保存し、後日、

報文番号A381 (2004年7月9日受理)

* 北海道立稚内水産試験場(Hokkaido Wakkanai Fisheries Experimental Station, 4-5-15 Suehiro Wakkanai, Hokkaido 097-0001, Japan)

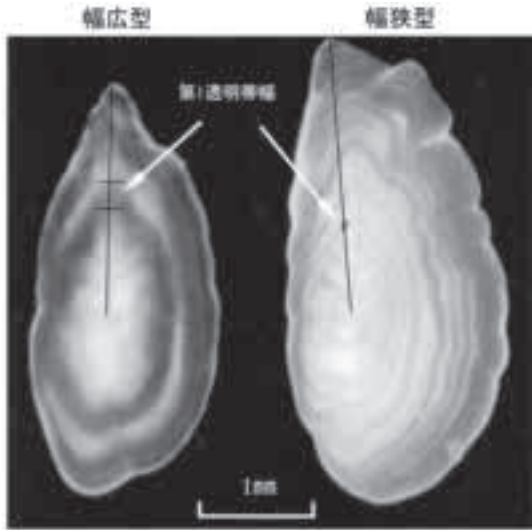


図2 イカナゴ類の耳石にみられた2タイプ幅広型；イカナゴ（体長220mm）幅狭型；キタイカナゴ（体長242mm）

表1 アロザイム分析による標本採集日ごとの種判別結果

採集日	標本数 (尾)	アロザイムによる種判別結果		
		イカナゴ (尾)	キタイカナゴ (尾)	ハイブリッド (尾)
2003. 6. 4	100	42	57	1
2003. 6. 24	100	1	97	2
2003. 7. 17	100	99	1	
2003. 7. 29	100	100		
2003. 8. 28	100	100		
2003. 9. 5	100	100		
合計	600	442	155	3

観察を行った。当海域におけるイカナゴ類の耳石は、図2に示す第1透明帯の幅が広いタイプと狭いタイプの2タイプに大きく類別される。そこで、6月4日に採集した標本の97個体の耳石について、右眼側から得た耳石の第1透明帯の幅（図2）をオリンパスデジタル式小型測定顕微鏡STM5を用いて0.5μm単位で測り、アロザイム分析結果と比較した。透明帯幅計測の際、耳石表面全体が白濁して見えにくい場合は、800番の耐水サンドペーパーで表面を研磨した後、計測を行った。また、それぞれの耳石について実態顕微鏡を用いて落射光下で第1透明帯幅の目視観察を行い、幅広型と幅狭型に分けて記録し、後にアロザイム分析結果と比較した。

結果および考察

今回得られたイカナゴ類の体長範囲は126~256mmであり、一部未成魚が見られたものの、大部分は成魚であった。

Ldh-2の電気泳動では3個の対立遺伝子（Ldh-2*

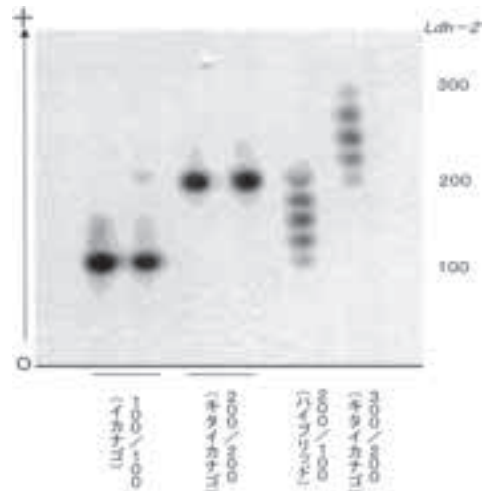


図3 乳酸脱水素酵素（Ldh-2）の電気泳動ザイモグラムパターン

表2 宗谷海峡周辺で漁獲されたイカナゴ類の脊椎骨数の比較

脊椎骨数	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	合計	平均
イカナゴ	1	5	31	97	80	22	1				237	64.35
キタイカナゴ			1	2	17	34	51	34	3	3	145	66.80

100, Ldh-2*200, Ldh-2*300)が検出された（図3）。このうち、Ldh-2*100はOkamoto et al.³⁾が示したLdh-2*100, Ldh-2*200はLdh-2*300と同じと考えられる。そのため、遺伝子型が100/100であるものがイカナゴ、200/200がキタイカナゴ、100/200が両種のハイブリッドであると判断した。また、対立遺伝子Ldh-2*300はこれまで報告されたことのない対立遺伝子であり、本研究では全標本中1尾のみにみられた。この対立遺伝子を持った個体の遺伝子型は200/300であったので、ここではこの1個体をキタイカナゴと仮定した。分析した600個体中、イカナゴは442個体、キタイカナゴは155個体、両種のハイブリッドは3個体であった（表1）。

生化学的な分析結果に拠らない両種の判別基準として、両種の形態形質の違いも知られており、イカナゴの脊椎骨数は62~67程度、キタイカナゴは68~72程度とされる⁴⁾。アロザイム分析した結果から種判別した後、種毎に脊椎骨数を計測した結果、イカナゴの脊椎骨数は61~67で平均64.35、キタイカナゴは63~70で平均66.80（表2）であり、当海域で漁獲された両種の脊椎骨数はキタイカナゴに比べてイカナゴの方が少ない傾向がみられた。しかし、双方の脊椎骨数は63~67の間で重複が認められ、重複率は88%（382個体中336個体）と非常に高かった。したがって、当海域において脊椎骨数による両種の個体レベルでの種判別は困難と考えられた。

図4にアロザイム分析で種判別を行った100個体について、個体毎に耳石の第1透明帯幅を計測した結果を示

した。キタイカナゴ耳石の第1透明帯長幅は11.5~126.5 μm , イカナゴ耳石の第1透明帯幅は60.0~605.0 μm であった。この結果から、イカナゴ耳石の第1透明帯幅はキタイカナゴに比べて変異の幅が大きい傾向が見られたものの、両種は第1透明帯幅が100.0 μm より広い狭いかで概ね分離可能と判断した(図4)。この基準で種判別した場合の両種の誤認率はイカナゴが約13% (40個体中5個体), キタイカナゴが約5% (56個体中3個体)で、ハイブリッドを含めると全体で9% (97個体中9個体, ハイブリッドは誤認に加えた)程度であり、両種の簡易的な判別基準として十分使用できると考えられた。

図2から、両種の耳石は目視観察でも一見して第1透明帯の幅が広いタイプと狭いタイプが判別できる。そこで、目視による耳石輪紋観察結果とアロザイム分析による種判別結果を比較し、種毎に幅広型と幅狭型の耳石を持つ個体数を集計した(表3)。イカナゴ耳石は幅広型431個体, 幅狭型11個体, キタイカナゴ耳石は幅広型2個体, 幅狭型153個体, ハイブリッド耳石は幅狭型3個体であった。この結果から幅広型の耳石を持つ個体をイカナゴ, 幅狭型の耳石を持つ個体をキタイカナゴと種判別した場合、種判別の誤認率は約3% (600個体中16個体, ハイブリッドは誤認に加えた)程度であり、大部分の個体は目視観察による耳石のタイプ分けのみでも十分種判別可能と考えられた。耳石に形成された透明帯・不透明帯の間隔は、個体の成長履歴を表していると考えられる。キタイカナゴの産卵期は11~12月の冬季間、イカナゴは3~4月の春季間と異なり³⁾、発生初期から1年間程度の成長様式は両種でかなり異なることが予想される。当海域におけるイカナゴ類の初期成長と耳石輪紋形成、およびそれらの関連はほとんど分かっていないため、今後、これらのことを明らかにすることが重要である。

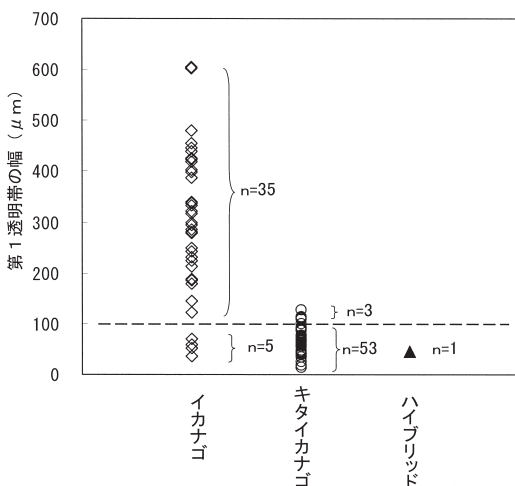


図4 種別に見た耳石第1透明帯幅の変異

表3 種毎にみた耳石輪紋(第1透明帯幅)のタイプ分け結果

採集日	イカナゴ		キタイカナゴ		ハイブリッド	
	幅広型 (尾)	幅狭型 (尾)	幅広型 (尾)	幅狭型 (尾)	幅広型 (尾)	幅狭型 (尾)
2003. 6. 4	37	5	2	55		1
2003. 6. 24	1			97		2
2003. 7. 17	97	2		1		
2003. 7. 29	98	2				
2003. 8. 28	100					
2003. 9. 5	98	2				
合計	431	11	2	153	0	3

文献

- 1) 北口孝郎：北海道北部沿岸水域に分布するイカナゴ属 (Genus *Ammodytes*) の分類学的一考察 北水試研報, 21, 17-30 (1979)
- 2) Okamoto, H.: A genetic comparison of sympatric populations of sand lance (genus *Ammodytes*) from the region east of Cape Soya, Japan. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 46, 1944-1951 (1989)
- 3) Okamoto, H., H. Sato, and K. Shimazaki: Comparison of reproductive cycle between two genetically distinctive groups of sand lance (genus *Ammodytes*) from northern Hokkaido. Nippon Suisan Gakkaishi, 55 (11), 1935-1940 (1989)
- 4) 波戸岡清峰：“302. イカナゴ科”. 日本産魚類検索全種の同定 第二版(中坊徹次 編). 初版. 東京, 東海大学出版会, 2000, 1074.