

ストック識別法

張 成年 (遠洋水産研究所)

はじめに

ストック (stock) を英語の辞書で引くと、家系、血統、種族、群生、群落といったいろんな語が出てくるので、かなり広い意味合いを含む言葉のようである。一方、生物学用語辞典では”漁業が成り立つ範囲で継続的に生産を与えることが可能とされる物量のこと”と明記されている。ストックを系群や資源という言葉に訳するのが適当であると漠然と考えていたが、このうち系群 (あるいは系統群) という言葉は意外にも生物学辞典には載っていない。系群という言葉には、血縁関係のような遺伝的なニュアンスを含むものと筆者は理解している。そのため、広い意味での”群”を扱う場合にはストックというほうが無難かもしれない。そして、ストックと定義した”群”の間で遺伝的になんらかの差異が見出された場合にのみ系群と呼ぶべきなのかもしれない。というわけで、ここではあえて系群という語は使わずストックという語で統一することにする。

ストック識別には形態、遺伝子、耳石の微量元素分析、標識放流、寄生虫等々、かなり広範囲にわたる分野からのアプローチがありその半数でも解説することなどとも筆者の手に負えるものではない。ここでは遺伝子マーカーと標識放流による分析に限らせていただき、いくつかの実例を紹介しながら解説していくことにする。

I. 遺伝子マーカーの概要

Lewontin and Hubby (1966)がショウジョウバエにおけるタンパク質多型現象を報告して以来約40年近く、タンパク電気泳動法は集団遺伝学的分析の中心的役割を果たしてきた。DNA分析に関しては、DNA鎖の特定配列を認識して切断する制限酵素が1970年に発見され、1975年頃には塩基配列を直接決定できる方法が開発された。画期的なPCR (polymerase chain reaction) 法の発明はいうまでもないが、その後のDNAレベルでの多型検出にはこのPCR法、制限酵素によるRFLP (restriction fragment length polymorphism) と塩基配列の直接決定が3本柱となっている。また、ゲノム中の多くの多型マーカーを同時に検出できるAFLP (amplified fragment length polymorphism) やRAPD (random amplified polymorphic DNA) 法、特定塩基配列間に差異があるかどうかを知る方法としてのSSCP (single strand conformation polymorphism)法等、DNA多型検出技術は日進月歩である。種判別や集団構造の遺伝学的分析には、分離が比較的容易でハプロイド分子として多数存在するミトコンドリアDNA (mtDNA) 分子を制限酵素で切断して得られる多型(RFLP)が広く用いられてきた。PCR法が導入されてから、特定領域のみを増幅してRFLP分析したり(PCR-RFLP)、塩基配列を簡

便に決定できるようになった。さらに、多型検出技術の進歩によって核ゲノムも比較的容易に分析できるようになり、VNTR (variable number of tandem repeat)、STR (short tandem repeat) (マイクロサテライト) のような高度に多型を示す領域や、変異性は低いがノンコーディングやコーディング領域における SNP (single nucleotide polymorphisms: 一塩基多型) や欠失、挿入といった多型の利用も盛んに行われるようになった。分析手法は、よりハイスループット、すなわち簡便迅速化が求められ、分析対象は、より多型を示す領域の探索とその応用、という傾向がみられる。簡便迅速化は大歓迎であるが、ストック識別という分野に関する限り新しい手法、より高度な多型を検出できる方法や領域が常に良いとは限らない。どの手法を使うかについては手になじんできた、あるいは目新しい手法や遺伝子に固執することなく、直面しているストック識別の問題によりよく対処できる手法とマーカーを選ぶべきである。そのようなマーカーに運良く出会うか、どのように効率良く探索するか、がキーポイントである。ストックといった概念を定義することは難しいが、交流がほとんど無いという厳しい状態がストックの条件であるとするならば、ストック間の差異が大なり小なりゲノムのどこかに存在する可能性は高い。一方、ある程度の交流を認めるマイルドな状態でもストックとするならば、ストック間に安定した遺伝的差異を求めることは困難になる。すなわち、ストック間の差異が検出できるか否かは基本的には手法によるのではなく、 **population dynamics** の歴史そのものに依存している。問題は、ストックを識別できるようなマーカーが存在するのか、それをスクリーニングするといっても我々にそのチョイスがどれだけあるか、である。アイソザイム分析では、特に魚類においては多型を示す遺伝子座数自体それ程多くなく (多型率として 10-30 %程度)、対象種の集団解析に有効か否かにかかわらず発見した多型遺伝子座をとりあえず使ってみるといういわばボトムアップ的な使い方がほとんどであった。DNA 分析になるとチョイスは明らかにひろがるが、検出した多型マーカーを順次、標本にアプライしてゆくというパターンにかわりはない。理想的なアプローチは、異なる標本間で偏った遺伝子型頻度分布を示すマーカーを前もってスクリーニングするというトップダウン方式である。ヒトではゲノムの全塩基配列解析がもうすぐ完了し、その後のポストゲノム研究は SNP の探索と疾病等の表現型との関連の研究に突入しようとしており、表現型間の遺伝的差異を検出するにあたってはすでにトップダウン方式になりつつある。魚介類におけるゲノム情報はヒトのものに比べると貧弱であるが、断片的であっても情報は徐々に蓄積しつつあり、多型検出技術の進歩とあいまって、ストック識別という分野でもトップダウン方式が主流となるであろう。

I—2. 標本

この分野の研究はほぼ標本依存であるといつてよく、ストックと想定されるものからの基

準標本があることが重要な基礎となる。例えば産卵場が地理的あるいは季節的に異なっているとか地理的障壁があるという情報があるならば、そこからの個体群が良い基準となり、いかにその場所あるいは季節出身の標本を得ることができるかがキーポイントである。標本数とそれを構成する個体数は多ければ多い程良いのは当然であるが、無駄な努力と投資を省くためには最低限どれぐらいの標本サイズがあればよいのであろうか。多くの研究者達は経験的に1標本あたり50個体程度を最低ラインと考えているようであるが、これはマーカーの性質すなわち対立遺伝子の数や頻度に大きく左右されるため結構難しい問題であり、高度に多型的なマーカーではさらに多くの標本を必要とするであろう。世代や年級で分けられるならそれでスライスしても比較検討に耐えうる個体数が確保できなくてはならない。また、基準標本は、任意交配している個体群からのサブサンプルであるべきだが、それをどうやって裏付ければよいのであろうか。ミトコンドリア DNA 分析からはそれを知るすべはない。遺伝子型頻度分布が Hardy-Weinberg 平衡 (H-W 平衡)にある、というのがひとつあるいは唯一の目安であるが、この平衡からはずれなければ任意交配集団からのサブサンプルとみなして良いわけではない。例えば、遺伝子頻度もしくは遺伝子型頻度が有意に異なる2標本を混合しても H-W 平衡からははずれないことがよくある。すなわち H-W 平衡に合うか合わないかの検定は結構ラフなものであり、標本サイズや対立遺伝子の数、異なるストックが混ざっているのならその混合の割合と遺伝子頻度の差異の程度、に大きく左右される。この点に関しては常に留意しておくべきであるが今のところ標本サイズを大きくするしか手立てはない。

I—3. 遺伝子マーカーの選択

前項の標本サイズの話しの裏を返せば、小さい標本サイズでも差異が歴然とわかるマーカーや手法が当然ながら実用面では優れたものということになる。しかし、対象とする生物や分析の目的によって状況は異なる。例えば、Angers et al. (1995)はイワナ的一种 (brook charr) のマイクロサテライト多型を用いて、単一河川水系の異なる支流で採取した標本間で遺伝子頻度が大きく異なることを示した。これなどは非常に近い過去(おそらく数年から数十年、あるいは1世代)での遺伝的浮動をとらえたものである可能性がある。このようなマーカーは、マイクロハビタットや非常に短い期間での個体群動態を研究するうえで生物学的に重要な情報をもたらすことができる。しかしながら、短期間に起こる遺伝的浮動を把握できるマーカーというのは長期的視野にたった各個体群の遺伝的タイピングにはむいていない。資源管理を目的とする場合、管理する単位とその境界を定義することが重要であって、そのためには各個体群(ストック)のタイピングが必要なのである。

また、高度に多型的なマーカーが常に集団間の差異をよりよく検出できるというわけでは

ない。Iwata (1975)はスケソウダラ(*Theragra chalcogramma*)の SOD アイソザイム遺伝子座における単純な 2 対立遺伝子多型を用いて、その遺伝子頻度が北海道周辺標本とベーリング海標本とで大きく異なることを明らかにした。その後、mtDNA-RFLP 分析(Mulligan et al., 1992)やマイクロサテライト分析 (Bailey et al., 1999) も行われているが、SOD アイソザイム分析ほど明瞭な差異は得られていない。ただし、SOD アイソザイム分析で得られる差異というのは極東とベーリング海という大きなくりの間での差異であり、昨今の課題となっているベーリング海内という範疇での集団構造を解析するにあたっては、この海域内ではほぼ単型に近い SOD アイソザイム分析は無力である。クロマグロ(*Thunnus thynnus*)でも似たような結果が得られている。大西洋と太平洋クロマグロ間の差異については mtDNA のコーディング領域 (cytochrome *b* と ATPase) の簡便な PCR-RFLP 分析によって 1 個体でもどちら産なのか判別できるくらいの分化が報告されている (Chow and Inoue, 1993; Chow and Kishino, 1995)。一方、9 つのマイクロサテライト遺伝子座の多型が報告されているが、大西洋と太平洋クロマグロ標本は遺伝子頻度に有意差はみられるものの多くの対立遺伝子を共有しているだけでなく頻度分布もよく似ている(Broughton and Gold, 1997 ; Takagi et al., 1999)。Broughton and Gold (1997)は大西洋のクロマグロ標本間に遺伝的差異のある可能性を報告している。しかし彼等のマイクロサテライト遺伝子座は高度に多型的であるにもかかわらず標本サイズが 1 標本あたり 8 から 22 個体であり上記のような示唆をする以前の問題のように思える。また、遺伝子頻度における標本間の有意差は西部大西洋と地中海間だけでなく、とても異なるストックがあるとは考えにくい地中海内の標本間でさえ見られている。これなどは、標本サイズが十分でないにもかかわらず高度に多型なマーカーを用いているため、その結果を統計的に処理するにあたってはシュミレーションに頼らなくてはならないという根本的な問題があることを暗示している。しかし、ここでもやはり大洋内でのクロマグロの集団構造を理解するにあたっては mtDNA のコーディング領域の分析は、大西洋、太平洋それぞれではほぼ単型であるため無力である。大西洋クロマグロに関しては、東西ストックの存否が長年問題になってきたにもかかわらず、地中海とメキシコ湾という 2 大産卵場からの基準標本の採集が軽視されてきたようである。この点に関しては、仔魚から得られる微量な DNA でも PCR 法によって分析できるようになったため、近年いくつかの高度回遊性魚種で卵稚仔の採集と分析に重点が置かれるようになってきた。

大西洋タラ(*Gadus morhua*)では mtDNA-RFLP や cytochrome *b* 遺伝子の塩基配列分析では標本間に顕著な差異は見い出されていないが (Car and Marshall, 1991; Dahle, 1991; Arnason et al., 1992)、マイクロサテライトやミニサテライトのような高度多型遺伝子座では大西洋の東西標本間、南北標本間及び沖合と沿岸標本間で遺伝子頻度の顕著な差異が検出されている (Galvin et al., 1995; Bentzen et al., 1996)。興味深いことに Fevolden and Pogson (1997)は

synaptophysin 遺伝子のイントロンで検出した単純な 2 対立遺伝子多型を用いて東部大西洋及びノルウェー沿岸のタラ標本を分析した結果、従来考えられてきたよりも集団が細分化されていることを明確に示すことができた。

Kotoulas et al. (1995)は mtDNA-RFLP 分析という初期のオーソドックスなアプローチによって、地中海と大西洋のメカジキ(*Xiphias gladius*)標本間で遺伝子型頻度分布が顕著に異なることを発見し、遺伝的交流がほとんど無いものと結論している。この研究が発端となって、米国の研究者達が mtDNA のコントロール領域 (D-loop)の高度多型部位約 300bp から 500bp について、地中海、大西洋、太平洋から採集した多くの個体について塩基配列分析を始めた(Albarado-Bremer et al., 1995, 1996; Rosel and Block, 1995; Reeb et al., 2000)。分析個体数はすでに 500 を超えるが、検出される遺伝子型数が非常に多く、標本間の遺伝子型頻度の有為差検定にかなり無理が生じていることに加え、かえって標本間の差異がファジィなものになっている。また、標本特異的な塩基置換などは検出できなかった。これなどは、変異性が高すぎてすでに飽和しているとともに、存在していた差異がすでに消滅している疑いすらあるように思える。一方、この高度多型部位を含むより長い断片(約 2,000bp)の PCR-RFLP 分析では検出される多型レベルはかなり落ちるものの地中海個体群がかなり孤立したストックであり外部からのメカジキ個体の侵入がないことが明瞭に示されている (Chow et al., 1997; Chow and Takeyama, 2000)。これらメカジキでの例は、高度に多型的な領域の塩基配列まで調べても分からないものはわからないという好例である。分析戦略としては、基準群と考えられる標本からの個体をいくらか分析した時点でこの部位がマーカーとして実用的なものかどうかの判断を下すべきであったのであろう。また、南北大西洋のメカジキ標本間にも有意差があることが報告されている (Albarado-Bremer et al., 1996; Chow et al., 1997; Chow and Takeyama, 2000)。しかし、カルモデュリン遺伝子(CaM)のイントロンにおける単純な一塩基多型 (SNP) を用いた分析のほうが南北大西洋のメカジキ標本間の差異をよりいっそう明瞭に浮き彫りにしている(Chow and Takeyama, 2000)。

ところで、mtDNA はハプロイドであるため核遺伝子に比べ集団サイズの変動の影響を受けやすく集団分化の良い指標になるものと考えられている。例えば、極端に考えると 2 個体しか残らなかった集団 (集団と言えるかどうかはさておいて) では mtDNA では最大 2 種類のタイプしか保持できないが、2 倍体核遺伝子の対立遺伝子は最大 4 種類保持できる、ということである。しかしながら、スケソウダラ、メカジキ、タラでの研究で示されたように、単純な多型を示す核遺伝子座のほうが mtDNA 分析よりも標本間で明瞭な差異を検出している例も多いことも事実である。このことは、集団が分化した後にゲノム中のどの部位で遺伝子型の偏った再配列すなわち遺伝的浮動が起こるかは予測できない、ということを示している。また、集団が分化した後に遺伝子流動が一時的にでも起こった場合には、

mtDNA でのほうが早く遺伝子型頻度のホモジナイズがおこる可能性もある。

このように、マーカーを選択するといっても、いろんなケースがあつて、どれがよいのかはやってみないとわからない、というのがほぼ現状である。しかし、前述したように、トップダウン方式でスクリーニングできるならばそれにこしたことはない。この方式は、魚介類でもいろんなユニバーサルプライマーがすでに多く存在する mtDNA では可能である。また魚類ではすでに 10 数種類でミトコンドリアゲノムの全塩基配列が報告されているため、新たなユニバーサルプライマーの作成は比較的容易である。PCR 産物について RFLP やシーケンスあるいは SSCP 等によって基準標本間で十分な個体数を分析した時点で目立った差異がなければその分析手法や対象領域には固執することなく早めに見切りをつけるべきである。核ゲノムに対しては今の段階で手軽に使えるような手法は AFLP や RAPD であるが、これらの手法は、最終的には SNP のような比較的単純なマーカーを検出するうえでの中間的手法とみなすべきであろう。すなわち、もし標本間で AFLP や RAPD で明らかな差異が見い出されても、その時点でストック識別が終わったわけではなく、その差異の根源を明らかにしなくてはならないし、そのような差異は必ず存在するはずである。標本間に差異が見い出され、異なるストックがタイピングでき、その結果を資源管理なり実用面で応用する必要性あるいは何らかのメリットがあれば、その後の分析システムの簡便迅速化はなんとでもできよう。そして、マーカーが単純であればあるほど、簡便迅速化はより容易となる。

いろんな研究者が同じ魚種について研究している場合、それぞれが異なるマーカーを開発しているのであれば標本を共有すること、あるいはすでに有望なマーカーが存在するのであれば、そのマーカーを共有し、異なる標本を分析してゆくことが効率的である。

II. 標識放流

ストック間になんらかの隔離が働き、遺伝子型頻度が違ってくるというシナリオにはある程度の時間が必要である。ストックサイズが極端に小さくなった場合にはかなり短い期間でも遺伝子型頻度に大きな変化が起こりうるが、多くの場合数百とか数千年のオーダーあるいはそれ以上かも知れない。突然変異による新規対立遺伝子の導入はあるかもしれないが、非常に近い過去に隔離が起こり、我々が目の当たりにしている種という集団がゆっくりと分集団に分化する過程のまっただ中にある場合や、ストック間に少しでも遺伝子の“漏れ”がある場合にはそれが一時的あるいは断続的であったとしても、ある研究者が生きているうちに異なるストックを識別しうる遺伝子マーカーを発見できるチャンスは少ないであろう。生態や形態等の情報から明らかに異なる個体群と考えられる場合でもそれら個体群間に何ら有意義な遺伝的差異が見出せないケースはよくある (Kornfield et al., 1982)。こ

れらが、技術的に遺伝的差異を検出できないためなのか、生態や形態の変異がかなり可塑性のあるものであるからなのかはよくわからない。その点で、個体の移動を直接的に知ることでできる標識放流再捕は優れている。すなわち、ゆるやかな交流があるストック間の交流程度を知る必要がある場合、遺伝子分析はほとんど無力であるが、標識放流再捕にはそれができる可能性がある。通常標識にはいろんな手法や素材のものがあるが基本的には放流地点と再捕地点を知るものである。ここでは通常標識については割愛し、近年開発され実際に用いられているハイテク IC 標識について解説する。

II—1. アーカイバルタグ

通常標識そのものは安価で手軽であるが、放流と再捕地点しかわからずその途中は一体どこでどのような行動をとっていたのかはわからない。これを解決するために、マイクロプロセッサを基盤にしたデータ蓄積機能を持つアーカイバルタグが開発されている。これは、体内あるいは外に装着され、温度、圧力、照度に対するセンサーを持ち、体内温度（体内に装着された場合）、水温、水深、照度、時刻（世界標準時）を内臓メモリーに記録する。日出—日没間隔から緯度、日出と日没の時刻から経度が推定できる。緯度については誤差が比較的大きいので表面水温データを用いてチューニングする。長所は、設定した時間間隔での魚のおおまかな位置、水深、体温、水温情報が得られること、約2メガ程度の情報が蓄積できること、電池寿命が7年程度と比較的長いことである。

アーカイバルタグが最初に応用された海洋動物はゾウアザラシであり回遊経路、潜水深度等が克明に記録されている (DeLong et al., 1992)。まぐろ類では、豪州南西沿岸で標識放流されたミナミマグロ1個体が1年後にほぼ同じ海域で再捕されたが、蓄積されたデータによってケープ沖近くまで回遊していたことが明らかにされた (Gunn et al., 1996)。また、太平洋のクロマグロでは、九州でアーカイバルタグを装着放流された幼魚のうち1個体がアメリカ西海岸で再捕され、渡洋回遊過程の実態が明らかにされつつある (伊藤、1996; 山田、1999)。装着方法としては、まぐろ類では腹腔内や背筋肉中に挿入する方法が主に用いられており、生残にはほとんど影響がないものと考えられている (伊藤、1996)。

II—2. ポプアップタグ

アーカイバルタグは非常に重要な情報をもたらすが、短所としては装着個体が再捕されないかぎり情報が得られないことである。また、カメ等で使用されているアルゴス発信装置は、装置が水面上に浮上する機会がないとデータを発信できない。そこで、ポプアップタグ（正確には pop-up satellite tag）が考案された。これは魚体外に装着する情報記録発信装置で、設定した時間になると自動的に魚体から切り離されて浮上しアルゴス衛星にデータ

を送信する。装着個体を再捕する必要がないことが最大の長所である。1997年に Block et al. (1998)は離脱期間をいくつか設定したタグをノースカロライナ沖（北緯約 35 度）で漁獲した大型のクロマグロ 37 個体に試験的に装着し放流した。第 2 背鰭基部にモリ状のアンカーを打ち込んで装着する方式をとっている。3-14 日といった短期間で浮上する設定をしたタグを打ち込んだ 9 個体からの情報では生残率は 100%であり、この装着方法が魚の生残にはほぼ影響ないことが示されている。また、長期（60-90 日）の設定をした 28 個体中 26 個体からデータが送信されている。さらに Lutcavage et al. (1999)は Gulf of Maine で 20 個体のクロマグロ成魚（体長 1.9 から 2.6m）にタグをつけ 9-10 月に放流した。そのうち 17 個体から設定通りに翌年の 5-7 月にタグが切り離されデータが得られた。この時期はメキシコ湾及び地中海での産卵期にあたるが、予想に反して全ての個体が中部大西洋（西経 40-60 度、北緯 32-42 度）に滞留しており、魚の体長から考えてこのような海域でも産卵している可能性があることを指摘している。Block et al. (1998)も同様のことを 10 個体の大型魚で報告している。このように、ポップアップタグは再捕する必要が無い点で優れているが、タグの浮上位置と限られた期間の水温データのみ記録発信することと電池寿命が 1 年程度と短いことが短所である。

II—3. 次世代標識、課題

アーカイバルとポップアップそれぞれ長短があるため、両方の長所を併せたポップアップアーカイバルタグが開発されている。これは、アーカイバルタグのように水温、水深、照度をメモリーに記録し、設定された時間が経過した時点で魚体から切り離され浮上後、アルゴス衛星にこれらのデータを送信するものであり今後主流になってゆくであろう。

これらのハイテク IC 標識は装置自体が大きく、比較的大きな魚種でしか使えないことや、電池寿命やメモリー容量に限界があること、位置の推定は照度に依存しているため、昼間は太陽光が届かない深度まで潜り、夜間に浅いところに浮上するような魚種や砂泥中に潜るような種では位置がわからないこと等、改良すべき点は多くある。しかし、これらは遅かれ早かれ確実に克服されよう。例えば、振動による発電機を組み込めば寿命は飛躍的に延びるであろうし、メモリーの増大は時間の問題である。慣性航法のような照度に依存しない位置決定装置の導入も可能かも知れない。さらに、多段式のタグが開発できれば 1 個体の行動を定期的にしかも効率的に追跡できるようになるであろう。また、装置全体の小型軽量化も時間の問題であり、装着しうる魚種数は増加してゆくに違いなく、集める情報も例えば脈拍、遊泳速度、ホルモンのような特定物質濃度等、多岐にしかも緻密になってゆくことは確実である。

上にあげたタグの使用例は、ストック識別の問題というよりは行動、回遊生態の解明が

メインテーマである。大西洋のクロマグロのように東西系群の存在とその境界についての問題にチャレンジする目的で利用されたケースもあるが、それとて過去の通常標識の域を大きく凌駕しているわけではない。しかし、今後、需要が増すとともに単価が下がれば、放流個体数も飛躍的に増加するであろうし、そうなれば、ストックの問題にも十分対処できるようになることは確実であるものと思われる。

III. 最後に

ある学会でメカジキやメバチそしてクロマグロにおける単純な多型を示す遺伝子マーカーの検出とストックや種判別へのその応用結果を報告したところ、ある研究者から多型検出感度を下げるといふのには疑問を感じる、との質問（意見？）をいただいた。しかしよく考えてみると、確かに標本（ストック）内の多型検出感度は落ちるが、標本（ストック）間の多型検出感度は遥かに高くなっているのである。この辺のところを誤解されていたのか、と後になって気付いた。また、経験的に種の判別とストックの判別は異なる次元の事象ととらえている人が多い。これはとりもなおさず、種間には目で見ても明らかなギャップが存在するが、種内ストック間にはある程度の繋がりがあって、不連続な形質など存在しないという先入観があるからであろう。しかし、基本的にはこれらは程度の違いであって、同じ土俵にあるものとしてとらえるべきである。そして、種（ストック）を識別するためには、用いるマーカーの分散は種（ストック）内では限り無くゼロに近い方が良く、種（ストック）間では大きい方が良いという基本を忘れてはならない。しかし、そんな都合のよいマーカーがゴロゴロ転がっているわけがないこともまた事実であろう。また、遺伝的多型を用いた分析手法には明らかに限界があることも認識すべきであり、標識放流その他いろんな技術との併用が基本であろう。一昨年アメリカの学会で、ある著明な研究者の発表の冒頭に、“how to identify stocks of a fish species with high gene flow”というくだりがあった。その時私の脳裏にうかんだ言葉は“high gene flowという背景でstockを識別できる遺伝子マーカーがあるわけじゃないか”というものであった。これはしかし、ストックというものの概念が人それぞれで異なることにも起因するすれ違いなのかもしれない。

参考文献

- Albarado-Bremer, J. R., Baker, A. J. and Mejuto, J. (1995). Mitochondrial DNA control region sequences indicate extensive mixing of swordfish (*Xiphias gladius*) populations in the Atlantic Ocean. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 1720-1732.
- Albarado-Bremer, J. R., Mejuto, J., Greig, T. W., and Ely, B. (1996). Global population structure of the swordfish (*Xiphias gladius* L.) as revealed by analysis of the mitochondrial DNA control

- region. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 197: 295-310.
- Angers, B., Bernatchez, L., Angers, A. and Desgroseillers, L. (1995). Specific microsatellite loci for brook charr reveal strong population subdivision on a microgeographic scale. *J. Fish Biol.* 47 (Supplement A): 177-185.
- Arnason, E., Palsson, S. and Arnason, A. (1992). Gene flow and lack of population differentiation in Atlantic cod, *Gadus morhua* L., from Iceland, and comparison of cod from Norway and Newfoundland. *J. Fish Biol.* 40: 751-770.
- Bailey, K. M. Quinn, T. J., Bentzen, P. and Grant, W. S. (1999). Population structure and dynamics of walleye pollock, *Theragra chalcogramma*. *Adv. Mar. Biol.* 37 (in press).
- Bentzen, P., Taggart, C. T., Ruzzante, D. E. and Cook, D. (1996). Microsatellite polymorphism and the population structure of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the North-West Atlantic. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 2706-2721.
- Block, B. A., Dewar, H., Farwell, C. and Prince, E. D. (1998). A new satellite technology for tracking the movements of Atlantic bluefin tuna. *PNAS* 95: 9384-9389.
- Broughton, R. and Gold, J. R. (1997). Microsatellite development and survey of variation in northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 6: 308-314.
- Car, S. M. and Marshall, H. D. (1991). Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome *b* gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymerase chain reaction. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 48-52.
- Chow, S. and Inoue, S. (1993). Intra-and interspecific restriction fragment length polymorphism in mitochondrial genes of *Thunnus* tuna species. *Bull. Natl. Res. Inst. Far Seas Fish.* 30: 207-225.
- Chow, S. and Kishino, H. (1995). Phylogenetic relationships between tuna species of the genus *Thunnus* (Scombridae: Teleostei): Inconsistent implications from morphology, nuclear and mitochondrial genomes. *J. Mol. Evol.* 41: 741-748.
- Chow, S., Okamoto, H., Uozumi, Y., Takeuchi, Y. and Takeyama, H. (1997). Genetic stock structure of the swordfish (*Xiphias gladius*) inferred by PCR-RFLP analysis of the mitochondrial DNA control region. *Mar. Biol.* 127: 359-367.
- Chow, S. and Takeyama, H. (2000). Nuclear and mitochondrial DNA analyses reveal four genetically separated breeding units of the swordfish. *J. Fish Biol.* 56: 1087-1098.
- Dahle, G. (1991). Cod, *Gadus morhua* L., populations identified by mitochondrial DNA. *J. Fish Biol.* 38: 295-303.
- Delong, R. L., Stewart, B. S. and Hill, R. D. (1992). Documenting migration of northern elephant seals using day length. *Mar. Mamm. Sci.* 8: 155-159.

- Fevolden, S. E. and Pogson, G. H. (1997). Genetic divergence at the synaptophysin (Sy I) locus among Norwegian coastal and north-east Arctic populations of Atlantic cod. *J. Fish Biol.* 51: 895-908.
- Galvin, P., Sadusky, T., McGregor, D. and Cross, T. (1995). Population genetics of Atlantic cod using amplified single locus minisatellite VNTR analysis. *J. Fish Biol.* 47 (suppl. A): 200-208.
- Gunn, J., Polacheck, T., Davis, T. and Wotherspoon, S. (1996). Update on CSIRO's studies of southern bluefin tuna using archival tags. *Proceeding of the 47th Annual Tuna Conference*. Lake Arrowhead, CA. p. 56.
- 伊藤智幸 (1996) アーカイバルタグによるクロマグロの生態解明. 遠洋水産研究所ニュース. No. 99: 12-14.
- Iwata, M. (1975). Genetic identification of walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (Pallas), populations on the basis of tetrazolium oxidase polymorphism. *Comp. Biochem. Physiol.* 50B: 197-201.
- Kornfield, I., Smith, D. C., Gagnon, P. S. and Taylor, J. N. (1982). The cichlid fish of Cuatro Ciénegas, Mexico: direct evidence of conspecificity among distinct trophic morphs. *Evolution* 36: 658-664.
- Kotoulas, G., Magoulas, A., Tsimenides, N. and Zouros, E. (1995). Marked mitochondrial DNA differences between Mediterranean and Atlantic populations of the swordfish, *Xiphias gladius*. *Mol. Ecol.* 4: 473-481.
- Lewontin, R. C. and Hubby, J. L. (1966). A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54: 595-609.
- Lutcavage, M. E., Brill, R. W., Skomal, G. B., Chase, B. C. and Howey, P. W. (1999). Results of pop-up satellite tagging of spawning size class fish in the Gulf of Maine: do North Atlantic bluefin tuna spawn in the mid-Atlantic? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56: 173-177.
- Mulligan, T. J., Chapman, R. W. and Brown, B. L. (1992). Mitochondrial DNA analysis of walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, from the eastern Bering Sea and Shelikof Strait, Gulf of Alaska. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 319-326.
- Reeb, C. A., Arcangeli, L. and Block, B. A. (2000). Structure and migration corridors in Pacific populations of the Swordfish *Xiphias gladius*, as inferred through analyses of mitochondrial DNA. *Mar. Biol.* 136: 1123-1131.
- Rosel, P. E. and Block, B. A. (1995). Mitochondrial control region variability and global population structure in the swordfish, *Xiphias gladius*. *Mar. Biol.* 125: 11-22.

Takagi, M., Okamura, T., Chow, S. and Taniguchi, N. (1999). PCR primers for microsatellite loci in tuna species of the genus *Thunnus* and its application for population genetic study. Fish. Sci. 65: 571-576.

山田陽己 (1999) アーカイバルタグによるクロマグロの移動生態. 遠洋水産研究所ニュース. No. 104: 2-5.