

シトクロム *b* 遺伝子領域の塩基配列分析による 相模湾産カタクチイワシ2型の遺伝的同一性

伸手川恒^{1†}, 大力圭太郎^{2‡}, 糸井史朗², 杉田治男², 秋元清治³

Genetic identity between two types of Japanese anchovy, *Engraulis japonicus*, from Sagami Bay based on the mitochondrial cytochrome *b* gene

Hisashi NAKATEGAWA^{1†}, Keitaro DAIRIKI^{2‡}, Shiro ITOI², Haruo SUGITA² and Seiji AKIMOTO³

Japanese anchovy *Engraulis japonicus* was abundantly caught by various catching methods such as large size set-net in Sagami Bay, Japan. The anchovy with fat and slightly short body have been observed in the catch of the fish, especially in the coastal area of east Sagami Bay since 2005. The specimens with condition factor (CF) ≥ 10 were represented as fat type, whereas those with CF < 10 were represented as normal type in this study. The formers were caught mostly in early spring, and the catch of the type sometimes reached the half of the total catch of the fish. We investigated the genetic difference in cytochrome *b* gene on mitochondrial DNA between fat and normal types of anchovy classified by morphological characters. Difference in nucleotide diversities within each type was not observed between two types, and the net sequence divergence and pair-wise fixation index (F_{ST}) between two types were very low, suggesting no genetic heterogeneity. The phylogenetic tree based on the partial sequences of cytochrome *b* gene also demonstrated that two types of anchovy formed a cluster with *E. japonicus*. In the samples collected in Sagami Bay from January 2005 to July 2007, the distribution of CF for fat type was not clearly separated from that for normal counterpart. These results suggested that the morphological variation of the anchovy *E. japonicus* was due to the difference in their migration pattern and food environments.

Keywrd: *Engraulis japonicus*, genetic difference, mtDNA, cytochrome *b*, condition factor, Sagami Bay

はじめに

1990年以降、全国的にマイワシ *Sardinops melanostictus* の漁獲量が急減し、代わってカタクチイワシ *Engraulis japonicus* の漁獲量が徐々に増加している (青木, 2007)。神奈川県においても同様の傾向が見られており、県内における2005年のカタクチイワシの漁獲量は、6,059トンと過去30

年間で最高値を記録した (関東農政局神奈川農政事務所, 2007)。また、本県沿岸漁業の主幹である大型および小型定置網漁業の漁獲量に占めるカタクチイワシの割合は約35%で、カタクチイワシは定置網漁業の主要漁獲物となっている (関東農政局神奈川農政事務所, 2007)。

本県の定置網漁業の漁獲量を大きく左右する魚種となったカタクチイワシであるが、資源量が高水準となった2005年頃から、通常のカタクチイワシよりも体高・体副が大きく、体長がやや小さい個体 (地元でマジコと呼ばれるずんぐり体型、以下、「肥満型」と称す) が、相模湾東部の横須賀市佐島および長井地先などの県下定置網において通常体型のもの (以下、「普通型」と称す) に混じって漁獲されるようになってきている (Fig. 1)。

この肥満型は主に春季に出現し、多いときにはカタクチイワシの漁獲量の半数ほどに達することがある。肥満型の体型は、明らかに普通型のそれとは異なることから、漁業の現場では両者は別種ではないかとの議論がされてきたが、このことについて魚類の形態および計数形質あるいは

2008年6月8日受付, 2008年12月7日受理

¹ 神奈川県水産技術センター

Kanagawa Prefectural Fisheries Technology Center, Miura, Kanagawa 238-0237, Japan

² 日本大学生物資源科学部

Department of Marine Science and Resources, Nihon University, Fujisawa, Kanagawa 252-8510, Japan

³ 神奈川県環境農政水産課

Fisheries Division, Environment and Agriculture Department, Kanagawa Prefectural Government, Yokohama 231-8588, Japan

[†] nakategawa.bayg@pref.kanagawa.jp

[‡] 現住所: 埼玉県農林総合研究センター水産研究所

Present address: Saitama Prefecture Agriculture and Forestry Research Center Fisheries Laboratory, Kazo, Saitama 347-0011, Japan

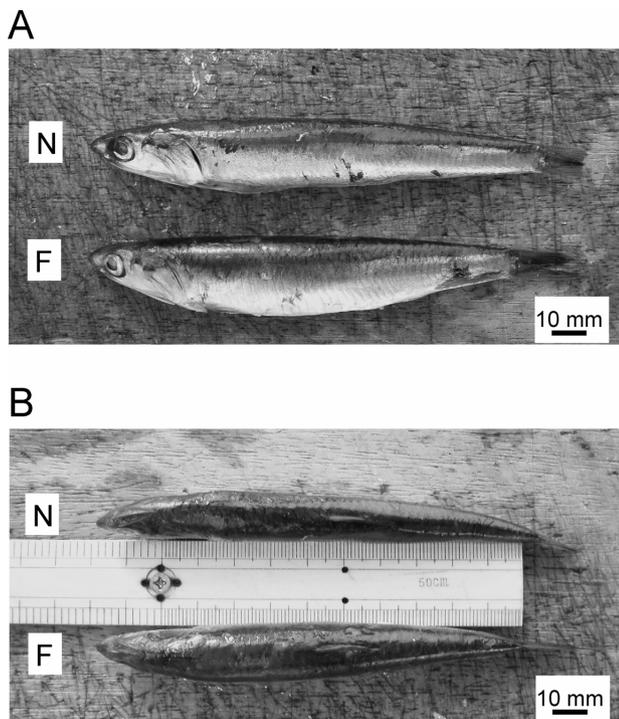


Figure 1. The difference in the morphology between two types of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* collected from Sagami Bay. A, lateral view; B, dorsal view. Normal and fat body types are represented by N and F, respectively. Bars represent a scale of 10 mm.

DNA分析から詳細に検討した事例はない。仮に肥満型が普通型と別種である場合、漁獲統計上の修正のみならず、カタクチイワシ太平洋系群の資源評価や漁況予測への影響も懸念されることから、両者の関係を明らかにすることが望まれていた。カタクチイワシ属では、地中海に生息する *E. encrasicolus* について、外洋域と沿岸域に生息する個体間には形態的、遺伝的な差異があることが示されている (Borsa, 2002; Borsa et al., 2004)。形態的特徴の酷似する近縁種あるいは形態的特徴の乏しい仔稚魚の種判別については、ミトコンドリアDNA (mtDNA) の塩基配列分析が有効であることが多くの魚類で示されており (瀬崎ほか, 2001; 柳本, 2002)、カタクチイワシ属、マイワシ属およびウルメイワシ属魚類についても mtDNA のシトクロム *b* 遺伝子の塩基配列分析により種判別が可能であることが報告されている (赤崎ほか, 2005)。

本研究ではまず、相模湾で漁獲されたカタクチイワシ試料について肥満度の値の分布状況を明らかにし、値の高低によりグループが二分するかを調べた。続いて、外部形態が著しく異なる肥満型試料と通常の個体である普通型試料について、mtDNA のシトクロム *b* 遺伝子領域の部分塩基配列を決定し、2型間の遺伝的差異について検討するとともに、分析結果を同じカタクチイワシ属である *E. encrasicolus*

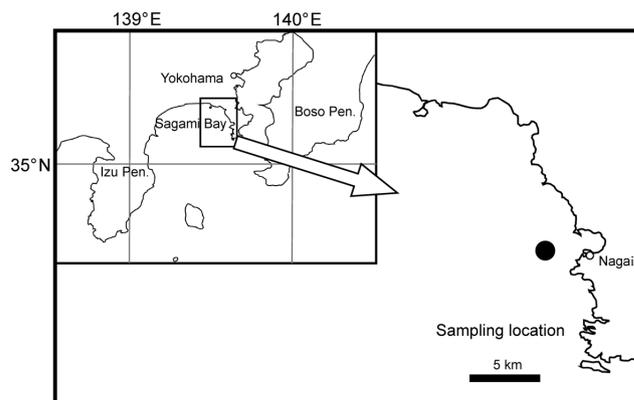


Figure 2. Sampling location of the coastal waters of the Miura Peninsula, Japan. Black circle on the map represents sampling location for two types of Japanese anchovy collected by large size set-net off Nagai, Sagami Bay.

の当該領域配列とともに系統解析を行った。

材料と方法

肥満度測定データ分析

2005年1月から2007年7月までの間に相模湾のまき網あるいは定置網で漁獲されたカタクチイワシについて、毎月1、2回程度、各回50~100尾を無作為に抽出し、魚体の被鱗体長BL (mm) (以下「体長」と称す)、体重W (g) を測定した。このうち体長90 mm以上の成魚のデータについて体長別の肥満度 ($CF = W/BL^3 \times 10^6$; 西脇, 1974) を算出し、体長別の肥満度の高低によりグループが二分するかを調べた。さらに、高い肥満度の個体の体長帯および出現時期の特徴を明らかにした。

DNA分析

上述の測定試料のうち、横須賀市長井沖の大型定置網 (Fig. 2) において、2006年4月27日に漁獲されたものの中から外部形態により肥満型と区分した肥満度1以上試料を6個体、2006年6月16日に漁獲されたものの中から外部形態により通常型と区分した肥満度10未満の試料を8個体、それぞれ供試魚として選別した。また、2006年4月27日に漁獲されたものの中から体長120 mmを超える試料で、外見上体高および体副が大きい1個体 (肥満度10.1) を中間型 (M1) として分析対象に加えた (Table 1)。各試料から筋肉約40 mgを採取し、Sezaki et al. (1999) の方法により全DNAを抽出した。この全DNAを鋳型として、プライマー L14724-Glu (5'-CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG-3') および Sard-CytbR (5'-GGGTGTTCTACTGGYATWCCTCC-3') (赤崎ほか, 2005) を用い、シトクロム *b* 遺伝子および tRNA^{Glu} 遺伝子領域約1.1 kbpを増幅した。PCR反応液は、粗全DNA抽出液1 μ l, 10 μ Mプライマー各0.8 μ l, 2 mM dNTP 2 μ l, 5 \times GoTaq DNA polymerase buffer 4 μ l, GoTaq DNA polymerase (Promega, Madison, WI, USA) 1 unitを含む

Table 1. Comparison of morphological characters between normal and fat types of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* for DNA sequencing on cytochrome *b* gene in this study

Sample no.	Body length (mm)	Body weight (g)	Condition factor	Sampling date	DDBJ no.
F1	110	15.7	11.8	27 Apr,2006	AB374208
F2	108	15.5	12.3	27 Apr,2006	AB374209
F3	112	16.7	11.9	27 Apr,2006	AB374210
F4	119	21.3	12.6	27 Apr,2006	AB374211
F5	118	19.1	11.6	27 Apr,2006	AB374212
F6	116	19.5	12.5	27 Apr,2006	AB374213
N1	118	13.9	8.5	16 Jun,2006	AB374214
N2	110	10.2	7.7	16 Jun,2006	AB374215
N3	122	16.3	9.0	16 Jun,2006	AB374216
N4	114	12.3	8.3	16 Jun,2006	AB374217
N5	113	11.6	8.0	16 Jun,2006	AB374218
N6	110	11.5	8.6	16 Jun,2006	AB374219
N7	106	10.8	9.1	16 Jun,2006	AB374220
N8	109	11.6	9.0	16 Jun,2006	AB374221
M1	122	18.3	10.1	27 Apr,2006	AB374222

Alphabetical letters of F, N and M in specimen number represent fat, normal and medium type respectively. Three body types are classified by morphological characters and the condition factor of the specimen (fat>11; normal<10; medium=10.1). Accession numbers of AB374208–AB374222 were deposited in the DDBJ/EMBL/GenBank databases in this study.

混合液に滅菌水を加えて20 μ lとした。サーマルサイクラーを用い、反応液を95°Cで1分間保った後に、95°Cで10秒間の熱変性、55°Cで20秒間のアニーリング、72°Cで45秒間の伸長反応を35サイクル行った後、4°Cで保存した。PCR産物をpGEM Easy Vector System I (Promega) を用いてT-ベクターに挿入し、組み換えベクターを用いて宿主大腸菌DH5 (株の形質転換を行った。ブルーホワイトセレクション後、陽性コロニーが有するプラスミドをBigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いて3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) により塩基配列分析を行った。なお、シーケンスには、ユニバーサルプライマーM13 Forward (5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3') およびM13 Reverse (5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3') を用い、シトクロム*b*遺伝子領域1,014bpの部分塩基配列を決定し、1試料あたり5クローンの分析を行った。決定した塩基配列は、Clustal X ver. 1.83 (Thompson et al., 1997) によりアライメントした。なお、以後のデータ解析には、決定した領域中すべての試料で塩基配列が決定できた領域984bpを用いた。普通型8試料および肥満型6試料の試料群間における遺伝的差異を検討するため、Arlequin version 3.11 (Excoffier et al., 2005) により試料群内、試料群間で観察された多型サイト数および各ハプロタイプ間の塩基置換数、塩基多様度 (nucleotide diversity) を算出するとともに、試料群間の遺伝的距離 (F_{ST}) を求めた。また、これら解析データをDDBJ/

EMBL/GenBank databasesに登録されているカタクチワシのシトクロム*b*遺伝子データ (AB040676) および*E. encrasicolus*の相同配列 (EF427558, EF427559, EF439526, EF439527, AF472579) と比較した。さらに、これらデータをもとにClustal Xを用いて、近隣結合法 (Saitou and Nei, 1987) により分子系統樹を構築した。なお、外群にはマイワシ (AB032554) を用い、1000回のブーストラップ解析を行った際の分岐の再現性を百分率で表示した。

結果

肥満度の値の分布状況

体長90mm以上のカタクチワシは1,816個体に及び、その平均体長は115mm (範囲90~144mm, 標準偏差9.65), 平均体重は14.5g (範囲6.0~31.8g, 標準偏差3.87), 平均肥満度は9.3 (範囲4.4~14.4, 標準偏差1.32) であった。なお、近年の11月および12月は漁獲量が少ない上、漁獲物の大半は90mm未満の未成魚であることが多く、2005年および2006年においても90mm以上の個体はほとんど見られなかった。体長と肥満度の関係をFig. 3に示した。110mmから120mmの体長帯に高肥満度の個体が見られるが、肥満度の値の分布に偏りは見られず、肥満度の高低によりグループが明確に分かれることはなかった。次に、肥満度の値が10を超える個体の出現割合や時期を年ごとに示した (Fig. 4)。出現割合が特に高かった時期は2月から4月にかけてであったが、その出現パターンは年により異なる

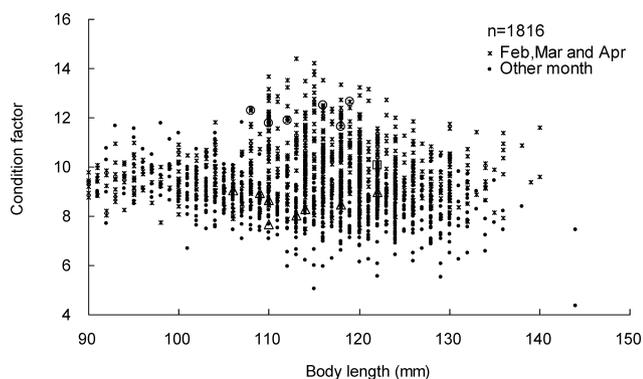


Figure 3. Relation between body length and condition factor of Japanese anchovy collected in Sagami Bay from January 2005 to July 2007. Open circles, open triangles and an open square represent the fat, normal and medium body type specimens which analyzed in this study, respectively.

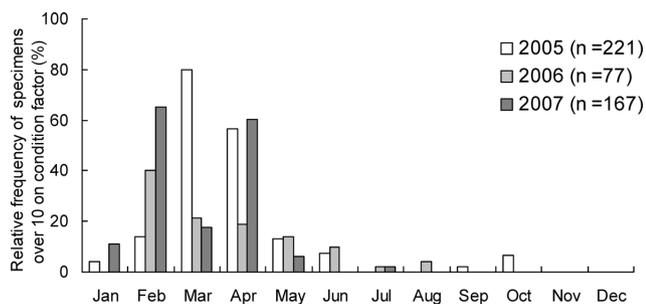


Figure 4. Monthly change in frequency distribution of specimens over 10 on condition factor. The specimens, Japanese anchovy were collected in Sagami Bay from January 2005 to July 2007.

り、2005年は3月と4月に、2006年は2月に、2007年は2月と4月に出現割合が高く、各年の最大値は40~80%と異なった。さらに2月から4月に漁獲された個体について詳しく調べたところ、この時期の3年間の全個体の平均肥満度は10.2（範囲7.5~14.4、標準偏差1.22、個体数796）であった。また、その他の月に出現した個体の平均肥満度は8.6（範囲4.4~12.0、標準偏差0.94、個体数1020）であり、両者間の平均肥満度には有意差が見られた（ $p < 0.01$, t 検定）。以上のことから、2月から4月にかけて肥満度の高い個体が出現するが、肥満度の値により明確にグループが分離することはないことが明らかになった。

普通型および肥満型の遺伝的差異

肥満型、普通型および中間型の各試料について決定したシトクロム**b**遺伝子領域の部分塩基配列データは、すべてDDBJに登録した（AB374208~AB374222）。決定した塩基配列データおよび比較に用いたカタクチイワシ（AB040676）および*E. encrasicolus*（EF427558, EF427559, EF439526, EF439527, AF472579）の相同領域データのうち、

各試料間で塩基置換がみられた箇所は以下の通りであった。

分析した普通型8試料、肥満型6試料および中間型1試料の計15試料において、984塩基中83箇所が多型が検出され（8.4%）、これら試料はすべて独自のハプロタイプを示した。タイプ別に見ると、普通型8試料中では48箇所が多型が認められ（4.9%）、この内43箇所はトランジション型変異、5箇所はトランスバージョン型変異であった。各ハプロタイプ間の塩基置換数（pairwise difference）は11~18の範囲にあり、平均の塩基置換数は14.5であった。一方、肥満型6試料中では44箇所が多型が認められ（4.5%）、この内38箇所はトランジション型変異、5箇所はトランスバージョン型変異、1箇所はトランジション型とトランスバージョン型が混在する変異であった。各ハプロタイプ間の塩基置換数は11~23の範囲にあり、平均の塩基置換数は16.0であった。普通型および肥満型の各試料群内における塩基多様度はそれぞれ1.47および1.63%で、両試料群間の塩基多様度1.55%と比べてほとんど差がなかった。また、両試料群間の純塩基置換係数（net sequence divergence）は-0.0003%と非常に低かった。さらに、両試料群間の F_{ST} は0.0021と極めて低いのに加え、 F_{ST} の p 値も0.05を下回ることはなく、両試料群には遺伝的な差異は認められなかった。

カタクチイワシおよび*E. encrasicolus*の遺伝的差異

DNA分析した15試料に既報のデータを加えたカタクチイワシ試料群（ $n=16$ ）とデータベースの*E. encrasicolus*試料群（ $n=5$ ）を用いて、種内および種間における多型サイト数、各ハプロタイプ間の塩基置換数、塩基多様度について検討した。これらはすべて独自のハプロタイプを示し、984塩基中110箇所が多型が認められた（11.2%）。この中で、96箇所はトランジション型変異、10箇所はトランスバージョン型変異、4箇所はトランジション型とトランスバージョン型が混在する変異であった。なお、カタクチイワシ試料群と*E. encrasicolus*試料群間には32箇所で種特異的な変異が認められた。カタクチイワシの試料群内（ $n=16$ ）では86箇所が多型が認められ（8.7%）、この内75箇所はトランジション型変異、9箇所はトランスバージョン型変異、2箇所はトランジション型とトランスバージョン型が混在する変異であった。各ハプロタイプ間の塩基置換数は5~24の範囲にあり、平均値は14.5であった。一方、*E. encrasicolus*の試料群内では30箇所が多型が認められ（3.0%）、この内27箇所はトランジション型変異、3箇所はトランスバージョン型変異であった。各ハプロタイプ間の塩基置換数は1~25の範囲にあり、平均値は12.4であった。本研究で用いたカタクチイワシ様試料内およびデータベース上の*E. encrasicolus*種内における塩基多様度は、それぞれ1.47および1.26%であったのに対し、種間のそれは3.80%と高く、両種試料群間の純塩基置換係数も2.43%と高い値を示

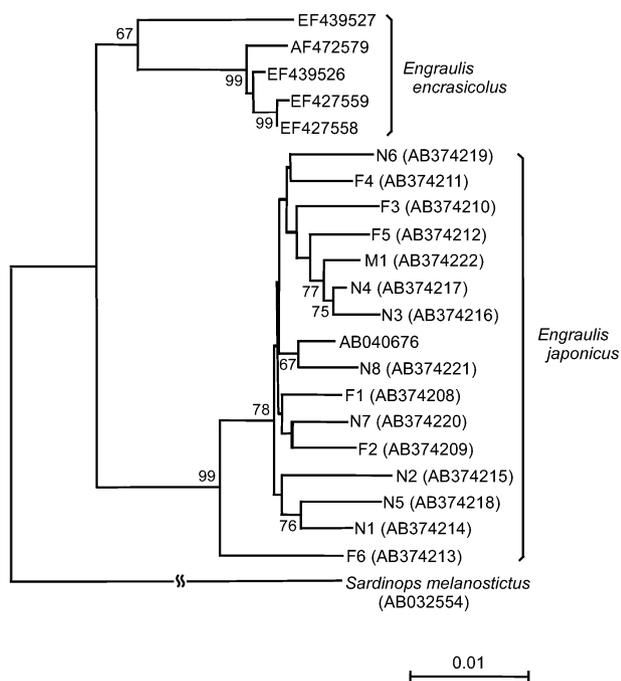


Figure 5. Molecular phylogenetic tree constructed by the neighbor-joining method for *Engraulis japonicus* and *Engraulis encrasicolus* based on DNA nucleotide sequences in part of the cytochrome *b* gene. The nucleotide sequence of *E. encrasicolus* (EF427558, EF427559, EF439526, EF439527 and AF472579) and *E. japonicus* (AB040676) were cited from the DDBJ/EMBL/GenBank databases. The cytochrome *b* gene sequence of *Sardinops melanostictus* (AB032554) was used as outgroup for rooting the tree. Numbers in the tree indicate bootstrap resampling values from 1000 replicates. Only bootstrap scores >60% are presented. The scale at the bottom indicates the evolutionary distance of nucleotide substitutions per site. See Table 1 for specimen numbers.

した。マイワシを外群として構築した分子系統樹は2つの分岐群を形成した (Fig. 5)。第1の分岐群は、本研究で分析した15試料および既報のカタクチイワシの相同配列 (AB040676; Inoue et al., 2001) の各ハプロタイプから構成された。各ハプロタイプ間の遺伝的距離は極めて小さく、分岐の信頼性を示すブートストラップ値も99%と高い値を示した。第2の分岐群は *E. encrasicolus* のすべてのハプロタイプを含んでいた。この分岐のブートストラップ値は67%であったが、1つのハプロタイプ (EF439527) を除いた分岐群は99%と高いブートストラップ値を示し、ハプロタイプ間の遺伝的距離も小さかった。

考察

肥満型は普通型と比べ外見上の体型が大きく異なることから、肥満度の値によりグループが2分する可能性があると考えられた。しかし、肥満度の値の分布状況は連続的であ

り、異なるグループの存在は認められなかった。さらに、肥満型と普通型試料群間に有意な遺伝的差異は認められなかった。mtDNAのシトクロム*b*遺伝子分析により *E. encrasicolus* がカタクチイワシに近縁であることが報告されているが (赤崎ほか, 2005; Grant et al., 2005), カタクチイワシの分析試料群 (肥満型 + 中間型 + 普通型) と *E. encrasicolus* との比較においても、塩基多様度および純塩基置換係数は種内よりも種間で高く、分子系統樹上も種間で明瞭な分岐群を形成した。これらのことから肥満型は普通型と同じカタクチイワシと判断された。肥満型の体的特徴は種の違いに由来しないことから、肥満型の出現は生育環境履歴の違いに起因している可能性が高いと考えられた。

魚類の生育環境履歴を調べる方法としては、生育環境の餌量生物の影響を受ける筋肉中の炭素・窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) を測定する方法 (Tanaka et al., 2008) が知られており、成長履歴を調べる方法としては、耳石輪紋の間隔から成長速度を推定する方法 (Campana, 1990) が知られている。炭素・窒素安定同位体比は餌となる生物の値を反映し、一般に餌となる生物から捕食者への1栄養段階の間で $\delta^{13}\text{C}$ は0~1.5‰, $\delta^{15}\text{N}$ は3~4‰上昇することが知られている。また、 $\delta^{13}\text{C}$ は食物網における炭素経路の指標として、 $\delta^{15}\text{N}$ は栄養段階の指標として用いられることが多く、炭素・窒素ともに、沿岸域のもので高く、沖合域のもので低い値を示す傾向がある (Tanaka et al., 2008)。これに関して、本研究とは別の試料であるが、相模湾で漁獲された肥満型と普通型各5個体の筋肉を用いて、炭素・窒素安定同位体比を測定した結果がある (仲手川ほか, 未発表)。それによると、 $\delta^{13}\text{C}$ の平均値は肥満型で-14.9‰, 普通型で-17.5‰, $\delta^{15}\text{N}$ の平均値は肥満型で16.8‰, 普通型で11.5‰で、両者ともにタイプ間で有意差が見られた ($p < 0.05$, *t*検定)。この測定値を Tanaka et al. (2008) の測定値と比較すると、炭素・窒素ともに、肥満型は Tanaka et al. (2008) の内湾域試料の中でも最高水準のものと同程度であり、普通型は Tanaka et al. (2008) の内湾域と沖合域 (黒潮流域等) 試料の中間の値を示した。上述のとおり、炭素・窒素安定同位体比は長期間の摂餌環境を反映することから、肥満型と普通型は成長過程において一定期間、異なる摂餌環境下、すなわち普通型に比べて肥満型は餌が豊富な環境下で生育したと考えられる。2005年は肥満度の高い個体の出現割合が非常に高かったが、2006年は低く、2007年は3月を挟んで2月と4月にピークが出現したことから、肥満型の出現量や出現時期は年によって変化し、その年の生育海域の餌環境や肥満型の回遊パターンと密接に連動していると考えられる。

今後、肥満型の発生機構を明らかにしていくためには、肥満型と普通型試料の耳石日周輪を観察し、その成長履歴の違いから成長が異なる時期を特定するとともに、その時期の生育海域の餌環境について検討していくことが望まれ

る。

謝 辞

本研究をまとめるにあたり，東京大学大学院農学生命科学研究科青木一郎博士には有益なご助言をいただいた。また，長井町漁業協同組合嘉山博氏をはじめとする漁業関係者の皆様には試料の採集にご協力を頂いた。ここに記して，厚く御礼申し上げる。

引用文献

- 赤崎哲也・猿渡敏郎・片山貴之・朝長洋祐 (2005) ミトコンドリア DNA (シトクロム *b*) を利用した「ちりめんじゃこ」の原料魚種推定について。関税中央分析所報, **45**, 5-9.
- 青木一郎 (2007) イワシ類の魚種交替の謎と意義。海洋水産エンジニアリング, **66**, 22-27.
- Borsa, P. (2002) Allozyme, mitochondrial-DNA, and morphometric variability indicate cryptic species of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). Biological Journal of the Linnean Society, **75**, 261-269.
- Borsa, P., A. Collet and J. D. Durand (2004) Nuclear-DNA markers confirm the presence of two anchovy species in the Mediterranean. Comptes Rendus Biologies, **327**, 1113-1123.
- Campana, S. E. (1990) How reliable are growth back-calculation based on otolith? Can. J. Fish. Aquat. Sci., **47**, 2219-2227.
- Excoffier, L., G. Laval and S. Schneider (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis, Evolutionary Bioinformatics Online, **1**, 47-50.
- Grant, W. S., R. W. Leslie and B. W. Bowen (2005) Molecular genetic assessment of bipolarity in the anchovy genus *Engraulis*. J. Fish Biol., **67**, 1242-1265.
- Inoue, J. G., M. Miya, K. Tsukamoto and M. Nishida (2001) Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese anchovy *Engraulis japonicus*. Fish. Sci., **67**, 828-835.
- 関東農政局神奈川農政事務所 (2007) 神奈川県農林水産統計年報 (水産業編) 平成17年~18年2005~2006, 18-19.
- 西脇昌治 (1974) 資源生物論。海洋学講座, **13**, 61-62.
- Saitou, N. and N. Nei (1987) A neighbor-joining method: a new method for constructing phylogenetic tree. Mol. Biol. Evol., **44**, 406-425.
- Sezaki, K., R. A. Begunl, P. Wongiat, M. P. Srivastava, S. SriKantha, K. Kikuchi, H. Ishihara, S. Tanaka, T. Taniuchi and S. Watabe (1999) Molecular phylogeny of Asian freshwater and marine stingrays based on the DNA nucleotide and deduced amino acid sequences of the cytochrome *b* gene. Fish. Sci., **65**, 563-570.
- 瀬崎啓次郎・久保島康子・三谷 勇・福井 篤・渡部終五 (2001) ミトコンドリア・シトクロム *b* 遺伝子によるマサバおよびゴマサバの種判別とホルマリン固定浮遊卵同定への応用。日本誌, **67**, 17-22.
- Tanaka, H., A. Takasuka, I. Aoki and S. Ohshimo (2008) Geographical variations in the trophic ecology of Japanese anchovy, *Engraulis japonicus*, inferred from carbon and nitrogen stable isotope ratios. Mar. Biol., **154**, 557-568.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin and D. G. Higgins (1997) The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res., **25**, 4876-4882.
- 柳本 卓 (2002) mtDNA シトクロム *b* 遺伝子による北海道周辺のタラ科3種の種判別。日本誌, **68**, 893-899.