

河川底生昆虫の遺伝的多様性と生息場環境の関係の解明

東北大学工学研究科	学生会員	○八重樫	咲子
東北大学工学部	非会員	永峯	賢人
東北大学工学研究科	正会員	高橋	真司
ライプニッツ淡水生態学・内水漁業研究所	非会員	渡辺	幸三
東北大学工学研究科	正会員	熊谷	幸博
東北大学大学院	フェロー会員	大村	達夫

1. はじめに

生物多様性保全のため、遺伝的多様性の保全は重要な課題である。遺伝的多様性は、同種内の個体間の DNA の多様さであり、将来の種分化の原動力である。また、地域集団内の遺伝的多様性が低下すると、近交弱勢による生存率や繁殖力の低下、環境変動への適応度の低下により、地域集団が絶滅する可能性がある。したがって、遺伝的多様性を保全することが、生物多様性の保全につながる。

種多様性は生物の生息場（ハビタット）の多様性と関連があることが知られているが（Hirasawa et al. 2004）、遺伝的多様性と生息場の多様性に関する知見は少ない。河川中には多様な生息場構造が存在し、各ハビタット間で流速、水深、水温、河床材料など生物の生息環境が異なる。そのため、ハビタット毎に個体の適応度も異なると考えられる。これまでにハビタットと鳥類の遺伝的多様性の関連が報告されているが（Pitra et al. 2010）、河川ハビタット構造と河川水生昆虫の遺伝構造の関連を調べた例はない。

上記の背景より、本研究では河川ハビタット構造が河川底生昆虫モンカゲロウ (*Ephemera strigata*) の遺伝的多様性に与える影響を解析した。

2. 方法

2.1 ハビタットの定義

平水時の河川内のハビタットを流水性ハビタット4種（早瀬、平瀬、トロ、淵）と止水性ハビタット3種（砂州頭ワンド、砂州尻ワンド、タマリ）の7ハビタットに分類した（竹門 2007 を改変。表 1）。

2.2 現地調査

2010年10月26日から11月25日にかけて、名取川水系11地点において、それぞれの地点で確認され

表1 ハビタットの分類.

	分類	特徴
流水性ハビタット	早瀬	水面に白波が立ち、流速が大きい。
	平瀬	水面に波は立つが白波は立たず、早瀬より流速は小さく水深は大きい。
	トロ	水面に波はほとんど立たず、流速は平瀬より小さい。
	淵	水深が大きく流速は小さい。
流水性ハビタット	砂州頭ワンド	砂州の上流川にあるワンドで水の流れは殆ど無い。
	砂州尻ワンド	砂州の下流川にあワンドで水の流れは殆ど無い。
	タマリ	本川と切り離された水域。

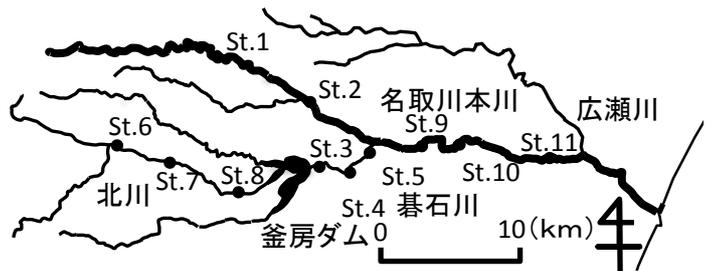


図1 調査地点. 釜房ダム上流域で調査を行った。

表2 アダプター付加配列

蛍光色	EcoRIアダプター側付加配列	MseIアダプター側付加配列
Dye2	AGG	CAT
Dye3	ACC	CAC
Dye4	AGG	CAC

キーワード 遺伝的多様性, モンカゲロウ (*Ephemera strigata*) , ハビタット, Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) 法
 連絡先 東北大学仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-06 東北大学工学研究科土木工学専攻環境水質工学研究室

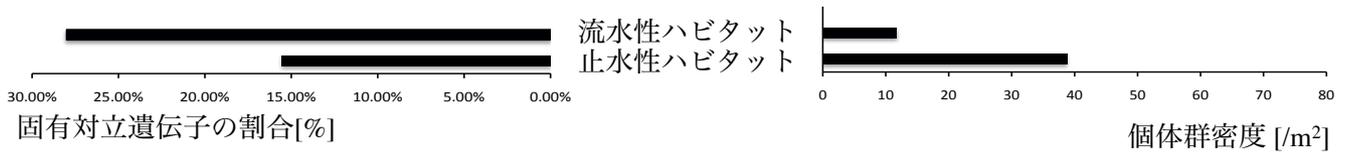


図2 各ハビタットの固有対立遺伝子の割合と個体群密度

表3 各地点の平均ヘテロ接合度とハビタット多様性

	指標	r	P
全ハビタット	H'	0.209	0.54
	D	0.068	0.84
流水性ハビタットのみ	H'	0.818	0.00 **
	D	0.788	0.00 **

たハビタット毎に、モンカゲロウ (*Ephemera strigata*) 幼虫を採取した (図 1)。同種は、現場での種の同定が容易、かつ、日本全国の河川に生息している。また、同流域で流水性および止水性の両ハビタットに生息していることが確認されている (高橋, 未発表)。

2.3 Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) 法による DNA 解析

AFLP 法は、制限酵素により DNA を断片化し、DNA 断片中から特定の断片のみを選択的に PCR 増幅して多型を検出する手法である。本研究では、対象種の肉片から、DNeasy 96 blood & Tissue Kits (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。その後、抽出した DNA を制限酵素 (EcoRI, MseI) で切断し、切断面に既知配列アダプターを結合させた。次に、予備選択プライマー (アダプター配列+A, C) を用いて PCR 増幅を行なった。続いて、選択プライマー (アダプター配列+A+2 塩基, C+2 塩基) を用いて PCR 増幅した。選択プライマーセットは、最も多くの多型遺伝子座を確認できた 3 組を用いた (表 2)。その後、CEQ8000 (Beckman Coulter) による増幅断片の DNA 塩基長分画を行なった。増幅断片パターンを各塩基長において、断片が検出された場合を 1, 検出されなかった場合を 0 とした、0-1 データに変換した。

2.4 データ解析

ハビタットの遺伝的貢献度を解析するため、流水性・止水性ハビタット毎に特有の増幅断片 (プライベートアリアル) の割合 (%PA) を算出した。また、対象種の生息適性ハビタットを推定するため、個体群密度を算出した。さらに、各地点の遺伝的多様性とハビタット多様性の関係を解析するため、両者間の相関分析を行った。遺伝的多様性指標として平均ヘテロ接合度 (H_e)、ハビタット多様性の指標として

Shannon - Wiener 多様性指数 (H') と Simpson 多様度指数 (D) を用いた。また、ハビタット多様性は、全ハビタットによるハビタット多様性と流水性ハビタットのみによるハビタット多様性を算出した。

3 結果と考察

個体群密度は流水性ハビタットよりも止水性ハビタットの方が高くなった。一方で、%PA は止水性ハビタットよりも流水性ハビタットで高くなった (図 2)。個体群密度の結果より、対象種の生息場として止水性ハビタットが適していると言えるが、%PA の結果より、対象種の遺伝的多様性を高めるためには流水性ハビタットの保全が有効である可能性がある。また、各地点の平均ヘテロ接合度とハビタット多様性の相関分析の結果 (図 3)、流水性ハビタットのみによるハビタット多様性と平均ヘテロ接合度の間に有意な正の相関が見られた。したがって流水性ハビタットの種類が多く、均等に存在しているほど遺伝的多様性が高まることが示された。

4 おわりに

本研究では対象種の遺伝的多様性とハビタット多様性の関係を解析した結果、を高めるためには流水性ハビタットの保全が有効であると考えられる。

参考文献

- Hirasawa, R., M. Urabe and M. Yuma (2004) Relationship between intermediate host taxon and infection by nematodes of the genus *Rhabdochona*. *Parasitology International*, **53**, 89-97
- Pitra, C., S. Suárez-Seoane, C. A. Martín, W. J. Streich and J. C. Alonso (2010) Linking habitat quality with genetic diversity: a lesson from, great bustards in Spain, *European Journal of Wildlife Research*, 1-9
- 竹門 (2007) 土と基礎の生態学 6.砂州の生息場機能. 講座, 土と基礎, 55(2) : 37-45

謝辞

本研究は科学研究費補助金 (特別研究員奨励費, 基盤研究(A), 奨励研究) から資金的援助を受けた。ここに謝意を表します。