

マイクロサテライトマーカーによるヒゲナガカワトビケラの流域内移動分散パターンの評価

東北大学 学生会員 ○八重樫 咲子*
東北大学 正会員 渡辺 幸三*
東北大学 正会員 大村 達夫*

1. はじめに

近年生物多様性保全の観点から、遺伝的多様性の保全は重要な課題となっている。1992年の国連環境開発会議(地球サミット)で調印された生物多様性条約では、生物多様性を「生態系」「種」「遺伝子」の3つのレベルで捉え、保全していくことが求められている。また、遺伝的多様性が低下している種では、近交弱勢により生存率や繁殖力の低下により、絶滅の危険性が高まる。さらに個体の人為的移入による地域個体群の遺伝的攪乱、生息地間を繋ぐコリドーの人為的分断等は、集団の遺伝構造を変化させて、生息種の変化や個体数の減少等の生態系の変質を引き起こす可能性がある。したがって生物多様性を保全するために、遺伝的多様性の保全は必須の課題である。

河川生態系の生物多様性保全においても、遺伝的多様性の評価は有用である。池田ら(2001)は、沖縄島にリュウキュウアユが再導入された河川で、自然集団と再導入集団の遺伝的組成を調査し、遺伝組成の変化がなかったことを報告している¹⁾。渡辺・大村(2005)によるRAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)法を用いた調査では、ダムによりヒゲナガカワトビケラ(*Stenopsyche marmorata*)の交流が阻害されることを示されている²⁾。ミトコンドリアDNAを用いた林・谷田³⁾の調査でも同様の結果が得られた。したがって、河川生態系においても、遺伝的多様性、遺伝子流動、遺伝的分化等の遺伝構造の監視は生態系の健全性を判断する指標となる。

現在、水生昆虫は河川生態系の指標生物となっているにも関わらず、生物多様性の評価は種多様性の

評価にとどまるものが多い。水生昆虫は河川生態系の食物連鎖内で中間に属している。このため、水生昆虫個体群の減少は河川生態系の破壊につながると考えられる。しかし、種多様性の評価のみでは目に見えない水生昆虫集団への影響が評価できない。したがって、健全な生態系を保持するためには水生昆虫の遺伝構造の解析は必須である。

以上の背景から、ヒゲナガカワトビケラを対象種とし、宮城県内の水系を用いて、流域内移動分散パターンの評価を行った。

2. 方法

2.1 調査方法

平成19年10~11月、宮城県の砂押川水系、七北田川水系、名取川水系、増田川水系、川内沢川水系、五間堀川水系の計6水系、全65地点においてヒゲナガカワトビケラのサンプリングを行なった。サンプリング地点を図-1に示す。

今回対象種としたヒゲナガカワトビケラは、日本

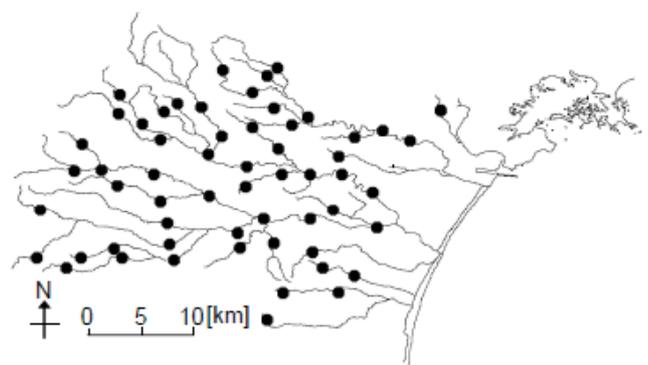


図-1 調査対象領域

Keywords : ヒゲナガカワトビケラ(*Stenopsyche marmorata*), 遺伝的多様性, マイクロサテライトマーカー, 河川底生動物

* 東北大学大学院工学研究科土木工学専攻環境水質工学分野 〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06

の河川に広く分布しており、生息個体数も比較的多い。幼虫は川底の礫間に分泌した糸で小石や砂を合わせ、固定式の巣をつくる。巣の入口付近に上流に開口部を向けた箱形の網を張り、流れてくる小昆虫、水面を遡上飛行して上流で産卵する。孵化した幼虫藻類その他の有機物を摂食する。雌の成虫は交尾後、は河川を流下し、羽化後遡上することで一定の分布域が保持される⁴⁾。

また、定量サンプリングはコドロード付きサーバーネット (30cm×30cm, メッシュサイズ: 250 μ m) を用いて、各地点の瀬の中から 10 地点をランダムに選んで行った。また定量調査の他に、DNA 多型検出に十分な個体数 (各地点 20 個体) を確保するために、同一地点においてキックネット法 (メッシュサイズ: 250 μ m) による定性的なサンプリングを繰り返した。

2.2 DNA 抽出と PCR

採取したヒゲナガカワトビケラは直ちに実験室へ持ち帰り、肉片を採取した。その後、フェノール抽出法を用いてヒゲナガカワトビケラ DNA を抽出した。抽出した DNA を 10ng/ μ l に希釈し、マイクロサテライトマーカを用いて PCR を行なった。PCR には、独自に開発したヒゲナガカワトビケラのマイクロサテライトマーカを用いた。

マイクロサテライトマーカはマイクロサテライト領域を増幅する超多型 DNA マーカである。増幅対象となるマイクロサテライト領域とは、全 DNA 中に頻繁に出現している、2~5 塩基単位の塩基配列が反復して繰り返されている領域を指す。この領域は DNA の複製の際に複製ミスが生じやすいため、同じ種内の個体間でも繰り返し回数が大きく変化しやすい。この領域を対象とした PCR を行なうことで、対立遺伝子毎に異なった断片長を持つ DNA 産物が得られる。この PCR 産物の断片長を対立遺伝子として観察することで、同種内でも多くの対立遺伝子を検出することができる。

2.4 フラグメント解析

マイクロサテライトマーカによる PCR で得られた PCR 産物を用いて、ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer によるキャピラリー電気泳動を行なった。

キャピラリー電気泳動により得られた PCR 産物を分子量分画し、波形パターンを得た。波形パターンから PCR 産物の断片長を求め、個体毎の遺伝子型を決定した。その後、遺伝的多様性の指標の解析を行なった。

3. おわりに

ヒゲナガカワトビケラのマイクロサテライト DNA 多型解析を行うことで、宮城県中南部地域に分布するヒゲナガカワトビケラ地域集団の遺伝的多様性や遺伝構造が明らかにされる。地域集団内そして地域集団間の遺伝的多様性の解析は現在行っている段階であるが、解析を進めることで様々な生態学的知見が得られることが期待される。

4. 謝辞

本研究は、国土交通省建設技術研究開発補助金(研究代表者: 大村達夫)から援助を受けた。ここに記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 池田実, 立原一憲, 布川誠, 谷口順彦, マイクロサテライト DNA およびミトコンドリア DNA ループの PCR-RFLP 分析によるリュウキュウアユ導入集団の遺伝的評価, 水産育種, **31**, 2001, pp33-37
- 2) K. Watanabe and T. Omura Relationship between reservoir size and genetic differentiation of the stream caddisfly *Stenopsyche marmorata*, Biological Conservation, **136**, pp203-211, 2007
- 3) 林義雄, 谷田一三, ヒゲナガカワトビケラ (*Stenopsyche marmorata*) の遺伝的集団構造に対するダム湖の影響: 神奈川県酒匂川水系での検討, 応用生態工学, **11**, 2008, pp153-159
- 4) Nishimura N. (1966) Ecological studies on the net-spinning caddisfly, *Stenopsyche griseipennis* McLachlan (Trichoptera, Stenopsychidae) I. Life history and habitat. Mushi, **25**, 1966, pp103-119.