# 河川のハビタット構造が河川底生昆虫モンカゲロウの遺伝的多様性に与える影響の解明

東北大学　○永峯　賢人　東北大学大学院　学生会員　八重樫　咲子
東北大学大学院　鈴木　祥一　東北大学工学部工学研究科技術部　正会員　高橋　真司
IGB　渡辺　幸三　東北大学工学部工学研究科技術部　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

生物多様性物保全のため，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．河川中には多様なハビタット構造（例：瀬，淵，ワンド，タマリ）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性昆虫モンカゲロウ（*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

本研究では，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（**表 1**）．

### 2.2　現地調査

2010 年 10 月 26 日から 11 月 25 日にかけて，名取川水系北川の 3 地点（釜房ダムの上流）において，それぞれの地点で確認されたハビタット(**表 1**)毎に，モンカゲロウ（*Ephemera strigata*）幼虫のサンプリングを行った（**図 1**）．同種は，現場での種の同定が容

**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. |

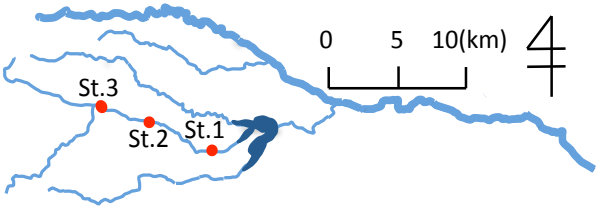


**図1　調査地点．釜房ダム上流域で調査を行った.**

**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

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，64 通りの組み合わせ中から，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，増幅断片を用いて，CEQ8000（Beckman Coulter）による 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 解析方法

各ハビタットの遺伝的貢献度を解析するため，調査地点のハビタット毎に特有のバンド（プライベートアリル）の割合（%PA）を算出した．また，ハビタット間の遺伝的分化の特性を解析するため，非加重結合法でハビタット間の遺伝系統樹を作成した．

## 3 結果と考察

**図 1** の 3 地点でモンカゲロウを採取した．St.1 の平瀬，St.3 の早瀬，タマリでは対象種の生息を確認できなかった．また，St.3 には砂州尻ワンドは存在しなかった． 各ハビタットの地点毎の%PA は 0 - 3.49%となり，St.1 ではタマリ，St.2 と St.3 では淵が高かった（**表 3**）．また，ハビタット間の遺伝系統樹は淵とタマリが他ハビタットから分化した（**図 2**）．タマリは平水時の水面から切り離されており，幼虫の移出入が少なく，遺伝的に分化したと考えられる．また，St.2，St.3 で淵の%PA が大きくなったのは淵特有の環境選択のためと考えられる．

**表3 各地点におけるハビタット毎の%PA.**

| | St.1 | St.2 | St.3 |
|---|---|---|---|
| 早瀬 | - | 1.16 | 2.33 |
| 平瀬 | 0 | 0 | - |
| トロ | 0 | 0 | 2.33 |
| 淵 | 0 | 3.49 | 3.49 |
| 砂州頭ワンド | 0 | 1.16 | 0 |
| 砂州尻ワンド | 0 | 0 | - |
| タマリ | 1.16 | 0 | - |

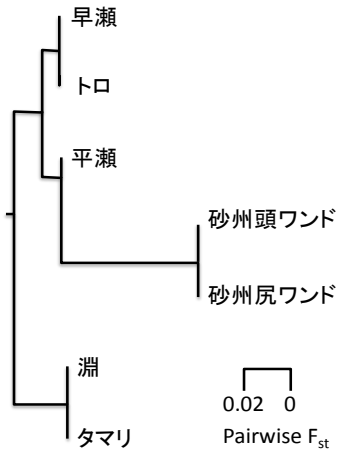


**図2 ハビタット毎の遺伝系統樹.**

## 4 おわりに

河川ハビタット構造において淵およびタマリでハビタット特有の遺伝構造を持つことが示された．

## 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)）から資金的援助を受けた．ここに謝意を表します．