

宮城県中南部地域におけるヒゲナガカワトビケラの遺伝的多様性

○東北大学 学生会員 八重樫 咲子
愛媛大学 正会員 渡辺 幸三
東北大学 フェロー会員 大村 達夫

1. はじめに

近年、生物多様性の保全に関する問題が地球環境問題として関心を高めている。生物多様性は生態系・種・遺伝子の多様性から構成されており、遺伝子の生物多様性は同種の個体間の遺伝的変異の多様さを指す。この遺伝的多様性は、集団の存続可能性を高める機能を持ち¹⁾、将来の種分化の原動力となる²⁾ことから、遺伝的多様性は種・生態系の多様性の基礎となる。以上の背景から、本研究では、遺伝子レベルの生物多様性保全に必要な基礎情報を得るために、日本における代表的な河川水生昆虫ヒゲナガカワトビケラ (*Stenopsyche marmorata*) の流域内の遺伝的多様性の調査を行った。ヒゲナガカワトビケラの幼虫は河川の瀬で優先し、魚類によく補食される種である。

2. 方法

2006年9月19日から10月24日にかけて、宮城県中南部地域で互いに隣接する4水系（七北田川、名取川、増田川、五間堀川水系）の30地点(図1)において、キックネット法(メッシュサイズ:250 μ m)による底生動物の定性的サンプリングを行い、対象種を採取した。採取したサンプルは、99.5%エタノールを用いて保存し、実験室に持ち帰った。その後、実体顕微鏡(150x)を用いて、日本産水生昆虫一科・属・種への検索³⁾に従い同定した。

採取した全519個体をDNA解析した(平均17.3/地点)。水生昆虫サンプルの表皮をピンセットにより剥がし、消化管を傷つけないようにしながら体内の組織細胞を抽出した。DNeasy 96 Blood & Tissue Kits (QIAGEN)を用い、同社のプロトコルに従いDNAを抽出した。続いて、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ーを用いて multiplex PCR を行った⁴⁾。PCR 反応溶液の組成はサンプル DNA10ng, Taq DNA polymerase (TAKARA) 0.25U, 各プライマー, 1 \times PCR Buffer (TAKARA), 3mM MgCl₂, 0.4mM dNTP (TALARA)とし、超純水で全量が10 μ lとなるよう調節した。PCR 反応は95 $^{\circ}$ C 2分の後、95 $^{\circ}$ C 30秒、プライマーに特異的なアニーリング温度30秒、72 $^{\circ}$ C 1分を35回繰り返し、72 $^{\circ}$ C 5分まで反応後、4 $^{\circ}$ Cで保存した。その後、ABI PRISM[®] 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)を用いたキャピラリー電気泳動で、増幅断片を塩基長毎に分離した。

ヒゲナガカワトビケラの交流集団の解明を行うため、Structure ver 2.3.2を用いて個体ベースのベイズクラスタリングを行った⁵⁾。その後、サンプリング地点毎に各交流集団に属する個体の割合を算出した。また、交流集団毎に遺伝的多様性の指標として平均ヘテロ接合度(観察値:ヘテロ接合体の出現頻度, 推定値: $He=1-\sum p_i$, ここで p_i は各対立遺伝子の出現頻度)と平均対立遺伝子頻度, 遺伝的分化の指標として $Global F_{st} (= (H_t - H_s) / H_t$, ここで H_t は全分集団を一つの集団とした場合のヘテロ接合度, H_s

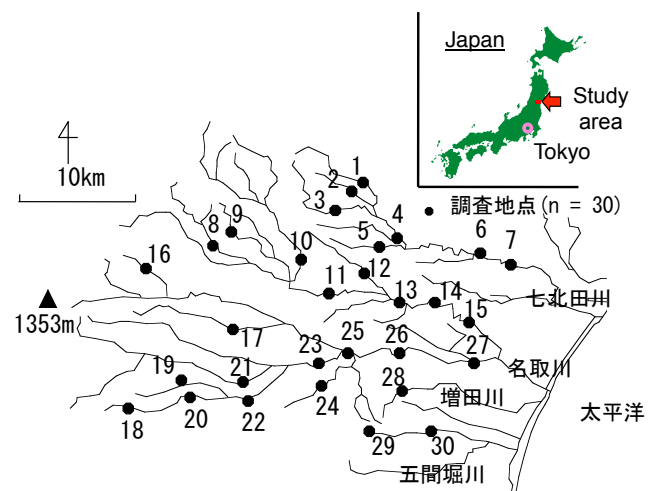


図1 ヒゲナガカワトビケラのサンプリング地点

キーワード: *Stenopsyche marmorata*, 水生昆虫, マイクロサテライト, 遺伝構造

連絡先: 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06, TEL: 022-795-7483, E-mail: yaegashi@water.civil.tohoku.ac.jp

は分集団のヘテロ接合度の平均)を算出した。

3. 結果と考察

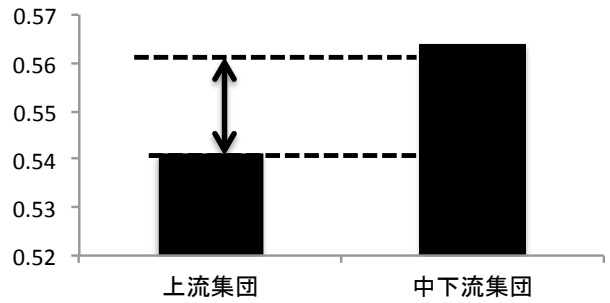
Structure 解析の結果、ヒゲナガカワトビケラの交流集団は2集団存在することが明らかとなり、交流集団間の Global Fst は 0.07 であった。この Fst は Wright の基準によると、弱い交流阻害を示す。交流集団2集団のうち一方は上流に偏って生息していたことからこの集団を上流集団、もう一方の集団を中下流集団とする。また、各集団の遺伝的多様性は全ての指標で、上流集団よりも中下流集団の方が高くなった。続いて、Global Fst は上流集団で 0.045、中下流集団で 0.025 となり中下流集団よりも上流集団の方で分化している傾向が見られた。

上流域は地形の複雑化や樹幹のために、成虫の生息地間の交流が阻害されやすいと考えられる。交流の阻害された集団では、集団サイズが縮小し、遺伝的多様性が低下しやすい。ヒゲナガカワトビケラの上流集団でも同様の現象が発生していると考えられる。また、上流と中下流域の遺伝的な分化が水温環境の違いから引き起こされている場合には、地球温暖化によって上流集団が消失し、流域の遺伝的多様性が損なわれる可能性がある。流域内の遺伝的多様性の保全のために、上流集団へのケアが求められる。

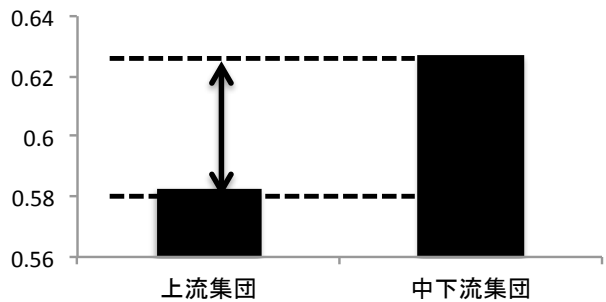
4. 参考文献

- 1) Frankham R, Ballou DJ and Briscoe AD (2002) Introduction to Conservation Genetics, Smithsonian Institution.
- 2) Nolte AW and Tautz D (2009) Understanding the onset of hybrid speciation, *cell*, 13, 54- 58.
- 3) 河相貞次, 谷田一三: 日本産水生昆虫-科・属・種への検索, 東海大学出版, 2005.
- 4) Yaegashi S., K. Watanabe and T. Omura : Isolation and Characterization of Ten Microsatellite Loci in the Caddisfly *Stenopsyche marmorata* (Trichoptera; Stenopsychidae), *Molecular Ecology Resources*, online, 2008.
- 5) Prichard JK, Stephens M and Donnelly P (2000) Inference of population structure using

(a)平均ヘテロ接合度(観察値)



(b)平均ヘテロ接合度(推定値)



(c)平均対立遺伝子頻度

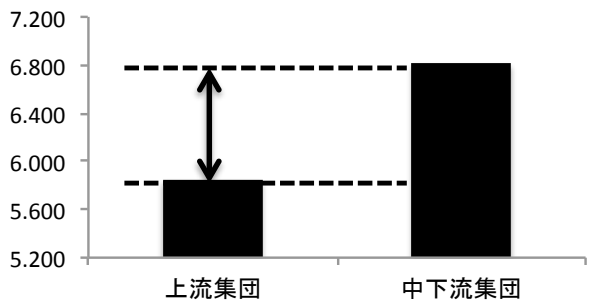


図2 集団毎の平均ヘテロ接合度の観察値と推定値

multilocus genotype data, *Genetics*, 155, 945-959.

- 6) Wright S (1978) Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4: Variability within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.

5. 謝辞

本研究は、科学研究費補助金特別研究員奨励費(代表者:八重樫咲子), 基盤研究 B(代表:風間聡), 基盤研究 A(代表:大村達夫), 研究活動スタート支援(代表:渡辺幸三)の援助を受けて行われました。ここにこれを記し、深く感謝の意を表します。