

(12) マイクロサテライトマーカを用いた ヒゲナガカワトビケラの流域内および流域間 移動分散の評価

八重樫咲子¹・渡辺幸三²・大村達夫³

¹学生会員 東北大学博士後期課程 東北大学工学研究科 (〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-06)

²非会員 研究員 Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries (Mueggelseedamm 301, 12587 Berlin, Germany)

³正会員 東北大学教授 東北大学工学研究科 (〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-06)

E-mail: yaegashi@water.civil.tohoku.ac.jp

流域スケールの頑健な生態系を実現するため、本研究ではマイクロサテライトマーカを用いた宮城県中南部地域におけるヒゲナガカワトビケラ *Stenopsyche marmorata* の移動分散パターンの解析を行った。まず、同種の距離による隔離の検証より、直線距離と名取川水系における河川距離のみで有意な正の相関が得られた。これは同種が河川方向にとらわれない移動分散を行っていることを示唆している。さらに、遺伝空間自己相関分析を行った結果、ヒゲナガカワトビケラは直線で10.5km以下、137m以下の標高グループで7km以下で遺伝子流動が見られた。この値は観察による移動分散距離とほぼ同一し、遺伝解析による生物の移動分散パターン解析の有効性を示す。本解析は、ダムや河川改修によって生息場の分断が起こりうる生物に対して行われることで頑健な生態系を実現するための一助となることが期待される。

Key Words : genetic diversity, *Stenopsyche marmorata*, dispersal pattern, aquatic insect, Isolation By Distance (IBD), Genetic Spatial Autocorrelation (GSA)

1. はじめに

水生昆虫の流域レベルの個体群は複数の局所個体群と、その局所個体群間を繋ぐネットワークから成る。このネットワークはダムや堰などの物理的障壁でしばしば分断される¹⁾。一部の局所個体群が縮小・消滅した場合、周辺個体群から個体が入移すると、早い回復が期待される²⁾。周辺個体群とのつながりが希薄なために個体群の縮小・消滅リスクの高い地域を集中的に保全する場合には、水生昆虫の入移・移出状況に合わせた保全を考える必要がある。そのためには、水生昆虫等の水生生物の流域内および流域間の移動分散に関する知見が有効である。

従来、水生昆虫の移動分散は、個体の移動行動の現地観察³⁻⁹⁾に基づいて評価されてきたが、DNA 多型解析技術の発展とともに、遺伝マーカを用いた推定が試みられている⁵⁻⁹⁾。現地観察による評価も水生昆虫の移動パターンをダイレクトに観察する方法として一定の効果は

認められるものの、観察した時点のスナップショット評価になる点と流域スケールで個体を追跡することが困難である点などの問題がある⁹⁾。一方で、遺伝マーカを用いた方法では水生昆虫の移動分散を直接観察することはできないが、これまでの移動分散の結果を反映している点と流域スケールで調査を行うことができる⁹⁾。また、現地観察と遺伝マーカによってそれぞれ推定される移動パターンがよく合致するケースも報告されるなど、生物の移動分散解析における遺伝マーカの有効性が高く評価されつつある^{10,11)}。

遺伝マーカを用いた移動分散パターンを調べる際には、地域個体群間の遺伝子頻度の類似性と地理的距離の関係を解析する⁹⁾。集団の遺伝子頻度は主に、集団に新たな遺伝子を提供する突然変異、集団の環境選択、集団間の遺伝子の移動（遺伝子流動）、世代間の遺伝子頻度のランダムな変動（遺伝的浮動）によって決まる。突然変異による遺伝子頻度の変動が他の要素よりも十分に小

さく、環境選択がなく、遺伝的浮動の平衡状態にある遺伝子座では、遺伝子流動が強い地域個体群間ほど遺伝子頻度が類似する。この関係を利用して、遺伝子流動が起こっている方向や地理的範囲を推定するために、距離による隔離(IBM: Isolation By Distance)や遺伝空間自己相関(GSA: Genetic Spatial Autocorrelation)の解析が利用される¹²⁻¹⁴⁾。IBMは、ある種が広範囲に分布している時、物理的隔壁がない状態であっても対象生物の移動力の限界のため、距離が離れた地域個体群間ほど、遺伝子流動が弱まって遺伝子頻度の相違が増加していく現象である¹²⁾。水生昆虫には同一河川の流程方向の移動を行なう種や同一河川内に限らず移動する種などがある¹⁵⁾。河川の流程に沿った、またはある標高域で移動分散を行なう種であればそれぞれに特徴付けられる距離と遺伝的分化の間に正の相関が見られる^{16, 17)}。GSAはある地理的距離毎に集団の遺伝距離を分類し、その特性から遺伝子流動が起こっている距離を解析する手法である¹³⁾。遺伝子流動の原動力は生物の移動と移動先での繁殖によるDNAの定着であり、生物の移動が行なわれている範囲では地点間の遺伝距離は類似し、正の自己相関係数が現れる¹⁸⁾。このように、これら両解析を用いることで、生物の移動の方向性や特性、移動能力を推定することができる。

流域スケールの移動分散パターンを解析するには、マイクロサテライトが強力なツールとなりうる。マイクロサテライトはDNA上に見られる2-6塩基単位の反復領域(例: ACACAC...)であり、領域長が超多型的で環境選択にたいして中立な集団遺伝プロセスに関係した情報量が多い。対象領域のマーカー開発に労力を要することから¹⁹⁾、これまで水生昆虫の移動分散パターンの解析にマイクロサテライトマーカーが用いられること

は少なかった^{9, 20)}。しかし、近年、水生昆虫のマーカーが次々と開発され²¹⁻²⁴⁾、日本産水生昆虫のヒゲナガカワトビケラ(*Stenopsyche marmorata*)においても有用なマーカーが開発された²⁴⁾。

以上の背景より、本研究では流域内で河川水生昆虫ヒゲナガカワトビケラを対象に、マイクロサテライトマーカーを用いて、移動方向の検証と移動分散距離を推定した。本種は日本に広く分布し、しばしば瀬における優占種となる²⁵⁾。本州では明瞭な年2世代であり²⁶⁾、越冬型はコロニゼーションサイクル^{27, 28)}を有する。越冬型のメス成虫は交尾後、風力3未満の日の日没前後に、水面から30cm程度の高さで、河川に沿って上流方向に2.8m/s程度の速度で遡上し、上流で水中の礫に産卵する^{3, 29)}。ただし、非越冬型メスは遡上飛行をほとんど行なわない²⁶⁾。雄は2.2m/s程度の速度で、群飛、往復行動、メスの追跡など方向性のない移動分散を行なう²⁶⁾。

2. 方法

(1) サンプリング

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(七北田川水系(St1-7)、名取川水系(St8-27)、増田川水系(St28)、五間堀川水系(St29, 30))の30地点で、キックネット法(メッシュサイズ: 250 μ m)によるヒゲナガカワトビケラの定性的サンプリングを行なった(図1)。サンプリングを行なった4水系の中で最も流域面積が広い名取川水系(=939km²)は、幹川流路延長が55.0kmであり、主に支流の広瀬川流域(St8-15)と本流の名取川本川(St16-

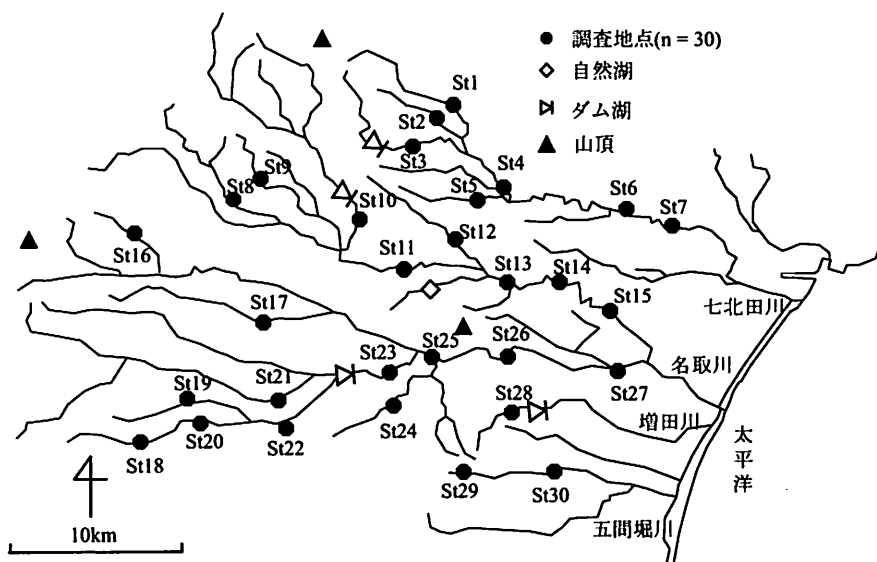


図1 ヒゲナガカワトビケラ採取地点(n=30)と河川名、自然湖とダム湖の位置、主な山の山頂。

27)に分かれている。また、調査地点の緯度、経度、標高を求めた。採取した水生昆虫は、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—科・属・種への検索²⁹⁾に従い同定した。

(2) マイクロサテライトによる DNA 解析

ヒゲナガカワトビケラ 519 個体の DNA 解析を行なった(11-20/地点、平均173/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kitのプロトコルに従い DNA を抽出した。Nano drop® ND-1000 spectrometer (Nanodrop Technologies)を用い、DNA の濃度を測定した。マイクロサテライトを特異的に増幅するプライマーを表1の組み合わせ使用して multiplex PCR にかかった³⁰⁾。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(表1), 1×PCR Buffer (TAKARA), 3mM MgCl₂, 0.4mM dNTP (TAKARA)とし、超純水で全量が 10μl となるよう調節した。PCR 反応は 95℃ 2 分の後、95℃ 30 秒、アニーリング温度(T_a, 表1)30 秒、72℃ 1 分を 35 回行い、72℃ 5 分で反応後、4℃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により、増幅断片を塩基長毎に分離した。塩基長の解析には、ソフトウェア PeakScanner (Applied Biosystems)を用いた。最後に Micro-checker²⁹⁾を用いて塩基長データのクオリティチェックを行なった。

(3) 移動分散/パターンの解析

局所個体群間の IBD を検証するため、直線距離、河川距離および標高グループの直線距離において、地理的距離と遺伝距離の相関を Mantel 検定で調べた。ここで直線距離は調査地点間の最短距離を、河川距離は流程に沿って測定した地点間の距離を指す。河川距離は河川毎に算出し、解析は河川毎に行なった。サンプリング地点が少数であり統計解析を行なうことができない増田川と五間堀川は河川距離による解析から除いた。また、既報によると標高の高い地点におけるヒゲナガカワトビケラ集団が遺伝的に孤立傾向にあることが知られている⁹⁾。これより標高グループは全調査地点の標高の平均値 137 m (最小 2m (St30), 最大 384m (St16))を用いて高標高(n=17)と低標高(n=13)の2グループに分類した。遺伝距離には Pairwise F_sを用い、GENEALLEX 6.41³⁰⁾によって算出した。Pairwise F_sは値が大きいくほど個体群が遺伝的に分化していることを示す。IBD の Mantel 検定には

表1 Multiplex PCRのプライマーの組み合わせ、アニーリング温度、プライマー濃度、Tween 20濃度(%)

	増幅領域	アニーリング温度(℃)	プライマー濃度(μM)	Tween20濃度(%)
multi1	Steno01	50	0.25	1
	Steno04		0.25	
multi2	Steno03	50	0.25	1
	Steno07		0.25	
multi3	Steno06	47	0.25	1
	Steno09		0.25	
multi4	Steno08	47	0.25	2
	Steno10		0.05	

GENEALLEX 6.41³⁰⁾を用いた(n=1000)。対象種が河川方向に移動分散を行なう場合は遺伝距離と河川距離の間に高い正の相関が、逆に河川方向に限らず決まった方向性のない移動分散をする場合には、遺伝距離と直線距離の間に高い正の相関が見られると考えられる。GSA は、局所個体群間の直線距離、河川距離および標高グループ毎の直線距離で行なった。一定区間毎に地理的距離を分類した各区間を距離クラス h とすると、遺伝空間自己相関係数 r^(h)は以下の式によって算出される³¹⁾。

$$r^{(h)} = \frac{\sum_{i \neq j}^N x_{ij}^{(h)} c_{ij}}{\sum_{i=1}^N x_{ii}^{(h)} c_{ii}} \quad (1)$$

ここで N は集団の総数、x_{ij}は集団 i, j が距離クラス h に含まれる場合には 1, 含まれない場合には 0 となる距離行列、c_{ij}は集団 i, j 間の Pairwise F_sの共分散、c_{ii}は個体 i の分散を表す。r^(h)は-1 から 1 までの範囲をとり、この値が正の値をとる場合には Pairwise F_sの平均と比して類似した値が集まっていることを指す。0 となる場合には距離クラスの間には共分散が 0 となり、その距離クラスの Pairwise F_sの間には関係性がないことを指す。したがって、遺伝子流動があり遺伝的に類似している集団間では自己相関係数は正の値となる。帰無仮説 r^(h)=0 の信頼区間および検定は以下の方法で行なった。まずランダムに地点間の距離を 999 回入れ替え、実測値を加えて 1000 パターンの r^(h)を算出する。次にこの値を数値順に並べ替え、25 番目から 975 番目までの値を r^(h)=0 を仮定した際の r^(h)の信頼区間とした。実際に得られた値がこの信頼区間よりも大きい場合に 5%の水準で有意とした。西村によると、ヒゲナガカワトビケラは延べ 29 - 34 分間移動する³²⁾。また、同報によるとメスは 2.5 - 2.8 m/s, 雄は 2.0 - 2.3 m/s の速度で移動する³²⁾。これを用いて 1 回の飛行による最大・最小移動距離を算出すると、雄は 3.5 - 5.3 km, メスは 4.4 - 7.0 km を移動することになる。GSA

の距離クラスには飛行する個体の移動距離の最低移動距離 3.5 km を用いた。

3. 結果

(1) 地理学的距離と集団間の遺伝距離の相関分析

遺伝距離 Pairwise F_{st} と直線距離、七北田川および名取川の河川距離、低標高グループと高標高グループの直線距離の間の IBD の検証を行なった(図 2)。遺伝距離 Pairwise F_{st} と直線距離 ($r = 0.24$, $P < 0.05$, 図 2(a)), 名取川の河川距離 ($r = 0.23$, $P < 0.05$, 図 2(c))の間で有意な正の相関が見られた。しかし, Pairwise F_{st} と七北田川水系の河川距離 ($r = 0.26$, $P = 0.53$, 図 2(b)), 低標高グループの直線距離($r = 0.23$, $P = 0.09$, 図 2(d)), 高標高グループの直線距離($r = 0.16$, $P = 0.09$, 図 2(e))の間では有意な相関が見られなかった。また, 低標高グループでは高標高グループに比べて遺伝的分化が小さかった(図 2(d), (e))。

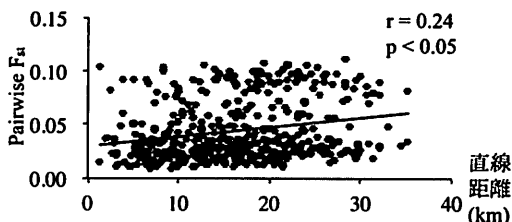
(2) 遺伝空間自己相関 GSA

GSA の結果, 全地点を用いた直線距離による GSA では, 最初の 3 クラスで有意な正の自己相関が見られた(0 - 3.5 km : $r^{(n)} = 0.19$, $P < 0.05$, 3.5 - 7 km : $r^{(n)} = 0.13$, $P < 0.05$, 7 - 10.5 km : $r^{(n)} = 0.19$, $P < 0.05$, 図 3(a))。それ以外のクラスでは一部クラスで他クラスと比較して大きな値が出たものの(10.5 - 14 km クラス : $r^{(n)} = 0.074$, $P = 0.07$) , 有意な正の自己相関は見られなかった。また, 七北田川水系における河川距離を用いた GSA ではすべてのクラスで有意な自己相関が見られず(図 3(b)), 名取川水系の河川距離における GSA では長距離の 1 クラスのみで有意な正の自己相関が見られた(35 - 38.5 km クラス : $r^{(n)} = 0.26$, $P < 0.05$, 図 3(c))。さらに低標高グループの直線距離における GSA では最初の 2 クラスで有意な正の自己相関が見られたが(0 - 3.5 km クラス : $r^{(n)} = 0.30$, $P < 0.05$, 3.5 - 7 km クラス : $r = 0.11$, $P < 0.05$, 図 3(d)) , その他のクラスでは有意な正の自己相関はなかった(図 3(d))。また, 高標高グループの直線距離における GSA では, すべてのクラスで有意な正の自己相関は見られなかった(図 3(e))。

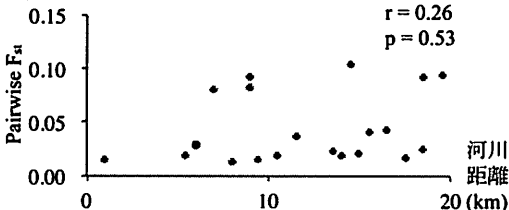
4. 考察

遺伝距離 Pairwise F_{st} と地理的距離の相関関係を解析した結果, 直線距離と名取川水系の河川距離においてほぼ同程度の相関係数を持つ有意な正の相関が得られた(図 2(a), (b))。また, 七北田川水系については河川距離と遺伝距離 Pairwise F_{st} の間に有意な正の相関は得られな

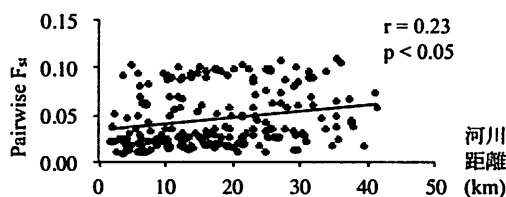
(a) 直線距離



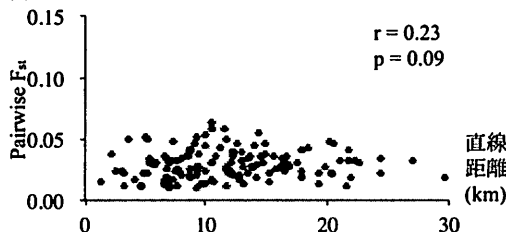
(b) 七北川の河川距離



(c) 名取川の河川距離



(d) 低標高グループの直線距離



(e) 高標高グループの直線距離

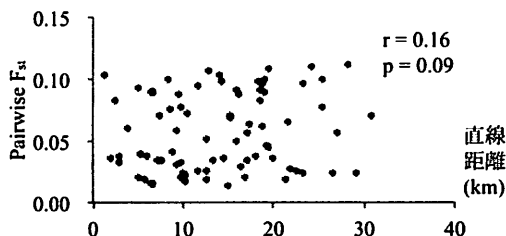


図2 遺伝距離Pairwise F_{st} と直線距離(a), 七北川の河川距離(b), 名取川の河川距離(c), 低標高グループの直線距離(d), 高標高グループの直線距離(e) の相関分析の結果。 r は相関係数を表す。またMantel検定の有意確率を p で示した。

かった(図 2(c))。流れに沿った移動を行なう種では直線距離よりも河川距離で相関係数が高くなることが知られている¹⁰⁾。ヒゲナガカワトビケラでも同様の結果が期待されたが, 直線距離および河川距離の間に相関係数の大きな差は見られなかった。この結果は, 調査対象エリアのヒゲナガカワトビケラは移動分散を河川方向に限

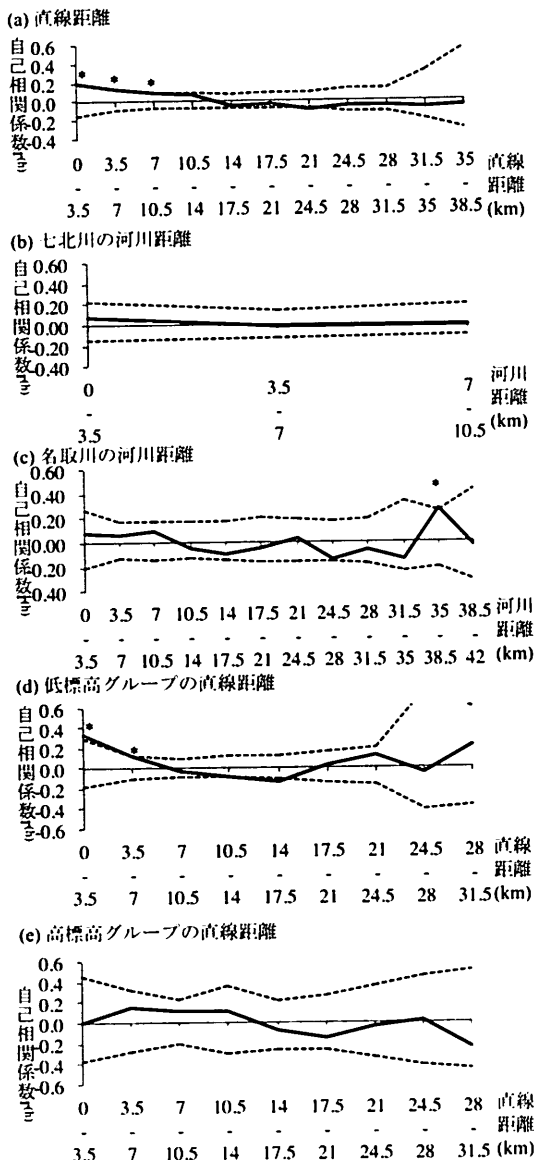


図3 直線距離(a)、七北川の河川距離(b)、名取川の河川距離(c)、低標高グループの直線距離(d)、高標高グループの直線距離(e)の遺伝自己相関分析の結果。nは各距離クラスのサンプル数、破線は $H_0: r^{(h)} = 0$ の95%信頼区間を表す。*: $p(H_0: r^{(h)} = 0) < 0.05$

定しているわけではないことを示唆している。幼虫は水生のため移動は水中に限られる。このため水系間を越えた移動は成虫時に起こると考えられる。多くのヒゲナガカワトビケラのメス成虫は上流方向へと飛ぶ³²⁾。しかし風向等の要因により一部のメス成虫は下流方向へも飛ぶ³³⁾。青谷らによると東北地方のヒゲナガカワトビケラの越冬世代の羽化は5月下旬から8月上旬である³³⁾。筆者らがヒゲナガカワトビケラのサンプリングを行なった時期は9-10月であるため、解析に用いられたヒゲナガカワトビケラ幼虫の親世代はサンプリングをした年の越冬

世代と考えられる。2006年の気象庁年報によると、採取個体の親世代(前述の越冬世代)が羽化した時期(5月下旬から8月上旬)の飛行時(日没前後)で、ヒゲナガカワトビケラが飛行可能な風力3未満の風向き(仙台)の日のうち、6割ほどが河川の流下方向と逆方向の東南東、南東、南南東の風であった³⁴⁾。このため多くのヒゲナガカワトビケラのメス成虫が上流方向に移動したと推測できる。しかし、残り4割程度は他方向の風向きの日であり³⁴⁾、河川方向以外に移動したメス成虫がいた可能性がある。このため、河川方向のIBDの傾向が弱められた可能性もある。風によってヒゲナガカワトビケラの成虫が水系間を移動する可能性はAmplified Fragment Length Polymorphism法(AFLP法)を用いた同水系のヒゲナガカワトビケラの移動分散に関する既報でも報告されている⁶⁾。

GSAでは直線距離で0-10.5kmのクラス、低標高グループの直線距離で0-7kmのクラスに有意な正の相関が見られた(図3(a), (d))。この結果は、10.5km未満の範囲で遺伝子流動があり、それ以上離れた地点間の遺伝子流動がないかあるいは非常に弱いことを示唆している。野外観察の既報²⁹⁾をもとに成虫の移動距離を試算すると、オス成虫で最大53km、メス成虫で7kmとなる。また、性別問わず2回の移動を行う個体がいることと²⁹⁾、移動しない個体がいる可能性を含めて成虫の移動距離は、オス成虫で0-10.6km程度、メス成虫で0-14km程度となる。遺伝マーカーから推察された遺伝子流動のある距離は10.5kmで、野外観察によって得られたオス成虫が2回飛行した際の最大飛行距離(10.6km)とほぼ符合する(図3(a))。また、メス成虫が2回飛行した場合には最大飛行距離は14kmとなる。10.5-14kmクラスの自己相関係数はそれ以降の自己相関係数と比べて高かった(図3(a))。メスのみがこのクラスを飛行できるため、有意ではないものの、やや高めの自己相関が見られた可能性がある。さらにこれまでにミトコンドリアDNAのCOI領域を用いた解析により、同流域ではヒゲナガカワトビケラは源流域に特殊な系統が存在していることが知られている³⁵⁾。また、AFLP法を用いたヒゲナガカワトビケラの遺伝的多様性の解析では標高と遺伝的多様性の間に有意な負の相関があることが知られている⁶⁾。これらの事実から標高が個体の種内競争に影響を与えていることが予想される。直線距離で10.5-14kmとなる地点間の一部では標高が大きく異なることで、ヒゲナガカワトビケラのメス成虫が移動しても繁殖活動ができないまたは適応度が異なるために子孫が生活できず、有意な自己相関係数が得られなかった可能性も考えられる。また、名取川水系の河川距離のGSAでは、遠い河川距離の1クラス(35-38.5km)で有意な正の自己相関が見られた

(図 3 (c))。名取川水系の調査地点は主に名取川本川と支流の広瀬川に分かれる。この距離クラスに入る地点ペアの多くが、名取川本川上流に位置する地点と広瀬川上流に位置する地点の組み合わせであった。これらペアの直線距離は河川距離よりも近い(例 S18 と S16 間: 河川距離 37.8km, 直線距離 22.4km)。現地観察で推定されたヒゲナガカワトビケラの最大移動距離 14km から考えると、流程に沿って 35 - 38.5km を移動するとは考えにくい。このことから、同河川距離クラスの地点間では川沿いでなく、河川間を直線的に移動した影響が自己相関に反映されたと考えられる。

標高グループ毎に直線距離と遺伝距離 Pairwise F_{st} の相関分析を行なった結果、それぞれのグループで IBD が見られなかった(図 2 (d), (e))。Pairwise F_{st} は遺伝的な分化の指標でもあり、0.05 以上で弱い分化があるとされる³⁰⁾。Pairwise F_{st} を比較すると、低標高グループでは多くの Pairwise F_{st} が弱い分化を示す 0.05 以下である一方で、高標高グループでは分化の見られるも多かった(図 2 (d), (e))。集団間の遺伝子流動が大きく集団の分化が見られない場合や集団間で遺伝子流動がほとんどない場合などに IBD が見られない場合がある³¹⁾。Pairwise F_{st} の値から考えると低標高グループでは前者の、高標高グループでは後者の理由から IBD が見られなかった可能性がある。

ヒゲナガカワトビケラは河川の分断に対して影響を受けやすいことが知られている⁷⁾。本研究で得られた結果をまとめると、ヒゲナガカワトビケラは流程方向に限らず移動を行っており、その移動距離は 10.5km 程度と推定される。S28 はダムによって下流と分断され、その上流の流域面積は小さく集団が縮小・消滅しやすいことが予想される。しかし、この地点を中心として 10.5km 以内には名取川水系、五間堀川水系が存在しており、ヒゲナガカワトビケラの移入があるために集団が存続している可能性もある。

本研究によりヒゲナガカワトビケラの移動分散距離は 10.5km と推定されたことから、河川を分断する構造物を作成する際には 10.5km 以下の地点に代替の生息場を整備するなどヒゲナガカワトビケラの移動分散を阻害しないインフラ整備が可能となる。また今後、頑健な流域生態系保全のため、ヒゲナガカワトビケラ以外の河川の分断の影響を受けやすい生物に対しても同様の解析が行なわれ、河川管理に応用されていくことが望まれる。

5. おわりに

本研究では水生昆虫の移動分散パターンを推定する方法を提案するため、ヒゲナガカワトビケラをモデルに同

種の移動分散パターンの推定を行なった。その結果、ヒゲナガカワトビケラは既報と同程度(0 - 10.5km)の移動を行なうことが示唆された。また、既報では河川にそった移動を行なうとされていたが、本研究により河川方向に限った移動分散ではないことが示唆された。今後、河川水生昆虫の生息地間交流保全のため、遺伝マーカーを用いて河川水生昆虫の移動分散パターンが明らかにされることを期待する。

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)、科学研究費補助金基盤研究 A(代表者：竹門康弘)、科学研究費補助金基盤研究 B(代表者：風間聡)、European Commission FP7 Floodplain Evolution project(代表者：渡辺幸三)の資金的援助を受けました。ここに謝意を表します。

参考文献

- 1) Ward J. V.: Riverine landscapes: biodiversity patterns, disturbance regimes, and aquatic conservation, *Biological conservation*, Vol.83, No.3, pp.269-278, 1998.
- 2) Watanabe K., C. Yoshimura and T. Omura: Stochastic model for recovery prediction of macroinvertebrates following a pulse-disturbance in river, *Ecological Modelling*, Vol. 189, pp.396-412, 2005.
- 3) Nishimura N. (1967): Ecological studies on the net-spinning caddisfly, *Stenopsyche griseipennis* McLachlan II. Upstream-migration and determination of flight distance, *Mushi*, 40, pp.39-46.
- 4) Ward L. and P. Mill: Long range movement by individuals as a vehicle for range expansion in *Calopteryx splendens* (Odonata: Zygoptera), *European Journal of Entomology*, Vol. 104, pp.195-198, 2007
- 5) Watts P. C. F. Rousset, L. J. Saccheri, R. Leblois, S. J. Kemp and D. Thompson: Compatible genetic and ecological estimates of dispersal rate in insect (*Coenagrion mercuriale*, Odonata: Zygoptera) populations: analysis of 'neighbourhood size' using a more precise estimator, *Molecular Ecology*, Vol. 16, pp. 737-751, 2007.
- 6) 渡辺幸三, 八重樫咲子, 菊池裕二, 竹門康弘, 風間聡, 大村達夫: DNA 多型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, *水環境学会誌*, Vol. 32, No.5, pp.253-258, 2009.
- 7) Watanabe K. and Omura T., Relationship between reservoir size and genetical differentiation of the stream caddisfly *Stenopsyche marmorata*, *Biological Conservation*, Vol. 136, pp. 203-211, 2007.
- 8) Hughes J. M., P. B. Mather, M. J. Hillyer, C. Cleary and B. Pockarsky: Genetic structure in a montane mayfly *Beatis bicaudatus* (Ephemeroptera: Baetidae), from the Rocky Mountains, Colorado, *Freshwater Biology*, Vol.48, pp. 2149-2161, 2003
- 9) Bouter J., T. Balenghien, S. Ravel, L. Vial, I. Sidibe, S. Thevenon, P. Solano and T. DE Meus: Population size and dispersal pattern of tsetse flies rolling on the river?, *Molecular Ecology*, Vol. 18, pp.2787-2797, 2009.

- 10) Liebgold E. B., E. D. Brodie III and P. R. Cabe : Female philopatry and male-biased dispersal in a direct-developing salamander, *Plethodon cinereus*, *Molecular Ecology*, Vol. 20, pp249-257, 2011.
- 11) Schrey A.W., A. M. Fox, H. R. Mushinsky and E. D. McCoy, Fire increases variance in genetic characteristics of Florida Sand Skink (*Plestiodon reynoldsi*) Local populations, *Molecular Ecology*, Vol. 20, pp56-66, 2011.
- 12) Wright S : Isolation by distance. *Genetics*, Vol. 28: 114-138, 1943.
- 13) Sokal R. R. : Spatial autocorrelation in biology 1. Methodology, *Biological Journal of the Linnean Society*, Vol. 10, pp.199–228, 1978.
- 14) Guillot G., R. Leblois, A. Coulon and A. C. Frantz : Statistical methods in spatial genetics, *Molecular Ecology*, Vol. 18, pp4734-4756, 2009.
- 15) Malmqvist B. : Aquatic invertebrates in riverine landscapes, *Freshwater Biology*, Vol.47, pp679-694, 2002.
- 16) Zickovich J. M. and A. J. Bohonak : Dispersal ability and genetic structure in aquatic invertebrates: a comparative study in southern California streams and reservoirs, *Freshwater Biology*, Vol. 52, pp1982-1996, 2007.
- 17) Watts C. P., I. J. Saccheri, S. J. Kemp and D. J. Thompson : Population structure and the impact of regional and local habitat isolation upon levels of genetic diversity of the endangered damselfly *Coenagrion mercurial* (Odonata: Zygoptera), *Freshwater Biology*, Vol. 51, pp193-205, 2006.
- 18) Sokal R. R. and D. E. Wartenberg : A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model, *Genetics*, Vol.105, pp219-237, 1983.
- 19) Frankham, R., Ballou, J.D. and Briscoe, D.A.: Genetic diversity, *Introduction to Conservation Genetics*, pp45-71, 2002.
- 20) Watts P. C., F. Rousset, I. J. Saccheri, R. Leblois, S. J. Kemp and D. J. Thompson : Compatible genetic and ecological estimates of dispersal rates in insect (*Coenagrion mercurial*: Odonata: Zygoptera) populations: analysis of 'neighbourhood size' using a more precise estimator, *Molecular Ecology*, Vol. 16, pp737-751, 2007.
- 21) Wilcock H. R., Hildrew A. G., Nichols R. A., Bruford M. W. : Microsatellites for the net-spinning caddisfly *Plectrocnemia conspersa* (Polycentropodidae), *Molecular Ecology Notes*, Vol. 1, pp. 318-319, 2001.
- 22) Shama L.N.S., Kubow K.B., Robinson C.T. : Ten polymorphic microsatellite loci isolated from the alpine caddisfly *Allogamus uncinatus* Brauer (Trichoptera: Limnephilidae), *Molecular Ecology Notes*, Vol. 8, pp.1285-1287, 2008.
- 23) Pauls S.U., Feldheim K.A., Haase P : Isolation and characterization of microsatellite markers in the caddisfly *Driesus discolor* (Trichoptera: Limnephilidae), *Molecular Ecology Notes*, Vol. 7, pp. 150-152, 2007.
- 24) 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.
- 25) 川合 慎次, 谷田 一三 : 日本産水生昆虫-科・属・種への検索, 東海大学出版会, 2005.
- 26) 西村 登 : 円山川中流域におけるヒゲナガカワトビケラ科2種の分布, 金沢大日本海研究報告, Vol. 13, pp.67-78, 1981.
- 27) Muller K. : The colonization cycle of freshwater insects, *Oecologia*, Vol.52, pp.202-207, 1982.
- 28) 西村 登: ヒゲナガカワトビケラの生態学的研究 4. 成虫の遡上飛行と産卵域の拡大, 生理生態, 17, pp.179-183, 1976.
- 29) Oosterhout, C. V., W. F. Hutchinson, D. M. Wills and P. Shipley : MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data, *Molecular Ecology Notes*, Vol. 4, pp535-538, 2004.
- 30) Peakall, R. and P. E. Smouse : GENALEX6: genetic analysis in Excel, Population genetics software for teaching and research, *Molecular Ecology Note*, Vol. 6, pp.288-295, 2006.
- 31) Smouse P. E. and R. Peakall : Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure, *Hereditas*, Vol. 82, pp561-573, 1999.
- 32) 西村 登 : 成虫の飛行, 日本の昆虫⑨ヒゲナガカワトビケラ, 文一総合出版, pp82-96, 1987.
- 33) 青谷 晃吉, 横山 宣雄 : 東北地方におけるヒゲナガカワトビケラ属2種の生活環について, *Japan Journal of Limnology*, Vol. 48, pp41-53, 1987.
- 34) 気象庁 : 気象庁年報 2006 年(平成 18 年), 気象庁, CD-ROM, 2007.
- 35) Wright, S. *Evolution and the Genetics of populations. Volume 4. Variability within and among Natural populations.* University of Chicago Press, Chicago, 1978.
- 36) 鈴木 洋一, 渡辺 幸三, 八重樫 咲子, 大村 達夫 : 進化系統を考慮した河川水生昆虫ヒゲナガカワトビケラの遺伝的多様性の評価, 環境工学論文集, Vol.46, pp529-536, 2009.
- 37) Hutchison D. W. and A. R. Templeton : Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability, *Evolution*, Vol. 53, pp1898-1914, 1999.

(2011. 5. 30 受付)

Evaluation of Dispersal Pattern of the Caddisfly *Stenopsyche marmorata* at the Cathment Scale by Microsatellite Markers

Sakiko YAEGASHI¹, Kozo WATANABE² and Tatsuo OMURA¹

¹Dept. of Civil and Environmental Engineering, Tohoku University

For a robust river ecosystem at the catchment scale, we examined dispersal pattern of the caddisfly *S. marmorata* at the Middle of Miyagi prefecture by means of eight microsatellite markers. *S. marmorata* female fly to upstream against wind for oviposition after sunset while male flight pattern is random. We genotyped 532 larval samples collected from 30 reaches in adjacent four catchments in a 30 x 40 km² area. IBDs were showed positive significant correlation between Pairwise Fst and both airline distance and river line distance in Natori River. These result shows *S. marmorata* adult dispersal pattern was not limited along the river line because of male random dispersal or wind direction at female flight time. Genetic spatial autocorrelations showed *S. marmorata* dispersal distance was less than 10.5km at airline distance using all sites. In case of sites were less than 137m, *S. marmorata* disperse less than 7km. These distances were same to reported female dispersal distance. We believe those genetic analysis were helpful for recovering from artificial habitat sepaletions.