

河川分断化が底生動物 3 種の遺伝的分化へ及ぼす影響評価

愛媛大学大学院 学生会員 ○ 山崎久美子 愛媛大学 非会員 不破直人
愛媛大学大学院 正会員 三宅洋 愛媛大学大学院 正会員 渡辺幸三

1. はじめに

近年、人間活動による生息地の分断化が様々な生物集団の遺伝構造に影響を及ぼすことが問題となっている。生物集団の遺伝的多様性を低下させる要因の一つとして、生息地分断化に伴う遺伝子流動の低下が考えられる¹⁾。遺伝子流動とは、地域集団間の遺伝的な交流のことであり、遺伝的多様性と大きく関係する。ダムなどによる生息地の分断化によって遺伝子流動が低下した地域集団では、遺伝的分化が起こりやすく、遺伝的多様性は低下すると考えられる。

河川分断化の発生要因として貯水ダムや砂防ダムなどの人間によって建設された人工構造物に加え、自然要因による瀬切れが挙げられる。底生動物の遺伝子流動は主に幼虫の流下と成虫の飛翔によって起こる。河川分断化は幼虫の流下が間欠流区間で遮断されてしまう可能性がある²⁾。成虫についてもダム湖の湛水域および間欠流区間を飛翔によって越えられない場合がある。これまでに貯水ダムの上下流間における遺伝的分化に関する研究は見られるが、瀬切れを考慮し河川全域を対象とした研究は行われていない。

そこで、本研究では貯水ダム、砂防ダムおよび瀬切れの 3 要因が存在している重信川流域を対象に調査を行うことで、各要因が移動形態の異なる 3 種の河川底生動物の遺伝的分化に及ぼす影響を把握することを目的とした。本研究では重信川に広く生息するエルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus latifolium*)、オオヤマシマトビケラ (*Macrostemum radiatum*) およびカミムラカワゲラ (*Kamimuria tibialis*) の 3 種を対象種とした。これら 3 種の底生動物を対象にすることで、河川分断化が底生動物の遺伝的分化に及ぼす影響の違いを解明した。

2. 方法

調査は 2013 年の 9 月から 10 月にかけて重信川の 10 地点で行った (図 1)。全種を合計して 325 個体 (各地点 4-15 個体/種, 平均 13.5 個体/種) のサンプルを採取した。サンプリングには D フレームネット (0.5 mm メッシュ) を使用し、キックサンプリング法及びエレクトロフィッシャーによる電撃法を併用した。採取した底生生物は DNA 分解酵素により DNA が破壊しないよう現場でサンプル容器に入れ、99.5% エタノールで保存した。持ち帰ったサンプルは実体顕微鏡 (×112.5) を使用して確認作業を行い、再度 99.5% エタノールを用いて 4°C で保存した。

DNeasy Blood & Tissue Kits (Qiagen) を使用して、DNA を抽出をした。抽出した DNA は NanoDrop2000 (Thermo) で、濃度を測定してから 10-50ng/ml に調整した。その後、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の COI 領域を 2 種類のプライマー LCO_2198

(5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) と HCO_1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) を使用し、PCR 増幅させた。サーマルサイクラーの温度条件については、まず 94°C で 2 分加熱し、94°C で 30 秒の熱変性、42°C で 30 秒間のアニーリング、72°C で 1 分間の伸長反応とした。この 3 つの流れを

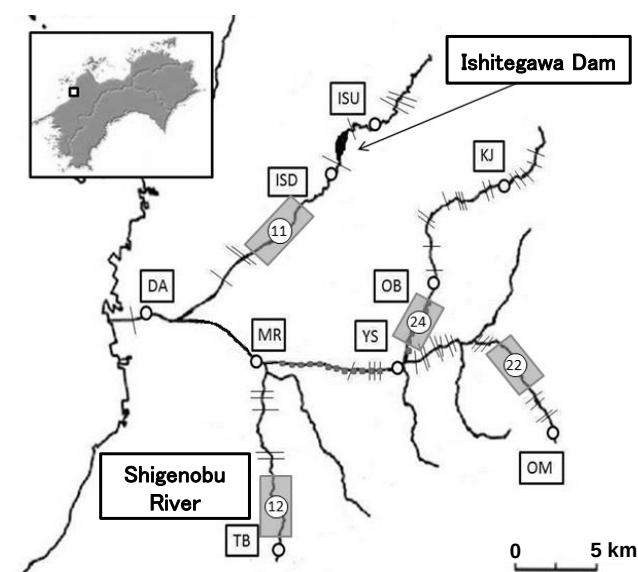


図 1 調査地概況。白丸は調査地、点線は瀬切れ区間、黒線は砂防ダムを表す。網掛け部分は砂防ダムの連続する区間、数字はそれらの数を表す。

1 サイクルとし、30 サイクル繰り返した後、最後に 72°C で 10 分間の伸長反応を行い、伸長反応停止のために 12°C で保持した。PCR の実施後、アガロースゲル電気泳動で 672bp 付近の PCR 産物を確認した。PCR 産物は精製し、北海道システム・サイエンス株式会社に委託してシーケンス解析を行った。得られたシーケンシングデータは、CodonCode Aligner 2.0.6 (CodonCode Corporation) で塩基配列のアライメント (塩基配列の整列、挿入・欠損の調整) を行った。

アライメントを行ったデータから MEGA6 6.05 (MEGA software) を使用し、各対象種の平均塩基置換数の割合により遺伝距離の算出を行った。遺伝距離は各地点間と地点内で算出した。分断化が発生していない Reference 区間を森松 (MR) - 出合 (DA) 間とした (図 1)。なお、カミムラカワゲラは貯水ダム上下流間に生息していなかった。

3. 結果および考察

貯水ダム、砂防ダムおよび瀬切れ発生区間の上下流間で対象種ごとに遺伝距離を比較した結果、3 種ともに砂防ダムが最も遺伝的分化に強い影響を及ぼしていることが明らかになった (図 2)。既往研究において、砂防ダムは貯水ダムに比べ軽視されてきたが、調査を行った重信川には数多くの砂防ダムがあったため (調査地間平均 14.25 基)、貯水ダムよりも遺伝距離に強い影響を及ぼしたものと考えられる。一方で、瀬切れ区間上下流間では Reference 地点とほぼ同じ遺伝距離を示し、遺伝的分化に影響を及ぼしていないことが明らかになった。重信川は長期に渡り瀬切れが発生する河川ではあるが、不定期に瀬切れの解消が見られるため、遺伝的分化を生じさせていなかったものと考えられた。

4. まとめおよび今後の課題

遺伝距離と分断化の関係から、河川分断化要因の中で、砂防ダムが 3 種の底生動物の遺伝的分化に最も強い影響を及ぼしていることが明らかになった。しかし、河川分断化の影響について 3 種の間で明瞭な差は見られなかった。今後は対象種と異なる移動様式を持つ種を対象に研究を行うことで、河川分断化が遺伝的分化に及ぼす影響をさらに評価していく必要がある。

参考文献

- 1) Frankham, R. : Inbreeding and extinction: a threshold effect, *Conservation Biology*, 9, pp.792-799, 1995.
- 2) 西村登 : ニッポンヒゲナガカワトビケラの生態学的研究
5. 成虫の遡上飛行, *昆虫*, 49, pp.192-204, 1981.

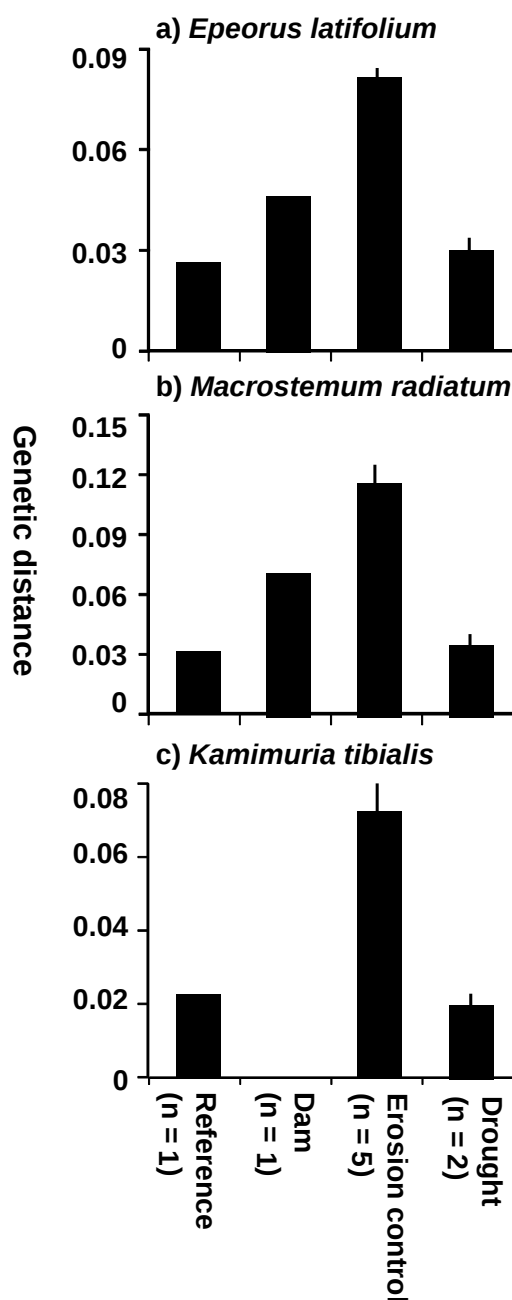


図 1 各河川分断要素と対象生物の遺伝距離の比較。n はサンプル数を表す。