

# 河川分断化が底生動物 3 種の遺伝的分化に 及ぼす影響評価

山崎 久美子<sup>1</sup>・不破 直人<sup>2</sup>・三宅 洋<sup>3</sup>・渡辺 幸三<sup>4</sup>

<sup>1</sup>学生会員 愛媛大学 大学院理工学研究科 (〒790-8577 愛媛県松山市文京町3番)

E-mail: yamasaki.kumiko.09@cee.ehime-u.ac.jp

<sup>2</sup>非会員 愛媛大学 (〒790-8577 愛媛県松山市文京町3番)

E-mail: fuwa.naoto.09@cee.ehime-u.ac.jp

<sup>3</sup>正会員 愛媛大学准教授 大学院理工学研究科 (〒790-8577 愛媛県松山市文京町3番)

E-mail: miyake@cee.ehime-u.ac.jp

<sup>4</sup>正会員 愛媛大学准教授 大学院理工学研究科 (〒790-8577 愛媛県松山市文京町3番)

E-mail: watanabe\_kozo@cee.ehime-u.ac.jp

本研究は、貯水ダム、砂防ダムおよび瀬切れの3分断化要因が河川性底生動物3種（エルモンヒラタカゲロウ、オオヤマシマトビケラおよびカミムラカワゲラ）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。この結果、貯水ダムで分断された調査地間よりも複数の砂防ダムで分断された調査地間で大きな遺伝的分化が起こっていることが明らかになった。一方で、瀬切れで分断された調査地間と分断の無い調査地間では遺伝距離に有意な差が見られないことが明らかになった。各種の遺伝距離は、全区間においてオオヤマシマトビケラで最も大きく、次いでカミムラカワゲラ、エルモンヒラタカゲロウの順であった。この結果は、成虫の飛翔能力の種間差を反映していると推測された。

**Key Words :** genetic differentiation, habitat fragmentation, dam, drying, stream invertebrates

## 1. はじめに

近年、人間活動による生息地の分断化はさまざまな河川生物の分布に影響を及ぼすことが報告されている。例えば、人工構造物である貯水ダムの建設は河川内特性の流程変化パターンを分断させ、河川生物の移動阻害を引き起こす<sup>1)</sup>。このような生息地の分断化の研究の多くは、生物集団の構造や分類群数の多様性に着目してきたが、近年、生物集団の遺伝構造への影響に着目して遺伝的多様性を評価する研究が進められている<sup>2,3)</sup>。生息地が分断されると、生息地の連続性が低下または消失し、集団間の個体の移動が制限される。その結果、各集団間の遺伝的交流である遺伝子流動が遮断され、河川生物の遺伝的分化が進行し、遺伝的多様性は低下する可能性がある<sup>4,5)</sup>。分断化した集団では近交弱勢や環境変動に対応するポテンシャルの低下などにより、局地的絶滅の危険性が高まる<sup>6,7)</sup>。さらに、各集団における遺伝的多様性の低下は将来の種分化の可能性も低下させる<sup>8,9)</sup>。し

たがって、遺伝子流動の低下は新たな種を創出するポテンシャルを低下させ、種多様性をも低下させる可能性があるため、生息地の連続性を考慮した河川生態系の保全が望まれる。

人間により建設される横断構造物は河川分断化の主要な発生要因である。大規模な堤体と湛水域をともなう貯水ダムは、底生動物の幼虫の流下および成虫の飛翔を妨げることにより、上下流間の遺伝子流動を低下させることが知られている<sup>10)</sup>。さらに、湛水面積の大きなダム湖を有する貯水ダムほど河川生物の遺伝的分化に及ぼす影響が強いことが報告されている<sup>11)</sup>。砂防ダムは湛水域を持たないものの、貯水ダムと同様に底生動物の移動を阻害する要因となりうる。これら横断構造物に加え、河川の低水に伴い発生する瀬切れ（干上がりによる表流水の分断化）もまた生息場所の分断化により底生動物の移動を阻害し<sup>12)</sup>、遺伝子流動を妨げる可能性がある。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<sup>13,14)</sup>、貯水ダムに加えて砂防ダムや瀬切

れを河川分断化の発生要因として考慮し、河川流域全体で底生動物群集の遺伝的構造への影響を把握した研究は行われていない。

既往研究の多くは1種の底生動物を対象とし、生息地の分断化の影響を検証している<sup>15)16)</sup>。底生動物は、幼虫の流下および葡萄や、成虫の飛翔などにより、上流、下流、側方、または鉛直方向へ移動することが知られている<sup>17)</sup>。このような移動能力は種によって異なることが報告されている<sup>18)19)</sup>。よって、生息場所分断が底生動物群集の遺伝的構造に及ぼす影響を把握する場合、その集団内に存在する種ごとに生息地の分断化の影響を検証することが望ましいといえる。

本研究は、貯水ダム、砂防ダムおよび瀬切れの3分断化要因が存在している愛媛県重信川流域を対象に調査を行い、各要因が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し、移動様式の異なるエルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus latifolium*)、オオヤマシマトビケラ (*Hydropsyche dilatata*) およびカミムラカワゲラ (*Kamimuria tibialis*) の3種を対象とした。これら3種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種による違いを検討した。

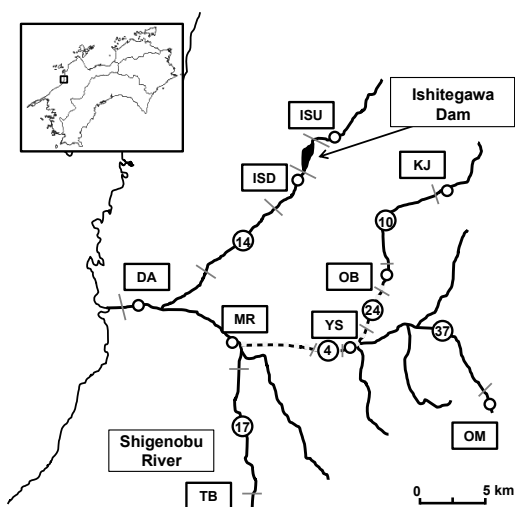


図-1 調査地概況。白丸は調査地、点線は瀬切れ区間を表す。図中の数字は調査区間内の砂防ダムの数を表す。

よび YS-MR 間は瀬切れによる著しい分断がある。強度の分断が起こっていない MR-DA 間は対照区間 (Reference) とした (図 1)。

## (2) 野外調査

サンプリングには D フレームネット (開口部 25 cm × 25 cm, ネット長 40 cm, 目合い 0.5 mm, 離合社) を使用し、キックサンプリング法およびエレクトロフィッシャー (LR-24, Smith-Roots Inc.) 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 が破壊され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<sup>20)</sup>。持ち帰ったサンプルは実体顕微鏡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℃ で保存した。各サンプルに含まれる底生動物を実体顕微鏡下で可能な限り下位の分類階級まで同定し、計数した。同定中は DNA 分解酵素による反応が進行しないよう H<sub>2</sub>O は一切使わず、99.5%エタノールを用いた。

## (3) DNA 解析

本研究ではミトコンドリア DNA (mtDNA) の Cytochrome Oxidase subunit I (COI) 領域を使用した。mtDNA は一つの細胞内に数個以上存在し、小さな底生動物の破片または劣化した細胞からでも容易に DNA 抽出、解析を行うことができる。また、COI 領域は種間や亜種間の系統分析に適し、昆虫網のすべての種に適用可能なユニバーサルプライマーがあるため、豊富なデータベースが容易に利用することが可能である。このため、河川性底生動物の遺伝的多様性の評価に広く用いられている<sup>22)23)</sup>。

## 2. 方法

### (1) 調査地概要

2013 年 8 月から 9 月にかけて愛媛県の重信川本流でサンプリングを行った (図 1)。重信川は愛媛県東温市の東三方ヶ森 (標高 1233 m) を水源とする、瀬戸内海に注ぐ幹川流路延長約 36 km、流路面積約 445 km<sup>2</sup> の一級河川である。最大の支流である石手川には石手川ダム (多目的、堤高 87 m, 湛水面積 50 ha) が 1972 年に竣工している。流域には堤高 50 cm 以上の横断構造物 (主に砂防ダム) が 108 地点に建設されている<sup>20)</sup>。重信川流域は瀬戸内式気候のため雨量が少なく、急傾斜のため降水が短時間で海に流出する。また土砂生産量が多いため、厚い堆積層が形成される中流部の扇状地部では古くから干上がりが見られる。

重信川本流に 5 地点 (DA, MR, YS, OB, KJ)、支流の表川 (OM) と砥部川 (TB) に 1 地点ずつ、石手川ダムの上流と (ISU) と下流 (ISD) に 1 地点ずつ、計 9 地点に調査地を設けた (図 1)。ISU-ISD 間は貯水ダムによる分断、KJ-OB 間、OB-YS 間、OM-YS 間、TB-MR 間および ISD-DA 間は砂防ダムによる分断、OB-YS 間お

各地点で採取したサンプルから DNA を QIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kits を使用して抽出した． NanoDrop2000 (Thermo) で濃度測定して後、10-50 ng/ml に調整し、mtDNA の COI 領域を HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) と LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) の 2 種類のユニバーサルプライマーを使用し、PCR 増幅した<sup>24)</sup>． サーマルサイクラーの温度条件については、まず 94℃ で 2 分間の加熱、次いで 94℃ で 30 秒間の熱変性、42℃ で 30 秒間のアニーリング、72℃ で 1 分間の伸長反応とした． この 3 行程を 1 サイクルとし、30 サイクルを繰り返した後、最後に 72℃ で 10 分間の伸長反応を行い、伸長反応停止のために 12℃ で保持した． PCR の実施後、アガロースゲル電気泳動で 672 bp 付近の PCR 産物を確認した． その後、QIAGEN QIAquick PCR Purification Kit を使用して残存するプライマーと反応試薬を除去し、精製した．

#### (4) データ解析

シーケンシング解析は、北海道システム・サイエンス株式会社に委託した． 本研究では全部で 321 個体のシーケンスデータが得られた． 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． 次に、ARLEQUIN 3.5.1.2 を使用して、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<sup>25)</sup>． 遺伝的多様性について、地点内の遺伝的多様性を表す  $\alpha$  多様性、地点間の遺伝的多様性を表す  $\beta$  多様性および種全体の遺伝的多様性を表す  $\gamma$  多様性を算出した． さらに、遺伝的分化指数 (FST) を  $\beta/\gamma$  により算出した． FST は集団間の遺伝分化を示す指標で、値が低いほど遺伝分化が進行して

ないことを示す<sup>26)</sup>． 遺伝距離の平均値を各地点間と地点内で算出した． なお、カミムラカワゲラは ISU および ISD では確認されなかった．

### 3. 結果

#### (1) 遺伝距離

本研究で対象とした 3 種の FST 値は 0.481-0.551 の範囲で、平均は 0.526 だった (表 1)． 遺伝的な  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  多様性はいずれもオオヤマシマトビケラで高く、以下、カミムラカワゲラ、エルモンヒラタカゲロウの順だった．

地点間の遺伝距離 (FST) は 0.007-0.166 (平均 0.076) だった． 重信川の最上流調査地点である KJ は他の地点との遺伝距離が大きな値を示した (表 2)． KJ を除いた本流の調査地点間で遺伝距離は小さな値を示した (エルモンヒラタカゲロウ：平均 0.030, オオヤマシマトビケラ：平均 0.037, カミムラカワゲラ：0.017)． 一方、KJ を除いた本流と支流の調査地と間では遺伝距離が高い値を示した (エルモンヒラタカゲロウ：平均 0.068, オオヤマシマトビケラ：平均 0.131, カミムラカワゲラ：平均 0.073)． 本研究では河川流下距離および空間距離が離れている調査地点間 (TB-OM：エルモンヒラタカゲロウ 0.067, オオヤマシマトビケラ 0.140, カミムラカワゲラ 0.069) でも遺伝距離は小さい区間が存在した． 一方で、隣接している地点でも遺伝距離が大きい区間が存在した (MR-TB：エルモンヒラタカゲロウ 0.083, オオヤマシマトビケラ 0.166, カミムラカワゲラ 0.075)．

表-1 各地点内の遺伝距離の平均.

| Taxon                       | Diversity |         |          | Genetic distance |
|-----------------------------|-----------|---------|----------|------------------|
|                             | $\alpha$  | $\beta$ | $\gamma$ | FST              |
| <i>Epeorus latifolium</i>   | 0.028     | 0.026   | 0.055    | 0.481            |
| <i>Hydropsyche dilatata</i> | 0.045     | 0.055   | 0.100    | 0.551            |
| <i>Kamimuria tibialis</i>   | 0.028     | 0.033   | 0.061    | 0.547            |

表-2 KJ と各調査地点間の遺伝距離.

| Taxon                       | Genetic distance |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                             | OB               | YS    | MR    | DA    | ISD   | ISU   | TB    | OM    |
| <i>Epeorus latifolium</i>   | 0.075            | 0.093 | 0.085 | 0.089 | 0.064 | 0.050 | 0.041 | 0.039 |
| <i>Hydropsyche dilatata</i> | 0.146            | 0.146 | 0.147 | —     | 0.141 | 0.138 | 0.136 | 0.119 |
| <i>Kamimuria tibialis</i>   | 0.114            | 0.122 | 0.118 | —     | —     | 0.083 | 0.077 | 0.077 |

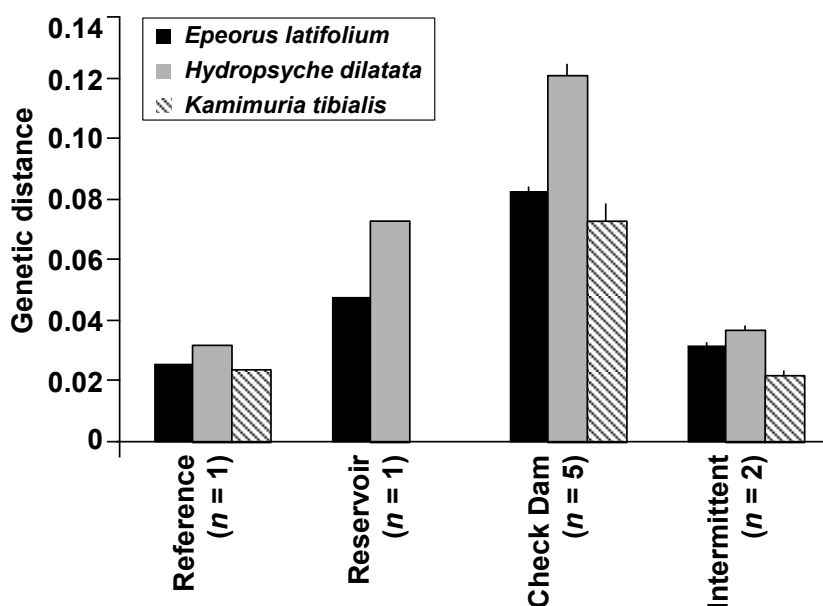


図2 各河川分断要素による対象種の遺伝距離の比較。nは例数を表す。

## (2) 分断化要因による遺伝距離の違い

本研究で対象とした3種全てについて、河川分断化の影響が見られた。貯水ダム、砂防ダム群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、遺伝距離は3種ともに貯水ダムで分断された調査地間(0.029)よりも複数の砂防ダムで分断された調査地間(平均0.092)で大きかった(図2)。一方、瀬切れで分断された調査地間(MR-YS, OB-YS間, 平均0.027)と分断の無い調査地間(MR-DA間, 0.030)では遺伝距離に大きな差が見られなかった。

## (3) 種による遺伝距離の違い

分断の種類に関わらず、遺伝的距離には種間で一貫した傾向が見られた。貯水ダム、砂防ダム群および瀬切れのある区間における各種の遺伝距離は、全区間においてオオヤマシマトビケラ(平均0.083)が最も大きく、以下、カミムラカワゲラ(平均0.063)、エルモンヒラタカゲロウ(平均0.058)の順であった(図2)。

# 4. 考察

## (1) 遺伝距離

3種ともに、重信川の最上流調査地点であるKJは他地点との間で遺伝距離が大きかった。これは、KJと他地点との間に遺伝子流動を制限する河川分断化もしくは

その他の要因があり、KJにおいて独自の遺伝構造が形成されている可能性を示している。既往研究にて、ヒゲナガカワトビケラの雌成虫は遡上飛行の際に河道上空に障害物が存在すると飛び越えずに迂回する習性を持つことが報告されている<sup>27)</sup>。KJが位置する重信川の上流域は狭窄した谷底に河道が位置しており、河道上には河畔林の樹冠や倒木などが多く存在している。このため、成虫の遡上飛行が阻害され、下流地点との個体の移動が起こりづらかった可能性がある。

KJを除く本流の4調査地点間(DA, MR, YS, OB)にて遺伝距離が小さいことは、本流中下流部の底生動物の遺伝的構造が類似していることを表している。一方、支流と本流の調査地点との間で遺伝距離が大きく、本支流間で遺伝的構造が大きく異なることが示された。さらに、支流間(TB-OM, ISU-OM)の遺伝的構造が類似していた。支流の調査地点はいずれも標高の高い山地に位置していることから、地理的分化による影響だと考えられた。

## (2) 分断化要因による遺伝距離の違い

河川分断化の潜在的要因である貯水ダム、砂防ダム、瀬切れについて、遺伝距離が最も大きかったのは砂防ダムが存在する区間であった。この結果より、本研究を行った重信川において砂防ダムが河川性底生動物の遺伝的分化に最も影響を与える要因であるといえる。一般的に底生動物の飛行高度は、水面から10m以下の場合が多く<sup>27)</sup>、飛行距離にも限界があるため<sup>28)29)</sup>、堤高が大きく、

湛水面積が大きい貯水ダムは著しい移動阻害を引き起こし、遺伝子流動の低下効果は大きいものと考えられる。しかしながら、本研究では貯水ダムの上下流間においても遺伝的分化は起こっていたものの、砂防ダムの存在する区間ほど遺伝距離は大きくなかった。この原因として、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）、多数が連続することにより上下流間の個体の移動を強く阻害し、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、河川分断化要因の中で瀬切れ区間の上下流間で最も遺伝距離が小さいという結果になった。この結果は、河川底生動物にとって瀬切れのような非恒常的な河川分断化は遺伝的分化に大きな影響を及ぼさないことを示唆している。台風による洪水などのイベントにともなう断続的な瀬切れ解消により個体の移動と遺伝的交流が起こり、遺伝的分化が妨げられていたと考えられる。

### (3) 種による遺伝的分化に及ぼす影響の違い

全調査地の FST はエルモンヒラタカゲロウがやや低い傾向が見られた。これは、重信川流域では今回対象とした 3 種のうちエルモンヒラタカゲロウが遺伝的分化が進行していないことを示している。さらに、3 種の分断化要因ごとの種の遺伝距離は、全要因においてオオヤマシマトビケラが最も大きく、次いでカミムラカワゲラ、エルモンヒラタカゲロウの順であった。この結果は、成虫の飛翔能力の種間差<sup>27)28)</sup>を反映していると推測された。

## 5. 結論

本研究は、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。この結果、貯水ダムで分断された調査地間よりも複数の砂防ダムで分断された調査地間で大きな遺伝的分化を引き起こしていることが明らかになった。一方で、瀬切れで分断された調査地間と分断の無い調査地間では遺伝距離に大きな差が見られないことが明らかになった。さらに、遺伝的分化の程度が種間で異なることを示した。この結果は、成虫の飛翔能力の種間差を反映していると推測された。これらの成果は、貯水ダムに比べ軽視されてきた砂防ダムによる分断化の影響にも注目すべきことと、多種を対象として分断化の影響を検討することの重要性を示唆している。今後は本研究の対象種と異なる移動様式を持つ多種を対象にすることで、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。

謝辞：本研究の野外調査および室内作業を手伝って下さ

った愛媛大学保全生態学研究室の今田慎太郎氏ならびに吉村研人氏、上田琢磨氏、宮本真司氏、山下功太郎氏に心より感謝する。本研究を遂行するに当たり遺伝子研究のご指導をいただいた泉昴佑氏ならびに大岸航平氏、近藤俊介氏、福田航平氏に心より感謝する。本研究は科研費基盤研究 (B) (25289172, 代表者：渡辺幸三) および河川財団河川整備基金助成事業 (26-1215-029, 代表者：渡辺幸三) の助成を受けたものである。

## 参考文献

- 1) Joy, M. K. and Death, R. G. : Control of freshwater fish and crayfish community structure in Taranaki, New Zealand: dams, diadromy or habitat structure?, *Freshwater Biology*, Vol. 46, pp. 417-429, 2001.
- 2) Ward, J. V. and Stanford, J. A. : The serial discontinuity concept: Extending the model to floodplain rivers, *River Research and Applications*, Vol. 10, pp. 2-4, 1995.
- 3) Saunders, D. A., Hobbs, R. J. and Margules, C. R. : Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review, *Conservation Biology*, Vol. 5, pp. 18-32, 1991.
- 4) Morita, K. and Yamamoto, S. : Contrasts in movement behaviour of juvenile white-spotted charr between stocks above and below a dam, *Fisheries Science*, Vol. 67, pp. 179-181, 2001.
- 5) Frankham, R. : Do island populations have less genetic variation than mainland population? *Heredity*, Vol. 78, pp. 311-327, 1997.
- 6) Frankham, R. : Inbreeding and extinction : Island populations, *Conservation Biology*, Vol. 12, pp. 665-675, 1998.
- 7) Saccheri, I., Kuussaari, M., Kankare, M., Viikman, P., Fortelius, W. and Hanski, I. : Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation, *Nature*, Vol. 392, pp. 491-494, 1998.
- 8) Morden, C. W. and Loeffer, W. : Fragmentation and genetic differentiation among subpopulations of the endangered Hawaiian mint *Haplostachys haplostachya* (Lamiaceae), *Molecular Ecology*, Vol. 8, pp. 617-625, 1999.
- 9) Lammi, A., Siikamäki, P. and Mustajärvi, K. : Genetic diversity, population size, and fitness in central and peripheral populations of a rare plant *Lychnis viscaria* (Caryophyllaceae), *Conservation Biology*, Vol. 13, pp. 1069-1078, 1999.
- 10) Knaeekens, G., Bervoets, L., Verheyen, E. and Eens, M. : Relationship between population size and genetic diversity in endangered populations of the *European bullhead* (*Cottus gobio*): implications for conservation, *Biological Conservation*, Vol. 115, pp. 403-410, 2004.
- 11) Morden, C. W. and Loeffer, W. : Fragmentation and genetic differentiation among subpopulations of the endangered Hawaiian mint *Haplostachys haplostachya* (Lamiaceae), *Molecular Ecology*, Vol. 8, pp. 617-625, 1999.
- 12) Watanabe, K. and Omura, T. : Relationship between reservoir size and genetic differentiation of the stream caddisfly *Stenopsyche marmorata*, *Biological Conservation*, Vol. 136, pp. 203-211, 2007.

- 13) Boulton, A. J. : Parallels and contrasts in the effects of drought on stream macroinvertebrate assemblages, *Freshwater Biology*, Vol. 48, pp. 1173-1185, 2003.
- 14) 渡辺幸三, 大村達夫 : ヒゲナガカワトビケラ (*Stenopsyche marmorata*) 地域集団のRAPD解析によるダム上下流間の遺伝的分化の評価, 土木学会論文集, 13, pp.49-58, 2005.
- 15) Sahney, S., Benton, and M. J., Falcon-Lang, H. J. : Rainforest collapse triggered Carboniferous tetrapod diversification in Euramerica, *Geology*, Vol. 38, pp. 1079-1082, 2010.
- 16) 渡辺幸三, 大村達夫 : RAPD解析によるダム上下流の河川水生昆虫3種地域集団の遺伝的多様性の評価, 土木学会論文集, pp.49-59, 2006.
- 17) Monika, Z., Catherine, E. G., and Neil, J. G. : Parallel Tagged Next-Generation Sequencing on Pooled Samples – A New Approach for Population Genetics in Ecology and Conservation, *PLOS ONE*, Vol. 8, pp. 1-9, 2013.
- 18) Delucchi, C. M. : Movement patterns of invertebrates in temporary and permant streams, *Oecologia*, Vol.79, pp. 199-207, 1989.
- 19) Miller, M. P., Bilonn, D. W. and Keim, P. : Correlations between observed dispersal capabilities and patterns of genetic differentiation in populations of four aquatic insect species from the Arizona White Mountains, U.S.A, *Freshwater Biology*, Vol. 47, pp. 1660-1673, 2002.
- 20) Monaghan, M. T., Spaak, P., Robinson, C. T. and Ward, J. V. : Population genetic structure of 3 alpine stream insects: influences of gene flow, demographics, and habitat fragmentation, *Journal of the North American Benthological Society*, Vol. 21, pp. 114-131, 2002.
- 21) Kawanishi, R., Inoue, M., Dohi, R., Fujii, A. and Miyake, Y. : The role of the hyporheic zone for a benthic fish in an intermittent river a refuge, not a graveyard, *Aquatic Sciences*, Vol. 75, pp. 425-431, 2013.
- 22) Berkelmans, R., Doyle, J., Oppen van, M. J. H., Asbridge, E. F. and Brown, A. R. : Efficacy of long-term coral tissue storage in ethanol for genotyping studies, *Coral Reefs*, Vol.33, pp. 1-8, 2013
- 23) Baggiano, O., Schmidt, D. J., Sheldon, F. and Hughes, J. M. : The role of altitude and associated habitat stability in determining patterns of population genetic structure in two species of Atelophlebia (Ephemeroptera : Leptophlebiidae), *Freshwater Biology*, Vol. 56, pp. 230-249, 2011.
- 24) Young, B. A., Schmidt, D. J., Sheldon, F. : Small-scale patterns of genetic variation in a headwater specialist mayfly: No influence of selective forest harvesting on diversity, *Austral Ecology*, Vol. 38, pp. 504-515, 2013.
- 25) Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. : DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse merazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, Vol. 3, pp. 294-299, 1994.
- 26) Laurent E., Guillaume L. and Stefan S. : Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis, *Evolutionary Bioinformatics*, Vol. 1, pp. 47-50, 2005.
- 27) 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, 生理形態, 17, pp.179-183, 1976.
- 28) 谷田一三 : 水生昆虫「ミティゲーション」 (森本幸裕・亀山章編), pp. 172-189, ソフトサイエンス社, 東京, 2001.
- 29) 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.
- 30) Hershey, A. E., Pastor, J., Peterson, B. J. and Kling, G. W. : Stable isotopes resolve the drift paradox for Baetis mayflies in an Arctic River, *Ecology*, Vol. 74, pp. 2315-2325, 1993.

(2014. 7. 11 受付)

## INFLUENCE OF RIVER HABITAT FRAGMENTATION ON GENETIC DIFFERENTIATION OF THREE INVERTEBRATE SPECIES

Kumiko YAMASAKI, Naoto FUWA, Yo MIYAKE and Kozo WATANABE

This study aimed to elucidate the influence of habitat fragmentation caused by three possible factors, impoundment, check dams and channel drying, on the genetic differentiation of three invertebrate species (*Epeorus latifolium*, *Hydropsyche dilatata*, and *Kamimuria tibialis*). Genetic distances of three species were consistently larger between study sites fragmented by check dams than by an impoundment dam. On the other hand, channel drying did not show clear influence on genetic differentiation. Genetic distance was largest for *Hydropsyche dilatata*, and followed by *Kamimuria tibialis* and *Epeorus latifolium* in all combinations of study sites. This result may be attributed to the interspecific difference in flight abilities among species.