

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

渡辺 幸三* 八重樫 咲子* 菊池 裕二**
 竹門 康弘*** 風間 聡** 大村 達夫*

Evaluation of Dispersal Pattern of *Stenopsyche marmorata* in a Basin-Scale Using DNA Polymorphic Markers

Kozo WATANABE*, Sakiko YAEGASHI*, Yuji KIKUCHI**,
 Yasuhiro TAKEMON***, So KAZAMA** and Tatsuo OMURA*

* Department of Civil and Environmental Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku Univ., Aoba 6-6-06, Sendai 980-8579, Japan

** Graduate School of Environmental studies, Tohoku Univ., Aoba 6-6-06, Sendai 980-8579, Japan

*** Water Resources Research Center, Disaster Prevention Research Institute, Kyoto University, Goka-sho, Uji-shi, 611-0011, Japan

Abstract

Population connectivity of aquatic organisms is an important factor for sustaining the robustness of metapopulation in a basin-scale as well as for interpreting the properties of respective local populations. We examined the genetic structure of 30 *Stenopsyche marmorata* (Tricoptera) local populations in 4 catchments in South-Central Miyagi Prefecture, Japan using AFLP markers, and evaluated their dispersal pattern. We constructed a dendrogram using q, and found that 7 populations in headwater were isolated from another area in the basins. Although previous studies on *S. marmorata* adult flight within streams reported most of the females fly upstream along a watercourse after mating, our results indicated high possibility of non-directional adult dispersal due to wind. The results also suggested a strong potential for DNA polymorphic analysis to enhance understanding of the population connectivity and dispersal patterns of aquatic organisms in a basin scale.

Key words : AFLP, genetic distance, assignment test, colonization cycle, genetic isolation

1. はじめに

流域生態系は、複数の局所生態系(例、上、中、下流)とそれらを繋ぐネットワークから形成されている。流域景観スケールの生態系保全を実現させるためには、局所生態系間の生物の移動分散は重要な要素である。流域内の一部の局所個体群が一時的に縮小・消滅した場合、周辺個体群から個体に移入すると、縮小・消滅からの回復が早い¹⁾。流域内のネットワークが健全であれば、流域生態系全体としての頑健性を高められる可能性がある。

生物の移動分散は局所生態系の自然再生にも関係する。Field of Dreams仮説として知られるIf we build it, they will come (私達が造れば彼らは来る)は、生息環境を再生すれば、かつての生物が戻ってくることを予測している。しかし、実際には、環境を局所的に再生しても生物が戻らないことが多い²⁾。これは、生物相の回復は、その場の環境だけでなく、その他多くの要因で決まるためである^{3,4)}。その最も大きな要因の一つは、生物がその場に移動して来られるのかを決める移動分散である⁵⁾。

流域生態系の頑健性や流域内のどこを自然再生すれば効果的(あるいは非効果的)かを知るために、移入個体はどこから来るのか、そしてどの位遠くから来るのか、という移動分散に関する情報は重要である。従来、水生昆虫の移動分散は野外で移動個体を観察・採取⁶⁻⁸⁾して評価することが多かった。しかし、比較的狭いリーチあるいはセグメントスケールの評価に止まっていた。流域全体に渡る個体追跡は不可能であり、流域景観スケールのネットワークの全容を解明するためには、従来の手法は十分ではない。

この問題を解決するために、同種個体間の遺伝的違いを検出するDNA多型分析技術が有効と考えられる。各局所個体群の対立遺伝子頻度の類似性に基づいて、局所個体群間の遺伝子流動や遺伝距離を評価できる。また、近年では、集団ベースではなく、個体ベースの遺伝的交流の推定手法である割り当て検定の研究も進歩している⁹⁾。これは、各個体の遺伝子型が、どの局所個体群で最も生じやすいかという確率に基づいて、帰属する局所個体群を割り振る手法である。これまで、マイクロサテライトやシークエンシングなどの共有性マーカーを使って淡水魚(Pygmy perch)

* 東北大学大学院工学研究科土木工学専攻 〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-06

** 東北大学大学院環境科学研究科 〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-06

*** 京都大学防災研究所水資源研究センター 〒611-0011 京都府宇治市五カ庄官有地

の割り当て検定は行われているが¹⁰⁾、水生昆虫ではまだ行われていない。また、一度に多くの遺伝子座を解析できる Amplified Fragment Length Polymorphism マーカーの DNA 多型データからの割り当て検定を可能にする手法が開発され、その有用性が示されているが¹¹⁾、その適用は、陸上生物を含めて非常に少ない。

以上背景より、本研究では、宮城県中南部地域において日本を代表する大型水生昆虫のヒゲナガカワトビケラ (*Stenopsyche marmorata*) 地域個体群の AFLP 解析を行い、局所個体群間の移動分散パターンの現状を把握するとともに水生昆虫の DNA 多型データを用いた遺伝子解析の有用性を検討した。

2. 方 法

2.1 調査地点

2006 年 9 月 19 日から 10 月 24 日にかけて、宮城県中南部地域において互いに隣接する 6 水系の 73 地点で河川底生動物を採取した。この地域には 5 つの貯水ダム（釜房、大倉、七北田、樽水、惣の関ダム）と 1 つの自然沼（斉勝沼）がある（Table 1, Fig. 1）。4 水系で最も流域面積が広い名取川水系（=939km²）は、幹川流路延長は 55.0km で、奥羽山脈を源として、丘陵地、仙台平野の順に流下して太平洋へ注ぐ。2 番目に大きな七北田水系（=229km²）も奥羽山脈を源として太平洋まで流下する。他の 2 水系は、標高が比較的低い丘陵地を源としている。

2.2 対象生物

ヒゲナガカワトビケラの幼虫は日本の河川の石礫底に

広く分布し、しばしば瀬における優占種となる。幼虫の摂食機能群は、礫間に分泌糸で作った巣網を張って営巣し、巣網にかかるセストンを摂食する濾過摂食者に分類される。交尾後、多くの雌成虫は、河川に沿って上流方向に水面すれすれ、あるいは水面からおよそ 30cm の高さを 3m・s⁻¹ 程度の速度で遡上飛行し、上流で水中の礫に産卵する^{6, 12)}。成虫の遡上飛行によって、幼虫の流下が補われ、一定の分布域が保たれるコロニゼーションサイクル^{13, 14)}を有する種として知られる。Watanabe ら¹⁵⁾は湛水面積が異なる 6 つのダム湖の上下流局所集団間の遺伝距離を調べ、湛水面積 3.3km² 以上の 2 つのダム湖でコロニゼーションサイクルが阻害されていたことを報告している。

2.3 サンプルング

コドラード付きサーバーネット（30cm×30cm、メッシュサイズ：250μm）を用いて、各地点内でランダムに選んだ 10 ポイントで個体群密度を調べた。定量調査の他に、DNA 多型検出のために確保するために、各地点で 20 個体の幼虫をキックネット採取した。ただし、20 個体採取できなかった地点もあった（Table 1）。採取個体は 99.5% エタノールで固定し、実験室で実体顕微鏡を使って種を同定した。生物採取の他、各地点の川幅、水深、流速も調査した。水深は各地点の瀬でランダムに選んだ 20 ポイントで計測した。流速は同 20 ポイントで、水面から水深 40% の流速を電磁流速計で計測した。川幅は右岸と左岸の水際線の距離を、流下方向に 30m ごとに巻き尺で 10 回測定した。

2.4 AFLP 分析

AFLP 分析は DNA を制限酵素で断片化し、その中から

Table 1 Altitude, water distance from river mouth, sample size of AFLP analysis, population density, genetic diversity (%P, H_{exp} , π), and the proportion of individuals assigned to their capture site, and to another sampled site. Percentage of migrants is ratio of number of individuals at each site that was not assigned to capture sites.

Site	Altitude (m)	Distance (km)	Size	Density (/m ²)	Genetic diversity			Number of assigned individuals		% Migrants
					%P	H_{exp}	π	Capture site	Another site	
1	134	31	19	1.1	37.7	0.230	0.0361	6	13	68
2	264	44	20	1.1	29.1	0.192	0.0296	12	8	40
3	154	33	20	23.3	43.6	0.232	0.0354	1	19	95
4	50	26	20	33.3	42.7	0.238	0.0364	3	17	85
5	66	29	20	1.1	46.4	0.276	0.0381	11	9	45
6	24	15	18	5.6	36.4	0.241	0.0358	5	13	72
7	15	14	20	3.3	41.4	0.241	0.0394	12	8	40
8	260	44	18	3.7	45.5	0.239	0.0378	4	14	78
9	310	44	20	1.1	28.2	0.204	0.0381	16	4	20
10	200	40	20	4.4	36.4	0.231	0.0395	11	9	45
11	128	30	20	1.1	43.2	0.252	0.0384	4	16	80
12	110	28	20	5.6	37.7	0.222	0.0317	6	14	70
13	74	22	18	1.1	26.4	0.190	0.0399	6	12	67
14	40	19	20	11.1	36.4	0.210	0.0445	2	18	90
15	20	12	20	21.1	37.7	0.211	0.0381	1	19	95
16	384	47	19	1.1	38.6	0.199	0.0303	15	4	21
17	199	33	20	3.3	36.4	0.222	0.0412	3	17	85
18	349	46	18	5.6	42.7	0.285	0.0360	13	5	28
19	275	41	19	1.1	31.8	0.213	0.0434	10	9	47
20	245	42	20	1.1	30.5	0.201	0.0331	5	15	75
21	165	33	16	5.6	27.3	0.193	0.0333	1	15	94
22	168	34	19	12.2	41.4	0.228	0.0417	1	18	95
23	99	26	15	1.1	34.1	0.249	0.0439	7	8	53
24	188	29	20	1.1	44.1	0.247	0.0367	11	9	45
25	63	22	16	2.2	32.3	0.223	0.0387	4	12	75
26	43	16	18	1.1	43.2	0.247	0.0570	5	13	72
27	8	8	20	1.1	30.0	0.186	0.0369	9	11	55
28	60	15	20	1.1	27.3	0.186	0.0328	12	8	40
29	4	20	18	2.2	45.5	0.310	0.0422	2	16	89
30	2	15	20	18.9	44.5	0.263	0.0407	7	13	65

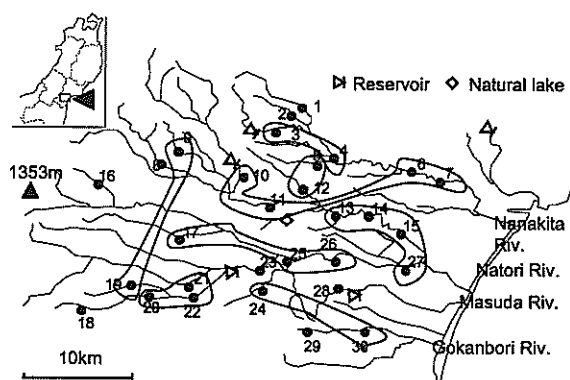


Fig. 1 30 study sites in south-central Miyagi prefecture where *Stenopsyche marmorata* were collected. Enclosed area indicates geographic distribution of genetic groups of *Stenopsyche marmorata* populations. Grouping was based on UPGMA dendrogram in Fig. 2 ($\theta < 0.05$).

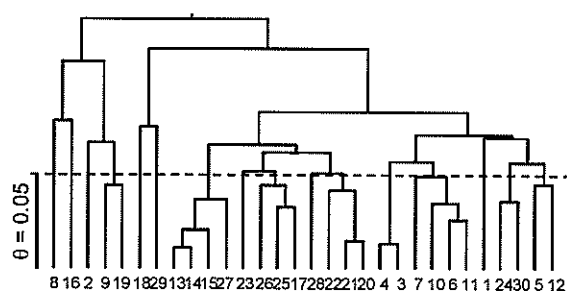


Fig. 2 UPGMA dendrogram of study sites based on genetic distance (θ). Numbers correspond to those in Fig. 1 and Table 1.

特定の断片を選択的にPCR増幅して多型を検出する手法である¹⁶⁾。AFLP分析に使った試料数は、平均19.0個体/地点である(全試料=571個体)。各幼虫個体からDNAをフェノール抽出し、既報¹⁷⁾に従ってAFLP Plant Mapping Kit (Applied Biosystems) によるAFLP分析を行った。DNA断片の2次選択のプライマーペアには、キットに含まれる延べ64組の中で、事前実験で最も多くのフラグメントを検出した3組を使用した。これら3組の選択塩基配列は、それぞれEcoRI側がACA, ACG, AAC, MseI側がCAC, CCT, CAGである。PCR産物を、ABI PRISM® 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を使って、塩基長ごとに分離した。フラグメント解析にはソフトウェアGene Mapper (Applied Biosystems) を使用した。

2.5 データ解析

フラグメント波形データを、各遺伝子座においてピークが検出された場合を1、されなかった場合を0とした1-0データに変換した。全個体の5%~95%の個体でピークが検出された遺伝子座を多型遺伝子座とした。全サンプルから計220遺伝子座が検出され、うち93が多型遺伝子座だった。ハーディ・ワインベルグ平衡の仮定の下、 i 番目の多型遺伝子座の劣性遺伝子頻度(q_i)をLynchら¹⁸⁾の方法で算出した。優性遺伝子頻度(p_i)は、 $p_i = 1 - q_i$ より算出した。

地点間の遺伝距離を θ で評価した¹⁹⁾。 θ は固定指数 F_{st} と同義で、ある遺伝子座で、全集団から任意に取られた2つの遺伝子が異なる確率と各分集団から任意に取られた2つの遺伝子が異なる確率の比を表す。 θ が大きい地点間ほど遺伝的分化が大きいことを表す。また、地点間の移住速度 Nm (個体数/世代)を $\theta = 1/(4Nm + 1)$ から求めた¹⁹⁾。 θ を連関測度とするUPGMAクラスタリングをPHYLIP 3.6で行い、30地点の系統樹を作成した。Wright²⁰⁾の遺伝的分化

の4段階分類で、最も分化が小さい分類の $\theta < 0.05$ となった地点間をグルーピングした。地点間の θ と直線距離および河川距離の相関をArlequin v 2.0²¹⁾を使って、Mantel検定で調べた。河川距離に関する相関分析には同水系内の地点間の距離データのみを使用した。

AFLPOP v 1.1¹¹⁾による割り当て検定により、各個体の帰属地点を推定した。対象個体が地点 X に帰属する尤度 L_x

$$L_x = \prod_{j \in S_j} f_{j,x} \prod_{k \in S_A} (1 - f_{k,x})$$

をすべての調査地点($X=1, \dots, 30$)について求め、 L_x を最大にした地点 X を帰属地点とした。ここで、 $f_{j,x}$ と $f_{k,x}$ は、遺伝子座 j , k において、地点 X の全個体の中でピークが検出された個体の割合を表す。 S_j は対象個体のピークが検出された遺伝子座の集合、 S_A はピークが検出されなかった遺伝子座の集合である。全571個体の帰属地点を決定し、各地点で採取地点以外に帰属した個体の割合を、移入個体の割合(% Migrants)とした。流域内の地域個体群は、移動個体の供給が卓越するソースと受け入れが卓越するシンクに分類される。% Migrantsが高い地点ほどシンクの性質をもつと考えられる。

各地点の遺伝的多様性を、多型遺伝子座の割合(%P)、平均ヘテロ接合体(H_{exp})、塩基多様度(π)で評価した。%Pは、全遺伝子座数に対する多型遺伝子座数の割合(%)である。 H_{exp} は i を多型遺伝子座、 r を多型遺伝子座の総数とした時、 $H_{exp} = (1/r) \sum 2p_i q_i$ で算出される。塩基多様度 π は集団内から任意に取り出した2つの遺伝子間で異なる塩基の割合の期待値である。Innanら²²⁾のAFLPデータから π を求めるソフトウェアで計算した。遺伝的多様性(%P, H_{exp} , π)、個体群密度、そして5項目の環境変数(標高、河口からの距離、河川次数、平均川幅、平均流速)の相関をスピアマンの順位相関検定で調べた。

3. 結果

3.1 遺伝距離

地点間の θ は0.010~0.165(平均=0.081)の範囲で測定された。 θ に基づく系統樹(Fig. 2)の結果、源流に位置するSt.2, 8, 9, 16, 18, 19, 29の7地点が他の23地点と大きく異なる遺伝構造を有していた(Fig. 1)。St.9と19の関係を除いて、7地点間の遺伝的類似性は低く($\theta > 0.05$)、互いに独立した遺伝構造を有した。その他23地点は2つの大きなグループ(Fig. 2の中央St.13~20と右側St.4~12)に分かれ、St.13~20のグループは全て名取川水系の地点、St.13~20のグループはSt.10, 11, 24以外は他水系の地点で構成されていた。系統樹の中で、 $\theta < 0.05$ となる高い遺伝的類似性を示した組み合わせは、河川で連結された地点が多かった(St.3-4, St.6-7, St.10-11, St.13-14-15-27, St.17-25-26, St.20-22)(Fig. 1, 2)。ただし、地理的に近い異なる河川の地点間や(例, St.5-12, St.20-21)、地理的に遠い地点間(St.6-11, St.9-19, St.24-30)の組み合わせもあった。河道の流下方向に連なる地点間の θ と河川距離および直線距離との相関を調べた結果、共に有意な正の相関があったが、直線距離の相関の方が強かった(Fig. 3(A))。同一水系内で流下方向に連なっていない地点間、つまり、下流側で合流する二つの河道に分かれた地点間では、直線距離のみ有意な相関があった(Fig. 3(B))。地点間の Nm は1.3~25.0個体/世代(平均=3.5個体/世代)であった。 Nm と直

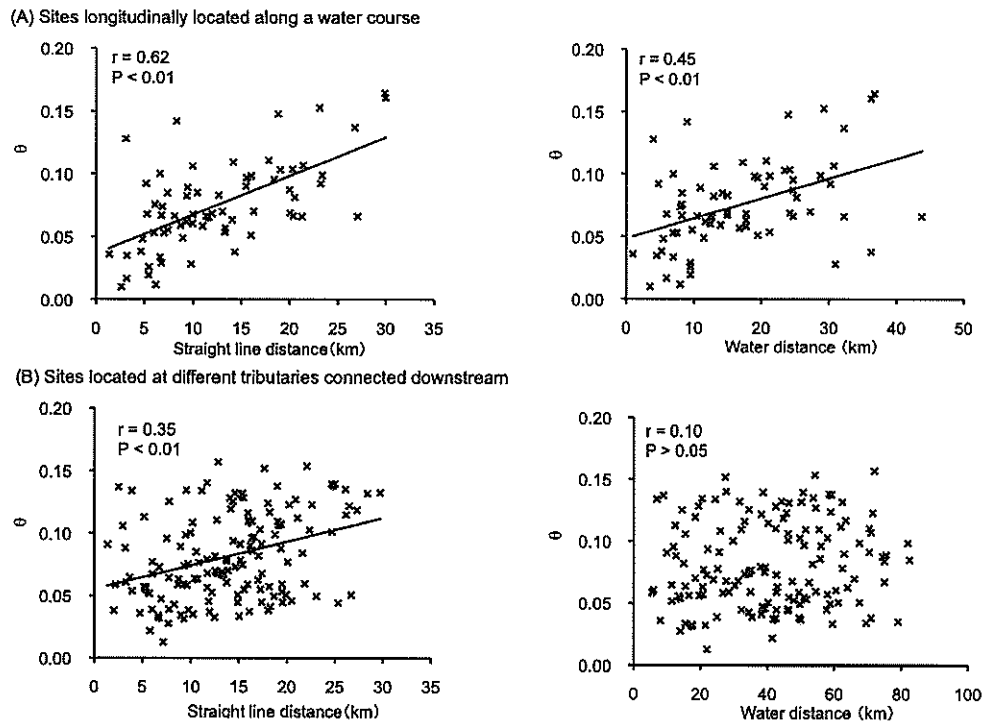


Fig. 3 Relations of genetic distance to geographic distances in *Stenopsyche marmorata*.

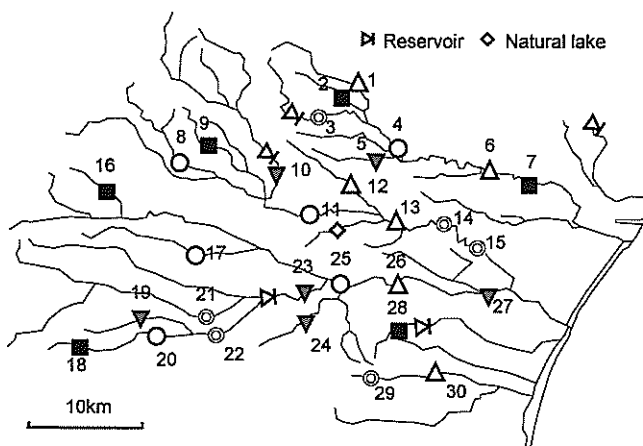


Fig. 4 Geographically distribution of proportion of migrants (% Migrants) in study sites. $\odot$: very high (% Migrants = 85–95 %); $\circ$: high (72–85 %); $\triangle$: moderate (55–72 %); ∇ : low (40–72 %); $\blacksquare$: very low (20–40 %).

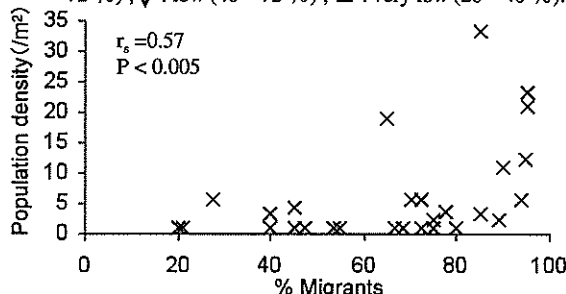


Fig. 5 Relationship between population density and proportion of migrants (% Migrants).

線距離 x (km) の関係を指数関数モデルに適用してパラメータを推定した結果、 $Nm = 4.523e^{-0.023x}$ と推定された (ANOVA, $P < 0.01$)。

3.2 割り当て検定

割り当て検定の結果、%Migrantsは20～95% (平均＝64%) となった (Table 1)。全30地点の%Migrantsの出現

頻度を基に、20、40、60、80%のパーセンタイル値を境界として、%Migrantsのレベルを地図上に5段階表示した (Fig. 4)。%Migrantsが非常に低かった6地点は、St.7 (七北田川下流) を除き、いずれも源流に位置していた (St. 2, 9, 16, 18, 28)。%Migrantsは個体群密度、河川次数、川幅と有意な正の相関、そして標高と有意な負の相関があった (Table 2)。%Migrantsは個体群密度と特に強い正の相関を示した (Fig. 5)。%Migrantsと遺伝的多様性 (%P, H_{exp} , π) の間に有意な相関はなかった (Table 2)。ダム上下流地点の%Migrantsは、高い場合と低い場合の双方のケースが見られた。

3.3 遺伝的多様性

各地点の多型遺伝子座の割合 (%P)、平均ヘテロ接合度 (H_{exp})、塩基多様度 (π) の結果をTable 1に示した。%Pと H_{exp} 、そして H_{exp} と π の間には有意な相関があったが、%Pと π の間に有意な相関はなかった (Table 2)。%Pは川幅と有意な負の相関、 π は標高と有意な負の相関があった。ダム上下流地点の遺伝的多様性 (%P, H_{exp} , π) は、高くなった場合と低くなった場合の双方が観察された。

4. 考 察

河川の水生昆虫は幼虫期の流下と成虫期の遡上飛行によって分布域を維持するため、あるいは生活史のステージによって資源要求が異なるために河道の上下流方向に移住をするコロニゼーションサイクルが知られている^{13, 14}。ヒゲナガカワトビケラの雌では顕著な遡上飛行が報告されており⁶、とくに越冬世代の成虫では遡上飛行の傾向が明瞭であり1世代で平均2.9km上流へ移動すると推定されている²³。また、孵化したての1齢幼虫はたえず水面近くまで泳ぎ出る行動が観察されており²⁴、河道の上下流間の遺伝子流動が起こりやすいことが期待される。移住速度Nmと直線距離の関係を表す指数関数モデルは、2.9km離れ

Table 2 Observational ranges of percentage of migrants, genetic diversity (%P, H_{exp} , π), population density, and environmental variables among study sites ($n=30$), and spearman's rank correlation coefficient between these observed variables. Significant correlations are indicated with $**=P < 0.01$, $*=P < 0.05$.

	Observations		Spearman's rank correlation coefficient				
	Average	min - max	% Migrants	%P	H_{exp}	π	Population density
% Migrants	64	20 - 95	-				
% P	37	26 - 46	0.19	-			
H_{exp}	0.23	0.19 - 0.31	0.05	0.81 **	-		
π	0.038	0.030 - 0.057	0.22	0.17	0.35 *	-	
Population density (m^{-2})	5.9	1.1 - 33.3	0.57 **	0.30	0.20	0.02	-
Altitude(m)	137	2 - 384	-0.32 *	-0.17	-0.21	-0.32 *	-0.25
Distance from mouth (km)	28	8 - 47	-0.22	-0.03	-0.09	-0.30	-0.16
Stream order	3.0	1 - 5	0.35 *	-0.21	-0.09	0.28	0.17
Channel width(m)	17	2 - 58	0.35 *	-0.33 *	-0.27	0.23	0.19
Current velocity($m \cdot s^{-1}$)	0.61	0.24 - 1.29	0.10	0.02	0.00	-0.12	0.17

た地点間では世代当たり4.2個体が移住することを示している。観察された個体群密度から各分集団の生息個体数は大きいことが推測されるが、わずかな個体の移住により、分集団間の遺伝子流動が起きていることが推測された。本研究で得られた系統樹の中で、高い遺伝的類似性を示した地点の多くは、河道方向で隣接する組み合わせであった。これらの結果は、幼虫流下と雌の産卵遡上飛行によるコロニゼーションサイクルが成立する河道方向で遺伝子流動が起こりやすいという仮説に矛盾しない。

その一方で、異なる河川間で地理的に近いSt.5と12やSt.20と21間でも遺伝的に類似した結果が得られた。また、流下方向に連なる地点間の遺伝距離 θ は、河川距離よりも直線距離と強い相関を示した。これらの事実は、河道方向以外にも、風分散などにより方向性を持たない成虫の移動が起きている可能性を示している。また、下流側で合流する二つの河道に分かれた地点間の θ は、河川距離とは有意な相関がなかったが、直線距離とは有意な相関があった。この結果は、源流から一旦下流まで下ってまた遡る経路を辿らずに、山をまたいだ谷間の遺伝的交流があることを示唆している。谷間の強い交流が推測された地点間は標高の高低差が小さいことが予想されたが、St.5と12やSt.20と21間の高低差(44, 80m)は他の地点間と大きな違いはなかった。これは、谷間に尾根があっても交流の障壁になりにくいことを示している。同じ河川の上下流の2地点間よりも別の河川の峠で隔てられた2地点間の遺伝距離の方が小さいという事例は、ナミヒラタカゲロウ(*Epeorus ikanonis*)でも報告されている²⁵⁾。これは、ナミヒラタカゲロウの成虫が遡上飛行をせず、亜成虫が羽化飛行する時に谷風で分散するためと解釈されている。川通しに顕著な遡上飛行をするヒゲナガカワトビケラでも、同様の現象が見出されたことは、水生昆虫の移動分散過程として羽化時の風分散がより一般的な重要性を持つことを示唆している。遺伝的交流の効果としては風分散の方が大きく、遡上飛行はむしろ次世代の生息場選択の役割が大きいかもしれない。

また、地理的に遠い地点間(St.6-11, St.9-19, St.24-30)で見られた高い遺伝的類似性は、地理的に遠い地点間の遺伝子流動が起きている可能性もあるが、地点間の遺伝子頻度が偶然類似した可能性も考える必要がある。遺伝子流動が全くない地点間でも、遺伝的浮動の影響により、偶然、遺伝子頻度が類似する可能性がある。本研究のように、膨

大な地点の組み合わせ(=435組)で遺伝距離を解析する場合、この偶然の事象が起こる可能性も考える必要がある。

移入個体の割合(% Migrants)と河川次数、川幅、標高との相関は、流域内で上流に位置する地点ほど移入個体の割合が低くなる傾向を示している(Table 2)。生息域の上流端では、上流から漂流してくる幼虫個体の移入は小さいと考えられる。また、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あるとこれを飛び越えずに迂回する習性が知られており、支川の合流点の本川上流側にビニールシート(幅1.8m)を横断方向に張った実験の結果、支川に遡上する個体数が倍増する現象が報告されている²⁶⁾。このような習性から、樹冠、倒木、落差工など河川横断物が河道を遮っていると、成虫の遡上飛行を阻害すると考えられる。しかも、この可能性は、川幅が狭く溪畔林が河道に迫っている上流域の方が中下流域に比べて高いと予想される。本研究で示された源流域の移入個体の少なさは、一時的に源流の地域個体群が消滅あるいは縮小した後、周辺からの個体の移入による早い回復が期待しにくいことを示している。この源流域が流域内の局所個体群間のネットワークから疎外されやすい性質を踏まえ、源流地域には特別な配慮が必要と考えられる。また、St.7やSt.28は樹形図では中下流域の地域個体群と類似した遺伝構造を有していたが% Migrantsは非常に低かった。これら地点は、近年の継続的な移入ではなく、過去の大きなイベントで地域個体群が縮小した後に移入した中下流域からの個体が、現在の地域個体群の遺伝構造に影響している可能性がある。

系統樹の結果から、源流に位置する7地点は他とは異なる遺伝構造を有することが明らかになった。これは、流域ネットワークから疎外された源流域は周辺から個体が移入しにくいと、独自の遺伝構造が形成されたためと考えられる。源流個体群の回復力の低さへの配慮の観点だけではなく、流域全体に多様な遺伝子を残すという観点からも、特殊な遺伝構造が形成された源流の地域個体群を消滅させないことが保全戦略上重要と考えられる。

移入個体の割合(% Migrants)は地点間で大きく異なり、個体群密度が高い地点ほどが高まる傾向があった(Fig. 5)。ヒゲナガカワトビケラの生息適正度が高い環境が整った地点は、他地点から移入した個体が定着しやすいため、移入個体の割合と共に個体群密度が高まった可能性がある。

しかし、好適な環境であればその地点で成長した個体数も多いはずなのになぜ移入個体の割合が高いのかという疑問は残る。個体群密度が非常に高かった地点では、他地点からの移入によってその場の環境容量を超えた個体群密度に至った可能性も考えられる。

% Migrantsが高い地点ほど、他地点からの遺伝子流動が大きいと仮定すると、地点内の遺伝的多様性が高まることが予想された。ところが、移入個体の割合と遺伝的多様性の間の相関は有意ではなかった (Table 2)。移入個体の帰属集団の遺伝構造が、移入先の集団と類似する場合、類似した遺伝子が地点間で交換されるだけなので、遺伝的多様性は増加しにくい。例えば、St.14と15は移入個体の割合が高いが、移入個体の帰属集団は遺伝的に類似しているSt.13, 14, 15, 27に限られていた (Fig. 4)。この結果、移入個体の割合が高いにも関わらず、St.14と15の遺伝的多様性は低かったものと考えられる。地点内の遺伝的多様性を高めるためには、ただ個体が移入するのではなく、遺伝構造が大きく異なっている地点から移入する必要があると考えられる。また、このことは、局所個体群内の遺伝的多様性の形成機構を理解してその保全を図るためには、その場の環境と遺伝的多様性の関係を評価するだけではなく、流域内のネットワークが正しく評価される必要があることを示している。

5. おわりに

本研究では、AFLPマーカーを用いて、宮城県中南部地域のヒゲナガカワトビケラ局所集団間の移動分散パターンを評価した。現在、河川生態系の保全は、多自然川づくりや自然再生事業に代表されるように、局所的な環境を改善する地先の環境整備に重点が置かれている。また、生物モニタリングも、地点ごとの生息状況を中心に評価されており、地点間のネットワークの観点から、流域をトータルに評価する技術の開発が遅れていると言わざるを得ない。その意味で、本研究で有用性が示された流域内のネットワーク評価技術は、従来の地先レベルの評価から、流域レベルのマクロな生態系評価を実現するための技術として期待される。

謝 辞

本研究は、国土交通省建設技術研究開発補助金、科学研究費補助金 (特別研究員奨励費)、財団法人リバーフロント整備センターから資金的援助を受けた。また、東北大学大学院農学研究科の陶山佳久博士と富田基史氏からAFLP分析の技術的支援を賜った。謝意を表します。

(原稿受付 2008年12月1日)

(原稿受理 2009年 2月6日)

参 考 文 献

- 1) Watanabe, K., Yoshimura, C. and Omura, T. (2005) Stochastic model for recovery prediction of macroinvertebrates following a pulse-disturbance in river, *Ecological Modelling*, **189**, 396-412.
- 2) Palmer, M.A., Ambrose, R.F. and Poff, L.N. (1997) Ecological theory and community restoration ecology. *Restoration Ecology*, **5**, 291-300.
- 3) Bond, N.R. and Lake, P.S. (2003) Local habitat restoration in streams: constraints on the effectiveness of restoration for stream biota. *Ecological Management and Restoration*, **4**, 193-198.
- 4) Lake, P.S., Bond, N. and Reich, P. (2007) Linking ecological theory with stream restoration. *Freshwater Biology*, **52**, 597-615.
- 5) Hughes, J. (2007) Constraints on recovery: using molecular methods to study connectivity of aquatic biota in rivers and streams, *Freshwater Biology*, **52**, 616-631.
- 6) Nishimura, N. (1967) Ecological studies on the net-spinning caddisfly, *Stenopsyche griseipennis* McLachlan II. Upstream-migration and determination of flight distance, *Mushi*, **40**, 39-46.
- 7) Macneale, K.H., Peckarsky, B.L. and Likens, G.E. (2004) Contradictory results from different methods for measuring direction of insect flight, *Freshwater Biology*, **49**, 1260-1268.
- 8) Winterbourn, M.J. and Crowe, A.L.M. (2001) Flight activity of insects along a mountain stream: is directional flight adaptive? *Freshwater Biology*, **46**, 1479-1489.
- 9) Davies, N., Villablanca, F.X. and Roderick, G.K. (1999) Determining the source of individuals: multilocus genotyping in nonequilibrium population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, **14**, 17-21.
- 10) Cook, B.D., Bunn, S.E. and Hughes, J.M. (2007) Molecular genetic and stable isotope signatures reveal complementary patterns of population connectivity in the regionally vulnerable southern pygmy perch (*Nannoperca australis*). *Biological Conservation*, **138**, 60-72.
- 11) Duchesne, P. and Bernatchez, L. (2002) AFLPOP: A computer program for simulated and real population allocation based on AFLP data. *Molecular Ecology Notes*, **3**, 380-383.
- 12) 青谷晃吉, 横山宣雄 (1987) 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, *日本陸水学会誌*, **48**, 41-53.
- 13) Waters, T. F. (1965) Interpretation of invertebrate drift in streams. *Ecology*, **46**, 327-334.
- 14) Muller, K. (1982) The colonization cycle of freshwater insects. *Oecologia*, **52**, 202-207.
- 15) Watanabe, K. and Omura, T. (2007) Relationship between reservoir size and genetic differentiation of the stream caddisfly *Stenopsyche marmorata*, *Biological Conservation*, **136**, 203-211.
- 16) Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijmans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. (1992) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting, *Nucleic Acids Research*, **23**, 4407-4414.
- 17) 渡辺幸三, 菊池祐二, 風間聡, 大村達夫 (2008) 東日本の3水系に生息するヒゲナガカワトビケラの遺伝的多様性の空間階層構造, *水環境学会誌*, **31**, 31-37.
- 18) Lynch, M. and Milligan, B. G. (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, **3**, 91-99.
- 19) Weir, B.S. and Cockerham, C.C. (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- 20) Wright, S. (1978) *Evolution and the Genetics of populations*. Volume 4. Variability within and among Natural populations. University of Chicago Press, Chicago.
- 21) Schneider, S., Roessli, D. and Excoffier, L. (2000) ARLEQUIN version 2.000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biomery Laboratory, University of Geneva, Switzerland, Geneva, Switzerland.
- 22) Innan, H., Terauchi, R., Kahl, G. and Tajima, F. (1999) A method for estimating nucleotide diversity from AFLP data. *Genetics*, **151**, 1157-1164.
- 23) 西村登 (1981) 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. *Kontyu*, Tokyo, **49**, 192-204.
- 24) 西村登 (1978) ヒゲナガカワトビケラ雑記 2. 卵の形態および1齢幼虫の形態と行動, *兵庫生物*, **7**, 172-173.
- 25) Takemon, Y., Kanayama, H., Tanida, K., Baik, S.H., Ishigami, M. and Kato, M. (1998) RAPD analysis on subpopulations of a mayfly species, *Epeorus ikanonis* (Heptageniidae: Ephemeroptera), *Viva Origino*, **26**, 283-292.
- 26) 西村登 (1976) 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**, 179-183.