

RAPD 法による *Hydropsyche orientalis* (Hydropsychidae: Trichoptera) の遺伝的多様性に 基づく河川環境評価 - 宮城県名取川水系を例として -

小川原 享 志* 渡 辺 幸 三*
 吉 村 千 洋* 大 村 達 夫*

Evaluation of River Environment Based on the Genetic Diversity of *Hydropsyche orientalis* (Hydropsychidae: Trichoptera) Using RAPD Analysis -A Case Study of the Natori River in Miyagi Prefecture-

Takashi OGAWARA*, Kozo WATANABE*
 Chihiro YOSHIMURA* and Tatsuo OMURA*

* Department of Civil Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku University, Aoba 06, Aoba-ku, Sendai 980-8579, Japan

Abstract

It has been reported that several floras and faunas in rivers are genetically impaired by artificial structures such as dams and cities because of the fragmentation and the reduced heterogeneity of their habitats. However, the investigations on genetic diversities of Trichoptera in rivers have been few to date. In this study, therefore, the genetic investigation of *Hydropsyche orientalis* was conducted at 13 stations in the Natori River System in Miyagi Prefecture, Japan from Dec. 2000 to May 2001. The Okura and Kamafusa dams, and the Sendai urban area are located upstream and downstream of the rivers. The DNA polymorphisms of *Hydropsyche orientalis* collected at the 13 stations were analyzed with the appropriate primer, OPA-11, for calculating the genetic diversity index. The result of statistical analysis of the index showed a significantly higher level of genetic diversity of *Hydropsyche orientalis* in the natural area than in the areas around the dams. Moreover, the effect of urbanization on its genetic diversity was indicated based on the estimation of its migration from the results of the cluster analysis of the DNA polymorphisms.

Key words : genetic diversity, DNA polymorphism, *Hydropsyche orientalis*, cluster analysis, river environment

1. はじめに

近年、河川管理における生態系保全の重要性が高まっており、底生動物による生態系のモニタリング評価が各河川で行われるようになった。この底生動物を用いた生態系評価では、生物多様性の把握が主な目的となっている。現在、自然環境において生物多様性が急速に減少しつつあると言われており¹⁾、このような生物多様性の監視は今後も継続していく必要がある。

ところで、生物多様性は一般的に「遺伝子」、「種・個体群」、「群集・生態系」、「景観」の順にこれらの階層から構

成される概念とされている²⁾。従来行われてきた底生動物の多様性評価では、ただ1つの階層に過ぎない「種・個体群」にのみ着目した評価が行われてきたが、生物多様性を的確に把握し、確実に保全するためにはより多くの階層からの評価が必要とされる。1980年代以降の分子生物学的手法の発展と共に、様々な生物種で「遺伝子」の多様性を表す遺伝的多様性の評価が行われるようになってきた³⁻⁵⁾。河川底生動物の中でもカゲロウ目の遺伝的多様性の評価に関する研究はいくつか報告されている^{6,7)}が、トビケラ目に着目した研究、さらにはそれらから河川環境の評価を行った研究はほとんどない。

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

遺伝的多様性はDNAの個体間差異であるDNA多型から求めることができ、「遺伝子」の上位階層である「種・個体群」、「群集・生態系」、「景観」の多様性につながる欠くことのできない概念である。このDNA多型および遺伝的多様性を調べることによる利点は以下のように考えられる。

- ・分類学的に同属とみなされている各種の進化過程（祖先からの分岐）の類推
- ・「種・個体群」レベルからの評価が難しい環境から長年受け続けた影響を対象とした生態系評価
- ・遺伝的多様性が低い個体群では近親交配による有害遺伝子の発現確率が高まったり、環境変動に適応可能な遺伝子を持つ確率が低くなるために種の絶滅が起こり易くなると言われており⁹⁾、絶滅を未然に防ぐ監視指標としての役割への期待

以上のように、遺伝的多様性からは従来の手法では評価し得ない様々な側面が推測できるため、生態系評価指標の一つとして今後更に活用していく必要があると考えられる。

本研究ではこれまで河川底生動物のモニタリング評価でほとんど行われていなかった分子生物学的手法に着目し、宮城県名取川水系において上流から下流に広く分布している *Hydropsyche orientalis* (ウルマーシマトビケラ) の遺伝的多様性からの河川環境評価を目的とした研究を行った。また、地域間における個体群の遺伝的な類似性から集団間類似度が求まり、個体群間の遺伝的交流の推定も可能になる。したがって、その結果を利用して、*Hydropsyche orientalis* の地域間交流の推定も併せて行った。

2. 方法

2.1 調査地点

名取川水系に分布する底生動物の各地域における遺伝的多様性や地域間交流を調べるために、水系内の上流から下流に渡る各地域を代表する13地点で底生動物のサンプリングを行った。名取川水系は、宮城県のほぼ中央に位置する一級河川で、その水源を宮城、山形県境付近の神室岳に発し、奥羽山脈から流れる碓氷川、広瀬川等と合流し、名取市閘上で太平洋に注いでいる、流域面積は939km²、幹

川流路総延長は55.0kmである。名取川の本流の支流の一つである広瀬川は人口約100万人（平成11年）¹⁰⁾を有する仙台市の市街地を流下する都市河川である。Fig.1に調査地点の概略を示す。調査地点は、上流から下流まで可能な限り均等に選定した。また、大倉ダム、釜房ダム近辺では、ダムの影響を見るためにダム湖の上、下流側にサンプリング地点を設置した。

Hydropsyche orientalis のサンプリングはSt.1, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13の合計9地点では2000年12月に行い、ダムの上流地点(St.2, 8, 9, 10)の4地点は2001年5月に行った。サンプリング時期および季節が異なっているが、各生物が保有しているDNAがこの短期間で変異しないと推測されたため、これらの合計13地点のサンプルを用いて以降の解析を行った。さらに、サンプリングは全地点とも平瀬で河床が浮き石になっている場所を選んで行い、同一地点においてサーバーネットによって十分な数が得られるまで複数回行った。採取した *Hydropsyche orientalis* は実験室に持ち帰り、実体顕微鏡を用いて同定を行い、その後99.5%エタノールで保存した。同定方法は主として谷田¹⁰⁾に従って行った。

2.2 DNA多型の検出方法

DNA多型の検出方法はDNAの抽出、PCR法によるDNAの増幅、電気泳動法によるDNA多型の検出という3つの過程に分けられる。以下において、これらの過程についてそれぞれ説明する。

1) DNA抽出¹¹⁾: 保存していた *Hydropsyche orientalis* の幼虫からエタノールを十分に除いた後、0.5mlのHMWバッファー中でサンプルをよくすり潰した。その後、10% SDSおよび10mg・ml⁻¹プロテイナーゼK溶液をそれぞれ5μlずつ入れ、タンパク質の分解を行い、DNAのフェノール抽出およびエタノール沈殿を行った。得られたペレットを70%エタノールでリンスし、適量のTEに溶解させ、これをサンプルDNAとした。サンプルDNAは-20℃で保存した。

2) PCR法によるDNAの増幅: 本研究では、PCR法に基づいたRAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)

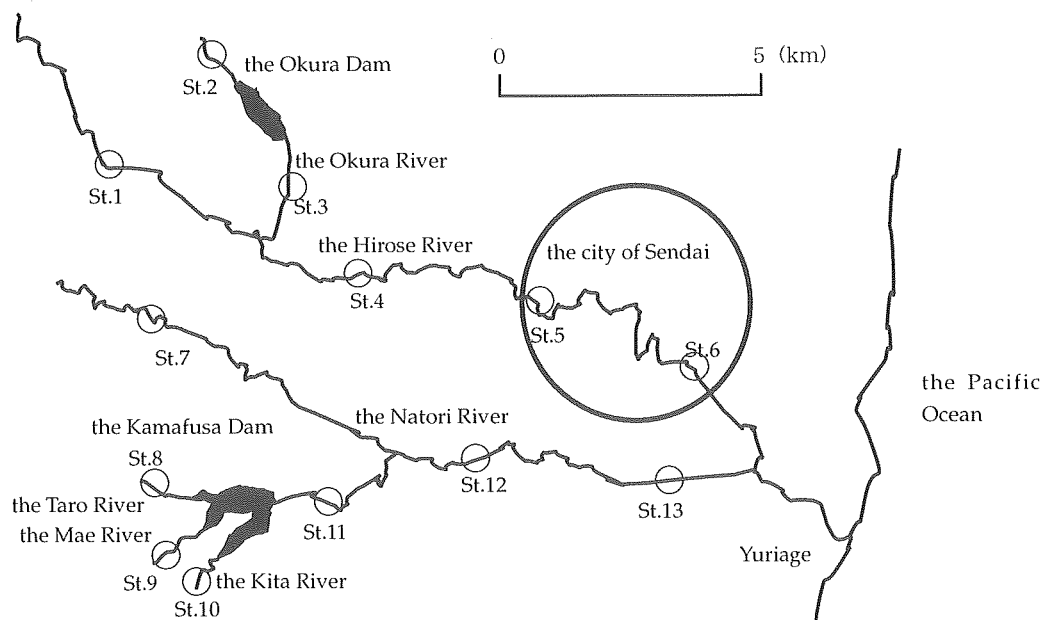


Fig.1 The Natori River System and the sampling stations.

法¹²⁾によるDNAの増幅を行う。PCR法の際に用いたプライマーは、オベロン社のRAPD用ランダムプライマー(Kits A)のうち、*Hydropsyche orientalis*に対してDNA多型を最も良く検出できるプライマーOPA-11(5'-CAATCGCCGT-3')を1種類選んだ。このプライマーの選択に関しては後で詳しく説明する。

3) 電気泳動法によるDNA多型の検出: PCR法により増幅されたDNA断片を、アガロースゲル電気泳動法を用いて増幅断片を長さごとに分離した。分離ゲル濃度は1.5%とし、染色にはエチジウムブロマイドを使用した。分離後のDNA増幅断片は紫外線を照射することにより検出され、断片の分布の状態を撮影した。

4) プライマーの選択: Fig. 2はある1個体の*Hydropsyche orientalis*の抽出DNAに対し、異なる7種類のプライマーを用いたときのDNA増幅断片の分布状態を示している。ここで、(A)は分子量マーカーを示し、(B)~(H)は異なるプライマー(OPA-7~OPA-13)により増幅されたDNA断片を示す。Fig. 2から、同じサンプルDNAおよび同一反応条件(PCR反応の際の温度、サイクル数、時間、サンプルDNA量、プライマー量等)でも異なるプライマーを用いて増幅した場合には、出現するバンドの長さや頻度が変わる様子がわかる。これはPCR段階でのサンプルDNAの増幅効率が原因である。この増幅効率はサンプルDNAに対するプライマーのアニーリング(プライマーとDNAとの相補的な部位での2本鎖形成)効率と関連している。増幅効率が良い場合には、Fig. 2中のレーン(F)のように数多くのバンドが検出されることとなる。本研究では対象種のDNA多型を効率的に検出および比較するために、全ての個体でより多くのDNA増幅断片が検出されたレーン(F)のプライマーOPA-11(5'-CAATCGCCGT-3')を選択した。ほとんどの個体のDNAに関して数多くのバンドが検出されているため、採用したランダムプライマーによる群集内および群集間の遺伝的多様性を比較する解析の信頼性は十分高い。

2.3 遺伝的多様度の算出方法

まず、DNA増幅断片のバンドパターンをバンドが存在する場合を1、存在しない場合を0とした1-0データに変換することで定量化する。次に、得られた1-0データを用いて個体間類似度(S_{xy})¹³⁾を式(1)から算出する。

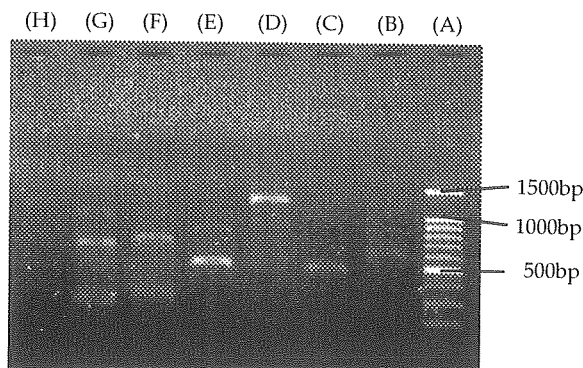


Fig.2 DNA amplification fragment of *Hydropsyche orientalis* by 7 types of primers. The lane (A) shows molecular marker and the lanes (B)-(H) show different distributions of DNA amplification fragments in the case that one individual is employed.

$$S_{xy} = \frac{2n_{xy}}{n_x + n_y} \quad (1)$$

ここで、 n_{xy} は個体x, yが共有している断片数を表し、 n_x , n_y は個体x, yにおける総断片数をそれぞれ表す。次に、個体間類似度(S_{xy})を集団内のすべての2個体間の組み合わせで計算し、それらの平均を取ることで集団内類似度(S)¹³⁾が算出される。

遺伝的多様度(D)は、集団の遺伝的多様性を評価するための指標であり、式(2)のように1と集団内類似度(S)の差によって定義される。

$$D = 1 - S \quad (2)$$

以上の方法で各サンプリング地点の遺伝的多様度を算出した。

2.4 集団間類似度の算出方法

集団間類似度(S_{ij})¹³⁾は、異なる地点に生息する2個体群間の遺伝子の類似性を表す指標である。この集団間類似度は式(3)で表される。

$$S_{ij} = 1 + S'_{ij} - \frac{S_i + S_j}{2} \quad (3)$$

ここで、 S_i , S_j は集団i, jの集団内類似度を表す。 S'_{ij} は異なる集団i, jから選んだそれぞれ1個体ずつから個体間類似度(S_{xy})をすべての組み合わせで求めた平均を表す。

集団間類似度の算出後、1と集団間類似度の差を距離係数としてUPGMA(Un-weighted Pair Group Method of Average)¹⁴⁾によるクラスター分析に基づいた各地点のグループ分けを行い、地域間交流の推定を行った。

3. 結果および考察

3.1 DNA多型検出の結果

DNA多型の検出結果の一例として、St.4における*Hydropsyche orientalis*のDNA増幅断片の電気泳動法による結果をFig.3に示す。ここで、Fig.3中の(a)は分子量マーカー、(b)~(h)はFig.1中のSt.4で採取された*Hydropsyche orientalis*の幼虫1個体ごとのDNA増幅断片の分布の様子を表している。この図からわかるように、*Hydropsyche orientalis*のほとんどの個体において、約1200bpおよび約300bp周辺でDNA増幅断片が検出された。これらのバンドは他の12地点でも概ね検出されていた。しかしながら、他の分子量(1200bpおよび300bp内)では各個体によりDNA増幅断片の分布の様子が異なっており、DNA多型が検出されていたことが確認された。

3.2 名取川水系における遺伝的多様性の評価

Fig.4に各サンプリング地点ごとの遺伝的多様度の結果を示す。ところで、遺伝的多様度は各地点での2個体間の遺伝的な類似性を表す個体間類似度をすべての組み合わせで算出した値の平均値である。この平均値を算出する時に使った個体間類似度の標準偏差を図中の誤差範囲として示している。Table 1に各地点の概要をまとめる。使用したデータは1998年度に行われた水質調査結果^{15, 16)}の年平均値である。Table 1の土地利用の様子および河岸の状態から各河川の下流に進むにしたがって、河川環境が自然の状態から人間の手の加わった環境へと変化している様子がわかる。さらに、水質(DO, T-N, T-P)の値は地点間に差があり、これらの差が水生昆虫の生息状況に影響を与えて

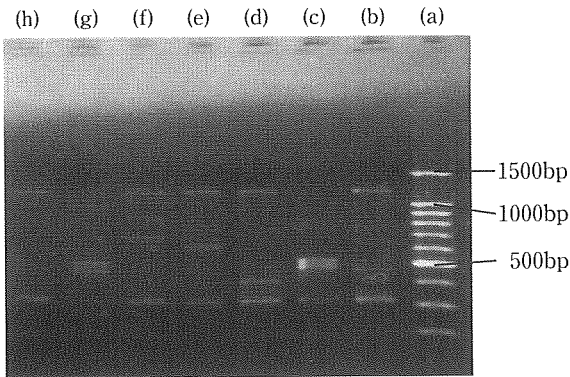


Fig.3 The result of electrophoresis of DNA amplification fragment of *Hydropsyche orientalis* at station 4. The lane (a) shows molecular marker and the lanes (b)-(h) show DNA polymorphisms of this species.

いることも考えられる。Table 1 中の各水質項目と遺伝的多様度との相関関係を調べた。これは、例えば T-P はごく僅かな差で付着藻類等に影響を与えるため、*Hydropsyche orientalis*における生息状況の変化が間接的な影響として遺伝的多様度に作用している可能性が考えられたためである。しかしながら、遺伝子多様度と各水質項

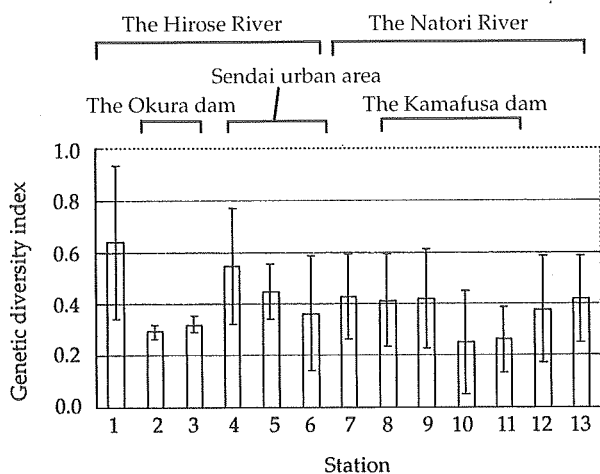


Fig.4 Genetic diversity index at all stations. Error bars indicate standard deviation calculated with similarity indices (equation (1)) between 2 individuals that lived at same stations.

Table 1 Physical and chemical characteristics of each sampling station. All values in this table are the means of monthly data from April 1998 to March 1999.

Station	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Land use	forest			farmland	building land		farmland			forest	building land		
Right bank	cliff		vegetation	gravel	artificial bank	gravel	vegetation			gravel	artificial bank		
Left bank	gravel												
DO [†] (mg/l)	11.0	11.4	11.1	11.5	11.7	12.2	11.0	11.0	11.0	10.9	10.6	11.1	11.4
T-N ^{††} (mg/l)	0.35	0.20	0.24	0.40	0.43	0.49	0.53	0.30	0.76	0.56	0.66	0.61	0.72
T-P ^{†††} (mg/l)	0.023	0.016	0.015	0.037	0.021	0.024	0.019	0.011	0.022	0.019	0.160	0.020	0.020
Discharge (m ³ /s)	0.95	3.34	1.37	5.03	8.21	13.28	2.26	N.M.*			22.83	17.09	

[†]: Dissolved Oxygen, ^{††}: Total Nitrogen, ^{†††}: Total Phosphorus

*: Not Measured

Table 2 The numbers of *Hydropsyche orientalis* sampled for DNA polymorphism analysis at all stations.

Station	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Number of samples	11	10	14	10	8	7	12	9	14	15	15	15	13

目との間に有意な相関関係は得られなかった (F 検定, 有意水準 5%)。したがって、これらの水質項目も遺伝的多様度に直接的な影響を及ぼしていないことが認められた。Table 2 に DNA 多型を検出した *Hydropsyche orientalis* の個体数を地点ごとに示す。Table 2 から、解析に用いた個体数はどの地点においても概ね 10 個体前後であるが、数多く検出されたバンドからの解析により、*Hydropsyche orientalis* の遺伝的多様性および地域間交流の推測は可能であった。*Hydropsyche orientalis* のサンプル数 (Table 2) と遺伝的多様度 (Fig. 4) との相関関係も調べたが、有意な相関関係は認められなかった (F 検定, 有意水準 5%)。したがって、上述した水質項目と同様に各地点のサンプル数が *Hydropsyche orientalis* の遺伝的多様度に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

広瀬川の上流から下流にかけて連続的に位置している St.1, St.4~St.6 において遺伝的多様度の変化を調べた。広瀬川は St.5 付近から St.6 付近の市街地中心部へと流下する。一方、St.1, St.4 は比較的自然河川の形状が保持されている地点である。よって、自然状態から都市化が進んだ状態への河川環境の変化がこれら 4 地点の遺伝子多様度に影響を与えていることが予想されるので、これらの地点間で遺伝子多様度の統計学的検定 (Welch 法) を行った。その結果、St.1 と St.4、および St.5 と St.6 の間にはそれぞれ有意差はなかったが、St.4 と St.5 の間を境として、その上下流において有意差が認められた (Table 3)。すなわち、自然状態から都市化への河川環境の移行部が特に遺伝的多様度に影響を与えていることがわかった。河川環境の都市化は堤防の設置および河道の直線化、さらには河岸の植生の減少などが挙げられ、自然状態から人為的環境への変化が *Hydropsyche orientalis* の遺伝的多様性に影響を与えていると考えられる。また、上流部で見られるような河川の瀬-淵構造が下流の都市域では見られず、生息場所の多様性の低下が生息環境の均一化を招き、その環境に適さない個体が淘汰されてしまうことによって遺伝的多様性が低減してしまうことも併せて推測される。他の人為的なインパクトにより遺伝的多様性が変化することも考えられるが、本研究では、河川環境の都市化への変化が遺伝的多様性に影響を与えていることがわかった。

ダムの上流側、下流側を比較してみると遺伝的多様度の顕著な差は見られなかったため、ダム放流水は遺伝的多様

度に影響を与えていないことがわかった。しかしながら、ダムはその下流に限らず上流の河川環境にも影響を与えるため¹⁷⁾、ダム周辺に生息する *Hydropsyche orientalis* の遺伝的多様度を低減させていることが予想される。そこで、その影響を検証するために大倉ダム周辺 (St.2, St.3) および釜房ダム周辺 (St.8, St.9, St.10, St.11) の計6地点とその他の7地点における遺伝的多様度の比較を行った。ダム周辺とそれ以外の地点との遺伝的多様度の平均値は、それぞれダム周辺が0.33、それ以外の地点0.46と遺伝的多様度の平均値は有意に低かった (有意水準5%)。すなわち、*Hydropsyche orientalis* はダム周辺で遺伝的多様性が低下していることが明らかになった。

また、河川生態系は上流から下流への一方の卓越する流れの影響を受けるので¹⁸⁾、各地点ごとの局所的な遺伝的多様性を捉えるだけでなく、上流から下流に渡る河川全体を1つの単位として各河川の遺伝的多様性を捉えるのも有効である。このような流域レベルから各河川の遺伝的多様性を比較することにより、これまでの局所的な視点からは明らかにされなかった河川間における遺伝的多様性の差異を評価した。そこで名取川の7地点 (St.7, 8, 9, 10, 11, 12, 13) と広瀬川の6地点 (St.1, 2, 3, 4, 5, 6) でそれぞれ遺伝的多様度の平均値を求め、名取川と広瀬川の遺伝的多様性の比較を行った結果、名取川は0.37、広瀬川は0.44となり、広瀬川の方が遺伝的多様度の平均値が高くなったが、有意水準5%で両者に有意差は認められず、両河川の間では遺伝的多様度に大きな差が生じなかった。

3.2 集団間類似度による地域間交流の推定

Fig.5にクラスター分析の結果を示す。Fig.5の枝の長さは、1から集団間類似度を引いた値を示しており、短いほどその2地点間の個体群が遺伝的に類似していることを表す。この値を用いて各地点を分類した結果、非常に大まかな分類ではあるが、0.09近辺で3つのグループが形成された。これらの地理的な位置関係をFig.6に示す。まず、Aグループは主に大倉ダム周辺および釜房ダム周辺が構成するグループであった。このグループはそれぞれのダム周辺地点で構成されるグループであるが、これらの地点はダムの存在により、その場特有な遺伝子を持った個体群を形成し、他のグループとは異なったグループとして分類されたものと考えられる。次に、Bグループは主に両河川の中流および下流が構成するグループであった。最後に、Cグループは主に両河川の上流が構成するグループであった。このグループは他のグループに比べて自然が保たれた生物に好ましい生息環境にある。Fig.6から大きく分類すると、A、Cグループは比較的自然が残された上流地点で構

成されているため、生物の生息には適していると考えられたが、Aグループはダムの存在によりCグループほど適した生息環境になっていないことが推測される。

また、BグループとCグループの結果から、河川流路をたどった交流が確認された。*Hydropsyche orientalis* の属するHydropsychoidea (シマトビケラ上科) は造網性トビケラ (net spinning caddisfly) と称され、固着性の巣室と捕獲網を作り生息しているためである¹⁹⁾。よって、これは河川流量が増大したときに下流方向へ流されたことによる交流と考えられる。次に、*Hydropsyche orientalis* は河川流路をたどった交流のみならず、近い位置関係にある地点間では、異なる河川間においても遺伝的類似性が確認された。一般的に *Hydropsyche orientalis* の属する毛翅目の特徴として、羽化後の成虫は高い飛翔能力を有する2対の翅を持っていると言われており¹⁹⁾、羽化後の陸上移動による交流の可能性が高い。同じTrichoptera (トビケラ目) の *Stenopsyche marmorata* (ヒゲナガカワトビケラ) では河川流路を辿った遡上飛行による交流が報告されている²⁰⁾が、異なる河川間での羽化後の成虫による交流に関する研究例は少なく、本研究によって地点間での交流に関する新たな可能性が示されたと言える。

ここで、Aグループが構成している地点が主に関係している大倉ダムおよび釜房ダムの上流側と下流側との個体群

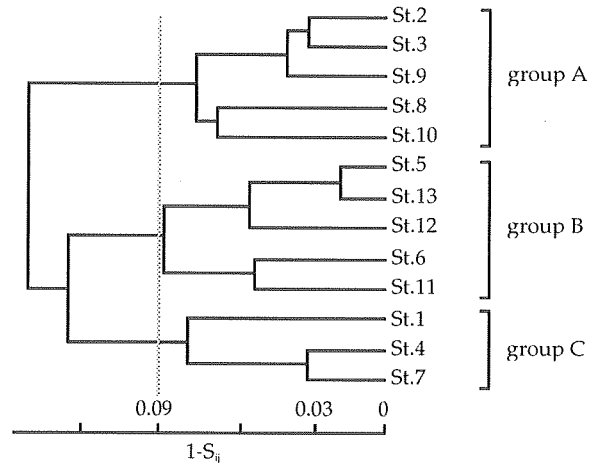


Fig.5 The result of cluster analysis by UPGMA. The index of S_{ij} stands for the between population similarity. See text about UPGMA.

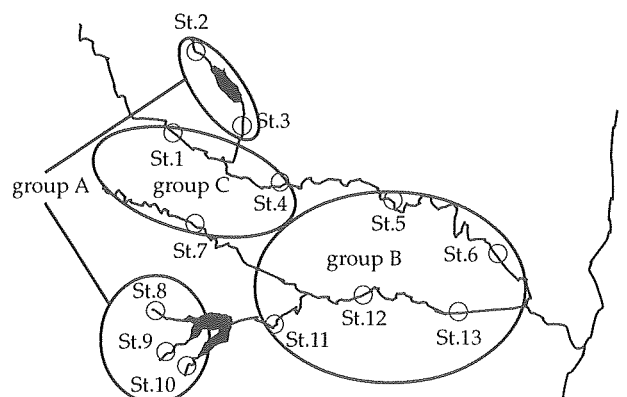


Fig.6 The result of cluster analysis drawn on the map of the river system.

Table 3 Correlation coefficients and t-test with Welch's correction on genetic diversity difference.

	St.1	St.4	St.5	St.6
St.1	-	n. s.	**	**
St.4	0.02	-	*	**
St.5	0.17	0.35	-	n. s.
St.6	-0.21	-0.21	-0.21	-

** : significant difference at 1% level

* : significant difference at 5% level

n. s. : not significance

交流の特性の違いについて着目してみると、大倉ダム湖の上、下流側の2地点 (St.2, St.3) は同一グループに含まれているため、両地点に生息する *Hydropsyche orientalis* の遺伝的類似性が高いことがわかる。したがって、大倉ダム湖がその上、下流間における交流の障害とはなっていないことが推測される。一方、釜房ダム湖周辺の場合は、その上流側に位置する3地点 (St.8, St.9, St.10) は同一グループ内に含まれていたが、下流側地点 (St.11) は別のグループに含まれているため、ダム湖の上流側と下流側とは遺伝的な類似性が低いことがわかる。したがって、釜房ダムの上流側3地点間では交流が円滑に行われているが、ダム湖の上流側と下流側ではそれほど交流が行われていないことが推測される。このように、大倉ダムと釜房ダムとは異なる結果が得られたため、上流側と下流側の遺伝的な類似関係を検証するために、*Hydropsyche orientalis* の幼虫が流下方向へ流されるのに関わりのあるダムの放流量や羽化後の陸上での交流に密接に関係するダム周辺環境 (植生の様子、ダムの運転状況) などから考察をさらに深めていく必要がある。

次に、Cグループ周辺は山に囲まれた自然豊かな環境から、*Hydropsyche orientalis* の高い遺伝的多様性が予想されたため、他の2グループとの遺伝的多様度の平均値を比較し、その検討を行った。その結果をFig.7に示す。この結果から、両河川の上流地点で構成されるCグループの遺伝的多様度は有意に高かった (有意水準5%)。ところで、Cグループを構成するSt.1, St.4およびSt.7はFig.4の結果から、遺伝的多様度が比較的高かった地点であり、この結果は理解しやすい。以上より、遺伝的多様性と地域間交流の結果をまとめると、広瀬川と名取川では両河川間で遺伝的多様度の大きな違いは見られず、クラスター分析の結果から両河川の上流 (Cグループ) および下流 (Bグループ) で類似関係が見られたため、*Hydropsyche orientalis* にとって両河川間では生息環境が大きく変わってはいないことが示された。流域レベルからの視点では河川の形状を著しく変化させる人為的な河川改修は行われてはならず、さらに、この2河川において水質的にも遺伝子に直接作用するような物質は流入していないことから推測される。

3.3 名取川水系における*Hydropsyche orientalis* の遺伝的多様性の保全と河川管理

水生生物の遺伝的多様性を高く保つことは、それらの種の保全だけでなく健全な河川生態系を維持するために、河川管理において重要な視点である。名取川水系において *Hydropsyche orientalis* の遺伝的多様性を保全していくには、前2節の結果より、遺伝的多様性の低いAおよびBグループを高めつつ、Cグループの高い遺伝的多様性を保

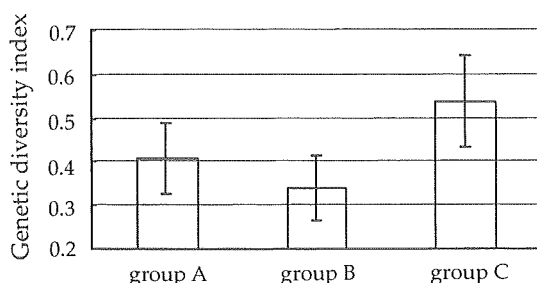


Fig.7 Index of genetic diversity in three major groups. Error bars mean standard deviation.

つことが理想である。このように理想的な状態に近づけていくためには、以下の2つの保全策を考える必要がある。

まず、遺伝的多様性の低いAおよびBグループに着目し、これらのグループの遺伝的多様性を高めることにより、名取川水系全体の遺伝的多様性を高めていくという保全策である。この保全策を適用していくためには、この2つのグループで現状よりも遺伝的多様性を高めていく積極的な生息環境の創造を行っていく必要がある。一方、この水系においてダムの存在が、Aグループの遺伝的多様性を低下している可能性が高いことが本研究により明らかになった。よって、ダムが *Hydropsyche orientalis* の遺伝的多様性を低下させている原因を究明し、ダム管理上の改善すべき点 (放流水の流量や水温管理、周辺土地利用の改善など) を明確に提示していく必要がある。また、Bグループは他のグループに比べて自然が乏しいグループであると判断できるため、河川周辺の植生を整備することにより他のグループとの陸上での交流を促すことができる。

次に、2つ目の保全策は遺伝的多様性の高いCグループに着目し、このグループの遺伝的多様性を維持することにより、名取川水系全体の遺伝的多様性が下がらないようにする保全策である。この保全策は遺伝的多様性に富むCグループの個体が他のグループに供給されることにより、相乗効果として遺伝的多様性の低いAおよびBグループを高めるものである。以上より、遺伝的多様性の低いグループを積極的に改善し、また高いグループを保全するような方策が、名取川水系における自然生態系保護の観点からの河川流域管理に重要である。

4. おわりに

本研究で得られた名取川水系に生息する *Hydropsyche orientalis* に関する知見を以下にまとめる。

- 1) 広瀬川の中流から下流において都市化の影響により遺伝的多様度が減少していることが明らかとなった。
- 2) ダム周辺では他の地点に比べて有意に遺伝的多様度が減少していた。
- 3) 名取川および広瀬川の遺伝的多様度を比較した結果、有意な差は見られなかった。
- 4) 大倉ダム湖周辺のSt.2およびSt.3の2地点では遺伝的な類似性が認められ、大倉ダム湖が交流の障害になっていないことが推測された。
- 5) 釜房ダム湖上流側のSt.8, St.9, St.10と下流側のSt.11においては遺伝的な類似性が認められなかったため、ダムの上流側と下流側では活発な交流が行われていないことが明らかとなった。
- 6) クラスター分析により分類されたグループ内の遺伝的多様性から、自然が保全されている両河川の上流部 (Cグループ) において遺伝的多様性が高く維持されていることが示された。

謝辞

本研究を遂行する上で、DNA多型検出実験に関し、東北大学大学院生命科学研究所生態システム生命科学専攻、横山潤助手および種の同定に関し、東北大学大学院生命科学研究所生物学専攻博士課程後期、土居秀幸氏に多大なる協力を受けた。また、本研究の一部には平成14年度科学研究費補助金 (特別研究員奨励費) を使用した。ここに記して感謝の意を表す。

(原稿受付 2002年7月10日)

(原稿受理 2003年2月3日)

参考文献

- 1) 環境庁 (1997) 環境白書, 433pp.
- 2) 鷺谷いづみ, 矢原徹一 (1996) 保全生態学入門, 38pp., 文一総合出版.
- 3) 椿宜高 (1994) 遺伝的多様性と左右対称性のゆらぎ, 科学, 64, 607-608.
- 4) Vucetich, L. M., Vucetich, J. A., Joshi, C. P., Waite, T. A. and Peterson, R. O. (2001) Genetic (RAPD) diversity in *Peromyscus maniculatus* populations in a naturally fragmented landscape, *Molecular Ecology*, 10, 35-40.
- 5) Morden, C. W. and Loeffler, W. (1999) Fragmentation and genetic differentiation among subpopulations of the endangered Hawaiian mint *Haplostachys haplostachya* (Lamiaceae), *Molecular Ecology*, 8, 617-625.
- 6) Takemon, Y., Kanayama, H., Tanida, K., Baik, S., Ishigami, M. and Kato, M. (1998) RAPD analysis on subpopulations of a mayfly species *Epeorus ikanonis* (Heptageniidae: Ephemeroptera), *Viva Origino*, 26, 283-292.
- 7) Monaghan, M. T., Spaak, P., Robinson, C. T. and Ward, J. V. (2001) Genetic differentiation of *Baetis alpinus* Pictet (Ephemeroptera: Baetidae) in fragmented alpine streams, *Heredity*, 86, 395-403.
- 8) Primack, R.B., 小堀洋美 (1997) 保全生物学のすすめ, 171pp., 文一総合出版.
- 9) 仙台市統計書 平成11年版 (2000) 仙台市.
- 10) 川合禎次 (編), 谷田一三 (1985) 日本産水生昆虫検索図鑑, 167-215, 東海大学出版会.
- 11) 東京大学医科学研究所制癌研究部 (編) (1993) 新細胞工学実験プロトコール, 446pp., 秀潤社.
- 12) Hadrys, H., Balick, M. and Schierwater, B. (1992) Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology, *Molecular Ecology*, 1, 55-63.
- 13) Bardacki, F. and Skibinski, D. O. F. (1994) Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification, *The Genetical Society of Great Britain*, 73, 117-123.
- 14) 根井正利 (1990) 分子進化遺伝学, 252-253, 培風館.
- 15) 平成10年度公共用水域及び地下水水質測定結果報告書 (1998) 宮城県.
- 16) 水質年報 平成10年度 (1999) 仙台市水道局.
- 17) 谷田一三, 竹門康弘 (1999) ダムが河川の底生動物へ与える影響, 応用生態工学, 2, 153-164.
- 18) 谷田一三 (1997) 第31回日本水環境学会セミナー講演資料集, 50-71.
- 19) 津田松苗 (1983) 水生昆虫学, 1-269, 北隆館.
- 20) 西村登 (1987) ヒゲナガカワトビケラ 日本の昆虫, 文一総合出版.