

F-1 地理的スケールにおける生物多様性の動態と保全に関する研究

(3) 地理的スケールにおける野生生物個体群の動態の解析

① メタ個体群解析手法による絶滅危険性の評価

独立行政法人国立環境研究所

生物多様性研究プロジェクト	生物個体群研究チーム	高村健二・永田尚志
	侵入生物研究チーム	五箇公一
	上席研究官	椿宜高
岐阜大学農学部		土田浩治
岐阜経済大学経済学部		森誠一

平成11～13年度合計予算額 39,247千円
(うち、平成13年度予算額 10,703千円)

[要旨] 分類群の大きく異なる生物種3種について、地域個体群の遺伝子組成を遺伝マーカーを用いて判別し、地域個体群間の遺伝的類縁関係を明らかにした。個体群間が遺伝的に明確に区別される場合には、地形的に分水界や山脈が間に存在するので、流域が分化の鋳型として重要であることがわかった。遺伝的に分化した地域個体群間には、行動や生態の上でも特性の違いが存在し、またそれが個体群間の繁殖に対する障壁としても働くことが示された。本研究で用いられた遺伝マーカーは、マイクロサテライトDNA遺伝子・アロザイム酵素・ミトコンドリアDNA遺伝子であるが、これらの有用性とその開発に対する体制整備の重要性が認識された。

[キーワード] 地域個体群、遺伝マーカー、繁殖隔離、ヘテロ接合体、遺伝的類縁関係

1. はじめに

近年急速に進んでいる生物種の絶滅は、野生生物の生息地の破壊と生物個体生存への物理的・化学的及び生物的な負荷が人間活動によって増加していることに由来している。野生生物は進化的な長い年月の間にそれぞれの生息環境でみずからの生存に適した特性を獲得してきたと考えられるが、人間活動によってその基盤が掘り崩されている。とくに、近年の経済活動の発展によってそれは加速されており、地球温暖化などの地球環境問題の進行ともそれは裏腹の関係にある。したがって、この絶滅を防止し、逆にその回復を図るには、野生生物種の生物学的な特性を科学的に把握した上で、経済活動を含めた人間活動を調整することが必要である。そのためには、絶滅の危機に瀕しながら、残り少ない生息地でまだ生存し続けている野生生物について、その実態の解明と生物自体の持つ生存様式の集団的特性についての科学的解明が欠かせない。

2. 研究目的

野生生物が絶滅に至る道筋の一つとして、その生物が利用している生息環境が人間活動によって縮小・分断化された結果、個体群が分散・縮小して、偶発的要因による個体数崩壊や個体の遺伝的資質の劣化による生存力低下が起こりやすくなるというものが想定される。野生生物は、そ

うした攪乱を受けない状態でも生活史段階や集団の状況に応じて複数の生息地を移動しながら生活しているが、生息地が分散してゆくにつれて生存を危うくする要素が増えてくる。実際には、それぞれの生物種の特性や歴史によって同じ生息地の分断・縮小であっても、そこから受ける影響は変わってくる。例えば、それぞれの生物種の分布範囲の大きさやその範囲の中での個体の交流の頻度によって、特定の地域集団の絶滅が他の地域集団の存続にもたらす影響は変わってくる。従って、それぞれの生物種に即した形での生息環境分断化の影響を評価し、その上で絶滅危険性に関わる生息環境分断化の影響を一般化する努力が必要とされる。本研究では、それぞれ特性の違う複数の生物種を対象に地域個体群の属性を地理的な位置関係と対応させて比較・特定し、各地域個体群の絶滅あるいは存続の可能性を生態的・遺伝的に総合的に評価することを試みている。

本研究で取り上げた対象生物は淡水魚のイトヨと昆虫のマルハナバチ類・ウスバシロチョウである。わが国のイトヨ類は北緯35°以北の平地に局所的に分布していたが、その地域個体群は年々減少している。個体群の相互関係は遺伝的・生態的な解明が本格的に始められたばかりであり、存続の可能性も含めて緊急に調査を進めることが望まれる。ウスバシロチョウは本州のほぼ全域と四国に分布し、年一化性で調査地の本州中部では4月下旬から6月中旬にかけて成虫が発生する。山間部に開けた休耕地・果樹園・牧草地・茶畠、河川沿いの雑草地などの人手の入った日当たりの良い場所を好むので、生息地はパッチ状に広く分布しているが、一方では土地利用の変化に影響を受けやすく、地域的な生態特性とその総合的な評価が必要とされている。農作物の花粉媒介用に輸入されるヨーロッパ産セイヨウオオマルハナバチの在来種への影響が問題視されている中^{1), 2), 3), 4)}、在来種の商品化への取り組みが進められ、1998年には在来種クロマルハナバチ商品コロニーの販売が開始されるに至った。しかし、こうした動きは、商品化のために野生の女王バチが乱獲されること、また工場内で大量飼育された系統が無秩序に放飼されることで在来マルハナバチの地域個体群の遺伝子組成を攪乱するという別の問題を引き起こしている。我が国におけるマルハナバチ類の遺伝的変異を早急に調べ、保全対象としての地域固有性を把握しておく必要がある。

3. 研究方法

(1) イトヨ類淡水魚生息の現状と地域個体群の類縁関係

日本列島に分布するイトヨ類魚類の地域個体群について、その生態的特性の分化様式の研究を進めると同時に、各個体群の現状について広く調査し、個体群の特性と絶滅の危険性との関連を検討した。このために北海道道東から滋賀・岐阜県までの範囲にわたって、人為的な移植群をも含めて現地調査を行った。

イトヨ類の遺伝マーカーとしては8種類のマイクロサテライト遺伝子座^{5), 6)}を使用した。採集した群は北海道錦多峰川・北海道春採川・福井県大野市九頭竜川水系・福島県会津地方阿賀野川水系・栃木県栗山村鬼怒川水系・十和田湖・青森県十和田市奥入瀬川水系・岩手県大槌川・岐阜県山除川の陸封群（一生を淡水域で過ごす）と新潟県信濃川の遡河群（繁殖のために海から淡水域に遡河する）である。

得られた遺伝子情報は遺伝子組成解析用ソフトウェアGENEPOP 3.1b⁷⁾を用いてそれぞれの遺伝子座毎の対立遺伝子頻度として整理した。対立遺伝子頻度からの類縁図の作成には系統樹作成用ソフトウェアパッケージPHYLIP 3.5c⁸⁾からソフトContmlを用いて最尤法推定を行なった。類縁図

上の分類は、1,000回の類縁推定試行を行なって、その結果半分以上の再現性があったものは妥当性が高いと見なした。

日本産のイトヨ類には系統関係と生活史型から日本海遡河型・太平洋遡河型・太平洋陸封型の3類型があるが、それぞれの類型から1地域個体群を選んで、交配実験を行なった。日本海遡河型は新潟県信濃川、太平洋遡河型は北海道白糠町河川、太平洋陸封型は滋賀県地蔵川から採集した。交配実験は成熟した雄1個体が巣作りした水槽に成熟雌1個体を入れて雌が巣に入るかどうかを観察した。同時に配偶行動を10個の構成要素に区分して各々の頻度を記録した。

(2) ウスバシロチョウ地域個体群の活動様式と遺伝型との関係

1996年から2000年の5年間に岐阜県と長野県の22地点で複数の個体を採集した。採集した個体は採集後直ちにドライアイスで冷凍し、-80℃で保存した。冷凍した個体から翅と頭部と胸部を切り離し、胸部をアイソザイム分析に使用した。これらを用いてGPI, PGM, G3PDH, ESTの各酵素について遺伝子型を電気泳動によって推定した。その推定結果から各遺伝子座の対立遺伝子頻度を集計し、各個体群内外において交配がランダムに起きているかどうかを検証するために固定指数F (F_{is} ・ F_{it} ・ F_{st}) を求めた。 F_{is} は各個体群内の、 F_{it} は全個体群をまとめた場合の、 F_{st} は個体群間の遺伝的組成の類似の程度を反映する。さらに、各遺伝子座における一組の対立遺伝子が同じ（ホモ型）か、異なる（ヘテロ型）かによって個体の生活能力が変化する可能性があるので、各個体群におけるヘテロ接合体率を求めて個体群毎の生息環境や飛翔活性との関連を分析した。

飛翔活動水準を定量するために、1998年(3地点), 1999年(5地点), 2000年(5地点), 2001年(5地点)で、時間帯別採集(朝 7:00～10:00, 昼11:00～12:00, 夕14:00～16:00の間で約15匹ずつ採集)を行った。採集を行った時間帯・捕獲数・捕獲にかかった時間の記録から、10分間に採集された個体数を採集地点別に計算し、その値を採集地点の集団サイズとした。採集時間帯の効果を検討するために、4年間の採集時間帯ごとのヘテロ接合体率と集団サイズの変化について分析した。

(3) マルハナバチ類における地域個体群分化

日本各地より採集したオオマルハナバチ*Bombus hypocrita*・クロマルハナバチ*Bombus ignitus*の女王バチおよびワーカー各個体のミトコンドリアDNA (mtDNA) チトクロムb遺伝子 (CB) 領域をPCR法によって増幅し、塩基配列を解析して地理的変異を調べた

次に、より詳細な遺伝的構造を調べるために各個体のマイクロサテライトDNA変異を解析した。マイクロサテライトはセイヨウオオマルハナバチで開発されたDNAプライマーを用いて6遺伝子座を増幅し、増幅産物の塩基長によって各遺伝子座の遺伝子型を決定して地域個体群ごとに対立遺伝子頻度を定量した。得られた遺伝子頻度をもとに個体群間の遺伝的距離を求め、統計解析によって個体群間の類縁関係を類似樹として表した。

ところでクロマルハナバチは既に商品コロニーが販売されているが、商品コロニーは国内で生産はされておらず、日本各地で採集された女王バチがオランダの生物資材会社の工場に送られ、そこで選抜・大量生産されたコロニーが日本に逆輸入されている。従って、輸出・工場生産・輸入という飼育・流通プロセスにおいて、遺伝的浮動やボトルネックなどの機会的要因によって商品コロニーの遺伝子組成は日本の野外個体群のものとは異なるものとなっている可能性が高い。そこで上に記した地理的変異調査のために採集した野外サンプルに加えて、業者によって商品化のために採集され輸出過程で死亡して脱落した女王バチ48個体とその後オランダの工場から逆輸入された商品コロニー22個の遺伝的解析を行ない、各標本群の遺伝的変異量の比較を行った。商

品コロニーの変異は各コロニーより5個体の働きバチを抽出して調べた（従って合計110個体）。遺伝的変異量はマイクロサテライトDNA遺伝子4座について調べた。

4. 結果・考察

(1) イトヨ類淡水魚生息の現状と地域個体群の類縁関係

数十年前は日本海側にひろくイトヨの遡河する河が存在していたが、これらの遡河型イトヨが年々減少していることが、漁業者からの聞き込みで確認された。特に、福井県・石川県・富山県・山形県・秋田県などではほとんど遡河しない河川が急増している。今回の調査で確認したのは、福井県の小河川、石川県河北潟周辺、山形県最上川・赤川・月光川、秋田県雄物川水系で、イトヨの採集・確認がほとんど出来なかった。いずれも1980年代には多数の個体が採集された河川である。新潟県信濃川下流ではイトヨ漁が営まれているが、1991年来不漁が続いている。

遡河型イトヨは海で成長し産卵のために河川を遡河し、その水系の平地部の浅瀬で営巣し繁殖する。その生息数の減少は、繁殖地である水田の水路や中小河川の浅瀬が農地基盤整備や河川改修のために消失してしまった事と関連していると思われる。また堰・落差工などの遡河障害の増加も関連している可能性が高い。

イトヨ陸封型は本州においては湧水域を中心に生息しているが、現在の生息地は10水系前後にすぎない。水系内である程度まとまった生息が確認されていた生息地は、福井県大野市・福島県喜多方市・栃木県大田原市とあるが、行政的な保全措置にもかかわらず減少傾向にあることは否めない。とくに大田原市では壊滅的な現状である。ただし、大野市では文化庁と市の事業で生息地の改修・保全が進められている。

やはり陸封型のイトヨ類であるハリヨは滋賀県・岐阜県に分布している。三重県にも岐阜県の生息地に近接する形で生息地があったが、ここでは10年ほど前には数千規模の群れが認められたが、昨年の調査では数匹の確認しかできなかった。

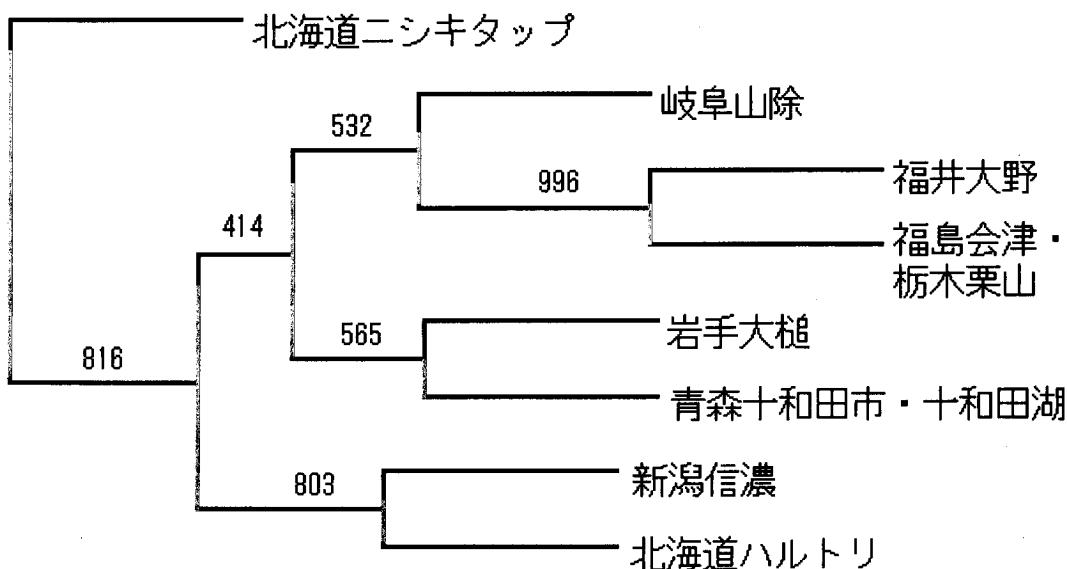


図1. イトヨ地域個体群間の類縁関係 最尤法による推定図。分歧点前の数値は1000回のブートストラップ試行中の的中回数を表す。

最尤法によって推定したイトヨ類地域個体群の類縁関係図を図1に示す。まず、全体が本州の陸封群とそれ以外の群とに分けられる。陸封群の中では、試行中の一致率が50%以下とやや妥当性が劣るもの、東北地方太平洋流入水系とそれ以外に分かれるが、その他の中には日本海流入水系と太平洋流入水系に生息する群のどちらもが含まれている。陸封群のうち福島県会津地方の群と栃木県栗山村の群、及び青森県十和田市の群と十和田湖の群とはこの類縁図上では区別がつかなかった。これらの組み合せのいずれでも、後者の群は元々の生息地ではなかった水域への移入群であることがわかっている。つまり、これらの組合せでは前者から後者へと魚が移植されたと推定される。十和田市と十和田湖の群は同一水系内に分布するが、福島県会津地方と栃木県栗山村とでは全く別の水系に属する。前者は日本海へ、後者は太平洋へと流入する水系であるが、地理的には分水界を境として近接しているので移植の可能性が高いと考えられる。

樋口ら⁹⁾のアロザイム酵素による遺伝的判別によって、日本産イトヨ類の中には太平洋陸封型（北海道の陸封群も含む）に太平洋遡河型を加えたものと日本海遡河型との2つの系統が存在すると考えられている。今回の類縁推定によって北海道を除いて陸封群はやはり1つの類縁集団として位置づけられたが、北海道の陸封群は日本海の遡河群に比較的近いと推定された。北海道陸封群の生息水系にはアロザイム判別で日本海側遡河型に同定される遡河個体も生息しており、両者の間で遺伝子交流が起きている可能性も示唆される。

交配実験に用いたイトヨ類の3地域個体群について体長組成の頻度を調べたところ、違いが認められた。太平洋遡河型がもっとも大きく、太平洋陸封型がもっとも小さかった。遡河型では雌が雄より大きく、陸封型では雌と雄の体長差は目立たなかった。その結果、雌雄ともに遡河型と陸封型との間に体長分布の重なりがほとんど認められなかった。

交配成功率は、各個体群内の成功率に比べて見劣りしない成功率が見られたのは、太平洋遡河型雄と日本海遡河型雌、太平洋陸封型雄と太平洋遡河型雌との2種類の組み合わせだけであった。これは同一集団内由来の配偶相手が好まれるという一種の同類交配が存在することを示している。このような同類交配が成り立つのは、1つには配偶行動が個体群によって異なるためと考えられるが、今回の交配実験に伴う行動観察からも個体群による行動の違いが認められた。

配偶行動の10要素中、太平洋遡河型と日本海遡河型との間では5要素に違いが認められた。また太平洋遡河型と太平洋陸封型との間では1要素のみに違いが認められた。これらの要素の中には、特定の個体群だけに特徴的に出現する要素があった。遡河型・陸封型を含めて太平洋型に特徴的なのが、雄が雌を巣に誘うためにジグザグに接近する行動であった。一方、日本海遡河型に特徴的なのは、雄が雌を巣に誘うために体の側面を雌に対して示す行動であった。他にも、雄がうろつきながら雌を巣に導く行動は太平洋遡河型に頻繁に観察されたし、背びれの前にあるトゲによって雄が雌を突く行動は日本海遡河型において著しかった。このような個体群に特徴的な配偶行動は、由来の異なる個体同士の交配に対して障害として機能するので、同類交配の一因と考えられる。

この他にも上記した体長の違いも配偶行動上では同類交配の一因となっている可能性がある。例えば、日本海遡河型雄と太平洋遡河型雌との交配成功率においては体長の影響は認められない ($\chi^2 = 0.044$, $P = 0.957$) が、太平洋陸封型雌には小型の遡河型雄を好む傾向が認められた ($\chi^2 = 10.28$, $P = 0.001$)。雄にとっては体の大きい雌は産卵数が多い点で魅力的なので、太平洋陸封型雄と太平洋遡河型雌との交配成功率が群内に比べて低くないのはそのためであると考えら

れるが、雌の方が小型の場合は大型雄による配偶行動はその激しさによって攻撃行動とも認識されかねないので、交配の障害になると考えられる。

系統関係及び生活史によって区別されるイトヨ類の地域個体群間では、繁殖にいたる行動上で明確な違いがあることが本研究で示されたが、一方では成功率が低いとはいえる異なる個体群間で交配が成立することも事実である。すなわち、同類交配の行動的あるいは遺伝的基礎は確立しているものの、それが完全な繁殖前隔離として働いている訳ではないことも明らかである。他の研究者の報告によれば、由来の異なるイトヨ類の交配によって生まれた交雑第一世代、いわゆるF1は不穏の傾向があるので、このような繁殖後隔離も働くことによって、地域個体群間の繁殖隔離がより強く機能していると考えられる。

(2) ウスバシロチョウ地域個体群の活動様式と遺伝型との関係

酵素の遺伝子型をPGM・G3PDH・GPI・ESTの4酵素について調べた結果、PGMには6個の、G3PDHには3個の、GPIとESTには4個の対立遺伝子を検出した。各遺伝子座について固定指数Fを推定し、 χ^2 自乗検定を行なったところ、G3PDHのFisとEST-1・EST-2のFis・Fitについてハーディー・ワインベルグ平衡からの有意な差が認められた。このことはウスバシロチョウ個体群内あるいは群間で交配がランダムに起きていないことを示唆する。Fを0からずらす要因としては、近親交配・同類交配・集団細分化・淘汰などが考えられる。EST-1については過去3年間にわたりFisの0からの有意な差が認められている。このことから、ウスバシロチョウではESTの遺伝子座に関与した同類交配が行なわれている可能性が考えられる。

ウスバシロチョウには、水系間に存在する峰を越える能力がないと考えられており、小地域毎で翅の黒化度や翅長変異が生じている。このことから、本種の各地域個体群は遺伝的に分化していると推測されている。今回の分析結果より、EST-1・EST-2についてはFstに有意差が認められたので、集団の細分化が示唆されているともとれる。しかし、この傾向は調査された遺伝子座に共通したものではないため、本種は基本的にはランダム交配を行なっていると推測された。

幾種かの飛翔昆虫で、遺伝子型と飛翔活動時気温との間に関連のあることが報告されている。ウスバシロチョウのGPIヘテロ接合体率は、調査5地点中3地点において気温の低い朝に昼より高い傾向が認められた。この3地点は他の2地点より標高が高いため、朝の気温はより低いと予測される。このことから、朝の低温時に飛翔活性の高いヘテロ型の遺伝子型を持つ個体が多い可能性が考えられる。また、このヘテロ接合体率と密度には負の相関関係が認められた ($r=-0.29$, $P=0.0242$)。この結果から、密度が高い傾向がみられる朝間にホモ型個体が多く出現し、密度の低い朝・夕にヘテロ型の個体が出現すると考えられる。

PGMヘテロ接合体率については気温との間に負の相関関係が認められた ($r=-0.46$, $P=0.0051$)。よって、気温による酵素活性レベルに差があることが示唆された。さらに、3地点で昼より朝の方がヘテロ接合体率が高い採集日が多く見られた。また、GPI・PGMヘテロ接合体率に対して採集時間帯は有意な効果が認められなかったが、朝にヘテロ接合体率が高くなる傾向が認められた。さらに、時間帯による密度の効果をなくすために、PGMとGPIヘテロ接合体率を採集時間帯毎の密度で割り、時間帯がヘテロ接合体率に与える影響について検討したところ、GPIでは朝と夕に有意差が認められた ($F=4.340$, $P=0.0290$) が、PGMでは有意な差が認められなかった。しかし、両酵素において個体数の密度が低い朝と夕にヘテロ接合体率が高い傾向が見られた。このことからも、PGMにもGPI同様の低温時に適応したヘテロ遺伝子型が存在することが示唆された。

(3) マルハナバチ類における地域集団分化

オオマルハナバチ *Bombus hypocrita* は北海道、本州、四国および九州に分布するが冷涼な気候を好み、本州以南では平野部よりも山間部に生息する。本種には二つの亜種が含まれており、北海道に分布するエゾオオマルハナバチ *Bombus hypocrita sapporoensis* と本州以南に生息するオオマルハナバチ *Bombus hypocrita hypocrita* に分けられている。二亜種間の形態的差異は微小でその遺伝的関係はこれまで明らかにされていなかった。国内の販売メーカーは本種の商品化にあたり、二亜種を区別せずに採集・飼育を進めており、将来商品が大量に流通した場合、地域個体群レベルおよび亜種レベルでの遺伝的固有性の喪失が危ぶまれる。

ミトコンドリア遺伝子の塩基配列を解析したところ、オオマルハナバチのCB遺伝子には全部で7つのハプロタイプ(A-G)が存在し、北海道の個体は全てハプロタイプAに固定しており、本州以南の個体はすべてそれ以外のハプロタイプB-Gを示した(図2)。このことから、北海道のオオマルハナバチ(エゾオオマルハナバチ)と本州以南のオオマルハナバチの間には少なくとも女王バチの遺伝子流動は起きていないと考えられた。

マイクロサテライト遺伝子6座の対立遺伝子頻度を解析したところ、日本のオオマルハナバチ地域個体群間の遺伝的関係は地理的配置と相関があることが示された。すなわち北海道から本州日本海側、日本海側から太平洋側へと地域分化している傾向が類縁樹によって示された(図3)。以上のことからオオマルハナバチには北海道に分布する亜種と本州に分布する亜種の間には遺伝的分化が起きていること、また本州内でも地域ごとに遺伝子組成に変異があることが示された。クロマルハナバチ *Bombus ignitus* は本州から九州の主に平野部に生息する。本種もオオマルハナバチ同様商品化が取り組まれており1999年より商品コロニーの販売が開始されている。本種についてもオオマルハナバチと同様に地域個体群のmtDNA-CB遺伝子およびマイクロサテライトDNA4遺伝子座の変異を調べたが、十分な個体数が得られていないため、オオマルハナバチほど明瞭な地理的変異を検出することはできなかった。ミトコンドリア遺伝子については2つのハプロタイプが存在し、九州の個体群と本州の個体群はそれぞれ別々のハプロタイプに固定していることが明らかになった(図4)。また、マイクロサテライト遺伝子についても、地域によって対立遺伝子数に差がある傾向が示された。これらのことからクロマルハナバチについても、遺伝子組成に地域固有性が存在することが示唆された。

ところでクロマルハナバチは既に商品コロニーが販売されているが、商品コロニーは国内で生産はされておらず、日本各地で採集された女王バチがオランダの生物資材会社の工場に送られ、そこで選抜・大量生産されたコロニーが日本に逆輸入されている。従って、輸出・工場生産・輸入という飼育・流通プロセスにおいて、遺伝的浮動やボトルネックなどの機会的要因によって商品コロニーの遺伝子組成は日本の野外個体群のものとは異なるものとなっている可能性が高い。そこで、日本国内の野外採集個体に加えて、業者によって採集された女王バチ個体と逆輸入された商品コロニー個体の遺伝的変異量の比較を行った結果、いずれの遺伝子座についても野外サンプルと比較して商品コロニーの対立遺伝子数は減少していることが示された(図5)。野外サンプルと商品コロニーの各遺伝子座の対立遺伝子頻度を比較した結果、野外サンプル中に存在する低頻度の遺伝子が商品コロニーではほとんどすべて消失していることが明らかになった(図6)。このことから、クロマルハナバチの商品コロニーの遺伝子組成は生産流通過程における遺伝的浮動により、野生個体群とは異なるものに変化していることが示唆された。

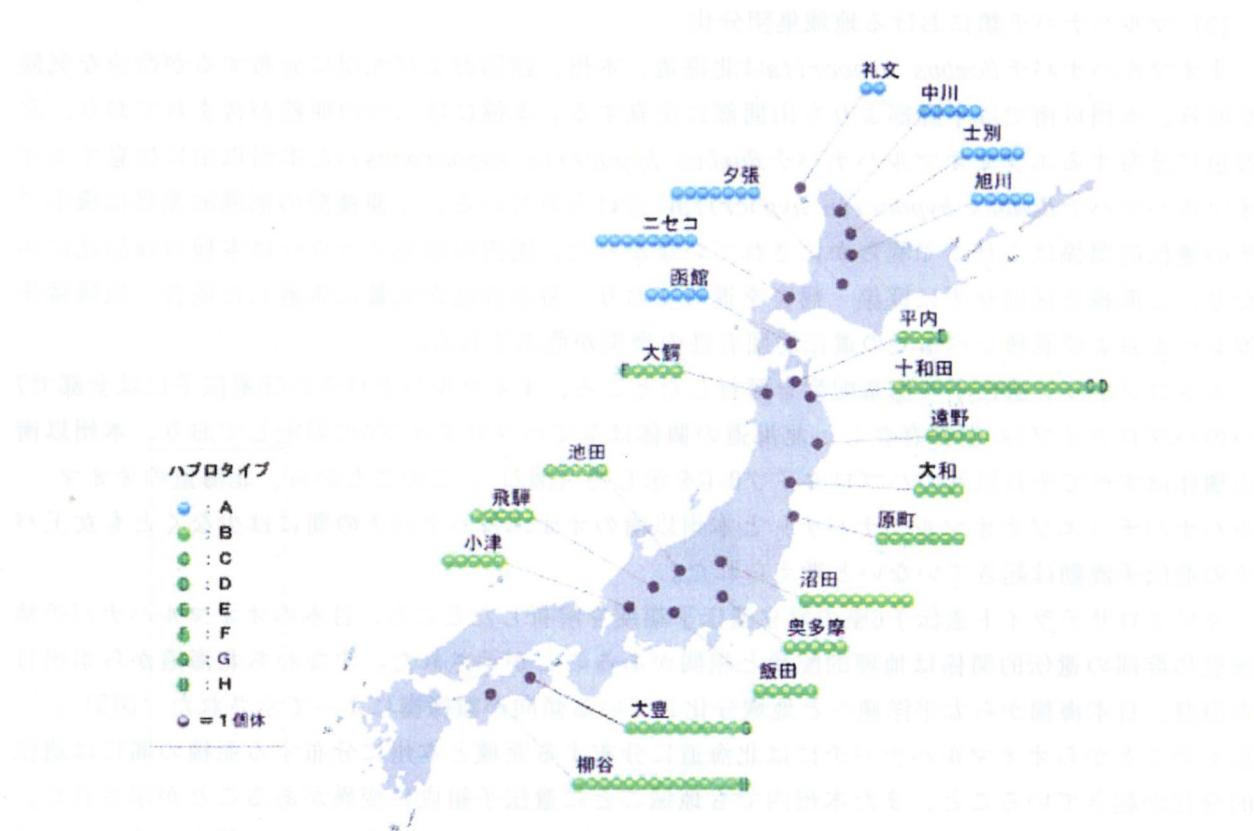


図2. オオマルハナバチのmtDNA-CB遺伝子ハプロタイプの地理的分布

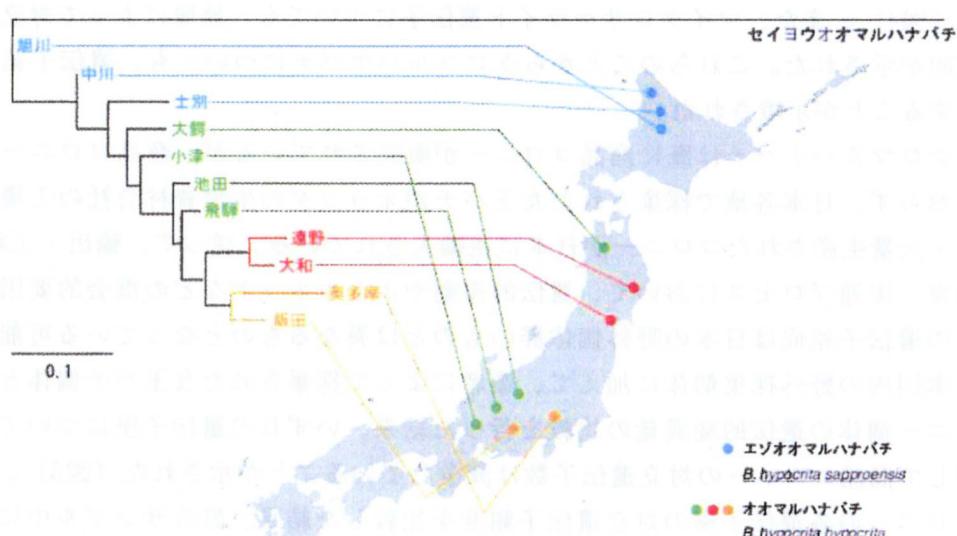


図3. マイクロサテライトDNA 6 遺伝子座に基づくオオマルハナバチ地域個体群の類似樹
(近隣接合法)



図4. クロマルハナバチのmtDNA-CB遺伝子ハプロタイプの地理的分布

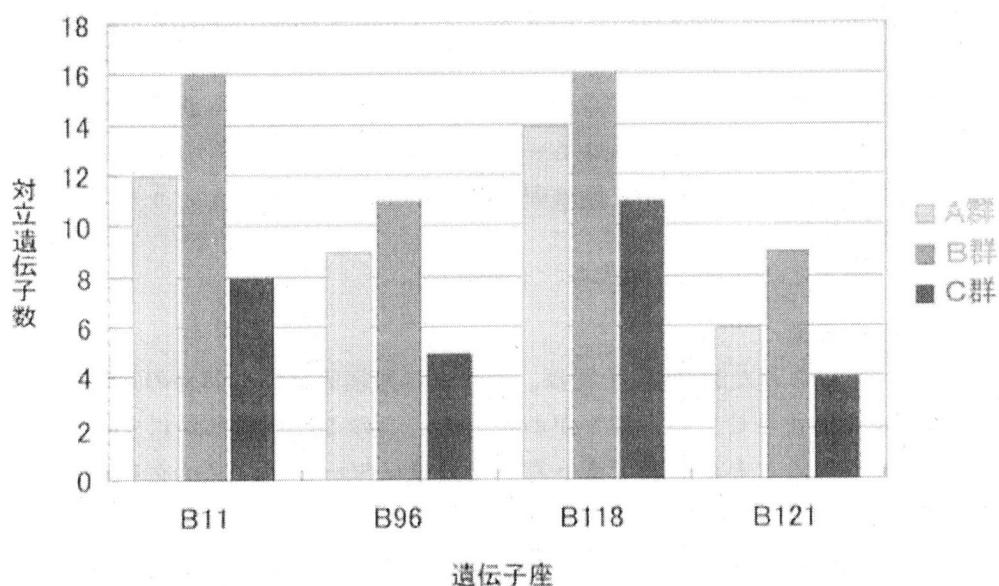


図5. クロマルハナバチの野外採集サンプル (A) 、輸出用サンプル (B) および商品コロニー (C) におけるマイクロサテライト4遺伝子座の対立遺伝子数

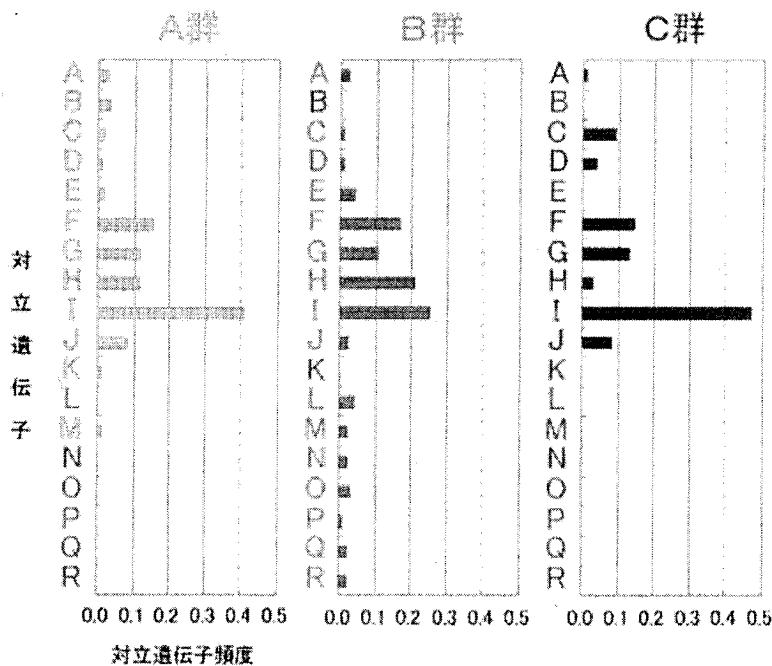


図6. クロマルハナバチの野外採集サンプル（A）、輸出用サンプル（B）および商品コロニー（C）におけるマイクロサテライト遺伝子座B11の対立遺伝子頻度

本研究の結果より在来種マルハナバチの地域個体群は、海峡や山脈などが地理的障壁となって個体群間の遺伝子流動が制限され、地理的に分化していることが示唆された。また、すでに商品コロニーが流通しているクロマルハナバチについては、商品化の過程で一遺伝子座あたりの対立遺伝子数が減少している、すなわち変異量が減少していることも突き止められた。以上、在来種に地理的変異が存在すること、そして商品コロニーの遺伝子組成が偏ったものになっていることを考慮に入れれば、在来種の商品コロニーも地域固有の遺伝子組成の攪乱というリスクをもたらす可能性があると判断される。

5. 本研究により得られた成果

本研究で重点的に取り上げられた3種類の生物は、それぞれ地理的な位置関係の違いに対応して地域個体群の遺伝的組成を分化させていることがわかった。このことを明らかにするためには、分子的な遺伝マーカーを用いることが有効であった。その遺伝マーカーはマイクロサテライトDNA遺伝子・アロザイム酵素・ミトコンドリアDNA遺伝子と多岐にわたるが、重要なのはこれらの遺伝マーカーを調査対象生物と調査項目に応じて使い分けることである。その使い分けも一義的ではなく、以前から種間や種内系統の判別に用いられてきたアロザイム酵素が、一方では個体の生活能力の判定にも用いられることは、本研究の結果が示すとおりである。

遺伝的組成が異なる地域個体群の生態的特性の解明も本研究で進めたが、その際に野外での行動活性の測定や室内実験手法を用いた行動観察が有効であった。遺伝的組成の違いが個体の形態・生態の違いとして表現された上で、実際の生態的現象が生じるのであるから、これらの表現

型段階の個体群特性も的確に把握することが、地域個体群を調査する上で大切である。

日本国内においてさえ、同種内で地域個体群の分化・特殊化が普遍的に起きていることは本研究からも明らかであるが、これらの地域個体群を適正に保全するためには、本研究の成果から見て、以下の点が大切であると考えられる。

第一に、流域単位の重要性である。地域個体群の分化を促進しているのは地理的な障壁であり、その障壁は具体的には河川水域の違いや山脈などの存在である場合が多い。これは河川の流路で跡づけられる流域という地形的単位が、例え陸上生物であっても、地域個体群の分化の鋳型になっていることを示している。すなわち、流域という単位を重視した保全計画が立てられるべきであると考えられる。

第二に、地域個体群間の生態的障壁への注目である。地域個体群間には生態・行動の違いが発達しており、それらが仮に両個体群が接触した場合にも交雑に対する障害となることがある。したがって、個体群の絶滅回避のために他の個体群からの移植を図ることは、当該個体群の元の特性を保つ上でも、個体数を回復させる上でも得策ではなく、そのような事態に至る前に各地域個体群の保全に努力を傾ける必要があると考えられる。

第三に、遺伝マーカーの開発的重要性である。遺伝マーカーは保全対象の単位である地域個体群の判別に欠かせないが、一般に、詳細な判別が可能なマーカーほど個々の種あるいは種群に特異的であるため、その開発には多大な費用と労力を要する。生物群によっては産業上の必要から遺伝マーカーが開発されている場合もあるが、産業的利用が活発な種と保全が必要な種とが近縁とは限らず、むしろ違う場合が多い。したがって、遺伝マーカー開発とそれを支える体制に対する潜在的必要性は多大なものがあり、この点での体制整備が欠かせないと考えられる。

6. 引用文献

- 1) Dafni, A. and A. Shmida (1996) The possible ecological implications of the invasion of *Bombus terrestris* (L.) (Apidae) at Mt. Carmel Israel. In: The Conservation of Bees (eds. Matheson, A. et al.), pp183-200. IBRA and Academic Press, UK.
- 2) Mitsuhashi, M. and M. Ono (1996). Hybridization between Japanese and European bumblebees (*Bombus* spp.). Summaries of the 7th International Pollination Symposium. Lethbridge, Canada.
- 3) 五箇公一(1998) 侵入生物の在来生物相への影響 - セイヨウオオマルハナバチは日本在来マルハナバチの遺伝子組成を汚染するか? 日本生物地理学会誌、53, 91-101.
- 4) 鷺谷いづみ (1998) 保全生態学からみたセイヨウオオマルハナバチの侵入問題. 日本生態学会誌 48, 73-78.
- 5) Rico, C., D. Zadworny, U. Kuhnlein and G.J. Fitzgerald (1993) Characterization of hypervariable macrosatellite loci in the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus*. Mol. Ecol. 2, 271-272.
- 6) Taylor, E.B. (1998) Microsatellites isolated from the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus*. Mol. Ecol. 7, 930-931.
- 7) Raymond, M. and F. Rousset (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. J. Hered. 86, 248-249.

- 8) Felsenstein, J. (1993) PHYLIP (Phylogeny Inference Package), version 3.5c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- 9) Higuchi, M. and A. Goto (1996) Genetic evidence supporting the existence of two distinct species in the genus *Gasterosteus* around Japan. Environ. Biol. Fish. 47, 1-16.

[国際共同研究等の状況]

なし

[研究成果の発表状況]

(1) 誌上発表 (学術誌・書籍)

- ① 森誠一：地域経済、19, 103-111 (1999)
「ハリヨから見た西美濃の水環境」
- ② 森誠一、高村健二：環境保全学の理論と実践I、信山社、22-44(2000)
「わが国におけるイトヨ類の生息現状と保全展望」
- ③ M. Ishikawa and S. Mori : Behaviour, 137, 1065-1080 (2000)
“Mating success and male courtship behaviours in three populations of the threespine stickleback”
- ④ 森誠一(分担執筆)：山と渓谷社、(2001)
「改訂版：日本の淡水魚」
- ⑤ 森誠一(監修編著)：信山社サイテック、(印刷中)
「環境保全学の理論と実践2」
- ⑥ 森誠一：京都女子大学自然科学論叢、33, 14-19(2001)
「トゲウオが危ない..」
- ⑦ 森誠一(分担執筆)：三重県紀勢町、(2001)
「紀勢町史 自然編淡水魚類」
- ⑧ 後藤晃、森誠一(編著)：北海道大学図書出版会 (印刷中)
「トゲウオの自然史」

(2) 口頭発表

- ① S. Mori and M. Ishikawa : The 3rd international symposium of sticklebacks, Vancouver. Canada (1999)
“Phylogeny, body size and male courtship behaviours in three populations of the threespine stickleback”
- ② 林 美紀子、村田 昌紀、中秀司、土田 浩治、椿 宜高：第46回日本応用動物昆虫学会大会 (2002)
「ウスバシロチョウにおける表現型変異と遺伝的変異」
- ③ 村田昌紀、中秀司、土田浩治：第19回日本動物行動学会大会 (2000)
「ウスバシロチョウ(*Parunassisus glacialis*)の翅脈のFAと交尾回数の関係」
- ④ 土田浩治：第19回日本動物行動学会大会 (2000)
「FAの至近要因:遺伝VS環境」
- ⑤ 森誠一：日本魚類学会年会 (2001)

「日本と世界のトゲウオ研究の現状」

- ⑥ 浅沼友子、五箇公一、鷺谷いづみ：第47回日本生態学会大会（2000）
「マルハナバチの商品化に関する遺伝的問題」
- ⑦ 渡辺勝敏、森誠一、西田睦：日本魚類学会年会（2001）
「ハリヨの遺伝的変異性と系統的位置」
- ⑧ McKinnon、森誠一：日本魚類学会年会（2001）
「イトヨ淡水型と遡河型における配偶成功と婚姻色」
- ⑨ 石川正樹、森誠一：日本魚類学会年会（2001）
「イトヨ属の種特異的配偶行動」
- ⑩ 高村健二：第48回日本生態学会（2001）
「河川周辺でのトンボ類分布の季節変動」
- ⑪ 高村健二：第49回日本生態学会（2002）
「河川流域の陸上環境と水生生物相との関連」

(3) 出願特許

なし

(4) 受賞等

なし

(5) 一般への公表・報道等

なし

(6) その他成果の普及、政策的な寄与・貢献について

今後、科学雑誌記事・講演会及び自治体・住民団体実施のビオトープ整備を通じ、成果の広報・普及に努める。