

アジア(タイ)の大型ダムによる河川下流への環境影響・水生昆虫のゲノム解析

*藤野 毅 (埼玉大・環境)、Penjai Sompongchaiyakul (Dep. Mar. Sci., Chulalongkorn Univ.)、
Supatra Davison (Dep. Aquat. Sci., Prince of Songkla Univ.)、西垣功一 (埼玉大・機能材料)

1. ラジャプラファダムと下流の河川環境

タイ南部のスラタニ地方に位置するラジャプラファダム(Rajjaprapha dam)は、貯水容量が $5,640 \times 10^6 \text{ m}^3$ であり、国内でも有数の大型多目的ダムである。南アジアは水資源確保のために、極めて大きなダムが建設されているが、河川の下流環境を調べることはほとんどない。そこで、近年になり、ダム湖と下流河川の水質調査が行われた (Fig. 1)。

ダムからの放流は、常時、表層から 30m 下層の位置で行われている。水質のプロファイルを見ると、雨季・乾季ともに水深 15m 付近で成層ができており、表層では 7-10 mg/L の十分な酸素濃度であるのに対し、深層は 0-2 mg/L の時嫌気状態である。そのため、放流時の河川の溶存酸素濃度は大きな支流に合流するまで 2 mg/L 以下が続き、合流した後も河口までの 50km は 5 mg/L 程度に留まっている。他の水質項目として、窒素の構成としては、アンモニアが多くを占めており、それが河口まで続いている (Fig. 2)。

このような背景のもとで、2007 年から 2008 年にかけて、ダムの上下流の底生生物のモニタリングを行った。まず、この地域の水温は一年中を通して水温が 25°C 程度でほぼ一定であり、平均 pH は 7.8 である。上流においては、生物指標として EPT (Ephemeroptera, Plecoptera, 及び Trichoptera) とも豊富であり、Coleoptera, Diptera, Hemiptera, 及び Odonata は一年中確認された。雨季の 9 月が種数・個体数ともにピークであった。ところが、ダム下流では、ごく一部の Ephemeroptera と Diptera (e.g. Baetidae, and Chironomidae) が確認できたのみであり、高いアンモニアと低い溶存酸素が生物相を貧弱なものにしている (Table 1)。

タイでは、河口部における海産物の管理のため、近年、それまでは水量の確保のみに着目していたが、ようやくその他の河川環境を調査するようになり、酸素供給も検討するようになった。

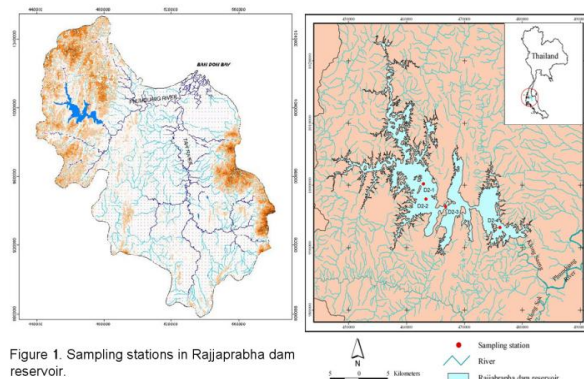


Figure 1. Sampling stations in Rajjaprapha dam reservoir.

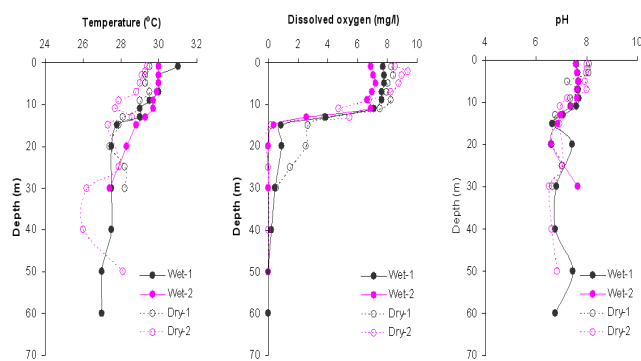


Figure 2. Temperature, dissolved oxygen and pH profiles in Rajjaprapha dam reservoir.

2. わが国と東南アジアのトビケラの近縁性の解析 (Genome Profile 法の適用例の紹介)

ヒゲナガカワトビケラ属は旧北亜区の南東などに広く分布しているが、その行動範囲は極めて狭く、地理的隔離による遺伝的多様性の高さが指摘されている。他方、近年では、サハリンやベトナム、台湾などで新種が発見されたり、命名されていない種が多数ある。これらは成虫の形態的な相違 (表現型) を元に区別されるが、遺伝的 (遺伝子型) にはどの程度の近縁性があり、それが形態的な相違とどの程度の対応があるかを調べた例は極めて少ない。

近年では、mtDNA による種系統の解析が主流になっているが、「遺伝子の水平移行」によって、すべて「正統な」遺伝子とは言えない場合があることも指摘されている。そこで、本研究ではゲノムプロファイリング法 (GP 法と称する (Nishigaki *et al.*, 1991)

Table 1 ダム上流の底生動物相

PHYLUM	Class/Order	Family	Taxa	FTG	Sept-88	Oct-88	Nov-88	Dec-88	Jan-89	Feb-89	Mar-89	Apr-89	May-89		
Arthropoda	Coleoptera	Dryopidae	Dryop. sp.	Co/Ga	-	1	-	1	-	-	-	-	-		
		Dytiscidae	Hydrovatus sp.	P	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			Laccodytes sp.	P	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Elmidae	Ondrevia sp.	CoSc	25	12	5	3	2	1	2	8	14	-	
		Grinidae	Gyrenes sp.	P	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
		Hydrinidae	Hydrana sp.	Ga	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	
		Hydrophilidae	Hydrophilus sp.1	CoSc	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	
			Hydrophilus sp.2	CoSc	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	
		Noroniidae	Norus. sp.	P	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Pyrophoridae	Dicranopsaphus sp.	Sc	1	1	-	3	-	-	-	-	-	1	
			Eubranes sp.	Sc	5	2	2	1	-	-	-	-	-	1	
			Pygmenoides sp.	Sc	21	17	10	1	-	-	-	3	-	3	
		Scirtidae	Elodes sp.	Ga	-	7	-	4	-	-	-	-	-	-	
		Diptera	Athericidae	Arichops sp.	P	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-
			Ceratomyzidae	Unidentified sp.	P	2	3	-	1	-	2	-	-	-	-
	Unidentified Pupa spp.		P	10	3	-	-	-	-	-	-	-	-		
Chaoboridae	Chaoborus sp.		-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-		
Chironomidae	Unidentified sp.		Ga	54	35	6	7	2	11	11	27	15	-		
	Unidentified Pupa spp.		Ga	10	3	-	-	-	2	2	4	1	1		
Drosophila	Drosoph. sp.		Ga	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Dichapodidae	Blythius sp.		P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Faquinidae	Hemerodromus sp.		P	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-		
Ephyrididae	Notiphila sp.		-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Unidentified Pupa spp.		-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-		
Muscidae	Lymphora sp.		P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2		
Phoridae	Megastela sp.		-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-		
Psychodidae	Unidentified sp.		-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Unidentified Pupa sp.		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Simuliidae	Unidentified sp.		F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2		
Syrphidae	Unidentified Pupa sp.		Ga	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Thaumastidae	Thaumalus sp.		-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Tephritidae	Unidentified spp.		SNP	6	20	5	12	-	-	-	-	-	-		
Ephemeroptera	Baranidae		Unidentified sp.	CoSc	66	38	14	3	6	5	15	18	71	-	
	Caniidae	Cennis sp.1	CoSc	16	15	10	1	-	-	1	2	6	-		
		Cennis sp.2	CoSc	-	1	-	1	-	-	1	2	3	-		
	Ephemerellidae	Serratella sp.	CoSc	1	2	1	-	-	-	-	-	2	-		
	Ephemerellidae	Ephemera sp.	Ga	3	5	3	-	-	-	-	-	-	-		
	Hyalotriidae	Eporus sp.	CoSc	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-		
		Eporus sp.	CoSc	41	32	28	19	1	11	16	2	32	-		
		Stenonema sp.	CoSc	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-		
	Leptophlebiidae	Choroterpes sp.	CoSc	10	2	-	-	-	-	-	-	-	4		
		Choroterpes sp.	CoSc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
		Paraglyptellaria sp.	CoSc	-	7	-	2	-	-	-	-	-	-		
	Hemiptera	Cixiidae	Memoratus sp.	P	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Cixiidae	Memoratus sp.1	P	5	-	1	-	5	3	2	1	3	-	
			Memoratus sp.2	P	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	
		Nysidae	Unidentified sp.	P	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
Pentidae		Aquarius sp.	P	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Veliidae		Tropothrips sp.	P	18	3	-	3	-	2	-	1	1	-		
Odonata	Calopterygidae	Unidentified sp.	P	6	2	-	-	-	-	-	2	-	-		
	Calopterygidae	Rhinocypha sp.	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
	Comepterygidae	Unidentified sp.	P	10	-	5	-	-	2	-	2	-	-		
	Conidae	Nesocordulia sp.	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Euphaeidae	Anisoptera sp.	P	3	4	1	2	-	-	2	-	-	-		
	Heurogasteridae	Heurogaster sp.	P	-	7	2	-	-	-	-	-	-	-		
	Libellulidae	Physignathus sp.	P	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-		
		Orientogomphus sp.	P	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-		
		Siribolus sp.	P	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-		
		Sinogomphus sp.	P	1	1	-	-	-	-	-	1	-	-		
		Unidentified sp.	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Protonetidae	Unidentified sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Plecoptera	Neurozetidae	Amphinemura sp.	CoSh	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	
		Pellidae	Tetropis sp.	P	10	11	15	3	-	-	-	-	-	1	
	Trichoptera	Bacynemidae	Microsemus sp.	CoSc	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	
Calamoceratidae		Anticentropus sp.	Sh	10	13	-	-	-	-	-	-	-	-		
Ecnomidae		Ecnomus sp.	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Hydropsychidae		Acraspeus sp.	F	4	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
		Hydropsyche sp.	F	-	9	11	-	-	-	-	-	-	-		
Hydropsilidae		Tricholeucthenus sp.	Sc	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
Leptoceridae		Oreoris sp.	Sh	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Odonocentridae		Palliseria sp.	Sc	21	-	2	-	-	-	-	-	-	-		
Polystomopodidae		Neureclipsis sp.	Ga	-	2	4	2	-	-	-	-	-	-		
Psychomyiidae		Psychomyia sp.	Ga	21	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
Strophomyiidae		Strophomyia sp.	F	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-		
Lepidoptera		Proctidae	Unidentified spp.	Sc	1	2	-	-	-	-	-	-	-	2	
		Orthoptera	Unidentified sp.	-	-	-	-	-	-	7	-	1	-	-	
		Acrona	Unidentified sp.	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Acanthia		Unidentified	Unidentified sp.	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Unidentified	Unidentified spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
Total Abundance (Indiv.)					459	275	129	78	17	48	38	73	173		
% species (Data richness)					55	48	76	75	8	44	15	15	15		

を採用し、細胞に含まれる DNA 全体を“広義のゲノム”として捉え、その 1 断面（プロフィール）を見ることで、国内外で採取した複数のヒゲナガカワトビケラ属の同種および異種間の近縁性を解析する。

解析に使用した標本は全て幼虫であり、国内では、*S. marmorata* (採取地：北海道、埼玉、大分)、*S. schmidi* (沖縄) であり、国外では、*S. siamensis* (タイ南部)、台湾・ミャンマー中東部 (イラワジ川支流)・中国東北部 (ハルビン) の判別不明種であり、他にも調査中である。DNA の抽出のための試料は、頭部 0.1~0.5mg を用い、アルカリ抽出法により行う。抽出した DNA の増幅に用いたプライマーとその塩基

配列は pfM19 (5' -CAGGGCGCGTAC-3') であり、特定の領域に特異的に結合するプライマーを利用せず、ゲノム DNA の種々の領域から断片を複製する。複製した試料を温度勾配ゲル電気泳動装置 (TGGE) にかけて、複数のバンドパターンを観察する。ここで、内部参照試料として、fd ファージの geneVIII を含ませることで、温度変調による各 DNA バンドの特異点 (二本鎖の融解開始点) を決定する。明瞭な DNA バンド 8 本から 10 本の特異点 (名称: spiddos) のパターン類似度を計算 (0 から 1 までの値) し、これをさらに距離の概念にあてはめる。ここで得られる距離を「ゲノム距離 (Genome distance)」と定義する。従来の単一遺伝子に関しての情報を元にする「遺伝的距離 (Genomic distance)」と性質は同様であるものの、厳密なゲノム距離として全ゲノム配列同士のハミング距離を当てるという点で大きく異なる。

8地点、6種間のゲノム距離を計算し、ワード法によって系統図を描かせてみた。当初の予想として、タイ産の種は水温が一年中高く、世代交代数が多くなることより、他と明確に区別されることが考えられたが、それ以外の種も同様に分散している。なお、本解析はすべて同科の種であるが、その発祥地はタイ・ミャンマー・ラオスの国境線付近（ゴールデントライアングル）と言われており、ミャンマー中北部の種が中心に位置することは興味深い。

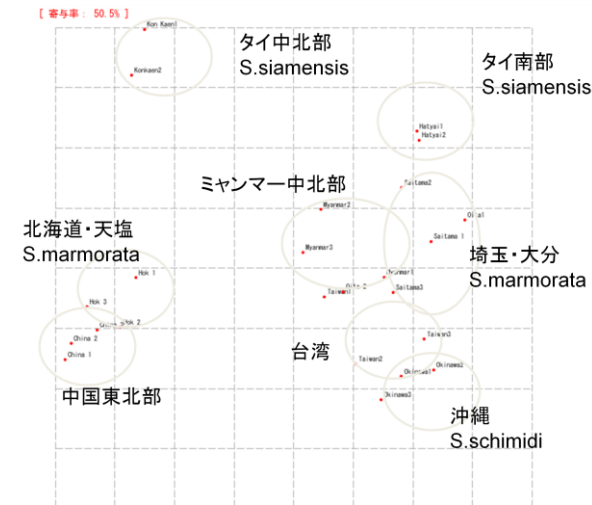


Fig. 3 ゲノムプロファイル法により導かれたヒゲナガカワトビケラ科の近縁性解析結果例