

(2) 保全遺伝学的調査の事例紹介

(株) 環境管理センター
環境基礎研究所
林 義雄

1. はじめに

野生生物を保全するための遺伝学を「保全遺伝学」と呼び、近年、急速な発展を見せている(小池・松井, 2003)。野生生物の遺伝学的研究が何故必要なのか、それを知ることで何がわかるのかを簡単に整理すると、第1に、遺伝子配列(遺伝的情報)には、進化の道筋、繁栄や衰退、分布の移動といった、その生物の生い立ちに関する様々な記録が刻み込まれており、歴史的な価値を有し、情報そのものに価値がある。これは、単に学術的な価値観によるものだけではなく、自然環境の保全や、生物資源の持続的活用といった、あらゆる事柄の基礎となっている(小池・松井, 2003)。このような極めて貴重な情報が失われることは、人類にとって活用可能な資源の大きな損失と考えねばならず、それを極力防止する必要がある。第2に、遺伝的多様性の低下と個体数の減少、つまり絶滅との関係が指摘されており、それにいち早く気付くことで、種や生態系レベルでの、生物多様性の衰退を食い止めることができる(米田, 2003)。第3に、外見での区別が難しい隠蔽種の分類を行うことで、種レベルでの生物多様性を正確に把握し、正しく環境を評価することが可能となる(林, 1998, Hayashi & Yun; 林ら, 2001)。これらの情報は、生物の保全を考える上でも極めて重要であり、今日、一般的に行われている種や生態系レベルでの調査同様、広く取り入れられるべき価値のある調査項目である。ここでは、民間企業の生物調査業務に携ってきた観点から、いくつか興味を持った保全遺伝学的調査の事例について紹介する。

2. 保全遺伝学的調査の事例

2. 1. 遺伝的多様性による環境評価

カゲロウ、カワゲラ、トビケラなど、河川に生息する水生昆虫の多くは、幼虫の流下を補償するために、成虫が遡上飛行を行うことが知られている(西村, 1987; 谷田, 2001)。飛行高度は、水面から10m以下の場合が多く、大ダム(堤体の高さが15m以上のもの)はもちろんのこと、小型の砂防堰堤でも、遡上障害が起こる可能性が指摘されている(谷田, 2001)。ダム直下では、特定的水生昆虫の生息密度が高くなるなど、群集構造が変化することが知られているが(谷田, 2001)、ダムによる分断のため、その前後での遺伝的交流が断たれ、遺伝的多様性にも影響が及んでいる可能性がある。この影響を直接評価するには、遺伝子レベルでの調査が必要となる。目的にもよるが、系統解析を行う必要が無く、遺伝的多様性を環境指標とするだけであれば、必要な情報は、遺伝子頻度(p)や遺伝子多様度($h=1-\sum p^2$)などであり、もし塩基配列の解析をしなくとも変異を検出可能な簡易で低コストな方法があれば、それらを利用するのも良いだろう。

小川原ら(2005)はウルマーシマトビケラ(*Hydropsyche orientaris*)について、渡辺ら(2005)らはヒゲナガカワトビケラ(*Stemopsyche marmorata*)について、RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)法により遺伝的多様性を調査し、河川環境の評価に用いることを試みた。それぞれの調査において、ダムによる遺伝的交流の分断の影響が検出された。分断の影響は、湛水面積の大きなダム湖ほど大きくなり、水生昆虫の移動に配慮した河川管理で、許容可能なダムの大きさを決定できると考えられた(渡辺ら, 2005)。また、遺伝的多様性は、都市化の影響や集団サイズと関係があり、河川環境の指標として利用

できると考えられた(小川原ら, 2005; 渡辺ら, 2005)。ただし、シマトビケラ類の幼虫には区別の難しい近縁種が複数存在するため、同定には熟練を必要とする。そのため、同定のための遺伝子マーカーを併用できれば、より利用しやすくなるだろう。

RAPD 法以外にも、PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) 法や PCR-SSCP (Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism) 法などの多型解析手法が、同目的のために利用可能と考えられる。これらは、いずれも PCR 産物を電気泳動により分離し、塩基配列の違いを泳動距離により識別する手法であるが、それぞれ長所と短所を併せ持つ。RAPD 法は、最も簡易かつ低コストであり、非特異的プライマーを用いるため生物種を選ばず、全遺伝子が対象領域となるので後の手法と比較して情報量も多い。ただし、かなり慎重に行わないと、コンタミの影響があったかもしれないという疑惑を排除しきれない。PCR-RFLP 法は、特異的プライマーを用いるため、種ごとにプライマーを用意する必要があるが、逆にコンタミの影響は少なく再現性が高い。安価な制限酵素が利用できれば比較的 low コストであるが、特殊で高価な酵素が必要となる場合もある。PCR-SSCP 法も、特異的プライマーを用いる。数塩基程度の差が検出されない場合もあるが、低コストな割に件出力が高い。環境アセスメントなどで利用するのであれば、煩雑な操作となっても再現性の高い手法が望まれるため、特異的プライマーを利用した手法の方が、安心感がある。ただし、目的に合ったプライマーの知られていない生物については、その開発のために大きなコストがかかる。いずれにしても、目的や予算に応じて最適な手法を選択すべきである。

2. 2. 人為的移入による遺伝的汚染の評価

近年、外国産クワガタムシの多くの種が輸入解禁となり、国内産のものより大型で、珍しいクワガタムシがペットショップやデパートで安く購入できるようになった。安易に購入できるようになったペット昆虫は、飼育方法の不備により逃げ出したり、飼い切れなくなったという理由で放逐されたりすることも多く、野外で発見される例も出てきている。中には国内産種との交雑が可能なものもあり、生態リスクや遺伝的汚染、そして病害や寄生虫の伝播などが心配されている(五箇公一・小島啓史, 2004; 五箇公一, 2005)。他にも、外来種による遺伝的汚染が問題となっている例としては、台湾ザルとニホンザル、中国産メジロとメジロ、タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴ、セイヨウオオマルハナバチとエゾオオマルハナバチ、オオカワヂシャとカワヂシャ、セイヨウタンポポとタンポポなど数多くの動植物があげられる(村上・鷲谷, 2002; 芝池ら, 2002; 名執, 2004; 角野, 2004)。これらの外来種と交雑した国内産種の中には、交雑の影響が、外見により明らかな場合もあれば、遺伝子の解析を行わなければわからない場合もある。例えば、台湾ザル問題では、日本霊長類学会(2003)が、和歌山の交雑群について、血液タンパク質の電気泳動による遺伝子型の解析と共に、ミトコンドリア遺伝子のシーケンスと前述の PCR-RFLP 法を併用して交雑の影響を評価している。

外国産種による外来種問題は比較的的理解しやすいが、国内産種についても、自然分布域を超えて人為的に移入された場合は外来種(国内外来種)となることを、一般的には、まだまだ理解されていないかもしれない。国内産種、しかも同種であっても、人為的な移入により遺伝的攪乱が生じれば、それは遺伝的汚染であり、外国産種との交雑同様問題である。国内産種同士の遺伝的汚染が問題となっている例としては、ゲンジボタルが有名である(大場, 2004)。ゲンジボタルは比較的移動性が乏しく、地理的な分化の傾向が強く現れている種である。ミトコンドリア遺伝子(COII 領域: cytochrome oxidase subunit II) による系統解析の結果からは、地域性のあるいくつかの集団に分けることができる(Suzuki et al.,

2002)。これは、以前より言われてきた発光パターンの違い(大場, 1989)、すなわち「ホタルの方言」とも、整合性がとれている(Suzuki et al., 2002)。しかし、東京都においては、遺伝子レベルでの調査の結果、在来の関東型以外にも、中部型や西日本型に分類される個体群の存在が明らかとなっており、これらは人為的移入に由来すると考えられている(内藤, 2003; 林, 2005)。今のところ、これらの問題については、一般市民の認識を深めるための広報活動以外に、法制度などの効果的な対策は講じられていない。しかし、一部の市民団体では、遺伝子配列の解析サービスなどを利用しながら、この問題についてどう対応すべきか模索している。

また、環境アセスメントなどで採集された生物が、在来のものであるかどうか問題となることもある。まったく調査のされていない種であれば判断のしようが無いが、比較的良好に分布調査が行われているにもかかわらず、それまで採集記録の無かった地域から採集される場合がある。それが、トウキョウサンショウウオのような保全の対象となる生物であった場合、その対応は難しい。本種は極めて低移動性で、特徴的な生息環境を必要とするため、現在知られている自然分布域を大きく外れて採集されることは無いと考えられる。したがって、非分布域から採集された場合、人為的移入や誤同定の可能性も考えられるが、それを証明するための判断材料が必要である。もしも、遺伝子レベルでの調査により、それが在来個体群でないことがわかれば、対応の仕方も変わってくるだろう。

ただし、遺伝子レベルでの調査は、移入個体であることを証明して、開発が行えるようにするのが目的ではなく、本種の保全のため、自然分布域を無視した移植を防止したり、遺伝的多様性を維持するためのモニタリングを行ったりすることが、本来の目的である。トウキョウサンショウウオの場合、ミトコンドリア遺伝子の D-loop 領域内にある超可変領域 2(hyper-variable region 2)に、地域性のある変異が認められており、保全遺伝学分野での応用が期待できる(林, 投稿中)。

3. おわりに

生物多様性は、「遺伝子」、「種」、「生態系」の3つのレベルで構成され、それぞれのレベルでの多様性が、互いに支え合って維持されている。したがって、生物多様性を正しく評価するためには、それぞれのレベルでの調査が必要である。しかし、今のところ、遺伝子レベルでの調査は学術目的のものが多く、環境アセスメントなど、保全遺伝学を最も活用すべき場面では、まだ普及するには至っていない。ここで紹介した事例の中には、まだまだ検討の足りないもの、追試や実証試験が必要なものもあるが、すぐにでも活用した方が良いと思われるものもある。おそらく、将来的には手法も一般化され、遺伝子レベルの調査が、環境アセスメントにおいても普通に受け入れられるようになるだろう。しかし、それを早く現実のものとするために、保全遺伝学的調査手法を試験的にでも取り入れていくべきではないだろうか。なぜなら、失われた遺伝的多様性を回復させるためには、気の遠くなるような年月が必要だし、失われた種は、二度と戻らないからである。

4. 参考文献

- 五箇公一・小島啓史(2004): 外来昆虫の引き起こす問題—外国産クワガタムシの輸入をめぐる。環動昆. 15(2): 137-146.
- 五箇公一(2005): 移入種による生物多様性の攪乱—外国産クワガタムシの商品化がもたらす生態リスク. 生物科学. 56(2): 69-73.
- 林 義雄(1998): 酵素多型によるコガタシマトビケラ属(*Cheumatopsyche*: Trichoptera;

Hydropsychidae) 3種の分類. 陸水学雑誌, 59: 175-183.

HAYASHI, Y. and YUN, S. (1999): Association of Larval and Adult Stages of *Cheumatopsyche galloisi* (MATSUMURA, 1931) (Trichoptera: Hydropsychidae) Using Esterase. Jpn. J. Limnol., 60: 379-384.

林 義雄・町田和俊・尹 順子 (2001): 多摩川水系におけるコガタシマトビケラ属(*Cheumatopsyche*: Hydropsychidae)幼虫の分布と環境要因について. 陸水学雑誌, 62: 51-59.

林 義雄・尹 順子(2004): シマトビケラ類におけるミトコンドリア遺伝子の SSCP 解析. 日本陸水学会第 69 回大会講演要旨集. p236.

林 義雄(2005): ゲンジボタルの保全遺伝学的調査—身近な生き物の遺伝的多様性の人為的攪乱と対策の提案—. 環境と測定技術(1月号). 32(1): 57-61.

林 義雄・草野 保(投稿中): ミトコンドリア遺伝子 D-loop HV2 領域に基づくトウキョウサンショウウオの地域間変異. 日本爬虫両棲類学報.

角野康郎(2004): 水草ブームと外来水生植物. 用水と廃水, 46:63-68.

小池裕子・松井正文(2003): 保全遺伝学 (小池裕子・松井正文 (編)), 東京大学出版会, 東京. p292

村上興正・鷲谷いずみ(監)(2002): 外来種ハンドブック. (日本生態学会 (編)), 他人書館. p 408.

村上興正(2004): 外来種管理の現状と課題. 用水と廃水, 46: 76-82.

内藤親彦(2003): 昆虫類. p.241-258. 保全遺伝学 (小池裕子・松井正文 (編)), 東京大学出版会, 東京.

名執芳博(2004): 外来種による生態系攪乱問題への取組み. 用水と廃水, 46: 42-47.

日本霊長類学会(2003): 和歌山タイワンザル交雑群に関する報告(2003年12月)(<http://www.soc.nii.ac.jp/psj2/taiwanzal.html>)

西村 登(1987): ヒゲナガカワトビケラ. 文一総合出版. 東京. p144.

大場信義(1989): 西と東で異なるゲンジボタル. 昆虫と自然, 24:2-6.

大場信義(2004): ゲンジボタルの安易な養殖・放流がもたらすもの. 用水と廃水, 46: 57-62.

Suzuki, H., Y. Sato and N. Ohba (2002): Gene diversity and geographic differentiation in mitochondrial DNA of the genji firefly, *Luciola cruciata* (Coleoptera: Lampyridae). Mol. Phylogenet. Evol., 22: 193-205.

綿野泰行(2001): SSCP 分析法. p263-274. 森の分子生態学 (種生態学会 (編)), 文一総合出版, 東京.

小川原享志・渡辺幸三・吉村千洋・大村達夫, 2003. 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—. 水環境学会誌, 26: 223-229.

芝池博幸・大黒俊哉・井手任(2002): 農業生態系の持つ自然循環機能に基づいた食料と環境の安全性の確—DNA からみたタンポポ属植物の雑種個体の識別と全国分布. 農業環境研究成果情報. 18: 22-23.

谷田一三(2001): 水生昆虫. p172-189. ミティゲーション.(森本幸裕・亀山 章(編)) ソフトサイエンス社, 東京.

渡辺幸三、大村達夫(2005): 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, 790/VII-35, 49-58.

米田正明(2003): 遺伝的多様性保全のためのプロジェクト. p59-75. 保全遺伝学. (小池裕子・松井正文(編)) 東京大学出版会, 東京.