

ヨツボシトンボの遺伝子解析からみたベッコウトンボの保護*

山口県環境保健研究センター

福永 健一・富田 正章・澄田 和歌子・歳弘 克史・手島 義人・片山 淳

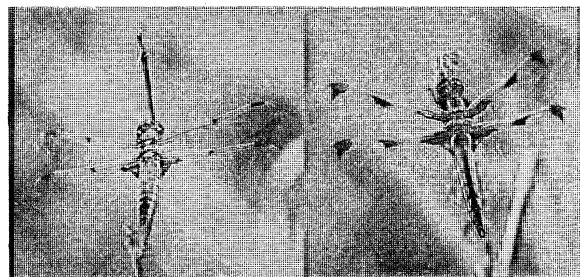
The Protection plan of *Libellula angelina* on the basis of DNA analysis of *Libellula quadrimaculata asahinai*

Kenichi FUKUNAGA, Masaaki TOMITA, Wakako SUMIDA, Katsushi TOSHIHIRO
Yoshito TESHIMA, Atsushi KATAYAMA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Public Health

1 はじめに

ベッコウトンボ (*Libellula angelina*) は絶滅危惧 I 類 (CR+EN) であり「絶滅のおそれのある野生動物の種の保存に関する法律」に指定されており、山口県を含め全国でも数県のみになんか生息していない。そこで、著者らの 1 人、福永は、このベッコウトンボが生息する池沼の生息環境を数量化理論 (II 類, III 類) を用いて解明し、ベッコウトンボ個体群の保全を提唱した¹⁾。一方、ベッコウトンボの保全には種の保存という観点から遺伝子解析も有用な手段と考えられるが、ベッコウトンボは法的に捕獲が難しい。そこで、ベッコウトンボと①同属種、ほぼ同一の生息環境、同時期に出現する、②種間雑種個体²⁾を形成する、③県下各地に生息すること等でヨツボシトンボ (*Libellula quadrimaculata asahinai*) を選定すると同時に、生息地域を山口県の瀬戸内側、山間地及び日本海側に大別し、その遺伝子解析をもとに遺伝子多様性の側面からベッコウトンボの保護について検討した。



ヨツボシトンボ (♂) ベッコウトンボ (♂)
図 1 ヨツボシトンボとベッコウトンボの姿態写真

6 頭/箇所を 2002 年 5 月 8 日~24 日に捕獲した。

なお、選定した池沼は表 1 に示すように広さ、水草の種類等多様な特性を有する池沼環境である。

(3) DNA の抽出と RAPD 解析

遺伝子分析において、簡単に、しかも短時間で DNA を増やす方法として、PCR 法という方法が開発された。

2 方 法

(1) ヨツボシトンボ (♂) とベッコウトンボ (♂) の姿態

図 1 にヨツボシトンボとベッコウトンボの姿態写真を示す。ヨツボシトンボは 2001 年 4 月 26 日に、ベッコウトンボは 2001 年 5 月 4 日に撮影したものである。

(2) 捕獲池沼

図 2 に捕獲池沼を示すが、山口県の瀬戸内側の秋穂町 A と B 池沼、山間部の美祢市の C 池沼と福栄村の D 池沼及び日本海側の豊浦町の E 池沼と田万川町の F 池沼、計 6 箇所においてヨツボシトンボ (♂) 5~

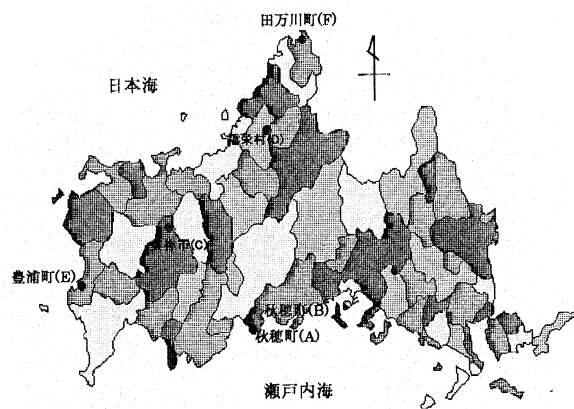


図 2 捕獲池沼

*本報告の要旨は、2002 年度日本蜻蛉学会 (2002 年 11 月・東京都) において発表した。

表1 捕獲池沼の特性

生息地域	池沼名 (所在市町村)	広さ (㎡)	深さ (cm)	水草の種類	水草 繁茂率 (%)	水質	
						PH	COD (mg/L)
瀬戸内側	A池沼 (秋穂町)	1,300	85	スイレン, ヨシ	80	5.6	5.2
	B池沼 (秋穂町)	2,700	40	ヒメガマ (一部ヨシ)	80	6.6	8.4
山間地	C池沼 (美祿市)	2箇所×100	30~100	ガマ (陸地化) ヒシ	95	6.9	4.4
	D池沼 (福栄村)	300	40	ヒメガマ (ガマ間にヒルムシロ)	95	6.9	4.1
日本海側	E池沼 (豊浦町)	6,700	20 (水草部分)	フトイ	12	7.2	3.9
	F池沼 (田万川町)	12,500	50 (水草部分)	フトイ, サンカクイ	10	6.4	4.7

これは一つのDNA断片をわずかな時間で多量に増やすという画期的な方法である。このPCR法の一種であるRAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 法を用い、ヨツボシトンボの胸部組織からDNeasy Tissue Kit (Qiagen K. K., Tokyo, Japan) でDNAを抽出し遺伝子解析を行った。

RAPD解析はReady-To-Go RAPD Analysis Beads (Amersham Pharmacia Biotech, England) の仕様書に従い実施した。解析にはプライマーNo.6 (5'-CCCGTCAGCA-3') を用いた。PCR (Polymerase Chain Reaction) 産物は3%アガロースで泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、Gel Dog System (日本バイオ・ラッドラボラトリーズ(株), 東京) を用いて群平均法 (UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages)) によるクラスター分析で泳動パターンの類似度を測定した。

(4) クラスター分析

クラスター分析とは、異なる性質のもの同士が混ざり合っている集団 (対象) の中から、互いに似たものを集めて集落 (クラスター) を作り、集団 (対象) を分類しようという方法を総称したものであり、数値分類法とも呼ばれる。クラスター分析には、様々な方法が提唱されているが、ここでは階層的手法の中の群平均法を採用した。群平均法では、全てのデータ間の距離を計算しクラスターを形成していく。この距離が小さいほど良く似ていることになる。クラスター分析を用いることで、サンプル間の類似性や分類を簡単に調査できる。

3 結果及び考察

各捕獲池沼間距離を表2に、RAPD法で得られたヨツボシトンボの遺伝子パターンのクラスター分析を図3に示す。

表1, 表2及び図3のデータを用い種々検討した結果、以下のことが想定できる。

- (1) ヨツボシトンボにおける遺伝子の多様性を解析する方法として、酵素反応を利用して遺伝子 (DNA) を試験管内で増幅させることができるPCR法の一種であるRAPD法は有効な分析手法の一つである。
- (2) 基本的には、遺伝子パターンは生息池沼毎に相違しているが、詳細にみると、ヨツボシトンボの遺伝子パターンは、ほぼ3つのグループ①D1~E1, ②A1~C5及び③E2~E5に分類することができる。①のグループは、福栄村の池沼 (D池沼), ②のグループは、秋穂町の池沼 (A池沼, B池沼) 及び美祿市の池沼 (C池沼), ③のグループは日本海側池沼すなわち、豊浦町の池沼 (E池沼) 及び田万川町の池沼 (F池沼) が主体となっている。

すなわち、美祿市における池沼のヨツボシトンボ遺伝子パターンは、瀬戸内側の池沼 (秋穂町) に近似している。また、日本海側の池沼 (豊浦町, 田万川町) は距離的に約85kmと離れているのに遺伝子パターンは近似している。

- (3) E池沼 (豊浦町) のヨツボシトンボ5頭の内、1頭が①のグループのクラスターに入っている。これが倉ら³⁾が言う池沼内での亜個体群の形成であると思われるが、その理由の一つとして、捕獲池沼は6,700㎡と広さは中規模であるが付近に当該池沼を含み11池沼が点在し、この影響により羽化水域や繁

表2 捕獲池沼間距離

池沼名	A池沼 (秋穂町)	B池沼 (秋穂町)	C池沼 (美祢市)	D池沼 (福栄村)	E池沼 (豊浦町)	F池沼 (田万川町)
A池沼 (秋穂町)		2	35	49	49	72
B池沼 (秋穂町)	2		33	47	48	71
C池沼 (美祢市)	35	33		35	29	57
D池沼 (福栄村)	49	47	35		64	24
E池沼 (豊浦町)	49	48	29	64		85
F池沼 (田万川町)	72	71	57	24	85	

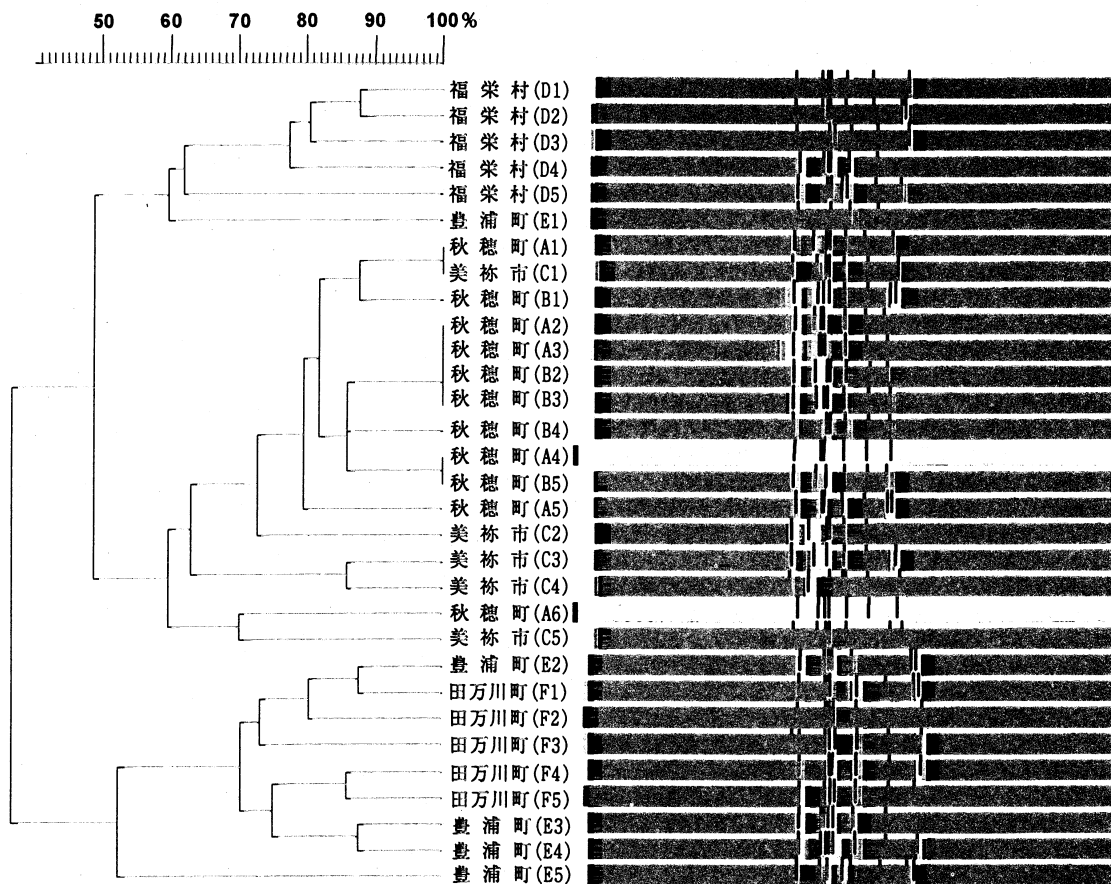


図3 各池沼におけるヨツボシトンボのクラスター分析

殖行動水域が異なることから遺伝的に多様性にとんだヨツボシトンボが維持されていると考えられる。

なお、この1頭は翅が黒帯型でもなく、福井が指摘するベッコウトンボとの種間雑種個体²⁾でもない。

(4) 同一池沼でのヨツボシトンボは、ほぼ同じクラスターを形成する傾向にあり、特に、D池沼におけるヨ

ツボシトンボ5頭の遺伝子は類似性が高くなっている。言い換えれば、遺伝子が多様性を失い、均一化していることを示している。この理由の一つとして、池沼の広さが300㎡と狭いことが考えられる他、1回の調査であったことから兄弟同士を捕獲したことも否定できないので継続して調査する必要性を認める。

- (5) 各池沼のヨツボシトンボ遺伝子の相違が、広さ、深さ、植生の状態及び水質等の要因に影響されているのかどうかは、現在のところ不明である。
- (6) ヨツボシトンボとベッコウトンボとの間に種間雑種個体^{2, 4)}をつくることから両種間には、ほとんど共通の遺伝子を持つと仮定できる。このことと上記(1)～(5)の結果から推察すると、ベッコウトンボについて以下のことが言える。

山口県のベッコウトンボの生息地は、中部から西部にかけての瀬戸内側に5池沼あり距離的に最大で28km以内に収まっているため、遺伝的には近似性が高い地域個体群を形成しているものと考えられる。また、生息池沼の広さは最大で約2万m²であり亜個体群を形成する可能性は低いため、これら池沼の一つにベッコウトンボの絶滅が起これば、近くの池沼に新たな遺伝子注入が出来なくなり、遺伝子の均一化がおこるとともに、福永が2001年に調査研究した¹⁾植生の遷移化の進行とともに連鎖反動的に県下

のベッコウトンボが絶滅する方向に向かうのではないかと懸念される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、倉品治男先生及び福井順治先生に御助言を戴いた。ここに記して謝意を表する。

参考文献

- 1) 福永健一「ベッコウトンボの生息環境」：山口県環境保健研究センター業績報告, 22, 44～47 (2001) (2002年第36回 日本水環境学会年会講演集p.344)
- 2) 福井順治「桶ヶ谷沼におけるベッコウトンボの生息条件」昆虫と自然 Vol.32 No.7 6-10 (1997)
- 3) 倉品治男他「ベッコウトンボが減少した原因についての一考察」昆虫と自然 Vol.36 No.7 5-9 (2001)
- 4) 環境庁：日本の絶滅のおそれのある野生生物－レッドデータブック－無脊椎動物編。(初版) p.40 (1992)