

## 塩川ダムによる河川環境の変化が水生昆虫群集に与える影響

山梨大学 非会員 有賀 廣弥  
 山梨大学 正会員 ○金子 栄廣  
 山梨大学 正会員 八重樫 咲子

### 1. はじめに

ダムは河川の流量を調節するため、生息する水生生物に影響を与える。ダムは、水害などから人々の財産と命を守る治水機能と、水需要・電力需要を満たす利水機能を目的として建設された(田辺 2011)。通常ダムの存在しない自然状態の河川では渇水期や出水期が存在するが、ダムが建設されることにより年間の流量変動が平坦化することが知られている(Lytle&Poff 2004)。このような流量の平坦化は水生生物の餌となる藻類の発生状況や生息場所となる河床材料の構成、有機物の供給状況、水質悪化など河川環境に影響を与える(田辺 2011, 三宅 2013)。その結果、流域に生息する水生生物の多様性にも影響を与えている(田辺 2011)。例えば、流量変動が平坦化した河川では、安定な基質を好む造網性トビケラなどのような底生動物の増加や、外来種の侵入が報告されている(三宅 2013)。

ダムが流域内に生息する水生生物に与える影響を調査する際には生物調査が行われる。従来の生物調査では、魚類や底生動物のような水生生物を調査地点で採取し、1 個体ずつ種名を調べる形態同定が行われている。この形態同定による生物調査の利点は、採取した生物が調査地点に生息していることが確認できる点である。しかし、底生動物のように小さな生物の形態同定では、検索表における分類キーが複雑である点や、損傷した個体や分類キーとなる部位が未発達な若齢個体は同定が困難であるという問題点が存在する。

形態同定を基にした生物調査の問題点を克服する手法として環境 DNA が期待されている。環境 DNA とは、河川等の水中に含まれる DNA であり、流域内に生息する生物の体組織の一部や排泄物の断片が環境中に放出されたものと考えられている(東樹 2016)。調査地点で河川水を採取して水中に含まれていた環境 DNA を分析することで、そこに生息する水生生物の群集構造を推定することができる。

本研究では、釜無川本川と塩川を対象に、形態同定と環境 DNA の両手法を用いて底生動物の調査を行った。まず、両河川の上下流の底生動物種多様性を比較することで塩川ダムが底生動物にもたらす影響を評価した。次に、両手法で得られた水生昆虫種多様性を比較することで、水生昆虫を対象とした生物調査への環境 DNA の有効性を整理する。

### 2. 方法

#### 2-1. 調査方法と調査地点

2018 年 11 月に釜無川および塩川の上・下流で底生動物の採取と河川水の採水を行った(図-1)。釜無川の調査地点は釜無川最上流部(標高 876m, 図-1①)と釜無川花水橋付近(標高 528m, 図-1②)である。塩川の調査地点は塩川ダム上流部(標高 977m, 図-1③)、道の駅にらさき付近(標高 413m, 図-1④)である。塩川の調査地点間には塩川ダムが存在する。

#### 2-2. 底生動物の種多様性調査

D フレームサンプリングネットを用いて、底生動物のサンプリングを行った。底生動物は、河床材料中や河床表面に生息している。そこで足で河床を蹴り、攪乱するキッ

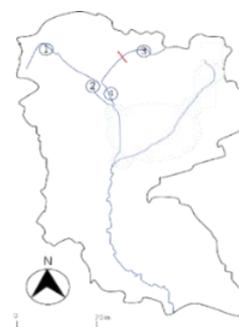


図 1 富士川水系図と調査地点

キーワード 水生昆虫群集, 塩川ダム, 形態同定, 環境 DNA

連絡先 〒400-8510 山梨県甲府市武田 4 丁目 4-37 TEL : 090-7933-1558 E-mail : sakikoy@yamanashi.ac.jp

クネット法により底生動物を採取した。底生動物の採取は瀬や淵などそれぞれ異なる環境でランダムに複数回、30分を目安に1名が行った。採取した底生動物はプラスチックボトルに入れ、99.5%エタノール中で保存した。

採取物を実験室に持ち帰り、落ち葉や砂などを除去して底生動物のみ取り出すソーティングを行なった。取り出した底生動物は調査地点ごとプラスチックボトル中に保管した。保管溶液には99.5%エタノールを用い、標本は4°Cで保存した。その後、底生動物の形態に基づいて生息していた底生動物の分類群の同定を行った。水生昆虫の同定は実体顕微鏡(OLYMPUS SZ61)を用いて科レベルまで調べ、個体数を計数した。また、本研究の形態同定は、『日本産水生昆虫 第二版』(河合・谷田 2018) および『河川生物の絵解き検索』(環境省 2017) による分類キーに従った。

### 2-3. 環境 DNA を用いた生物調査方法

前述の調査地点において、水サンプルを約 10L ずつ採取し、孔径 0.2  $\mu\text{m}$  の濾紙で 500m L ずつ濾過を行った。次に、DNA 抽出をフェノールクロロホルム抽出により行った。その後、各調査地点における環境 DNA の PCR 増幅を行った。PCR 増幅では、ミトコンドリア DNA の Cytochrome Oxidase I 領域の増幅を行った。使用した試薬は、PCR グレート水 24 $\mu\text{L}$ 、2.5mM dNTP (TaKaRa) 4 $\mu\text{L}$ 、5X Phusion HF Buffer (New England BioLabs) 10 $\mu\text{L}$ 、BF1 Primer 2.5 $\mu\text{L}$ 、BR2 Primer 2.5 $\mu\text{L}$ 、DMSO 1.5 $\mu\text{L}$ 、Phusion DNA Polymerase 0.5 $\mu\text{L}$ 、10 倍希釈した DNA 5 $\mu\text{L}$  を加え、全量 50 $\mu\text{L}$  になるように調整した。PCR 条件は、最初に 95°C 3min の変性反応後、変性反応 95°C 30sec、アニーリング 50°C 30sec、伸長反応 72°C 30sec を 35 サイクル行なった。最後に 72°C 5min の伸長反応を行い、4°C で保存した。その後、電気泳動を行い、PCR 産物のチェックを行った。PCR 産物は MiSeq (Illumina) と MiSeq Reagent v3 (Illumina) 試薬を利用して DNA 配列を両端から 300bp ずつ解読した。この解析は株式会社生物技研に委託して行なった。解読配列はクオリティの低い配列を取り除き、BLAST を用いて由来となる生物種を検索した。

## 3. 結果と考察

前述の 4 つの調査地点におけるサンプル計 6,092 個体を同定したところ、個体数・分類群数ともに塩川の方が釜無川本流に比べ、多く検出された(表 1)。また、Simpson の多様性指数 D と Shanon-weiner の多様度指数 H' はいずれも上流部に比べ、下流部の方が高い値を示した(表 1)。このことから、上流部に比べて下流部の方が水生昆虫の種多様性が高いということが言える。このように、ダムが存在しない釜無川では下流に向かうにしたがって多様性の変化幅が急であるのに対し、ダムが存在する塩川では多様性の変化幅が緩やかであったことから、ダムが水生昆虫の種多様性に影響していると考えられる。

表 1 底生動物の形態同定に基づく種多様性指数

	釜無川 (ダムなし)		塩川 (ダムあり)	
	釜無川最上流	花水橋	塩川ダム上流	塩川ダム下流
個体数	1,305	977	1,627	2,183
分類群数 ( $\alpha$ 多様性)	23	22	27	28
Simpson 多様性指数 D	0.28	0.72	0.62	0.70
Shanon-weiner の多様度指数 H'	1.17	2.76	2.36	2.60

## 謝辞

本研究は科学研究費補助金(番号 18K13858)、および山梨大学分野横断的融合研究プロジェクトの資金的援助を受けました。ここに謝意を表します。