

小河川・農業用水ネットワークにおける魚類の多様性と環境要因

(独) 国立高専機構 岐阜工業高等専門学校 学生会員 ○渡邊美咲・藤井美有

(独) 国立高専機構 岐阜工業高等専門学校 正会員 和田 清

水圏環境研究会 寺町 茂

1. はじめに

近年、河川改修工事や農業水路の整備が多く進められており、生物生息環境への配慮が不可欠となっている。そのため、魚類などの生物に適した生態系ネットワーク保全の具体策が求められている。そこで、本研究では生物多様性に着目して、犀川流域を対象とし調査、研究を進めており、まず、犀川流域における魚類生物相を把握し、生息場に及ぼす環境要因を抽出する。次に、河川や農業用水、水田を往来し、生態系ネットワークの連続性を把握する上で主要な在来種であるタモロコに着目し、マイクロサテライト DNA 手法を用いて、世代を越えた移動の過去の履歴から個体群の遺伝的多様性と遺伝的分化状況を把握し、優先的に保全・整備すべき地点を選定する。

2. 研究方法

(1) 現地調査による類似度指数評価

犀川流域は、根尾川、揖斐川、長良川の河川に囲まれているとともに内部にいくつもの水路網を有している(図-1 参照)。また、根尾川の扇状地の末端部にも位置することから、流域内には湧水や水中植生が生育し、水温変化が小さい。そのため、定住型の魚が多く、流域内移動する魚も生息しているため、種の多様性が高い。

2014 年 7 月 16 日～9 月 6 日にかけて岐阜県本巣市内にある水域のうち 19 地点(池を含む)を対象に魚類生息調査を行った。図-2 には犀川流域での調査地点(10 地点)を示した。調査は河川、水路規模に応じて、投網、たも網、さで網で採捕し、36 種 2068 個体(在来種:19 種 1788 個体、外来種:2, 2, 希少種:15, 278)が確認された。各支川の生物相の類似性を検討するため、その地点に生息する魚の種類・個体数をもとに、類似度指数を求めた。類似度指数の求め方は、Horn の重複度指数を用いた。この結果より、デンドログラム(樹形図)を作成し、階層クラスター解析を行った。

(2) マイクロサテライト DNA 分析による評価

a) プライマーの選定

タモロコのマイクロサテライト遺伝子座については 14 遺伝子座が開発されている。そこで、14 遺伝子座の中から犀川流域に生息するタモロコに適した遺伝子座の選定を行った。犀川流域の 14 流路 32 地点でタモロコ(約 200 尾)を採取した。プライマーの選定方法については、そのうちの 16 地点(各 1 尾)のタモロコを用いた。DNA 抽出には市販キット(QIAGEN 製)を用い、図-3 の手順で分析を行った。

b) 解析方法¹⁾

標本内の遺伝的多様性については、各遺伝子座における対立遺伝子数およびヘテロ接合度を推定する。式(1)で示されるヘテロ接合度 H_E は遺伝子座におけるヘテロ接合型の遺伝子頻度に相当し、遺伝子多様度のひとつとして、0～1 の値をとり、1 に近いほど多様度が高いことを示している。複数の集団間の遺伝的違い(分化)については、各集団に Hardy Weinberg 平衡を仮定した上で、遺伝的分化尺度 F_{ST} を式(2)より算出し、その値を用いて系統樹作成を行う。 F_{ST} の評価基準については、0～0.05 で分化なし、0.05～0.15 で中度、0.15～0.25 で高度、0.25 以上できわめて高度に分化していると判断した。

$$H_E = \frac{2N(1-\sum a_i^2)}{2N-1} \quad -(1) \qquad F_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T} \quad -(2)$$

上述の a) で得られたプライマーを用いて、犀川流域の 18 地点(各 4 尾)と、サンプル個体数によるヘテロ接合度の変動を評価するための 1 地点(10 尾)、計 19 地点(82 尾)について解析を行った。サンプルの時期としては、越冬のため支川の移動が少ないと考えられる冬場(2013 年 12 月 4 日～2014 年 1 月 22 日)のものを使用した。



図-1 対象流域



図-2 犀川流域の調査地点

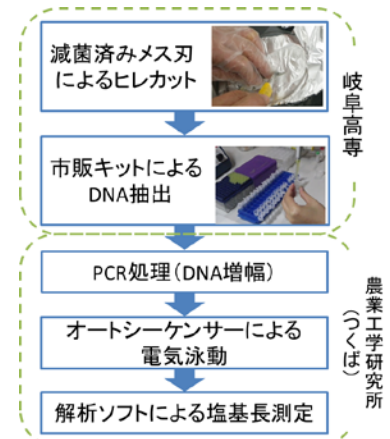


図-3 MS-DNA 分析手順

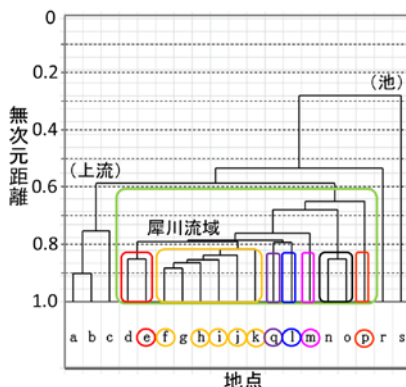


図-4 クラスター解析

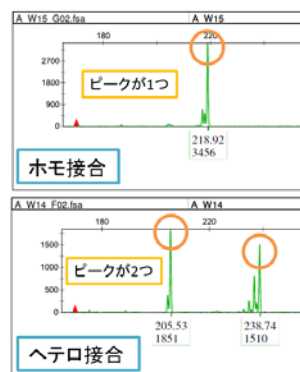


図-5 シーケンスデータの波形グラム

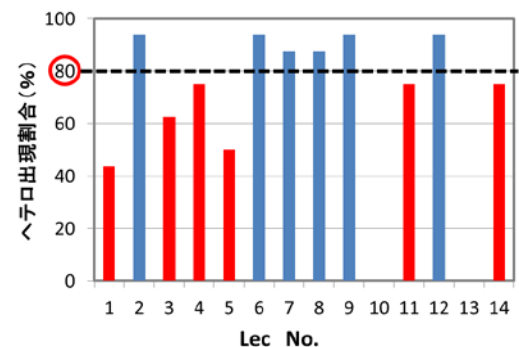


図-6 プライマーの選定結果

3. 結果および考察

(1) クラスター解析

図-4はクラスター解析を行った結果である。同図から、閾値 0.6 で設定した場合、犀川流域にある支川が同じ 1 つのクラスター(かたまり)に属することが解析により分かった。さらにそのクラスターに対し、閾値 0.8 を設定した場合、7 つのクラスターに細かく分類された。調査地区は全長 5km にも満たないので、生物相の類似・差異は環境条件の違いが関係すると考えられる。地点 h, j, k については、同一の合流点(犀川)が近いため、類似している。地点 e はコンクリート三面張りで水中植生がなく、魚に適した環境でないため、最も種数が少ない(4 種)。地点 l では最も多くの種数(24 種)が生息しており、現地調査では湧水が確認されている。また、湧水性であるスナヤツメや準湧水性のアブラボテ、タカハヤ、ドンコも生息している。これらのことより、護岸の違いや湧水、水中植生の有無により、生息する種の多様性が大きく異なっている。

(2) マイクロサテライト DNA 分析

14 遺伝子座からのプライマーの絞り込みは、シーケンスにより得た波形グラムデータから判断した。図-5 のようにピークが 1 つの場合はホモ接合、2 つの場合はヘテロ接合となる。図-6 はプライマーのヘテロ出現割合を示した。Lec10 と Lec13 の 2 遺伝子座は分析不可となったため、有効なプライマーは 12 遺伝子座である。さらに、ヘテロ接合度の出現割合を 80% に設定し、プライマーを絞り込んだ。その結果、Lec01, Lec03, Lec04, Lec05, Lec11, Lec14 の 6 遺伝子座に絞り込まれた。以上のことから、犀川流域のタモロコに有効なプライマーは、この 6 遺伝子座であると判断した。具体的な遺伝的多様性と遺伝的分化の解析結果については、当日詳細に述べる。

4. おわりに

本研究で得られた結論は以下のようである。地点 l は種の多様性があり、生息場のポテンシャルを高めている要因に湧水や水中植物があげられる。犀川流域のタモロコの遺伝的多様性に関して、プライマー数 6 遺伝子座が有効であることが明らかにされた。

【参考文献】 1) 水谷正一・森淳:春の小川の淡水魚 その生息場と保全, 学報社, pp.121-148, 2009.