

中国地方一級水系における魚類環境 DNA 濃度と環境要因との関係の検討

山口大学	創成科学研究科	学生会員	○滝山	路人
山口大学	創成科学研究科	特命准教授	正会員	宮園 誠二
山口大学	創成科学研究科	学生会員	宮平	秀明
山口大学	創成科学研究科	特命准教授	正会員	中尾 遼平
山口大学	創成科学研究科	教授	正会員	赤松 良久

1. はじめに

気候変動や河川改修に伴う河川環境の変化により、魚類の生息場が変化・消失することが考えられ、魚類の生息場を保護するために魚類の生息状況と環境要因との関係を把握する必要がある。しかし、従来の生物調査手法である採捕や潜水目視等の捕獲調査では調査に多大な時間と労力を要するため同一期間における広域調査が困難である。近年、生物の効率的なモニタリング手法として環境 DNA 分析手法が開発された。環境 DNA 分析により定量された魚類環境 DNA 濃度を用いて河川魚類と環境要因との検討は水産有用種であるアユ等で確認されるが、複数流域で広域に複数種の環境 DNA 濃度と環境要因との検討を行った事例は非常に限られている。そこで本研究では、流域特性の異なる中国地方の5つの一級水系を対象に、魚種の生息に影響し得る環境要因を推定することを目的に、河川魚類の生息状況を網羅的・定量的に評価できる環境 DNA 定量メタバーコーディング法 (qMiSeq 法) を用いて、環境 DNA 濃度と環境要因との関係を魚種ごとに検討した。

2. 方法

(1) 現地調査

調査は中国地方一級水系である佐波川、高津川、太田川、江の川、高梁川水系を対象とした(図-1)。各水系において5月および6月に流域網羅的な採水調査(各地点表層水 1L)を実施した。また、採水地点において、設置型のロガーにより15分間隔で河川水温の連続観測を行った。水温ロガーは、トロの中で低水時に水深 20~50cm 程度かつ十分に鉛直混合されている箇所には杭を用いて設置した。河川魚類の生息状況には採水日以前の河川水温が関わっていると考え、水温デ

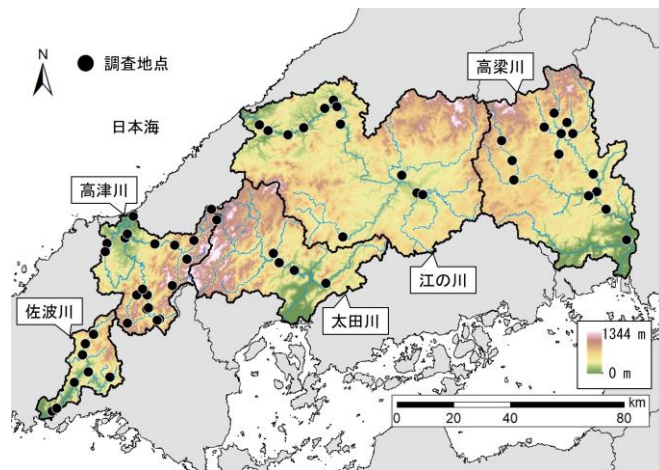


図-1 調査地点

ータは採水日から前1か月間の平均水温を用いた。ロガーの流出および該当期間でのデータ欠損が確認された地点は解析の対象地点から除外した。結果として、合計58地点の水温データが利用可能となり、魚類環境 DNA 濃度と環境要因との関係の検討に用いた。

(2) 環境 DNA 分析

採水した水試料は現地で DNA 分解阻害剤を添加後、事前に DNA を除去したボトルに脱イオン水 1L を入れたクーラーボックスとともにクーラーボックス同封し、研究室に持ち帰った。持ち帰った水試料は①ろ過②環境 DNA の抽出③環境 DNA 分析の手順で分析を行った。環境 DNA 分析には qMiSeq 法を用い、魚種の環境 DNA 濃度を種網羅的に定量した。

(3) データ解析

全水系で検出された魚種のうち、種レベルでの同定が可能であった魚種を対象とし、各魚種の環境 DNA 濃度と環境要因(水温、各地点における標高、採水地点上流 1km の河床勾配)との関係を把握するために、一般化線形モデル(GLM)により検討を行った。標高および河床勾配は数値標高モデルを基に ArcGIS を用いて

キーワード 魚類環境 DNA, qMiSeq, 環境要因

連絡先 〒755-8611 山口県宇部市常盤台 2-16-1 機械・社建棟 7 階 B709 TEL0836-85-9339

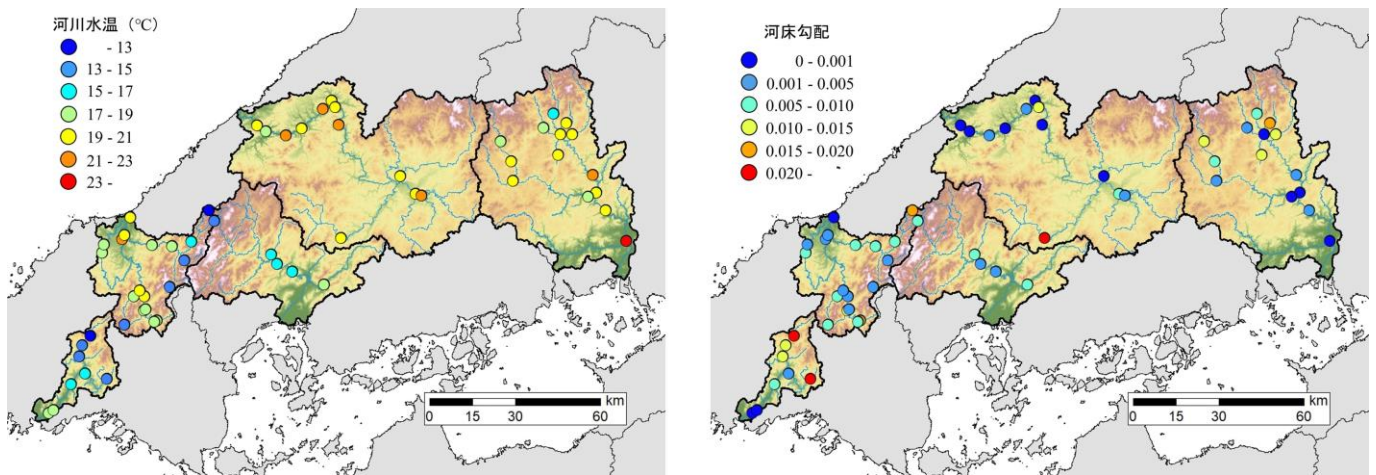


図-2 環境要因（水温・河床勾配）の空間分布

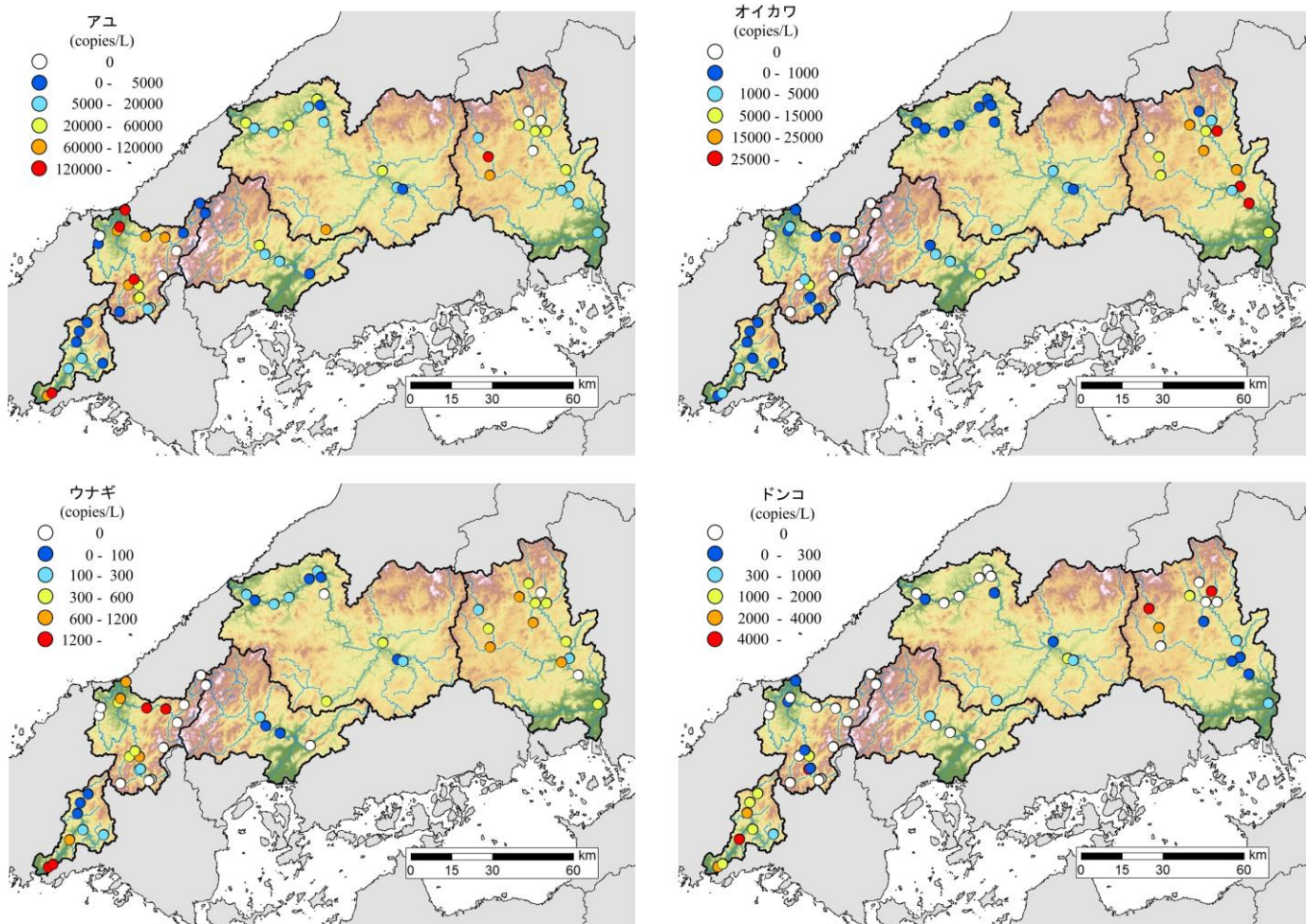


図-3 環境 DNA 濃度の空間分布

算出を行った。GLM では、応答変数を対象種の環境 DNA 濃度、説明変数を環境要因とした。環境 DNA 濃度が単調増加しない場合を考慮し、説明変数には環境要因の 2 乗項を含めて解析を行った。まず、各環境要因と環境 DNA 濃度との関係を把握するために、環境要因ごとに環境 DNA 濃度との関係を GLM で解析した。次に、すべての環境要因を含めた GLM 解析を行った。この際、説明変数間の比較を可能にするため、

説明変数の値を標準化した。さらに、分布は負の二項分布に従うものとし、リンク関数は log とした。モデル選択には AIC を使い、 ΔAIC が 2 以下の上位モデルのみ検討を行った。

3. 結果と考察

図-2 に各調査地点における河川水温および調査地点から上流 1km の河床勾配の空間分布を示す。図-3 に

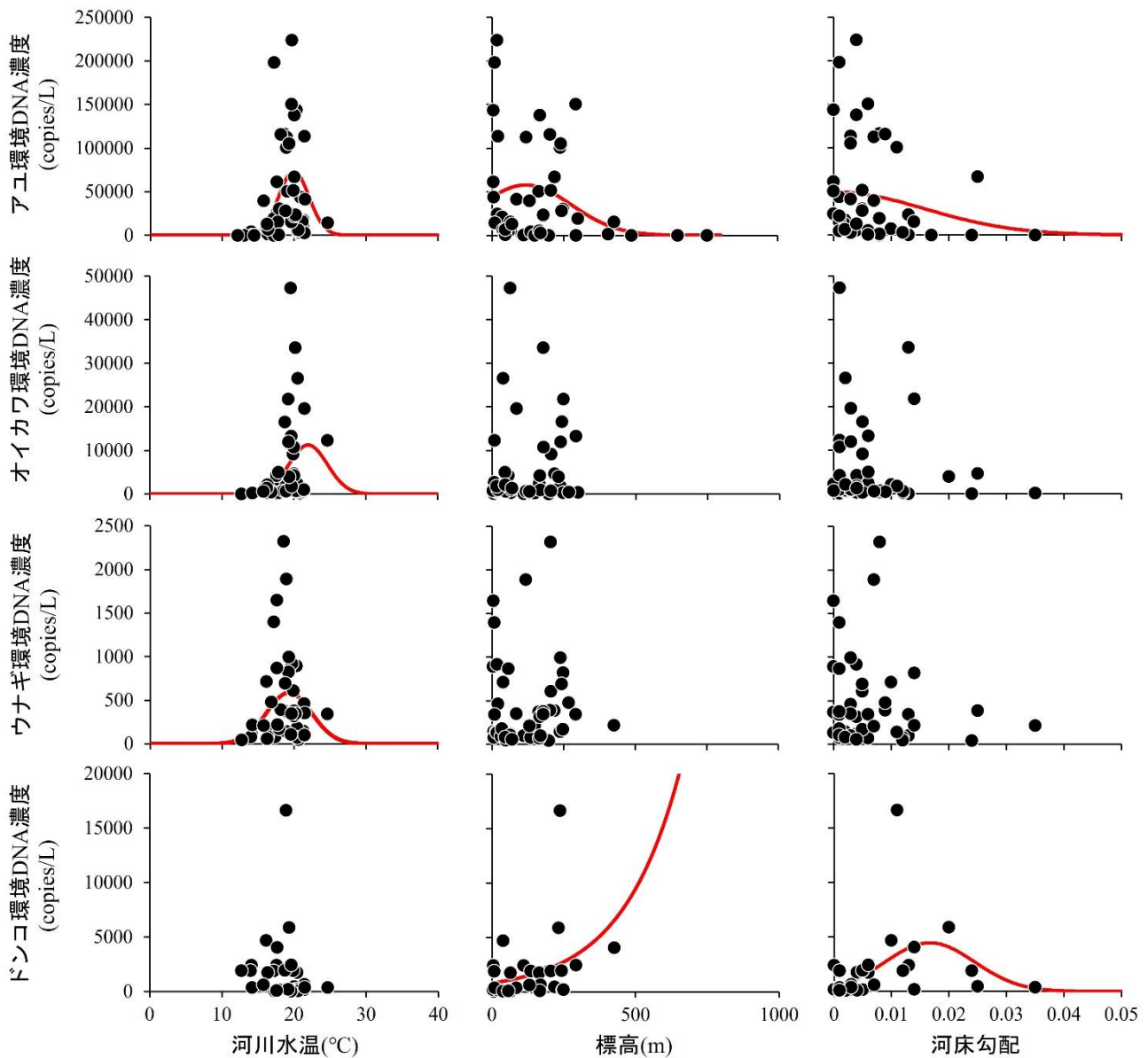


図-4 環境 DNA 濃度と環境要因との関係
(黒丸：実測の環境 DNA 濃度，赤線：GLM により推定されたベストモデル)

表-1 GLM 解析によるベストモデルの結果
(太字：各項の係数の P 値が 0.05 以下)

魚種名	切片	水温	水温 (2乗項)	標高	河床勾配	河床勾配 (2乗項)
アユ	9.873	11.140	-9.958	-0.548		
オイカワ	7.854	8.090	-6.527			
ウナギ	5.957	5.101	-4.705			
ドンコ	7.221				1.932	-1.646

遊泳魚 2 種（アユ，オイカワ）および底生魚 2 種（ウナギ，ドンコ）の魚類環境 DNA 濃度の空間分布を示す。また，図-4 に環境 DNA 濃度と環境要因との関係を表す散布図を示し，表-1 に GLM 解析によるベストモデルの結果を示す。なお，各項の係数の P 値が $P < 0.05$ であったものを太字で示す。各調査地点における水温は，高梁川および江の川水系で高い傾向であった。

高梁川水系は調査日が最も遅く，気温の上昇に伴い河川水温も上昇していることが考えられる。江の川水系は水系内で水田の利用が多いことや，中流部に三次盆地周辺に市街地が形成されていることから流域全体の河川水温が高くなっていることが考えられる。一方で佐波川水系，高津川水系，太田川水系では河川水温が低い地点が複数確認された。これらの流域は比流量が

大きいことや河畔植生により日射の影響を遮断していることが考えられる。

上流 1km の河床勾配は下流で低く、上流で高い傾向が確認された。これは、一般的に河川上流に山地が形成され、地形変化が顕著なためである。さらに、江の川水系では河床勾配が低い地点が多かった。これは江の川水系では盆地が形成されていることや、水田を用いた農業が盛んであることから下流から上流への標高の変化が緩やかであることが考えられる。

アユの環境 DNA は 58 地点中 51 地点で検出された。また、環境 DNA 濃度は高津川水系で高い傾向があった。高津川水系は流域内にダムが存在せず、通し回遊魚であるアユが生息しやすい環境が形成されている可能性が考えられる。一方、ダムが複数存在する江の川水系や高梁川水系では、河川下流部よりも上流部で相対的にアユの環境 DNA 濃度が高い傾向が見られた。

これは、水産有用種であるアユは全国的に放流が行われており、環境 DNA 濃度が高い地点付近は放流場となっていることが考えられる。また、図-4 の実測値の値から、アユの環境 DNA 濃度は水温が約 20°C のとき最も高くなる傾向が確認され、環境要因ごとに作成した GLM のモデルにおいても 20°C 付近をピークに環境 DNA 濃度が単峰型を示した。さらに、標高および河床勾配とアユの環境 DNA 濃度との間にも 2 乗項を含むモデルが選択され、アユの生息に適した水温、標高、河床勾配が存在することが示唆された。

オイカワは高梁川水系の中流で環境 DNA 濃度が高い地点が確認された。オイカワにおいても環境 DNA 濃度と水温との間に単峰型の関係が確認された。また、GLM によるベストモデルでも水温および水温の 2 乗項を含むモデルが選択され、オイカワの生息には水温が密接に関わっていることが示唆された。一方、標高および河床勾配との間には相関関係が確認されなかった。オイカワは河川中下流の水温が高い場所を好む。そのため、オイカワの環境 DNA 濃度に影響する環境要因として水温が強く影響し、水温のみでの解析におけるベストモデルにおいて環境 DNA 濃度がピークを示す水温が他の魚種と比べ高くなったと考えられる。

ウナギの環境 DNA 濃度は 58 地点中 44 地点で環境 DNA 濃度が検出された。環境 DNA 濃度が相対的に高い地点は佐波川水系や高津川水系の下流で確認された。ウナギは淡水と海水を移動する通し回遊魚であり、環

境 DNA 濃度が高かった地点でウナギの移動が活発であったことが考えられる。ウナギの環境 DNA 濃度は水温との間に単峰型の関係が見られ、特定の水温で環境 DNA 濃度が明確なピークを迎えた。GLM においてオイカワ同様、水温および水温の 2 乗項から構成されるモデルがベストモデルとして選択され、ウナギの生息場も、標高や河床勾配よりも河川水温の影響を受けやすく、生息適水温が存在することが示唆された。

ドンコは佐波川および高梁川水系で環境 DNA 濃度が高い地点が見られたが、太田川水系や江の川水系では下流や、高梁川水系では上流、佐波川水系の支流で環境 DNA が検出されない地点が確認された。また、ドンコの環境 DNA 濃度は河床勾配との間には単峰型の関係が見られた。さらに、河床勾配とその 2 乗項から構成されるモデルがベストモデルとして選択され、底生魚であるドンコは、他の魚種と比較し、河床勾配が生息状況に影響しやすく、河川改修等による河床勾配の変化により生息場が変化することが示唆された。

一方、ドンコの環境 DNA 濃度と標高との間には指数関数型の増加傾向が確認されたものの、アユと異なり標高が高い地点で環境 DNA が検出されていないことから、標高とドンコの環境 DNA 濃度の関係を把握するには、より広域に調査を行う必要があると考えられる。

4. 結論

本研究では、魚類の生息状況に影響を及ぼす環境要因について検討するため、魚類環境 DNA 濃度と環境要因との関係を解析した。アユ、オイカワ、ウナギにおいて河川水温との間に単峰型の関係が確認され、これらの種は特定の水温条件の生息場を嗜好していることが示唆された。さらに、ドンコは河床勾配との間に単峰型の関係が確認され、河川改修等による河床勾配の変化が生じることで生息場が変化・消失することが示唆された。以上の結果から、本手法により河川魚類の環境 DNA 濃度に影響する環境要因を推定可能であることが明らかとなった。また、これらの環境要因に対する魚類の生息状況の情報は、今後の河川環境の変化に対する特定の魚類への影響を評価することに有用であると考えられる。