

特集：水域生態系の保全・再生

# 遺伝情報を用いた在来魚種の生息環境の保全

村岡敬子\* 山下慎吾\*\* 三輪準二\*\*\*

## 1. はじめに

地球に生きるほとんどの生き物の細胞内に存在するDNA(deoxyribo nucleic acid, デオキシリボ核酸)はわずか4種類の塩基の並びで表現され、ヒトの核DNAを例にとると、200Mb(メガ塩基対、1メガ=10<sup>6</sup>)にのぼる。この情報は親世代から子世代へと驚くべき正確さで複製されるが、稀に偶発的な変異が生じ、その変異もまた親世代から子世代へと継承される。長い時間をかけてこのような変異はDNA中に蓄積されており、塩基配列の違いを統計的に解析することによって、個体同士あるいはその集団同士の遺伝的な違いあるいは類似性を求めることができる。

近年、遺伝子解析技術の高度化と共に、生物調査の分野でも**遺伝情報**が積極的に用いられるようになってきている。例えば、その魚類集団がもともとその水系に生息していたものかの判定や、あるいは外見では判断がつかない外来・移入種との交雑状況の推定などにも利用されている。さらに、複数年の遺伝情報を比較することによって、その集団の移動状況や再生産にかかわった個体数の情報など、もともとその水系に生息していた”在来魚集団“の保全につながる貴重な情報を得ることができる。本報文では、分断された地域に生息するカジカ集団を対象に、遺伝情報を生息環境調査に反映させた事例の報告を行う。

## 2. 手法

### 2.1 対象魚と調査地点の概要

本研究の対象魚として、河川中流域や支流に生息し、分断や生息環境の悪化の影響を受けやすいカジカを選定した。カジカ科は底生魚の仲間であり、アユなどの遊泳魚に比べて移動能力が乏しい。そのため、河道横断工作物の影響を受けやすいとされ、例えばカジカ科のハナカジカは河川改修やダム建設の影響により激減したといわれる<sup>1)</sup>。さら

にカジカ科は、生息・産卵に河床の礫を必要とするため、河床環境の悪化の影響も受けやすい。

本研究で対象としたA川水系は、昭和時代に大規模な治山・治水事業がなされるとともに、周辺農地における水利用も盛んであり、河道内には砂防堰堤、農業用取水設備、床固め工などが多数存在する。当該河川の管轄事務所(以下事務所)が行った調査では、A川水系においてカジカの生息は本川・支川も含めて、上流域の一地域(以下現生息地)に限られており、何らかの分断要因の影響を受けていると考えられる。本地域におけるカジカの保全策として、事務所では2001~2005年の間、カジカを現生息地からSt.1,3,8(図-1)の3地点に、それぞれ約20個体を移植した。その後のモニタリングにより全移植地において再生産が確認されている一方で、St.1、St.3では個体数が安定しているものの、St.8では個体数が徐々に減少している(図-2)。

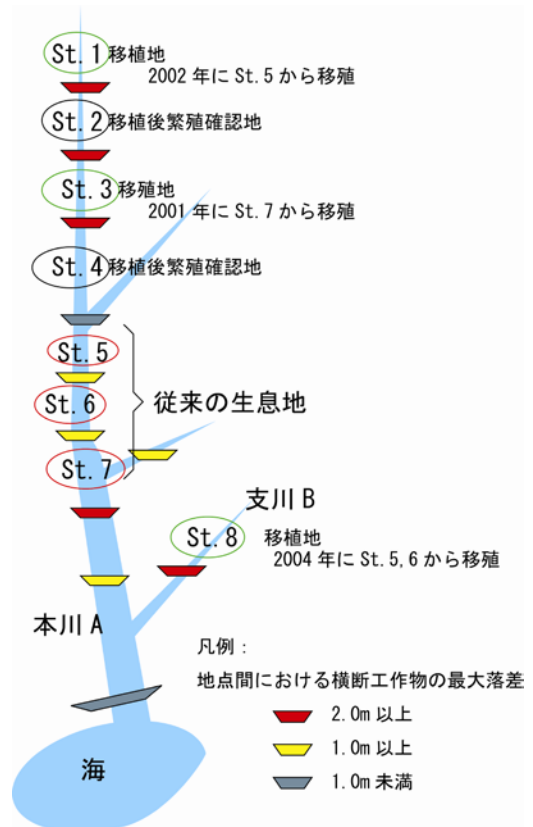


図-1 調査地点概要図

A Study of Environmental Planning Method for Conservation of Native Fish Species using Genetic information

\*土木用語解説：遺伝情報

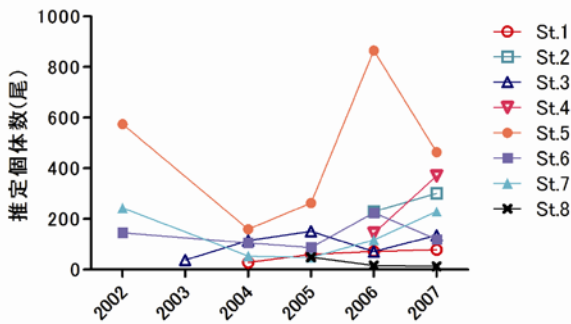


図-2 地点別推定個体数（標識採捕法による）

## 2.2 遺伝情報の解析

本研究では、A川水系におけるカジカの生息地が分断により自由に移動できる範囲が小さいことを利用し、それぞれの地点のカジカ集団を仮想上の“地域集団”として扱う。カジカのDNAを得るために、2006,2007年にA川水系のカジカ個体数調査において採取したカジカ771個体(表-1)の腹びれの軟条をエタノールに浸して研究室に持ち帰り、フェノール抽出により、DNAを抽出した。抽出されたDNAとABI社製 AFLP Plant Mapping Kitを用いた前処理の後、ABI Prism 3100によるAFLP解析を行った。

AFLP解析は、制限酵素処理、PCR反応(Polymerase Chain Reaction,ポリメラーゼ連鎖反応)の後、同じ長さのPCR産物の有無を用いて個体間の遺伝的な差異を検出するもので、核DNA全体を対象として、個体間の差異を認識することができること、事前検討を行った後は手間のかかるデータ化の部分を実行自動化できること、などの特徴がある。

A川水系のカジカを用いた事前検討では、制限酵素EcoR1およびMse1による前処理の後、3塩基の長さをもつ、64組のプライマー(Primer, 膨

表-1 分析個体数

地点	採取年			
	2006		2007	
	成魚	当歳魚	成魚	当歳魚
St.1	9	11	26	12
St.2	10	17	58	38
St.3	24	0	33	15
St.4	15	4	44	10
St.5	40	55	69	82
St.6	24	29	32	30
St.7	9	6	39	10
St.8	9	0	11	
計	262		509	

大な遺伝情報から特定箇所を抽出することを目的にPCR反応時に添加する。AFLP反応では、その長さや組合せにより、抽出箇所数や領域を変えることができる)を比較した。その結果、2組のプライマーで266allele(遺伝情報上のターゲット)に明瞭な差異が認められ、このうち自動解析で精度よく処理できる152alleleを抽出し、以降の分析対象alleleとした。

## 2.3 生息地の物理環境調査

A川本川および支川B全域を対象にカジカの生息地の分断状況や環境区分などの物理情報を把握するための調査を実施した。河道の分断規模については、比較的水量が安定する冬季に河床勾配や横断工作物の有無、位置・落差および魚道の有無の情報を把握すると共に、カジカが産卵準備に入る秋～冬季、孵化を控えた冬季の2回にわたり流況および分断の状況を再確認した。

さらに、当該地域においてカジカの孵化時期となる2008年3月から、出水期をまたいだ9月末までの期間において8回にわたり、A川の従来の生息地および移植後に仔稚魚の確認数が少ない支川Bにおいて、カジカの仔稚魚分布および物理環境調査を行った。調査では、潜水により調査区間全域においてカジカの分布を確認し、確認地点の河床付近の流速、水深、河床材料(第1、第2優占)、泥の有無およびその物理環境の規模(面積)を調査した。また、カジカの有無に係らず、流下距離10m間隔で横断面の物理環境調査を行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 河道内の分断状況

本川Aおよび支川Bの調査延長約10kmの範囲で、自然の落差が4箇所、横断工作物は109箇所確認されている。このうち、従来の生息地(St.5～7)には23基の横断工作物が存在し、12基が1mの落差を有する。しかしながら、この区間の河道幅はSt.7の下流端を除いて狭く、夏場にはヨシが繁茂するため、出水時には塞き上げにより一時的に落差が解消される可能性もある。一方、移植地および移植後カジカが確認されたSt.1～4は2mを超える堰堤によりそれぞれ分断されており、堰堤の構造(切欠・魚道の有無、河道状況など)、上下流の護岸の状況から、出水時を含めても下流から上流への底生魚の移動は困難と考えられた。なお、

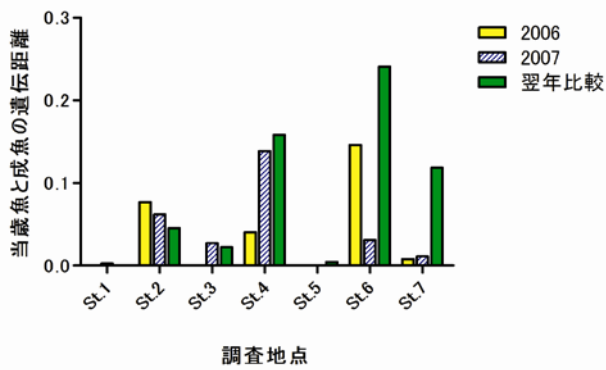


図-3 地点別にみた当歳魚と成魚間の遺伝距離

各地点別当歳魚集団と成魚集団の間のReynoldsらの遺伝距離を示す。凡例の数字はサンプル採取年を、「翌年比較」は「2006年の成魚集団と2007年の稚魚集団を比較したことを示す。

St.1～7の区間は、周辺の複数の農業用水路ネットワークにより結ばれているが、A川との接続部の状況などから、これを利用して下流から上流へ移動できる可能性は小さいと推定された。

### 3.2 遺伝情報を用いた繁殖状況の推定

繁殖に参加できる個体と実際に残った仔稚魚の関係を推定するために、各集団の当歳魚と成魚の遺伝距離(遺伝情報の類似性を示す指標のひとつ)を比較した(図-3)。

カジカの生息地として最上流に位置するSt.1、現生息地のなかで最上流となるSt.5では、当歳魚と成魚の遺伝距離が極めて小さい。このような状況は、集団内の遺伝情報が均質化してしまった集団でも起こり得るが、遺伝的な豊かさを示すヘテロ接合度(雌雄から異なる遺伝情報を受けつぐ期待頻度)は、St.1～8を通じてほぼ一定であることが確認されており、現段階での集団の著しい遺伝的均質化は否定される。これらのことから、St.1,5の遺伝距離が小さいのは、親世代の遺伝情報が子世代に偏らず継承されているためと考えられ、これらの地点では各々の区間に生息するカジカの個体数に見合った産卵場や成長に必要な環境が十分量存在し、多くの成魚が産卵に参加するとともに、そこで生まれた仔稚魚がその場に留まり成長できているものと推定された。

一方、年変動はあるものの、現生息地のSt.6などは、成魚と当歳魚の間に遺伝的な隔りがある結果を示し、その原因として以下のような場合が想定される。

- ①当歳魚孵化からサンプリングまでの間(約8ヶ月)に当歳魚もしくは成魚の集団に、他地点の集団からの侵入があった
- ②成魚が産卵できる環境が限られており、当歳魚の親となった個体が、成魚の集団の一部に偏っている
- ③稚魚・成魚ともに他地点からの移入個体が多数を占める

これは2カ年の結果であり、実際どのくらいの幅の変動が見込まれるものであるかも含め、今後の経年観察が必要であるが、産卵のステージ、あるいは孵化後利用する環境の質の面で、地点間に差異がある可能性が考えられた。そこで、孵化・生育に必要な物理環境に焦点をあてた調査を行った。

### 3.3 稚魚期の生息環境

A川における孵化期の調査では、さいのうの残る孵化直後の仔魚が、まだ親魚が卵を保護している産卵床の直近の河床で多数確認された。また、孵化後間もない仔魚、稚魚共に本調査期間を通じて、小礫がある川底で確認された(写真-1)。

潜水観察の結果、仔稚魚が確認された地点の小礫の径は、3,4月時点で概ね5～20mm程度であったが、5月時点で20～50mm、7月には50～100mmと徐々に大きくなり、7月下旬以降は50～200mmと大きな変化が見られなくなった。確認地点の小礫の大きさが大きくなっていく3～7月の期間は、仔稚魚の体長の伸びが著しい時期とほぼ一致している(図-4)。

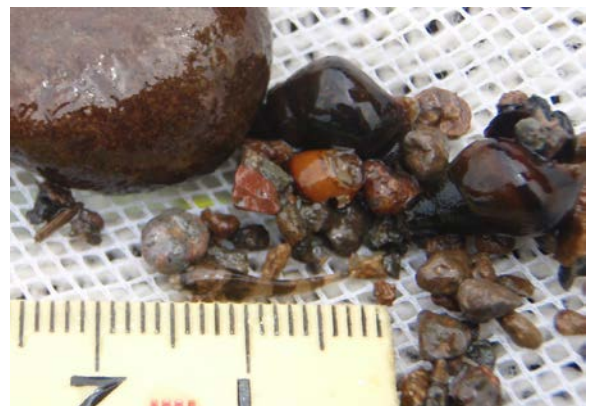


写真-1 稚魚および確認地点の河床材



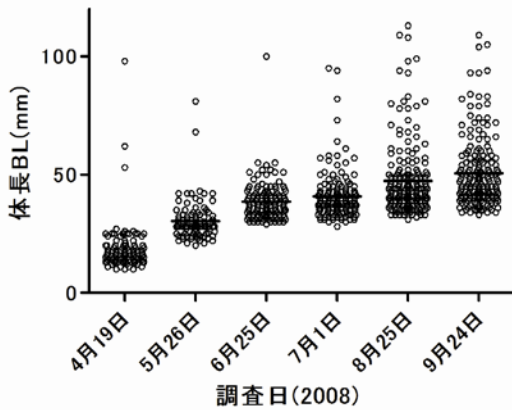


図-4 カジカの体長の推移

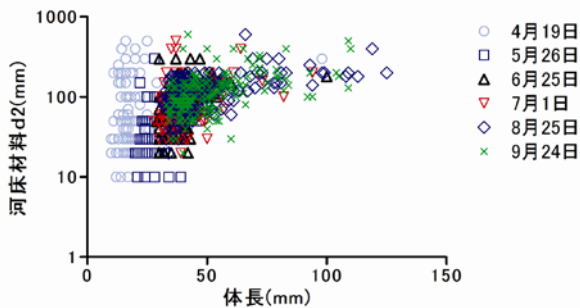


図-5 カジカの体長と河床材料の大きさ(d2)

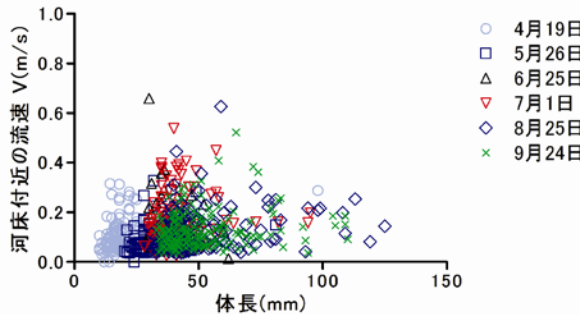


図-6 カジカの体長と河床付近の流速

図-5はカジカ（稚魚・成魚共）の体長と確認地点における礫の大きさの関係を示す。ここに、d2は、カジカが確認された地点における河床材料の第1優占、第2優占材の径のうち大きいものを示す。カジカの体長が概ね50mm以下の範囲では、礫の大きさは10～800mmの広い幅に分布するが、体長が50mmを超えると、河床の礫が体長と同程度以下の箇所ではほとんど確認されていない。カジカの成魚は礫の下に身を隠す習性が知られており、体長に応じた十分な大きさの礫が必要であることが再確認されるとともに、その目安は体長が50mmを超えるほどに成長した後であることが推察された。一方で、孵化から6月までの間にみられる小さな個体は、礫の大きさと関係がみられず、体が隠れるサイズの礫よりもむしろ河床の小礫の有無が重要である可能性がある。尚、全調査期間を通じて、カジカの体長と、流速との明確な傾向はみられなかった(図-6)。

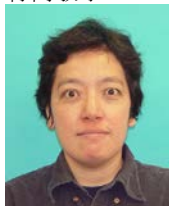
#### 4. まとめ

本調査においては、遺伝情報を用いた検討において、必ずしも全ての調査地点がカジカの再生産に適した環境とはいえないことが示唆された。さらに、これを踏まえた物理環境調査の結果、当該河川のカジカは、成長段階に応じて、細かいスケールで異なる物理環境を必要とすることが推察された。これらの結果から、在来魚種保全のための調査においては、そこに生息する個体数や成魚が利用する環境や産卵場の環境だけでなく、孵化後仔稚魚が到達できる範囲に仔稚魚にとって必要な物理環境があるかなど、魚の生活史全体を見越した生息環境の保全が重要であるといえる。

#### 参考文献

- 1) 環境省：レッドデータブック汽水淡水魚編、平成15年5月

村岡敬子\*



独立行政法人土木研究所つくば  
中央研究所水環境研究グループ  
河川生態チーム主任研究員  
Keiko MURAOKA

山下慎吾\*\*



独立行政法人土木研究所つくば  
中央研究所水環境研究グループ  
河川生態チーム招聘研究員、学博  
Dr. Shingo YAMASHITA

三輪 準二\*\*\*



独立行政法人土木研究所つくば  
中央研究所水環境研究グループ  
河川生態チーム首席研究員  
Junji MIWA