



河川横断構造物とニジマスが北海道のイワナ属の生息に与える影響：環境DNA 分析の結果をもとに

今村, 彰生
速水, 花奈
坂田, 雅之
源, 利文

(Citation)

保全生態学研究, 24(1):71-81

(Issue Date)

2019

(Resource Type)

journal article

(Version)

Version of Record

(Rights)

© 2019 一般社団法人 日本生態学会. この記事はクリエイティブ・コモンズ [表示 4.0 国際] ライセンスの下に提供されています。 <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.ja>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/90008119>



河川横断構造物とニジマスが北海道のイワナ属の生息に与える影響： 環境 DNA 分析の結果をもとに

今村 彰生¹・速水 花奈²・坂田 雅之²・源 利文²

¹ 北海道教育大学旭川校

² 神戸大学大学院人間発達環境学研究科

Are *Salvelinus* species on Hokkaido Island, Japan, endangered by damming and invasive rainbow trout:
Results from eDNA analysis

Akio Imamura¹, Kana Hayami², Masayuki K. Sakata² and Toshifumi Minamoto²

¹ Hokkaido University of Education, Asahikawa Campus

² Graduate School of Human Development and Environment, Kobe University

要旨:サケ科イワナ属のオショロコマ (*Salvelinus malma malma*) は、国内では降海しない陸封型が北海道にのみ生息し、環境省レッドデータブックの絶滅危惧Ⅱ類 (VU) に選定されている。一般に河川最上流域に生息し、オショロコマより下流には同属のエゾイワナ (*S. leucomaenis leucomaenis*) が分布するとされている。これらは、人工的河川横断構造物と外来種のニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) の定着によって個体数が減少している可能性がある。そこで、環境 DNA 分析手法を用いて年間を通じたサンプリングを行い、オショロコマ、エゾイワナ、およびニジマスそれぞれの生息の有無とその季節変化を調べた。大雪山系周辺の石狩川水系支流の支流系 1、ピウケナイ川、オサラッペ川を調査地とし、構造物の上下での採水を含め、計 16 地点で採水を行った。その結果、支流系 1 流域ではオショロコマが最上流域、エゾイワナが中上流域で検出され、ニジマスは下流域でのみ検出された。ピウケナイ川流域ではオショロコマとニジマスが全地点で検出され、エゾイワナは検出されなかった。一方、オサラッペ川では 3 種いずれも検出率が低かった。調査地点ごとの検出の有無について一般化線形混合モデルによる解析を実施したところ、移動の時期や方向性および構造物の障壁としての機能などは明確にできなかったが、オショロコマが上流に多いのに対して、エゾイワナとニジマスは下流に多い傾向を示し、しかもオショロコマとニジマスについては排他的ではない可能性が示された。しかし、これはニジマスによる競争排除が無いことを保証せず、有効性が示された環境 DNA 分析を駆使し、継続的なモニタリングを行い定量的な把握を目指す必要があるだろう。

キーワード：一般化線形混合モデル、エゾイワナ、オショロコマ、大雪山系

Abstract: We investigated the distributions of two native (Dolly Varden *Salvelinus malma malma* and whitespotted char *Salvelinus leucomaenis leucomaenis*) and one invasive (rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*) salmonid species using environmental DNA (eDNA) analysis in the centre of Hokkaido Island, Japan. The native species' populations are fragmented by damming and threatened by invasive species. Therefore, DNA real-time PCR assays specific to these three salmonids were used to investigate the effects of damming and invasive species on the two native salmonids. *Salvelinus malma* populations exhibited separation due to damming. Additionally, they were not eliminated by invasive *O. mykiss* but rather lived together at some sites. *Salvelinus leucomaenis* populations occupied the lower reaches more than did *S. malma* populations. We detected *S. leucomaenis* and the invasive *O. mykiss* population less frequently than expected. We were unable to clarify the seasonal movements of species, even during their reproductive phase, despite conducting eDNA surveys throughout the year, including during the coldest parts of winter. We hypothesise that damming may function both as a protective barrier against invasive species and as

¹ 〒 070-8621 北海道旭川市北門町 9 丁目 北海道教育大学旭川校

Hokkaido University of Education, Asahikawa Campus, Hokumon-cho 9, Asahikawa, Hokkaido 070-8621, Japan

e-mail: ginryou715@yahoo.co.jp 2018 年 6 月 28 日受付、2019 年 2 月 9 日受理

an impassable barrier preventing migration; however, the significance of these potential functions was not revealed in this study. From a long-term perspective, fragmentation may negatively affect the viability of native *Salvelinus* populations. Conservation efforts for native *Salvelinus* species would be aided by additional studies using eDNA surveys, which can be effectively conducted even in mid-winter.

Keywords: Daisetsuzan National Park, generalised linear mixed model, *Salvelinus leucomaenis*, *Salvelinus malma*

はじめに

ダムを始めとする河川横断構造物について、淡水魚類の移動障壁として生息地の分断やメタ個体群の機能低下を引き起こすと考えられてきた（遠藤ほか 2006；Morita et al. 2000；Morita and Yamamoto 2002；Morita and Yokota 2002；Morita et al. 2004）。これらの影響はただちに顕在化するとは限らず、障壁の出現から 30 年をかけて個体群の絶滅が進行するとの先行研究もあり（Morita et al. 2009）、移動障壁の影響の定量評価や人為的に陸封された個体群の保全には長期的視野が重要である。

サケ科イワナ属のオシロコマ *Salvelinus malma malma* は、国内では降海しない陸封型を中心に北海道にのみ分布する。一般に河川最上流域に生息し、オシロコマより下流には同属のエゾイワナ *Salvelinus leucomaenis leucomaenis*（地方名アメマス）が分布するとされている（Fausch et al. 1994）。オシロコマは、環境省第 4 次レッドリストでは絶滅危惧 II 類（VU）に選定されている（環境省 HP、<https://www.env.go.jp/press/files/jp/105449.pdf>、2018 年 5 月 28 日確認）。これらイワナ属については、個体群内に降海型と陸封型をもつが、北海道のエゾイワナについては本州の亜種（ニッコウイワナなど）と比べて降海型が多く見られる（Yamamoto et al. 1999；Morita et al. 2005；Koizumi et al. 2006）。河川の人工構造物は、降海型のサケ科の繁殖を阻むだけでなく、残留型の季節移動の阻害や遺伝子交流の阻害によるメタ個体群の機能低下を引き起こす（Morita et al. 2000；Morita and Yokota 2002；Morita et al. 2004；Tsuboi et al. 2013）。

これらイワナ属の魚類については、外来種のニジマス *Oncorhynchus mykiss* の定着による競争排除も問題視されている（Taniguchi 2000；Hasegawa et al. 2004；Morita et al. 2004；Hasegawa and Maekawa 2006；Baxter et al. 2007；Sahashi and Morita 2016）。以上から、河川横断構造物と外来魚の影響の複合により個体数の衰退傾向が加速している可能性がある。

一方、河川横断構造物は外来魚の拡散や侵入を食い止

めるという対極の効果も持ちうる。つまり、魚道などをむやみに設置することや構造物の撤去は被害の拡大にも繋がりうる。したがって在来魚の保全策として、季節移動を考慮した魚道の開閉などが考えられ、河川内でのサケ科魚類の季節移動の情報の蓄積が重要である。河川のサケ科魚類は降海以外にも季節移動を示すと考えられるが、北海道ではヒグマや積雪の影響もあり秋季の繁殖地や冬季の生息域に関する情報は少ない。ただし、Morita et al. (2011)、Sahashi and Morita (2014) や、Koizumi et al. (2017a, b) などでは冬季の情報が提示されている。したがって、地域個体群の現状を可能な限り広域に把握し、Morita and Yokota (2002) のように、個体群存続可能性分析（PVA）などに繋がるような基礎データの充実も望まれる。

そこで本研究では、環境水からの種特異的な DNA 検出系（Minamoto et al. 2019）を用いて、河川の流程に沿ってオシロコマ、エゾイワナ、およびニジマスそれぞれの生息範囲に関する基礎情報を集積することを目指した。河川横断構造物がこれらの生息に負の影響を及ぼすと考え、構造物の設置地点を調査地とした。採捕などの通常の調査ではデータ収集が困難な北海道の冬季の生息情報を環境 DNA により蓄積できると考え、厳冬の採水を組み込んだ調査を実施し、対象種間の競争排除の現状把握、季節移動の実態と構造物が移動障壁として機能しているのか、解析を試みた。

方 法

調査地

調査河川は、石狩川水系の支流系 1、ピウケナイ川、オサラッペ川の 3 河川とした（図 1）。これらの河川については、周辺の石狩川水系の支流系での釣獲による予備調査（2014 年 -2015 年に実施）を通じて、上流から下流にかけて生息種がオシロコマ、エゾイワナ、ニジマスへと順次変化する支流系 1、オシロコマの生息域にニジマスが侵入しているピウケナイ川、いずれのサケ科魚種についても生息数が少ないオサラッペ川、という

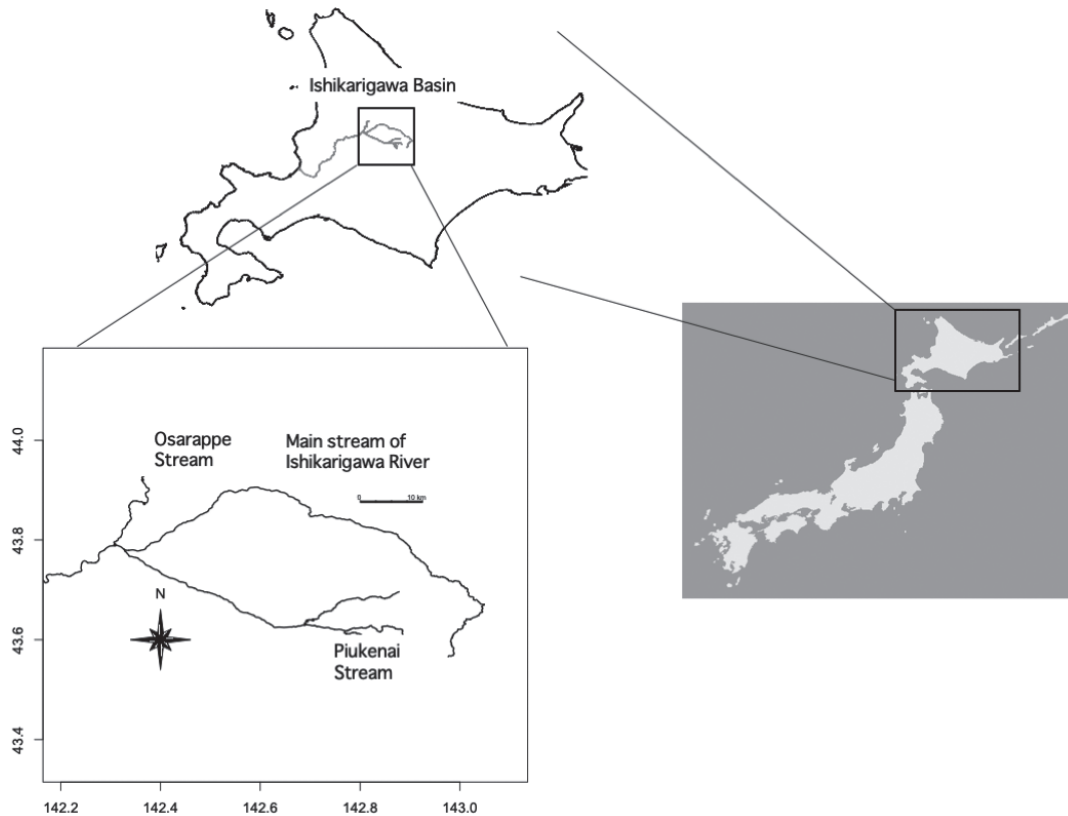


図 1. 北海道における調査地域の地図。

Fig. 1. Map of the research area in Central Hokkaido, Japan.

傾向が判明していた。このような魚類分布の情報が環境 DNA によって再現されるか検証し、かつ河川横断構造物がこれらの生息に影響を与えるかを解明するため、調査地として選定した。

調査地点は、支流系 1 に上流から Site1-Site3、ピウケナイ川に上流から Site4-Site6、オサラッペ川に上流から Site7-Site9 を設定した。このうち Site6 と 9 については支流の河口であり、横断構造物がなく、採水地点を便宜的に構造物の下側として扱った。それ以外の 7 地点については、各地点に構造物が存在し、その上側と下側を採水地点とした。本調査での構造物高さなどの詳細は表 1 に示すが、いずれにも魚道は設置されていない (図 2)。

調査地点の河川横断構造物

本調査での構造物は、床固め工 (Ground still)、砂防堰堤 (Erosion control dam)、水力発電用の暗渠としてのカルバート工 (Barrier with culvert) に分類される。床固め工は小型の段差で、落差工などと呼ばれることが多い。段差は小さいため、水量や魚の種によっては、遡上が可能

能だと考えられる。砂防堰堤は、治水ダムのような規模には及ばないがやや大型の段差である。垂直の高い壁であり、魚道が無い限りは魚類の遡上は不可能である。水力発電用の暗渠 (カルバート) が Site4 に存在し、これは砂防堰堤のような段差ではないが、Site4 では暗渠の出口が水面より高く設置されているため魚類の遡上は不可能である。

調査対象種の回遊

北海道はオショロコマの分布の南限域にあたり、国内では陸封型であるとされる。河川上流部が生息地だが、繁殖や越冬にかかる支流内や支流間での季節移動については、詳細なデータが不足している。エゾイワナについては、アメマスと称される降海型が多く見られる。降河は主に春季と考えられる。ニジマスについては、原産地の北米では降海型が知られるが、北海道では陸封型が主だと考えられる。越冬時や増水時に遡上傾向を示すとされている (Koizumi et al. 2017b)。北海道では自然繁殖すると考えられ、繁殖期は同属の在来種であるヤマメとは

表 1. 調査地点の河川横断構造物の概要を示す。構造物についてはいずれも魚道がない。構造物がない Site6、9 を除き、構造物の直上と直下にて採水を実施した。構造物の種類は床固め工 (ground still)、砂防堰堤 (erosion control dam)、カルバート工 (culvert) に分類される。また、Site1-Site3 については調査地の保全の観点から Stream 1 とし、詳細は伏せる。

Table 1. Summary of impassable barriers at each site. There was no structure at sites 6 and 9. None of the barriers had a fish ladder. Details for Stream 1 (sites 1–3) have been concealed for conservation purposes.

	Stream system	Structure type	Structure height (m)	Distance from river mouth of each stream system (km)	Distance between sampling point (above and below structure, km)	Altitude (m)	Latitude	Longitude
site 1	Stream 1	Ground still	2.5	18.9	0.15	1020	Coordinates omitted	
site 2		Erosion control dam	13	10.9	0.03	450		
site 3		Erosion control dam	10	10.4	0.05	440		
site 4	Piukenai	Barrier with culvert	12	2.4	0.03	520	43.640547	142.70614
site 5		Erosion control dam	6	1.2	0.04	470	43.638479	142.693993
site 6		No structure		0.4	No structure	440	43.633147	142.689796
site 7	Osarappe	Ground still	1.3	20.3	0.03	150	43.921275	142.364017
site 8		Ground still	2.5	13.3	0.03	123	43.874669	142.367565
site 9		No structure		0.28	No structure	105	43.686454	142.51945



図 2. 調査地点の写真。a: Site5 の春～秋の状態、b: 落水もみられる Site5 の冬季の状態、c: 遡上可能と考えられる Site8。

Fig. 2. Photographs of the research sites: (a) site 5, spring to fall; (b) site 5, winter; and (c) site 8, which is passable for salmonid fishes.

異なる春季であるとされている。

採水調査

調査対象種の回遊や季節移動の特性を踏まえ、年間を通した採水調査を目指した。環境水の採取は、1 ヶ月に 1 回を目処としたが、冬季の調査は 3 月の 1 回のみとした。これは、ヒグマの危険性、積雪初期および融雪期のアプローチの難しさを避けることを優先したためである。北海道の渓流域での冬季の調査は積雪の影響によって容易ではない。以上から、採水調査は 2016 年 10 月 12 日、2017 年 3 月 9-10 日、5 月 28 日、6 月 28 日、7 月 26 日、8 月 30 日、9 月 26 日、10 月 28 日に実施した。なお、環境 DNA の全 128 サンプルのうち、2017 年 3 月の Site1-Site6 の 6 地点に関する解析結果は Minamoto et

al. (2019) からの引用であり、サイト番号も同一である。

各調査地において、構造物の上側と下側でそれぞれ約 900 ml の表層水を採取した。水面が凍結している場合は、ドリル等で穴をあけ、もっとも凍結面に近い水を得た。採水サンプルには、DNA の分解防止のため終濃度 0.01% の塩化ベンザルコニウム溶液を添加し (Yamanaka et al. 2017)、当日中にグラスファイバーフィルター (平均孔径 0.7 μm 、GE ヘルスケアジャパン) を用いた吸引ろ過を行った。採水日ごとにろ過作業以降の陰性コントロールとして純水を 900 ml ろ過したろ過ブランクを作成し、以降の操作ではサンプルと同様に扱った。ろ紙サンプルは冷凍で保存し、神戸大学に冷凍便で輸送した。

DNA 抽出およびリアルタイム PCR

ろ紙サンプルからの DNA 抽出はサリベット（ザルスタット）と DNeasy Blood & Tissue Kit（キアゲン）を用いた一般的な環境 DNA 抽出法（Uchii et al. 2016）を若干改変した手法によって行った。フィルターをサリベットチューブに入れ、400 μ l の Buffer AL（キアゲン）および 40 μ l の Proteinase K（キアゲン）を加え、56℃で 30 分間インキュベートした。遠心によって DNA 溶液を回収した後、220 μ l の Tris-EDTA バッファ（pH8.0）を加えて再度遠心を行い、フィルター上に残った DNA を回収した。回収された溶液に 400 μ l のエタノールを加え、DNeasy mini spin column（キアゲン）に移した。以降の操作は DNeasy Blood & Tissue Kit の標準プロトコルに従った。ただし、最終的な溶出液の量を 100 μ l とした。

リアルタイム PCR の反応液の組成は、10 μ l の 2×Environmental Master Mix 2.0（サーモフィッシャーサイエンティフィック）、0.1 μ l の AmpErase ウラシルー N-グリコシラーゼ（サーモフィッシャーサイエンティフィック）、終濃度各 900 nM のフォワード及びリバースプライマー、終濃度 125 nM の TaqMan プローブ、5 μ l の鋳型環境 DNA サンプルであり、20 μ l の反応系でリアルタイム PCR 装置 CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System（バイオラッドラボラトリーズ）を用いて実施した。各種を対象とした種特異的なプライマー及びプローブは Minamoto et al. (2019) の開発した以下のものを用いた。オシヨロコマ：S_malma_J_CytB_F（5'-CTTATTTGCCTACGCAATTCTCC-3'）、S_malma_J_CytB_R（5'-GTGAGGATGAGTATGTCTGCTACCA-3'）、S_malma_CytB_P（5'-FAM-TTGTCCCGATCCTCCACAMGB-NFQ-3'）。エゾイワナ：S_leucomaenis_CytB_F（5'-CCCAGCAGGGATCAACTCAG-3'）、S_leucomaenis_CytB_R（5'-GGGTTGGCTGGCGTGA-3'）、S_leucomaenis_CytB_P（5'-FAM-CCTAACAGCCCTAGCTC-MGB-NFQ-3'）。ニジマス：O_mykiss_CytB_F（5'-CCCTAGTGACCCACCTCATA-3'）、O_mykiss_CytB_R（5'-CAAAATAAGAATTGGGTGAGCG-3'）、O_mykiss_CytB_P（5'-FAM-ACGATCCATCCCCAACAAGCTGGG-TAMRA-3'）。リアルタイム PCR の反応条件は、5℃で 2 分、95℃で 10 分の初期ステップの後、95℃で 15 秒と 60℃で 60 秒からなるサイクルを 55 サイクルとした。すべての PCR 反応には PCR の陽性コントロールとして、対象種の組織に由来する DNA を鋳型としたもの、陰性コントロールと

して純水を鋳型としたものを加えた。これらのコントロールも含め、すべての PCR 反応は繰り返し数 3 で実施した。リアルタイム PCR において 3 回の繰り返しのうち 1 つでも Threshold Cycle (Ct) 50 以下で増幅が確認されれば、そのサンプルを陽性であるとした。

解析

解析は R3.5.1 for Mac OSX（R core team 2018、<http://www.R-project.org/>、2018 年 7 月 2 日確認）を用いた。base パッケージに加えてパッケージ knitr、reshape2、stringr、tidyverse を用いてデータの整形と集計を行い、lme4 により GLMM 解析を行い、maptools、rgdal、sp、TeachingDemos を用いて調査地図を描画した。

対象とした魚種それぞれの生息について、一般化線形混合モデル（GLMM）による解析を行った。河川横断構造物が移動障壁となり下流側には生息するが上流側の生息可能性が低下するのではないかと、という仮説の検証を試みた。付随して、流域スケールでの上流と下流での生息可能性の相違を検出するため、調査地点の上流からの順序（累数）を変数に組み込んだ。以上を踏まえ、採水地点ごとの説明変数として、構造物の上下、採水地点の各水系上流からの順序、季節、残り 2 つの魚種のそれぞれの在 / 不在、構造物の順序と他種の在 / 不在の交互作用がどのように影響を与えているか、パッケージ lme4 を用い、地点ごとの各魚種の在 / 不在を応答変数とし、上述の環境変数を説明変数とした。応答変数が二項分布であるため、ロジスティック回帰モデルを用いた。このとき、調査河川をランダム効果として組み込み、赤池情報量規準（AIC）によるモデル選択をおこない、AIC が最小のモデルを採用した。季節については、北海道の積雪状況を踏まえて 3 月を冬、5 月を春、6-8 月を夏、9-10 月を秋とした。

結 果

環境水からの DNA の検出結果

オシヨロコマ、エゾイワナ、ニジマスの DNA の検出結果を、種ごと、調査地点ごと、調査回ごとに図 3 に示した。オシヨロコマは、支流系 1 の Site1-3 については、ほぼ全ての調査地において採水時期にかかわらず検出された。ピウケナイ川（Site4-6）でも、ほぼ全ての調査回、調査地において検出された。オサラッペ川（Site7-9）については、オシヨロコマの検出は全体としては少なかったが、夏季に下流域で検出された。

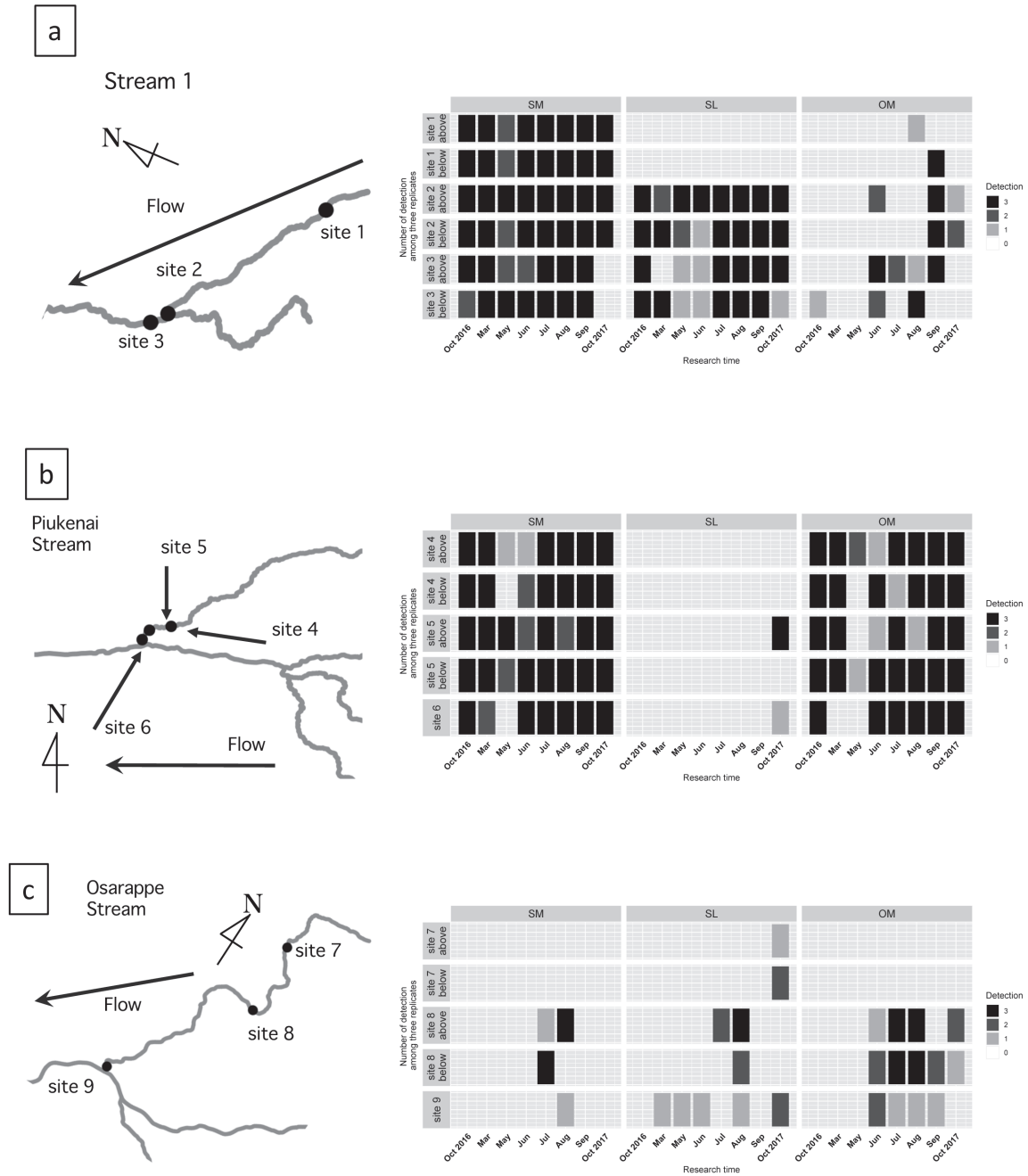


図 3. 調査地図と環境 DNA の検出結果。stie 6、9 以外には河川横断構造物が存在し、site 6、9 においては構造物が無い
ため 1 サンプルの採水とした。環境 DNA の検出結果は調査河川ごと、魚種ごとに環境 DNA の検出結果を示す。各
調査回について、環境水サンプルあたり 3 反復に対して環境 DNA が検出された数を色分けして示す。SM: オシヨロ
コマ、SL: エゾイワナ、OM: ニジマス。a: 支流系 1、b: ピウケナイ川、c: オサラッペ川。

Fig. 3. Map of the research site. Water sampling was conducted both above and below the structure, except at sites 6 and 9, where
one water sample was collected because there was no structure. Environmental DNA (eDNA) for each species detected at each
river. Detection is represented as the number of positive replicates among three replicates for each eDNA sample. SM, *Salvelinus*
malma; SL, *Salvelinus leucomaenis*; OM, *Oncorhynchus mykiss*. (a) Stream 1; (b) Piukenai Stream; (c) Osarappe Stream.

エゾイワナは、支流系1のSite1-3については最上流のSite1以外から、中流と下流の調査地から採水時期にかかわらずほぼ毎回検出された。ピウケナイ川(Site4-6)では、調査期間を通じて検出がほとんど見られなかった。オサラッペ川(Site7-9)では3月から6月にかけて主に下流側で検出された。

エゾイワナは、支流系1(Site1-3)については最上流のSite1以外から、中流と下流の調査地から採水時期にかかわらずほぼ毎回検出された。ピウケナイ川(Site4-6)では、調査期間を通じて検出がほとんど見られなかった。オサラッペ川(Site7-9)では3月から6月にかけて主に下流側で検出された。

ニジマスは、支流系1(Site1-3)については中流と下流の調査地から多く検出されたが、検出時期が夏季に限られた。さらに、オショロコマのみが釣獲されている最上流のSite1において、夏季に一度検出された。ピウケナイ川(Site4-6)では、全ての調査地において検出された。オサラッペ川(Site7-9)については、2017年6月から10月に中流と下流の調査地で検出された。

ろ過ブランクおよび、PCRの陰性コントロールはいずれも陽性反応を示さなかった。

GLMM解析の結果

オショロコマ、エゾイワナ、ニジマスについてのGLMMの結果を表に示す(表2-4)。構造物の上下の影

響については、いずれの種でも選択されなかったが、オショロコマおよびニジマスと、エゾイワナでは選択されたモデルに違いが見られた。オショロコマではニジマスの影響、季節、構造物の順序のモデルが選択され、ニジマスではオショロコマの影響、季節、構造物の順序のモデルが選択された。

オショロコマとニジマスでは、お互いの存在について係数が正であった。季節が選択されているが、オショロコマでは推定誤差が大きかった。ニジマスについては、夏、秋、冬、春の順に検出確率が高いという結果だった。上流からの順序については、オショロコマでは上流ほど検出確率が高いが推定誤差が大きかった。ニジマスでは下流ほど検出確率が高かった。

一方、エゾイワナでは、オショロコマの影響、上流からの調査地点の順序と、オショロコマ×調査地点の順序の交互作用のモデルが選択された。エゾイワナに対して、ニジマスの影響は選択されず、係数の符号よりオショロコマとの間に排他的な関係が示唆された。

考 察

環境 DNA 調査の有効性

本研究に際しては、釣獲による予備調査の結果を踏まえて調査河川を選定した。つまり、上流から下流にかけて生息種が順次変化する支流系1、オショロコマとニジ

表2. オショロコマの検出/非検出に対する環境要因の影響をGLMM解析した結果。説明変数はエゾイワナとニジマスのそれぞれの検出の有無、採水季節、調査地点の上流からの順序、構造物の上下の別、上流からの構造物の順序と他種からの影響の交互作用とした。ランダム効果には調査河川を組み込んだ。季節については3月を冬、5月を春、6-8月を夏、9-10月を秋とした。フルモデルについてAIC(赤池情報量規準)によるモデル選択を実施し、その結果得られたモデルを記す。

Table 2. Summary of the general linear mixed model of the effects of environmental variables on the occurrence of *Salvelinus malma*. The explanatory variables for the full model were occurrence of *Salvelinus leucomaenis*, occurrence of *Oncorhynchus mykiss*, season, site number from the headwater, difference in detections above and below the structure, and the interactions of other species with site number. The research streams were considered a random effect. For the seasons, winter is March, spring is May, summer is June–August, and autumn is September and October. Model selection was performed using Akaike's Information Criterion (AIC).

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-1.9292	4.3262	-0.4459	0.6556
<i>O. mykiss</i>	8.3600	4.1474	2.0157	0.0438*
Season Spring	2.2839	2.6161	0.8730	0.3826
Season Summer	3.8278	2.6198	1.4611	0.1440
Season Autumn	0	-	-	-
Season Winter	7.1286	4.5712	1.5595	0.1189
Site Number from the headwater	-1.2111	0.7771	-1.5585	0.1191
AIC = 53.1				

*: $p < 0.05$

表 3. エゾイワナの検出 / 非検出に対する環境要因の影響を GLMM 解析した結果。説明変数はオショロコマとニジマスのそれぞれの検出の有無、採水季節、調査地点の上流からの順序、構造物の上下の別、上流からの構造物の順序と他種からの影響の交互作用とした。ランダム効果には調査河川を組み込んだ。季節については 3 月を冬、5 月を春、6-8 月を夏、9-10 月を秋とした。フルモデルについて AIC（赤池情報量規準）によるモデル選択を実施し、その結果得られたモデルを記す。

Table 3. Summary of the general linear mixed model of the effects of environmental variables on the occurrence of *Salvelinus leucomaenis*. The explanatory variables for the full model were occurrence of *Salvelinus malma*, occurrence of *Oncorhynchus mykiss*, season, site number from the headwater, difference in detections above and below the structure, and the interaction of other species with site number. The research streams are considered a random effect. For the seasons, winter is March, spring is May, summer is June–August, and autumn is September and October. Model selection was performed using Akaike’s Information Criterion (AIC).

	Estimate	Std. Error	z value	Pr (> z)
(Intercept)	-4.9591	2.1778	-2.2771	0.0228*
<i>S. malma</i>	-2.9758	2.4148	-1.2323	0.2178
Site Number from the headwater	1.3308	0.6004	2.2166	0.0266*
<i>S. malma</i> × StNumber ^a	2.1720	1.0587	2.0515	0.0402*
AIC = 95.2				

*: p < 0.05

a : interaction by *S. malma* and Structure number from the headwater

表 4. ニジマスの検出 / 非検出に対する環境要因の影響を GLMM 解析した結果。説明変数はオショロコマとエゾイワナのそれぞれの検出の有無、採水季節、調査地点の上流からの順序、構造物の上下の別、上流からの構造物の順序と他種からの影響の交互作用とした。ランダム効果には調査河川を組み込んだ。季節については 3 月を冬、5 月を春、6-8 月を夏、9-10 月を秋とした。フルモデルについて AIC（赤池情報量規準）によるモデル選択を実施し、その結果得られたモデルを記す。

Table 4. Summary of general linear mixed model for the effects of environmental variables on the occurrence of *Oncorhynchus mykiss*. Explanatory variables for the full model were occurrence of *Salvelinus malma*, occurrence of *Salvelinus leucomaenis*, season, site number from the headwater, difference in detections above and below the structure, and the interaction of other species with site number. The research streams are considered a random effect. For the seasons, winter is March, spring is May, summer is June–August, and autumn is September and October. Model selection was performed using Akaike’s Information Criterion (AIC).

	Estimate	Std. Error	z value	Pr (> z)
(Intercept)	-3.8843	2.3882	-1.6264	0.1039
<i>S. malma</i>	4.9470	2.4380	2.0291	0.0424*
Season Sprig	-5.0100	2.0477	-2.4466	0.0144*
Season Summer	0.2586	0.5851	0.4419	0.6585
Season Autumn	0	-	-	-
Season Winter	-4.2086	1.9156	-2.1970	0.0280*
Site Number from the headwater	1.1127	0.3725	2.9874	0.0028**
AIC = 105.8				

** : p < 0.01; *: p < 0.05

マスが生息するピウケナイ川、いずれのサケ科魚種についても生息数が少ないオサラッペ川、と考えられたが、付表 1-3* に示されたように、環境 DNA 調査の結果と事前の予測との整合性は高く、環境 DNA の有効性が確認された。

北海道の冬季の環境 DNA 調査についても、著者らの研究において検討されたように、北海道の厳冬期での採水においても DNA 検出は可能であった（Minamoto et al.

2019）。これまで、北海道のサケ科魚類についての河川での環境 DNA 調査は Mizumoto et al. (2018) 以外に前例が少なく、冬季には、生物の代謝が低下して環境水への DNA の放出が減少し、検出力が落ちてしまう懸念もあったが、北海道の厳冬期の調査についても環境 DNA の有効性が示された。

偽陽性の可能性について考えると、構造物の上下の採水地点が互いに近接していることと（表 1）、GLMM 解

析のモデル選択の結果からみても、構造物下側では、直近の構造物上側の影響を回避できなかった可能性がある。調査地間つまり構造物間での DNA の下流への環境 DNA の流下の影響に関して、環境 DNA がどれほどの距離を流れるかについては諸説あるが、サイト間の距離が最も近くても 1 km 以上離れているため、同規模の河川で行われた先行研究の結果をみても、上流の影響を強く受けることはないと考えてよいだろう (Pilliod et al. 2014 ; Wilcox et al. 2016 ; Shogren et al. 2017)。

移動障壁としての河川横断構造物

仮説に反して、構造物の上側において対象種の環境 DNA が検出されないという現象はみられなかった。なかでも支流系 1 とピウケナイ川の構造物の段差は大きい。ため、構造物の上流側と下流側での魚類の生息状況がそもそも異なっているという予測だったが、それに反する結果であった。

検出の季節変化も移動障壁の影響を受けると考えられるが、支流系 1 の Site1-3 の最上流域におけるオショロコマの個体群は通年確認された。GLMM 解析では季節の変数が選択されたものの、推定誤差が大きかった。オショロコマはオサラッペ川の下流にも検出されている。この夏季の検出は季節移動の一端を示しているかもしれないが、断定できない。

支流系 1 の Site2-3 でのエゾイワナは季節を問わず検出され、オサラッペ川の下流において春季から夏季に検出されている。しかし、中上流域での検出が少なく、明瞭な季節変化を捉えることはできなかった。予備調査では、エゾイワナについては春季にオサラッペ川の下流域に生息しており、降海前のスモルト化も見られることが判明していた (今村未発表)。この点からも、Site8 のように移動障壁として機能しない構造物は存在する (図 2)。環境 DNA での検出結果と合わせると、山岳の支流系では、降河 / 遡上という季節性を伴う移動が人工の河川横断構造物に阻害されている可能性は高いが、実際に構造物による外因性なのか、エゾイワナの遺伝的に季節移動をしないという種内変異などの内因性なのかは区別しがたい。

ニジマスについては、先行研究では越冬時に遡上傾向を示すとされているが (Koizumi et al. 2017a)、今回の調査では GLMM 解析により季節間での検出の差が示唆された。冬季と春季に少ない傾向だったが、検出地点が上下に移動するという明確な季節移動は検出されなかった。

総合して、季節移動と段差構造の関係を定量的に扱う

には、地点数や支流系の数を増やすことも含め、更なるデータと検討が必要である。

ニジマスによる競争排除

本研究では、ニジマスとオショロコマは共起することが示された。これは、著者による釣獲データでの、ピウケナイ川ではオショロコマがニジマスと同じプールに生息していることと矛盾しない (今村未発表)。ニジマスの原産地である北米東部においては、ニジマスを始めとした複数の *Oncorhynchus* 属魚とオショロコマが共存することは知られている (Volpe et al. 2000 ; Palmer and King 2005)。ただし、これらの調査は大きな流域面積を擁するブリティッシュコロンビアやアラスカの河川でのもので、北海道の山岳溪流とでは空間スケールが異なる。Fridley et al. (2007) にも示されているように、在来種と外来種の共起については、空間スケールが大きければ正の相関、小さければ負の相関があると考えられる。先行研究でもニジマスの競争排除の影響は強いとされており (Taniguchi 2000 ; Hasegawa et al. 2004 ; Morita et al. 2004 ; Hasegawa and Mackawa 2006 ; Baxter et al. 2007 ; Sahashi and Morita 2016)、看過できない状況だろう。

支流系 1 の最上流である Site1 においてニジマスの環境 DNA の検出があったが、釣獲では発見されていない。この水系の最上流域である Site1 がオショロコマの密度が高い生息地である (今村 未発表) ことも考えると、上流域でのニジマスの生息状況を正確に把握することは非常に重要だと考えられる。仮に支流系 1 の上流域にニジマスの侵入と定着が起こっているならば、早急な対策が必要である。

エゾイワナについての GLMM 解析では、ニジマスからの影響が選択されずオショロコマから負の影響を受ける可能性が示唆された。この項の推定誤差は大きかったが、調査地点および調査地点とオショロコマの交互作用については有意性が示された。この交互作用項の解釈はやや難解であるが、ピウケナイ川においてエゾイワナがほとんど検出されていないことが解析に影響している可能性があるだろう。本研究ではランダム効果に位置づけている河川間差について、別の観点から調査し検討する必要もあるかもしれない。

現地の山岳ガイドへの聴き取りから、ピウケナイ川では人為的に河川横断構造物の上側までニジマスが導入された可能性が高い。この点から構造物が自然発生的なニジマスの拡散の防壁という機能を合わせ持っている可能性はある。しかし、釣りやすさや釣り上げ時の力強さと

いう点からニジマスは人気が高く、法律や条例による規制強化が実現しない限り人為的なニジマスの拡散が続く恐れがあり、ニジマスの分布拡大を軽視できないと考える。

保全のための議論

総合して、希少種選定されていないエゾイワナの実環境 DNA による検出数が少なかったのに対し、希少種とされているオショロコマについては、安定した最上流域の生息地の存在が示唆された。著者らによって、Site1 では 2017 年 10 月の目視調査によって雌雄ともに婚姻色が確認され、繁殖行動と思われる行動が確認されている。しかし、オショロコマにとっての「安住の地」である最上流域は、生息地の面積は大きくなく環境収容力が大きいとは考えにくい。事実 Site1 は、火山活動に由来する落差 30 m の滝によって遡上や生息地の拡大を阻まれている。

エゾイワナについては、環境 DNA の検出の少なさに反して希少種としての選定も、有用資源としての位置づけもないため、注目されないままに個体群の縮小が進行している可能性が否定しきれない。

以上から、イワナ属の在来種 2 種と外来種であるニジマスの生息状況の詳細を示すことができた。しかし、構造物の上下での生息の差や、季節移動の阻害の程度を明らかにできなかった。本研究では、種ごとの定量的な分布状況、マイクロハビタットの種間での分割といった観測データの取得できていないため、オショロコマとニジマスとの共存が長期的にも可能なのか、競争排除の過程を見ているに過ぎないのか、明らかにすることはできなかった。今後、有効な保全策の早急な検討と立案のためにも、マイクロハビタットの分割の現状、季節移動や遡上性について長期的視野に立った精密な調査が必要であると考えられる。サケ科および冬季の採水にも環境 DNA 調査の有効性は示されたため、今後は北海道の冬季の環境水についてもメタバーコーディングを導入するなどして、淡水魚群集の観点から保全のための調査を進めていくことも考えられる。

謝 辞

本研究は、公益財団法人自然保護助成基金第 27 期 (2016 年度) プロ・ナトゥーラ・ファンダ助成を受けた。ここに厚く御礼申しあげる。

参考文献

- Baxter CV, Fausch KD, Murakami M, Chapman PL (2007) Invading rainbow trout usurp a terrestrial prey subsidy from native charr and reduce their growth and abundance. *Oecologia*, 153:461-470
- 遠藤 辰典, 坪井 潤一, 岩田 智也 (2006) 河川工作物がイワナとアマゴの個体群存続におよぼす影響. 保全生態学研究, 11:4-12
- Fausch KD, Nakano S, Ishigaki K (1994) Distribution of two congeneric charrs in streams of Hokkaido Island, Japan: Considering multiple factors across scales. *Oecologia*, 100:1-12
- Fridley JD, Stachowicz JJ, Naeem S, Sax DF, Seabloom EW, Smith MD, Stohlgren TJ, Tilman D, Holle B von (2007) The invasion paradox: Reconciling pattern and process in species invasions. *Ecology*, 88:3-17
- Hasegawa K, Maekawa K (2006) The effects of introduced salmonids on two native stream-dwelling salmonids through interspecific competition. *Journal of Fish Biology*, 68:1123-1132
- Hasegawa K, Yamamoto T, Murakami M, Maekawa K (2004) Comparison of competitive ability between native and introduced salmonids: Evidence from pairwise contests. *Ichthyological Research*, 51:191-194
- Koizumi I, Kanazawa Y, Yamazaki C, Tanaka Y, Takaya K (2017a) Extreme winter aggregation of invasive rainbow trout in small tributaries: Implications for effective control. *Ichthyological Research*, 64:197-203
- Koizumi I, Tanaka Y, Kanazawa Y (2017b) Mass immigration of juvenile fishes into a small, once-dried tributary demonstrates the importance of remnant tributaries as wintering habitats. *Ichthyological Research*, 64:353-356
- Koizumi I, Yamamoto S, Maekawa K (2006) Female-biased migration of stream-dwelling Dolly Varden in the Shiisorapuchi River, Hokkaido, Japan. *Journal of Fish Biology*, 68:1513-1529. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.001038.x>
- Minamoto T, Hayami K, Sakata MK, Imamura A (2019) Real-time polymerase chain reaction assays for environmental DNA detection of three salmonid fish in Hokkaido, Japan: Application to winter surveys. *Ecological Research*, 34:237-242. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.1018>
- Mizumoto H, Urabe H, Kanbe T, Fukushima M, Araki H (2018) Establishing an environmental DNA method to detect and estimate the biomass of Sakhalin taimen, a critically endangered Asian salmonid. *Limnology*, 19:219-227. <https://doi.org/10.1007/s10201-017-0535-x>
- Morita K, Morita SH, Nagasawa T (2011) Seasonal changes in stream salmonid population densities in two tributaries of a boreal river in northern Japan. *Ichthyological Research*, 58:134-142. <https://doi.org/10.1007/s10228-010-0201-3>

- Morita K, Arai T, Kishi T, Kishi D, Tsuboi J (2005) Small anadromous *Salvelinus malma* at the southern limits of its distribution. *Journal of Fish Biology*, 66:1187-1192
- Morita K, Morita S, Yamamoto S (2009) Effects of habitat fragmentation by damming on salmonid fishes: Lessons from white-spotted charr in Japan. *Ecological Research*, 24:711-722
- Morita K, Tsuboi J, Matsuda H (2004) The impact of exotic trout on native charr in a Japanese stream. *Journal of Applied Ecology*, 41:962-972
- Morita K, Yamamoto S (2002) Effects of Habitat fragmentation by damming on the persistence of stream-dwelling charr populations. *Conservation Biology*, 16:1318-1323
- Morita K, Yamamoto S, Hoshino N (2000) Extreme life history change of white-spotted char (*Salvelinus leucomaenis*) after damming. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57:1300-1306
- Morita K, Yokota A (2002) Population viability of stream-resident salmonids after habitat fragmentation: A case study with white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) by an individual based model. *Ecological Modelling*, 155:85-94
- Palmer DE, King BE (2005) Migratory patterns of different spawning aggregates of Dolly Varden in the Kenai River watershed. *Alaska Fisheries Technical Report*, 86:1-30
- Pilliod DS, Goldberg CS, Arkle RS, Waits LP (2014) Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian. *Molecular Ecology Resources* 14:109-116. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12159>
- Sahashi G, Morita K (2014) Fall-winter collection of two salmonid species: Seasonal changes in population densities in four tributaries of the Kushiro river system. *Ichthyological Research*, 61:189-192. <https://doi.org/10.1007/s10228-013-0377-4>
- Sahashi G, Morita K (2016) Potential threat of introduced rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to native salmonids in the western part of Hokkaido, Japan. *Ichthyological Research*, 63:540-544
- Shogren AJ, Tank JL, Andruszkiewicz E, Olds B, Mahon AR, Jerde CL, Bolster D (2017) Controls on eDNA movement in streams: Transport, retention, and resuspension. *Scientific Reports*, 7:5065. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05223-1>
- Taniguchi Y, Miyake Y, Saito T, Urabe H, Nakano S (2000) Redd superimposition by introduced rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, on native charrs in a Japanese stream. *Ichthyological Research*, 47:149-156. <https://doi.org/10.1007/Bf02684235>
- Tsuboi J, Iwata T, Morita K, Endou S, Ooyama H, Kaji K (2013) Strategies for the conservation and management of isolated salmonid populations: Lessons from Japanese streams. *Freshwater Biology*, 58:908-917
- Uchii K, Doi H, Minamoto T (2016) A novel environmental DNA approach to quantify the cryptic invasion of non-native genotypes. *Molecular Ecological Resource*, 16:415-422. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12460>
- Volpe JP, Taylor EB, Rimmer DW, Glickman BW (2000) Evidence of natural reproduction of aquaculture-escaped Atlantic Salmon in a coastal British Columbia River. *Conservation Biology*, 14:899-903
- Wilcox TM, McKelvey KS, Young MK, Sepulveda AJ, Shepard BB, Jane SF, Whiteley AR, Lowe WH, Schwartz MK (2016) Understanding environmental DNA detection probabilities: A case study using a stream-dwelling char *Salvelinus fontinalis*. *Biological Conservation*, 194: 209-216. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2015.12.023>
- Yamamoto S, Morita K, Goto A (1999) Geographic variations in life-history characteristics of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*). *Canadian Journal of Zoology*, 77:871-878. <https://doi.org/10.1139/z99-055>
- Yamanaka H, Minamoto T, Matsuura J, Sakurai S, Tsuji S, Motozawa H, Hongo M, Sogo Y, Kakimi N, Teramura I, Sugita M, Baba M, Kondo A (2017) A simple method for preserving environmental DNA in water samples at ambient temperature by addition of cat-ionic surfactant. *Limnology* 18:233-241. <https://doi.org/10.1007/s10201-016-0508-5>

* 付表は J-Stage のウェブサイト <https://www.jstage.jst.go.jp/browse/hozen-char/ja/> に掲載予定。

