

◆ 報 文 ◆

遺伝情報とコスト距離を用いた 水域エコロジカルネットワーク計画の比較検討

山下慎吾* 村岡敬子** 天野邦彦***

1. はじめに

水田や農業水路は、かつては河川周辺に多く存在していた一時的水域の重要な代替地として、多くの淡水魚の生息場所や繁殖場所となっていることが知られている^{1),2),3),4),5)}。また、河川延長の大部分を占める小河川は、生物の重要な生息域であるとともに、高移動性生物の移動経路としての役割を果たしている⁶⁾。さらに、個体群の存続性という観点からみると、移動性の小さい水生生物にとっても水域の連続性は世代を超えた個体群交流にはかかせない要素である。ところが近年では、農業水路の改修や圃場整備等によって生息環境が改変された結果、水田で確認される魚類が著しく減少したことが報告されている^{3),7)}。ほか、河川においても落差をもった河川横断構造物が縦断方向の不連続性をもたらし、生息域を分断する要因として問題視されている^{6),8)}。

現在、上記のような身近な水域の連続性回復を目的として、水域エコロジカルネットワーク再生事業が実施されようとしている。しかしここで、コンピュータなど他のネットワークと同様に、エコロジカルネットワークが構築される際においてはベネフィットだけではなく、リスクも同時に発生することに注意が必要である。つまり、場がつながることにより、局所個体群の絶滅確率の低下というベネフィットのほかに、すでに人為移入個体群が生息する場所と接続することによる遺伝的攪乱の促進や、侵略的外来種との競合といったリスクが発生する。そのため現実問題としては、ネットワーク修復経路の選択に苦慮することが想定され、なんらかの評価選択手法が必要となる。

そこで本研究では、水域エコロジカルネットワーク修復に関して、在来個体群生息地間の連続性を拡大し、かつ遺伝的攪乱を促進しにくいネットワークを地理情報システム (GIS) 上で選択する手法を提示することを目的として、現実の水域において、遺伝情報を用いた地域個体群の判別を行い、場の空間配置を反映したコスト距離概念を評価指

標として、独自に設定した3つの水域エコロジカルネットワーク修復計画を対象とした比較検討を行い、評価指標としての有効性を検討した。

2. 方法

2.1 検討対象範囲

検討対象範囲は、霞ヶ浦北部の恋瀬川や天の川が流入する5km×10kmの区域である (図-1)。

2.2 遺伝解析

指標生物として、河川、水路、水田を主な生息場とするメダカ (*Oryzias latipes*) を選定した。日本の野生メダカは北日本集団と南日本集団に大別され、さらに南日本集団には多くの地域型が存在する⁹⁾ ことが知られている。2004年7月から9月にかけて、検討対象範囲内の4地点で採取したメダカ成魚の尾鱗切片を99.5%エタノール標本として持ち帰り、各地点10個体について分析を行った。DNAの抽出にはQIAGEN DNeasy Tissue Kit¹⁰⁾ を用いた。ミトコンドリアDNA (mtDNA) チトクロームb (cyt.b) 領域の塩基配列を解読するため、魚類を対象とした既知の手法とプライマー [1] を用いた^{9),11)}。まず、2種のプライマー CytbFa⁹⁾ およびS-LA-16S-H¹¹⁾ を用いたPCR処理を行った。シーケンス反応にはCytbFa、CytbFb、CytbFd、CytbFe、CytbRVa、CytbRVb、CytbRVc、CytbRVdの計8プライマー⁹⁾ と、ABI BigDye Terminator ver.3を用い、ABI

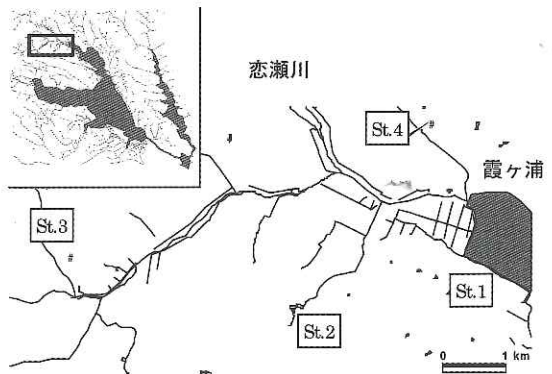


図-1 検討対象範囲

Comparative Technique of Aquatic Ecological Network Plans by Analyzing Genetic Information and Cost Distance

[1] DNAを酵素的に合成する際に使われる20~30塩基対の短いDNA断片

PRISM 3100 Genetic AnalyzerおよびDNASIS Pro ver.2.0を使用して塩基配列を決定した。最後に、今回用いた供試魚と日本全国および韓国のメダカのmtDNA cytb配列情報⁹⁾をあわせて近隣結合法による分子系統解析を実行することにより、移入個体群の推定を行った。分子系統解析にはCLUSTAL W ver.1.83¹²⁾とTreeViewを用いた。

2.3 コスト距離

コスト距離とは、グリッド上の2点間を移動するためのコストを数値化する概念で、最小コストとなるパスを抽出すると同時に、そのパス上に位置する各セルの通過コストの累積値を算出する。そのため、この値は移動が困難であるほど大きな値をとる。今回は魚類を指標生物としているため標高と土地利用形態を移動コストの属性とした。各属性はセルサイズ25mのグリッドで整理した。

2.3.1 標高のコード化

地理情報システム (GIS) のArcView ver.3.2とSpatial Analyst ver.2.0を用いて、数値地図(50mメッシュ標高)の標高値をIDW (Inverse Distance Weighted) 補間により25mグリッドに整理した。そのうえで、最低標高値0mを0.0、検討範囲内の最高値を1.0になるように基準化したコードを各セルに付値した。

2.3.2 土地利用形態のコード化

GISを用いて、空中写真の簡易幾何補正を行い、現地確認結果をあわせて25mグリッドのセルごとに土地利用形態の判読を行った。また、霞ヶ浦河川事務所公表資料から、浸水想定区域内かどうかの識別を行った。それらの土地利用形態の区分と、今回任意に設定した1セルあたりの通過コスト値は表-1に示すとおりである。

2.3.3 最小コストパスとコスト距離の算出

標高コードと土地利用コードを加算した総合コ

表-1 土地利用形態とセルあたりの相対的通過コスト値

土地利用形態	通過コスト
河川など水域	0.1
水田	0.2
浸水想定区域内の圃場整備水田	0.3
圃場整備水田	0.4
浸水想定区域内の耕作地	0.5
耕作地	0.6
浸水想定区域内の樹林地	0.7
樹林地やゴルフ場	0.8
浸水想定区域内の人工構造物	0.9
人工構造物	1.0

スト値を各セルに付値し、PATHMATRIX ver.1.1¹³⁾を用いて、対象地点間の最小コストパスとコスト距離を算出した。なお、ここでは方向性は考慮に入れていない。

2.4 ネットワーク計画比較のための指標の提示

水域エコロジカルネットワーク修復パス選択の目標を「在来個体群生息地間の連続性を拡大し、かつ、遺伝的攪乱を促進しにくいこと」とすると、次のコスト距離指標 (CIEN : Cost Index of Ecological Network) の値が小さければよいことになる (図-2、式-1a、1b)。そこで、独自に設定した3つの修復計画 (表-2) について、コスト距離指標 CIEN を用いた比較を実施した。

$$CIEN = a/b \tag{1a}$$

$$a = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n-1} CDi, \quad b = CDe \tag{1b}$$

CDi : 在来個体群生息地間のコスト距離 (各地点からみて最小コストとなるパスを対象として算出)

CDe : 最近傍移入個体群生息地から在来個体群生息地間

最小コストパスへの移動コスト距離

n : 検討対象とする在来個体群生息地数

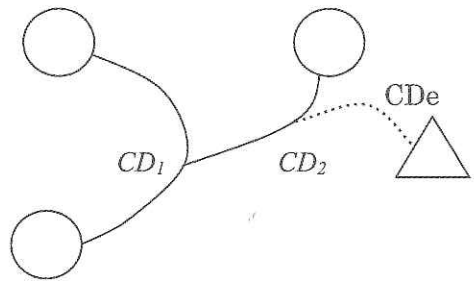


図-2 エコロジカルネットワーク計画比較のための概念図

- : 在来個体群生息地
- △ : 最近傍移入個体群生息地
- CD₁, CD₂, CDe : 最小コスト距離

表-2 設定した水域エコロジカルネットワーク修復計画

名称	内容
プランX	確認されたすべての在来個体群生息地について最小コスト距離となるネットワークを探索し、修復対象パスとする。
プランY	プランXに加えて、移入個体群生息地の付近に拡散抑制対策を試みる。
プランZ	在来個体群生息地のうち、移入個体群生息地に近い地点を除いて、他の地点間が最小コスト距離となるネットワークを探索し、修復対象パスとする。

表-3 霞ヶ浦周辺水域で確認されたメダカハプロタイプと塩基置換部位

	111111111
塩基置換	11122222333334444445555666777778899900000001
部 位	45572390246901268024569012340250258997714912345993 84756524201702401807628705199740637250358670273264
参照配列 (b11mito)	t a t a c c a c c g t g g c a c t a t t c t g a a t a c a c c g a a a t c a c c g a c a a t c t t a
Haplotype K1	
Haplotype K2	a g g
Haplotype K3	g a t c t a c g g g a g t g
Haplotype K4	g c g t a a g t g c c a t t g a g g g t a t g c t g g
Haplotype K5	c g c t t t a c a t t c g c c a g g t a g g c t g t t c t c g

3. 結果および考察

3.1 移入個体群の識別

今回対象とした計40個体のmtDNA cytb領域(1141bp)の分析結果は表-3に示すとおりで、K1からK5までの5つのハプロタイプ^[2]が確認されたことを示している。Takehana et al. (2003)が茨城県の水戸で採集した個体のハプロタイプ(b11mito)を参照配列とすると、ハプロタイプK1はb11mitoとまったく同じ配列で、K2は300, 408, 1032番目の3箇所、K3は75番目など14箇所、K4は54番目など27箇所、K5は48番目など31箇所の塩基が異なっていることが確認された。

分子系統解析の結果は図-3^[3]に示すとおりである。ハプロタイプK1(n=32)とK2(n=2)はSubclade B-Iに、ハプロタイプK3(n=2)はB-IIに区分された。また、ハプロタイプK4(n=2)はSubclade B-VIIのB1a-maebashi⁹⁾やyoshimi⁹⁾と、ハプロタイプK5(n=2)はSubclade B-IXのB15mooka⁹⁾やkitaku⁹⁾と同じ配列であった。B-VIIとB-IXは西日本に特有のタイプであり、放流などによって関東に持ち込まれた可能性が示唆されていることから⁹⁾、移入個体群であると識別された。

遺伝解析により、今回の調査地点4地点のうち、St.1における分析個体には東日本在来個体群と考えられるSubclade B-Iが4個体、Subclade B-IIが2個体のほかに、西日本からの移入個体群と考えられるSubclade B-VIIが2個体、Subclade B-IXが2個体含まれていることが明らかとなった。また、St.2, 3, 4における分析個体計30個体は在来個体群と考えられるSubclade B-Iに該当することがわかった。

3.2 水域エコロジカルネットワーク修復計画の比較

3つの水域エコロジカルネットワーク計画について、最小コストパス、コスト距離およびCIEN値を算出した結果は図-4に示すとおりである。今回用いたコスト属性は標高と土地利用形態のみであったが、算出された最小コストパスのほとんどが河川や水路をトレースしていた。

プランX(図-4上)は、在来個体群が生息するSt.2, 3, 4が最小コスト距離となるネットワークパス(黒の実線)をGIS上で自動探索した結果であるが、そのパスは移入個体群が生息するSt.1からもつながりやすく(黒の点線)、結果としてCIEN値は高い値となっていた。

プランY(図-4中)はプランXに加えて移入個体群生息地(St.1)付近に拡散抑制対策を試みた計画であるが、St.1がすでに拡散容易な位置にあり、かつSt.4と近傍関係にあるために、St.1からの最小コスト距離はさほど増大せず、結果としてCIEN値の減少率は小さかった。

プランZ(図-4下)では、在来個体群生息地であるSt.2とSt.3のみが最小コスト距離となるネットワークパス(黒の実線)を自動探索した結果、プランXとは異なる最小コストパスが選択され、かつSt.1からのコスト距離も増大するため、結果としてCIEN値が14.72から5.37へと半分以下に減少した。

これらのコスト距離概念を用いた算出により、プランZはXやYに比べて効果的なネットワークパス選択であることが数値として表現された。

これまで、地点間の移動コストが最も小さくなるパスを自動的に探索することは困難であったが、GISの発達、地形や土地利用などの公開情報の増加および高度化により、その算出が容易になった。加えて、遺伝解析手法の一般化や遺伝情報の集積により、外見からでは不可能であった指標生物の

[2] ここでは同一遺伝子上の複数の多型部位の組み合わせを示す。

[3] Cladeとは共通の祖先に由来する子孫生物群を示す。



図-3 チトクロームb遺伝子配列を用いたメダカ個体群の分子系統樹 (省略化のため、外群とした韓国の個体や、Clade A、Clade Cを除き、今回確認されたSubcladeが含まれるClade Bのみを示す)。今回の対象範囲では5つのハプロタイプ(K1, K2, K3, K4, K5)が確認された。その他のハプロタイプはTakehana et al. (2003) による分析結果である。Subclade B-I, IIは関東の個体群で、Subclade B-VIIやSubclade B-IXは西日本の個体群であると推定される。

地域個体群の識別も容易になった。今回提示した指標CIENはこれらの情報を活用したものであり、修復パスの定量的選択に有用であると考えられる。

4. まとめ

今回検討した手法(図-5)により、最適な水域エコロジカルネットワーク修復パスの選択が容易になると考えられた。今回の試行を経て得た知見と今後の課題は次の5点である。

4.1 指標生物の選択

指標生物の選択は極めて重要である。遺伝解析で地域個体群を推定するためにはバックグラウンドデータとよばれる既往のDNA配列情報の存在が不可欠である。現在、DDBJなどのDNAデータベースが存在するので、対象生態系において代表的な種であると同時に、遺伝解析の既往情報が

ある種を指標生物として選定することが効果的である。

4.2 標高値の取り扱い

今回のコスト距離算出法では、高所から低所への移動とその逆の移動は同じコストを示すことになる(無向性)。今後は有向性を表現しうる手法を確立することにより、さらに実態に即した移動コスト値が得られるものと考えられる。

4.3 通過コスト設定の向上

土地利用形態のかわりに、例えば冠水頻度などの情報を活用することができれば、定量的な通過コスト値の設定が可能になると考えられる。

4.4 対策評価指標としての活用

移動障害となる人工構造物の除去や設置といった対策効果についてもコスト距離指標による評価が可能であると考えられる。

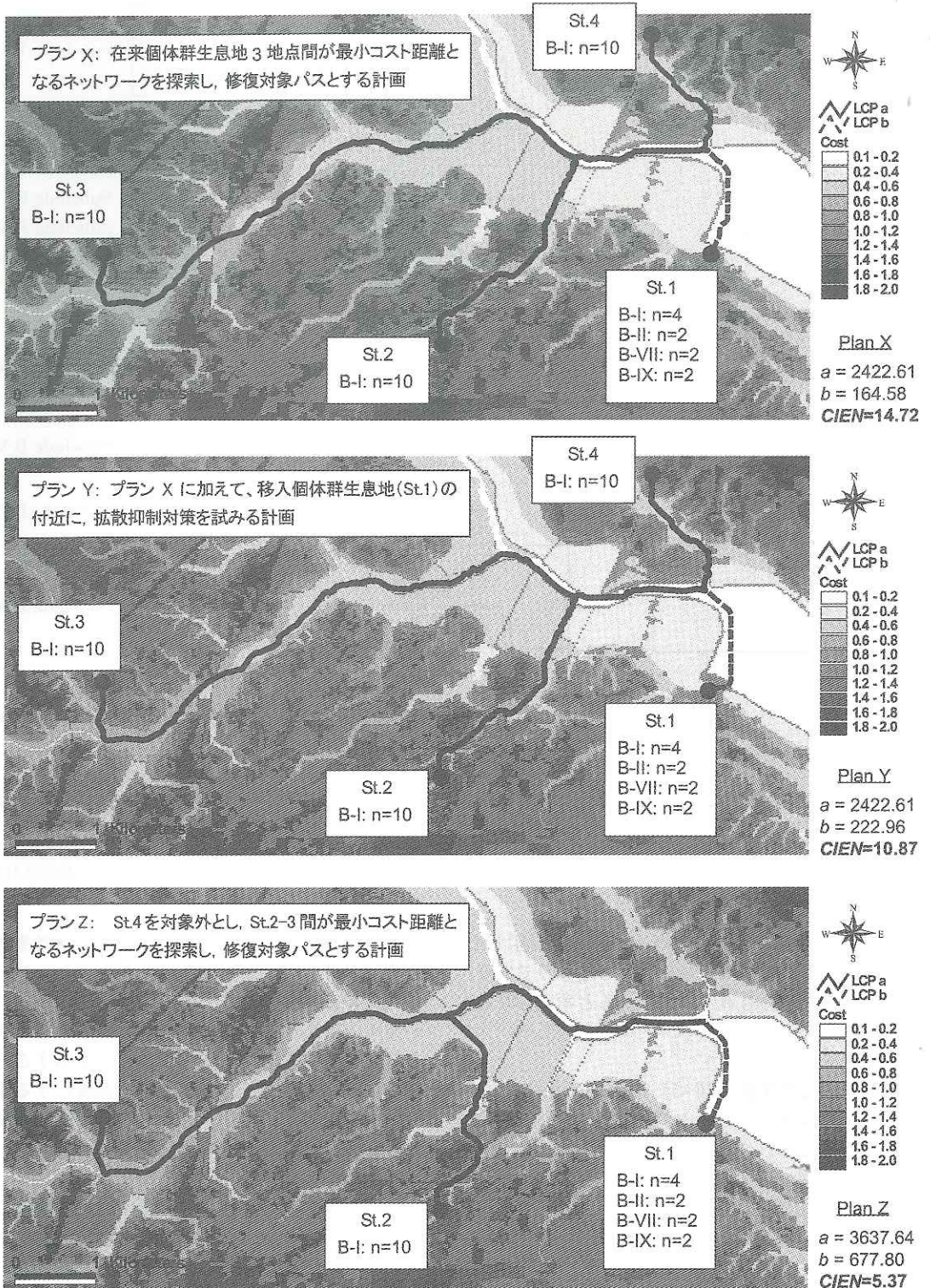


図-4 独自設定した水域エコロジカルネットワーク計画 (表-2) の比較。St.1-4 : 調査地点、B-I, B-II : 在来個体群の Subclade、B-VII, B-IX : 移入個体群と識別された Subclade、n : 遺伝分析個体数、Cost : 標高および土地利用コストを加算した総合コスト、LCP a : 対象とする在来個体群間の最小コストパス、LCP b : 最近傍移入個体群生息地から在来個体群生息地間最小コストパスへの最小コストパス、CIEN : 式 1a, 1b を参照。

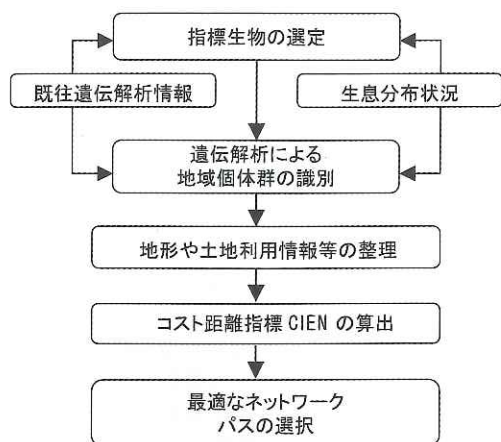


図-5 水域エコロジカルネットワークパスの選択手法

4.5 侵略的外来種が存在する場合への活用

コスト距離指標は侵略的外来種が存在する地域にエコロジカルネットワーク修復事業を計画する場合にも適用可能であり、例えば、将来的に外来種の侵入可能性が高い水域を予め修復パスから除外するといった応用例も考えうる。

謝 辞

メダカ生息場など基礎情報を提供してくださった茨城県自然博物館の中寫主任学芸主事やNPOアサザ基金の皆様、霞ヶ浦河川事務所の皆様に厚くお礼を申し上げます。

参考文献

- 1) 片野 修：ナマズはどこで卵を産むのか、創樹社、1998.
- 2) 片野 修、細谷和海、井口恵一郎、青沼佳方：千曲川流域の3タイプの水田間での魚類層の比較、魚類学雑誌, Vol.48, pp. 19-25, 2001.
- 3) 田中正彦：水田・水路の魚類—淡水魚類からみた土水路の重要性、遺伝, Vol. 53, pp. 36-40, 1999.
- 4) 齊藤憲治、片野 修、小泉顕雄：淡水魚の水田周辺

における一時的水域への侵入と産卵、日本生態学会誌, Vol. 38, pp. 35-46, 1988.

- 5) 湯浅卓雄、土肥直樹：岡山県における水田及び水田に類似した一時的水域で産卵する淡水魚群—アユモドキを中心として—、淡水魚保護, Vol. 2, pp. 120-125, 1989.
- 6) 真田誠至、藤田裕一郎：小河川水系における魚類生息空間評価に関する研究、河川技術論文集, Vol. 9, pp. 97-102, 2003.
- 7) 片野 修：水田・農業水路の魚類群集, pp.67-79、江崎・田中（編）、水辺環境の保全、朝倉書店、1998.
- 8) 真田誠至、藤田裕一郎：水系の連続性を考慮した魚類生息空間に関する調査、水工学論文集, Vol. 46, pp. 1157-1162, 2002.
- 9) Takehana T., Nagai N., Matsuda M., Tsuchiya K. and Sakaizumi M.: Geographic variation and diversity of the cytochrome b gene in Japanese wild populations of Medaka, *Oryzias latipes*, Zoological Science, Vol. 20, pp. 1279-1291, 2003.
- 10) QIAGEN: DNeasy Tissue Handbook. QIAGEN, 2002.
- 11) Inoue, J.G., Miya, M., Tsukamoto, K., and Nishida, M.: A mitogenomic perspective on the basal teleostean phylogeny: resolving higher-level relationships with longer DNA sequences, Molecular Phylogenetics and Evolution, Vol.20, pp.275-285, 2001.
- 12) Thompson, J.D. Higgins, D.G., Gibson, T.J.: CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighing, position specific gap penalties and weight matrix choice, Nucleic Acids Res., Vol. 22, pp. 4673-4680.
- 13) Ray, N.: PATHMATRIX: a GIS tool to compute effective distances among samples, Molecular Ecology Notes, Vol. 5, pp. 177-180, 2005.

山下慎吾*



(株)建設環境研究所自然環境部
主査研究員 (前 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
ーム交流研究員)
Shingo YAMASHITA

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

天野邦彦***



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
河川生態チーム上席研究員, 工
博
Kunihiko AMANO