

氏名 わたなべこうぞう
 氏名 渡辺 幸三
 授与学位 博士(工学)
 学位授与年月日 平成17年3月25日
 学位授与の根拠法規 学位規則第4条第1項
 研究科, 専攻の名称 東北大学大学院工学研究科(博士課程) 土木工学専攻
 学位論文題目 Assessment of Anthropogenic Impacts on River Invertebrates by Means of Population Dynamics Model and Genetic Polymorphism Analysis
 (ポピュレーションダイナミクスモデルと遺伝子多型解析による河川無脊椎動物への人為的インパクトの評価)
 指導教員 東北大学教授 大村 達夫
 論文審査委員 主査 東北大学教授 大村 達夫 東北大学教授 田中 仁
 東北大学教授 西村 修

論文内容要旨

1. はじめに

河川ほど人間によって改変された歴史を持つ生態系はないだろう。古代から人類の多くは川の氾濫により形成された沖積平野を生活圏としてきた。近年では、河川に生息する魚類、水生昆虫、藻類などのモニタリング評価が活発に行われている。これらの中で、水生昆虫は 1) 上流から下流まで生息場所は偏在する、2) 比較的狭いリーチレベルの河川環境を反映する、3) サンプリングが容易という指標生物として有用な特徴がある。

本研究は、個体群動態モデルと DNA マーカーを用いて河川無脊椎動物に対する人為的インパクトの影響を評価する新規的な手法を開発することを目的として行った。論文の前半で行った個体群動態確率モデルに関する研究では、無脊椎動物群集の総バイオマスの動態特性をモデルとそのパラメータによって規定し、その動態特性に基づいて一時的に人為インパクトによってダメージを受けた群集の回復挙動を予測する手法を開発し、さらに、その手法のケーススタディを行った。この内容は第 2 章に記述する。論文の後半の DNA マーカーを用いた研究では、宮城県名取川水系に分布するウルマーシマトビケラ集団を対象に DNA 多型を RAPD 法により調べた結果明らかにされた集団サイズの低下およびダムによる河川分断化が遺伝的多様性を低下させる機構を調査した。この内容は第 3 章に記述する。また、大小様々な湛水面積を有する 6 つのダム湖周辺に生息するヒゲナガカワトビケラの DNA 多型も調査し、調査結果から導かれたダム湖の規模と遺伝的な影響の関係について第 4 章で報告した。最後の第 5 章には、個体群動態モデルと DNA マーカーを用いたインパクト影響評価手法について総括し、これらの手法の今後の展望についても述べた。

2. 河川底生動物の動態特性に基づく Pulse 型人為的インパクトからの回復予測

2.1. 研究の背景と目的

河川生態系において、底生動物への人為的インパクトの影響が問題となっている。土木工事中の濁水や化学物質の流出などの Pulse(一時的)インパクトを受けた底生動物の総バイオマスは一時的に低下する(図 2-1)。複数地点に同じ Pulse インパクトが起きた場合、各地点の生物特性(種構成)や環境特性(気候、水質など)により回復速度は異なる。この場合、遅い回復が予測された地点には重点的な保全が必要となる。本研究は、底生動物の総バイオマスの動態特性を個体群動態確率モデルで推定し、Pulse インパクトからの回復挙動を予測する手法の開発を目的として行った。

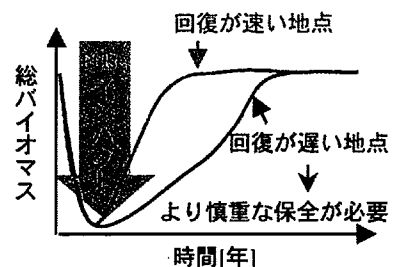


図 2-1 Pulse インパクトを受けた底生動物の回復予測の必要性

2.2. 結果および考察

総バイオマスの動態モデル(式 1)を開発した。

$$dx/dt = -rx \ln(x/K) + sF(t)x \dots (1)$$

x: 総バイオマス, t: 時間, K: 環境収容力, s: 変動強度, r: 比増加速度定数, F(t): 白色ノイズである. 図 2 中の確率分布は式 1 の解の挙動を表す. インパクト前の総バイオマスは振動している (図 2-2). この時系列データから, 各地点特有の動態特性パラメータ(K, s, r)を推定する手法を開発した. さらに, 70 地点で推定を行い, 動態特性と生息環境(流量, 濁度, 標高, DO)の定量関係も明らかにした. 回復予測はこの動態特性に基づいて行う. まず, インパクト直前の総バイオマス x_1 を確率的に予測する (図 2-2 の①). インパクトで αx_1 (②) に低下した総バイオマスがその T 年後に x_1 を越える確率 (回復確率) を求める (③). 図 3 は道路橋工事($\alpha=0.08$)の Pulse インパクトを仮想的に与えた多摩川 (東京) の 3 地点の回復確率の結果である. このように, 各地点の動態特性を反映した回復予測に成功した. さらに, モンテカルロ法でインパクトからの回復時間の期待値を算出し, これを生態学的損失時間 (Ecological Time Loss, ETL) という指標として提唱した. 東京都の 70 地点で道路橋工事によるインパクトを仮想して ETL を求めた結果, 50%の地点の ETL が 1 年未満になり, 底生動物の高い回復力が示された. また, この 70 地点の ETL と環境データを使って重回帰分析を行った結果, ETL は電気伝導度, 川幅, 集水面積, 濁度, Stream Order の 5 つの環境変数により有意に説明されることが分かった. この結果から, 底生動物の回復力が低くなる生息環境の特徴 (上流域, 河川水が透明, 上流側に支流が少ない等) が明らかにされた

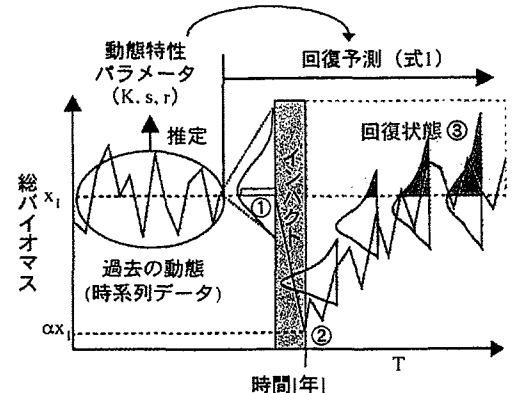


図 2-2 回復予測モデルの概要

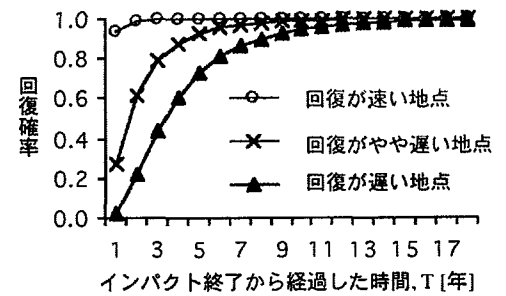


図 2-3 回復速度が異なる 3 地点 (多摩川, 東京) の回復確率の時間推移

3 名取川水系に分布するウルマーシマトビケラ (*Hydropsyche orientalis*) 地域集団の遺伝的多様性と集団サイズの関係

3.1. 研究背景および目的

様々な野生生物において遺伝的多様性と集団サイズ(個体数)との間に強い正の相関が報告されている. しかし, 河川無脊椎動物について, 遺伝的多様性と集団サイズの関係調べた研究事例はほとんどない. 本研究の目的は名取川水系に分布するウルマーシマトビケラ(*H. orientalis*)地域集団の遺伝的多様性と集団サイズの関係明らかにすることである.

3.2. 方法

宮城県名取川水系に分布するウルマーシマトビケラ地域集団の遺伝的組成を調べるために, 水系内の上流から下流に渡る各地域を代表する計 15 地点で幼虫のサンプリングを行った (図 3-1). 大倉ダム, 釜房ダム周辺では, ウルマーシマトビケラの各地域における遺伝子多様性や地域間での遺伝子交流にダムが影響を与えているかどうかを確認するためにダム湖の上, 下流側にサンプリング地点を設置した. 相対集団サイズの推定のため, 幼虫の定量採取 (コドロード法, $0.09\text{m}^2 \times 6$ 回)および川幅(5ヶ所平均)の測定も行った. 相対集団サイズは個体群密度の川幅の積で求めた. DNA 多型実験に使ったサンプルは地点当たり 7~30 個体(平均 22.6)である. サンプルから DNA をフェノール抽出し, RAPD 法で DNA 多型を調べた. プライマーは Operon 社の RAPD 用 KitsA(10 塩基)の OPA-01~05 を用いた. DNA 多型はアガロースゲル電気泳動法により検出し, 各地点の平均ヘテロ接合度 (遺伝子多様度) H_e および 2 地点間の最小遺伝距離 D を求めた.

3.3. 結果および考察

5 種類のプライマーから, 合計 196 の遺伝子座が検出された. 全遺伝子座のうち 89 の遺伝子座 (43%) が多型遺伝子座であった. 大倉ダムと釜房ダムの上, 下流地点の地域集団と広瀬川と名取川の地域集団の 2 つのグループに分けて, 各グループの H_e の平均値の差を調べたところ, ダムの上, 下流地点の平均値が有意に低かった (t 検定, $p < 0.05$). 流下方向に隣接する 2 地点間の遺伝距離 D を調べた結果,

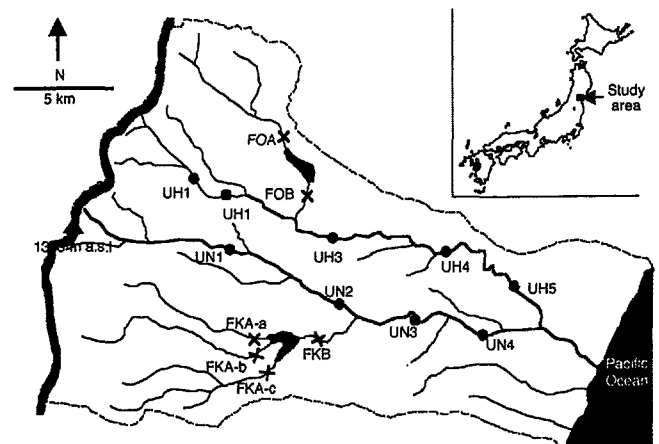


図 3-1 調査地点 (宮城県名取川水系)
● はダムにより生息地が分断された地点 (n=6)
× は分断されていない地点 (n=9)

ダム湖によって分断された2地点間のDの平均値よりも、分断されていない2地点間のDの平均値の方が有意に高かった。この結果から、ウルマーシマトビケラ分集団はダム上下流間の遺伝子流動が低下して、遺伝的分化が起きていることが示唆された。ダム上下流、ダム周辺以外の地点ともに個体群密度あるいは相対集団サイズが大きい地点ほど H_e が高い傾向があった(図3-2)。ダム周辺以外の9地点では H_e と $\log X$ は有意な正の相関が見られた(F検定, $p < 0.01$)。 H_e と $\log X$ の関係を描いた近似直線をダム周辺地点(点線)とダム周辺以外地点(実線)に関して比較すると、個体群密度が同じであれば、ダム周辺地点の遺伝的多様性の方が低いことがわかる。このことは、重回帰分析によって推定された $H_e = 0.021 \log X - 0.035D + 0.148$ という重回帰モデルからも確認された(F検定, $n=15, p < 0.002$)。ここで、 H_e は平均ヘテロ接合度、 X は集団サイズ、 D はダム周辺地点を1、それ以外の地点を0とするダミー変数である。このことから、1) 集団サイズの小ささ、2) ダムによる遺伝子流動の阻害がウルマーシマトビケラ地域集団の遺伝的多様性を低下させる要因として推測された。

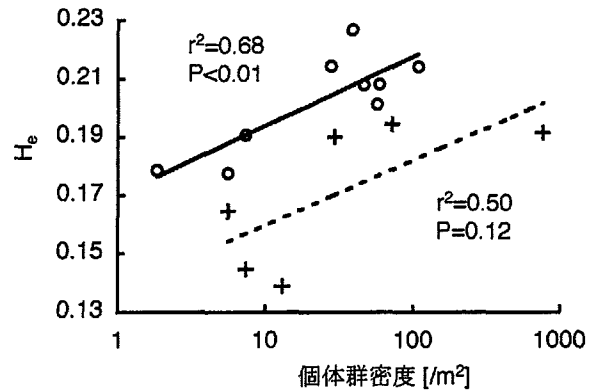


図3-2 平均ヘテロ接合度 H_e と個体群密度の関係。
 ● : ダム周辺以外の地点 (n=8)。
 × : ダム上下流地点 (n=6)。
 実線と点線は各場合(ダム上下流、それ以外)の近似直線をそれぞれ表す。

4. ヒゲナガカワトビケラ (*Stenopsyche marmorata*) 地域集団の RAPD 解析によるダム上下流間の遺伝的分化の評価

4.1 研究背景および目的

ダム湖は河川水生昆虫の幼虫のドリフトと成虫の飛行を遮断するため、ダム上下流地点間の遺伝的分化やそれに伴う各地点の遺伝的多様性の低下を引き起こす恐れがある。また、成虫の飛行距離の観点から、湛水面積が大きいダム湖ほど遺伝的分化が大きいことが予想される。本研究は湛水面積が異なる6つのダム湖を対象に、ダム湖で分断された河川と隣接するコントロール河川に生息するヒゲナガカワトビケラ地域集団の RAPD 解析を行った。

4.2 方法

湛水面積が大きく異なる6つを調査対象に選定した(図4-1, 表-1)。これらのダム湖の湛水面積は 0.12km^2 から 6.00km^2 の範囲で分布している(図4-1)。調査を行ったダムは1954年から1968年の間に竣工された比較的古いダムである(表-1)。それぞれにダムについて、ダム湖によって分断された河川(分断河川)のダム上下流側の2地点と、分断河川の近隣を流れるダム湖で分断されていないコントロール河川の上下流地点の計4地点で調査を行った(図4-1(b), (c))。コントロール河川の2つの調査地点は、標高が分断河川のダム上下流側の調査地点とそれぞれ同じになるように設定した。分断河川とコントロール河川の地理的な位置関係は、両河川が下流で同じ河川に流入するパターン(図4-1(b))と両河川が下流で合流するパターン(図4-1(c))に分かれる。田瀬ダムと遠野ダムは前者、残りの4つのダムは後者のパターンである。コントロール河川の2つの調査地点に挟まれた河川区間に流入

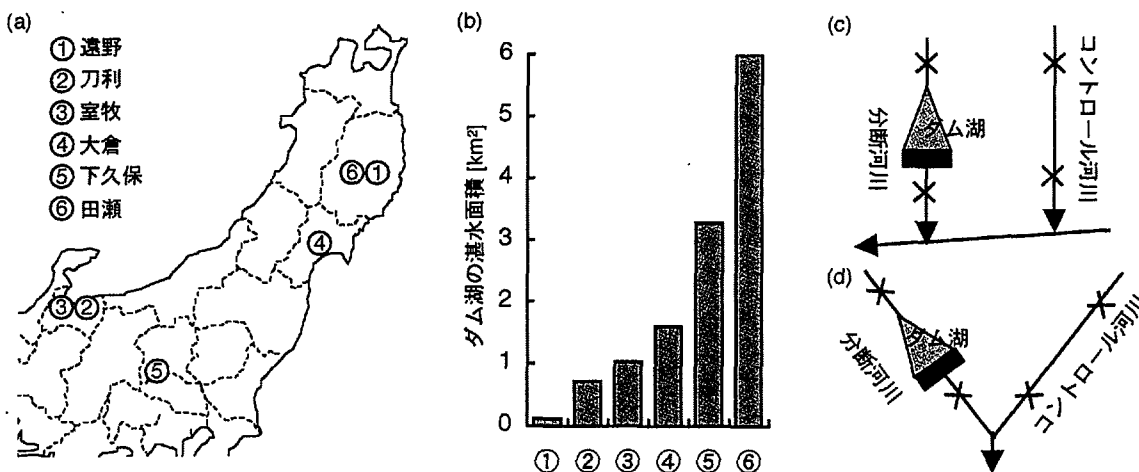


図4-1 調査対象ダムと湛水面積(a), および分断河川とコントロール河川における調査地点(b, c)。ダム湖の数字①~⑥は湛水面積の小さい順を表す。(b)は両河川が下流で同じ河川に流入するパターン(ダム①, ⑥), (c)は下流で合流するパターン(ダム②, ③, ④, ⑤)。図(b), (c)中の×は4つの調査地点を表す。

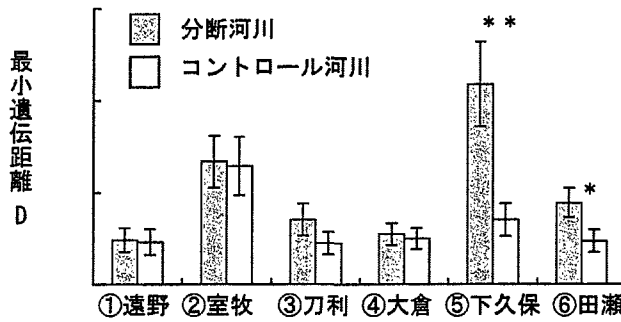


図 4-2 分断河川およびコントロール河川の上下流地点間の最小遺伝距離Dの比較。バーは標準誤差。*は $p<0.01$, **は $p<0.05$ で有意差があったダム湖 (t検定)。

する支流はない。3章と同様の方法で、サンプリング、相対集団サイズの推定、RAPD解析を行った。ダムによる遺伝的分化の有意性を調べるため、ダム上下流地点間の最小遺伝距離($D_{xy,dam}$)とコントロール河川の上下流地点間の最小遺伝距離($D_{xy,control}$)の有意差検定を行った。各地点の遺伝的多様性を調べるため、平均ヘテロ接合度(H)を求めた。ダムによる遺伝的多様性への影響を調べるため、分断河川とコントロール河川の平均ヘテロ接合度を上流地点同士($H_{upper,dam}$ vs $H_{upper,control}$)あるいは下流地点同士($H_{down,dam}$ vs $H_{down,control}$)でそれぞれ比較した。

4.3. 結果および考察

6つのダムすべてにおいて、ダム上下流間の最小遺伝距離($D_{xy,dam}$)がコントロール河川の最小遺伝距離($D_{xy,control}$)よりも大きかった(図4-2)。しかし、6つの中で $D_{xy,dam}$ と $D_{xy,control}$ の間に有意差が検出されたのは湛水面積が最も大きな2つのダムである⑤下久保ダム($t_{51}=3.01, p<0.01$)と⑥田瀬ダム($t_{51}=2.18, p<0.05$)のみであった。この結果から、湛水面積 3.27km^2 (⑤下久保ダム)よりも大きなダム湖上下流間で、ヒゲナガカワトビケラ地域集団のダム湖の影響による有意な遺伝的分化が起きていることがわかった。逆に考えると、湛水面積 1.60km^2 (④大倉ダム)よりも小さいダム上下流間では有意な遺伝的分化は起きていないとも言える。ヒゲナガカワトビケラの成虫の飛行可能距離(約 $2.5\sim 3.1\text{km/日}$)から考えて、湛水面積 1.60km^2 以下のダム湖を成虫が飛び越えていることは十分に考えられる。

分断河川とコントロール河川の上流地点同士、下流地点同士のHをそれぞれ比較した結果、ダム上下流間で有意な遺伝的分化が見られた⑤下久保ダムにおいて、 $H_{upper,dam}$ は $H_{upper,control}$ よりも有意に低かった($t_{51}=3.55; p<0.01$)。このことから、下久保ダム上下流間の遺伝子流動の低下はダム湖上流に生息する地域集団の遺伝的多様性を低下させていることが推測された。しかし、同ダム湖の下流地点ではコントロール河川の下流地点に対するHの有意な低下は見られなかった。更に、⑤下久保ダムと同様に有意な遺伝的分化が見られた⑥田瀬ダムでは、 $H_{upper,dam}$ は $H_{upper,control}$ よりも有意に高い($t_{51}=2.01, p<0.05$)という予想とは逆の現象が見られた。以上を総合的に考えると、湛水面積が大きな⑤下久保ダムと⑥田瀬ダムではダム上下流間で遺伝的分化が起きていたが、これらのダム上下流地点で遺伝的多様性は必ずしも低下していないことがわかった。

5. 結論

博士論文の結論を以下にまとめる

- ・ 個体群動態確率モデルを基に、回復予測モデルならびにPulse型インパクトの影響評価指標であるRecovery Index(RI)とEcological Loss Time(ELT)を開発した。
- ・ 回復予測のケースステディより、群集の動態特性(パラメータ)や回復力と生息環境の関係が明らかされた。
- ・ 名取川水系に生息するウルマーシマトビケラの遺伝的多様性は1) 集団サイズの低下、2) ダムによる遺伝子流動の低下の2因子によって低下していることが明らかにされた。
- ・ 広瀬川と名取川におけるウルマーシマトビケラの遺伝的多様性の流程分布は、集団サイズの流程変化に対応して、中流域で高いピークを示した。
- ・ ヒゲナガカワトビケラの遺伝的分化を調査した6つのダム湖のうち、湛水面積が 3.27km^2 以上の二つのダム湖でのみ遺伝的分化が起きていた。
- ・ ヒゲナガカワトビケラの遺伝的多様性は、集団サイズが小さい集団ほど低下する傾向にあった。

論文審査結果の要旨

本論文は、個体群動態モデルおよび DNA 多型解析という生態学的ツールを使って河川大型無脊椎動物に対する人為的インパクトの影響評価を行っている。これらの生態学的ツールは、従来のインパクト影響評価の場面でほとんど利用されてこなかった。本論文では、従来欠落していた予見的評価あるいは遺伝子レベル評価などの評価を実現する上で、これらのツールがいかに有効に機能するのかを明快に論じている。

第 1 章では、大型無脊椎動物の生態モニタリングの重要性を生物多様性保全の必要性などの側面から指摘している。さらに、本論文の前提となった生態モデリングや遺伝子多型解析に纏わる従来の知見がまとめられている。

第 2 章では、数理生物学の分野で発展してきた個体群動態モデルの概念を、河川大型無脊椎動物への人為インパクトの影響評価に応用的に導入している。これにより、従来の影響評価と大きく異なる新規かつ独創的な評価手法を実現している。また、高度な数学に裏打ちされたシンプルな確率モデルを使うことで、質的・量的に限られたデータからの動態特性(パラメータ)の推定を可能にしているため、提案した手法の実用性・汎用性は非常に高い。また、従来から数多く行われている事後的なインパクト影響評価ではなく、予見的な影響評価を念頭においた評価手法を開発した点も、研究の新規性・有用性の観点から評価できる。また、本研究によって明らかにされた回復力が低くなる河川環境の特徴は、今後、人為的インパクトにより生態学的な影響を受けにくい河川づくりを行っていく上で、土木工学における重要な発見と言える。

第 3 章では、遺伝子多型解析手法の RAPD 法を活用して、名取川水系の 15 地点に分布するウルマーシマトビケラ(*Hydropsyche orientalis*)地域集団の遺伝的組成を調査している。河川大型無脊椎動物の遺伝的多様性は国内ではほとんど評価されておらず、世界的に見ても研究事例が依然として少ないのが現状である。この研究により、大型無脊椎動物の従来の遺伝研究では行われていなかった集団サイズ低下に伴って遺伝的多様性が低下している現象が明らかされた。更に、水系内に建設されたダムによる河川分断化がダム上下流間の遺伝子流動の低下させていること、それに伴ってダム上下流の分集団内の遺伝的多様性が分断されていない場合に比べて低下していることも明らかにされた。本研究によって発見された水質汚濁やダム建設などの人間活動と密接に関係する大型無脊椎動物の集団サイズの低下や生息地分断化が遺伝的多様性を低下させているメカニズムにより、遺伝的多様性の低下を引き起こさないような河川環境整備の実施を可能にした。

第 4 章では、湛水面積が異なる 6 つのダム湖を対象に、ダム湖で分断された河川と隣接するコントロール河川に生息するヒゲナガカワトビケラ (*Stenopsyche marmorata*) 地域集団の RAPD 解析を行っている。解析の結果、6 つのダム湖のうち、湛水面積が 3.27km² 以上の 2 つのダム湖において遺伝的分化が起きていることが発見された。また、遺伝的多様性を低下させる要因として、ダムによる遺伝子流動の低下よりも、各地点の集団サイズの低下がより強く影響していることが明らかになった。大型無脊椎動物に限らず、生息地分断による遺伝的分化を調べた従来の研究では、湛水面積やダム堤高のような生息地分断化の規模には着目せず、分断された地点間で遺伝的分化が起きているかどうかを定性的に調べた研究がほとんどであった。それに対して、生息地分断化の規模と遺伝的分化の大きさの定量関係を調べた研究は皆無に近い。本研究により、これらの定量関係が明らかにされたため、ヒゲナガカワトビケラ地域集団を保全するために許容できるダム湖の規模を設定できる可能性がある。そして、従来の生態系保全で行われてきた生息地を分断する・しないという二者択一的な考え方よりも、どの程度の分断までを許容できるかという柔軟な考え方を新たに導入したダム建設計画を可能とした。

第 5 章は結論である。

以上のように、本論文により、河川大型無脊椎動物に対する人為的インパクトの影響評価を発展させるために有用と考えられる様々な知見が導かれている。

よって、本論文は博士(工学)の学位論文として合格と認められる。