

旭酒造記念財団 研究助成事業報告書

個体群間のつながりを踏まえた
環境 DNA による流域の生息地ネットワーク評価

2026 年 5 月

北海道立総合研究機構 林業試験場

中島 颯大

目次

1. はじめに	3
2. 研究方法	5
2-1. 調査地の概要	5
2-2. 現地調査と遺伝子分析	6
2-3. 積雪期から渇水期までの魚類環境 DNA の検出特性	8
2-4. 生息地ネットワーク評価手法の検討	8
3. 積雪期から渇水期までの魚類環境 DNA の検出特性	11
3-1. 結果	11
3-2. 考察	13
4. 生息地ネットワーク評価手法の検討	15
4-1. 結果	15
4-2. 考察	16
5. まとめ	19
謝辞	19
参考文献	19

1. はじめに

流域に生物種が生息し続けるためには、生息に適した場が豊富で、かつよく繋がっていないなければならない (Saura and Pascual-Hortal 2007)。実際に、生息地の分断化は生息地の喪失とならぶ生物多様性低下の主要因である (Ewers and Didham 2005)。分断化により生息地が孤立していくと、それぞれの生物集団のサイズは小さくなり、偶然による出生率、性比の変動や近親交配による適応度の低下などを介して、種は局所的絶滅に向かっていく (Fahrig 2003)。特に河川に生息する生物 (河川生物) は、移動経路が水系ネットワーク内に限られるため、生息地の分断化に特に脆弱である (Herrera-R et al. 2020)。そのため、国際目標でもあるネイチャーポジティブを河川において実現させていくためには、河川整備等において質の高い生息地を創出すると同時に、生息地の連結性が横断工作物の設置や改善、気候変動などの環境変化に伴いどの程度変化するかを予測し、確保していく必要もある。

環境変化が生息地の連結性に与える影響を定量する方法として、グラフ理論が広く用いられてきた (Jumani et al. 2020)。グラフ理論を用いた方法では、河川ネットワークを生息地パッチとそのつながりに単純化したグラフを考え (図 1)、**連結性指数**を求める。連結性指数にはいくつかあるが、Integral index of connectivity (**IIC**) (Pascual-Hortal and Saura 2006) や Probability of Connectivity (**PC**) (Saura and Pascual-Hortal 2007) は少ない事前情報で各生息地の保全優先度を順位付けできる指標として特に高い評価を得ている (Jumani et al. 2020)。**IIC** や **PC** は、生息地の「量」(面積や生息適地度) と「つながり」(地理的距離や堰の有無) を用いて算出される景観全体の生息地ネットワークの強度を表す指標であり (Saura and Pascual-Hortal 2007)、ある生息地や生息地を結ぶ経路が失われた場合にこれら値がどの程度低下するかを比較することで、流域内で保全すべき箇所を優先順位付けすることができる。しかし、連結性指数を用いた研究では通常、生息地の「つながり」は地理的距離や障壁 (ダム・滝など) の有無で代替されており、本来多様な要素によって変化する実際の「生物の移動しやすさ」はほとんど考慮されてこなかった。

生物の移動・分散による集団間の遺伝子の交流である**遺伝子流動**は、実質的な生息地のつながりである (Cayuela et al. 2018)。遺伝子流動の程度は、野外の複数集団の生物を採取し、組織片などから遺伝情報 (DNA など) を調べることで、明らかにすることができる。そこで、生息地の「つながり」として遺伝子流動に関する情報を組み込むことで、連結性指数の計算をより高精度化できると考えられる。

近年、「水を汲むだけで生物情報を得られる手法」として広く知られるようになってきた**環境 DNA 調査**は、これまで広範囲の捕獲・目視による分布調査が不可欠であった生息地の把握を効率化させ、実務にも急速に取り入れられている。さらに、この環境 DNA 調査では、分析段階で DNA 配列を扱うため、生物の生息地の把握だけでなく、遺伝子流動の推定にも適用できる可能性が近年示されてきた (Nakajima and Tsuru 2024)。したがって、環境 DNA 調査は生

息地の「量」と「つながり」を同時に入手できるツールとなると考えられる。また、現地での作業が簡便である環境 DNA 調査を活用することは、現在敷居が高く「研究・検討段階」（国土交通省 2021）とされている生息地ネットワークの評価を実務展開していくためのステップにもなるだろう。

本研究では、環境 DNA 調査を活用し、簡便な現地調査により生息地の「量」と「つながり」の両面を組み込んだ生息地ネットワークの評価手法を検討し、気候変動による生息地の分断化が特に危惧される冷水性魚類ハナカジカ（*Cottus nozawae*）を対象に試行することを目的とした。さらに、積雪寒冷地での環境 DNA 調査の適用拡大にあたり、このような魚類の生物データが積雪期や融雪出水期の環境 DNA 調査によっても得られるかも併せて確認した。

本稿では、2025 年度に実施した以下 2 項目の内容を報告する。

項目① 積雪期（2 月）から渇水期（7 月）までの魚類環境 DNA の検出特性

項目② 生息地の量とつながりの両面を組み込んだ生息地ネットワーク評価手法の検討

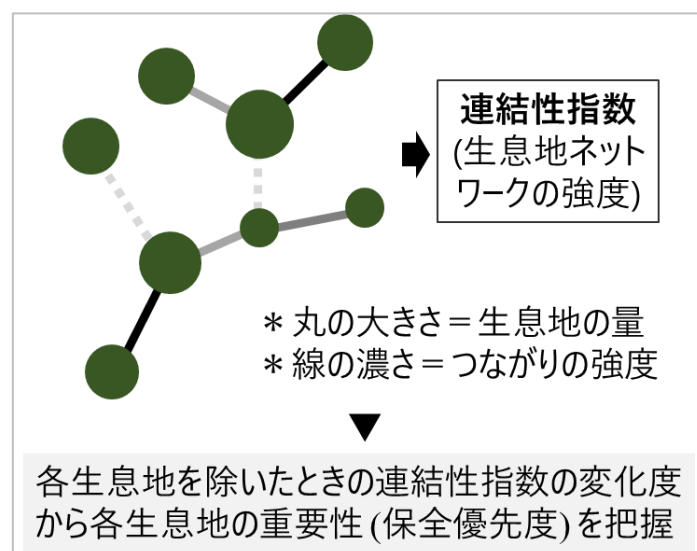


図 1 グラフ理論を用いた流域内で保全すべき箇所の優先順位付けのイメージ。グラフとはノード（節点）とエッジ（線分）からなる数学的関係である。連結性指数は、生息地の利用可能性（habitat availability）という観点から生息地ネットワークの強度を表現した値である。

2. 研究方法

2-1. 調査地の概要

本研究では、石狩川水系空知川に注ぐパンケ幌内川流域（北海道芦別市）を対象とした。パンケ幌内川流域は流域面積 131 km^2 のうち農地が 15% を占めており、一部区間では落差工、治山ダムなどの人工的な横断工作物も多くみられる（北海道山地災害危険地区マップ, hkd-tsn-kikenchiku.jp/）。また、流域の西側にはイルムケツプ山の火山活動に由来する第四紀火山岩層が分布し、この地質を集水域にもつ支流（以降「火山岩流域」という。）は地下水が豊富に流出し、夏季水温が抑制されることが知られている（長坂・杉山 2010 ; Ishiyama et al. 2023）。パンケ幌内川流域は、図 2 に示す 6 つの小流域（流域面積 $6 \text{ km}^2 \sim 24 \text{ km}^2$; 以降「A～F 流域」という。）を包含している。季節変化の検討は A 流域（吉田の沢川流域；図 3）のサンプルを用いて行い、生息地ネットワークの評価ではパンケ幌内川流域全体を対象とした（表 1）。なお、吉田の沢川流域では 2、4、5、7 月に、それ以外では 7 月に採水を行った。

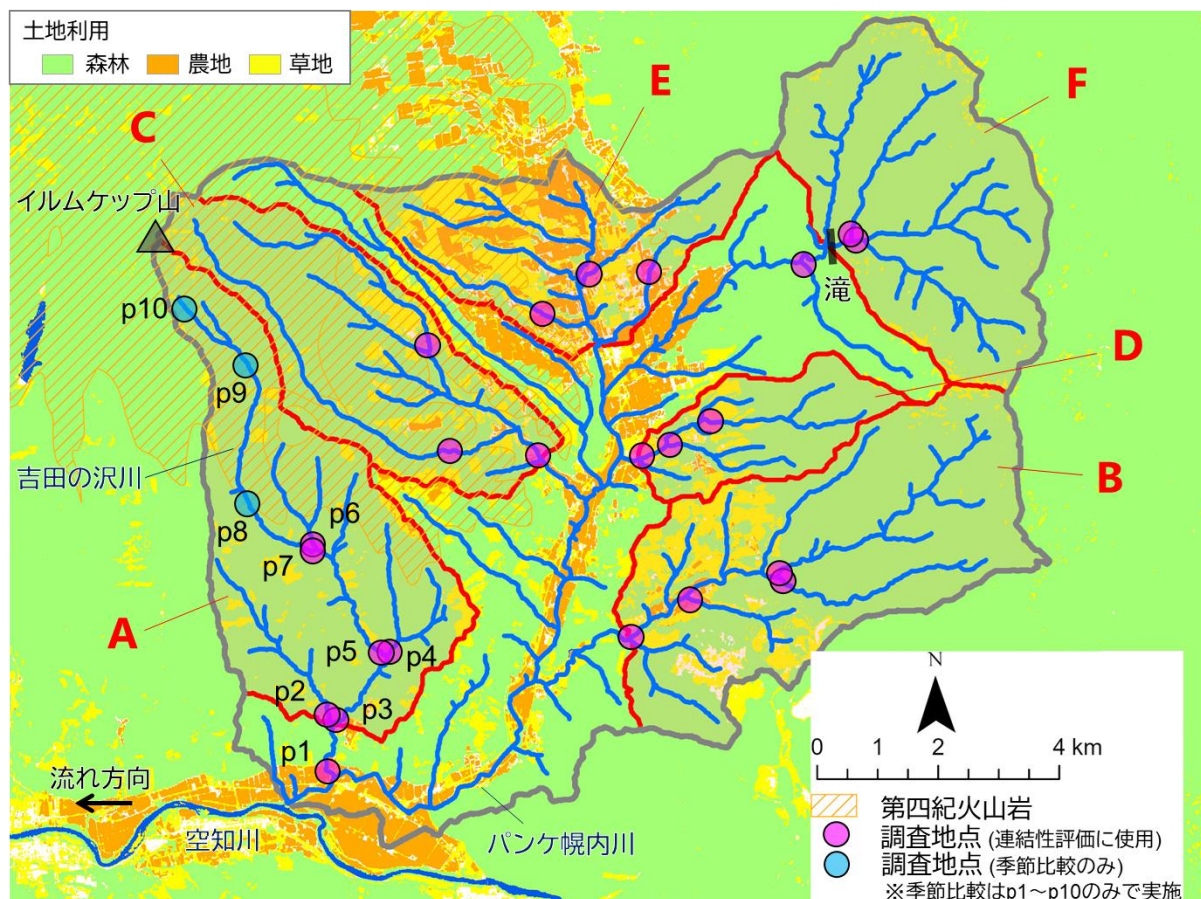


図 2 パンケ幌内川流域の概要と調査地点。パンケ幌内川流域は、図の緑色で示す 6 つの小流域（A～F 流域）を包含する。括弧内は代表的な土地利用を示す。なお、本研究では、河川次数 = 3 以上で注ぐ支流の集水域を小流域とみなし、生息地ネットワークの評価は小流域を単位として行った。土地利用は [JAXA 高解像度土地利用土地被覆図](https://www.jaxa.jp/earth/landuse/)に基づく。



図3 季節による流況の違い（上流部・p8 の例）

表1 本研究で分析した環境 DNA サンプルの一覧

採水日	季節の概況	調査流域	採水地点数	使用用途
2月17日～19日	積雪期	吉田の沢川流域	9	項目①
4月18日～19日	融雪出水ピーク	吉田の沢川流域	10	項目①
5月21日～22日	融雪出水末期	吉田の沢川流域	10	項目①
7月15日～16日	渇水期	吉田の沢川流域	10	項目①②
		吉田の沢川流域以外	16	項目②

2-2. 現地調査と遺伝子分析

各地点において、孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ のステリベクスフィルター（Merck KGaA 社）と 100 mL シリンジ（JMS 社）を用いて 1 地点あたり 0.8 L の河川水を表層から採水・ろ過した。ただし、出水期を中心に浮遊物質などによる目詰まりで 0.8 L までろ過できないこともあり、その場合は可能な量までのろ過とした。また、各季節に調査地の概ね中央部でフィールドブランクとして湧水または蒸留水を 0.8 L ろ過した。DNA 抽出は DNeasy Blood & Tissue Kit（QIAGEN 社）を用いて行った（溶出量：150 μL ）。なお、抽出プロトコルは複数の文献情報を参照し一部改変している。また、後の PCR が困難であった一部のサンプル（2 月の 5 サンプルおよび 4 月の 7 サンプル）については、抽出 DNA を DNeasy PowerClean Pro Cleanup Kit（QIAGEN 社）により精製した。

本研究では、2 種類の遺伝子分析を行った（図 4）。いずれも環境 DNA の網羅的解析（メタバーコーディング解析）と呼ばれる、ある対象分類群のなかの種や遺伝的変異を網羅的に検

出する手法である。一方は生息する魚類を明らかにする MiFish 分析 (Miya et al. 2015) であり、すべてのサンプルで行った。他方はハナカジカの遺伝的変異を調べるための分析 (種内変異分析) であり、7 月に採水されたサンプル (地点 p8~p10 を除く) に対して行った。MiFish 分析については、硬骨魚類全般を対象とした MiFish-U (Miya et al. 2015) とヤツメウナギ類を対象とした MiFish-L (環境省 2021) を 8:1 で混合したプライマーミックスを用いた。さらに、PCR 時に各サンプルに 3 種の標準 DNA (Tsuji et al. 2022) を濃度を変えて添加することで、各種に割り当てられたリード数 (シーケンサーの出力) をコピー数 (検体に含まれていた DNA 断片の数) へ換算できるようにした。エラー配列の除去などの生物情報学的処理の後、得られた配列情報を国際塩基データベースと照合し、各配列をそれぞれの相同性が最も高い種に割り当てた。種内変異分析については、ミトコンドリア DNA の D-loop 領域を増幅する Nakajima & Tsuru (2024) のプライマーおよびプロトコルにより分析した。エラー配列の除去などの処理後、遺伝子の型であるハプロタイプが各サンプルでどのような割合で検出されたかを整理した。なお、いずれも 1st PCR は KOD Plus Neo (東洋紡株式会社) を用いて行い、PCR 産物の精製、2nd PCR、ライブラリ調整、およびシーケンス (illumina NextSeq を使用) は株式会社生物技研 (神奈川県) に委託した。

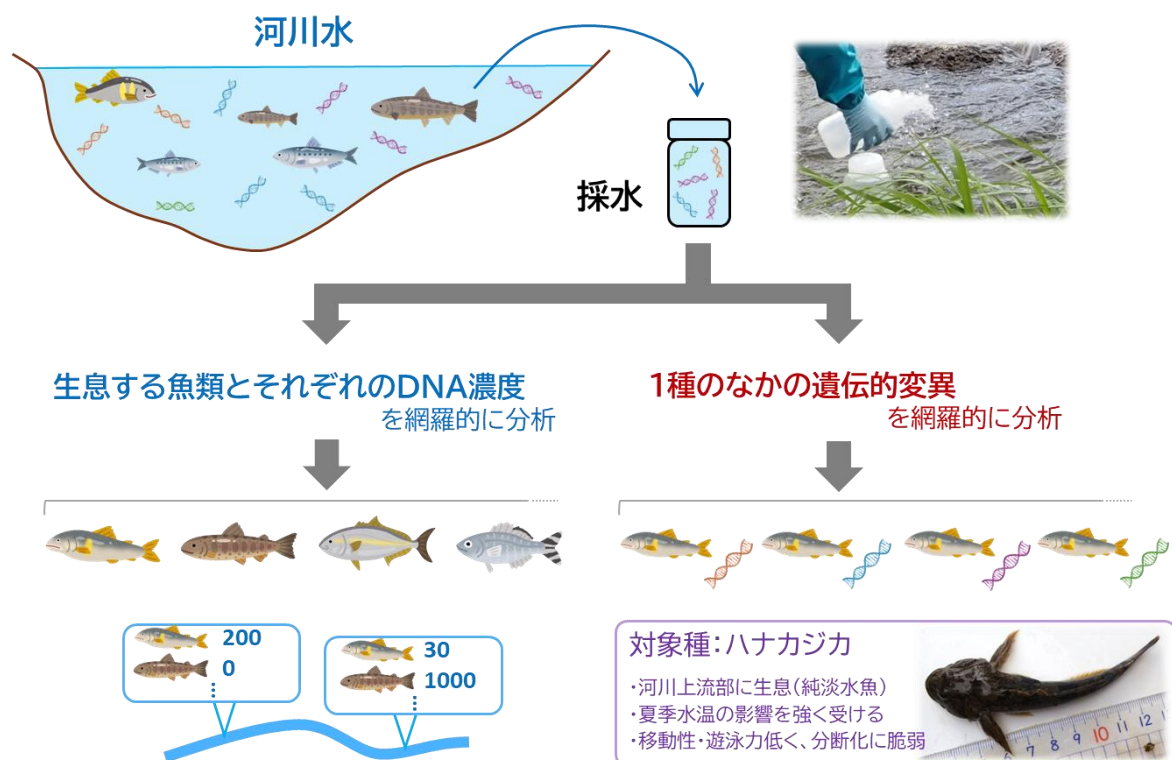


図 4 環境 DNA 分析のイメージ図

2-3. 積雪期から渇水期までの魚類環境 DNA の検出特性

積雪期から渇水期までの魚類環境 DNA の検出特性について、吉田の沢川流域 10 地点（2 月のみ 9 地点）における分析結果から解析した。なお、吉田の沢川流域の各採水地点では、環境 DNA サンプルを採水した日を含む 14 回の流量観測（水深 6 割における断面法）を行っており、結果は流量と合わせて考察することとした。

まず、各サンプルにおいて、魚類に割り当てられたすべてのコピー数を合計し、採水量 [L] で除した値を「魚類環境 DNA 濃度」[copies/L] とした。魚類環境 DNA 濃度は、流量が大きい場合には希釈されていると考えられる。そこで、ある時間単位に河川を流下する環境 DNA の総量として、魚類環境 DNA 濃度に採水時点での流量 [L/s] を乗した「魚類環境 DNA フラックス」[copies/s] も算出した。さらに、検出結果のうち食品等に由来する可能性の高い種を除外したうえで、各サンプルで検出された魚類の種数もカウントした。

2-4. 生息地ネットワーク評価手法の検討

生息地ネットワークの評価にあたり、本研究では図 2 の 6 つの小流域（A～F 流域）を 1 つの生息地パッチとみなすこととした。4 次以上の本流河川および 2 次以下で合流するごく小さな流域は、まとまった生息地ではない（マトリックス）とみなした。解析の概要を図 5 に示す。各小流域の生息適地延長を「生息地の量」、小流域間の遺伝的類似度を「生息地のつながり」としたうえで、パンケ幌内川流域全体の連結性指数を算出し、各小流域を除去した場合に連結性指数がどの程度低下するかを計算した。

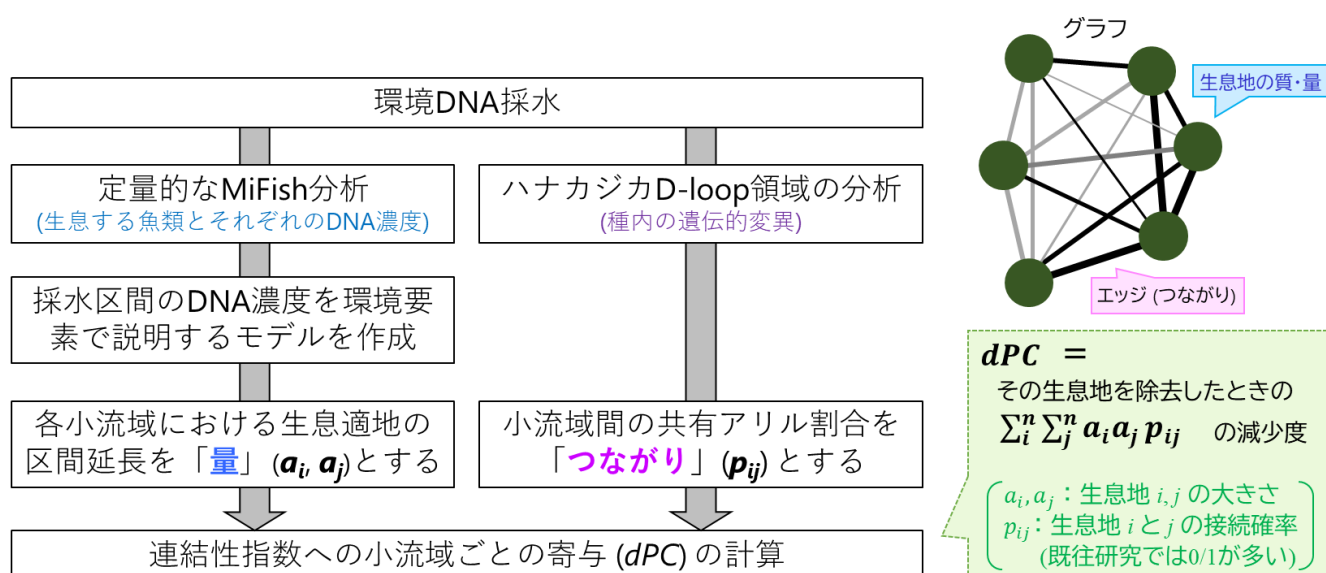


図 5 連結性指数による生息地ネットワークに果たす各小流域の相対的重要性の評価方法(概要)

生息適地度の算出は河川合流点で区切られた河川区間を単位として実施した。7月の23地点（河川区間の上流側に位置するp8～p10を除く）のハナカジカの環境DNA濃度（0を含むデータを $\log(x+1)$ 変換したもの）を応答変数、各地点が属する河川区間の景観要素を説明変数とした線形モデルを作成し、AICに基づくステップワイズ法で選択されたモデルを採用した。使用した景観要素は、集水域の農地面積割合 [%]、集水域の森林面積割合 [%]、集水域面積 [km²]、標高 [m]、夏季平均気温 [°C]、夏季平均水温 [°C]、平均勾配 [%] とした。ただし、集水域の森林面積割合と夏季平均気温は他の変数と相関が高かったため ($|r| > 0.75$)、解析からは除外した。また、夏季平均水温は、集水域の火山岩流域割合や夏季平均気温などで説明される北海道内の水温推定モデル (Ishiyama et al. 2023 の修正版；石山 未発表) による推定値を用いた。説明変数は標準化してモデルに組み込んだ。選択されたモデルから、流域内においてハナカジカが生息する可能性の高い生息適地を特定した。ここで、推定結果は連続値となるため、ある閾値以上を生息適地とみなす必要がある。閾値は Youden 指数（感度＋特異度－1；Youden 1950）が最大となる値を採用した。最後に、モデルの精度である AUC を算出した。

遺伝的類似度については、各ハプロタイプの各サンプルのなかでのリード数の割合をハプロタイプ頻度（遺伝子頻度）とみなし、地点間の共有ハプロタイプの割合（**PS**；the proportion of shared alleles）（Bowcock et al. 1994）を算出した。

$$PS = \sum_i \min(p_{ipopA}, p_{ipopB}) \quad (式 1)$$

ここで、 p_{ipopA} 、 p_{ipopB} は集団 A、B のハプロタイプ頻度を示す。1 から PS を引くと、最近の遺伝子流動の影響をより強く反映し、サンプル数（環境 DNA サンプルの場合はリード数）の地点間の違いの影響を受けにくいことの知られている遺伝的分化の統計量になる（中島 2025）。そのため、1－PS が低い、すなわち PS が高いことは、最近の遺伝子流動が豊富にみられる傾向を示すと考えられる。

景観内の生息地パッチ i, j について、各小流域の生息適地延長を a_i, a_j 、小流域間の PS（平均）を p_{ij} とし、以下の式により連結性指数（PC）を算出した。

$$PC = \frac{\sum_i^n \sum_j^n a_i a_j p_{ij}}{A_L^2} \quad (式 2)$$

ここで、 A_L^2 は定数のため dPC の計算には影響しない。生息地ネットワークへの各小流域の相対的寄与度は、各小流域が失われた場合の PC の減少率（ dPC ）[%] により評価した。

以上の新しい考え方による相対的寄与度の評価結果を、遺伝情報を用いない従来手法による評価結果と比較するため、生息地の「つながり」に地理的距離を用いた連結性指数も計算した。地理的距離を用いた典型的な方法では、生息地間の地理的距離に「ある閾値」を定め、閾値以下の生息地ペアはつながっており、閾値よりも離れたペアはつながっていないという仮定において連結性指数（ IIC ）を計算するというものである（例えば、Nagata et al. 2023）。

IIC は、遺伝情報を用いた PC の計算と同じ a_i 、 a_j を用いて、以下の式により計算した。

$$IIC = \frac{\sum_i^n \sum_j^n a_i a_j \frac{1}{1 + nl_{ij}}}{A_L^2} \quad (\text{式 3})$$

ただし、 nl_{ij} は生息地 i と j の移動においてつながっているリンクを何個経由するかを示す。今回の場合、 nl_{ij} は 1（閾値以下）と ∞ （閾値を超える）の 2 値である。なお、閾値については、既往研究で遺伝子流動が特にみられる空間スケールとされている 15 km（Nakajima et al. 2021）とした。また、 IIC の計算では生息地間に分断させていることが明らかな障壁（ダムや滝）がある場合には $nl_{ij} \rightarrow \infty$ とすることが通常であるため（Segurado et al. 2015 ; Jumani et al. 2020）、下流側に滝をもつ F 流域はどのペアとも繋がっていないものとした。生息地ネットワークへの各小流域の相対的寄与度は、各小流域が失われた場合の IIC の減少率（ $dIIC$ ）[%]により評価した。

3. 積雪期から渇水期までの魚類環境 DNA の検出特性

3-1. 結果

吉田の沢川流域の 1 月から 7 月までの流量変動は図 6 のようであった。標高が高い最上流部の 2 地点 (p9、p10) を除き、流量が最大となったのは 4 月中旬であった。最上流部の 2 地点では、5 月上旬に流量のピークがみられた。また、7 月が最も流量が少なく、積雪期である 2 月や出水末期である 5 月下旬の半分程度の流量であった。

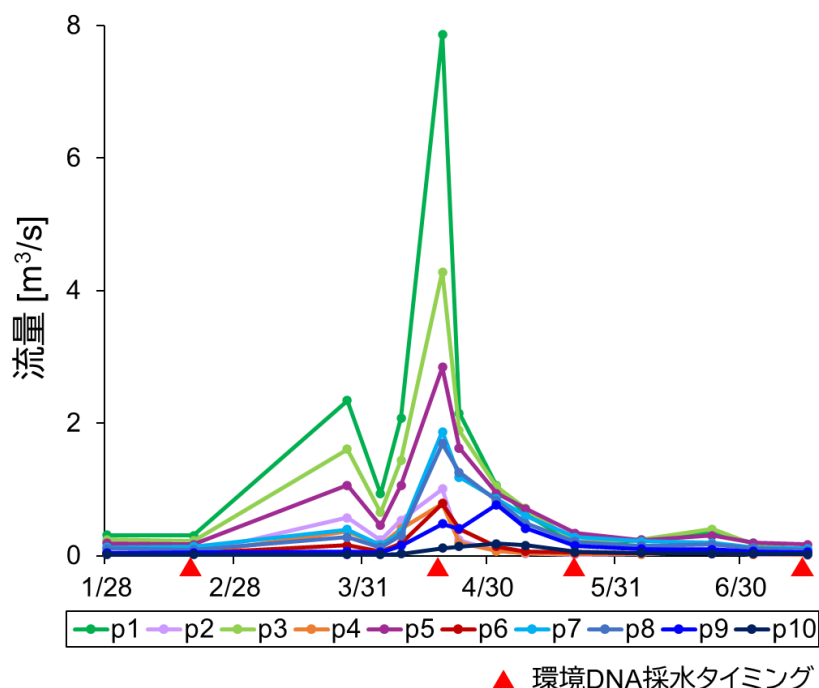


図 6 吉田の沢川流域 10 地点における積雪期から渇水期の流量変動(流量観測による結果)。最上流部の 2 地点 (p9、p10) を除き、4 月中旬が融雪出水のピークであることが分かる。なお、3 月下旬における流量増加は、一時的な強雨によるものである。

環境 DNA の MiFish 分析の結果から、魚類環境 DNA 濃度を季節ごとに比較した結果、5 月・7 月の濃度が 2 月・4 月よりも 1 桁程度高かった (図 7 ; $p < 0.05$)。一方、単位時間あたりに河川を流下する環境 DNA 量と考えられる魚類環境 DNA フラックスで見ると、4 月、5 月、7 月の順で大きい値をとり、2 月は有意に少なかった ($p < 0.05$)。ただし、4 月と 5 月の大小関係には有意性はみられなかった。魚類の検出種数は、時期によらず概ね同程度であったものの、5 月に最下流部 (p1、p2) で種数が増加しているのが目立つ。種組成を整理した結果、基本的に上流→下流という流程に沿った魚類相の違いがみられ、季節による差は小さい傾向がみられた (図 8)。ただし、一部の種には若干の季節変化が見られ、例えばアメマス (*Salvelinus leucomaenis leucomaenis*) は 4 月と 7 月に上流域で割合が増加していた。また、5 月はヤツメウナギ類が増加しており、最下流部 (p1 周辺) で複数種が検出されたほか、ウチ

ワスナヤツメ (*Lethenteron satoi*) が上流域である p9 を含め広範囲に検出された。

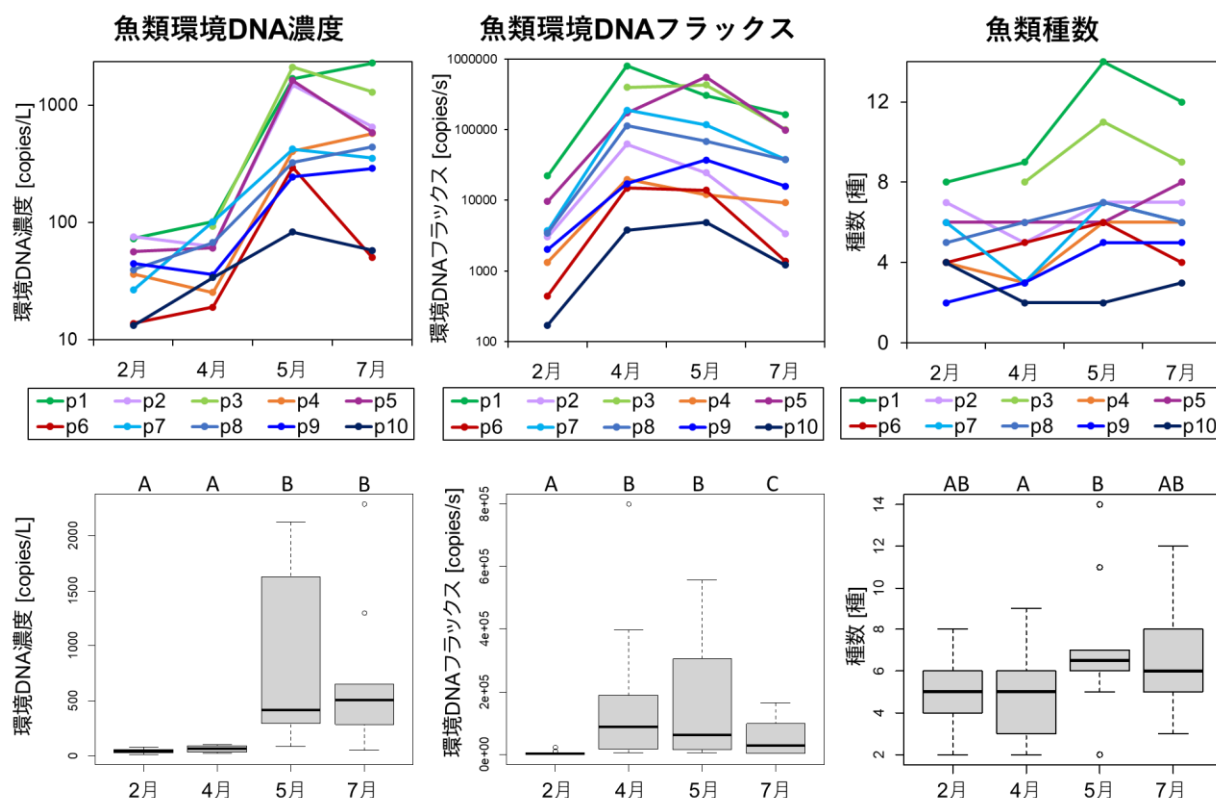


図7 積雪期から渇水期における魚類の環境 DNA 濃度、環境 DNA フラックスおよび検出種数の変化。環境 DNA 濃度と環境 DNA フラックスの折れ線グラフでは縦軸を対数表示している。箱ひげ図における異なるアルファベットは、有意に大小関係がみられることを示す ($p < 0.05$, Wilcoxon signed-rank test, Bonferroni 補正後)。

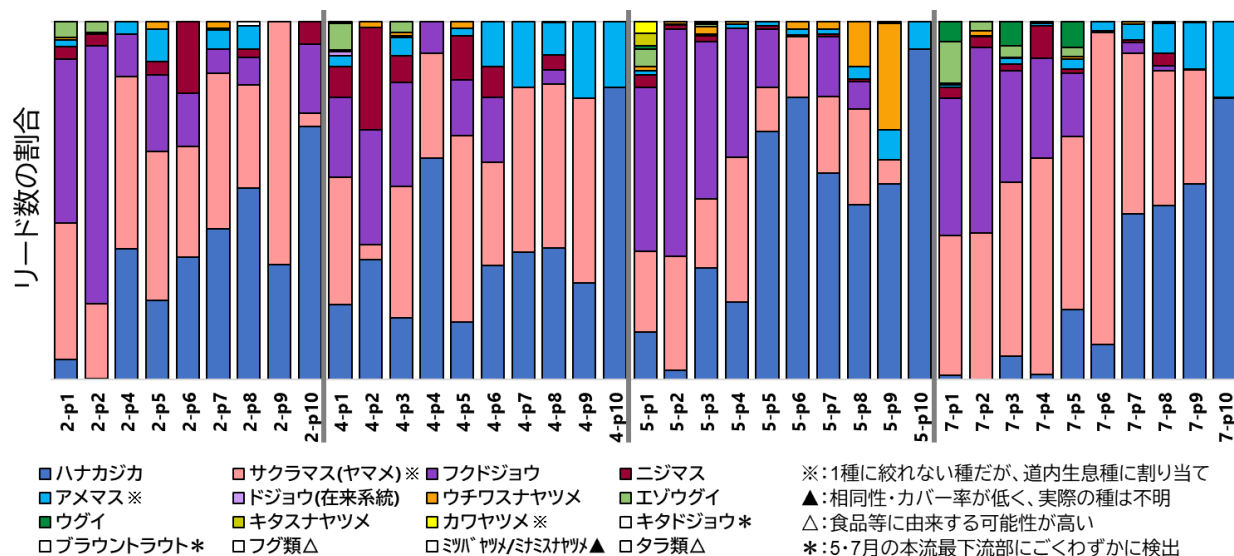


図8 4回の環境 DNA 調査で検出された各地点における魚類の種組成。ラベルは「月・地点」として表示している。例えば、「2-p5」は2月に p5 で採水されたサンプルの分析結果である。

3-2. 考察

積雪寒冷地の河川環境を考えるうえで積雪や融雪出水は重要な要素である。積雪や融雪出水に伴う生物の応答を調べる目的であればもちろん、通常の生物相調査においても季節の1つとして、積雪期・融雪出水期の調査を検討する場合はあるだろう。

2月と4月のサンプルから得られた環境DNA濃度は、5月と7月と比較して1/10にも満たない地点が多かった。ただし、環境DNA濃度を流量と掛け合わせた環境DNAフラックスで見ると、4月は最も高い値となったことから、4月に濃度が低かったのは単に流量が大きく希釈されていたことが理由と考えられる。一方、積雪期である2月は流量が安定しているのにもかかわらず、環境DNA濃度と環境DNAフラックスは著しく小さい値をとった。国内を含むダム湖や池を対象とした既往研究では、積雪期は魚類や両生類の検出種数が大きく減少したという報告がみられる (Turner et al. 2014 ; Buxton et al. 2018 ; Hayami et al. 2020) 。一方で、河川では冬季に環境DNAの検出確率が向上したという事例もみられる (Suzuki et al. 2022 ; Griffiths et al. 2025) 。冬季の検出種数の減少を報告した研究では、冬季は魚類の活性が低く、粘膜等の組織片が流れ出しにくいことが理由として挙げられている。活性の低さは理由の一つとしては考えられるだろう。とはいえ、2月の環境DNAフラックスの4月以降との差は1桁を超えており、また、DNAを精製しなければPCR増幅できなかったサンプルが半数程度みられたことから、必ずしもすべてが魚類の活性によるものではなく、PCR阻害も含めた他のなんらかの要因もあると考えられる。ただし、代表的なPCR阻害物質であるフミン酸等を含む溶存有機炭素の流出は積雪期には小さいことも知られており (Haei et al. 2010 ; 長坂ほか 2015) 、PCR阻害の有無を確かめるには内部標準DNAを用いた定量的な分析が別途必要であることから、本研究から検出の少ない理由を断定することはできず、積雪期に環境DNAを検出しにくい理由については今後検討する必要がある。

以上のように季節的な検出特性の差が顕著であることから、積雪期・融雪出水を含めた魚類相の季節変化について、環境DNA濃度(コピー数)を用いた量的な議論は困難と考えられた。しかし、種数の季節変化は小さく、生息すると考えられる種は毎回の調査で概ね検出されていると考えられるため、各サンプルにおける種の相対的な検出割合に着目することで季節変化はある程度捉えられるだろう。本研究でも一部の種に若干の季節変化がみられていた(図8)。アメマスが4、7月に上流で増加した理由は不明であるが、4月は出水に伴う避難行動を反映している可能性もある。ヤツメウナギ類が下流部を中心に5月に増加しているのは、産卵期にあたるためと考えられる。また、ウチワスナヤツメは2024年12月にはじめて記載された新種であり (Sakai et al. 2025) 、個別の生態については現状一切解明されていない。本種は5月に他のヤツメウナギ類よりも明らかに上流まで検出されており、環境DNA調査が既存の知見が乏しい種の生息域や生態を探る足がかりとしても有用と考えられた。

もう1つの知見として、環境DNAフラックスは、2月を除き、流量の豊富な季節で大きく、流量の少ない季節で小さくなっていた。実験系を用いた既往研究でも、流量増加に伴い一時

的に環境 DNA 濃度が増加することは示されていたが (Dercksen et al. 2025)、本研究では実際の野外でのパターンを示したものである。また、現在の環境 DNA 調査・分析マニュアルでは、「降雨時・降雨直後の調査は希釈等のため非推奨」と記されていることが多い (Curtis et al. 2021 ; 環境省 2024)。流下する環境 DNA の総量が減少するわけではないことから、今後出水中の魚類相を取得したい場合は、流量増加により希釈されていることを踏まえつつ、安全対策や PCR 阻害物質の精製など適切な対応をすれば出水期に採水することも十分有効な選択肢となりうるだろう。

4. 生息地ネットワーク評価手法の検討

4-1. 結果

生息地ネットワークの解析に用いた 7 月の 23 サンプルのうち、MiFish 分析の結果ハナカジカは 17 地点から検出され（環境 DNA 濃度：4.9～308.6）、6 地点では検出されなかった（環境 DNA 濃度：0）。ハナカジカの環境 DNA 濃度を応答変数とした生息適地モデルを作成した結果、夏季平均水温と集水域の農地面積割合を説明変数とするモデルが選択された（表 2）。Youden 指数より生息適地の閾値は 11.36 が最適とされ、この閾値を用いた場合の AUC（モデル精度の指標）は 0.93 と高い値を示した。種内変異分析では、MiFish 分析と検出できた地点に若干のずれがあるものの、17 地点でデータを得ることができた。小流域間のペアで平均した遺伝的類似度 PS は 0～0.26 の値をとった（表 3）。

遺伝情報を加味した連結性指数により計算した各小流域の相対的寄与度（*dPC*）は F、C、A、B、D、E 流域の順に大きく、上位 4 流域（A～C、F 流域）の寄与度は拮抗していた（図 9）。

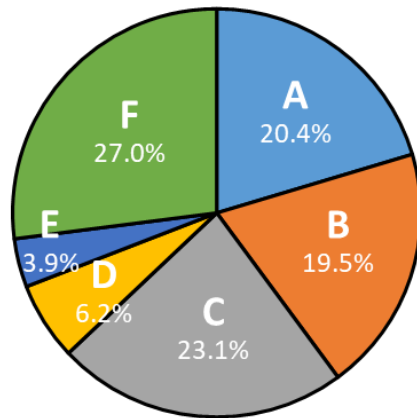
表 2 生息適地モデルの結果

	推定値	<i>p</i>
（切片）	3.06	<0.001
集水域の農地面積割合	-1.14	<0.01
夏季平均水温	-1.10	<0.01

表 3 各小流域の生息適地延長と小流域間の遺伝的類似度

小流域名	流路延長 [km]	生息適地 延長 [km]	小流域間の共有ハプロタイプ割合 (PS)				
			A	B	C	D	E
A	27.11	24.41					
B	31.46	18.66	0.003				
C	24.27	24.22	0	0.070			
D	11.34	7.00	0	0.202	0.257		
E	22.51	7.80	0.169	0	0	0	
F	26.33	26.33	0	0.163	0	0.026	0

(A) *dPC* (遺伝情報使用)



(B) *dIIC* (地理的距離使用)

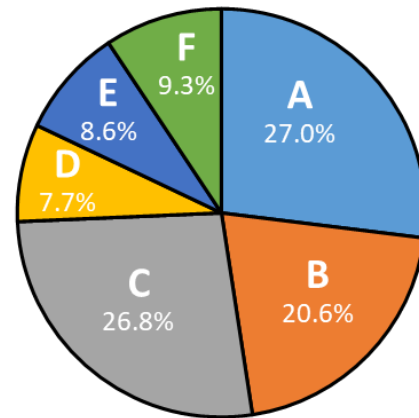


図 9 連結性指数を用いた流域の生息適地ネットワークに果たす各小流域の相対的寄与度の評価結果。(A) 生息適地度と遺伝情報を用いた場合、(B) 生息適地度と地理的距離を用いた場合 (従来法)。全体に占める *dPC* または *dIIC* の割合で表記している。

4-2. 考察

本研究では、環境 DNA 調査を活用し、簡便な現地調査により流域全体の生息地ネットワークに果たす各生息地 (小流域) の相対的寄与度を比較することに成功した。従来手法では地理的距離がどの程度離れていれば生息地間をつながっているとみなすか (閾値) が重要な役割を担うが (Pascual-Hortal and Saura 2006)、本研究で導入した遺伝的類似度は実際の移動分散を反映した 0 から 1 の連続量であり、*PC* の式で使用する接続確率 (p_{ij}) の考え方に合致したものである。遺伝的類似度を計算するためには、十分多型性のある、または対象流域内で遺伝的分化を検出しやすい遺伝マーカーである必要がある。しかし、使用する遺伝マーカーによって情報量や遺伝的類似度の変域が異なることにも留意が必要である。本研究では、試行として環境 DNA を分析するにあたり確実性の高いミトコンドリア DNA の単一領域を用いたが、精度向上のためには核 DNA を含む複数の遺伝子領域を用いることが望ましい。

それでも、遺伝情報を用いた結果は地理的距離を用いた解析では得られなかった示唆に富むものであった。対象種としたハナカジカの生息適地は、火山岩流域などの夏季水温の低い区間で豊富であることは既往研究から示されており (Ishiyama et al. 2023)、火山岩流域である A、C 流域は相対的寄与度も高い傾向が読み取れる (図 9)。これらに加えて、遺伝情報を用いた連結性指数の計算により以下のような示唆が得られた。

- B 流域は地理的距離を用いた従来法では A、C 流域より相対的寄与度が低いとされたが、遺伝情報を用いた評価の結果、これら流域に匹敵する保全優先度をもつと考えられた。
- D、E 流域は生息地の「量」としてはいずれも小さいが (表 3)、生息地ネットワークへの相対的寄与度としては D 流域の方が高い。

○ F 流域は滝があることから事前情報がなければ生息地の「つながり」はゼロだと考えがちであるが、実際にはある程度みられ、生息地ネットワークへの寄与度も大きい。

B 流域は生息適地延長としては A、C 流域に劣るものの、他の小流域と個体の授受が豊富であることが、生息地ネットワークに貢献していると考えられる。D 流域と E 流域の比較では、D 流域では農地・草地に面する区間でも河床と河畔が保全されていることが多い一方で（図 10）、E 流域は河床や河畔が人工的であり、さらに水田の取水等が原因と思われる渇水により河床が露出している箇所もみられた。E 流域では、下流側に流された移動中の個体が死滅するリスクが高く、生息適地延長だけでなく遺伝子流動も小さくなったことで、D 流域よりも生息地の「つながり」が低い水準になったものと考えられる。また、ハナカジカを含む淡水性カジカは、出水等により堰や大ダムを挟んだ下流方向への長距離の移動（受動的な輸送、幼生期の移動も含む）がみられることも報告されている（Junker et al. 2012 ; Nakajima et al. 2021）。生息適地である F 流域は、滝を超えた下流方向へ個体を供給することで流域に貢献しているものと考えられる。



図 10 D 流域と E 流域の河川の例（2025 年 7 月）。いずれも手前側が上流である。

本研究では、遺伝情報の精度から小流域を単位に生息地ネットワークへの相対的寄与度を計算したが、例えばこれら相対的寄与度を各小流域の流路延長で割ることで、単位距離で事業を行ったときの効果と考えることもできるだろう。ただし、小流域単位の計算では、実際にはあるはずの小流域内の景観・環境のばらつきは考慮していないことに留意する必要がある。

本手法については、今後の実務展開を見据えたときに 2 つの大きな課題がある。1 つは前述した遺伝情報の精度であり、現在開発が進んでいる環境 DNA で核 DNA を分析する手法（Manel et al. 2025 など）を取り入れ、精度向上を図ることが重要である。精度を向上することは、小流域単位のみならず、流路単位など、より空間解像度を上げた解析の実施にも資する。2 点目は、連結性指数の考え方や計算手順が直感的ではないことであり、本手法を実際に展開していく際には、その概念と手順をわかりやすく示す方法について検討が必要である。

これらが達成されることで、治山・砂防施設の改良（魚道設置、切り下げなど）や自然再生（河道拡幅、小規模水制工の設置など）を流域内のどこで優先的に行うのが効果的かなど事業計画立案に活用できるツールになると考えられる。

5. まとめ

本研究より、以下の成果を得た。

- 環境 DNA 分析により、魚類の生息地の「量」と「つながり」の情報を同時に得ることができた。
- 積雪寒冷地における積雪期・融雪出水期は、同じ採水量から検出できる魚類の環境 DNA は少ない。ただし、融雪出水期は河川を流れる環境 DNA としては多い。
- 小流域の生息適地延長を生息地の「量」、小流域間の遺伝的類似度を生息地の「つながり」として算出した連結性指数を、環境 DNA 調査により計算することができた。
- 上述の連結性指数により、冷水性魚類ハナカジカの生息地ネットワークに対する各小流域の相対的寄与度を把握することができた。得られた結果は生息地の「つながり」を地理的距離等で代替した従来手法とは異なっていた。
- 課題はあるものの、この手法は治山/砂防/河川事業計画の作成に資する可能性がある。

環境 DNA の分析が現状普通に行われている遺伝子領域では遺伝情報の精度・解像度が低いことや、連結性指数の考え方と計算手順が国内向け・現場向けに整理されていないことが、研究面・普及面での課題である。今後、核 DNA を含むより精度の高いマーカーを用いて本手法の発展および事例の蓄積を進めていくとともに、本研究で試行した手法を現場で使えるものとするよう考え方を整理することが重要と考えられる。

今後、ネイチャーポジティブ実現のため生物の生息・生育・繁殖環境を保全・創出する河川整備等が各地で加速していくが（林 2024）、その際、質の高い生息地の量だけでなくつながりにも着目し、治山事業とも連携し流域全体の生息地ネットワークを向上させる方法を探っていくことでより効果が発揮されるだろう。

謝辞

本報告書の作成にあたっては、北海道大学大学院農学研究院の石山信雄准教授および林業試験場森林環境部機能グループの皆様のご協力をいただきました。流量については同グループの荒田洋平博士が中心となり行った調査結果を使用しています。

参考文献

- Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, et al (1994) High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368:455–457. <https://doi.org/10.1038/368455a0>
- Buxton AS, Groombridge JJ, Griffiths RA (2018) Seasonal variation in environmental DNA detection

- in sediment and water samples. PLoS ONE 13:e0191737.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191737>
- Cayuela H, Rougemont Q, Prunier JG, et al (2018) Demographic and genetic approaches to study dispersal in wild animal populations: A methodological review. Mol Ecol 27:3976–4010.
<https://doi.org/10.1111/mec.14848>
- Curtis AN, Tiemann JS, Douglass SA, et al (2021) High stream flows dilute environmental DNA (eDNA) concentrations and reduce detectability. Divers Distrib 27:1918–1931.
<https://doi.org/10.1111/ddi.13196>
- Dercksen JA, Foppen JW, Blom A, et al (2025) The Impact of Flow Velocity on Environmental DNA Detectability for the Application in River Systems. Environ DNA 7:e70111.
<https://doi.org/10.1002/edn3.70111>
- Ewers RM, Didham RK (2005) Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. Biol Rev 81:117. <https://doi.org/10.1017/S1464793105006949>
- Fahrig L (2003) Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. Annu Rev Ecol Evol Syst 34:487–515. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419>
- Griffiths NP, Bolland JD, Wright RM, et al (2025) Seasonal Changes in Fish eDNA Signal Vary Between Contrasting River Types. Environ DNA 7:e70060. <https://doi.org/10.1002/edn3.70060>
- Haei M, Öquist MG, Buffam I, et al (2010) Cold winter soils enhance dissolved organic carbon concentrations in soil and stream water. Geophys Res Lett 37:2010GL042821.
<https://doi.org/10.1029/2010GL042821>
- Hayami K, Sakata MK, Inagawa T, et al (2020) Effects of sampling seasons and locations on fish environmental DNA metabarcoding in dam reservoirs. Ecol Evol 10:5354–5367.
<https://doi.org/10.1002/ece3.6279>
- 林利行 (2024) ネイチャーポジティブの実現に向けた今後の河川整備の進め方. 河川 938:9–12
- Herrera - R GA, Oberdorff T, Anderson EP, et al (2020) The combined effects of climate change and river fragmentation on the distribution of Andean Amazon fishes. Glob Change Biol 26:5509–5523. <https://doi.org/10.1111/gcb.15285>
- Ishiyama N, Sueyoshi M, García Molinos J, et al (2023) Underlying geology and climate interactively shape climate change refugia in mountain streams. Ecol Monogr 93:e1566.
<https://doi.org/10.1002/ecm.1566>
- Jumani S, Deitch MJ, Kaplan D, et al (2020) River fragmentation and flow alteration metrics: a review of methods and directions for future research. Environ Res Lett 15:123009.
<https://doi.org/10.1088/1748-9326/abcb37>
- Junker J, Peter A, Wagner CE, et al (2012) River fragmentation increases localized population genetic structure and enhances asymmetry of dispersal in bullhead (*Cottus gobio*). Conserv Genet 13:545–556. <https://doi.org/10.1007/s10592-011-0306-x>
- 環境省生物多様性センター (2021) 環境 DNA 分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き 第 1 版
- 環境省生物多様性センター (2024) 環境 DNA 分析技術を用いた調査手法の手引き (淡水魚類・両生類)
- 国土交通省水管理・国土保全局 (2021) 河川事業における生態系保全に関する評価の手引き (実務者向け) (案) ～生態系ネットワーク形成に向けて～
- Manel S, Gauthier J, Benestan L, et al (2025) An enrichment - based capture method from nuclear environmental DNA presents new opportunities for population genomics: A case study on the common frog. Methods Ecol Evol 16:1106–1115. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.70039>

- Miya M, Sato Y, Fukunaga T, et al (2015) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R Soc Open Sci* 2:150088. <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>
- 長坂晶子・杉山(杉本)幸穂 (2010) 北海道内の小河川における夏期最高水温の推定と河畔林の効果. *北海道林業試験場研究報告* 47:35–43
- 長坂晶子・長坂有・石川靖 (2015) 北海道中央部の小流域における溶存有機炭素・無機態窒素の流出特性. *北海道林業試験場研究報告* 52:11–22
- Nagata Y, Ishiyama N, Nakamura F, et al (2023) Contribution of Hydrological Connectivity in Maintaining Aquatic Plant Communities in Remnant Floodplain Ponds in Agricultural Landscapes. *Wetlands* 43:38. <https://doi.org/10.1007/s13157-023-01684-5>
- 中島颯大 (2025) 河川生物の生息地の連結性を評価する河川景観遺伝学. *応用生態工学* 28:49–69 <https://doi.org/10.3825/ece.25-00003>
- Nakajima S, Sueyoshi M, Hirota SK, et al (2021) A strategic sampling design revealed the local genetic structure of cold-water fluvial sculpin: a focus on groundwater-dependent water temperature heterogeneity. *Heredity* 127:413–422. <https://doi.org/10.1038/s41437-021-00468-z>
- Nakajima S, Tsuru K (2024) Testing the applicability of environmental DNA metabarcoding to landscape genetics. *Mol Ecol Resour* 24:e13990. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13990>
- Pascual-Hortal L, Saura S (2006) Comparison and development of new graph-based landscape connectivity indices: towards the prioritization of habitat patches and corridors for conservation. *Landscape Ecol* 21:959–967. <https://doi.org/10.1007/s10980-006-0013-z>
- Sakai H, Iwata A, Watanabe K, Goto A (2025) Taxonomic re-examination of Japanese brook lampreys of the genus *Lethenteron* with descriptions of two new species, *Lethenteron satoi* sp. nov. and *Lethenteron hattai* sp. nov., and re-description of *Lethenteron mitsukurii*. *Ichthyol Res* 72:289–319. <https://doi.org/10.1007/s10228-024-00997-7>
- Saura S, Pascual-Hortal L (2007) A new habitat availability index to integrate connectivity in landscape conservation planning: Comparison with existing indices and application to a case study. *Landsc Urban Plan* 83:91–103. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2007.03.005>
- Segurado P, Branco P, Avelar AP, Ferreira MT (2015) Historical changes in the functional connectivity of rivers based on spatial network analysis and the past occurrences of diadromous species in Portugal. *Aquat Sci* 77:427–440. <https://doi.org/10.1007/s00027-014-0371-6>
- Suzuki J, Nakano D, Kobayashi S (2022) Characteristics of diurnal and seasonal changes in fish detection patterns using environmental DNA metabarcoding in a mountain stream. *Limnologica* 93:125955. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2022.125955>
- Tsuji S, Inui R, Nakao R, et al (2022) Quantitative environmental DNA metabarcoding shows high potential as a novel approach to quantitatively assess fish community. *Sci Rep* 12:21524. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25274-3>
- Turner CR, Barnes MA, Xu CCY, et al (2014) Particle size distribution and optimal capture of aqueous microbial eDNA. *Methods Ecol Evol* 5:676–684. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12206>
- Youden WJ (1950) Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 3:32–35. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(1950\)3:1<32::aid-cnrc2820030106>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/1097-0142(1950)3:1<32::aid-cnrc2820030106>3.0.co;2-3)