

## 要旨

淡水生態系は、世界中で生物多様性が最も脅かされている生息地である。淡水に生息するザリガニ類は、世界で約 590 種が知られているが、近年これらの絶滅の恐れが指摘され、保護の必要性が高まっている。絶滅の要因は、人間活動に伴う生息地の縮小や劣化、外来種の移入に起因することが多い。ニホンザリガニ *Cambaroides japonicus* は、北海道、青森県、秋田県と岩手県に分布する日本固有種である。本種は山間源流部のアクセスが困難な箇所が生息すること、小さな沢で且つ礫や倒木の下に隠れる性質により、生息に関する情報が乏しい。このため、本種の保全に向けては、正確な分布情報の収集が急務である。本種の生息場は、清澄な水環境を伴う河川源流域であり、生息条件として夏季でも水温は 20℃以下、餌資源の落ち葉、隠れ場としての礫や倒木の存在が必要とされている。一般に水生生物の生息場は、出水や渇水等の水位変化との関わりが大きいことが知られているが、水位変動がニホンザリガニの生息環境に与える影響に関する研究はない。本種は、過去には広域に分布していたが、近年は生息数が減少しており、環境省から絶滅危惧種（絶滅危惧 II 類）に指定されている。ニホンザリガニの個体数減少の要因は、開発や河川改修、生息場所の広葉樹林の伐採、水質悪化、乱獲の他、外来種ウチダザリガニ *Pacifastacus leniusculus* による影響が報告されている。ウチダザリガニによるニホンザリガニへの影響の把握が必要であるが、野外で両種の生息状況を同時に調べている事例は無い。このため、ウチダザリガニが侵入している地域におけるニホンザリガニとウチダザリガニの生息状況の理解が必要である。

近年、水生生物の分布を推定するための有効なツールとして環境 DNA 分析が開発されている。環境 DNA 分析は、絶滅危惧種や外来種の分布を把握するための捕獲調査と比べ、実用的かつ費用対効果の高い代替法となっている。しかし、淡水性の甲殻類における環境 DNA の検出例はほとんどない。このため、現在、個体数を減らしつつあるニホンザリガニを対象にした環境 DNA 技術の開発が望まれる。本博士論文では、まず環境 DNA を用いたニホンザリガニの検出方法を確立する。次に、環境 DNA による検出方法を外来種ウチダザリガニにも適用し、ニホンザリガニ生息地におけるウチダザリガニの侵入状況を明らかにする。さらに、捕獲と環境 DNA を併用して調査したニホンザリガニの分布から、本種の生息に必要な水位特性を明らかにすることで、ニホンザリガニの保全に資する基礎情報を得ることを目的とした。

まず、ニホンザリガニの環境 DNA を検出するための種特異的プライマー及びプローブを開発した。野外で捕獲と環境 DNA を比較した結果、本種が捕獲確認された 10 箇所の沢すべてにおいて、本種の DNA を検出することができた。さらに、本種が捕獲されなかった 2 箇所の沢においても DNA が検出された。本種は礫の下に隠れる性質があり捕獲が難しいとされる。これらのことから、環境 DNA は捕獲調査と同等かそれ以上の検出力があると考えられた。

次に、ニホンザリガニと外来種ウチダザリガニの捕獲調査と環境 DNA 分析の結果比較から、環境 DNA の検出力が捕獲調査を大きく上回ることが明らかとなった。阿寒湖周辺の河川を調査した結果、17 河川のうち 16 河川でウチダザリガニの DNA が検出されたことは、阿寒湖に流入する河川のほとんどにウチダザリガニが侵入している可能

性を強く示唆していた。さらに、ウチダザリガニは湖と河川上流部を隔てている最大 69cm の落差のあるカルバート（暗渠）をも乗り越えており、この程度の規模の落差はウチダザリガニの河川上流への侵入を必ずしも阻止できないことが示された。

最後に、自記水位計を用いた水位の連続観測結果から、ニホンザリガニは、水位の安定性に依存しており、特に、水位変動（出水と渇水）が小さく、河川長 600m、集水面積 12ha 以下の源流部が本種の生息に適していると考えられた。また、出水時における河床の礫、河岸植生、木の破片、露出した根及び渇水時における河床間隙水域は、本種の避難場所として機能していると考えられた。

今回の研究を通し、ニホンザリガニ及びウチダザリガニの在・不在を推定する手法として捕獲調査よりも環境 DNA が優れていることが明らかとなった。従来の野生生物確認調査は、空中の鳥類、地上の哺乳類、昆虫類、水中の魚類などを捕獲あるいは目視確認して個体数を集計するものである。しかし、ザリガニのように礫の下に隠れる生物は目視確認による調査の限界があり、絶滅危惧種ニホンザリガニの分布域を過小評価しており、その希少性を過大評価していた可能性がある。これに対して、外来種ウチダザリガニの分布域を過小評価しており、その緊急性を過小評価していた可能性がある。目視で個体の確認ができない河床の礫の下では、我々が想像している以上に、ウチダザリガニの分布拡大が進行しているのかもしれない。環境 DNA 分析は、上流から流れてきた DNA 断片の影響を分離できない。また、PCR 陽性率は捕獲個体数を代替できないという課題も示された。しかし、捕獲調査では、河川内を歩行し、河床礫をめくりながら個体確認していくことから、少なからずニホンザリガニの生息環境を攪乱するのに対し、環境 DNA を用いた調査手法は、生息地の水を採取するだけなので生息環境の攪乱はほとんどない。このため、生息地を保全しながら、精度の高い結果が必要とされる淡水性ザリガニ類の調査において、環境 DNA は有効であると考えられる。

開発事業においてニホンザリガニの生息地の改変が避けられない場合には、個体の移設や生息地の造成といった代償措置が必要である。本種の生息地には、水位の安定性が必要であることが示されたことから、個体の移設や生息地造成に際しては、水位の変動が少ない環境を選定する必要がある。さらに、カルバートは、外来種ウチダザリガニの河川上流への侵入を防ぎきれないことが示された。この原因として、河川から這い上がり陸上を移動して上流側に到達した可能性が考えられた。このことは、物理的な障壁では、ウチダザリガニの河川上流への侵入は防ぎきれないことを示唆している。外来種は、一度侵入してしまうと駆除が困難であり、外来種対策としては、侵入防止が重要である。そのため、GIS を用いて、ニホンザリガニが生息可能な森林地域における河川長 600m以下、集水面積 12ha 以下の生息に好適な源流部を抽出し、環境 DNA 技術を用いてニホンザリガニ及びウチダザリガニの生息分布を明らかにすることで、早急に対策を実施すべき生息地を特定できるかもしれない。