

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25281055

研究課題名(和文)世界遺産・知床の自然を脅かす気候変動とダム：冷水性サケ科魚類の応答と保全策の提案

研究課題名(英文)Climate change and dams as threats to the World Heritage Shiretoko: response by coldwater salmonid fish and a possible conservation plan

研究代表者

河口 洋一 (KAWAGUCHI, Yoichi)

徳島大学・ソシオテクノサイエンス研究部・准教授

研究者番号：20391617

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：知床半島西岸でダムが高密度に存在する川の水深は浅く、流速は遅く、河畔林がないため日光が川にそそぎ、水温は上昇(夏期最高水温25℃)した。そのような川のオシヨロコマ密度は低く幼魚は確認できなかった。実験からオシヨロコマ幼魚は22℃以上になると採餌が低下し26℃で死に至る。熱ストレスに対するオシヨロコマの防御応答を明らかにする実験では、Hsp(ヒートショック蛋白)60sと70の発現量は16℃以上で上昇した。野外調査からHsp60と60sの発現量が増加すると卵巣重量が小さくなり、Hsp60sと70の発現量が高い河川では、オシヨロコマ密度が低かった。Hspは熱ストレスの分子指標として有効である。

研究成果の概要(英文)：In the west coast of Shiretoko Peninsula, the water depth was shallow, velocity was low, and sunlight penetrated into the stream bed, all of which resulted in increasing the water temperature up to 25℃ in summer where dams were built densely along the stream course. The density of Dolly Varden in such a stream was low, and the fry was not confirmed. Laboratory experiments showed that the Dolly Varden fries foraged less above 22℃, and they died at 26℃. Other experiments to clarify a defensive response of Dolly Varden to heat stress, the expression of Hsp (heat-shock protein) 60s and 70 rose above 16℃. Field survey showed that the weight of ovaries were smaller as the expression of Hsp60 and 60s increased, and that the population density was low in the stream where the expression of Hsp60s and 70 was high. Thus, Hsp was shown to be an effective molecular index to detect the heat stress.

研究分野：生態工学

キーワード：温暖化 温度ストレス ヒートショック蛋白 オシヨロコマ 砂防・治山ダム スリットダム 保全

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 地球温暖化が冷水性魚類に及ぼす影響を明らかにするために、北海道を世界の分布南限とするオショロコマに分布域の縮小や個体数の減少等が起こると予測されている。しかし、その予測の精度を高めるために必要とされるオショロコマの温度生理に関するデータは非常に少ない。また、野外では当歳魚および1歳魚個体が減少している。

(2) 現在、知床半島地域でも温暖化の兆候が認められ、夏季の気温は過去30年間上昇傾向にある。また、知床半島には357基もの砂防・治山ダムが設置されているが、これらの河川工作物は河川環境を大きく改変させることが知られており、温暖化がオショロコマへ与える影響をより複雑なものにしている。2°Cの気温上昇が起きれば、半島全域からオショロコマがほぼ絶滅することを予測した研究もあり、日本においては北海道にしか生息しない本種の早急な保全対策が必要である。加えて、温暖化の影響が捕食-被捕食関係を介して栄養段階下位や上位の動物群集に与える波及効果についても評価が求められる。

(3) オショロコマは、太平洋沿岸水域に広く分布している冷水性魚類であるが、温暖化や治山ダムに起因する河川水温の上昇によって、局所個体群の消失が懸念されている。一般に、生物は熱ストレスに曝されたとき、熱ショックタンパク質(Heat shock protein:Hsp)の発現を増加させることで、変性した細胞や組織を修復する。Hspによる生体防御は、熱への応答において極めて重要な生理機能であり、熱ストレスを検出するための分子指標となる潜在能力を有している。

(4) 知床半島での河川では冷水性魚類の生息場について温暖化による水温上昇が懸念され、中でも上流からの水温の高い川ではさらにリスクが高いと考えられる。一方で、半島沿岸部で崖部を持つ地形より、下流部では急勾配となり砂防堰堤が連続して設置されている。そこで高密度の連続砂防堰堤が、熱的に不利な条件を持ち、より水温を上昇させるのではないかとこの仮説を持った。

### 2. 研究の目的

(1) 高水温がオショロコマの採餌活性および死亡に及ぼす影響を室内実験で明らかにすることを目的とした。特に、当歳魚と1歳魚といった幼魚個体に及ぼす影響を検討することとした。

(2) 地球温暖化および砂防・治山ダムが河川環境・生態系に与える影響を評価するため、以下の3つの項目について解明する。1) オショロコマの生息密度の決定要因の解明。2) 夏季最高水温の決定要因の解明。3) 底

生動物群集と河川環境の関係性。

(3) 本研究では、はじめに、オショロコマに対し、実験室内において高温曝露を行い、Hsp各分子種(Hsp40, Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp110)の発現応答を明らかにし、熱ストレスを検出するための分子指標としての適性を検証した。次に、知床半島の自然河川に生息するオショロコマのHspを定量し、河川水温やダム設置の影響を明らかにするとともに、Hsp発現量が、成長、繁殖特性および個体群密度に影響を及ぼしているかどうか明らかにした。

(4) 連続砂防堰堤区間の水温上昇と熱的環境との関係を現地観測し、日射による熱収支を解析した。また滝部での熱収支の感度については屋外実験を行い、現地スケールでの温度変化への感度を推測した。

### 3. 研究の方法

(1) 北海道で採捕したオショロコマを実験施設に空輸し、餌および水槽環境に馴致した。水温制御が可能な水槽内に仕切り網を使い20区画設けた(図-1)。



図-1 実験水槽。

当歳魚と1歳魚を各10個体、合計20個体抽出し各区画に入れた。水は循環濾過し、10°Cで1週間馴致した。その後、26°Cまで2°Cずつ上昇させた。各個体には生きたアカムシユスリカを与え、採餌量を定量化した。個体が温度ストレスにより平衡を失った時点で死亡したものと判断した。

#### (2) -①現地調査

知床半島の36河川を対象に自動計測水温ロガーを設置し、水温計測を行った。この内12河川(ダム設置河川6, ダム非設置河川6)には0.5~2km程度の距離をとりながら3つの調査区を設定し、計36調査区において、魚類・底生動物・物理環境調査を行った。魚類調査は電気ショッカーを用いた2PASS採捕法による密度推定を行った。底生動物は調査区間内に存在する瀬を対象に、サーバーネットを6箇所設置して採捕した。物理環境調査では、調査区間における平均水面幅、河床勾配、河畔林の鬱閉度、自動計測水温ロガーで水温を計測し、加えて調査区を約1m<sup>2</sup>の格子状に分割した上で、その中心点における6割水深流速、水深、河床材料粒径を計測、瀬や平瀬などの河床タイプ分類を行った。

#### ②気象情報・GIS地形データ収集

気象情報(気象庁)として、知床半島の東

西に存在する観測所のデータから日平均気温、日照時間を収集し、GIS データ（国土交通省）から調査地点上流域の地形情報として、集水面積、平均 TWI、火山岩地質率を収集した。これらは②夏季最高水温の決定要因の抽出に用いた。

### ③統計解析

1) と 2) の解析では一般化線形混合モデルを使用し、ランダム変数には河川名を指定した。1) の解析では、12 河川 36 調査区におけるオショロコマの生息密度を目的変数に、調査区間における各種物理環境情報を説明変数とした。2) の解析では、36 河川で計測した夏季最高水温を目的変数に、気象情報や GIS により集計した地形情報、ダム設置数を説明変数とした。3) の解析では 12 河川 36 調査区で採集した底生動物群集を 5 種類の摂食機能群に分類し、その組成に基づいた調査区の座標づけを NMDS により行った。

### (3) - ①調査河川

調査は、北海道知床半島のオホーツク海側と太平洋側にある 10 河川を対象に行われた。オホーツク海側では、ダム設置河川が 3 河川、ダム未設置河川が 3 河川選定され、太平洋側では、ダム設置河川が 2 河川、ダム未設置河川が 2 河川選定された。

### ②オショロコマの捕獲

2013 年 8 月 14 日～10 月 1 日に、調査対象河川 1 河川につき 10～15 個体のオショロコマが捕獲された。捕獲されたオショロコマは、2-Phenoxyethanol による麻酔の後、断頭され、肝臓が採集された。肝臓は、その場でドライアイスによって凍結された後に実験室まで運ばれた。また、捕獲された個体数をもとに 2 パス除去法により生息数が推定された。

ケンネベツ川で採取された 1 齢の 107 匹に関しては、実験室に持ち帰り、後述する高温曝露実験に供試された。

### ③高温曝露実験

ケンネベツ川で採集された 1 齢のオショロコマ 107 匹を用いて、高温曝露実験を実施した。実験に供試されたすべてのオショロコマは、10℃に保たれた水槽で 1 ヶ月間順化させた。高温曝露は 14℃、18℃、および 22℃の 3 つの温度条件で行われ、各温度に 90 分間曝露した後、10℃に戻し、その状態で最大 96 時間保持された。採材は、曝露前を対照群として、曝露直後、曝露後 12 時間、24 時間、48 時間、72 時間、96 時間で行われた。

### ④Hsp の定量

肝臓組織はホモジェナイザーを用いて粉碎し、ライセートを遠心分離にかけ、上清を採取した。上清液のタンパク質濃度の定量にはローリー法が用いられた。

Hsp はウェスタンブロット法を用いて、検出された。熱変性されたタンパク質サンプルを、1 サンプルあたり 10 μg となるように調整し、10% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気

泳動により展開した。電気泳動後にタンパク質サンプルを PVDF メンブレンへ転写させた。Hsp40、Hsp60、Hsp70、Hsp90、Hsp110 それぞれに特異的な 1 次抗体を反応させた後、HRP 標識 2 次抗体を反応させた。タンパク質の検出には、ECL が用いられた。

(4) オホーツク海側金山川下流部にて、連続堰堤区間とそうでない区間に観測リーチを設け、2015・16 年の 8 月を中心とする夏季に、水温を 27 地点で自記計測し、気温・湿度、日射強度、風向風速の気象条件、流れ場・河床地形も並行して計測した。また、滝部の小規模屋外実験を行い、落差を挟んで温度差が出たものの、現地スケールでは差が検出しにくいほど小さくなるのがわかっている。

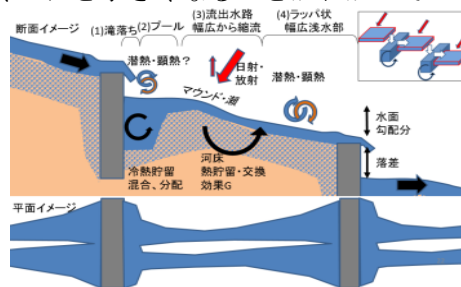


図 2 連続堰堤区間の流れ場のパターン

## 4. 研究成果

(1) 採餌行動が観察された上限水温は 24℃であり、これは成魚を対象とした先行研究で明らかにされた 22℃よりも高かった(図-3)。このことは、幼魚における高い基礎代謝に起因するものと考えられた。

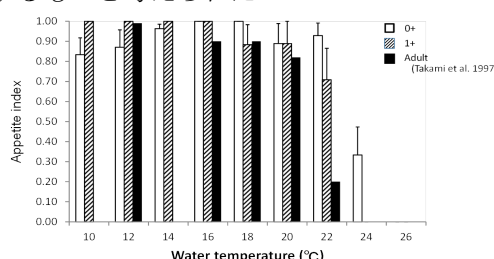


図-3 水温と採餌量の関係。

個体の死亡は 20℃で起こり始め、26℃で全個体が死亡した。20-24℃の積算死亡率は先行研究が報告していた成魚のそれよりも高かった(図-4)。

本研究の結果、オショロコマの幼魚は成魚に比べて高水温で採餌できるが、死亡率は高かった。このことから、盛夏期に 20-24℃程度に上昇する河川では、温度ストレスにより成魚よりも幼魚がより多く死亡している可能性が示唆された。

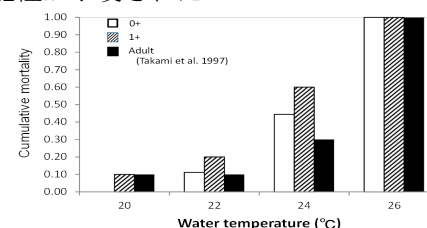


図-4 水温と死亡の関係。



て負の相関が認められた。最後に、個体群密度と Hsp 発現量の関係を調べたところ、Hsp60s と Hsp70 において負の相関が認められた。Hsp 発現による高水温耐性の獲得と成長や繁殖といった生活史特性の間にトレードオフが存在することが示された。

本研究によって、河川水温に対して鋭敏に応答し、生活史特性とトレードオフを有する Hsp は、オショロコマの熱ストレスを検出する分子指標として有効であることが明らかとなった。

(4) 現地は連続堰堤により河道は階段状であり、その地形と流れ場のパターンは図 8 のようになっている。

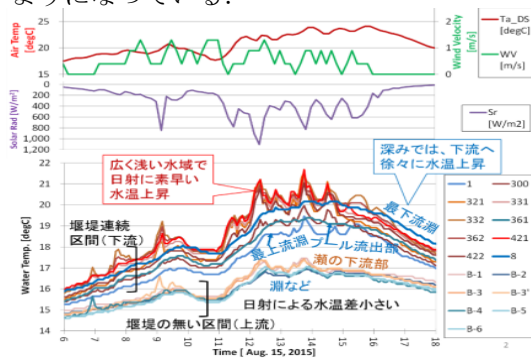


図 8 気象条件と水温変化 (2015 年)

観測結果からは、次図のように日射(紫)が変動する日の水温は、平たい水路部での赤線群で鋭く同時に上下する応答と、プール部で緩やかな上昇する青線群の応答が明確に見られた。この事から、堰堤の直上流に形成された水面幅の大きい平たく浅く遅い流れ場においては日射によって鋭く水温上昇して次のプールへと注ぐが、その容量が大きく元の冷たい水と混合させて緩やかに水温上昇していくとともに下流へは改めてやや冷たい水を供給する、という、パン状水域の日射加熱とプール部の混合の繰り返しによる水温上昇のメカニズムであることがわかった。また堰堤のない区間の水温上昇はわずかであることもわかった。

(水路部水温-プール部水温)を縦軸に、横軸に日射強度をとったところ、観測点ごとにほぼ直線の感度となり、浅く遅い流れ場では傾きが大きく、主流部の深く狭い流れでは小さかった(図 9)。流れ場の情報(水面積と流量)を加えて、プール部から当該水温計測点までの熱収支を、日射と上下流の収支のみでモデル化し、この傾きを推定したところ。その傾きの差は 2 割以内の誤差で説明できることがわかり、この水路部での夏場の日射の熱収支は日射が支配的であることがわかった。

このことは、流れ場の通過時間を短くし、日射を受ける水面幅が狭い水路形状ができるような堰堤形状を今後、土砂水理的に検討するとともに(図 10)、そうした河道の河畔林の形成を促進するか、などの課題を提示した。

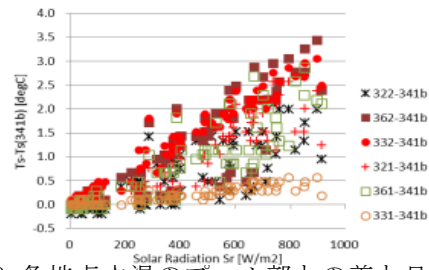


図 9 各地点水温のプール部との差と日射強度

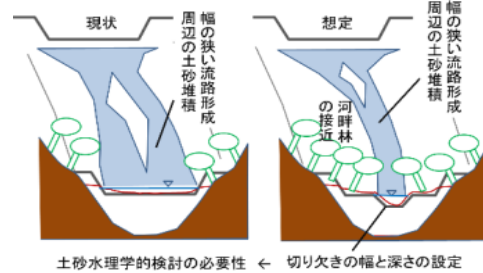


図 10 日射の効果を抑制する堰堤形状の検討

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① 鷲見 哲也・水野 貴視・河口 洋一, 連続砂防堰堤を持つ河川の水温形成に関する研究, 河川技術論文集, 査読有, 第 22 巻, 2016, pp.475-480.
- ② Taniguchi, Y., Y. Kawaguchi, Y. Takegawa, H. Urabe, K. Shimoda, D. Kishi, Tetsuya Sumi, T. Sekijima, Thermal habitat degradation of Dolly Varden in the Shiretoko Peninsula, Hokkaido, Japan, Bulletin of Department of Science and Engineering, Meijo University, 査読無, 20 巻, 2015, 5-8.

[学会発表] (計 1 1 件)

- ① 竹川有哉, 河口洋一, 布川雅典, 岸大弼, 谷口義則: 砂防・治山ダムによる物理環境変化が魚類・底生動物・藻類群集に及ぼす影響-人為的変化はトロフィックカスケードを引き起こすのか-, 第 63 回日本生態学会, 2016.3.20-24, 仙台国際センター (宮城県, 仙台市)
- ② 倉橋彩百合・鎌田泰斗・関島恒夫・竹川有哉・谷口義則・河口 洋一, 熱ショックタンパク質 (Hsp) を指標としたオショロコマ個体群に対する河川水温上昇の影響を評価する, 日本生態学会 第 63 回大会, 2016. 3. 20-24, 仙台国際センター(宮城県, 仙台市)
- ③ Taniguchi, Y. 2016. Researches on endangered fishes, river rehabilitation, and exotic fishes in

Japan. American Fisheries Society's Student Chapter, University of Wyoming, March 8, 2016, Laramie, Wyoming, USA.

- ④ 倉橋彩百合・鎌田泰斗・関島恒夫・竹川有哉・谷口義則・河口洋一, 応用生態工学会第 19 回全国大会, サケ科魚類オシヨロコマに対するダム設置による水温上昇の影響を熱ショックタンパク質(Hsp)で評価する, 2015.9.10-13, 日本大学工学部 (福島県, 郡山市)
- ⑤ Yuya Takegawa, Yoichi Kawaguchi, Yoshinori Taniguchi, Hirokazu Urabe, Kazutaka Shimoda, Relationship between Population Density of Dolly Varden and Environmental Factors in the Shiretoko Peninsula: Effects of Global Warming and Dams, 5th International Wildlife Management Congress, 2015.7.26-30, Sapporo Convention Center(Sapporo, Japan)
- ⑥ Yoichi Kawaguchi, Masahiro Saito, Yuya Takegawa, Yoshinori Taniguchi, The effect of low-head dams on jaw morphology of Dolly Varden (*Salvelinus malma*) in mountain streams of the Shiretoko Peninsula, Hokkaido, Japan. International Charr Symposium, June 15-18, 2015, Tromso, Norway.
- ⑦ Yuya Takegawa, Yoichi Kawaguchi, Yoshinori Taniguchi, Hiromune Mitsuhashi, Assessing the conservation plan under global warming scenario for Dolly Varden (*Salvelinus malma*) by using species distribution models in Hokkaido, Japan. International Charr Symposium, June 15-18, 2015, Tromso, Norway.
- ⑧ Taniguchi, Y., Y. Kawaguchi, Y. Takegawa, H. Urabe, and K. Shimoda. 2015. Thermal responses of Dolly Varden to temperature warming: implications for global climate change. International Charr Symposium, June 15-18, 2015, Tromso, Norway.
- ⑨ Kawaguchi, Y., Y. Taniguchi, Y. Takegawa, S. Kurahashi, Y. Kamada, T. Sekijima, H. Urabe, and K. Shimoda. IMPACTS OF CLIMATIC WARMING ON DOLLY VARDEN (*SALVELINUS MALMA*) ACCELERATED BY LOW- HEAD DAMS IN JAPAN. Ecological and Evolutionary Ethology of Fishes, June 22-23, 2014, Oregon, USA
- ⑩ 竹川有哉, 河口洋一, 谷口義則, 岸大弼,

卜部浩一, 下田和孝, 河川工作物は温暖化に伴う水温上昇を加速させるのか? - 知床におけるオシヨロコマ密度と物理環境要因の関係-, 第 61 回日本生態学会, 2014.3.14-18, 広島国際会議場(広島県, 広島市)

- ⑪ Taniguchi, Y., Y. Kawaguchi, Y. Takegawa, H. Urabe, and K. Shimoda. 2013. Thermal responses of juvenile stream fish to temperature warming: implications for global climate change. 3rd International Conference on Environmental Science and Biotechnology Dec. 29-30, 2013, Kuala Lumpur, Malaysia. (口頭発表)

[図書] (計 1 件)

- ① 谷口義則 (共著). 2014. 身近な水の環境科学 (実習・測定編) - 自然の仕組みを調べるために-. 朝倉書店. 181 頁 (58-62 頁).

[その他]

ホームページ等

- ① 名城大学谷口研究室ホームページ  
<http://ytstone0727.wix.com/mysite>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

河口 洋一 (KAWAGUCHI, Yoichi)  
徳島大学・ソシオテクノサイエンス研究部・准教授  
研究者番号: 20391617

### (2) 研究分担者

谷口 義則 (TANIGUCHI, Yoshinori)  
名城大学・理工学部・准教授  
研究者番号: 30316145

卜部 浩一 (URABE Hirokazu)  
地方独立行政法人北海道総合研究機構・  
さけます・内水面水産試験場・研究主任  
研究者番号: 30442669

関島 恒夫 (SEKIJIMA Tsuneo)  
新潟大学・自然科学系・准教授  
研究者番号: 10300964

鷺見 哲也 (SUMI, Tetsuya)  
大同大学・工学部・准教授  
研究者番号: 50303673

### (3) 連携研究者

岸 大弼 (KISHI Daisuke)  
岐阜県河川環境研究所・下呂支所  
・主任研究員  
研究者番号: 80455526