

三好市周辺の吉野川流域の魚類

— 外来種・絶滅危惧種の分布と環境DNA分析による魚類調査 —

沖野 友祐*

要旨：2018年7月に三好市周辺の吉野川流域の6地点において、魚類を対象とした潜水目視調査（計5地点）と環境DNA分析（1地点）を実施した。本調査の潜水目視調査および環境DNA分析の結果、計18種の魚類を確認し、重要種はニホンウナギ、タカハヤ、アカザ、アマゴ、ウキゴリ、ゴクラクハゼの6種を確認した。確認した重要種には、近年生息個体数が減少しているニホンウナギ、清浄な環境にしか生息できないタカハヤやアカザなどが含まれており、三好市周辺の吉野川水系は、これら的重要種が生息可能な環境が現存していると考えられた。試行的に実施した環境DNA分析では、1地点の採水のみで16種が確認できたことから、今後、採水手法や検出精度が向上し、標準化が進めば、新たな魚類調査手法の一つとなる可能性が高いと考えられた。現時点では、三好市周辺の吉野川水系の本川および各支川には、多くの在来種が生息しており、多摩川や淀川といった都市河川に比べ、外来種の生息数はそれほど多くないと思われる。本調査では、主に河川上流域の流水区間を調査対象としたが、今後、源流域、ため池などの閉鎖水域、水田地帯の用水路などの調査が進めば、新たな生息種・生息域の発見に繋がると思われる。

キーワード：三好市周辺の吉野川流域、魚類、環境DNA分析、重要種

1. はじめに

三好市は、徳島県の最西端に位置し、香川県、愛媛県、高知県と接する山間地域であり、四国4県の市町村の中では最も面積が大きい。西日本第2の高峰である剣山（標高1,955m）や吉野川などの豊かな自然に恵まれている。徳島県西部の山間地域には急峻な斜面が多く、カヤをすき込む土壌流出防止法や独特な農具の利用など特徴的な急傾斜地農耕が継承されており、近年では、「にし阿波の傾斜地農耕システム」として三好市を含む地域が2018年3月に国連食糧農業機関（FAO）から世界農業遺産に認定されている（徳島剣山世界農業遺産推進協議会、2018）。

年平均気温の平年値は、池田町で新潟市や群馬県前橋市と同等、東祖谷京上で仙台市や秋田市と同等である。年降水量は瀬戸内海に近い北部では1,500mm以下の地域が多く、四国山地にあたる南部では2,000mmを越える。県面積の1/6を占める県内最大面積の市町村だが、可住地面積はそのうち13%程度である。三野町は三好郡東みよし町をはさん

だ飛び地である。

三好市周辺の吉野川流域は、本流に多目的ダムである池田ダムを有し、全国的にも有名な景勝地である大歩危・小歩危、剣山（標高1,955m）に源流をもつ祖谷川、愛媛県新居浜市別子山の冠山に源流をもつ銅山川等で構成されている。

大歩危峡は、砂質片岩および黒色片岩を主体とした美しい岩石で構成され、急峻なV字谷を呈していることから日本列島の成り立ちがわかる全国的にも貴重な場所として、2014年3月18日に、国指定の天然記念物に指定され、2015年10月7日には国指定名勝となり、2018年2月13日には小歩危が追加指定されたうえで「大歩危小歩危」の名称に変更されている。

祖谷川は、剣山を源流とし三好市を経て大歩危峡の北端で吉野川本流に流入する支川である。流域には龍宮崖公園や祖谷渓、かずら橋等の景勝地が存在する。祖谷川本川には名頃ダムと三縄ダム、祖谷川支流の松尾川には松尾川ダム、若宮谷川には若宮谷ダムがあり、いずれも四国電力の発電用ダムである。

三好市周辺では、独立行政法人水資源機構池田総

* 〒530-6029 大阪府大阪市北区天満橋1-8-30 OAPタワー29F アジア航測株式会社 tsk.okino@ajiko.co.jp



図1 調査地点位置図（国土地理院地図・電子国土Webより転載）

合管理所により、池田ダム周辺の河川水辺の国勢調査（以下、水国調査）として、ダム湖内、ダム流入部、ダム下流部で魚類のモニタリング調査が実施されている（池田総合管理所、2018；国土交通省河川環境課、2018）。一方、周辺の馬路川、銅山川、祖谷川などの支川における魚類に関する調査・報告は少ない。

このような背景から、以下の2点を目的に調査を行った。①魚類の生息情報が乏しい馬路川や銅山川などの支川で魚類調査を行い、既往の、水国調査の結果と合わせて、生息種、重要種、外来種についての情報を整理した。②三好市の有名な景勝地である「大歩危小歩危」は、急峻な地形で、水深も深く、狭窄部では流速が非常に速く激流である。このような河川では、定置網・刺網等の仕掛け網や、タモ網・投網による捕獲調査が困難であり、また調査員による潜水目視も非常に危険なため、一般的な魚類調査地点には適さない。そこで、採水した水試料に含まれる水生生物由来のDNAを分析することで、採水箇所周辺に生息する生物を把握できる「環境DNA分析」を用いて、小歩危峠に生息する魚類を調査した。

2. 調査地点

現地調査地点を図1に、調査地点の景観写真を図2に示す。調査地点は、吉野川本川に流入する主要な支川を選定し、また、三好郡東みよし町をはさん

だ飛び地である三野町の河内谷川も調査地点として選定した。また、小歩危峠においては、環境DNAの採水地点として白川谷川流入部周辺を選定した。以下、各現地調査地点（6地点）の状況を述べる。

地点①（馬路川）：馬路川と吉野川本川の合流部から馬路川上流側約2kmの農業用堰周辺を調査地点とした。堰下流側は両岸がコンクリート壁であり、河床は直径5cmから30cmほどの礫で構成されていた。川幅は約20m、水深は深い箇所で2.5

mであった。堰上流側は水面幅が5m程度であり、両岸がヨシ帯で覆われていた。透明度は比較的高かった。

地点②（銅山川）：銅山川と吉野川本川の合流部から銅山川上流側約4kmの平瀬を調査地点とした。両岸は礫河原とヨシ帯が入り組み、河床は数ミリの砂から直径100cmほどの岩などで構成されていた。川幅は約50m、水面幅は約20mであり、水深は深い箇所で1.7mであった。下流側約1.5kmに「伊予川発電所取水堰」がある。

地点③（祖谷川）：祖谷川と吉野川本川の合流部から祖谷川上流側約8kmの祖谷渓キャンプ村付近を調査地点とした。両岸は切り立った岩盤が露出しており、河床は直径5cmの礫から直径100cmほどの岩などで構成されていた。川幅は約10m、水深は深い箇所で1.8mであった。透明度は高かった。

地点④（松尾川）：松尾川は祖谷川に流入する支川である。松尾川と祖谷川の合流部から松尾川上流側約2.5kmの松尾川温泉付近を調査地点とした。左岸側は県道140号を支えるコンクリート壁であり、右岸側は石組み堤防であった。河床は数ミリの砂から直径150cmの岩などで構成されていた。川幅は約20m、水面幅は15mほどであった。水深は深い箇所で1.5m、透明度は高かった。

地点⑤（河内谷川）：河内谷川は、三好郡東みよし町をはさんだ飛び地である三野町の河川である。河内谷川と吉野川本川の合流部から河内谷川上流側



図2 調査地点の景観写真

約1.5kmの三好市三野体育館付近の落差工下流側を調査地点とした。両岸の河道内には広葉樹、草地、ヨシが繁茂しており、堰直下は河道の深掘れ防止用のブロックが設置されていた。河床は数ミリの砂から直径30cmほどの礫で構成されていた。川幅は約20m、水面幅は10mほどであった。水深は深い箇所で1.3mであった。

地点⑥（小歩危峡）：環境DNAの採水地点として小歩危峡下流側の吉野川本川と左岸側に流入する白川谷川の合流部付近を選定した。合流部は吉野川本川左岸側に大きな岩盤があるため、狭窄部となっており、白波が立ち非常に流速が速い地点であった。

3. 現地調査および分析方法

1) 潜水目視調査

上述の①～⑤の調査地点において、2018年7月21～22日にシュノーケリングによる潜水目視調査を実施した。潜水目視は、下流から上流に移動しながら1地点あたり1時間程度実施した。夜行性のギギやウナギなどは、昼間は石下に隠れる生態を持つため、適宜、石をめくって魚種の確認に努めた。調査中に確認した魚類について、可能な限り水中写真を撮影した。また、調査時の水温、pH、電気伝導度を測定した。

2) 環境DNA分析

環境DNA分析とは、河川・湖沼・海洋で採水した水試料に含まれるDNAの分析により、その水域に生息する水棲生物の生息状況を推定する新規技術である（図3）。本調査の分析手順を以下に示す。

採水：上述の地点⑥（小歩危峡）において、2018年7月22日に、環境DNA分析の採水を実施した（図4）。採水は、DNAのコンタミネーションを防止す

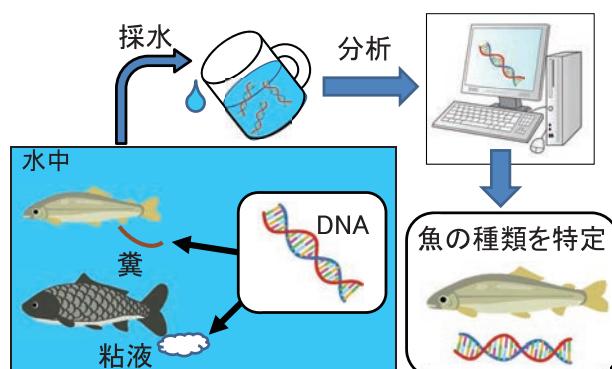


図3 環境DNA分析概念図

るため新品の1リットルポリ瓶で表層水を採水し、塩化ベンザルコニウムを0.01%添加して、サンプル固定した。固定した水サンプルは、実験に供するまで水温上昇によるDNA分解を抑えるため、クーラーボックスに入れて保存した。

水のろ過：ステリベクス（メルクミリポア／0.22 μm）を用いて、水サンプルをろ過し、環境DNAが含まれる細胞片を濃縮した。

DNA抽出：抽出は（Miya et al., 2016）の手法を参照した。本解析では、溶出液に10%ポリビニルポリピロリドン（PVPP）溶液を最終濃度2.8%になるように添加した。

DNA精製：精製は、MPure Bacterial DNA Extraction Kit (MP Bio) を使用した。溶出液に再度、10% PVPP溶液を最終濃度5.0%になるように添加した。その後、遠心分離によりPVPPを分離後、上清の溶液を試料として使用した。

DNA溶液の定量測定：定量測定は、Synergy H1 (BioTek) とQuantiFluor dsDNA System (Promega) を用いて、DNA溶液の濃度測定を行った。

ライプラリーの作成：2 step tailed PCR法を用いてライプラリーを作製した。作製条件は、表1～表2に示す。SynergyH 1とQuantiFluor dsDNA Systemを用いて、作製したライプラリーの濃度測定を行い、Fragment AnalyzerとdsDNA 915 Reagent Kit (Advanced Analytical Technologies) を用いて、作製したライプラリーの品質確認を行った。

シーケンシング解析：MiSeq (Illumina) と MiSeqReagentKitv 3 (600サイクル, Illumina) を用いて、2 x300bpの条件でシーケンシング解析を行った。

データ解析：Fastx toolkit の fastq barcode splitter を用いて、配列の読み始めが使用プライマーと完全一致する配列のみを抽出した。抽出した配列からプライマー配列を削除した。その後、sickle tools を用いて、配列正確性が99%未満の配列を取り除き、40塩基以下の長さとなった配列をペア配列とともに破棄した。ペアエンドマージスクリプトFLASHを用いて、クオリティーフィルタリングを通った配列をマージした。OTUの作成とグループ内リード数の算出をuparse pipelineで行った。得られた各OTUの代表配列が、どの生物種の配列に由来するのか、



図4 環境DNA採水風景

表1 使用したプライマー

| 解析対象 | プライマー名 | 配列 (5' → 3') |
|--------|--|---|
| MiFish | 1 st - MiFish U - F & 1 st - MiFish E - F | ACACTCTTCCCTACACGACGCTTCCGATCTNNNNNGTCGGTAAACTCGTGCCAGC および ACACTCTTCCCTACACGACGCTTCCGATCTNNNNNGTTGGTAAATCTCGTGCCAGC |
| | 1 st - MiFish U - R & 1 st - MiFish E - R | GTGACTGGAGTTCAAGACGTGTGCTTCCGATCTNNNNNCATAGTGGGTATCTAATCCCAGTTG および GTGACTGGAGTTCAAGACGTGTGCTTCCGATCTNNNNNCATAGTGGGTATCTAATCCTAGTTG |

表2 PCR反応条件

| 種類 | 温度 | 時間 | サイクル数 |
|---------|------|-------|---------------|
| 1 stPCR | 95°C | 3 min | — |
| | 98°C | 20sec | 30 – 35cycles |
| | 65°C | 15sec | |
| | 72°C | 20sec | |
| | 72°C | 5 min | — |
| 2 ndPCR | 94°C | 2 min | — |
| | 94°C | 30sec | 10 – 12cycles |
| | 60°C | 30sec | |
| | 72°C | 30sec | |
| | 72°C | 5 min | — |

配列相同性検索プログラム (BLAST) を用いて、データベースと比較した。

4. 結果

1) 潜水目視調査

調査時の水質測定結果を表3に、潜水目視調査結果を表4に示す。

調査時の水温が最も高かったのは、銅山川の28.0°Cであり、最も低かったのは松尾川の21.8°Cであった。pHは各地点で8.6~9.1とあまり差はなかった。電気伝導度 (EC) が最も高かったのは、馬路川の12.9mS/mであり、最も低かったのは、松尾川の8.8mS/mであった (表3)。

潜水目視調査の結果、15種の魚類を確認した (表4、図5)。

最も確認種数の多かった地点は、銅山川であり、

コイ、オイカワ、カワムツ、カマツカ、ギギ、ドンコ、ウキゴリ、オオヨシノボリ、ヌマチチブの9種を確認した (表4)。最も確認種数の少なかった地点は、河内谷川でありタカハヤの1種のみを確認した (表4)。

重要種はニホンウナギ (環境省RL: 絶滅危惧 I 類、徳島県版RL: 留意)、タカハヤ (徳島県版RL: 準絶滅危惧), アマゴ (環境省RL: 準絶滅危惧), ウキゴリ (徳島県版RL: 準絶滅危惧) の4種を確認した (表4)。ニホンウナギは、松尾川の石下で確認した。タカハヤは馬路川、祖谷川、松尾川、河内谷川の4地点で確認した。アマゴは、松尾川で数個体を確認した。ウキゴリは、銅山川の大きな石下の隙間で2個体を確認した。外来種の確認はなかった。

2) 環境DNA分析

採水時の水質測定結果を表3に、分析結果を表4に示す。

採水時の水温は、24.0°C、pHは8.6、電気伝導度は9.8mS/mであった (表3)。

環境DNA分析の結果、16種の魚類を確認した (表4)。また、本来淡水域に生息していないマダイなどの海水魚のDNAも確認した。

重要種はニホンウナギ、タカハヤ、アカザ (環境省RL: 絶滅危惧 II 類、徳島県版RL: 絶滅危惧 II 類)、アマゴ、ゴクラクハゼ (徳島県版RL: 留意) の5種を確認した (表4)。外来種の確認はなかった。

5. 考察

1) 潜水目視調査

潜水目視調査の結果、オイカワ、カワムツ、タカハヤ等のコイ科魚類、ギギ、アユ、アマゴ、ドンコやカワヨシノボリなど、吉野川の中～上流域に生息している主な魚類を、調査地の各支流でも確認できた（表4）。

馬路川では、流水性のカワムツ、タカハヤ（重要種）、底生魚のドンコ、カワヨシノボリの4種を確

認した。これらの種は、吉野川本川および池田ダム湖を調査地区とする既往の水国調査でも確認されており、本調査地点の農業用堰の上下流でも確認したことから、馬路川に恒常に生息しているものと考えられる。河床が浮石環境で、ドンコやカワヨシノボリが好む適度な礫間の空隙が存在しているため、底生魚のアカザ（重要種）などが生息している可能性が考えられた。

銅山川では、止水性のコイ、流水性のオイカワ、カワムツ、底生魚のカマツカ、ギギ、ドンコ、ウキ

表3 調査地点位置・調査日と水質結果

| 調査地点 | 座標 | 調査日 | 調査時間 | 水温(℃) | pH | EC (mS/m) |
|-------|---------------------------|------------|-------|-------|-----|-----------|
| ①馬路川 | 34°00'54.3"N133°45'28.2"E | 2018年7月21日 | 13:40 | 27.0 | 8.8 | 12.9 |
| ②銅山川 | 33°58'14.2"N133°43'29.2"E | 2018年7月21日 | 16:30 | 28.0 | 9.1 | 11.7 |
| ③祖谷川 | 33°56'42.4"N133°48'50.2"E | 2018年7月22日 | 10:00 | 24.1 | 8.9 | 10.1 |
| ④松尾川 | 33°57'27.5"N133°49'04.9"E | 2018年7月22日 | 12:00 | 21.8 | 8.9 | 8.8 |
| ⑤河内谷川 | 34°03'08.2"N133°57'44.6"E | 2018年7月22日 | 15:00 | 25.6 | 9.0 | 10.0 |
| ⑥小歩危 | 33°56'08.7"N133°45'21.7"E | 2018年7月22日 | 13:00 | 24.0 | 8.6 | 9.8 |

表4 魚類調査結果

| No. | 種名 | 学名 | 調査地点 | | | | | | H23水国調査 (池田ダム周辺) | | | | 重要種 (レッドリスト) | | 外来種 | |
|-----|------------|---|-------------|-------------|-------------|-------------|------------------|------------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-------|
| | | | 潜水目視調査 | | | 環境DNA | | | 壹 池下 1 | 壹 池湖 1 | 壹 池湖 2 | 壹 池入 1 | 地区 全体 | 環境省 (H30) | 徳島県 (H26) | |
| | | | 馬 路 川 | 銅 山 川 | 祖 谷 川 | 松 尾 川 | 河 内 谷 川 | 小 歩 危 峠 | | | | | | ★ | EN | 留意 |
| 1 | ニホンウナギ | <i>Anguilla japonica</i> | | | | ● | | ● | | | | | | ★ | EN | 留意 |
| 2 | コイ | <i>Cyprinus carpio</i> | | ● | | | | ● | | | | | | | | |
| 3 | ギンブナ | <i>Carassius sp.</i> | | | | | | | | ● | ● | | | ● | | |
| 4 | オイカワ | <i>Opsariichthys platypus</i> | ● | | | | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | |
| 5 | カワムツ | <i>Candidia temminckii</i> | ● | ● | | | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | |
| 6 | タカハヤ | <i>Phoxinus oxycephalus jouyi</i> | ● | | ● | ● | ● | ● | | | | | | ★ | | 準絶滅危惧 |
| 7 | ウグイ | <i>Tribolodon hakonensis</i> | | ● | ● | | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | | |
| 8 | モツゴ | <i>Pseudorasbora parva</i> | | | | | | | | | | | | ★ | | 準絶滅危惧 |
| 9 | カマツカ | <i>Pseudogobio esocinus esocinus</i> | ● | | | | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | | |
| 10 | コウライニゴイ | <i>Hemibarbus labeo</i> | | | | | | ● | | | | | | | | |
| - | ニゴイ属 | <i>Hemibarbus sp.</i> | | | | | | | ● | ● | ● | ● | ● | | | |
| 11 | イトモロコ | <i>Squalidus gracilis gracilis</i> | | | | | | | | | | | | ★ | | 準絶滅危惧 |
| 12 | コウライモロコ | <i>Squalidus chankaensis tsuchigae</i> | | | | | | | | | | | | ★ | | 留意 |
| 13 | オオシマドジョウ | <i>Cobitis sp. BIWAE type A</i> | | | | | | | | | | | | ★ | | 留意 |
| 14 | ギギ | <i>Tachysurus nudiceps</i> | | ● | ● | ● | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | | |
| 15 | ナマズ | <i>Silurus asotus</i> | | | | | | | | | ● | | | ● | | |
| 16 | アカザ | <i>Liobagrus reinii</i> | | | | | | ● | | | | | | VU | 絶滅危惧II類 | |
| 17 | アユ | <i>Plecoglossus altivelis altivelis</i> | | | | ● | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | | |
| 18 | サツキマス(アマゴ) | <i>Oncorhynchus masou ishikawae</i> | | | | ● | | ● | | | | | | ★ | NT | |
| 19 | ブルーギル | <i>Lepomis macrochirus macrochirus</i> | | | | | | | | ● | | | | ● | | 特定 |
| 20 | オオクチバス | <i>Micropterus salmoides</i> | | | | | | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | 特定 |
| 21 | ドンコ | <i>Odontobutis obscura</i> | ● | ● | | | | ● | ● | | ● | ● | ● | | | |
| 22 | ウキゴリ | <i>Gymnogobius urotaenia</i> | | ● | | | | | | | | | | ★ | | 準絶滅危惧 |
| 23 | カワヨシノボリ | <i>Rhinogobius flumineus</i> | ● | | ● | ● | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | | |
| 24 | オオヨシノボリ | <i>Rhinogobius fluviatilis</i> | | ● | | | | | ● | | | | | | | |
| 25 | ゴクラクハゼ | <i>Rhinogobius similis</i> | | | | | | ● | | | | | | | | 留意 |
| 26 | スマチチブ | <i>Tridentiger brevispinis</i> | | ● | | | | ● | | | | | | | | |
| | 種数 | 4種 | 9種 | 4種 | 7種 | 1種 | 16種 | 11種 | 11種 | 12種 | 9種 | 22種 | 3種 | 9種 | 2種 | |

※確認種の種名、並びについては「平成29年度河川水辺の国勢調査生物リスト」（国土交通省）に準拠した。

※H23水国調査で確認された重要種は、位置情報が非公表であるため、地区別では「●」を表記せず、地区全体で「★」を表記した。

※重要種・環境省RL：「環境省レッドリスト2018（汽水・淡水魚類）」（環境省 2018年5月22日）

EX：絶滅、EW：野生絶滅、CR+EN：絶滅危惧I類、CR：絶滅危惧IA類、EN：絶滅危惧IB類

VU：絶滅危惧II類、NT：準絶滅危惧、DD：情報不足

LP：絶滅のおそれのある地域個体群

・徳島県版RL：「徳島県版レッドリスト」（徳島県 2014年）

・絶：絶滅種、危惧I：絶滅危惧I類、危惧II：絶滅危惧II類、準危惧：準絶滅危惧種、不足：情報不足

※外来種・特定：「特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律」（環境省 2018年1月15日）



図5 確認した魚類の一部

ゴリ（重要種）など9種を確認した。他の地点で確認がなかったカマツカについて、本種は摂餌および隠れ場として砂底を好むため、河床に砂底が多かった当地点で確認できたと考えられた。また、確認したウキゴリ、ヌマチチブについて、両種は産卵後海に下り成長とともに河川を遡上してくる両側回遊型の魚類であるが、ダム湖などの陸封化も報告されている（川那部ほか, 2002）。銅山川の柳瀬ダム（愛媛県）では、ウキゴリの陸封個体群が確認されている（徳島県, 2014）。調査地点下流側の「伊予川発電所取水堰」には魚道が無いため、取水堰上流側の湛水域で両種が陸封化している可能性が高いと考えられた。

松尾川では、ニホンウナギ（重要種）、流水性のタカハヤ（重要種）、ウグイ、アユ、アマゴ、底生魚のギギ、カワヨシノボリなど7種を確認した。ニホンウナギは、稚魚期に海から河川へ遡上し、淡水域で成熟すると海へ産卵のために下る降河回遊型の魚類である。調査地点下流側の祖谷川本川には魚道の無い三縄ダムがある（一般財団法人日本ダム協会, 2018）。三縄ダム下流側から上流側への遡上が困難であるため、松尾川で確認した個体は、過去に漁協等によって放流された個体である可能性が高い。また、ウグイについては、一生を河川で過ごす純淡水型と一旦海に出る降海型がいる。三縄ダム下流側からの遡上が困難であることから、松尾川で確認した個体は、純淡水型であると考えられた。

祖谷川では、流水性のタカハヤ（重要種）、ウグ

イ、底生魚のギギ、カワヨシノボリの4種を確認した。確認したウグイについては、松尾川の個体と同様の理由で純淡水型と考えられた。当調査地点は、透明度が高く河床も浮石が多く上流域に生息する魚類にとって好適環境であると考えられるが、魚類の種数・生息密度が低かった。祖谷川と吉野川の合流部近傍の吉野川本川に設定されている既往の水国調査地点の吉池入1では、オイカワ、カワムツ、カマツカ、ドンコ、オオヨシノボリなどが確認されている（池田総合管理所, 2018；国土交通省河川環境課, 2018）。これらの魚種が三縄ダム上流側の祖谷川および松尾川の調査地点で確認されなかったことから、祖谷川本川の三縄ダムが遡上障害になっている可能性が高いと考えられた。

河内谷川では、タカハヤのみしか確認できなかった。河内谷川の調査地点より上流側を踏査した結果、魚類が遡上困難な落差工が数カ所点在していた。このような河川では、吉野川本川から遡上した魚類が落差工より上流に遡上できないため、魚類相が貧弱になるとされる。タカハヤについては、上流域に生息している個体が出水の度に流下し、定着していると考えられた。

2) 環境DNA分析

環境DNA分析の結果、ニホンウナギ、コイ、カワムツ、カマツカ、ギギ、ゴクラクハゼなど16種の魚類を確認した（表4）。採水中に含まれる環境DNAは、採水地点から上流側約1km以内の魚類の生息情報を捉えている可能性が報告されていること

から（赤松良久, 2017），本調査で小歩危峡に生息している魚種を検出できたと考えられる。

小歩危峡には，ニホンウナギ，タカハヤ，アカザ，アマゴ等の重要種のほか，コイ，オイカワ，カワムツ，ウグイ，カマツカ，ギギ，アユ，ドンコ，ゴクラクハゼ等，多くの魚種が生息していると考えられた。

潜水目視調査および既往の水国調査で確認されず，環境DNA分析で確認できた魚種はコウライニゴイ，アカザ，ゴクラクハゼの3種であった。

コウライニゴイは，ニゴイと形態的に非常に似ており，ニゴイは鰓耙数が12~18，コウライニゴイは耙数が19~25であり，コウライニゴイはニゴイと比べると下唇が厚いという特徴があるものの（川那部ほか, 2002），現地で両者を見分けるのは難しい。既往の水国調査では，池田ダム下流河川（吉池下1），池田ダム湖内（吉池湖1，吉池湖2）でニゴイ属が確認されているが，同定は属止まりとなっていた（図1，表4）。本調査の環境DNA分析で同定した結果，池田ダム周辺のニゴイ属はコウライニゴイの可能性が高いと考えられた。

アカザ（重要種）は，四国内では各県に分布するが，減少が著しい種である。徳島県内では，吉野川，勝浦川，那賀川などに生息しているが，現在は局所的に分布しているとされている（徳島県, 2014）。本種は，水質が清浄で，河床が浮石環境であり，瀬・淵が連なった環境を好む（川那部ほか, 2002）。環境DNA分析の結果，小歩危峡近辺では，本種が生息しているものと考えられた。

ゴクラクハゼ（重要種）は，四国全域に分布し，徳島県内でも各河川に生息している。本種は，下流域～汽水域に生息する両側回遊性の魚種であるが，ダム湖などで陸封化することが報告されている（川那部ほか, 2002）。吉野川水系の早明浦ダムや銅山川の柳瀬ダムでアユ等の放流用種苗に混入して他県から侵入したと思われる陸封個体群が定着していることが報告されている（徳島県, 2014）。本調査で確認した小歩危峡のゴ克拉クハゼは，下流側に流入する銅山川の柳瀬ダムからの流下個体もしくは，下流の池田ダムで陸封化している個体の可能性が考えられた。

調査地点位置・地点数に違いがあるものの，同水系内の潜水目視調査結果と環境DNA分析結果を比較すると，潜水目視調査の86.7%（15種中13種）の

魚種を1地点1回の採水による環境DNA分析で確認できた。また，調査地点が比較的近い既往の水国調査地区である吉池入1の一般種（地区別の重要種は非公表であるため計算から除く）と比べると88.9%（9種中8種）が環境DNA分析で確認できた。このことから，環境DNA分析は簡易的に魚類相を把握できる分析技術として，有用であると考えられた。

環境DNA分析では，吉野川に生息している淡水魚のほかに，マダイなどの海水魚のDNAが検出された。本来，吉野川の中流～上流域に生息しているはずのない海水魚が検出された理由として，採水地点上流側で人間の活動により海産生鮮物を捌いた処理水などを排水した結果，環境DNAとして検出されたことが考えられた。

3) 三好市周辺の重要な種（絶滅危惧種等）

本調査の潜水目視調査および環境DNA分析と，既往の水国調査で確認された重要種は，ニホンウナギ，タカハヤ，モツゴ，イトモロコ，コウライモロコ，オオシマドジョウ，アカザ，アマゴ，ウキゴリ，ゴクラクハゼの10種であった。

ニホンウナギは近年，全国的な漁獲量の減少を受け2013年に環境省のレッドリストで情報不足から絶滅危惧 I B類へカテゴリ変更され，2014年には，国際自然保護連合（IUCN）により「絶滅する危険性が高い絶滅危惧種」に指定されている。池田総合管理所により継続的に実施されている池田ダム階段式魚道のアユ遡上調査によると，ニホンウナギは池田ダムの魚道を利用し，上流側へ遡上していることが報告されている（池田総合管理所, 2018）。現段階では，池田ダムの上下流の連続性が保たれ，三好市周辺の吉野川水系では，ニホンウナギが一定量の個体数生息しているものと考えられる。

タカハヤは，本調査の潜水目視調査において5地点中4地点で確認され，環境DNA分析により小歩危峡でも確認された。既往の水国調査でも確認されていることから，三好市周辺の吉野川水系で多く生息していると考えられた。

モツゴは，既往の水国調査において池田ダム周辺で確認されている（池田総合管理所, 2018；国土交通省河川環境課, 2018）。本種は，湖沼や河川下流域，ため池など多様な環境に適応でき，徳島県では，主に紀伊水道側河川下流域の水路やため池などに生

息している。徳島県レッドリストによると、生息個体数が多く生息状況は安定的と考えられるが、圃場整備などによりかつてより減少しているとされている（徳島県、2014）。本調査の潜水目視調査および環境DNA分析の採水地点は、流速の速い河川上流域の環境が多かったため、本種を確認できなかったと考えられた。

イトモロコおよびコウライモロコは、既往の水国調査において池田ダム周辺で確認されている（池田総合管理所、2018；国土交通省河川環境課、2018）。徳島県では、紀伊水道流入河川に分布が限定されている（徳島県、2014）。両種は主に河川の中流域から下流域の流れの緩やかな砂底を好むことから、モツゴと同様の理由で本調査の潜水目視調査および環境DNA分析で確認できなかったと考えられた。

オオシマドジョウは、既往の水国調査において池田ダム周辺で確認されている（池田総合管理所、2018；国土交通省河川環境課、2018）。本種は、かつてシマドジョウ西日本集団4倍体型と呼ばれていた種である（中島ほか、2012）。河川の上流から中流域の比較的水がきれいな砂底や砂礫底に生息している。四国では、瀬戸内海周辺地域に遺在固有的に分布する（徳島県、2014）。三好市周辺の吉野川水系では、比較的生息個体数が多いと考えられる。

アカザは、環境DNA分析の結果、小歩危峠付近に生息していると考えられ、本種の生息可能な環境（水質が清浄で、河床が浮石環境であり、瀬・淵が連なる）が比較的多い三好市周辺の吉野川水系では、比較的多く生息していると考えられた。

アマゴは、本調査において松尾川および小歩危峠で、既往の水国調査において池田ダム周辺で確認されている。吉野川では、遊漁対象の放流個体も多いと考えられることから、三好市周辺における天然個体群の分布域は不明である。

ウキゴリは、本調査地点の銅山川、既往の水国調査において池田ダム周辺で確認されている（池田総合管理所、2018；国土交通省河川環境課、2018）。吉野川では下流域の三加茂町付近下流の本川でみられ、特に柿原堰下流に多いとされている。本種は、本来、河川下流域に生息する生態を有することから、三好市周辺の吉野川水系のウキゴリは池田ダムの陸封化個体群の可能性が高いと考えられた。

ゴクラクハゼは、上述のように、下流側に流入する銅山川の柳瀬ダムからの流下個体もしくは、下流の池田ダムで陸封化している個体の可能性が考えられた。

4) 三好市周辺の外来種

三好市周辺の外来種について、本調査の潜水目視調査および環境DNA分析では確認できなかったが、既往の水国調査（池田総合管理所、2018；国土交通省河川環境課、2018）では池田ダム湖内で、ブルーギルとオオクチバスが確認されている。池田総合管理所の「池田ダム定期報告書」によれば、1996年頃からブルーギルおよびオオクチバスがダム湖内で継続的に確認されているが、確認個体数の増加はみられず、在来種のオイカワ、カワムツ、ウグイが優占していると報告されている。しかし、中西ほか（2011）によると、吉野川下流域では、オオクチバスによりアユ、ニゴイ属、オイカワ、カマツカなど在来種の捕食が確認されている。また、三好市周辺では、祖谷川の三縄ダム・名頃ダム、松尾川の松尾川ダムなど多くの水力発電用ダムにより湛水湖が形成されていることから、今後もオオクチバスの生息状況には留意すべきである。

6. おわりに

本調査の潜水目視調査および環境DNA分析の結果、計18種の魚類を確認し、重要種はニホンウナギ、タカハヤ、アカザ、アマゴ、ウキゴリ、ゴ克拉クハゼの6種を確認した。また、本調査での潜水目視調査と環境DNA分析の結果の類似性から環境DNA分析の有用性が確認できた。

確認した重要種には、近年生息個体数が減少しているニホンウナギ、清浄な環境にしか生息できないタカハヤやアカザなどが含まれており、三好市周辺の吉野川水系は、これらの重要種が生息可能な環境が現存しているものと思われる。

潜水目視調査の結果、馬路川では、カワムツ、タカハヤ、ドンコなどを目視確認し、これらの種は、既往の水国調査でも確認されていることから、当地域の主な構成種と考えられた。銅山川では、止水性のコイや陸封化していると考えられるウキゴリなどを確認したことから、下流側の「伊予川発電所取水堰」によって形成されている湛水域の影響を受けて

いると考えられた。松尾川や祖谷川は、下流側の三縄ダムが魚類にとって遡上障害となっていることで、ダムより上流側の種数が少なく、生息密度が低くなっていることが考えられた。また、河内谷川においても、点在する落差工が魚類の遡上障害となり、魚類相が貧弱になっていると考えられた。

これらのことから、潜水目視調査を実施した各支川は、堰などの横断構造物による連続性の分断や、形成された湛水域などの環境を反映した魚類相となっていることが示唆された。

環境DNA分析の結果、16種を確認した。確認種には、砂底を好むカマツカや清浄な環境に生息するアカザなどが含まれ、小歩危峠には多様な魚種が生息していると考えられた。

環境DNA分析は、技術発展が急速に進んでおり、今後、採水手法や検出精度が向上し、標準化が進めば、新たな魚類調査手法の一つとなる可能性が高い。生息種の種判別以外にも、「生息個体数の把握」、「繁殖期の推定」、「個体の成長段階の推定」、「種内の遺伝的多様性評価」等が可能となりつつある（高原ほか、2016）。

最近では、環境DNA分析により秋田県雄物川で2005年以来未確認で、絶滅寸前とみられていたゼニタナゴ（絶滅危惧種1A類）が発見されたり（Sakata MK et al, 2017）、兵庫県で県版レッドリスト掲載種のカワバタモロコの新たな生息地が県内のため池で発見されたりなど成果を上げている（福岡ほか、2016）。

徳島県でも県版レッドリストでかつて絶滅したとされていたカワバタモロコが2004年に再発見されたが（徳島県、2014）、生息個体数が極度に減少していることが知られている。このような希少な在来種調査には、環境DNA分析が有効であると考えられる。

現時点では、三好市周辺の吉野川水系の本川および各支川には、多くの在来種が生息しており、多摩川や淀川といった都市河川に比べ、外来種の生息数はそれほど多くないと思われる。

本調査では、主に河川上流域の流水区間を調査対

象としたが、今後、源流域、ため池などの閉鎖水域、水田地帯の用水路などの調査が進めば、新たな生息種・生息域の発見に繋がると思われる。

参考文献

- 赤松良久（2017）：環境DNAを用いた河川生物モニタリングの現状と今後の展開、*RIVER FRONT*, 84: 4 – 7.
- 独立行政法人水資源機構池田総合管理所（2018）：池田ダム定期報告書概要版、独立行政法人水資源機構池田総合管理所。
- 道津喜衛（1955）：ウキゴリの生活史（The life history of a Gody, *Chaenogobius urotaenia* (Hilgendorf)），九州大學農學部學藝雜誌, 15(3): 367 – 374.
- 道津喜衛（1961）：ゴクラクハゼの生態・生活史、長崎大学水産学部研究報告, 10: 120 – 125.
- 福岡有紗・高原輝彦・松本宗弘・兵庫県立農業高校生物部・丑丸敦史・源利文（2016）：在来希少種カワバタモロコの環境DNAによる検出系の確立、日本生態学会誌, 66(3): 613 – 620.
- 一般財團法人日本ダム協会（2018）：ダム便覧2018 (<http://damnet.or.jp/Dambinran/binran/TopIndex.html>)
- 川那部ほか（編）（2002）：日本の淡水魚（第3版）山溪カラーマーク、山と渓谷社、東京。
- 小島丈児（1951）：四國中央部結晶片岩地域の層序と構造、地質学雑誌, 57 (668): 177 – 190.
- 国土交通省 水管理・国土保全局 河川環境課（2018）：河川環境データベース (<http://mizukoku.nirim.go.jp/ksnkankyo/03/index.htm>)
- Miya M., Minamoto T., Yamanaka H., Oka S., Sato K., Yamamoto S., Sado T. and Doi H. (2016) : Use of a Filter Cartridge for Filtration of Water Samples and Extraction of Environmental DNA, *Journal of Visualized Experiments*, 117 : e54741.
- Miya M., Sato Y., Fukunaga T., Sado T., Poulsen J. Y., Sato K., Minamoto Toshifumi, Yamamoto Satoshi, Yamanaka H., Araki H., Kondoh M. and Iwasaki W. (2015) : MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species, *Royal Society Open Science*, 2 (7) : 150088.
- 中島淳・洲澤謙・清水孝昭・齊藤憲治（2012）日本産シマドジョウ属魚類の標準和名の提唱、魚類学雑誌, 59(1): 86 – 95.
- Sakata MK., Maki N., Sugiyama H. and Minamoto T. (2017) : Identifying a breeding habitat of a critically endangered fish, *Acheilognathus typus*, in a natural river in Japan, *The Science of Nature*, 104 : 11 – 12.
- 高原輝彦・山中裕樹・源利文・土居秀幸・内井喜美子（2016）：環境DNA分析の手法開発の現状～淡水域の研究事例を中心にして～、日本生態学会誌, 66(3): 583 – 599.
- 徳島県（2014）：徳島県版レッドリスト 汽水・淡水魚類リスト〈改訂：平成26年〉、徳島県県民環境部環境首都課。
- 徳島劍山世界農業遺産推進協議会（2018）：にし阿波の傾斜地農耕システム (<https://giahs-tokushima.jp/>).
- 山中裕樹・源利文・高原輝彦・内井喜美子・土居秀幸（2016）：環境DNA分析の野外調査への展開、日本生態学会誌, 66(3): 601 – 611.

Fishes in the Yoshino River Basin around Miyoshi City: Distribution of Alien Species and Endangered Species and Survey of Fish by Environmental DNA Analysis

OKINO Tomosuke

* 29F, OAP tower, 1-8-30, Temmabashi, Kita-ku Osaka-shi, Osaka 530-6029, JAPAN

Proceedings of Awagakkai, No.62 (2018), pp.143 – 152.