

多摩川水系におけるニホンウナギの保全のための資源生態調査

2020年

黒木 真理

東京大学大学院農学生命科学研究科 助教

共同研究者

山川 卓 水田 颯生 北見 駿也

工藤 聖也 小林 龍史

## 目次

はじめに .....	2
第1章 採捕調査による生息状況の把握と成長解析 .....	3
第2章 耳石微量元素・安定同位体比分析に基づく回遊履歴と由来判別 .....	7
第3章 環境 DNA を用いた多摩川水系における豊度推定 .....	10
おわりに .....	14
引用文献 .....	15

## はじめに

ニホンウナギ *Anguilla japonica* は典型的な降河回遊魚として知られ、日本において重要な水産資源として古くから利用されてきた (e.g., Kuroki et al. 2014) . ニホンウナギの生態については、長年の謎であった産卵場が明らかにされ (Tsukamoto 1992, Chow et al. 2009, Tsukamoto et al. 2011) , 孵化した仔魚は西マリアナ西方海域にある産卵場から、北赤道海流と黒潮によって運ばれて日本を含む東アジアの成育場に接岸するなど、生活史や回遊生態に関する科学的知見は蓄積されつつある。しかし、この数十年間でその資源量は激減しており、現在、本種は環境省のレッドリストにおいても絶滅危惧種 IB 類に指定されており、これを解決することは喫緊の課題となっている。しかし、ウナギの資源管理・保全を進める際に重要な鍵を握ると考えられる河口～河川生活期における成長期の資源生物学的な知見は、未だ十分であるとはいえない。とくに、都市型河川における本種の生息状況に関する知見は大幅に不足している。

多摩川は関東地方を流れる一級河川で、代表的な都市型河川である。流程は 138 km で笠取山を水源とし、山梨県、神奈川県、東京都を流れ東京湾へと注ぐ。かつては日本でも有数のニホンウナギの漁場であったが、人為開発や高度経済成長により都市化が進むにつれて水質汚濁の問題が深刻となり、また東京湾港湾部の開発により、その漁獲量は大幅に減少してきた (Fig. 1) . 近年では、下水道の整備などにより水質は大幅に改善され (多摩川流域協議会, 2007) , 魚道の整備や自然保護活動などにより自然の姿を一部取り戻しつつあるものの、コンクリート製人工堰の整備や河口・河川敷の開発、外来生物の問題等の生態系への影響が懸念されており、ニホンウナギの生息場の減少や破壊、遡上阻害を引き起こしている可能性がある。また、多摩川においては漁業協同組合による大規模なウナギ種苗の放流がほぼ毎年実施されているが (Table 1) , その放流効果についてはほとんど評価されていない。

そこで本研究は、代表的な都市型河川の多摩川水系におけるニホンウナギの資源生態を明らかにすることを目的とした。まず、多摩川水系における本種の生息状況を明らかにし、その分布環境と成長について調べた。つぎに、耳石微量元素と安定同位体比分析により、採捕個体の回遊履歴の推定を行うとともに、それらの天然もしくは放流の由来判別を行った。さらに、河川水の環境 DNA 解析によって多摩川水系内における分布推定を行った。

## 第1章 採捕調査による生息状況の把握と成長解析

### 1.1 材料と方法

標本採集： 2018年5–12月および2019年の4–10月に多摩川下流域の4地点（A, B, D, E）において、1ヶ月あたり2–3回のニホンウナギの採捕調査を実施した（Fig. 2）。採捕は、東京都知事および神奈川県知事の特別採捕許可を得たうえで行い、1地点につき1もしくは2カ所の調査地点を設けた（Fig. 3）。地点Aは汽水域の干潟、地点Bはコンクリート護岸された淡水域、地点D, Eは堰の魚道および植生や石のある淡水域であった（Fig. 4）。採捕調査ではウナギ用の罟を各調査地に数日間設置した。罟は、海草を模した人工フィルムを房状に束ねたもの（タイプ1）と、人工フィルムや石、パイプ等を目合いの粗い貝類養殖カゴに入れたもの（タイプ2）の2種類を作成した（Fig. 5）。

採捕した個体は研究室に持ち帰り、 $-80^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存した。罟による採捕調査に加え、釣り、定置網、モクズガニ用のカゴ罟によって漁獲された個体を各漁業協同組合と東京都島しょ農林水産総合センターから買い取りまたは提供を受けることで、多摩川全域の7地点（A–G）におけるサンプルを入手した（Fig. 2）。

得られたサンプルはすべて全長（mm）と体重（g）を測定し、Fukuda et al. (2013) および Okamura et al. (2017) に従って、成長段階（クロコ、黄ウナギ、銀ウナギ）を判別した。その後開腹し、胃内容物の同定、各組織の重量の測定、生殖腺の目視による性判別を行った。続いて、耳石（扁平石）を摘出し、耳石微量元素分析および安定同位体比分析に供した。ただし、提供された頭部のみのサンプルについては形態測定を行わず、耳石解析のみに供した。

耳石解析：摘出した耳石はエポキシ樹脂に包埋し、粒度が30, 10,  $5\mu\text{m}$ のダイヤモンドカップホイールを用いて、核が表面に露出するまで両面研磨した。研磨した耳石試料で年齢査定を行った。耳石には、シラスウナギ稚魚として海洋から沿岸へと接岸する際に、エルバーマークと呼ばれる深く刻まれた輪紋が刻まれていることが知られている（Tsukamoto and Arai 2001, Fig. 6）。そこで、本研究では実体顕微鏡下で観察し、エルバーマークから数えて1本目の輪紋を1歳時にできた年輪として、各個体の年齢を推定した。

耳石の年輪幅からのバックカリキュレーションにより各個体の年間成長速度を算出した (Patey et al., 2018) .

$$L_t = L_c - \frac{(L_c - L_{bi})(O_c - O_t)}{(O_c - O_{bi})}$$

ここで、 $L_t$  :  $t$  歳時の全長 ;  $L_c$  : 採捕時の全長 ;  $L_{bi}$  : エルバーマーク形成時の全長 (60 mm) ;  $O_t$  :  $t$  歳時の耳石径 ;  $O_c$  : 採捕時の耳石径 ;  $O_{bi}$  : エルバーマークまでの耳石径

次に年齢 $t$ に対する推定全長 $L_t$ の回帰直線を求めることによって、成長式を推定した。

## 1.2 結果

2018, 2019 年の 2 年間に多摩川水系において計 73 個体 (頭部のみの個体を含む) のニホンウナギが採集され, うち 24 個体は採捕調査により得た. 全サンプルの平均体長±標準偏差は 371±166 mm (範囲 : 71–759 mm) , 平均体重±標準偏差は 119.0±148.6 g (範囲 : 0.4–929.3 g) で, 年齢査定を行ったところ, 1–6 歳であった (Fig. 7) . このうち, オスは 11 個体, メスは 24 個体, 未分化の個体が 29 個体であった. 採捕調査では 5 月から 10 月の夏季に出現する傾向がみられた (Fig. 8) . また, 調布取水堰の上流側で 2018, 2019 年の両年ともに遡上後まもない黄ウナギが採集されたことから, 調布取水堰を天然ウナギが通過していることが確認された. 調査地別の平均全長と平均年齢については, 河口付近の地点 A と調布取水堰の下流側の地点 D の採集個体は若齢で, 上流の地点 G の採集個体は高齢で, 地点 B, C および地点 G にピークをもつ二峰型の傾向がみられた (Fig. 9) .

採集された個体の胃内容物を調べたところ, 60%の個体は空胃であった. 確認された胃内容物は採捕流域ごとに異なり, 下流の地点 A では甲殻類と貝類, 地点 B では甲殻類, ミミズ, 貝類, 地点 C では小型魚類 (アユ, ウキゴリ) , より上流の地点 E では鱗翅目の幼虫が主要な餌生物であった (Fig. 10) .

多摩川におけるニホンウナギの成長曲線を Fig. 11 に示した. 上流に位置する地点 G と, 下流に位置する地点 A–E で採集されたニホンウナギの年間成長速度を比較したところ, 1 歳と 2 歳において, 高い傾向にあった (Table 2) . また, 年齢を経るにつれて成長速度が逆転し, 5 歳と 6 歳では, 下流の個体で高くなる傾向がみられた. 多摩川におけるニホンウナギの年間成長速度について, 性別間で有意な差は認められず, 同じ都市型河川である利根川における本種の成長速度と比較したところ, メスは利根川で成長速度が速く, オスはほとんど変わらなかった (Table 3) .

### 1.3 考察

本研究の採捕調査では5月から10月までの夏季にニホンウナギが採集された。10月以降は採捕数が減少していることから、水温の上昇する夏季に活動が活発となり、冬季は水温の低下に伴い活動が低下して、川岸から深場へと移動し、ほとんど摂餌しないものと考えられた (Itakura et al., 2018b)。調査地別の全長および年齢について、地点 B, C と地点 G に最大値をもつ二峰型になっていた。これは、多摩川に接岸・遡上した個体の多くが下流域の地点 B, C に定着して成長する一方、調布取水堰を通過し、地点 E より上流へと移動して成長しているものと推測され、成長とともに河川遡上する本種の生態に一致した (Kaifu et al., 2009)。ただし、全長および年齢が低かった地点 D, E ではすべての個体をウナギ用の罟で採捕している一方、高かった地点 B, C および地点 G は釣りで採集された個体が多かったことから、採集方法による偏りがある可能性がある。Kume et al. (2020) は、ニホンウナギがある程度の大きさに成長しないと堰を遡上できないと示唆している。本研究において調布取水堰の上流側の地点 E で遡上後まもない黄ウナギが確認されたが、アユの遡上時期に合わせて堰が解放されている時期にが通過したのか、設置されている魚道を遡上したのかは定かではなく、堰の遡上阻害の程度についてはいまだ情報が不十分である。また、放流された養殖個体は広く移動せずに、放流された場所に留まる傾向にあることから (Itakura et al., 2018b; Arai et al., 2019)、養殖ウナギの放流が行われている多摩川上流域の地点 F, G 付近においては、放流個体が滞留して成長している可能性も考えられる。

胃内容物の調査結果からは、都市型河川の多摩川に生息するウナギは多様な餌生物を利用していることが明らかになり、ニホンウナギが生息環境に応じた餌生物に適応できるといえる。Wakiya et al. (2016) は、加入後3年間のメスのウナギの成長速度は下流域で高いと述べており、分析個体数は少ないものの、本研究の結果とは異なっていた。これに関して、上流の2個体は放流された養殖個体であり、1-2歳の時は養鰻場において急成長をし、その後放流された可能性がある。また、放流されたヨーロッパウナギの養殖個体は、人工の餌から自然下の餌に切り替えて、新たな摂餌方法に適応するのに時間を要するため、天然個体よりも成長が鈍ることが知られている (Simon et al., 2013)。本研究における5歳以降の成長の鈍化はこれと一致する。また、一般的に河川の上流では水温が低く、餌生物が少ないことも関係しているかもしれない。これについては、今後詳細に検証していく必要がある。

多摩川で採集されたニホンウナギの成長速度は、日本のその他の地域の河川に生息する個体とあまり違いはみられなかった (Kotake et al., 2007; Kumai et al., 2020; Yokouchi et al., 2009) . 同じ都市型の大型河川である利根川のウナギと比較すると、天然個体である可能性の高いメスの成長速度には差がみられた一方で、天然と放流が混在していると考えられるオスの成長速度には大きな違いはないことから (Table 3, Yokouchi et al., 2014) , 都市型河川間における成育環境の違いのほか、天然個体と養殖された放流個体の分布状況が、性別によって異なる程度の影響を及ぼしている可能性があるかもしれない.

## 第2章 耳石微量元素・安定同位体比分析に基づく回遊履歴と由来判別

### 2.1 材料と方法

前章において研磨して核を露出させ、薄片切片を作製して年齢査定に供した耳石は、その後すべて試料表面を白金パラジウムで蒸着し、電子線マイクロアナライザ（EPMA, 日本電子社製 JXA-8230）を用いて、核から縁辺部までの Sr/Ca 比を測定した。測定した Sr/Ca 比と年齢から各個体の回遊履歴を調べた。

さらに、もう一方の耳石は、耳石中の酸素炭素安定同位体比を用いて、天然加入もしくは放流された養殖個体かどうかの由来判別に用いた。耳石は前章と同様にエポキシ包埋して研磨した後、海洋生活期にあたるエルバーマークまでの範囲を削り取り除外した。次にエルバーマークから、放流する養殖個体の耳石径をもとに決定した最長径 650  $\mu\text{m}$  までの範囲をマイクロドリルで破碎した（Kaifu et al., 2018）。その後、自動前処理装置（GasBenchII）に接続された安定同位体質量分析装置（Delta V plus）を用いて酸素炭素安定同位体比を測定した。

測定値の天然・放流の由来判別については、米田ほか（2019）で使用されているランダムフォレストを用いた判別分析モデルを適用した。Kaifu et al.（2018）および Itakura et al.（2018a）の Supporting information から得た養鰻場から入手した養殖個体（ $n = 314$ ）と放流が行われていない水系で採集した天然加入個体（ $n = 246$ ）のデータおよび多摩川漁業協同組合から提供を受けた放流用の養殖個体（ $n = 3$ ）の合計 563 個体の結果を教師データとするモデルを作成した。提供を受けた養殖個体の全長は 184–370 mm であった。このモデルを用いて、多摩川で採捕されたニホンウナギ 9 個体の由来判別を行った（Table 4）。

### 2.2 結果

耳石微量元素分析により調査地点ごとのウナギの回遊履歴を調べたところ、エルバーマーク以降、Sr/Ca 比は  $5 \times 10^{-3}$  付近を推移し、汽水域に生息していたと考えられる個体と、 $5 \times 10^{-3}$  未満を推移し遡上して淡水域に生息していたと考えられる個体がみられた（Fig. 12）。多くの個体において、接岸時に耳石に刻まれるエルバーマークが、 $\text{Sr/Ca} \leq 5 \times 10^{-3}$  に出現した。その後、潮汐の影響を受ける下流地点 A, B で採捕された



個体の Sr/Ca 比は、成長にしたがって変動しながら Sr/Ca が  $5 \times 10^{-3}$  付近を推移していた。一方、淡水の地点 C から地点 G で採捕された個体は、エルバーマーク以降の Sr/Ca は基本的に  $5 \times 10^{-3}$  未満の低値を示した。

耳石安定同位体比に基づき天然・放流の由来判別を行ったところ、 $\delta^{18}\text{O}$  は、多摩川に放流したコントロールの養殖個体では -8.28 から -7.33、多摩川で採集された個体では -9.13 から -6.8 の範囲を示した。 $\delta^{13}\text{C}$  は、養殖個体では -10.16 から -9.73、多摩川で採集された個体では -13.02 から -9.76 の範囲を示した。既往研究によるデータと比較したところ、多摩川で採集された 9 個体のうち、1 個体が放流された養殖個体、8 個体が天然個体の可能性が高いと判別された (Fig. 13)。このうち、放流個体と判別された 1 個体は、下流域の地点 C で採集された全長 443 mm で 4 歳のオスの個体であった。

## 2.3 考察

耳石 Sr/Ca 比による個体の回遊履歴をみると、潮汐の影響を受ける汽水域の地点 A および地点 B の採集個体では、Sr/Ca 比の値は  $5 \times 10^{-3}$  付近を示し、淡水域の地点 C から地点 G の個体は  $5 \times 10^{-3}$  未満を示したことから、地点 A と地点 B の個体は河川に遡上することなく汽水域に留まって生息し、他の地点の個体は接岸した後、遡上してその後はそのまま淡水域に生息しているものと推測された。これは、Kotake et al.

(2005) の傾向と一致していた。したがって、多摩川においてニホンウナギは淡水域または汽水域を利用しており、淡水域のみでなく河口の汽水域も重要な生息場として機能しているものと考えられる。

耳石安定同位体比分析による天然・放流個体の判別結果をみると、多摩川に放流された養殖個体の耳石  $\delta^{18}\text{O}$  は、分析個体数は少ないものの、およそ -8 であるのに対し、多摩川で採集された個体の  $\delta^{18}\text{O}$  値は、-10 から -7 まで比較的幅広い値を示した。 $\delta^{18}\text{O}$  は経験水温の影響を受けるため、常に高水温の環境で育てられた養殖個体と、季節によって低水温を経験する天然個体では差が顕著であることが原因と考えられる。また、耳石  $\delta^{13}\text{C}$  の値は、養殖個体ではいずれも約 -10 であったが、多摩川で採集されて天然と判断された個体のうち、多くはそれより低い値を示した。 $\delta^{13}\text{C}$  値は、摂餌した餌の影響を受けるため、餌が魚粉の練り餌などで成育した養殖個体はほぼ一定の値を示し、天然個体では、本研究の胃内容物観察の結果からもわかるように、生息環境によって餌が異なるため採捕地点ごとに異なる値を示したものと考えられる (Campana,

1999) . 本研究で得られたこれらの耳石安定同位体比の傾向は、既報 (Kaifu et al., 2018; Itakura et al., 2018a; 米田ほか, 2019) を支持する結果であった.

耳石同位体比に基づく由来判別分析について、多摩川で採捕された9個体のうちオス1個体のみが養殖と判別された。これは、地点C付近における川崎河川漁業協同組合による放流個体である可能性が高いと考えられ、放流個体の少なくとも一部が数ヶ月は河川に生存していることが明らかになった。高水温・高密度で養殖されたウナギはほぼオスに性分化することが知られており、放流個体と判別された個体もオスであった本研究の結果は、これまでの知見と矛盾しない。一方、本研究において地点Eで採集された個体が天然個体と判別されたことで、現在でも天然個体が多摩川を遡上し、調布取水堰を越えて成長していることも初めて明らかとなった。しかし、本研究で得られた個体数は限られているため、下流のガス橋付近の地点Cにおける放流個体の分布や調布取水堰の遡上阻害の程度、開放時期の影響、設置魚道の効果については言及できない。また、河川上流の地点F, Gにおいては、ほとんどニホンウナギは採捕されず、天然個体の遡上が複数の堰により阻害されている可能性がある。多摩川上流においても放流は実施されているため、天然・放流個体の密度や放流個体のその後の生残・成長についてもさらに調べていく必要がある。今後、多摩川水系全域においてさらに採捕個体数を増やして調査を進めることで、多摩川水系におけるより正確な天然ニホンウナギの遡上生態や分布状況、放流効果の実態が明らかになるものと期待される。

## 第3章 環境 DNA を用いた多摩川水系における豊度推定

### 3.1 材料と方法

調査地点: 環境 eDNA (environmental DNA, 以下 eDNA) メタバーコーディング法を利用し, 多摩川水系においてニホンウナギを含む魚類が生息している流域およびその豊度を推定するため, 多摩川本流 12 地点 (Fig. 14, St. 1 – 12), 多摩川水系の支流 7 地点 (Fig. 15, 野川: St. T1; 平瀬川: St. T2; 大栗川: St. T3; 浅川: St. T4; 秋川: St. T5; 養沢川: St. T6; 平井川: St. T7) の計 19 地点にて, 2018 年 5 月から 2019 年 4 月の各月に 1 度, 2 日間に亘って, 採水調査を実施した (ただし, St. 4, 5 は 9 月以降, St. 7 は 11 月以降に実施). 採水時に各地点で水温を記録したほか, 本流の St. 1–9 では塩分濃度を測定した (Table 5).

採水方法: 河川水の採水方法は Miya et al. (2015, 2016) に準じた. ロープで繋いだバケツを用い, 地点ごとに位置や深さを変えながら 3 か所・計約 3 L を採水し, 現地にて速やかにシリンジとフィルターカートリッジ (SVHV010RS, EMD Millipore Corporation) を用いて 500 ml をろ過した. 流路が単調で比較的狭く, 水深が膝下まで程度と浅い地点 (St. T1, T2, T4) ではシリンジで直接河川から 500 ml を採水・ろ過した. ただし, 目詰まりにより 500 ml ろ過できない場合は, 可能な限り多くの河川水をろ過し, ろ過できた量を記録した. ろ過後, フィルターカートリッジに RNA later® Solution (Thermo Fisher Scientific) 1.6 ml を注入し, クーラーボックス内で冷やして研究室に持ち帰った. 採水調査を終えるごとに水道水をろ過したブランクサンプルを得た. 得たフィルターカートリッジは分析まで冷蔵庫内で 4 °C にて保存した. DNA のコンタミネーションを防ぐため全ての作業は使い捨てのビニール手袋を着用して行った. また, 採水に使用したバケツやロープは各地点で使用前に次亜塩素酸ナトリウム溶液で消毒した後, 河川水で 3 回共洗いし, シリンジは地点ごとに新しいものに取り換えて使用した.

DNA 抽出・増幅・シーケンス: フィルターカートリッジから DNA を抽出する方法については Yamamoto et al. (2016) に準じて実施した. DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) を使用し, 200 µl AE Buffer に溶解した DNA 溶液を各サンプルから得た. コンタミネーションの有無を確認するため, 1 ヶ月分のサンプルを抽出するごとに 1 つ, 同じ手順を経た精製水によるブランクサンプルを得た.

Miya et al. (2015), Komai et al. (2019) に準じ、2 段階 PCR と Miseq (Illumina, CA, USA) を用いた超並列シーケンスを行った。硬骨魚類および軟骨魚類の種判別を目的とした MiFish-U, MiFish-E (Miya et al., 2015) に加えて、ヤツメウナギ目の種判別を可能にする MiFish-P を加えた 3 種類のプライマーを使用した (Table 6)。1<sup>st</sup> PCR では 5' 末端に共通のインデックス領域と Miseq のフローセル結合領域を、2<sup>nd</sup> PCR ではサンプルに応じて異なるインデックス領域と共通のフローセル結合領域をそれぞれ付加し用いた。1<sup>st</sup> PCR における各 12  $\mu$ l の reaction volume は 2 $\times$  KAPA HiFi Hot-Start Ready Mix (KAPA Biosystems, MA, USA) 6.0  $\mu$ l, MiFish-U 10  $\mu$ M, MiFish-E/P 5  $\mu$ M, MiliQ 1.2  $\mu$ l, テンプレート DNA 2.0  $\mu$ l からなり、1 サンプルにつき 4 反復実施した (ブランクは各 1 反復のみ)。PCR を実施するごとに、精製水をテンプレートとして用いた PCR ブランクを用意した。各テンプレート中 DNA 量の多寡を考慮し、95°C 3 min, 98°C 20 sec / 65°C もしくは 67°C 15 sec / 72°C 15 sec 35 – 37 サイクル、72°C 5 min の条件下で PCR を実施した。

得られた PCR 産物は、サンプルごとに 1 つのチューブにまとめたのち、GeneRead Size Selection Kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて精製した。EB Buffer 17  $\mu$ l に溶解させた精製 DNA 溶液の DNA 量を 2200 TapeStation (Agilent Technologies, Tokyo, Japan) で定量した。定量結果に応じて、テンプレート中の DNA 量が 0.1 ng (満たない場合は 0.05 ng または 0.03 ng) となるよう精製 DNA 溶液 5  $\mu$ l を MiliQ で希釈した。各調査月の採水ブランク、抽出ブランク、1<sup>st</sup> PCR ブランクはそれぞれ希釈に用いた MiliQ の平均量をもって希釈した。この希釈後の DNA 産物を 2<sup>nd</sup> PCR におけるテンプレートとして使用した。

2<sup>nd</sup> PCR における各 15  $\mu$ l の reaction volume は 2 $\times$  KAPA HiFi Hot-Start Ready Mix (KAPA Biosystems, MA, USA) 7.5  $\mu$ l, 各プライマー 2  $\mu$ M, MiliQ 3.9  $\mu$ l, テンプレート DNA 1.9  $\mu$ l となるよう調整し、95°C 3 min, 98°C 20 sec / 65°C 15 sec / 72°C 15 sec 12 サイクル、72°C 5 min の条件下で実施した。ここでも MiliQ をテンプレートとした 2<sup>nd</sup> PCR ブランクを作成した。得られた PCR 産物を等量混合し、2% E-Gel Size Select agarose gel (Invitrogen, CA, USA) を用いて約 340 bp のシーケンスのみ含むよう切り出し、Qubit dsDNA HS assay kit と Qubit fluorometer (Life Technologies, CA USA) を用いて定量した。取扱説明書に従い、MiSeq platform using a MiSeq v2 Reagent Kit for 2  $\times$  150 bp PE (Illumina, CA, USA) を用いてシーケンス解析を行った。

データ処理と種判別: MiSeq より得られたデータは、USERCH v11.0.667 (Edgar, 2010) を用い、Komai et al. (2019) に準じて次の手順に従って処理した。この処理は大きく分けて、マー

ジ、プライマー除去、フィルタリング、重複・ノイズ除去、種判別からなる。まず `fastq_margepairs` コマンドを使用し、forward reads と reverse reads を結合した。この作業に際して、quality score が 2 以下のリード、増幅領域が 50 bp 以下のリード、およびアライメント領域の相違が大きいリード (> 5 positions) のデータはこの時点で破棄した(マージ)。 `fastx_truncate` コマンドを使用し、プライマー領域を除去した(プライマー除去)後、 `fastq_filter` コマンドを使用し、expected error rate > 1% のリードと 50 bp 以下のリードのデータを破棄した(フィルタリング)。

`fastx_uniques` コマンドを使用し、配列間の重複を除いた。 `unoise3` コマンドを使用し、キメラ配列やシークエンスエラーを取り除いた(重複・ノイズ除去)。得られた各リードを `userch_global` コマンドを使用してデータベース中の配列と照合し、identity > 98.5 %の種に当てはめた(種判別)。 National Center for Biotechnology Information (NCBI)

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)に登録されている 464 科・2,622 属・7,660 種・13,483 塩基配列からなり、本研究のために 2019 年 2 月 13 日に作成したデータベースを使用した。

異種同一配列はそれぞれ同一の生物種群として統合し、地域個体群を含む同種異配列についても一種として統合した。各地点において、生息が明確に否定できる魚種(淡水域で検出された海水性魚種等、偽陽性が疑われる魚種)のデータを除去した。R “vegan” package (Oksanen et al., 2019)に含まれる `rrarefy` 関数を使用し、各サンプルの総リード数が全サンプルの最低リード数になるよう希釈した。最後に各サンプルにおいてリード数が総リード数の 0.05 %未満の種を除去した。

生息分布推定：本研究では、各地点における採捕個体数割合(各種の採捕個体数 / その地点における総採捕個体数)の対数と eDNA リード数割合(各種の検出 eDNA リード数 / その地点における合計検出 eDNA リード数)の対数との間に有意な正の相関がみられることが示されている(未発表データ)。そこで、各月・地点におけるニホンウナギの eDNA リード数割合を求め、相対生息量に基づいた生息分布を推測した。

### 3.2 結果

計 214 の河川水サンプルから 25,490,102 リードの eDNA 配列を得た。2019 年 2 月 St. 2 のサンプルからは十分なリード数を得られなかった(44 リード)ため、データセットから除外した。濁度が高かった一部の採集地点(St. 2 で 3 回, St. T1 で 1 回, St. T3 で 5 回)においては、それぞれ 500 ml までろ過できなかつたが(200–400 ml)、いずれのサンプルからも十分な

リード数を得ることができた(80,328–163,718リード)。マージ、プライマー除去、フィルタリング、重複・ノイズ除去、種判別を経て171種、計14,533,225リードのeDNA配列を得た。再実験分を含む計60のブランクのうち、DNAが検出されたものが15試料あり、サンプリング時もしくは実験時のコンタミネーションが原因と考えられるが、いずれも検出リード数がわずかだったため(最大96リード)、Komai et al. (2019)に準じ、結果に影響を与えない範囲であるものと判断した。

このデータセットに含まれる異種同一配列・同種異配列をそれぞれ一魚種または魚種群として統合し、生息が明確に否定できる魚種・群のデータを除去した。ここまでの操作で得られた213サンプルの最小リード数7551リードに合わせて希釈化を行った。リード数の平均希釈率は $15.6 \pm 14.2\%$ 、種数の平均希釈率は $98.5 \pm 2.2\%$ であった。最終的にニホンウナギを含め、コイ *Cyprinus carpio* やウグイ *Tribolodon hakonensis*、オイカワ *Opsariichthys platypus* など、計93魚種・群 molecular operational taxonomic units (MOTUs) のeDNAが検出された。ニホンウナギのeDNAは15地点・計59サンプルから検出された(Fig. 16, 17)。とくに下流のSt. 3では12ヵ月分のサンプルのうち9ヶ月分で検出された。しかし、検出eDNAリード数割合は概して低く、59サンプル中41サンプルで0.5%未満であった。

### 3.3 考察

近年、海水や河川水から抽出したeDNAの塩基配列を次世代シーケンサーで読み取り、既存の遺伝子データベースと照合して調査地点における生息種を推定するeDNAメタバーコーディング法の利用が進められている。Miya et al. (2016)やThomsen et al. (2016)などの先行研究によると、調査地点における生息魚種の大部分のeDNAを検出できることが明らかになっている。さらに一部の研究では、各種のeDNA検出リード数と実際の生息数や生物量、優占度との間には正の相関があることも示されている(Evans et al. 2016; Pont et al. 2018)。本研究においても、多摩川水系に本法を適用し、ニホンウナギの生息流域および豊度を推定を試みた。しかし、検出されたニホンウナギのeDNAはいずれもわずかであり(eDNAリード数割合は最大で2.5%)、量的比較を行うに十分な量は得られなかった。各地点におけるニホンウナギeDNAの検出回数をみると、多摩川本流の調査地点において、下流のSt. 2–8ではいずれも6回以上検出されているのに対し(調査月数が12回に満たないSt. 4, 5, 7を除く)、上流のSt. 9–12ではいずれも3回以下であった。このことから、St. 9の下流に位置する大丸用水堰を境に上流側で生息量が少なく推定されたことから、本堰もしくは本流域付近の環境変化

がニホンウナギの遡上を妨げている可能性が考えられた。つぎに支流の検出回数をみると、St. T1(野川)、St. T2(平瀬川)、St. T3(大栗川)では一度も検出されず、St. T4(浅川)では一度しか検出されなかった。このことから、コンクリート護岸されたこれらの支流はニホンウナギの生息に不向きな環境であるものと推測される。このうち浅川では、漁業協同組合による放流が毎年実施されているが、eDNAの結果を鑑みるとその効果はあまり高いとはいえない。一方、同じく支流かつ放流が実施されているSt. T6(秋川)とSt. T7(平井川)ではそれぞれ6回、5回検出された。本結果のみでは、本地点に生息するニホンウナギが天然遡上個体か放流個体か判別できないものの、比較的本種が定着しやすい環境である可能性が考えられる。

本研究では、多摩川水系において初めてeDNAを適用することで、従来の採捕調査では難しかった短周期・長期間・広範囲でサンプリングを実施し、ニホンウナギの分布推定を行うことができた。今後、サンプリング方法や解析方法の開発を進めることで、生息有無の正確性、生息数や生物量の定量性の精度を高めることができれば、採捕調査のデメリット(資金・労働コストが高い、生息生物に影響を与えるなど)を補う形で、モニタリングの一手法として活用できるだろうと期待される。

## おわりに

本研究により、首都圏の人口密集地を流れる代表的な都市河川が多摩川水系において、ニホンウナギの資源生態を把握するための網羅的な調査を初めて実施することができた。生息している個体数はそれほど多くないものの、ニホンウナギが下流から上流まで広く生息していることがわかり、流域の環境によって異なる餌生物を摂餌して成長していることも明らかとなった。多摩川水系においては、近年大規模な放流が実施されているものの、本研究で採集された個体は天然と考えられる個体のほうが多いと推定された。放流効果については、今後さらに詳細に検証して、より効果的な資源管理方策を考えていくことが必要である。

## 引用文献

- Arai, K., Itakura, H., Yoneta, A., Kaifu, K., Shirai, K., Miyake, Y., & Kimura, S. (2019). Anthropogenic impacts on the distribution of wild and cultured Japanese eels in the Tone River watershed, Japan, from otolith oxygen and carbon stable isotopic composition. *Environmental Biology of Fishes*, 102, 1405–1420. <https://doi.org/10.1007/s10641-019-00915-1>
- Campana, S. E. (1999). Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series* 188, 263–297. <https://doi.org/10.3354/meps188263>
- Chow S., Kurogi, H., Mochioka, N., Kaji, S., Okazaki, M., & Tsukamoto K. (2009). Discovery of mature freshwater eels in the open ocean. *Fisheries Science* 75, 257–259. <https://doi.org/10.1007/s12562-008-0017-5>
- Evans, N. T., Olds, B. P., Renshaw, M. A., Turner, C. R., Li, Y. Y., Jerde, C. L., Mahon, A. R., Pfrender, M. E., Lamberti, G. A., & Lodge, D. M. (2016). Quantification of mesocosm fish and amphibian species diversity via environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources* 16, 29–41. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12433>
- Fukuda, N., Miller, M. J., Aoyama, J., Shinoda, A., & Tsukamoto, K. (2013). Evaluation of the pigmentation stages and body proportion from the glass eel to yellow eel in *Anguilla japonica*. *Fisheries Science* 79, 425–438. <https://doi.org/10.1007/s12562-013-0621-x>
- Itakura, H., Arai, K., Kaifu, K., Shirai, K., Yoneta, A., Miyake, Y., Secor, D. H., & Kimura, S. (2018a). Distribution of wild and stocked Japanese eels in the lower reaches of the Tone River catchment revealed by otolith stable-isotope ratios. *Journal of Fish Biology* 93, 805–813. <https://doi.org/10.1111/jfb.13782>
- Itakura, H., Miyake, Y., Kitagawa, T., & Kimura, S. (2018b). Site fidelity, diel and seasonal activities of yellow - phase Japanese eels (*Anguilla japonica*) in a freshwater habitat as inferred from acoustic telemetry. *Ecology of Freshwater Fish*, 27, 737-751. <https://doi.org/10.1111/eff.12389>
- Kaifu, K., Tamura, M., Aoyama, J., & Tsukamoto, K. (2010). Dispersal of yellow phase Japanese eels *Anguilla japonica* after recruitment in the Kojima Bay-Asahi River system, Japan. *Environmental biology of fishes* 88, 273–282. <https://doi.org/10.1007/s10641-010-9640-y>



- Kaifu, K., Miyazaki, S., Aoyama, J., Kimura, S., & Tsukamoto, K. (2013). Diet of Japanese eels *Anguilla japonica* in the Kojima Bay-Asahi river system, Japan. *Environmental biology of fishes* 96, 439–446. <https://doi.org/10.1007/s10641-012-0027-0>
- Kaifu, K., Itakura, H., Amano, Y., Shirai, K., Yokouchi, K., Wakiya, R., Murakami-Sugihara, N., Washitani, I., & Yada, T. (2018). Discrimination of wild and cultured Japanese eels based on otolith stable isotope ratios. *ICES Journal of Marine Science* 75, 719–726. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsx173>
- Komai, T., Gotoh, R. O., Sado, T., & Miya, M. (2019). Development of a new set of PCR primers for eDNA metabarcoding decapod crustaceans. *Metabarcoding and Metagenomics* 3, e33835. <https://doi.org/10.3897/mbmg.3.33835>
- Kotake, A., Okamura, A., Yamada, Y., Utoh, T., Arai, T., Miller, M. J., Oka, Hideo P., & Tsukamoto, K. (2005). Seasonal variation in the migratory history of the Japanese eel *Anguilla japonica* in Mikawa Bay, Japan. *Marine Ecology Progress Series* 293, 213–221. <https://doi.org/10.3354/meps293213>
- Kotake, A., Arai, T., Okamura, A., Yamada, Y., Utoh, T., Oka, H. P, Miller, M. J., & Tsukamoto, K. (2007). Ecological aspects of the Japanese eel, *Anguilla japonica*, collected from coastal areas of Japan. *Zoological Science* 24, 1213–122. <https://doi.org/10.2108/zsj.24.1213>
- Kumai, Y., Tsukamoto, K. & Kuroki, M. (2020) Growth and habitat use of two anguillid eels, *Anguilla marmorata* and *A. japonica*, on Yakushima Island, Japan. *Ichthyological Research*. <https://doi.org/10.1007/s10228-020-00732-y>
- Kuroki, M., Oijen, M. J. P., & Tsukamoto, K. (2014). Eels and the Japanese - an inseparable, long-standing relationship. In: *Eels and Humans* (Tsukamoto, K., Kuroki, M. eds.), Springer, Japan. pp. 91–108. [https://doi.org/10.1007/978-4-431-54529-3\\_6](https://doi.org/10.1007/978-4-431-54529-3_6)
- Kume, M., Terashima, Y., Kawai, F., Kutzer, A., Wada, T., & Yamashita, Y. (2020). Size-dependent changes in habitat use of Japanese eel *Anguilla japonica* during the river life stage. *Environmental Biology of Fishes* 103, 269–281. <https://doi.org/10.1007/s10641-020-00957-w>
- Miya, M., Minamoto, T., Yamanaka, H., Oka, S., Sato, K., Yamamoto, S., Sado, T., & Doi, H. (2016). Use of a filter cartridge for filtration of water samples and extraction of environmental DNA. *Jove-Journal of Visualized Experiments* 117, e54741. <https://doi.org/10.3791/54741>

Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., & 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, 150088. <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>

農林水産省 関東農政局統計情報部 (1957–2015). 東京農林水産統計年報.

Okamura A, Yamada Y, Yokouchi K, Horie N, Mikawa N, Utoh T, Tanaka S, & Tsukamoto K. (2007). A silvering index for the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Environmental Biology of Fishes* 80, 77–89. <https://doi.org/10.1007/s10641-006-9121-5>

Patey, G., Couillard, C. M., Drouineau, H., Verreault, G., Pierron, F., Lambert, P., Baudrimont, M., & Couture, P. (2018). Early back-calculated size-at-age of Atlantic yellow eels sampled along ecological gradients in the Gironde and St. Lawrence hydrographical systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 75, 1270–1279. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2017-0025>

Pont, D., Rocle, M., Valentini, A., Civade, R., Jean, P., Maire, A., Roset, N., Schabuss, M., Zornig, H., & Dejean, T. (2018). Environmental DNA reveals quantitative patterns of fish biodiversity in large rivers despite its downstream transportation. *Scientific Reports* 8, 10361. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28424-8>

Simon, J., Dörner, H., Scott, R. D., Schreckenbach, K., & Knösche, R. (2013). Comparison of growth and condition of European eels stocked as glass and farm sourced eels in lakes in the first 4 years after stocking. *Journal of Applied Ichthyology*, 29, 323–330. <https://doi.org/10.1111/jai.12078>

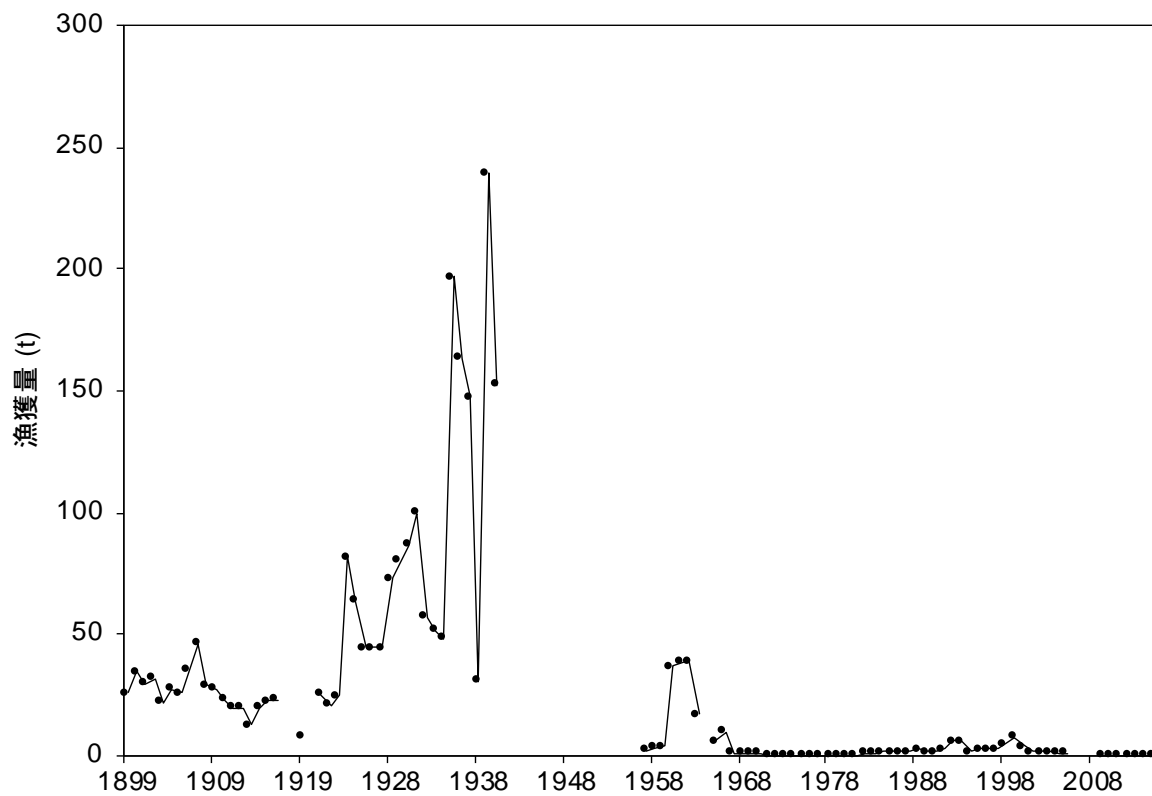
多摩川流域協議会 (2007) 川の流れ、その由来と行方を知ろう ～多摩川流域 水流実態解明プロジェクト 行動指針／計画～. [https://www.ktr.mlit.go.jp/ktr\\_content/content/000046438.pdf](https://www.ktr.mlit.go.jp/ktr_content/content/000046438.pdf)

Thomsen, P. F., Moller, P. R., Sigsgaard, E. E., Knudsen, S. W., Jorgensen, O. A., & Willerslev, E. (2016). Environmental DNA from seawater samples correlate with trawl catches of subarctic, deepwater fishes. *Plos One* 11, e0165252. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165252>

東京都東京府編 (1889–1940). 東京府統計書. 東京都.

Tsukamoto, K. (1992). Discovery of the spawning area for Japanese eel. *Nature* 356: 789–791.

- Tsukamoto, K., & Arai, T. (2001). Facultative catadromy of the eel *Anguilla japonica* between freshwater and seawater habitats. *Marine Ecology Progress Series* 220, 265–276. <https://doi.org/10.3354/meps220265>
- Tsukamoto, K., Chow, S., Otake, T., Kurogi, H., Mochioka, N., Miller, M.J., Aoyama, J., Kimura, S., Watanabe, S., Yoshinaga, T., Shinoda, A., Kuroki, M., Oya, M., Watanabe, T., Hata, K., Ijiri, S., Kazeto, Y., Nomura, K., & Tanaka, H. (2011). Oceanic spawning ecology of freshwater eels in the western North Pacific. *Nature Communications* 2, 179. <https://doi.org/10.1038/ncomms1174>
- Wakiya, R., Kaifu, K., & Mochioka, N. (2016). Growth conditions after recruitment determine residence-emigration tactics of female Japanese eels *Anguilla japonica*. *Fisheries Science* 82, 729–736. <https://doi.org/10.1007/s12562-016-1006-8>
- Yokouchi, K., Kaneko, Y., Kaifu, K., Aoyama, J., Uchida, K., & Tsukamoto, K. (2014). Demographic survey of the yellow-phase Japanese eel *Anguilla japonica* in Japan. *Fisheries Science* 80, 543–554. <https://doi.org/10.1007/s12562-014-0735-9>
- Yokouchi, K., Sudo, R., Kaifu, K., Aoyama, J., & Tsukamoto, K. (2009). Biological characteristics of silver phase Japanese eels, *Anguilla japonica*, collected from Hamana Lake, Japan. *Coastal Marine Science* 33, 54–63. <https://doi.org/10.15083/00040704>
- 米田彬史, 板倉光, 荒井考磨, 海部健三, 吉永龍起, 三宅陽一, 白井厚一朗, 木村伸吾. (2019). 耳石安定同位体比分析と文献調査に基づく日本におけるニホンウナギの自然分布域. *日本水産学会誌* 85, 150–160. <https://doi.org/10.2331/suisan.18-00038>



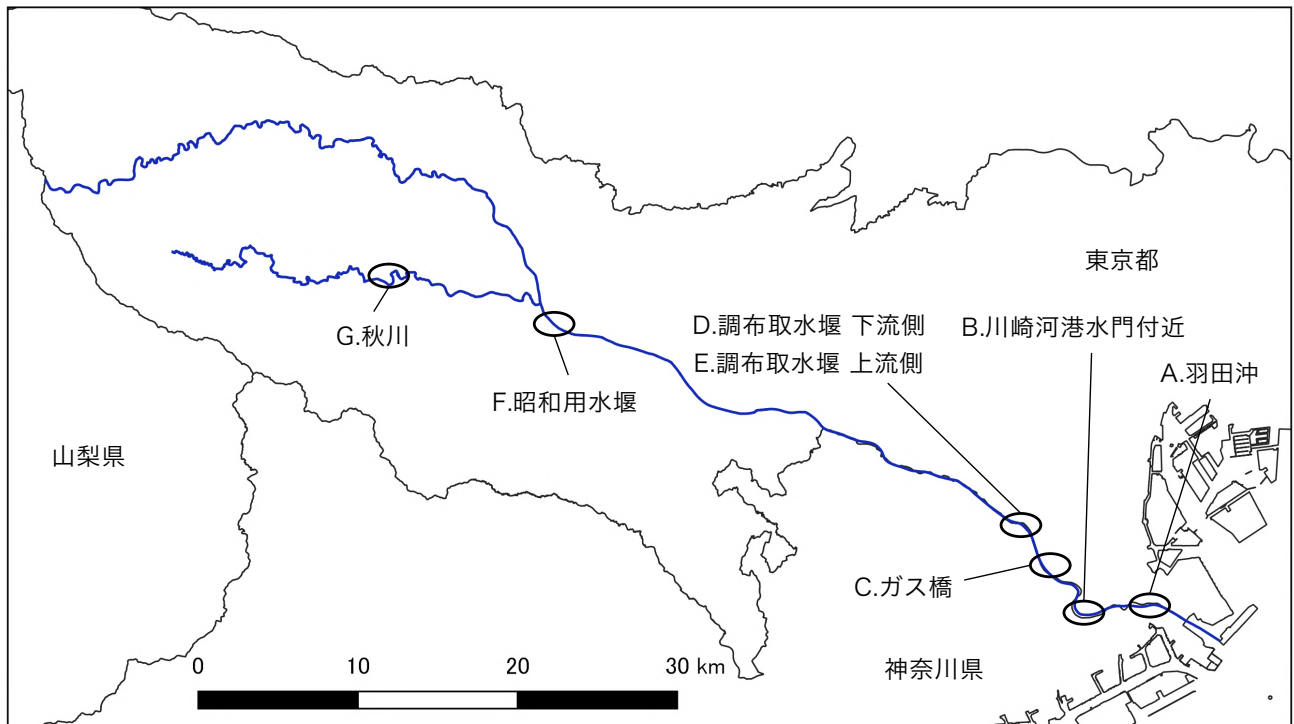
**Fig. 1.** 多摩川におけるニホンウナギ漁獲量の推移

(東京府統計書および東京都農林水産統計年報より作成,  
ただし, 神奈川県はデータがないため含んでない)

**Table 1.** 漁協による多摩川へのニホンウナギ放流量・時期

漁協名	2018年		2019年	
	放流量 (kg)	放流時期	放流量 (kg)	放流時期
多摩川漁協	100	11月	0*	-
秋川漁協	75	11月	75	9月
川崎河川漁協	20	5月	NA	5月

\*放流時期に台風が接近したため, 放流中止



**Fig. 2.** 調査地点（地点A, B, D, E は採捕調査地, 地点C, F, G は提供個体の採集地）

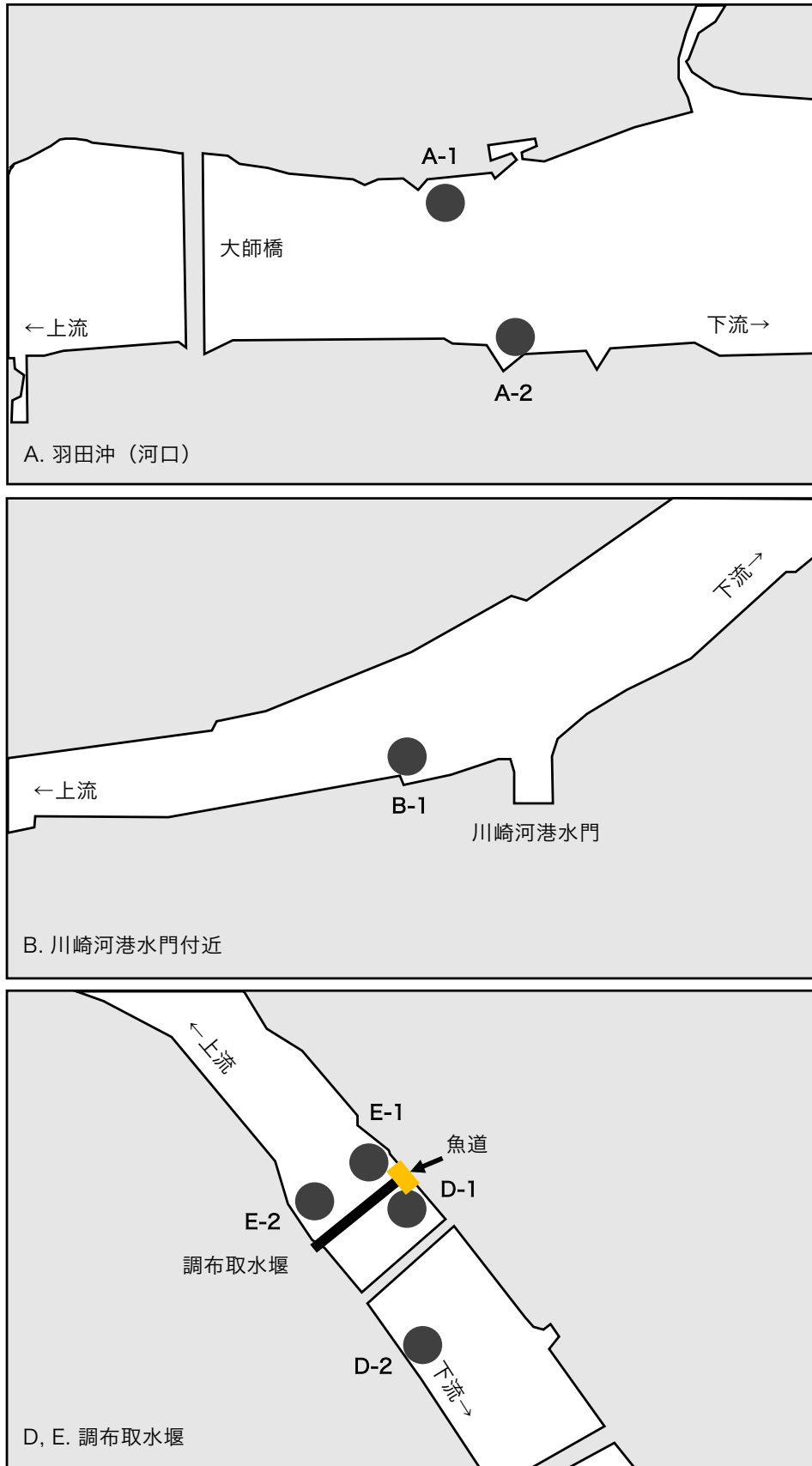


Fig. 3. 採捕調査地点A, B, D, Eの詳細な位置

A-1



A-2



B-1



D-1, E-1



D-2



E-2



**Fig. 4.** 採捕調査地点A, B, D, Eの河川環境の様子

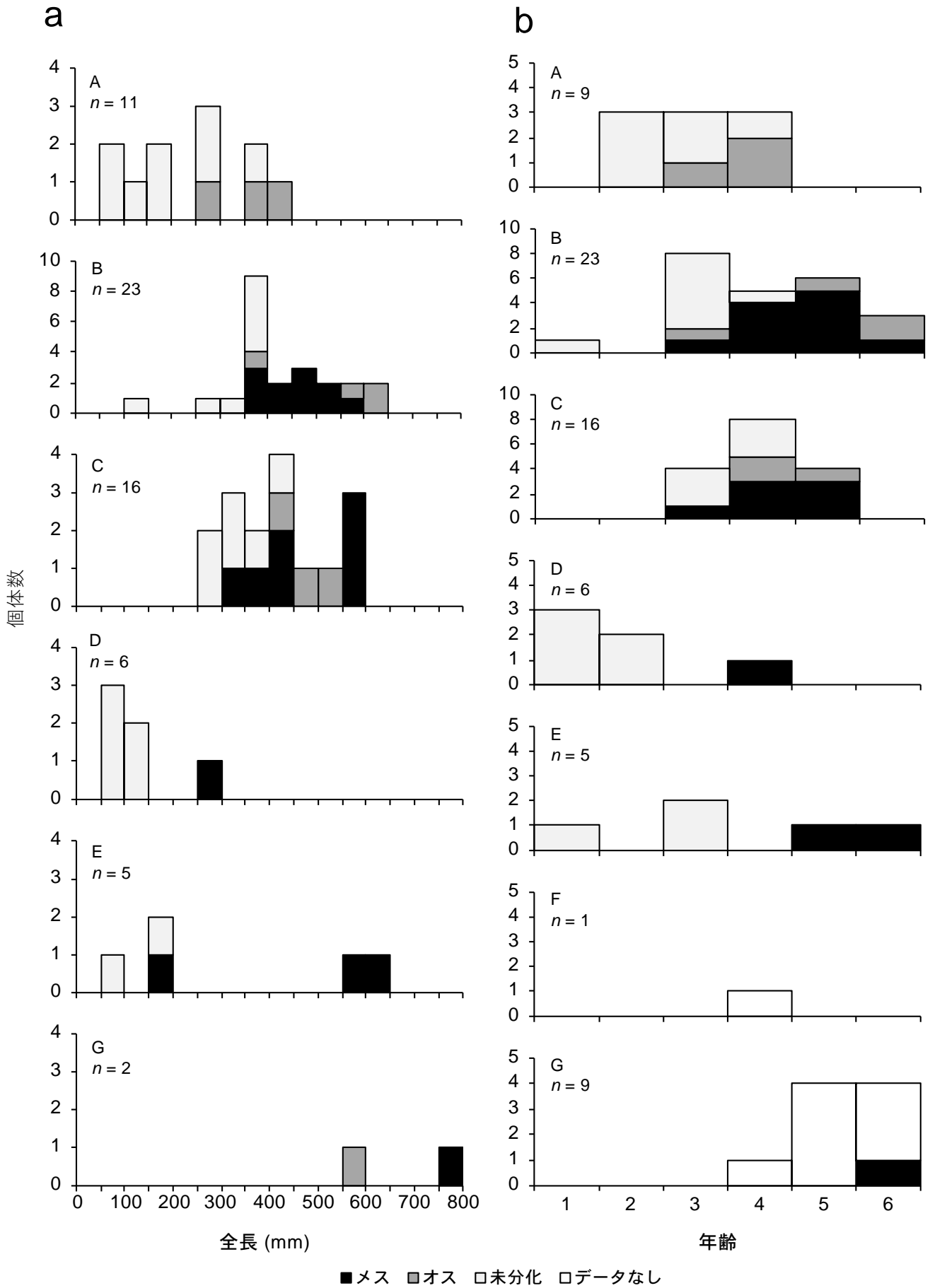




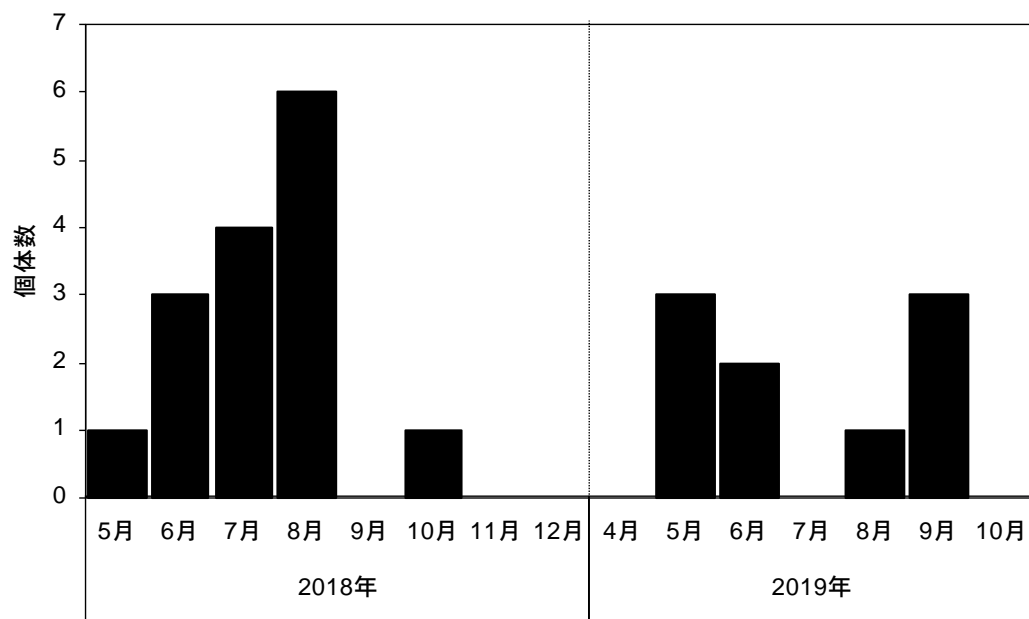
**Fig. 5.** ウナギ捕獲用のわな (左 : タイプ 1, 右 : タイプ 2)



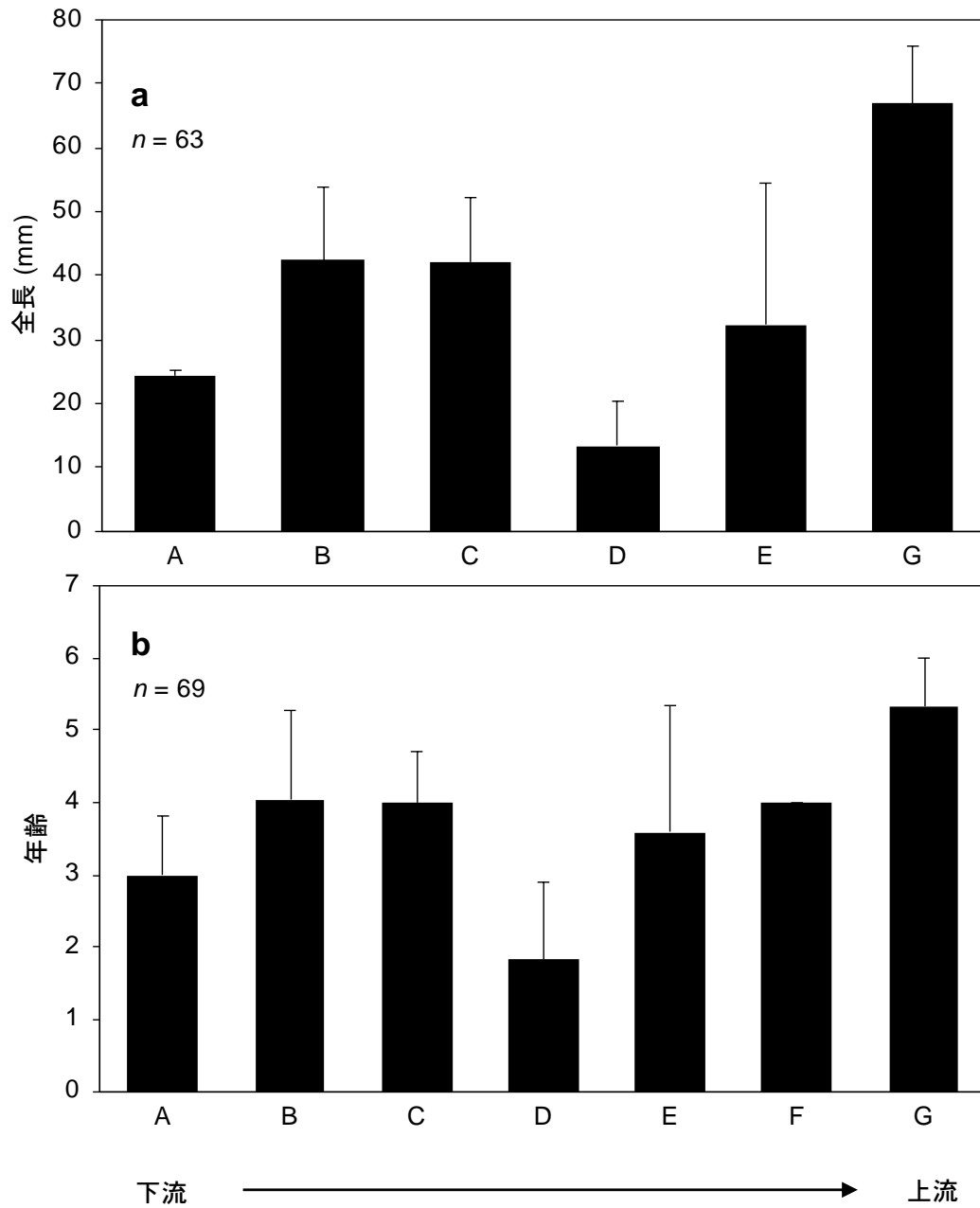
**Fig. 6.** 多摩川で採集されたニホンウナギ（全長 595 mm）の耳石写真  
矢印はエルバーマークの位置を示す



**Fig. 7.** 多摩川で採集されたニホンウナギの全長 (a) と年齢 (b) 組成  
ただし、地点Fは頭部のみのサンプルのため全長のデータなし



**Fig. 8.** 月ごとのニホンウナギ採集個体数



**Fig. 9.** 調査地点ごとのニホンウナギの平均全長 (a) と平均年齢 (b)

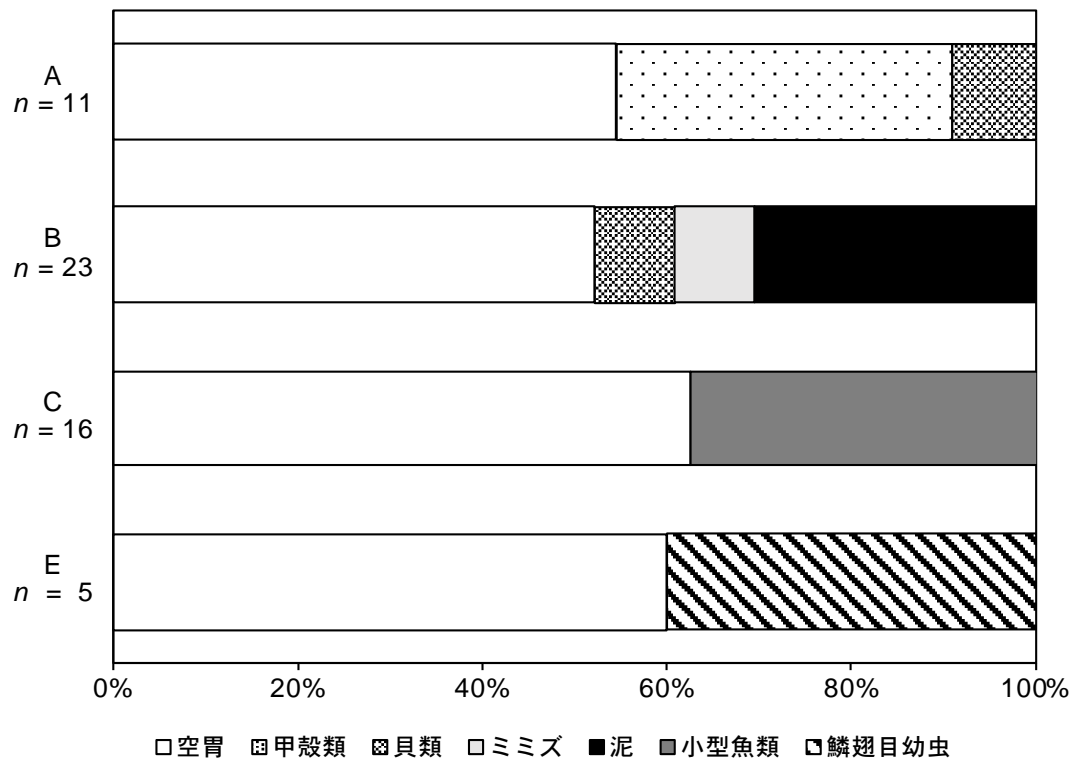


Fig. 10. 調査地点ごとの胃内容物の割合

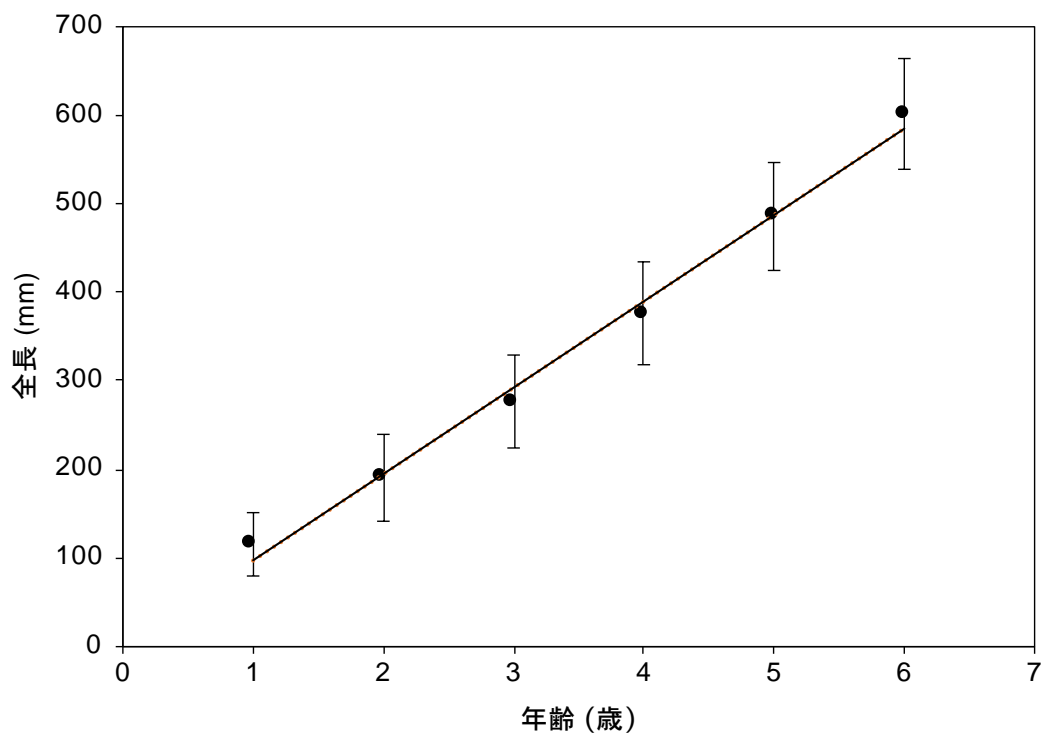


Fig. 11. 多摩川に生息するニホンウナギの成長曲線

**Table 2.** 多摩川の各流域におけるニホンウナギの成長速度

流域	<i>n</i>	年齢ごとの年間成長速度 (mm)					
		Age 1	Age 2	Age 3	Age 4	Age 5	Age 6
上流 (G)	2	162.1	121.5	100.4	106.7	80.7	69.9
下流 (A-E)	54	113.8	69.3	77.4	90.0	86.8	83.3



**Table 3.** 都市型河川に生息するニホンウナギの成長速度

河川名	性別	<i>n</i>	平均年間成長率 (mm)
多摩川 (本研究)	メス	20	93.7 ± 33.6
	オス	11	95.5 ± 25.4
利根川 (Yokouchi et al., 2014)	メス	391	104.6 ± 27.6
	オス	20	93.9 ± 24.3

**Table 4.** 耳石による由来判別分析の個体の採集および生物データ

No.	採集日	調査地点	年齢(歳)	体長(mm)	由来
1	2018年8月30日	A	3	288	天然
2	2018年4月30日	C	4	363	天然
3	2018年4月30日	C	4	394	天然
4	2018年4月30日	C	4	494	天然
5	2018年5月3日	C	4	443	放流
6	2018年5月12日	C	5	511	天然
7	2018年5月28日	C	4	331	天然
8	2018年10月25日	D	2	132	天然
9	2018年07月4日	E	5	578	天然

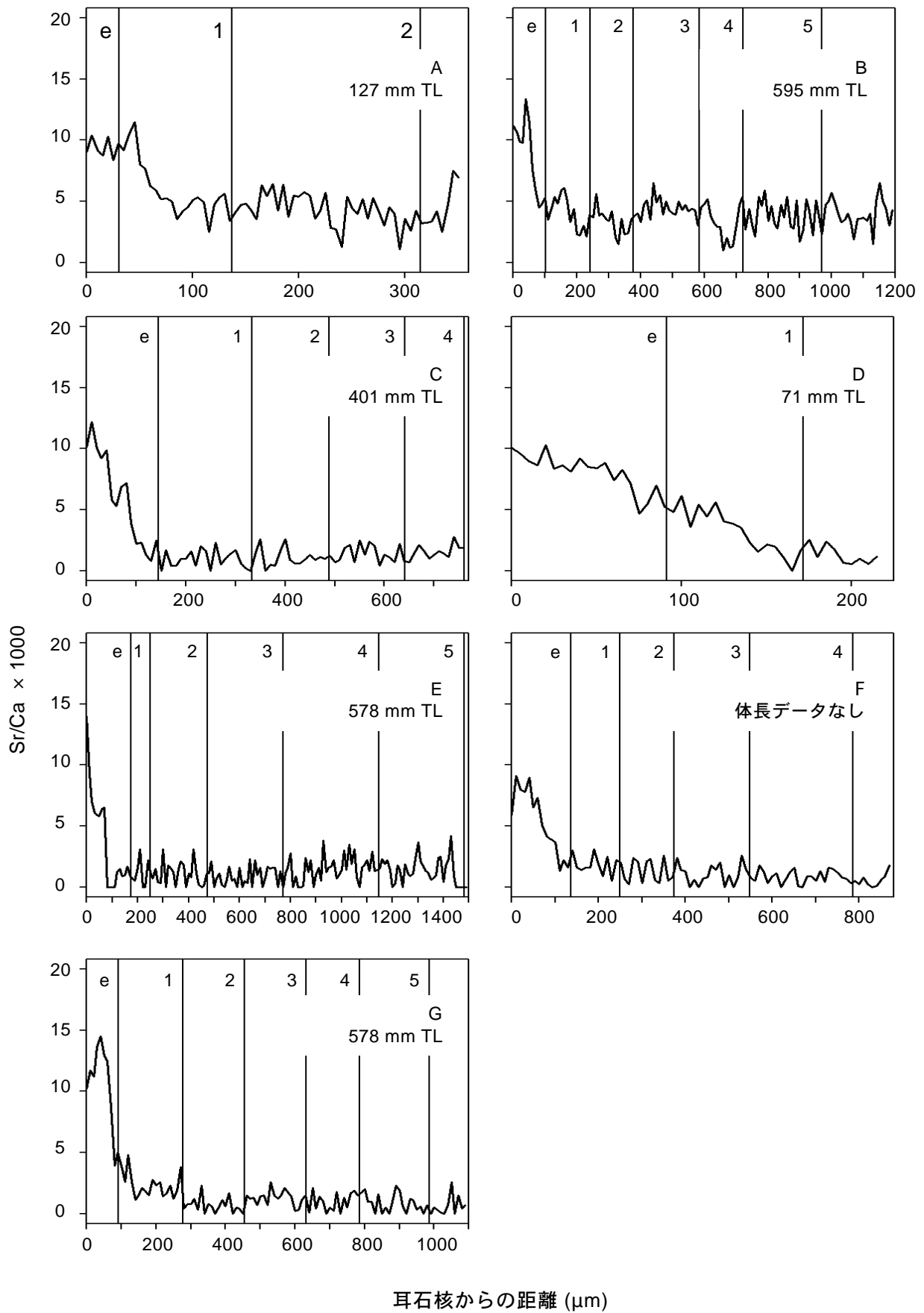
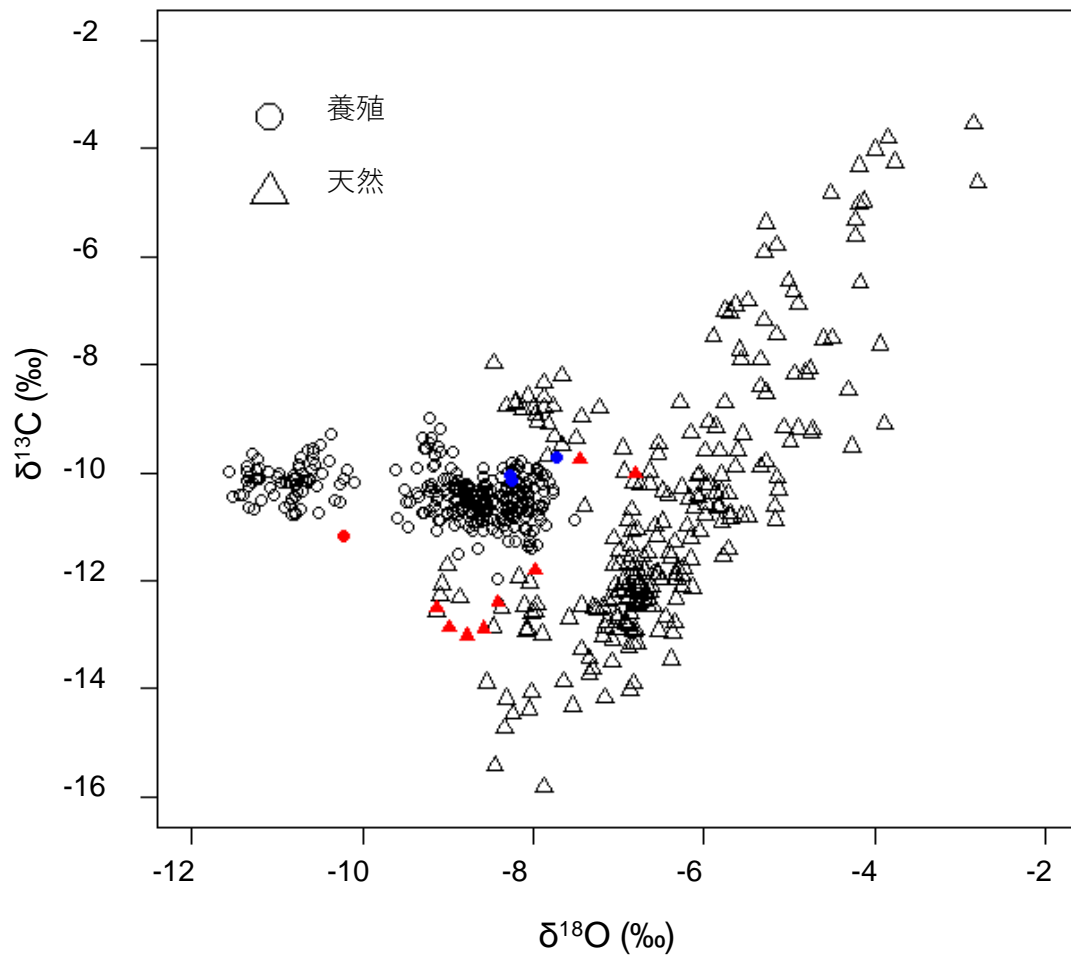


Fig. 12. 調査地点別の耳石中Sr/Ca比の推移例.

e: エルバーマーク, 1-5: 年齢



**Fig. 13.** 耳石酸素炭素安定同位体比に基づく由来判別

○△ : 既往研究データ ( $n = 540$ )

● : 多摩川に放流された養殖個体 ( $n = 3$ )

●▲ : 多摩川で採集された個体 ( $n = 9$ )

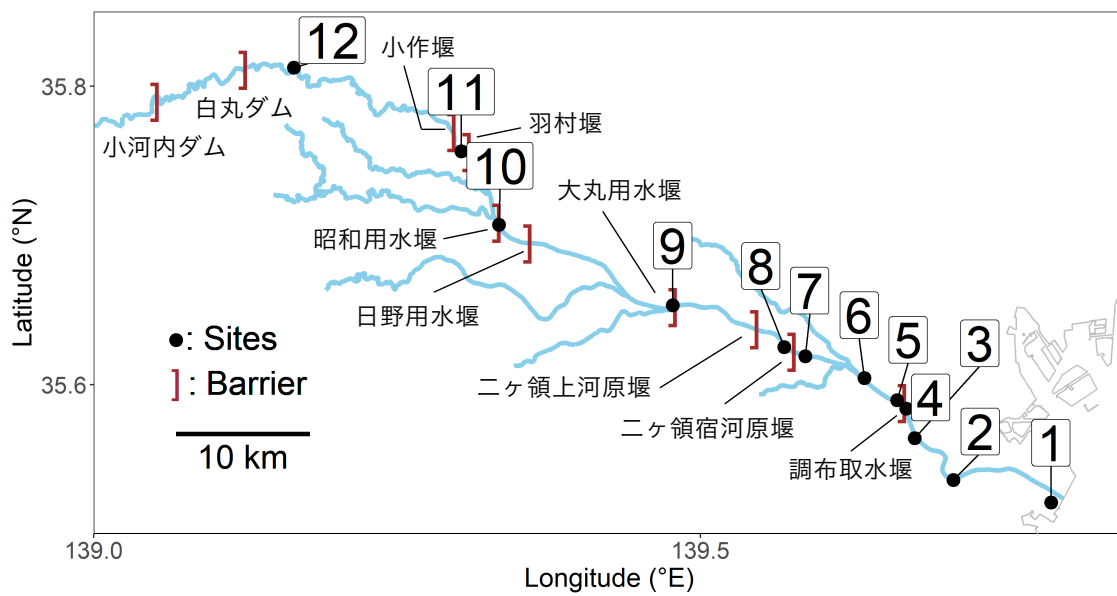


Fig. 14. 多摩川本流における環境DNAの調査地点 (St. 1 - 12)

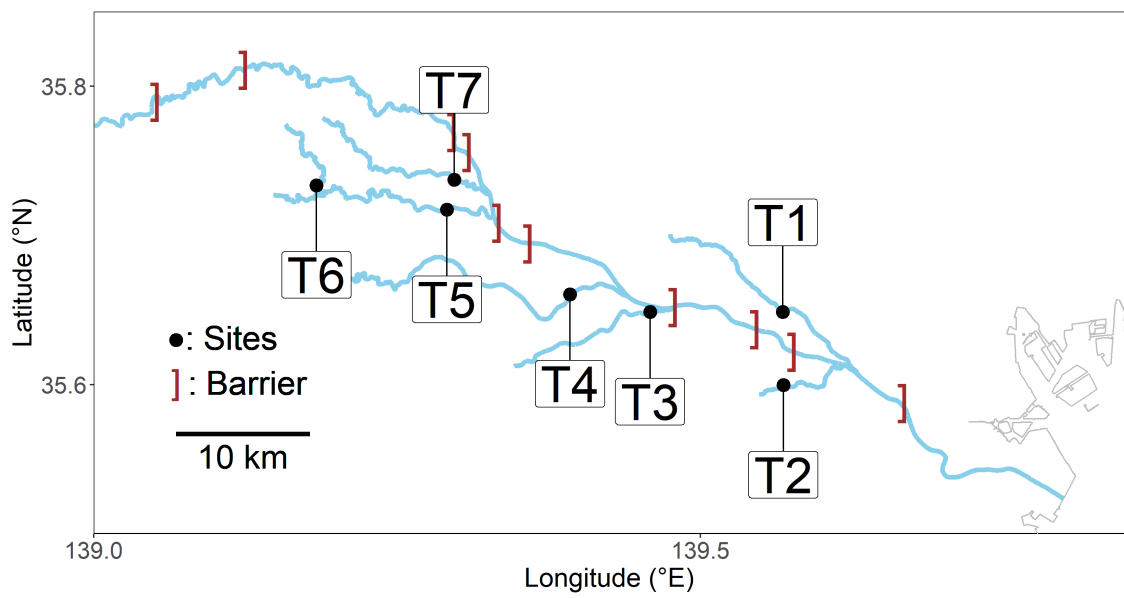


Fig. 15. 多摩川支流における環境DNAの調査地点 (St. T1 – T7)

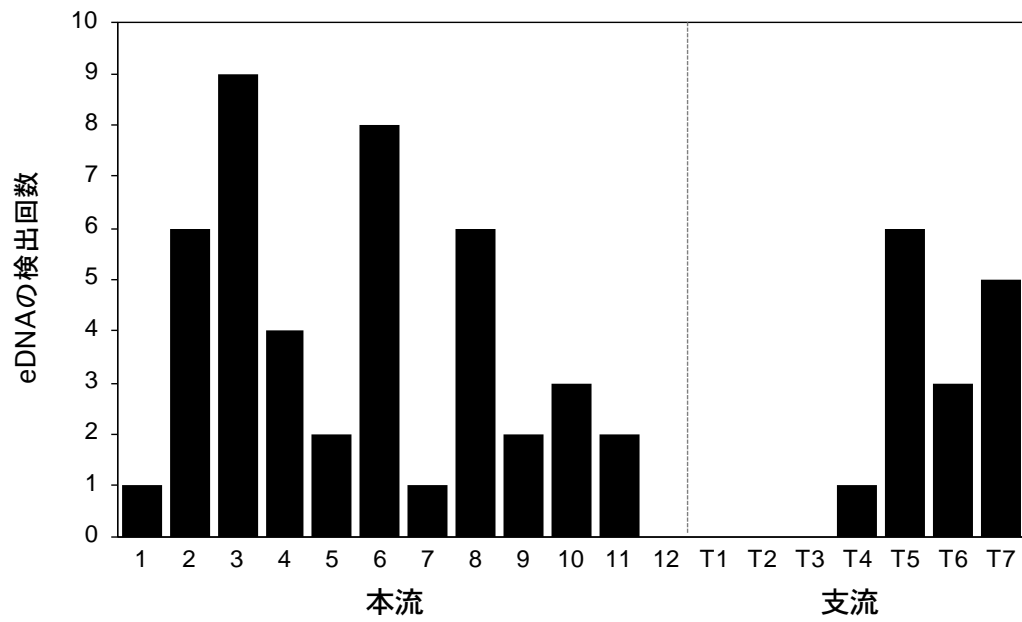
**Table 5.** 環境DNAの採水地点の位置, 平均水温, 塩分濃度

St.	河川名	緯度 (°N), 経度 (°E)	河口からの距離	水温 (°C)	塩分 (‰)	備考
1	多摩川	35.521091, 139.789092	0.0	19.1 ± 6.1	25.5 ± 5.6	
2	多摩川	35.536115, 139.708621	8.4	20.2 ± 6.5	4.0 ± 3.5	
3	多摩川	35.564291, 139.676838	13.9	20.4 ± 5.5	1.8 ± 2.2	
4	多摩川	35.586526, 139.668497	16.4	15.1 ± 4.1	0.1 ± 0.4	9月以降
5	多摩川	35.58818, 139.666966	16.7	15.3 ± 3.8	0.0 ± 0.0	9月以降
6	多摩川	35.604344, 139.635342	20.3	20.5 ± 6.0	0.0 ± 0.0	
7	多摩川	35.620338, 139.579513	25.8	16.2 ± 4.1	0.0 ± 0.0	11月以降
8	多摩川	35.621316, 139.574868	26.2	18.8 ± 5.5	0.0 ± 0.0	
9	多摩川	35.653171, 139.477276	36.4	20.4 ± 4.1	-	
10	多摩川	35.70708, 139.334099	51.5	17.7 ± 6.4	-	
11	多摩川	35.756281, 139.303008	58.2	14.7 ± 5.5	-	
12	多摩川	35.812402, 139.164871	78.2	13.0 ± 5.0	-	
T1	野川	35.648719, 139.567988	28.6	19.8 ± 8.8	-	
T2	平瀬川	35.599645, 139.568432	27.5	19.9 ± 6.5	-	
T3	大栗川	35.648672, 139.45857	38.2	19.7 ± 5.2	-	
T4	浅川	35.660595, 139.39266	44.8	19.8 ± 3.7	-	
T5	秋川	35.717183, 139.291098	56.6	15.7 ± 8.2	-	
T6	養沢川	35.733516, 139.183518	71.0	14.0 ± 6.8	-	
T7	平井川	35.73741, 139.296989	57.7	19.0 ± 6.1	-	

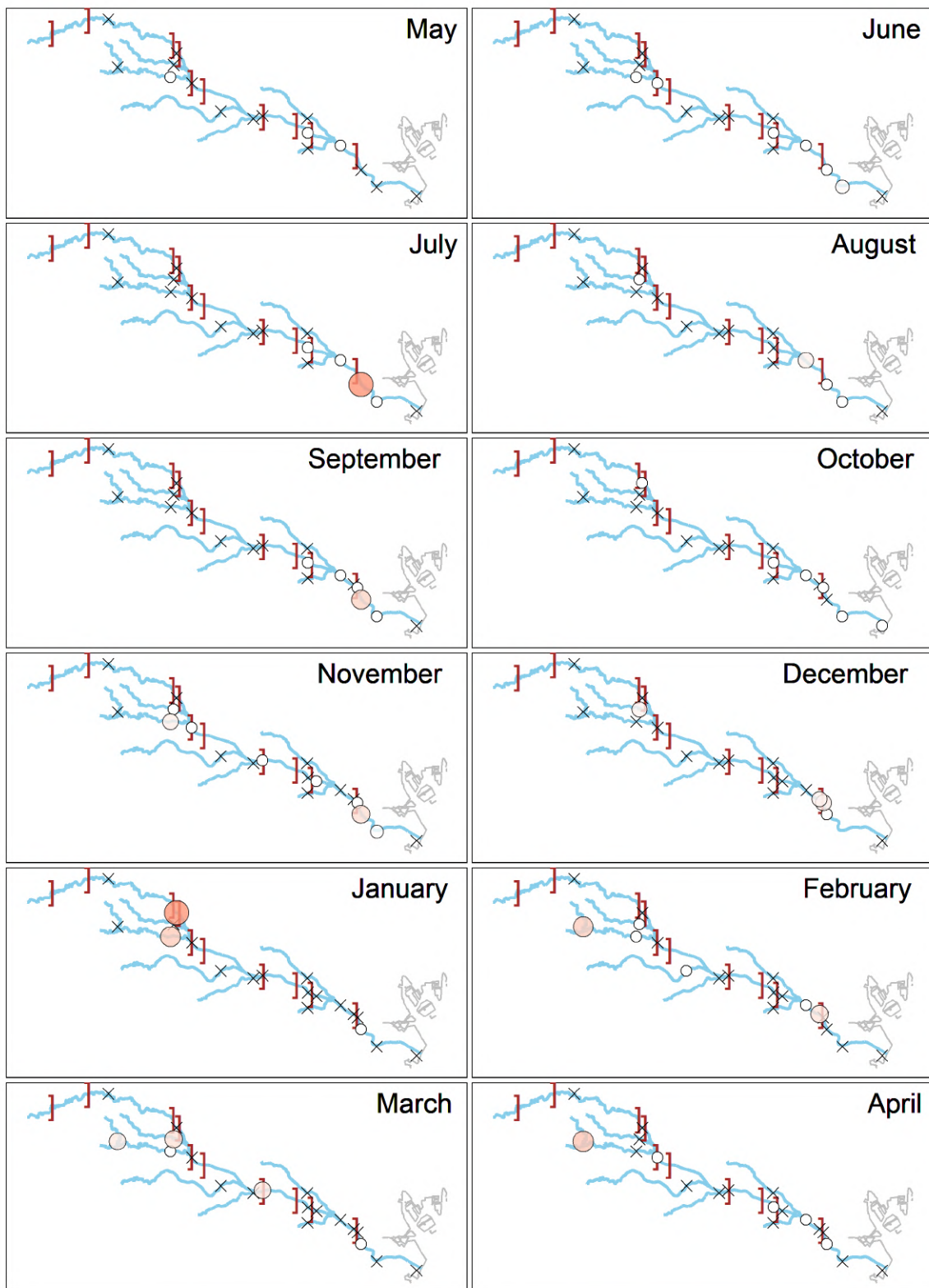
**Table 6.** 本研究で使用したプライマー

	Forward primer	Reverse primer
MiFish-U (Miya et al. 2015)	5'- NNNNNNGTCGGTAAAACCT CGTGCCAGC -3'	5'- NNNNNNCATAGTGGGGTATC TAATCCCAGTTTG-3'
MiFish-E (Miya et al. 2015)	5'- NNNNNNRGTGGTAAATCT CGTGCCAGC -3'	5'- NNNNNNGCATAGTGGGGTA TCTAATCCTAGTTTG -3'
MiFish-P (未発表)	5'- NNNNNNGCTGGTAAACCTC GTGCCAGC -3'	5'- NNNNNNGCGGGGTATCTAAT CCCGGTTTG -3'





**Fig. 16.** 各調査地点におけるニホンウナギeDNAの検出回数



eDNA reads (%) ○ < 0.5 ◐ 1 ● 10 ● 50

Fig. 17. ウナギeDNA検出地点と検出eDNAリード数割合

多摩川水系におけるニホンウナギの保全のための資源生態調査

(研究助成・学術研究 VOL. 49—NO. 347)

著 者 黒木 真理

発行日 2020年12月

発行者 公益財団法人 東急財団

〒 150-8511

東京都渋谷区南平台町5番6号

TEL (03) 3477-6301

<http://foundation.tokyu.co.jp>