

希少生物調査における環境 DNA 手法の有効性の再確認

- 環境 DNA を用いたゼニタナゴ新規繁殖地の発見 -

○パシフィックコンサルタンツ株式会社 神戸大学大学院人間発達環境学研究科 秋田県立大学生物資源科学部 神戸大学大学院人間発達環境学研究科 パシフィックコンサルタンツ株式会社 パシフィックコンサルタンツ株式会社	正会員	真木伸隆 坂田雅之 杉山秀樹 源 利文 土岐君仁 上田夏希
---	-----	--

1. はじめに

希少生物の保全においては、対象種の繁殖地の把握が重要になる。しかし、特に大河川に生息する希少生物の場合には、広範囲から新規繁殖地を発見することは困難であり、一般的な採捕調査では、コストに対して期待される成果が小さい点が課題となる。そこで水域の生物多様性評価手法として近年注目されている環境DNA分析手法を用いることで、希少淡水魚であるゼニタナゴ (*Acheilognathus typus*) の新規繁殖地の発見を試みた。今回、秋田県を流れる一級河川の雄物川において、ゼニタナゴの新規繁殖地を発見したのでその成果について報告する。

2.ゼニタナゴの分布状況

ゼニタナゴは、全長8cm程度の日本固有のタナゴ属 (*Acheilognathus*) 魚類である。現在の生息地は極めて少なく、環境省版や生息が確認されている都道府県版レッドデータブック等において絶滅危惧IA類に指定されている。タナゴ属としては例外的に秋に産卵を行う種で、9月～11月にヌマガイ (*Sinanodonta lauta*) や、タガイ (*Sinanodonta japonica*) など小型の二枚貝に産卵する。貝内の卵は4～7日で孵化した後、そのまま貝内に止まり越冬し、翌年の5～6月に稚魚として水中に浮出する (中村 1969)。



ゼニタナゴ生息地

かつては大型の湖沼である霞ヶ浦、伊豆沼、八郎潟やそれと関連する大河川である利根川、北上川、雄物川などを中心に青森県を除く東北地方、関東地方の1都11県に広く分布していた (中村 1969)。現在では、山形県、新潟県、群馬県、栃木県、千葉県、東京都、埼玉県及び神奈川県のみで絶滅

し、秋田県、岩手県、宮城県及び福島県の限定された極めて狭い範囲でのみ確認されている。

これらの4県についても、生息場所は本来の大河川ではなく外来種の侵入していない小型のため池や小水路であり、全部で10箇所程度とされている (杉山 2015)。

3.雄物川におけるゼニタナゴの生息状況

雄物川は、秋田県を流れる幹川流路延長133km、流域面積4,710km²の一級河川である。雄物川には魚類の繁殖場所になりやすいワンド・たまりが多く分布し、地域固有のトミヨ属雄物型など複数の絶滅危惧に指定されている魚類が生息している。

ゼニタナゴが本来の生息環境である大河川に生息しているのは、現状では雄物川だけ (平成17年度、26年度) であるが、確認例数は少なく、生息状況については不明な点が多い (湯沢河川国道事務所2014)。

4.環境DNA分析手法の採用

環境DNA分析手法は水サンプルからその環境に生息する対象種のDNAを検出することにより生物の在・不在を判別することが可能な手法である。

本手法は、従来の漁具による直接的な手法よりも対象生物に与えるダメージが小さいため、環境や対象種に負荷をかけることなく調査が可能である (Jerde et al. 2011)。そのため、保全が必要で、個体数が少ない、絶滅危惧種等の検出に対して非常に有効と考えられる。そこで、雄物川におけるゼニタナゴの生息状況を把握する手法として、環境DNA分析手法を用いることにした。

5. 調査結果

本調査では、環境DNA分析手法を用いるためにゼニタナゴに特異的な環境DNA検出系の開発を行った。次に、開発した検出系の有効性を確認するため、ゼニタナゴが生息する秋田市の大森山動物園内にあるゼニタナゴ保護池の環境水を用いて確認した上で、分布記録がある雄物川において広範囲のスクリーニ

ング調査を行った。

1) サンプリング調査

サンプリング調査は、平成28年8月8日～10日に行った。サンプリング地点は、雄物川の河口付近から上流114km間の合計99地点とした。

サンプリングでは、各地点で表層から1Lボトルに1本環境水を採水し、DNAの減少を抑えるために、Yamanaka et al. 2017に

従い、終濃度が0.01%になるように塩化ベンザルコニウム (benzalkonium chloride) を1ml加えてよく振り混ぜた。なお、サンプリング時のコンタミネーションを防ぐために地点ごとに使用する器材の更新を行った。



ゴ類と混在して少数のゼニタナゴが生息しているものと考えられた。



ゼニタナゴ生息地点



ゼニタナゴ採捕個体 (左:雌(産卵管が伸長)、右:オス(婚姻色が明瞭))



タガイに産み付けられたゼニタナゴの卵

2) リアルタイムPCR分析結果

今回開発したゼニタナゴに特異的なプライマー・プローブセット(源ら未発表データ)を用いてリアルタイムPCRによりゼニタナゴの存在の判定を行った。鋳型DNA量を5 μ lで実験を行い、3繰り返し中1つでも増幅したサンプルをポジティブとした。ポジティブであったサンプルは増幅産物をシーケンシングして塩基配列を読み取った結果、99地点中2地点でゼニタナゴのDNAが検出された。

3) 採捕調査結果

ゼニタナゴのDNAが検出された2地点において、産卵期にあたる9月下旬～11月上旬に採捕調査を行った。その結果、DNAが検出された2地点のうち、1地点でゼニタナゴの成魚が採捕できた。採捕の内訳は、タガイを入れたセルビンによって雄1個体、小型定置網によって雌1個体であった。雄の個体は婚姻色が明瞭で、雌の個体は産卵管が伸長していた。

また、二枚貝を25個体設置したプランターを水中に沈めた産卵確認用のトラップ調査では、1個体は逸散したが、残りの24個体を回収することができた。その結果、8個体でゼニタナゴの産卵が確認された。

なお、ゼニタナゴが採捕されなかったもう1地点では、DNAの検出時期の関係からトラップ調査が間に合わなかった。しかし、セルビンや小型定置網では、ヤリタナゴが95個体、キタノアカヒレタビラが14個体採捕されており、タナゴ類が豊富に生息できる環境であることは確認できた。このため、これらのタナ

6. まとめ

今回の雄物川本流におけるゼニタナゴ成魚の発見は、11年ぶりであった。この間、2010年度、2015年度に国土交通省の河川水辺の国勢調査などで投網や刺し網、タモ網、小型定置網などで魚類調査がなされてきたが、本種は発見されていない。今回の調査では、環境DNA手法と従来の採捕調査を組み合わせることで、多様性の保全において非常に重要な繁殖地の情報を得ることができることを示した。

参考文献

- 1) 中村守純 (1969) 「日本のコイ科魚類」
- 2) 杉山秀樹 (2015) ゼニタナゴ. 環境省編「Red Data Book2014 汽水・淡水魚類 日本の絶滅のおそれのある野生生物」
- 3) 湯沢河川国道事務所 (2014) 記者発表資料「～絶滅危惧IA類のゼニタナゴの産卵を確認～雄物川で確認されたのは9年ぶり」
- 4) Yamanaka, H., Minamoto, T., Matsuura, J. et al. Limnology (2017) 18: 233. doi:10.1007/s10201-016-0508-5 A simple method for preserving environmental DNA in water samples at ambient temperature by addition of cationic surfactant
- 5) Jerde CL, Mahon AR, Chadderton WL, Lodge DM (2011) "Sight-unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA. Conservation Letters, 4:150-157