

環境影響評価における新しい調査手法の試み

- 環境 DNA を用いたニホンザリガニ・ウチダザリガニ生息場の推定 -

○パシフィックコンサルタンツ株式会社 正会員	池田 幸資
兵庫県立大学大学院シミュレーション学研究所	土居 秀幸
NPO法人環境把握推進ネットワーク-PEG	照井 滋晴
パシフィックコンサルタンツ株式会社 正会員	加藤 敦子
パシフィックコンサルタンツ株式会社	三塚多佳志
北海道立総合研究機構水産研究本部	川井 唯史
兵庫県立大学大学院シミュレーション学研究所	永野真理子
北海道大学地球環境科学研究所環境起学専攻	根岸淳二郎

1. はじめに

平成11年の環境影響評価法の施行に伴い、一定規模以上の開発事業に対して環境影響評価の実施が義務づけられた。環境影響評価とは、環境影響評価法によると「環境の保全について適正に配慮し、現在及び将来の国民の健康で文化的な生活の確保に資すること」(第1条)を目的として、「事業(土地の形状の変更、工作物の新設)の実施にあたりあらかじめその事業に係る環境への影響について自ら適正に調査、予測又は評価を行うこと」(第2条)としている。これは環境問題が深刻化する中で、大量生産、大量消費、大量廃棄型の社会経済システムや生活様式を見直し、環境への負荷の少ない持続的な発展を目指す必要があることからきている。

動植物を含めた生物群集の調査は、さまざまな手法を使って研究されてきた。特に、現地調査では、調査による環境への負荷を最小化し、精度の高い生物調査を実施する必要がある。近年、環境DNAを用いた生物相の調査手法が開発されている¹⁾²⁾。環境DNAとは、生体外に放出されて水中に存在しているDNAの総称であり、皮膚片、粘液や排泄物などに由来すると考えられている。試料水の中に含まれるDNAを調べることでどのような種が調査地域に存在するかを調べることが可能である。本稿では、環境DNAを用いて、絶滅危惧種に指定されているニホンザリガニと特定外来生物に指定されているウチダザリガニの分布の検出を試行し、環境影響評価における生物調査への適用について考察を行う。

ニホンザリガニ(*Cambaroides japonicus*)は、北海道と青森県、秋田県及び岩手県のみにも生息する(写真1)。生息場は一般に広葉樹に囲まれた河川源流部で、まれに山上の湖沼にも生息する。ニホンザリ

ガニは冷たく清澄な水環境を好み、湧水に対しての依存性が強い。また隠れ場所が不可欠であり、礫や倒木、落ち葉の下などを利用している。本種は人間による乱獲や開発行為、さらに外来種のウチダザリガニ(*Pacifastacus leniusculus*)との競合により生息地数が減少しており³⁾、環境省レッドリストの絶滅危惧Ⅱ類(VU)に指定されている。

ウチダザリガニの自然分布域は、北米の太平洋側である。しかし、本種は20世紀前半以降、ヨーロッパやアジアの多くの場所に広く移入された。国内では1920年代から放流されており、ニホンザリガニの生息地減少の一因と考えられており⁴⁾、環境省から特定外来生物に指定されている。



写真1 ニホンザリガニ(左)とウチダザリガニ(右)

2. 材料及び方法

調査は、2016年6月19日から21日に北海道阿寒郡阿寒町の44地点の細流で行った。調査地の水深は、1.6から19.6cmであった。はじめに各調査地から1Lの水を採水した。その後、二人で30分間、10m²の範囲で捕獲調査を実施した。試料水は1Lのポリプロピレンボトル(ナルゲン社)に採取し、運搬中は冷却ボックス内にて保存した。その後、試料水をガラスフィルター(GF/F、直径47mm、0.7μm、GE Healthcare)を通して濾過した。フィルター上の試料からDNeasy

Blood and Tissue kit (キアゲン)を用いてDNAを抽出し、ニホンザリガニ⁵⁾及びウチダザリガニ(土居ら未発表データ)に特異的なプライマー・プローブセットを用いてPikoRealリアルタイムPCRシステム(Thermo Fisher社)によりDNAを増幅・定量し、ニホンザリガニ及びウチダザリガニの存在の判定を行った⁶⁾。

3. 調査結果

調査により、ニホンザリガニは44地点中6地点で捕獲され、それら6地点すべての試料水からニホンザリガニのDNAが抽出された。また、ニホンザリガニが捕獲されなかった14地点の試料水からニホンザリガニの環境DNAが抽出された(表1)。ウチダザリガニは44地点中17地点で捕獲され、それら17地点すべての試料水からウチダザリガニのDNAが抽出された。また、ウチダザリガニが捕獲されなかった22地点の試料水からウチダザリガニの環境DNAが抽出された(表2)。

表1 環境DNAの検出、非検出の状況(ニホンザリガニ)

	環境DNA調査		計
	検出	非検出	
捕獲調査 確認	6	0	6
未確認	14	24	38
計	20	24	44

表2 環境DNAの検出、非検出の状況(ウチダザリガニ)

	環境DNA調査		計
	検出	非検出	
捕獲調査 確認	17	0	17
未確認	22	5	27
計	39	5	44

4. 考察

河川水中の環境DNAの検出について試行し、ニホンザリガニ及びウチダザリガニが捕獲された地点すべてにおいて、それぞれのDNAを検出することができた。また、ニホンザリガニとウチダザリガニが同所的に生息している箇所においても、それぞれの種の環境DNAが検出された。したがって、環境DNAを用いた調査手法は、ニホンザリガニ及びウチダザリガニの生息をほぼ正確に検出することができるものと考えられた。

捕獲調査において、ザリガニ類の個体が確認できなかった地点においても、ニホンザリガニ14地点、ウチダザリガニ22地点で環境DNAが検出された。このため、環境DNAを用いた調査は、従来の手法と比較して、広域に調査対象種の存在を把握でき、調査に要する時間や労力も軽減できる可能性がある。また、環境DNAを用いた調査では、個体数密度の低い希少種や侵入初期段階の外来種等、見つけにくい水生生物の調査への適用が期待される。さらに、捕獲調査では、川底の礫をめくりながら調査するため、生息域を少なからず攪乱する。一方、環境DNAによる調査では、採水のみで調査できるため、生息域への負の影響は少ない。このことから、ザリガニ類に限らず、様々な種へ環境DNA技術を適用することで、環境影響評価における生物調査に役立つであろう。

参考文献

- 1) Takahara, T., Minamoto, T. & Doi, H. (2013) Using environmental DNA to estimate the distribution of an invasive fish species in ponds. PLOS ONE, 8, e56584.
- 2) Minamoto, T., Yamanaka, H., Takahara, T., Honjo, M. N. & Kawabata, Z. (2012) Surveillance of fish species composition using environmental DNA. Limnology, 13, 193- 197.
- 3) Kawai, T., & Labay V. S. (2011) Supplemental information on the taxonomy, synonymy, distribution of *Cambaroides japonicus* (Decapoda: Cambaridae). New Frontiers in Crustacean Biology, 15, 275- 284.
- 4) 中田和義(2010)生理・生態：基礎生態・繁殖・生理. PP. 343- 396. ザリガニの生物学(川井唯史・高畑雅一編著), 北海道大学出版会, 札幌.
- 5) Ikeda, K., Doi, H., Tanaka, K., Kawai, T. & Negishi, J.N. (2016) Using environmental DNA to detect an endangered crayfish *Cambaroides japonicus* in streams. Conservation Genetics Resources, 8, 231- 234.
- 6) Doi H., Inui, R., Akamatsu, Y., Kanno, K., Yamanaka, H., Takahara, T. & Minamoto, T. (2017) Environmental DNA analysis for estimating the abundance and biomass of stream fish. Freshwater Biology, 62, 30- 39.