

河川水辺の国勢調査における捕獲と環境 DNA メタバーコーディング分析による 魚類相の比較

○パシフィックコンサルタンツ株式会社 正会員 上月佐葉子
パシフィックコンサルタンツ株式会社 三塚多佳志
パシフィックコンサルタンツ株式会社 正会員 池田 幸資
国土交通省 北海道開発局 函館開発建設部 三佐川剛昌
国土交通省 北海道開発局 函館開発建設部 飛田 大輔
パシフィックコンサルタンツ株式会社 山田 浩行

1. はじめに

河川水辺の国勢調査は、河川の環境に関する基礎情報の収集やモニタリングのため、主に全国の一級河川において定期的に実施されてきた。河川水辺の国勢調査の調査対象の一つである魚類は、河川の生態系の中でも上位に位置する大型生物であることから、河川環境をモニタリングしていく上で、重要な分類群として注目されている。

近年、環境中に浮遊・存在しているDNAを用いた淡水域における魚類や両生類の調査手法の開発が進められている¹⁾。水中にはさまざまな生物に由来するDNAが存在しており、これまではこのような環境DNA (eDNA) は一般に微生物の検出に用いられてきた。環境DNAは、一つの対象種のDNA を特異的に検出するアプローチと、特定の分類群のDNA を網羅的に検出するメタバーコーディングと呼ばれるアプローチに大別され²⁾、河川における魚類相の把握のために後者の手法が適用されはじめており、野外での検証が行われてきている。そこで、本稿では環境DNAのメタバーコーディングを用いた分析の事例として、環境DNAメタバーコーディングによって得られた結果を過去に行われた河川水辺の国勢調査での魚類調査結果と、比較することにより、環境DNA メタバーコーディングを河川における魚類相モニタリング手法として活用する際の課題を検証した。

2. 調査方法

河口部からダム湖を含む上流域にかけて広い範囲で魚類の環境DNA分析技術の適用として、これらの区間で連続的に調査地区が設定されている河川として後志利別川水系を選定した。環境DNA 分析に供する採水は、国土交通大臣直轄管理区間における魚類の生息状況を適切に把握するために、流程に沿って設

定された河川水辺の国勢調査の調査地区11地区(図-1)で実施した。採水調査は2018年6月14～15日および10月14～15日に実施し、各調査地区で平瀬等最も普通に見られる環境を選定し、該当環境の表層水を1L 採水した。

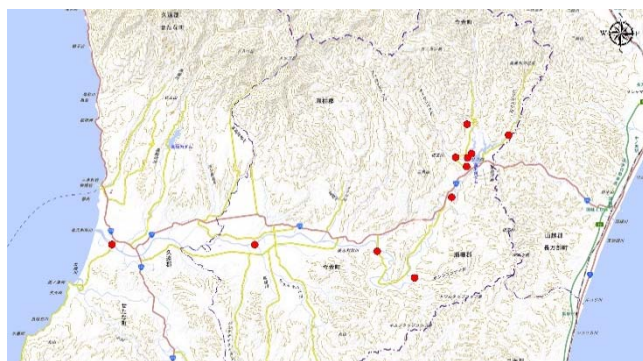


図-1 調査地区位置図

採水検体は、塩化ベンザルコニウム10w/v%水溶液を0.1%になるように添加し、クーラーブランケットとともに遮光・冷蔵状態で実験室に運搬した。採水検体はステリベクス (メルクミリポア/0.22 μm) でろ過し、DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany)を用いてDNA を抽出した。抽出したDNA をMiya et al. による魚類のユニバーサルプライマー³⁾ で増幅し、MiSeq (Illumina)とMiSeqReagentKit3(600サイクル, Illumina)を用いて、2x300bpの条件でシーケンシング解析を行った。

環境DNA 分析による確認結果は、過去に行われた河川水辺の国勢調査での確認結果と比較した。過去の調査結果は、遊泳、底生に区分し、それらの組み合わせから2つのカテゴリー (遊泳、底生) に分け、生息環境による環境DNA の有効性についての比較をおこなった。

3. 結果

採取した河川水に含まれる環境DNA のメタバーコ

キーワード：環境 DNA、メタバーコーディング分析、魚類調査、河川水辺の国勢調査

ーディング法による分析の結果、22種の魚類が確認された。過去に行われた河川水辺の国勢調査結果では12～24種の確認であり、単年度の調査と同程度の種数が確認できた（図2）。環境DNA メタバーコーディングのみで確認された種はなくメタバーコーディングで確認された種はいずれも過去の調査で確認された種であったものの、サケ等の回遊魚は、捕獲調査に比べより上流域でも確認された。

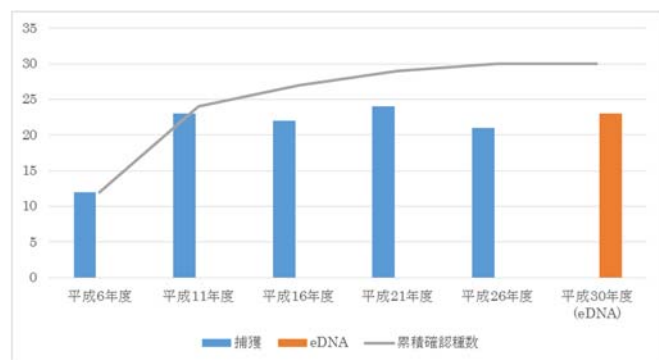


図2 調査年ごとの確認種数

一方、環境DNA メタバーコーディングでは確認されなかったが、魚類採集で確認されていた種は8種であった。このうち直近の調査で確認されていない種が5種、直近の調査で確認されている種が3種であった。捕獲調査で確認された30種のうち底生魚は11種（36.7%）を占めるのに対し、環境DNAメタバーコーディング分析では7種（31.8%）にとどまり、底生魚の確認がやや少ない傾向が見られ、直近の調査で確認されていたが環境DNAメタバーコーディング分析で確認されなかった3種はいずれも底生魚であった。

4. 考察

環境DNAメタバーコーディングにより、単年度の捕獲調査と同程度の確認種数が得られたことは、環境DNA分析が十分な調査精度を持つ手法であることを示唆している。特に、河川内の限られた区域・環境に生息するなどで生息数が少なく、現地調査では必ずしも確認し得ない可能性のある種の生息を推定することに優れていると考えられる。このことは、特に事前調査の段階で環境DNAによる確認を行うことが、現地調査の精度や効率を高められることにつながると言える。今回の調査では、各地区で代表的な1箇所での採水にとどまったが、淵やワンド・細流など多くの環境で採水することで、より精度を高められる可能

性がある。

環境DNA分析は生体の確認を必要としないことが大きなメリットである一方で、サケのように人為的あるいは野生動物等により持ち込まれる可能性がある魚類に代表されるように、必ずしもDNAの検出がその種の生息を意味しないことには留意をする必要がある。また、環境DNA分析においては、底生魚の確認率が著しく低くなる可能性が示唆されているが⁴⁾、今回の結果でも底生魚の確認率がやや低い傾向が見られた。これら底生魚の検出には環境DNA分析手法にさらなる検討を行うとともに、これらの条件を補足するため捕獲調査を併用していくことが必要である。

以上のことから、環境DNAメタバーコーディング分析は、魚類相の把握には十分な精度を持つ手法であるものの、得られる結果について確実な記録とするために現地調査を併用する必要があると考えられる。環境DNAを用いた観測技術を用いることにより、魚類相の把握が簡略化していく条件は整いつつある。今後、モニタリングの精度を維持しつつ、より低コストに実施していくための手法の検討が求められる。

謝辞

本報告を行うにあたり、本地域の魚類の分布や生態について多くのご助言を頂いた北海道栽培漁業振興公社顧問 眞山紘先生に厚く御礼を申し上げる。

引用文献

- 1) Takahara, T., Minamoto, T. & Doi, H. (2013) Using environmental DNA to estimate the distribution of an invasive fish species in ponds.
- 2) 源 利文 (2018) 種特異的な環境DNA 検出によるマクロ生物の生態調査, 水環境学会誌, Vol.41(A), pp.123-127
- 3) Miya, M., et al. (2016) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine
- 4) 赤松 良久ら (2018) 河川水辺の国勢調査による魚類相調査と環境DNA メタバーコーディング解析の比較検討, 土木学会論文集B1(水工学) Vol. 74, No. 5, I_415-I_420