

流域の魚類相調査における環境 DNA メタバーコーディング分析法の有効性について

(神奈川県・小出川の事例報告)

○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		岡田泰明
パシフィックコンサルタンツ株式会社		渡部 健
パシフィックコンサルタンツ株式会社		真木伸隆
パシフィックコンサルタンツ株式会社		小菅敏裕
パシフィックコンサルタンツ株式会社		池田幸資
パシフィックコンサルタンツ株式会社		松島夕佳子
神戸大学大学院人間発達環境学研究科		坂田雅之
神戸大学大学院人間発達環境学研究科		源 利文

1. はじめに

都市部を流れる河川の流域では、市街化の進展による環境の改変が著しく、動植物の生息環境にも大きな変化が生じるおそれがある。そのため、都市部における自然環境を適切に評価・管理するには、継続的なモニタリングとそれに基づく評価データの更新が必要と考えられる。一方で、広域の環境情報を収集するためには、多くの時間と労力が必要となることから、調査の頻度、調査範囲には制約が生じることが多い。

こうした、広域の自然環境調査モニタリングの抱える課題を解決する手法として、近年開発された新しい生物調査の手法である「環境DNA分析」の利用が注目されている。水域の魚類調査の場合、環境DNA分析では、現地調査が採水のみであることから、少ない時間で広域の調査が可能である。一方で、環境DNA分析は、水中に漂うDNAを分析し、塩基配列の情報から種を同定し間接的に対象水域に生息する種を推定する技術であるため、実際に生息していない種であっても、生活排水など何らかの経路で混入したDNAも検出される可能性がある。このため、現在、様々な水域環境で、従来の捕獲調査のデータとメタバーコーディング手法で検出されるデータを比較することにより、検出性能や精度を確認する実証研究が行われ、知見の蓄積が進んでいる。

本稿では、急速に市街化が進行している茅ヶ崎市を流れる相模川支流の小出川の流域で環境DNAメタバーコーディング法による魚類相調査を試み、既往調査で得られている魚類の生息情報を概ね網羅できる結果を得たので、その成果を報告する。

2. 調査地域の概況

小出川は、神奈川県中央部を流れる相模川の下流部に位置する一次支川であり、一級河川区間は諸之木橋から富士見橋付近までで、延長は約11kmである。流域には、茅ヶ崎市、藤沢市、平塚市、寒川町の3市1町が含まれる。小出川に流入する二次支川としては、一級川、打戻川等が挙げられる。千の川流域を含めた小出川の流域面積は約35km²である(図1)。

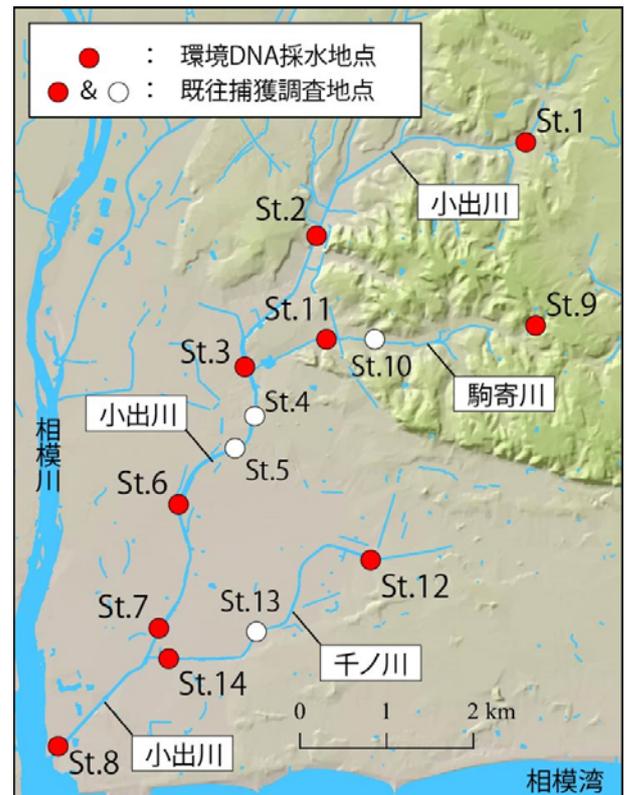


図1 小出川流域の概況・採水地

3. 小出川における魚類の既往調査データ

小出川の魚類相に関する既往データとしては、茅ヶ崎市が2011年3月から同年11月までに延べ15日間にわたって実施された調査結果を参照した(文献1)。各地点(小出川本流:St.1~8の8地点、駒寄川:St.9~11の3地点、千の川:St.12~14の3地点)では、流路に沿って50~100mの範囲を、平均4人の調査員が、平均50分間かけて手網、投網、又手網を用いた調査が行われた。

4. 環境DNA分析による魚類相調査

4.1 調査日・地点

環境DNA分析用の試料の採水は、2017年8月3日に実施した。既往捕獲調査地点のうち、小出川本川のSt.4及びSt.5、千の川のSt.13、駒寄川のSt.10を除く各地点、もしくはその近傍で実施した(図1)。

4.2 採水方法

各調査地点で表層水1Lを採水した。採水後のDNAの減少(分解)を抑えるために、Yamanaka et al. (2017)に従い、すべてのサンプルについて終濃度が0.01%になるように塩化ベンザルコニウム溶液を加えて十分に転倒混和した。

4.3 分析方法

分析は、次世代シーケンサーを用いてMiFish法で行った。解析では、リード数が10以上の種を対象に、種同定においてリファレンスデータベースに対して相同性98.5%で検索した。

4.4 検出データのスクリーニング

上記の分析により、計22科41属45種が検出された。得られた一次リストには海水域を生息環境とする魚種が多く含まれていたが、小出川下流域の感潮域の範囲に関する情報が不明であったため、生活型が汽水・海水魚の魚種、及び、主な生息環境を汽水域とする周縁性魚類を除き、純淡水魚と回遊魚(計11科27種)を抽出した二次リストを作成して捕獲データとの比較を行った(表1)。なお、回遊魚であるサケ属では当該水域で分布の可能性がある魚種がないことから除外した。

5. 結果

環境DNA分析により小出川本流で11科27種、支流の千ノ川で10科22種、駒寄川5科11種の魚類が検出された(表1)。一方、既往捕獲調査では、小出川本流で7科19種、支流の千ノ川で6科13種、駒寄川で4科8種が確認されている(表1)。いずれの流水域でも、環境DNA分析による検出種数が捕獲調査の結果を上回った。

タモロコ、スゴモロコ、ホトケドジョウは捕獲調査

では確認されているが、環境DNA分析では検出されなかった。一方、カワムツ、コウライモロコ、カジカ属、テンジクカワアナゴ、カムルチーの5種は環境DNA分析のみで確認された。

6. 考察

環境DNA分析の検出種は、捕獲調査で得られている確認種を概ね網羅しており、流域レベルで魚類相を把握する能力は既往捕獲調査と比べて遜色ないことが示された。環境DNA分析で検出されなかったタモロコは、本調査では採水していない小出川本流のSt.5で1個体、スゴモロコもSt.5で3個体が確認されているのみであり、流域における生息密度が低い環境DNA分析では検出されなかった可能性がある。ホトケドジョウについては、本種の分布が、湧水を水源とする谷戸の細流に限られており、捕獲調査ではSt.9のみで確認されていた。生息箇所が局所的であるため環境DNA分析では検出できなかった可能性がある。特に本調査の各地点での採水量は1L・1検体のみであったため、個体密度が少なく分布が局所的な種については検出しにくかった可能性がある。

一方、既往捕獲調査は、平均4人で延べ15日間に渡り実施されていたのに対し、環境DNA分析用の試料の採水は、5人で1日の作業で行われたものであり、現地調査の労力は著しく軽減されている。本調査の結果は、広域の魚類相を調査する技術として、環境DNA分析技術の有効性を示すものと考えられる。

《参考文献》

文献1「茅ヶ崎の淡水魚類相(第3報)」(文化資料館調査研究報告書 24,2015)

表1 既往捕獲調査及び環境DNA分析による確認状況

No.	科名	種名	生活型	小出川(本流)		駒寄川		千ノ川		環境DNA(地点別)													
				DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	小出川本流			駒寄川			千ノ川							
										St.1	St.2	St.3	St.6	St.7	St.8	St.9	St.11	St.12	St.14				
1	ウナギ科	ニホンウナギ	回遊	●	○			●	○														
2	コイ科	コイ	純淡水	●	○	●		●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
3		フナ属	純淡水	●	○*	●	○*	●	○*	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
4		オイカワ	純淡水	●	○	●		●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
5		カワムツ	純淡水	●				●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
6		アブラハヤ	純淡水	●	○		○	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
7		ウグイ属	純淡水・回遊	●		●		●	○*	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
8		モツゴ	純淡水	●	○	●	○	●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
9		ムギツク	純淡水	●				●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
10		タモロコ	純淡水	●	○																		
11		カマツカ	純淡水	●	○			●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
12		ニゴイ属	純淡水	●	○**	●		●	○**	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
13		スゴモロコ	純淡水	●	○																		
14		コウライモロコ	純淡水	●																			
15		ドジョウ科	ドジョウ	純淡水	●	○	●	○	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			
16	カラドジョウ属		純淡水	●		●	○**	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●				
17	シマドジョウ属		純淡水	●				●															
18	ホトケドジョウ		純淡水	●			○	●															
19	ナマズ科	ナマズ	純淡水	●		●	○	●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●				
20	アユ科	アユ	回遊	●	○			●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●				
21	カダヤシ科	カダヤシ	純淡水	●		●		●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●				
22	メダカ科	メダカ類**	純淡水	●		●	○	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●				
23	カジカ科	カジカ属	純淡水・回遊	●		●		●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●				
24	カワアナゴ科	カワアナゴ	回遊	●	○			●															
25		テンジクカワアナゴ	純淡水	●				●															
26	ハゼ科	チチブ属	回遊	●	○**			●	○**		●	●	●	●	●	●	●	●	●				
27		シマヨシノボリ	回遊	●	○																		
28		コクラクハゼ	回遊	●	○			●	○		●	●	●	●	●	●	●	●	●				
29		ヨシノボリ属	不明	●	○			●	○		●	●	●	●	●	●	●	●	●				
30		スミウキゴリ	回遊	●	○	●		●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●				
30		ウキゴリ	回遊	●	○			●	○		●	●	●	●	●	●	●	●	●				
31	タイワンドジョウ科	カムルチー	純淡水	●				●															
計	11科	31種	-	27種	19種	11種	8種	22種	13種	7種	13種	17種	24種	21種	20種	5種	11種	17種	19種				

※1:捕獲調査ではギンブナが確認されている。 ※2:捕獲調査ではウグイが確認されている。 ※3:捕獲調査ではニゴイ確認されている。 ※4:捕獲調査ではカラドジョウが確認されている。 ※5:捕獲調査ではヌマチチブが確認されている。 ※6:メダカ属またはヒメダカ。