

## 城北ワンドにおける環境 DNA 分析を用いた魚類相調査

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  
 (地独)大阪府立環境農林水産総合研究所 山本義彦  
 大阪工業大学都市デザイン工学科 綾 史郎  
 大阪工業大学都市デザイン工学科 田中耕司  
 大阪産業大学デザイン工学部環境理工学科 鶴田哲也  
 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

城北ワンドでは淀川の水質保全の拠点として、外来種駆除を行い、天然記念物イタセンパラの保全を進めている。外来種駆除の効果を示すためには、生息する魚類相をモニタリングすることが望ましい。外来種駆除のための地引網により捕獲された魚類相は記録され、以前よりも在来種の増加が確認されているが、捕獲されない魚類が生息する可能性がある。

近年、環境中に浮遊・存在している生物由来のDNA（環境DNA：environmental DNA）を用いた水生生物の調査手法の開発が進められている。本稿では、城北ワンドにおいて地引網による捕獲調査と環境DNA分析による魚類相検出を比較し、今後のモニタリングへの活用方法について検討した結果を報告する。

### 2. 方法

#### 1) 調査期日

地引網は 2018 年 10 月 21 日、採水は 10 月 11 日実施。



写真 1 城北ワンド

#### 2) 調査箇所

城北ワンドの外来種駆除実施ワンド：34・35

地引網：各ワンド 2 箇所

環境 DNA 分析用の採水：各ワンド 1 箇所

#### 3) 地引網による捕獲方法

地引網（長さ 30m, 袖網の深さ 1m, 袋口の深さ 1m, 袋網の長さ 4m, 網目 5mm）を用いて魚類の捕獲を行い、捕獲個体の種名と数を確認した。



写真 2 地引網の様子

### 4) 環境DNA分析

各調査地点の表層から 1L 採水し、DNA の分解を抑制するために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。試料に含まれる魚類のミトコンドリア 12SrRNA の遺伝子を対象として、ユニバーサルプライマー MiFish により約 172 塩基対の領域を増幅後、次世代シーケンサーを用いて配列を決定し、データベースと照合することで魚種の検出を行った（図 1）。



写真 3 採水の様子

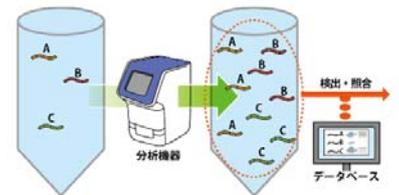


図 1 メタバーコーディング法

### 3. 結果

ワンド 34・35 全体で捕獲調査では 2 目 3 科 17 種の魚類が確認された。一方、次世代シーケンサーを用いた環境 DNA 分析では、4 目 6 科 24 種の魚種が検出された（表 1）。



写真 4 オオクチバス・ブルーギル

環境 DNA 分析でのみ確認された種は、ニホンウナギ、コイ、ゲンゴロウブナ、ヤリタナゴ、ハス、ナマズ、ヨシノボリ類、ゴクラクハゼ、ビリンゴ、カムルチーで夜行性の種、遊泳力が高い種、石の隙間に潜む種など日中の地引網では捕獲が難しい種が確認された。一方、捕獲調査でのみ確認された種は、ヨドゼゼラ、コウライモロコ、ウキゴリだった。

外来種の種数の割合については、環境 DNA 分析も捕獲調査も大きな違いはなく 2-3 割程度だった。

キーワード：環境 DNA、メタバーコーディング分析、捕獲調査、淀川、外来種駆除、モニタリング

連絡先：北海道札幌市北区北七条西一丁目 2 番地 6 パシフィックコンサルタンツ（株）TEL 011-700-5227

表1 採捕調査及び環境DNA分析による確認種

種和名	st.34		st.35	
	eDNA	捕獲	eDNA	捕獲
★ニホンウナギ			○	
★コイ	○		○	
★ゲンゴロウブナ	○		○	
フナ類	○	○	○	○
★ヤリタナゴ	○			
カネヒラ	○		○	○
イタセンバラ	○	○	○	○
シロヒレタビラ	○	○	○	○
タイリクバラタナゴ		○	○	○
★ハス			○	
オイカワ	○	○	○	○
モツゴ	○	○	○	○
ヒガイ類	○		○	○
タモロコ類	○	○	○	○
☆ヨドゼゼラ		○		○
カマツカ	○	○		○
ニゴイ類	○	○	○	○
☆コウライモロコ				○
★ナマズ	○			
ブルーギル	○	○	○	○
オオクチバス	○	○	○	○
ヌマチチブ	○	○	○	○
★ヨシノボリ類	○		○	
★ゴクラクハゼ			○	
☆ウキゴリ				○
★ピリンゴ			○	
★カマルチー	○		○	
種数合計	19	13	21	16
外来種	4	4	5	3
外来種の割合	21%	31%	24%	19%

注) 種名やリストの順番は河川水辺の国勢調査生物リストを参考とした。  
網掛け: 外来種、★: 環境DNAでのみ確認、☆: 捕獲のみで確認

4. 考察

1) 種の同定: 採捕調査では個体の外部形態で種の同定を行うため、フナ類等は近縁種での判断が困難である。環境DNAでも、ゲンゴロウブナが区別できた一方でその他のフナ類はMiFishでは分類されなかった。  
2) 量的な割合: 各調査地点における確認種の量的な割合について、環境DNAリード数を指標として比較した。また、捕獲個体数も参考に示した(図2)。両地点とも環境DNAリード数はフナ類が多かった。採捕調査では両ワンドとも2個体のみの確認であり、遊泳力があり地引網では捕獲されない個体が多いことが示唆された。イタセンバラもワンド34で2匹のみの捕獲であったが、環境DNAリード数はフナ類に次いで多かった。これは、今回の採水時期がイタセンバラの産卵期であったことが要因と考えられた。一方、モツゴやブルーギルは捕獲個体数も環境DNAリード数ともに多かった。捕獲されたブルーギルは当年生まれの小さい個体が大半であり、モツゴとともに遊泳力が低いことや主な生息場所である水際付近を地引網で曳いたため、捕獲されやすかったと考えられた。

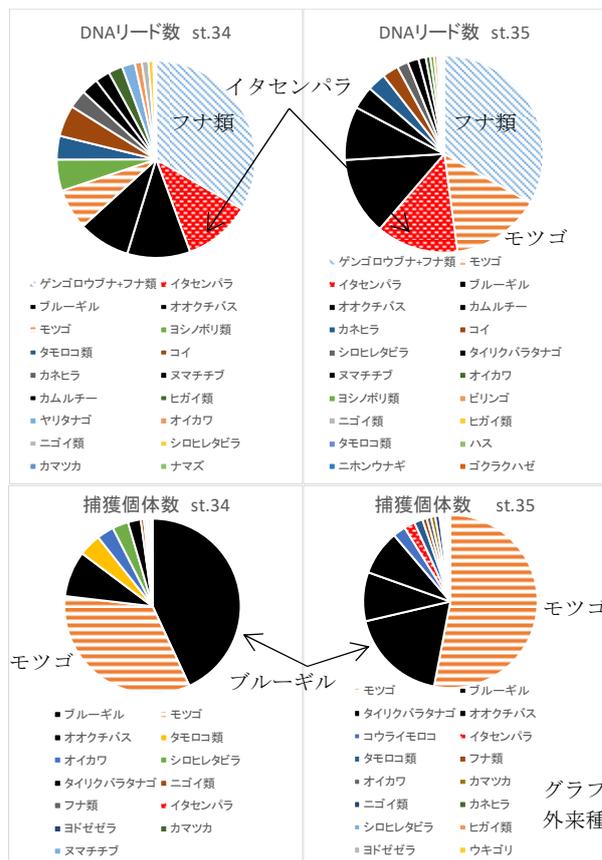


図2 環境DNAリード数及び捕獲個体数の割合

5. モニタリングへの活用に向けて

環境DNA分析では地引網では捕獲できない種も確認することができ、環境DNA分析と採捕調査を合わせて実施することで、より精度高い魚類相の把握ができると考えられた。種の同定に関しては、各種のDNA配列のデータベースの改善等が進んでいることから、将来的にはより精度が向上することが期待できる。また、定量的な把握に関しては、採水場所や時期、データ整理について、ワンドの多様な環境変化や各種の生活史を考慮した精査が必要であり、同じワンドでも複数地点での採水や季節を通じて両手法の比較を行い、環境DNAによる検出の傾向を分析することが今後の課題と考えられた。

謝辞: 採捕調査にご協力頂いた淀川水系イタセンバラ保全市民ネットワークに深く感謝します。

参考文献

1) 上月, 山本, 源, 鶴田, 内藤, 上原, 渡部 (2016) 環境DNA分析によるイタセンバラのモニタリング調査手法の検討, 土木学会第72回年次学術講演会 II-072  
2) 渡部, 帰山, 源, 上月, 土居ほか (2016) 環境DNA多種同時検出法(メタバーコーディング)による淡水域の魚類相調査—野洲川河口部ヨシ帯における調査事例— 土木学会第72回年次学術講演会 II-069