

環境 DNA を用いた外来種ウチダザリガニの分布特性の把握

○パシフィックコンサルタンツ株式会社 正会員
 兵庫県立大学大学院シミュレーション学研究所
 NPO法人環境把握推進ネットワークPEG
 パシフィックコンサルタンツ株式会社 正会員
 パシフィックコンサルタンツ株式会社
 北海道立総合研究機構水産研究部水産試験場

池田 幸資
 土居 秀幸
 照井 滋晴
 加藤 敦子
 三塚多佳志
 川井 唯史

1. はじめに

今日、世界中で4,600種以上の淡水動物が絶滅の危機に瀕しており、これは全淡水動物の25%以上の種に該当する。特に、人間活動の結果として生じる外来種の分布拡大は、世界中の生態系に対する深刻な脅威である。外来種は、生物群集と生態系にかく乱を引き起こす。外来種は我々が気づかないうちに、急速に分布域を拡大する。このため、外来種の定着と分布拡大を防ぐためには、外来種の早期発見と分布状況の継続的な監視が重要である。

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⁾。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把握することが可能である。

日本国内には、在来種のニホンザリガニ、外来種のウチダザリガニ及びアメリカザリガニの3種のザリガニ類が分布している²⁾。このうち、ウチダザリガニは、ニホンザリガニの生息する北海道において分布を拡大している。ウチダザリガニはニホンザリガニを捕食し、隠れ家を奪う。さらに、ウチダザリガニはニホンザリガニにとって致命的なザリガニペストと呼ばれる卵嚢菌を伝播する³⁾。このため、ニホンザリガニ及びウチダザリガニ両種の生息域の関係を把握することが重要である。

本稿では、阿寒湖に流入する河川において在来種のニホンザリガニと1970年代に阿寒湖に導入されたウチダザリガニ（図1）を対象とし、環境DNAと捕獲による分布調査を実施した。

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

寒町における阿寒湖に流入する河川で実施した。調査地は、道路がカルバート構造で河川を通過する22箇所の上流44地点とした。はじめに各調査地から環境DNA分析のため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。さらに、調査地の流速、水深、河床勾配、水温の計測を行った。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、試料水をガラス繊維フィルター（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（Qiagen）を用いてDNAを抽出し、ニホンザリガニ⁴⁾及びウチダザリガニ⁴⁾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）によりDNAを増幅し、ニホンザリガニ及びウチダザリガニの在不在の判定を行った。



図1 外来種ウチダザリガニ

3. 調査結果

調査の結果（図2）、ニホンザリガニは44地点中6地点で捕獲され、捕獲地点すべてにおいて環境DNAが検出された。全体で21地点の試料水からDNAが検出された。ウチダザリガニは44地点中18地点で捕獲され、捕獲地点すべてにおいて環境DNAが検出された。全体で40地点の試料水からDNAが検出された。捕獲調査、

キーワード：環境DNA、プライマー、ウチダザリガニ、外来種、主成分分析

発表者連絡先：北海道札幌市北区北7条西1丁目2番地6 TEL 011-700-5227、FAX 011-709-0628

環境DNAとともにニホンザリガニよりもウチダザリガニの確認地点が多かった。環境DNAが検出されなかった地点は、ニホンザリガニが21地点、ウチダザリガニが4地点であった。カルバートの上流と下流における環境DNAの検出結果は、ニホンザリガニが10地点と11地点、ウチダザリガニが19地点と21地点であり、両種とも落差の上下流で大きな差はなかった。

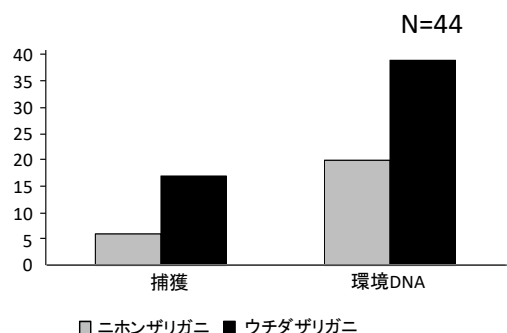


図2 捕獲調査と環境DNA調査における確認箇所数

44箇所で行った主成分分析（PCA）の結果、データセットの全分散の80.9%を説明する3つの軸が生成された。主成分1（PC1）は流速に関連する要因、主成分2（PC2）は勾配に関連する要因、主成分3（PC3）は水温に関連する要因と考えられた（図3）。PCAで座標付け（ordination）された44箇所のうち、ウチダザリガニとニホンザリガニはほぼ同じ範囲で確認された（図3）。ニホンザリガニが使用している生息地の最外郭ポリゴン（MCP）は、ウチダザリガニの最外郭ポリゴンに完全に含まれていた。

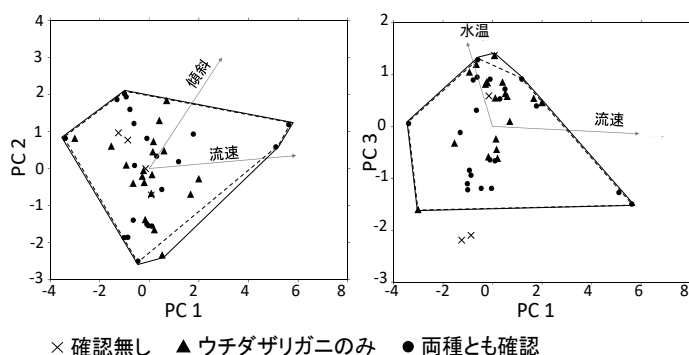


図3 主成分分析における確認地点の特性

4. 考察

河川水中のニホンザリガニ及びウチダザリガニの環境DNAの検出について試行し、個体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地点においても、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、ニホンザリガニで15地点、ウチダザリガニで22地点から環境DNAが検出された。この結果より、環境DNAを用いた調査は、捕獲手法と比較して、調査対象種の存在を広域的に把握でき、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手法として適していると考えられる。

ウチダザリガニとニホンザリガニは、類似した生息地で確認され、それらの生息地が多く場所で重複していることが示された。ウチダザリガニは、最初に導入された北海道東部で特に生息密度が高く、ニホンザリガニがウチダザリガニに完全に置き換えられた地域がある。調査方法は異なるが、本研究のデータと1999年の記録⁵⁾を比較したところ、いくつかの河川においてニホンザリガニがウチダザリガニに置き換えられたことが示された。継続的なモニタリングは、外来種の侵入による種の置き換わりの過程を把握するために重要であり、非侵襲的な環境DNAは、このような外来種のモニタリングに効果的である。

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) 川井唯史、中島歩 (2005) 外来種ウチダザリガニの移入とニホンザリガニの国内送付に関する情報. CANCER, 14, 23-33.
- 3) Usio N、中田和義、川井唯史、北野聡 (2007) 特定外来生物シグナルザリガニ (*Pacifastacus leniusculus*) の分布状況と防除の現状. 陸水学会誌, 68, 471-482.
- 4) Ikeda, K., Doi, H., Terui, S., Kato, A., Mitsuzuka, T., Kawai, T., and Junjiro N. Negishi (2019) Estimating native and invasive crayfish distributions in relation to culvert barriers with environmental DNA. Freshwater Science 38, 654-660.
- 5) Terui, S., and Tokuda, T. (2015) Animals living in the forest and waterside around Lake Akan. Hokkaido Herpetological Society, 26-31.