

## 環境 DNA 定量メタバーコーディング法を用いた流域網羅的な魚類多様性評価

山口大学	創成科学研究科	教授	正会員	赤松	良久
山口大学	創成科学研究科	助教 (特命)	正会員	○宮園	誠二
山口大学	創成科学研究科	准教授 (特命)	正会員	中尾	遼平
山口大学	社会建設工学科		非会員	平川	敬也
	日本工営株式会社	中央研究所	非会員	今村	史子
	日本工営株式会社	中央研究所	非会員	加藤	靖広

### 1. はじめに

河川における魚類多様性の減少が国内外で数多く報告されており、水系全体の多様性を把握し、保護・管理すべき河川区間の優先順位付けを行うことが、河川魚類の保全にとって重要となる。そのためには、河川本流から支流までを含めた流域の魚類多様性の空間分布を把握する必要がある。しかし、流域網羅的な河川の魚類多様性評価を行うためには多大な時間・労力が必要となるため、効率的な魚類多様性評価手法の開発が求められる。そこで、本研究では、中国地方の一級水系を対象とし、環境 DNA 定量メタバーコーディング法により算出した魚類の環境 DNA 濃度を基に、各水系の様々な空間スケールの魚類多様性 ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  多様性) を評価することを目的とした。

### 2. 方法

#### (1) 対象水系

本研究では、流域特性の異なる中国地方の二つの一級水系 (高津川, 高梁川) を対象とした (図-1)。高津川水系は、島根県鹿足郡吉賀町を水源とし日本海へと注ぐ、幹川流路延長 81km, 集水面積 1090km<sup>2</sup> の一級水系である。高梁川水系は、岡山・鳥取県境の花見山を水源とし瀬戸内海の水島灘へと注ぐ、幹川流路延長 111km, 集水面積 2670km<sup>2</sup> の一級水系である。また、高津川は本川にダムが存在していないのに対し、高梁川では本川・支川で複数のダムが存在している。さらに、各集水域の土地利用割合から (図-2)、高津川では森林割合が 90% を超えており、高梁川 (森林割合: 79.4%) よりも相対的に自然度が高いことがいえる。

#### (2) 魚類群集データ

キーワード 魚類多様性, 環境 DNA, 流水域, ホットスポット, qMiFish

連絡先 〒755-8611 山口県宇部市常盤台 2-16-1 機械・社建棟 7 階 B709 TEL0836-85-9339

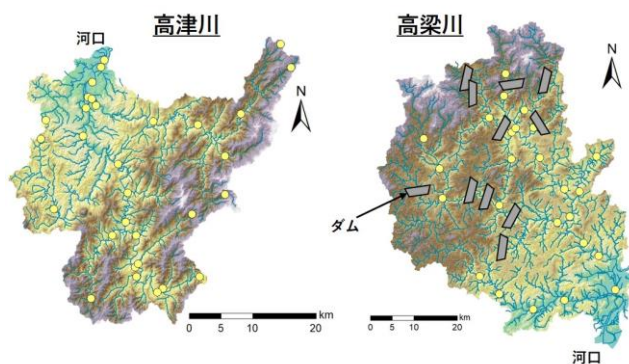


図-1 対象水系の調査地点

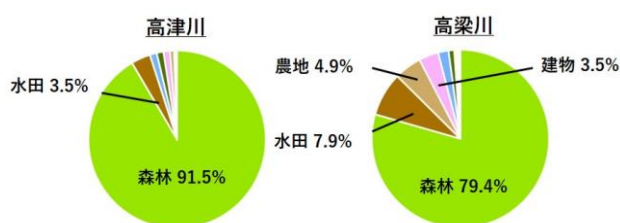


図-2 対象水系の土地利用割合

各水系の調査地点 (高津川: 31 地点, 高梁川: 25 地点) において環境 DNA 分析のための採水 (表層 1L) を行った。高津川では 2018 年 9 月 5 日~7 日, 高梁川では 2018 年 10 月 15 日~18 日に現地調査を行った。本研究では、環境 DNA 定量メタバーコーディング法 (qMiFish 法) により、各採水地点における魚類の環境 DNA 濃度を推定した。qMiFish 法とは、標準試料として既知濃度に調整した人工合成 DNA を PCR 反応液にあらかじめ添加することで、試料ごとに検量線を作成し、増幅された魚類のリード数をコピー数に変換することで魚類の環境 DNA 濃度を推定する分析手法である。本手法により、各魚種の環境 DNA 濃度を網羅的に推定でき、各魚類の質的な情報だけでなく量的な情報 (どのくらい多く存在するか) も考量した生物群集の網羅的・定量的な解析が可能となる。

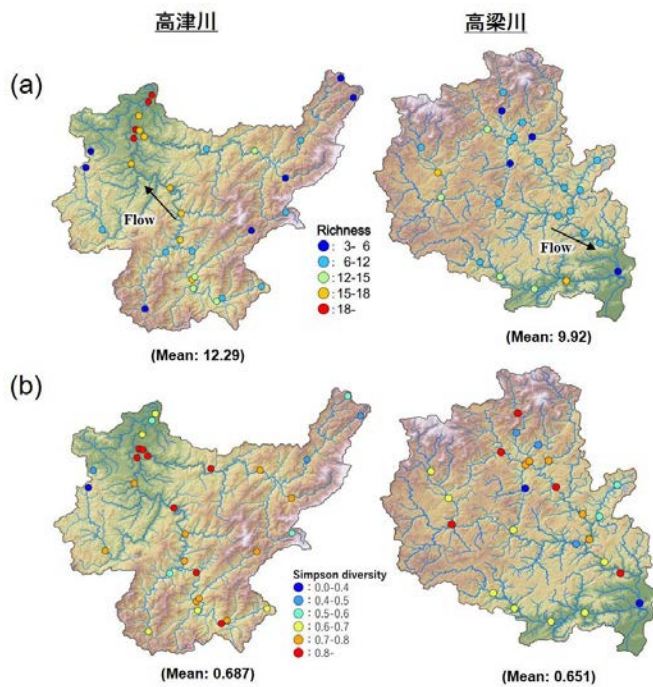


図-3 高津川と高梁川の $\alpha$ 多様性の比較  
(a) 種数, (b) Simpson index

### (3) データ解析

本研究では、様々な空間スケールで対象水系の魚類多様性を把握するために、対象水系間の $\alpha$ 多様性（地点内の多様性を示す指標）、 $\beta$ 多様性（地点間の魚類組成の違いを示す指標）、および $\gamma$ 多様性（流域全体の多様性を示す指標）を比較した。まず、各調査地点における魚類の $\alpha$ 多様性は、各調査地点の種数および多様度指数（Simpson index）により算出し、水系内および水系間で比較した。続いて、各水系の $\beta$ 多様性は、最下流地点から上流地点への魚類構成の変化を Bray-Curtis 類似度指数により算出した。そして、最下流地点から各調査地点までの河川距離と地点間の類似度指数との関係を correlation analysis により解析した。最後に、各流域の $\gamma$ 多様性を水系全体の種数および魚類多様度指数（Simpson index）により算出し、比較した。

### 3. 結果と考察

図-3 に、各水系における $\alpha$ 多様性（種数、Simpson index）の空間分布を示す。結果として、種数、Simpson index とともに高津川で相対的に高い傾向がみられた。図-4 に、各水系における最下流地点と各地点の魚類構成の違いを示す $\beta$ 多様性（Bray-Curtis）と最下流地点から各地点までの距離との関係についての散布図を示す。

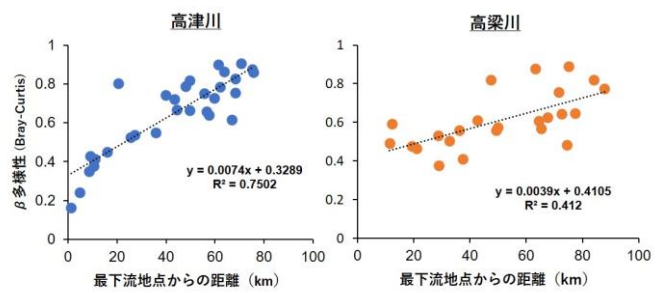


図-4  $\beta$ 多様性と最下流地点からの距離との関係

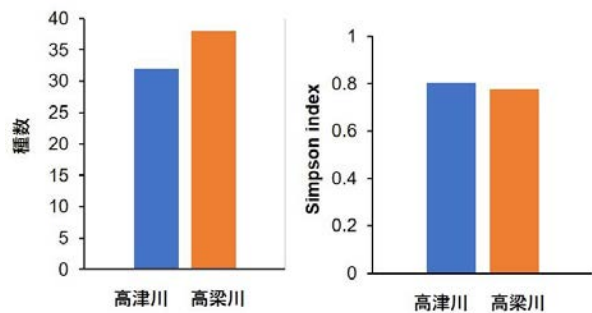


図-5 水系間の $\gamma$ 多様性の比較

近似直線の傾き（ $\beta$ 多様性の下流から上流への変化量）は、高津川の方が高梁川に比べて相対的に高い値を示した（図-4）。この結果から、高津川で下流から上流にかけての空間的な魚類構成の変化が高梁川よりも高いことが示唆された。 $\gamma$ 多様性については、魚種数の合計は高梁川が高津川よりも高かった（図-5）。これは、高津川よりも高梁川の方が、もともと存在していた魚類の種数が多い可能性が考えられる。対照的に、Simpson index は、高津川でわずかに高い値を示した。これは、Simpson index が、種数ではなく魚類の構成比に重みを置いていることが理由として考えられる。

### 4. 結論

本研究では、環境 DNA 定量メタバーコーディング法を用いて、流域特性の異なる二つの水系の様々な空間スケールの魚類多様性を評価した。その結果、自然度の高い高津川では、魚類の $\alpha$ 多様性（種数・多様度指数）が高梁川よりも高い傾向にあった。また、 $\beta$ 多様性においても、高津川の方が相対的に高く、魚類構成の空間的な多様性が高いことが示唆された。最後に、 $\gamma$ 多様性については、高梁川の種数が高津川よりも高かったものの、多様度指数においては高津川の方が相対的に高い傾向にあった。これらの結果から、様々な空間スケールにおいて、高津川水系の方が高梁川水系よりも、魚類の多様性が高いことが示唆された。