

環境 DNA 定量メタバーコーディング法を用いた河川魚類多様性に影響を与える環境要因の検討

山口大学	創成科学研究科	学生会員	○滝山	路人
山口大学	創成科学研究科	特命准教授	正会員	宮園 誠二
山口大学	創成科学研究科		学生会員	宮平 秀明
山口大学	創成科学研究科	特命准教授	正会員	中尾 遼平
山口大学	創成科学研究科	教授	正会員	赤松 良久

1. はじめに

国内外で河川における魚類多様性の減少が問題となっており，魚類の保全を効率的に行うための河川保護区間の優先順位付けが必要となる．そのために，流域網羅的に魚類多様性を評価する必要があるが，従来の直接観察手法（採捕調査等）は生物情報を収集するために多大な時間や労力を要する．本研究では，流域特性の異なる中国地方の5つの一級水系を対象に，効率的な生物モニタリング手法である環境 DNA 定量メタバーコーディング法（qMiseq 法）を用いて水系内および水系間の魚類多様性評価を行うとともに，魚類多様性と環境要因との関係を検討することを目的とした．

2. 方法

(1) 現地調査

調査は中国地方一級水系の佐波川，高津川，太田川，江の川，高梁川水系の5つの水系を対象とし．それぞれの水系で5月および6月に流域網羅的に環境 DNA 採水を実施した（図-1）．また，環境 DNA 採水地点において，設置型のロガーにより15分間隔で河川水温の連続観測を行った．水温データは採水日から前1か月間の平均水温を用いた．ロガーの流出およびデータ欠損が確認された地点は解析の対象地点から除外した．結果として，合計58地点の水温データが利用可能となり，魚類多様性と環境要因との関係の検討に用いた．

(2) 環境 DNA 分析

採水した試料は現地で分解阻害剤を添加後，クーラーボックスに氷とともに同封し，研究室に持ち帰った．持ち帰った水試料は①ろ過②環境 DNA の抽出③環境 DNA 分析の手順で分析を行った．環境 DNA 分析には種網羅的に魚類の環境 DNA 濃度を定量可能である，qMiSeq 法を用いて魚類の環境 DNA 濃度を定量した．

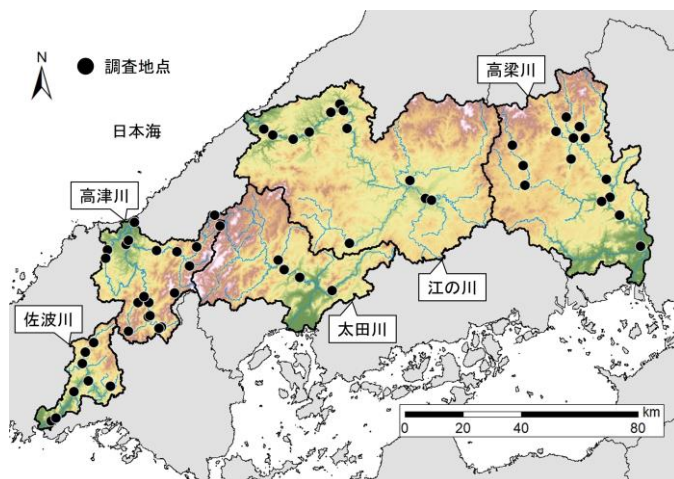


図-1 調査地点

(3) データ解析

qMiseq 法により得られた各魚種の環境 DNA 濃度を基に，各地点における魚類多様性を魚種数および Simpson 多様度指数により定量を行った．続いて，対象水系における魚類多様度指数と環境要因（水温，各地点における標高，採水地点上流1kmの河床勾配との関係）との関係を検討するために，一般化線形モデル(GLM)を用いた．標高および河床勾配は数値標高モデルを基に ArcGIS を用いて算出を行った．GLM では，歪度および尖度の値から分布は正規分布に従うものとし，リンク関数は identity とした．また，説明変数間の比較を可能にするため，説明変数の標準化を行った．モデル選択には AIC を用い， ΔAIC が2以下のモデルのみ検討を行った．魚類多様性の算出および GLM 解析には，統計ソフト R(ver4.2.3)および R のための統合開発環境である R-studio を用いた．

3. 結果と考察

図-2 に，各調査地点における魚種数を示し，図-3 に Simpson 多様度指数の空間分布を示す．各地点の魚種

キーワード 環境 DNA，魚類多様性，qMiSeq，河川水温，流域網羅，環境要因

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

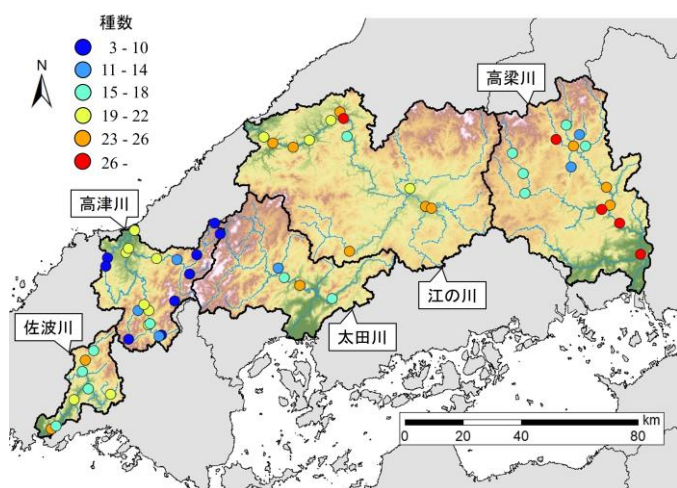


図-2 魚種数の空間分布

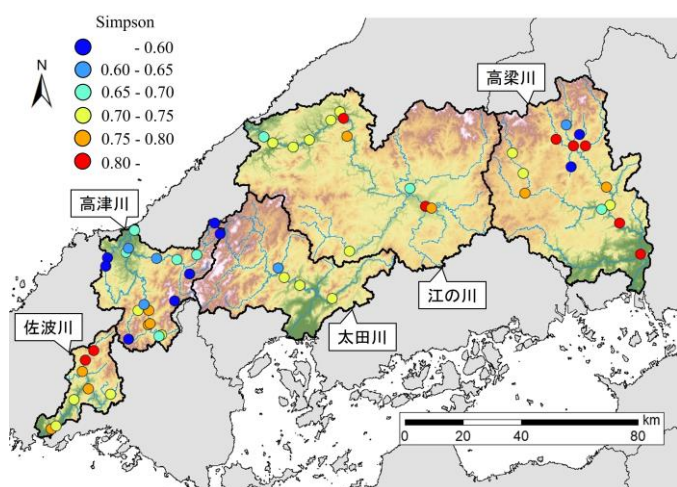


図-3 Simpson 多様度指数の空間分布

数は各水系の下流域で多い傾向がみられた。また、高梁川や江の川で魚種数が多いことが明らかとなり、生息場のスペースが広い下流や流域面積の大きい水系でより多くの魚種が生息可能であることが推察された。Simpson 多様度指数については、下流だけでなく上流においても魚類多様度が高い地点（佐波川、高梁川の上流域）が確認された。これは河川上流域では魚種数が少ないものの、魚種間の環境 DNA 濃度の偏りが少なく、多様度が高くなったと考えられる。

図-4 に魚類多様性と環境要因との関係を表す散布図を示し、表-1 に GLM で推定されたベストモデルの偏回帰係数を示す。なお、偏回帰係数の P 値が 0.05 以下のものを太字で示す。河床勾配は魚種数、多様度指数とともに顕著な相関がみられなかった。また、魚種数と標高との間に顕著な負の相関、河川水温との間に正の相関が確認された。標高が低い下流は河川水温が高い傾向があり、GLM のモデルにおいても河川下流部で魚種数が多いことが確認された。一方、Simpson 多様

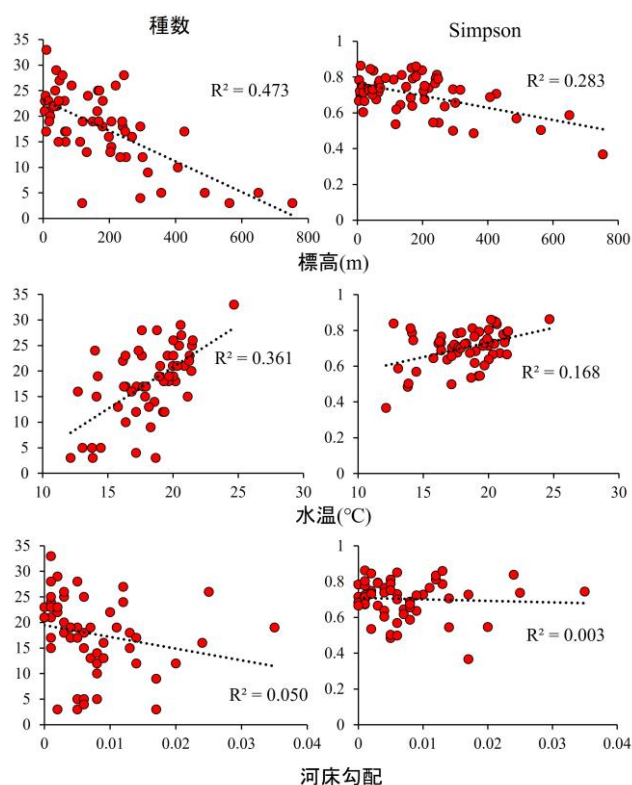


図-4 魚類多様性と環境要因との関係

表-1 GLM の結果 (太字 : $P < 0.05$)

	切片	標高	河床勾配	河川水温
種数	17.860	-3.661		2.268
Simpson	0.704	-0.050	0.023	0.024

度指数は標高との間に顕著な負の相関が確認されたが、水温との間には顕著な相関が確認されなかった。多様度指数と水温との間に相関がみられなかった要因として、水温の低い上流部にも魚類多様度の高い地点が複数存在していたことが考えられる。これらの結果から、魚種数は標高や水温の影響を強く受けることが明らかとなり、魚類多様度指数を用いることで他の環境要因が魚類多様性に関連していることが示唆された。

4. 結論

本研究では、qMiSeq 法により定量した魚類環境 DNA 濃度を用いて、5つの水系における魚類多様性の空間分布および環境要因との関係について検討を行った。その結果、魚種数は標高が低く、水温が高い下流で多くなる可能性が明らかとなった。さらに、多様度指数と環境要因との関係から、魚類多様性に他の環境要因が関連していることが示唆された。以上より、本手法を用いて広域における魚類多様性に影響する環境要因の推定が可能であることが明らかとなった。