

湿地環境におけるヘイケボタルの生活史段階による個体数と DNA 濃度の変動

東急建設株式会社 正会員 ○宇田川湧人 柴野一則 金内敦 内田拡輝

1. はじめに

多くの固有種や絶滅危惧種を含む多様な生物の生息地である里地里山の保全が課題となっており、「里地里山の保全と持続可能な利用」が「生物多様性国家戦略 2012-2020¹⁾」の重点政策の1つとして掲げられている。里地里山を代表する指標種としてヘイケボタルがあげられるが、生物多様性指標レポート²⁾でヘイケボタルの数が全国的に減少していることが示唆されている。筆者らはホタル保全活動の一環として、ヘイケボタルの生息地である神奈川県横浜市栄区内の谷戸に 2017 年 11 月に湿地を整備し、整備した湿地（以降、湿地）にてモニタリングとして 5 月から 7 月にかけてヘイケボタル成虫の飛翔個体数調査を行っている。また近年、生物調査の新たな手法として「環境 DNA 分析」が注目されている。環境 DNA 分析は水中などの環境中の生物由来の DNA を解析することで、そこに生息する生物種を調査することが可能な手法である。本稿では、湿地に生息するヘイケボタルを対象に環境 DNA 分析の手法の1つであるリアルタイム PCR による種特異的な検出および DNA 量の定量解析を実施し、ヘイケボタルの飛翔個体数調査と DNA 濃度の定量解析の結果からヘイケボタルの生活史段階による個体数と DNA 濃度について検証した。

2. 方法

湿地の飛翔個体数調査の調査ルートおよび環境 DNA の採水地点を図 1 に示す。飛翔個体数調査はルートセンサス調査の手法で実施し、図 1 に示す調査ルートを一定の速度で歩き、確認したヘイケボタルの個体数を記録した。飛翔個体数の調査は 2022 年 5 月から同年 7 月にかけてホタルの出現が活発になる日没後に実施した。

環境 DNA 分析の採水、ろ過、DNA の抽出および分析は「環境 DNA 調査・実験マニュアル」³⁾に基づき実施した。採水地点は図 1 に示すように、最下流部に No.1、中流部に No.2 および No.3、最上流部に No.4 を設定し、計 4 地点とした。採水時期はヘイケボタルの生活史を考慮して設定し、2022 年 6 月から 2023 年 2 月にかけて計 4 回実施した。分析は種特異的なプライマーと蛍光プローブの配列を設計し、各試料 4 回反復でリアルタイム PCR による種特異的な検出および DNA 量の定量解析を行った。



図 1 湿地の調査ルートおよび採水地点

3. 結果

ヘイケボタルの飛翔個体数調査の結果を図 2 に示す。ヘイケボタルの飛翔個体の確認数は 6 月 9 日（3 匹）から増加していき、ピークは 7 月 7 日（80 匹）であった。次に採水地点毎のヘイケボタルの DNA 濃度の定量解析結果を図 3 に示す。図 3 より全ての採水日において少なくとも 1 地点以上でヘイケボタルの DNA は検出され、採水時期や採水地点によって DNA 濃度が変動する結果となった。No.1 から No.3 の地点の DNA 濃度は 10 月 20 日が最も高い濃度となり、特に No.2 で高い DNA 濃度を示した。一方、No.4 の DNA 濃度は 7 月 22 日が最も高く、その他の採水日の DNA 濃度は他の採水地点よりも低いか、未検出となった。

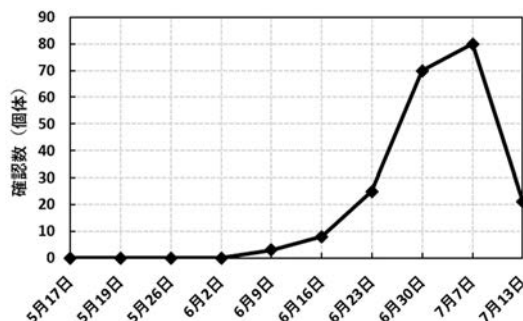


図 2 ヘイケボタル飛翔個体確認数の推移

キーワード：環境 DNA, 生物多様性, ホタル, DNA 量, 指標種, 生息環境

連絡先：〒150-8340 東京都渋谷区渋谷 1-16-14（渋谷地下鉄ビル）東急建設㈱環境技術部 TEL03-5466-5188

4. 考察

採水日や採水地点による DNA 濃度の変動について考察する。採水日による DNA 濃度の変動は、ヘイケボタルの生活史段階における湿地水中のヘイケボタル幼虫の個体数の変化に関係するものだと考えられる。図 4 に示すとおり、ヘイケボタルは生活史段階で生息場所が変化する生物であり、5 月中旬以降に上陸した幼虫は蛹化し、約 30 日後に羽化する。羽化した成虫は飛翔して、水際の苔や草に産卵する⁵⁾。なお、ヘイケボタルの生活史には地域差があると言われているが、図 2 のとおり湿地では 7 月 7 日前後がヘイケボタルの飛翔のピークであるため、幼虫の上陸から蛹化のピークは 6 月上旬であったと推定される。それゆえ、6 月 3 日から 7 月 22 日にかけて湿地水中に生息するヘイケボタル幼虫の個体数が減少し、湿地水中の DNA 量が減少したと考えられる。また、10 月 20 日に DNA 濃度が高くなった理由としては、孵化により湿地水中のヘイケボタル幼虫の個体数が増加し、加えて孵化したヘイケボタル幼虫が活発に活動したことで、湿地水中の DNA 量が増加したためだと考えられる。このようにヘイケボタルの DNA 濃度は、生活史段階の湿地水中の個体数の変化に伴って変動していることが推測された。また採水日によっては最下流地点の No.1 よりも上流側の No.2 から No.4 でより高い DNA 濃度が解析された。「環境 DNA 分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き」⁶⁾では、ため池における淡水魚類の効率的な DNA の採取地点として流出口周辺があげられているが、湿地内のヘイケボタルにおいては採水地点の環境条件の差異によって効率的に DNA を採取できる地点が異なる可能性がある。採水地点毎の DNA 濃度の違いの要因は流速や流量、地形などの形状、周辺の環境状況など様々な理由が考えられるが、DNA 濃度を変化させる具体的な環境条件については本稿の結果だけでは言及できないため、更なる調査・検証が必要であると考えられる。

5. まとめ

谷戸に整備した湿地にてヘイケボタルの飛翔個体数の調査と環境 DNA 分析を実施した結果、湿地におけるヘイケボタル成虫の飛翔のピークは 7 月初旬頃で、DNA 濃度は採水時期や採水地点によって変動することが確認できた。また、飛翔のピークから湿地に生息するヘイケボタルの生活史を推測し、DNA 濃度の変動について検証した。その結果、ヘイケボタルの環境 DNA 濃度は生活史段階における湿地水中のヘイケボタル幼虫の個体数の変化に伴って変動していることが推測された。採水地点毎の環境条件の差異が湿地で採取可能な DNA 濃度に影響を与えている可能性があり、今後 DNA 濃度を変化させる具体的な環境条件などについて、より詳細な調査・検証が必要だと考えられる。

参考文献

- 1) 環境省「生物多様性国家戦略 2012-2020」, 2012.9
- 2) 環境省「生物多様性指標レポート 2020」, 2022.3
- 3) 一般社団法人環境 DNA 学会：環境 DNA 調査・実験マニュアル Ver.2.2, p.12-60, 2020.4
- 4) 大場信義：ホタルにとって水田とその不随施設はどのような環境か?, 国立歴史民俗博物館研究報告 第 162 集, p.15, 2011.1
- 5) 大場信義：こころも育つ 図解ホタルの飼い方と観察, 株式会社ハート出版, p.102-106, 2012.5
- 6) 環境省「環境 DNA 分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き 改訂第 2 版」, p.16, 2022.6

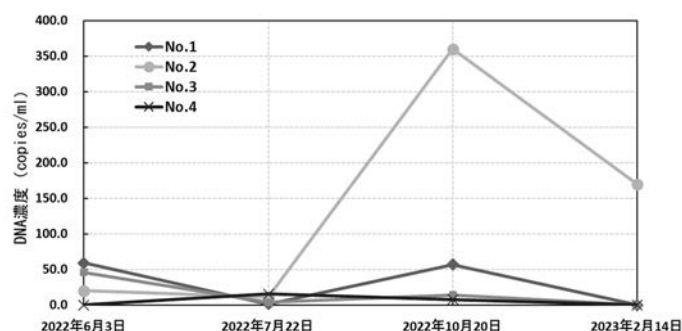


図 3 採水地点毎のヘイケボタルの DNA 濃度

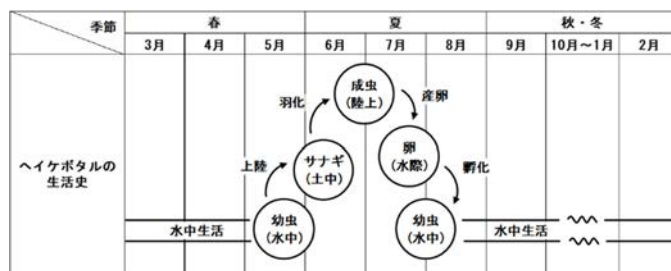


図 4 ヘイケボタルの生活史段階の生息場所⁴⁾