

環境 DNA によるホタルの生息地調査手法の検討

株式会社大林組 正会員 ○山本 縁, 正会員 寺井 学
正会員 相澤章仁, 洲崎 雄, 高森万貴
公財) 山梨県環境整備事業団 境川管理事務所 小林敬憲, 渡邊剛史

1. 目的

自然豊かな地域での道路建設や最終処分場等の開発において、周辺地域にホタルが生息している場合、その保全が求められる。ホタルの生息には、水辺に棲む餌となる巻貝や産卵場所、飛翔できる環境等が揃っている必要がある。このため、ホタルの生息地の保全や再生の取組みは、周辺環境の多様な生物への生息環境の創出に繋がる。ホタルの生息調査は、飛翔ホタルの夜間発光の観察が一般的で、時期、時間ともに限定的という課題ある。ホタルは幼虫として水の中で過ごす期間が長いことから、幼虫調査の実施も考えられる。しかし、その調査は、専門家による採捕調査が必要なため、全容把握には時間と労力がかかる。

そこで、季節を通じてモニタリングができ、また幼虫期の生育場を確認できる方法として、環境 DNA によるモニタリング手法を検討した。

2. ホタル飼育水による予備試験

検出に用いたプライマーは、NCBI に登録されている遺伝子配列情報と中部地方および関東で採取したホタルを用いて、ゲンジボタルとヘイケボタルのリアルタイム PCR 用プライマーを設計した。環境 DNA はホタルが生息している環境水から抽出するため、まずは、環境水から DNA を検出できるか、ホタルの飼育水を用いて予備試験で検証した。

写真 1 のように、ホタルを 2 日間飼育した飼育水(約 6 L)から 500 mL 採取し、リアルタイム PCR による定量結果と飼育水槽内のヘイケボタル数の関係を調査した。



写真1 ホタル幼虫の飼育の様子

図 1 に飼育水槽内のヘイケボタル数とリアルタイム PCR による定量結果を示す。多少のばらつきが生じていたが、DNA の検出量が高い試料はホタルの個体数も多い傾向にあり、相関関係が見られた。ホタルの個体数と遺伝子検出量にばらつきが生じた理由として、大きさに違いがあるホタルが水槽中に混在していたためと考えられる。以上の結果により、飼育水からホタルの DNA を検出できることを確認した。

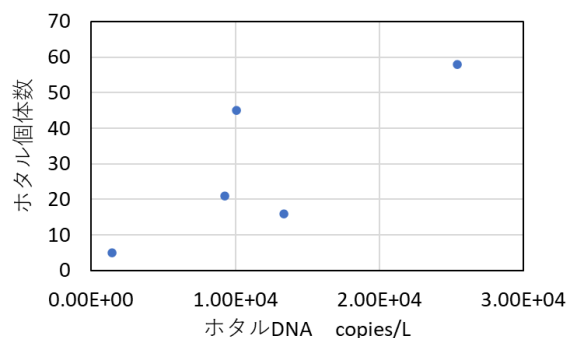


図1 ホタル個体数と PCR 定量結果の関係

3. ホタル生息地での屋外調査

山梨県笛吹市に 2018 年 11 月に竣工した一般廃棄物最終処分場の屋外で採取した環境水から、ホタルを検出できるか検証した。当処分場では、事業手続きにおいて、「ビオトープの計画・設計にあたっては当地の水辺環境の特性を活かした、生物多様性が高い内容とすること」といった知事意見が付され、事業区域内の 2 箇所にビオトープを整備した。整備後の調査で、ゲンジボタル及びヘイケボタルの飛翔が確認されている¹⁾。現地での飛翔時期はゲンジボタルが 5～6 月、ヘイケボタルが 6～7 月に観察される。

図 2 に調査場所の採水地点を示す。採水調査は、6 月、9 月、10 月、11 月の計 4 回実施した。下流のビオトープは、合流する河川に挟まれた半島状の開けた場所に造成した。上流ビオトープは、土石流対策の堰堤の上流側に現況を活かして、池、湿地、せせらぎ等を造成した。採水場所は下流ビオトープの源流側の地点①と、

キーワード ホタル, 環境 DNA, ビオトープ

連絡先 〒204-8558 東京都清瀬市下清戸 4-640 (株)大林組技術本部 技術研究所 TEL 042-495-1068

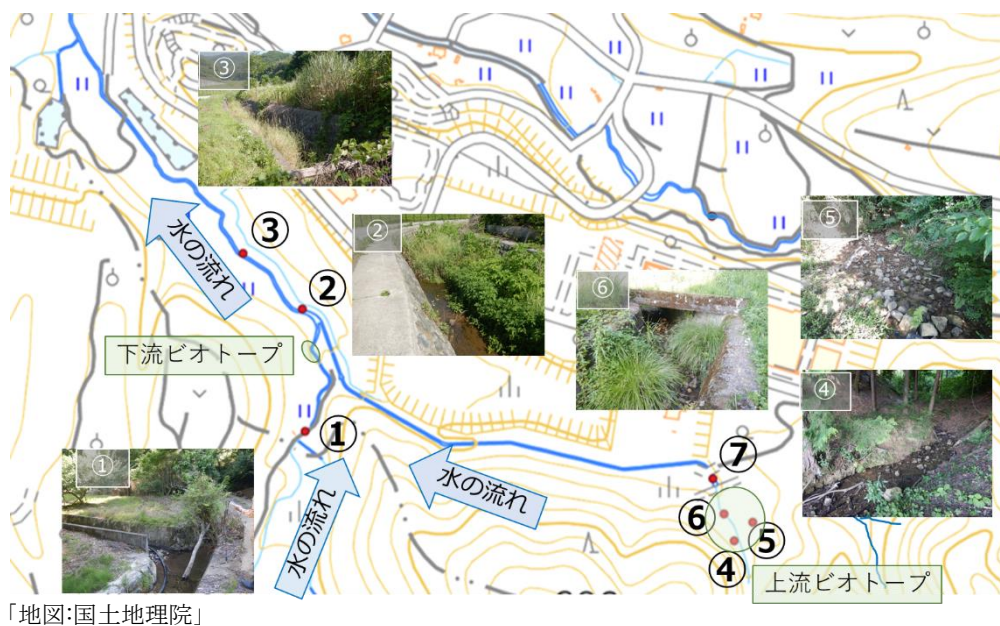


図2 ホタル生息地における採水調査地点

下流ビオトープの流末側の地点②, 地点③で実施した. 上流ビオトープは, その源流側の地点④と地点⑤, 及びその合流地点の地点⑥と上流ビオトープ全体の最終合流地点である地点⑦で実施した. 測定は, pH, 電気伝導度, リアルタイム PCR によるゲンジボタルとヘイケボタルの DNA 分析を実施した.

各地点の pH 値を図3に, 電気伝導度を図4に示す. 電気伝導度は 10~30 mS/m の間であり, 清澄な水であった. 地点①~③の電気伝導度は, 上流ビオトープ周辺と比較して高い値であった. その理由として, 水田や畑からの栄養塩が影響していると考えられる. また, 地点①~③は pH も幾分高い値を示しており, 上流のビオトープより植物プランクトンが生存していたと考えられる.

DNA のろ過, 抽出は, 環境 DNA 学会調査実験マニュアルに準拠して実施した²⁾. 図5にゲンジボタル, 図6にヘイケボタルの検出結果を示す. ゲンジボタルは, 地点①~③の下流ビオトープ周辺では頻度よく検出し, ゲンジボタルが多く生息していることが推察される. 上流ビオトープでは, 源流の地点④でゲンジボタルが検出された. その他, 合流地点の地点⑥と地点⑦でも 10月のみであるが検出した. 地点④付近では, ゲンジボタルの飛翔が観察されており, 上流ビオトープでは, 地点④周辺がゲンジの生息場所と考えられる.

ヘイケボタルは, 地点②で検出され生息場所と考えられる. 上流ビオトープでもヘイケボタルの飛翔が観察されていたが, 最終合流地点の地点⑦の6月のみ検出し, 上流ビオトープ内では検出しなかった. その理由として, 採水場所とヘイケボタルの生息場所が一致していなかった可能性が考えられる. 以上より, ①環境 DNA の利用によりゲンジボタルは生息を把握できる可能性があることを確認した. ②ヘイケボタルは下流ビオトープ周辺で検出した. 今後は, より精度よくモニタリングできるよう手法の確立を目指す.

謝辞 新座市役所地域活動推進課, 及び野火止ホタルの里を作る会のみなさまには, 試料の提供やご指導等, ご協力いただき大変ありがとうございました.

参考文献 1)寺井学, 相澤章仁, 他: 山梨県市町村総合事務所組合立一般廃棄物最終処分場におけるビオトープ整備, 土木学会第75回年次学術講演会, VII-38, 2020 2)環境 DNA 調査・実験マニュアル, 一社)環境 DNA 学会

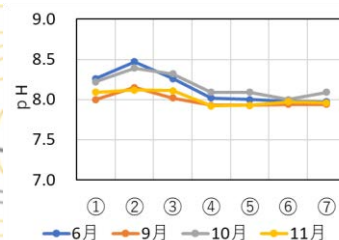


図3 各地点の pH 値

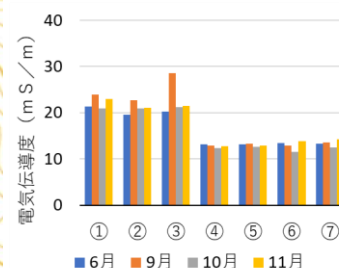


図4 各地点の電気伝導度

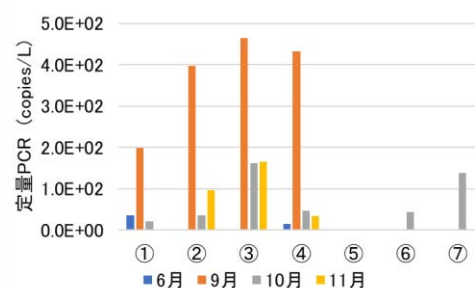


図5 ゲンジボタルの PCR 検出結果

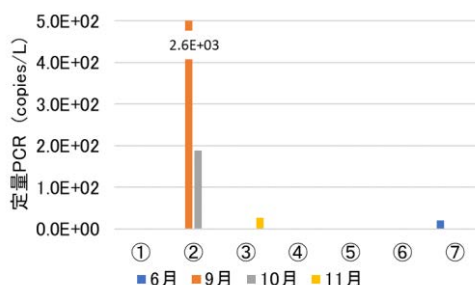


図6 ヘイケボタルの PCR 検出結果