

環境 DNA による河川魚類相の推定と適合度に関する研究

(独) 国立高専機構 岐阜工業高等専門学校 学生会員 ○棚橋 悠希

(独) 国立高専機構 岐阜工業高等専門学校 正会員 和田 清

1. はじめに

近年、河川改修工事等の人的要因により縦断的連続性が損なわれ、魚類生息場の減少が危惧されている。そのため河川横断構造物が縦断的連続性に与える影響の調査や、生態系保全のために水生生物の生息状況を把握し、河川環境の評価を行なうことが必要である。一般に採捕調査が用いられているが、多くの時間と労力を必要とし、採捕による水生生物調査では存在証明ができるものの、現存する全ての水生生物の把握は困難である。そこで本研究では、環境 DNA による定量分析と魚類採捕調査結果を比較し、存・不在のみならず適合度を検討して、魚類採捕調査を補完する手法としての環境 DNA 分析が生息場の保全流域の絞り込み等への適応性を検討することを目的とする。

2. 研究方法

2.1 対象河川および生物調査： 対象は、横断構造物(魚道、堰)を含む牧田川、白川、伊自良川、長護寺川の 4 河川である。魚道調査は 2019 年 10 月 23~24 日、牧田川中流部に位置する田村頭首工魚道(大垣市)、下流部の鴻ノ巣頭首工魚道、白川の白川魚道(中津川市)の 3 箇所において、魚類採捕調査と環境 DNA 分析を実施した。支川と本川の合流部が存在する伊自良川(岐阜市)は 11 月 30 日、長護寺川(瑞穂市)では 12 月 7 日に魚類および水生生物調査を行ない、環境 DNA 分析を実施した。

田村頭首工魚道と白川魚道では、岐阜県自然共生工法研究会により行われた魚道モニタリング調査(10 月 23~24 日)で魚道カルテによる機能評価の他に、タモ網等を用いた簡易的な魚類採捕調査が行われた。調査位置については魚道機能の確認のため魚道上流側、魚道内、魚道下流側での採捕を行なった。伊自良川では 1km の調査対象区間を A~D の 4 つに分割し、それぞれの区間でタモ網を用いて水生生物の採捕、長護寺川についても同様にそれぞれの区間でタモ網を用いた採捕が実施された。

2.2 メタバーコーディング解析： 河川水中に生息している生物由来の DNA 断片を採取・分析することにより、生物の存・不在や生物量、個体数、遺伝情報などのデータを得ることができる。環境 DNA 分析では、採水した 1ℓ のサンプル水をフィルター濾過(0.22~0.7μm)し、フィルターに残った物質から DNA を抽出する。その後、網羅的な魚種の把握が可能となるメタバーコーディング解析を用いる。この解析方法は、分析結果に対し解析対象領域(MiFish)をターゲットとしてライブラリー作製(PCR)を行ない DNA の部分配列を増幅させる。その後次世代シーケンサーを用いてシーケンシング解析による塩基配列を決定したのち、データベース配列と比較し、生物種の推定を行なう方法である。本研究では、対象場所のそれぞれの地点で採水を行ない、得られたサンプル水に殺菌処理を施し、冷蔵し分析依頼した。その際、より正確なデータを得るため、PCR を標準の 4 反復から 8 反復へ倍増し、DNA コピー数の算定が可能な定量解析についても同時に実施した。なお、採水場所において流速が速い箇所では魚類の DNA 断片が滞留せず、上手く補足できないため、滞留しやすい比較的緩流域を選定した。

3. 結果および考察

牧田川(田村頭首工魚道、鴻ノ巣頭首工魚道)と白川(白川魚道)での魚類採捕調査結果と環境 DNA 分析結果を図-1、図-2 に示す。分析結果より、各サンプルリード数が多く、データベース配列との相関性が高いデータほど信頼度も高くなるため、各サンプルリード数のうち相関性が高い魚種上位 2 種までを記載している。図-1、図-2 より魚類採捕調査で確認された魚種は全て環境 DNA 分析により検出された(適合度:100%)。また、どちらも環境 DNA 分析が魚類採捕調査結果よりも多くの魚種(希少種を含む)を検出する結果となった。これは、対象場所に多く生息しているものの採捕されず確認できなかった魚種や、個体数が少なく採捕が困難である希少種に対して、生息の有無を把握する手段として環境 DNA 分析が有効であることを示唆している。詳細に見ると、牧田川では、田村魚道のみでアマゴやヤマメなどの冷水性の溪流魚の環境 DNA が検出され、鴻ノ巣魚道では底生魚(アジメドジョウ)が多く検出されるなど、同

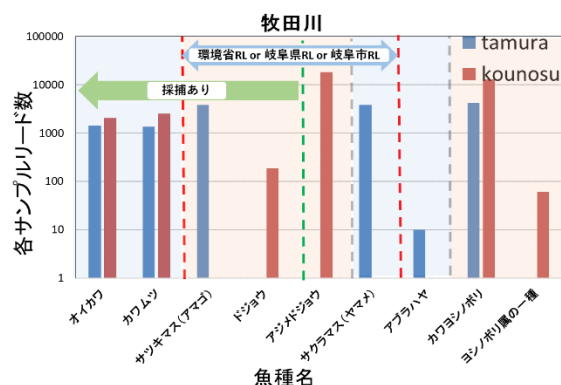


図-1 環境 DNA 分析結果 (田村魚道)

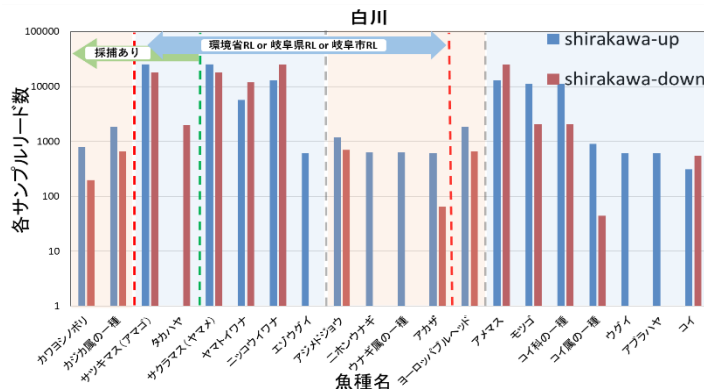


図-2 環境 DNA 分析結果 (白川魚道)



図-3 水生生物調査場所

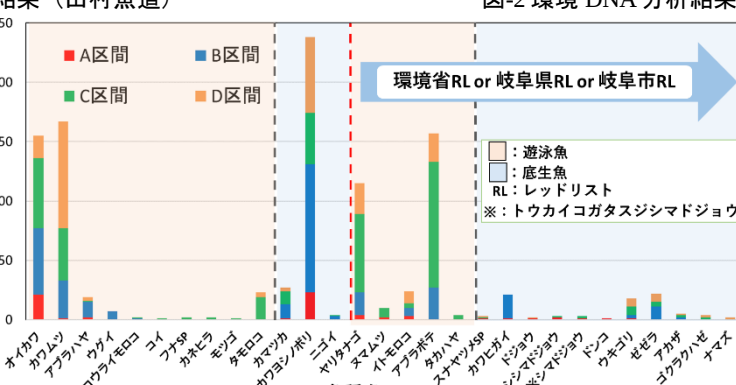


図-4 魚類採捕調査結果 (伊自良川)

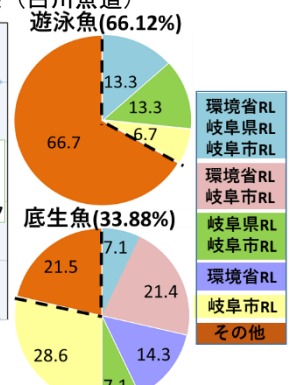


図-5 希少種の割合

一河川の中流部と下流部では 5km 以上離れており魚類相の違いが見られた。白川では、牧田川に比べて多くの魚種が環境 DNA 分析により推定される結果となった(希少種:アジメドジョウ, アカザ)。これは白川では流域の影響を強く受けているため、潜在的に生息している魚種が多く存在している可能性を示唆している。また、外来種(ヨーロッパバルヘッド)のリード数が多く、魚道の上流と下流側で検出されており、外来種が河川に侵入し繁殖している可能性がある。一方、本州以北のアメマスやエゾウグイなどの圏域外の魚種が推定されており、PCR や塩基配列決定の際の誤差などが考えられる。このように環境 DNA 分析のみで検出された魚種に対する信頼度は低いため、魚類相を正確に把握するには、対象河川における過去の魚類調査結果を踏まえて、対象魚種を特定した種特異的解析による系統的環境 DNA 分析結果を比較検討することなどによって検証する必要があると考えられる。図-3 は伊自良川における調査場所を示したものであり、区間長は全体で 1km、区間を通して河川環境の変化が比較的単調である。A 区間と B 区間には転倒型の取水堰が設置されており、灌漑期は取水堰により魚類が遡上しにくい状況であるが、非灌漑期は取水堰は転倒しており、魚類遡上の分断の影響は小さいものと推定される。図-4 は、魚類採捕結果について、魚種と個体数を希少種(環境省レッドリスト:RL, 岐阜県 RL、岐阜市 RL)を含めて示したものである。また、図-5 は遊泳魚と底生魚の個体数の割合を示したものである。同図から、希少種が遊泳魚に占める割合は、33.3%(優占種:アブラボテ, ヤリタナゴ), 底生魚は 78.5%(優占種:カワヒガイ, ゼゼラ, ウキゴリ)であり、希少種の魚種数が比較的多く確認されているため、調査区間では魚類等の生息場としてかなり良好な環境であることが示唆される。希少種の生息場の保全については、生息場の適性により存・不在や個体数が大きく左右されるため、環境 DNA 分析結果が採捕調査を補完する手法としての有効性については、伊自良川と長護寺川の環境 DNA 分析の結果に基づき講演時に行なう。

4. まとめ

以上、環境 DNA データから、DNA コピー数に比例した生息量の推定を行ない、魚類採捕による調査結果と比較して、魚種の適合率、整合性を検討した。結果的に採捕により得られる魚種は環境 DNA から検出された上、採捕で確認されなかった希少種等についても検出されたため、魚類調査を補完し魚類の生息状況を把握する手法として環境 DNA 分析が有効であることが明らかとなった。

【謝辞】 本研究の魚類調査において、岐阜県岐阜土木事務所河川砂防課、岐阜県自然共生工法研究会、寺町茂氏等のご協力を得た。最後に記して謝意を表します。