

環境 DNA による河川魚類相の適合度に関する研究

—岐阜県長良川水系の伊自良川・長護寺川について—

(独) 国立高専機構 岐阜工業高等専門学校 学生会員 ○栗山右伍

(独) 国立高専機構 岐阜工業高等専門学校 正会員 和田 清

水圏域環境研究会 寺町 茂

(株) 興栄コンサルタント 技術第一部 平田 亨

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)を含む岐阜県内の伊自良川、長護寺川の 2 河川である。支川と本川の合流部が存在する伊自良川(岐阜市)は 2019 年 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。なお、両河川における魚類採捕調査は継続的に年 2~4 回行われており、2020 年 12 月の調査についても環境 DNA 分析を実施している。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

図-1 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-2 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-3 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、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。

図-4 は、伊自良川と長護寺川における魚類調査(個体数)と環境 DNA 分析で得られたリード数の関係を示したものである。なお、伊自良川の魚類数は 29 種 1042 尾、長護寺川は 24 種 1137 尾であり、リード数の縦軸は対数表示としている。また、環境 DNA による種の同定ができない場合は第 2 次解析を行った。両者の対応関係により適合度を解析すると、伊自良川の場合、第 1 次解析 19 種、適合率 62.1%、第 2 次解析 17 種、適合率 58.6%となり、これらを合わせ



図-1 水生生物調査場所

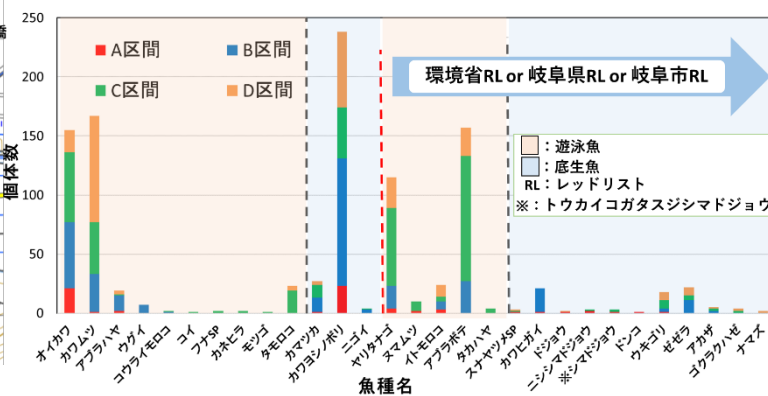


図-2 魚類採捕調査結果（伊自良川）

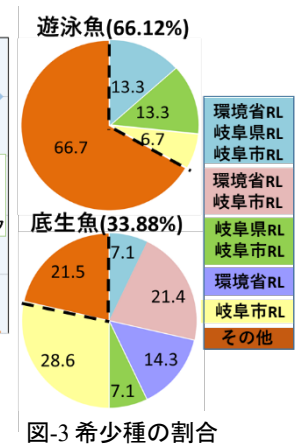


図-3 希少種の割合

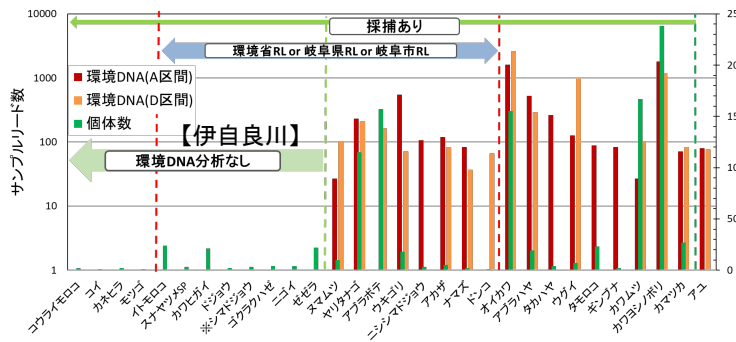


図-4 魚類個体数とリード数の関係（適合度）

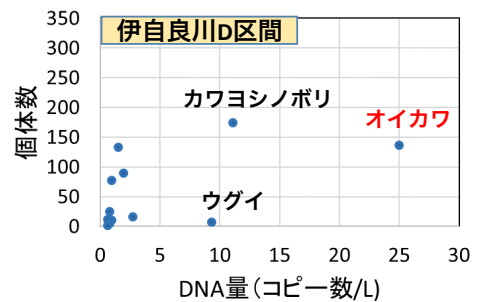
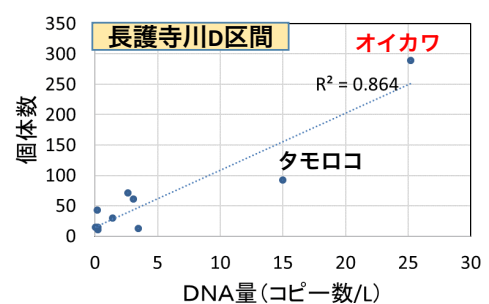
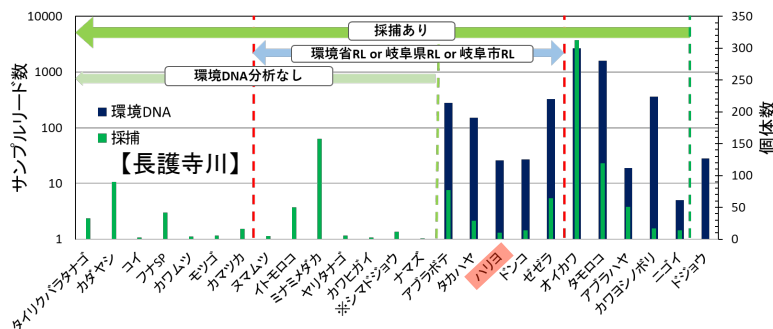


図-5 魚類個体数とDNA量



た 19 種の合計適合率は 65.5%となる。一方、長護寺川の場合には、第 1 次解析 18 種、適合率 62.5%，第 2 次解析 11 種、適合率 41.7%となり、これらを合わせた 22 種の合計適合率 66.7%が得られた。図-4 からわかるように、魚種の個体数とリード数の大小関係は、伊自良川において対応関係が見出せる。このことから、比較的多く採捕された魚類と DNA 量の関係を示したものが図-5 である。同図から、伊自良川で多く採捕されたヨシノボリ(底生魚)については相関関係は見出しにくい。一方、長護寺川では両者の相関関係は比較的高いことがうかがえる。両河川の共通点は、遊泳魚オイカワの個体数と DNA 量の関係には相関関係があることがわかる。なお、長護寺川では、貴重種ハリヨの生息が確認されており、個体数がきわめて少ないにも関わらず環境 DNA のリード数も比較的高い値を示している。

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における環境 DNA 分析の結果を今年度も継続しており、その結果については講演時に行なう。

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、整合性等を検討した。採捕調査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。今後、特異的解析による希少種ハリヨなどの生息場保全のモニタリングや具体的な河川改修工法の提案に向けた調査を実施する予定である。

【謝辞】 本研究は、科学研究費基盤研究 C(課題番号 19K04627)の助成を得た。最後に記して謝意を表します。