

## 環境 DNA メタバーコーディング法と直接捕獲から得た河川棲魚類相調査結果の比較

芝田 直樹

Naoki SHIBATA

環境ソリューション工学専攻修士課程 1年

### 1. はじめに

私は2017年9月15日から18日に北海道大学函館キャンパスで開催された、第50回魚類学会年會に参加し、「環境 DNA メタバーコーディング法と直接捕獲から得た河川棲魚類相調査結果の比較」という題目でポスター発表を行った。

### 2. 発表内容

#### 2.1 研究背景

地球上には様々な生物が生息している。だが、人為的な影響による種多様性の減少は著しい。そして生物多様性を保全・維持する上で定期的な生物調査は必要不可欠とされる。一般的な魚類相調査では、水辺の環境条件や水の濁りにより、生息の有無や移動分散による分布変化の把握が困難であることが多い。また、手網や投網、底引き網、電気ショッカーなどの調査手法では、生息地の攪乱によって対象種以外への多大な影響が懸念されるほか、捕獲種に対しても侵襲的であることが生物多様性の保全を考える上で課題となっている。こういった調査手法的課題を解決しうる生物検出法として、近年、環境水中に含まれる生物相由来の DNA（環境 DNA）を次世代シーケンサーで網羅的に解読し、対象地点の生物相、多くの研究では魚類相を明らかとする環境 DNA メタバーコーディング法が発展してきている。この手法の調査地点での作業は採水のみであることから、一般的な手法と比較し、簡便かつ調査者の労力を抑えられ、経験によるデータの質のばらつきを抑えられる点、それに伴い、広域な魚類相調査が可能となる点が主な利点として挙げられる。だが、実

際に調査地に生息する魚類を捕獲しているわけではないため、本当に対象地点に魚類が生息しているかどうかは、捕獲するまで不明である。

そこで、本研究では滋賀県内の河川で魚類の DNA を増幅する MiFish ユニバーサルプライマーを用いて、実施した魚類相のメタバーコーディングの結果と、その調査地内で行った直接捕獲の結果との整合性を確認することで、環境 DNA メタバーコーディング法の淡水域における魚類相調査への適応の有用性と河川での実用例を示すことを目的とした。

#### 2.2 方法

日野川水系佐久良川の中流域に約 200 m の調査区画を設け、区画の上流端および下流端にて、河川横断方向にそれぞれ 3 か所ずつ表層水を 500 mL 採水した。採水後、調査区画内に生息する魚類を約 120 人で可能な限り捕獲し、魚類相データを得た。調査で得た水試料は調査地にて速やかに濾過を行い、実験室にてフィルターから環境 DNA 試料を抽出した。MiFish ユニバーサルプライマーを用いたメタバーコーディングによって試料を分析し、得られた各地点の魚類相データと、直接捕獲で得られた魚類の種組成データとの比較をおこなった。また、対象としている DNA 領域に種間で明瞭な差が無い場合、個々の種として判別不可能であったため、複合種として定義した。

#### 2.3 結果

環境 DNA 分析による魚類の検出数は 5 複合種と 23 種、直接捕獲で捕獲された種数は 20 種であった。各手法で捕獲検出された種数を合わせると合計 5 複合種と 31 種となった。直接捕獲で捕獲された 20 種のうち、90% にあたる 18 種が環境 DNA 分析でも検出された。環境 DNA 分析のみで検出された種は 11 種確認された。そのうち、2005 年から 2016 年（2009 年を除く）の同時期に同所で実施されている本研究と同様の捕獲調査における捕獲種と一致

した種が1複合種と5種確認された。

## 2.4 考察

今回実施した河川調査では、両手法によって調査地に生息する多くの種を捕獲・検出する事が出来た。今回行った直接捕獲による捕獲種と環境 DNA メタバーコーディング分析による検出種の一致率が90%であったことは、この分析手法の検出能力の高さを示唆するものとなった。また、過去の捕獲調査の種組成データと照合した結果、環境 DNA メタバーコーディング分析によってのみ検出された種が過去にも捕獲されていた。このことは、今回の捕獲調査では捕獲されなかったが、調査区画付近に生息している可能性が高い種を検出する事が出来たと推測できる。今後の展望として、短時間・低労力で調査できる環境 DNA 分析の利点を生かし、一般的では難しいとされる、広範囲かつ網羅的な魚類相の継続調査への適用、保全対象種・希少種の生息分布の確認や生物モニタリング調査の対象地選定ツールとして活用されることが期待される。

## 3. おわりに

前回の生態学会の発表に続き、今回の魚類学会は2回目のポスター発表となった。昨年度に岐阜県で

開催されていた同会では聴衆する側の立場であったため、発表する側の立場はとても新鮮であった。また、生態学会は生物全体を対象とした学会であるが、魚類学会は魚類の専門家が多く、前回と比較してより専門的な意見をいただくことができた。最後に、研究や学会発表に関して、ご指導いただきました山中裕樹講師、佐藤博俊博士、辻冨月さん、所属する研究室の皆様、調査に協力していただいた蒲生野考現倶楽部様にこの場を借りて深く御礼申し上げます。

