

環境 DNA 分析における 採水場所の違いが 魚類種組成データに与える影響

渡 邊 和 希

Kazuki WATANABE

環境ソリューション工学専攻修士課程 2018 年度修了

1. はじめに

私は 2019 年 3 月 15 日から 19 日に神戸国際会議場・神戸国際展示場で開催された、第 66 回日本生態学会大会に参加し「環境 DNA 分析における採水場所の違いが魚類種組成データに与える影響 (Effect of the spatial arrangement of water sampling sites on the results of environmental DNA metabarcoding of fish species)」という研究タイトルでポスター発表を行った。

2. 研究内容

2.1 研究背景・目的

環境 DNA 分析は、環境水に含まれる DNA を分析し水生生物の生息現況を評価することができる手法として注目されている。その中でも次世代シーケンサーを用いた環境 DNA メタバーコーディング法は、水試料のみから魚類の種組成を網羅的に明らかにできる強みがある (Thomsen *et al.* 2015)。

従来より一般的な手法として、網などの漁具を用いた捕獲調査手法や電気ショッカーなどが用いられる。しかし、これらの手法は、直接的に生物へ影響を与えてしまうといった問題があるため、絶滅危惧種や希少種のような個体数が少ない種には適用しがたい面があり、さらには漁具を扱う技術量や熟練度によって、結果が大きく左右されるうえ、形態学的特徴に基づいて行われる同定作業には高度な専門知識が必要不可欠となる (Simpfendorfer *et al.* 2016)。

一方、環境 DNA 分析は現地での調査は水を汲むだけであり、調査努力量を大幅に削減でき、生態系に直接的な影響を与えないといったメリットがある

手法である (Sigsgaard *et al.* 2015)。

採水作業を行うために採水地点を設定する必要があるが、制限なしに採水地点を増やすことは困難なため、採水する地点をあらかじめ絞り込む必要がある。しかし、まだその配置や数についてのコンセンサスは得られていない。例えば河川の場合、流心の他に溜まりやワンドなど様々な水塊が存在し、その違いによって生息する魚種も異なることが考えられる。

ここで、本研究では、川幅約 25 m の小規模河川の約 1 km に渡る流程内において流心および溜まり・ワンドから採水し、環境 DNA 分析による検出種の比較を行った。また、採水地点数の増加が検出種数に及ぼす影響を評価するために、流心において採水地点数を 50 m 間隔で増やし、地点ごとに検出される種組成の違いを評価した。

2.2 現地調査

兵庫県加古川市にある草谷川で調査を行った。草谷川は川幅約 25 m ほどの小規模河川である。

約 1 km の範囲を調査区間として設定し、①流心、②ワンド・溜まりに採水地点を設定した。流心は、約 50 m 間隔で採水を行った。採水作業は、①プラスチックカップ、②UAV、③採水機 (手作り) を用いて行った。プラスチックカップでは採水できない場所 (人が立ち入ることができない場所) は UAV を用いて採水し、植生の影響で UAV による採水が困難な場所は採水機を用いた。採水した直後にフィルターで濾過を行い、一時的に冷凍で保存した。その後、実験室にてフィルターからの DNA 抽出作業を行い、PCR 作業によって DNA を増幅させた。

2.3 流心、ワンド・溜まりにおける検出種の違い

メタバーコーディングを行い、流心での検出種およびワンド・溜まりの検出種を比較した。結果、ワンド・溜まりにおける検出種は、流心でも全て検出することができた。

よって、草谷川のような小規模河川では、採水地点を水塊ごとに設定する必要性は低いことが示唆された。

2.4 採水地点数の増加が検出種数に及ぼす影響

流心約 50 m 間隔で採水地点を増やし、地点ごとに検出された種組成の非類似度と地理的距離（採水地点距離）の相関を求めた。結果、0 m から約 100 m までは、種組成の非類似度と地理的距離の間に有意な正の相関がみられたが、約 200 m 以降の地点では有意な相関がみられず、種組成の違いが頭打ちになることが示唆された。

よって、約 1 km の範囲内であれば約 200 m の距離（50 m 間隔で 4 回の採水）で、魚類相をおおむね把握できることが示唆された。

3. まとめ

本研究より、草谷川のような河川規模であれば、流心での採水で魚類相をおおむね把握でき、採水地点を細かく設定する必要性は低いことが示唆された。また、約 1 km の範囲内であれば約 200 m 毎に採水することで種組成をほぼ把握することができ、大量に採水地点を設定する必要性は低いことが示唆された。

本研究は小規模な河川を対象とした予備的研究で

あるため、今後は、水塊の区分をさらに詳細にすることや、中規模および大規模な河川で調査を行う必要があると考えられる。

4. おわりに

学会では発表を通して様々な意見を頂くことができました。また、今後の学会でも有意義な時間を過ごせるように、より一層研究に励みたいと思います。最後に、研究や学会発表に関して指導していただきました共同研究者の皆様へ深く感謝いたします。

引用文献

- Sigsgaard, E. E, Henrik Carl, Møller, P. R, Philip Francis Thomsen (2015). Monitoring the near-extinct European weather loach in Denmark based on environmental DNA from water samples. *Biological Conservation*, 183 46-52.
- Colin A. Simpfendorfer, Peter M. Kyne, Tansyn H. Noble, Julie Goldsbury, Rose K. Basiita, Rob Lindsay, Amos Shields, Camillus Perry, Dean R. Jerry (2016). Environmental DNA detects Critically Endangered largemouth sawfish in the wild. *Endangered Species Research*, 30 109-116.
- Philip Francis Thomsen, Eske Willerslev (2015). Environmental DNA-An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, 183, 4-18.