

Point

相模川水系において、魚類を対象とした環境DNAによる調査を行いました。従来の採捕によるモニタリング調査との結果を比較した結果、環境DNA調査は魚類相の把握において、採捕調査と同程度の精度であることが確認されました。

環境DNA調査による魚類相の網羅的把握

国土環境研究所 生態解析部、環境創造研究所 遺伝子解析室

※本調査は、神奈川県環境科学センターの協力により実施しました。

はじめに

神奈川県では、水源林の涵養機能の低下、ダム湖の富栄養化の進行など水源環境の悪化が懸念されており、「かながわ水源環境保全・再生施策大綱(2005年度)」に基づき、良質な水を安定的に確保するための施策を実施しています。

当社では、神奈川県環境科学センターより委託を受け、相模川水系において動植物の生息状況および水質を定期的にモニタリングしています。魚類を対象とした調査では、数種類の網や専用漁具を組み合わせた採捕が一般的な手法ですが、調査員の技術の差により結果にばらつきが出たり、採捕による確認が難しい魚種がいるなど、いくつかの問題があることも知られています。そこで、一部のモニタリング調査地点において、従来の採捕による調査と同時に、環境DNA調査のための採水を実施し、両者の結果と比較することで、魚類相の把握を目的としたときの環境DNA調査の有効性を検証しました。

相模川水系における魚類相調査への適用検証

(1) MiFish法による魚類の環境DNA検出

魚類相を調べる環境DNA調査には、千葉県立中央博物館の宮正樹先生のグループが開発したMiFish法¹⁾と呼ばれる方法があります。一般的に、河川や湖沼から採水したサンプルには、魚類以外の水中に生息するさまざまな生物由来のDNAが含まれていますが、MiFish法は、サンプル中に含まれる魚類のDNAだけに反応するように工夫された分析手法です。MiFish法は、次世代シーケンサーと呼ばれる最新式のDNA分析機器を用いることで、サンプルに含まれる魚類由来のDNAをすべて読み取り、そのDNAの配列情報をデータベースと照合することでサンプル中に含まれていた魚類の「種」を網羅的に調べることが可能となります。

「水を汲んで調べれば、その水の中に生息する魚の種類が分かる」というこの方法を使えば、現場での作業が採水だけとなり、調査の効率化や省力化が可能となります。また、従来の調査法では採捕することが難しい魚種の生息状況がわかるほか、サンプル採水を時系列的もしくは

空間的に展開することで、従来法よりも低コストで魚類の時系列的・空間的な分布を把握することが可能となるなど、モニタリング調査の革新的進歩に寄与する技術として期待されています。

MiFish法は、現在、環境DNAから魚類相を調べるための世界的な標準法になりつつあります。そのため、相模川水系における環境DNA調査は、このMiFish法により実施しました。

2018年の夏季に、相模川水系の上流域から河口付近までを範囲とした10地点において河川水を1L採水し、MiFish法による環境DNA分析を行いました。その結果、合計で54種の魚類が確認されました(図1)。

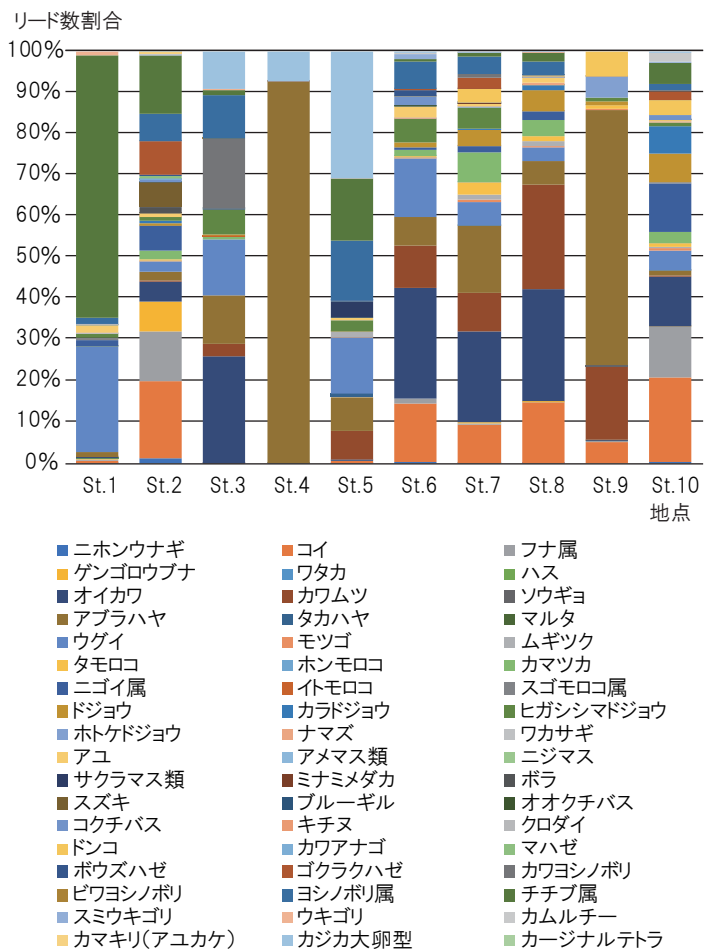


図1 MiFish法による魚種の検出結果

地点別にみると、多様な微環境を含む下流域のSt.2およびSt.7からは、それぞれ41種および39種と多くの魚種が検出されたのに対し、住宅地内を流れる単調な小河川である上流域のSt.4では8種と少なく、調査環境の違いを反映した結果が得られました。

MiFish法の分析結果では、検出された魚種ごとに「リード数」という数値が得られます。リード数は、サンプルから検出されたすべてのDNA配列のうち、その魚種に同定されたDNA配列の本数を示しています。リード数の値は分析上のさまざまなバイアスを含んでいるため、図1のSt.1の結果を例にすると、ウグイとチチブ属ではリード数の割合が2.5倍違いますが、両種の生物量が2.5倍違うという解釈はできません。しかし、仮にリード数が、2つの魚種間で3桁(100倍)や4桁(1,000倍)以上のレベルまで明瞭に異なる場合では、サンプルが採水された地点において、「2つの魚種間の相対的な生物量が多い・少ない」と量的な比較をすることは可能であると解釈されています。すなわち、MiFish法の結果は、基本的には在・不在を示した定性分析として扱うべきものですが、それぞれの魚種のリード数およびその比率は、その差がオーダーレベルで異なる場合は生物量の多寡を反映したものとみなすことができると考えられます。

最近の研究では、得られるリード数に定量性を持たせるための改良法も検討されつつあり、近い将来にはMiFish法によって正確な生物量を把握することが可能になると期待されます。

(2)環境DNA調査と従来調査との比較

環境DNA調査と同時に実施した採捕調査との結果を比較し、環境DNA調査の有効性を検証しました(図2)。

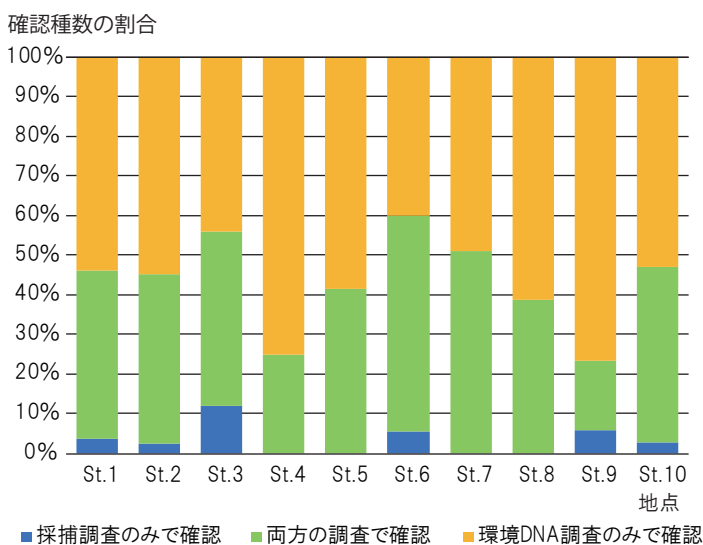


図2 環境DNA調査と採捕調査で確認された種数の割合

いずれの調査地点においても、採捕調査でのみ確認された魚種は0~3種(各地点の確認魚種の0~12.0%)と少なく、採捕調査で確認されたほとんどの魚種が環境DNA調査からも確認されました。環境DNA調査では確認できず採捕調査でのみ確認された魚種は、アユ、ミナミメダカ、アカザ、ウキゴリ、カジカ大卵型などでしたが、いずれも各地点で採捕された個体数が非常に少なかったことから、それぞれの魚種の環境DNA濃度が低いために検出できなかったと考えられます。

一方で、環境DNA調査でのみ確認された魚種は6~23種(各地点の確認魚種の40~76.5%)となりました。これは、採捕調査では設定された50mの範囲のみが調査の対象になっているのに対し、環境DNA調査では採捕が行われた範囲よりもさらに上流側に生息している魚類から放出されたDNAの影響を受けたためと推察されます。環境DNAが検出される範囲は、DNAの分解速度や流速などさまざまな環境要因により変化するため、一般的な値を示すことは困難ですが、実河川におけるアユを使った実験では、DNA放出源からの影響範囲は400~800m程度という結果が報告されています²⁾。このことから、採捕調査では特定の位置における生息情報が得られたのに対し、環境DNA調査では採水地点よりも上流側の“ある程度の範囲内”における生息情報が得られたと考えられます。

おわりに

今回の環境DNA調査から、従来の採捕調査と同程度の精度で魚類相を把握できることがわかりました。また、相模川水系においては、数m~数10mのような局所的な範囲の魚類相を調べたい場合は採捕調査が、それよりも広い範囲の魚類相を調べたい場合は環境DNA調査が比較的適していると考えられます。したがって、他の河川においても、目的に応じて、2つの調査方法を使い分けたり、もしくは併用することが魚類相の網羅的な把握には有効であると思われます。

今回の調査は魚類が対象でしたが、環境DNA調査では、哺乳類、鳥類、両生類、無脊椎動物(エビ・カニ類、水生昆虫、貝類)、水生植物などを対象に選ぶことも可能であり、将来的にはますます幅広い分野で利用されることが期待されます。

〔参考文献〕

- 1) Miya *et al.*(2015), MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 2: 150088.
- 2) 赤松良久、乾隆帝、一松晃弘、河野誉仁、土居秀幸(2017)、環境DNAを用いた河川内の魚類現存量推定に関する基礎的検討、土木学会論文集B1(水工学), Vol.73, No.4, 1111-1116.