

環境DNA分析による魚類相把握

大阪支社 生態・保全部 村山 泰明、国土環境研究所 環境技術部 早坂 裕幸、環境創造研究所 遺伝子解析室 白子 智康

環境DNA分析は汲んだ水の中に含まれるDNAの配列を調べることで、そこに生息している生物を把握する技術で、その利便性や将来性から注目を集めています。ここでは、捕獲調査と合わせて環境DNA分析を実施し、精度を検証した結果とそこから得られた課題等について紹介します。

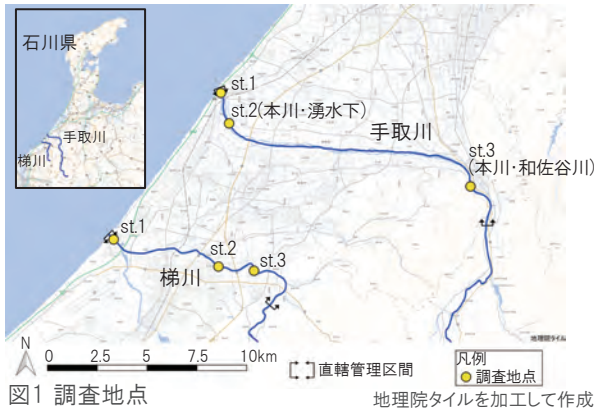
※本事例は、国土交通省北陸地方整備局金沢河川国道事務所発注の委託業務のなかで実施した内容の一部です。

はじめに

従来の魚類調査では、専門的な知識を持った複数の調査員が投網、タモ網、刺網等のさまざまな手法を用いて魚類を捕獲し、種類や個体数を確認することにより魚類相を把握していました。環境DNA分析(メタバーコーディング※による魚類の網羅的解析)は、魚の体からはがれ落ちた鱗や粘液、糞便に由来すると考えられている水中に漂うDNA断片を分析することにより、魚類相を把握する新しい手法です。本技術は調査の効率化・高度化を可能にするものとして期待されています。

一級河川では河川水辺の国勢調査の一環として、5年ごとに魚類の捕獲調査が行われています。図1に示す手取川・梯川^{かけほしがわ}の調査地点で、夏季と秋季の捕獲調査に合わせて環境DNA分析を実施しました。その精度を検証した結果と、環境DNA分析を捕獲調査の代替として実施する際の課題について紹介します。

※メタバーコーディング：サンプル中に存在する多様な種のDNAをまとめて検出する方法



結果を整理するにあたっての考え方

各調査地点で確認された種のうち、環境DNA分析のみで確認された種をαエラー(偽陽性)、捕獲調査のみで確認された種をβエラー(偽陰性)、両手法で確認された種を合致として整理しました(図2)。

捕獲調査と環境DNA分析には、それぞれ種まで同定できるもの、その上位の属等の分類群までしか同定できないものが存在するため、結果を比較する際は同定精度を統一しました。

$$\text{合致率} = \frac{\text{両手法で確認された種数}}{\text{全確認種数}}$$

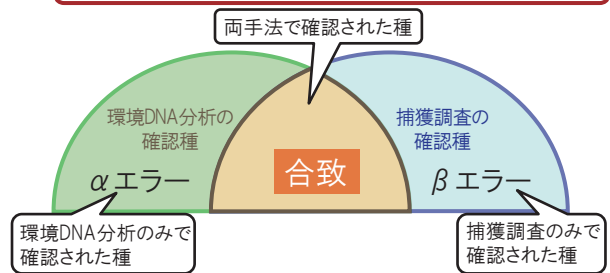


図2 環境DNA分析と捕獲調査の合致状況のイメージ

環境DNA分析と捕獲調査結果との比較

(1) 確認種の合致状況

各地点の確認種のうち両手法で確認された種の割合(合致率)は21.4~66.7%となり、地点によってばらつきがみられました(図3)。流れの緩やかな調査地点(写真1)で合致率が低く、αエラーが高い傾向がみられました。このような環境では調査実施時より前に来遊した魚種のDNAが滞留している可能性が考えられました。

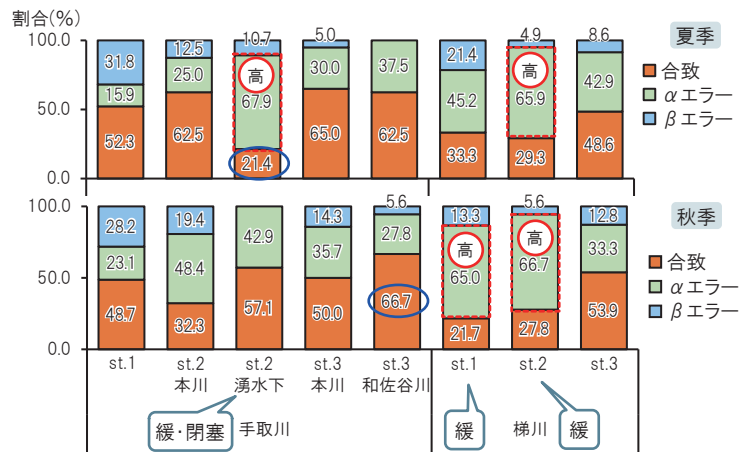


図3 各地点の合致率



写真1 合致率が低かった流れが緩やかな調査地点

(2)αエラーの精査

環境DNA分析のみで確認されたαエラーには、「生息しているにもかかわらずおかしな種」と、サンマやブリ等の「生息している可能性が極めて低い種」が含まれていました。そこで、今回の調査でαエラーとなった種のうち、過去の捕獲調査において同地点で確認されていない種を「生息可能性が低い種」として除外し、同地点で確認されている種を「過去に記録がある種」として、再度集計しました。

その結果、「合致」と「αエラー(過去に記録がある種)」を合算した割合は全地点で60%を上回りました。特に夏季の手取川st.3和佐谷川、秋季の手取川st.2湧水下で合算値が100%となりました(図4)。この2地点は本川と区別された水域であること、周辺に集落が少なく生活排水の影響が少ないことが共通しています。地点外からのDNA混入が少ないことが合致率が高い要因である可能性が考えられました。

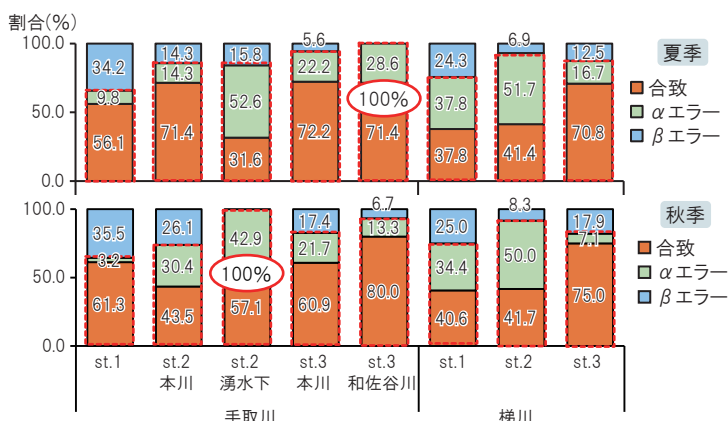


図4 αエラー精査後の各地点の合致率

(3)βエラーの精査

捕獲調査のみで確認されたβエラーは、最下流の地点(手取川st.1、梯川st.1)で特に高く、そのうち汽水・海水魚、回遊魚の割合が夏季、秋季とも80%以上を占めていました。一般的に、潮汐差の小さい日本海に流入する河川は上層の淡水と下層の海水が混合しにくいとされます。今回、環境DNA分析用の試料は水面付近から採水しました。これら汽水・海水魚のDNA断片は河床付近にあったと思われることから環境DNA分析では確認されず、主に河床付近を対象に実施した捕獲調査では汽水・海水魚が捕獲されたことからβエラーが生じたと考えられます(図5)。

また、βエラーとなった種の多くは捕獲数が10個体未満であったことから、個体数が少ないと環境DNA分析で検出しにくいと考えられました。

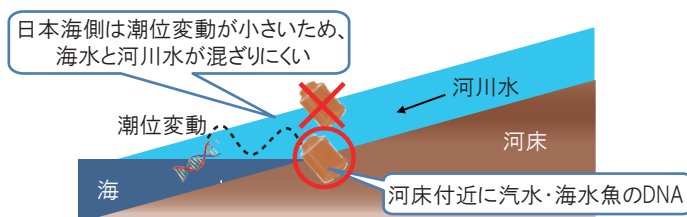


図5 河川水と海水の混合状況と採水イメージ

環境DNA分析を捕獲調査の代替とするための課題

環境DNA分析結果は捕獲調査結果と完全に一致するものではなく、現時点で環境DNA分析が捕獲調査に代わるものとはなりません。しかし、今回の結果から以下の課題とその対応方針がみえてきました。

(1)αエラーへの対応

αエラーには生息可能性が低い種が含まれています。そのため、環境DNAの分析結果をそのまま使用するのはなく、文献や既往の捕獲調査結果等からデータの精査が必要です。なお、今回は捕獲調査の代替とする観点から、過去に同地点で確認された種もαエラーとして扱いましたが、捕獲から漏れても環境DNA分析だからこそ検出できた種であり、環境DNA分析の有用性を示す結果であったことを補足します。

(2)βエラーへの対応

個体数が少ない種は環境DNA分析でも確認が難しいことが示唆されましたので、そのことに留意してデータを扱う必要があります。なお、βエラーを減らすための対応としては、採水回数を増やすこと、汽水域では河床付近からも採水すること等が考えられました。

おわりに

現在、環境省や国土交通省等が主体となり、魚類を対象とした環境DNA分析を調査手法として採用する試みが進められています。従来の調査手法である捕獲や目視による調査と比較した事例は十分ではありませんでした。そのため、本稿の内容の一部を発注者との連名で「応用生態工学会第4回北信越事例発表会」で発表し¹⁾、将来的な発展性、応用性、有効性等が高く評価され、最優秀論文賞を受賞することができました。

今後もこのような事例を積み重ね、環境DNA分析の更なる実用化に向けた検討を進めていきたいと考えています。

[参考資料]

1) 谷茂行, 魚津伸悟, 山里なつ子, 村山泰明, 白子智康 (2019), 環境DNA手法を用いた手取川・梯川における魚類相把握の試行, 応用生態工学会第4回北信越事例発表会