

環境DNAメタバーコーディング解析を用いた生物モニタリング ～長良川・揖斐川の魚類相把握～

岐阜県立岐阜高等学校 自然科学部生物班 瀧花雄大 鷲見康介 柳澤壮玄

背景・目的

近年世界では資源の乱獲や生態系への外来種の侵入などの問題が懸念されている。岐阜県はアユなどの水産資源が豊富であるが、その漁獲量は減少傾向にある。その原因には、生息地の環境の変化や河口堰、外来種の侵入など、様々な原因が考えられる。岐阜県を流れる長良川・揖斐川にはすでにオオクチバスやブルーギルなどの外来種が確認され、少なからず生態系に影響を与えていると考えられる。持続的な開発が必要とされている中、生物の資源量を把握することは必要不可欠である。しかし、大規模河川である長良川や揖斐川での継続的な調査はいまだ行われていない。資源量を継続的に把握することは持続的な発展に寄与できると考えた。

環境DNAメタバーコーディング解析

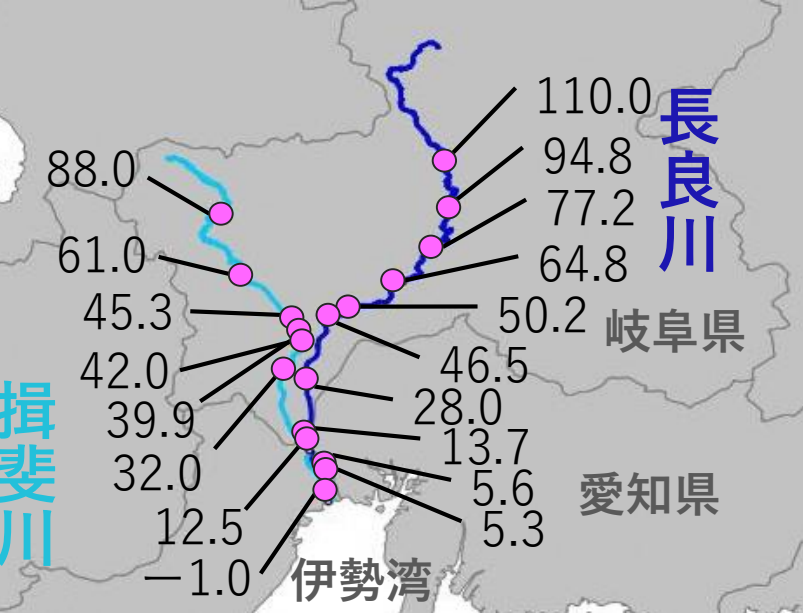
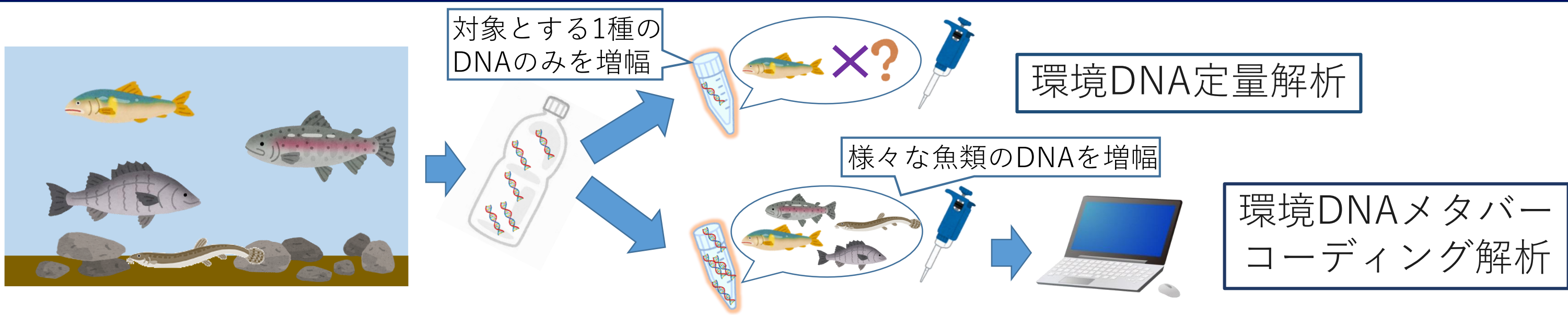
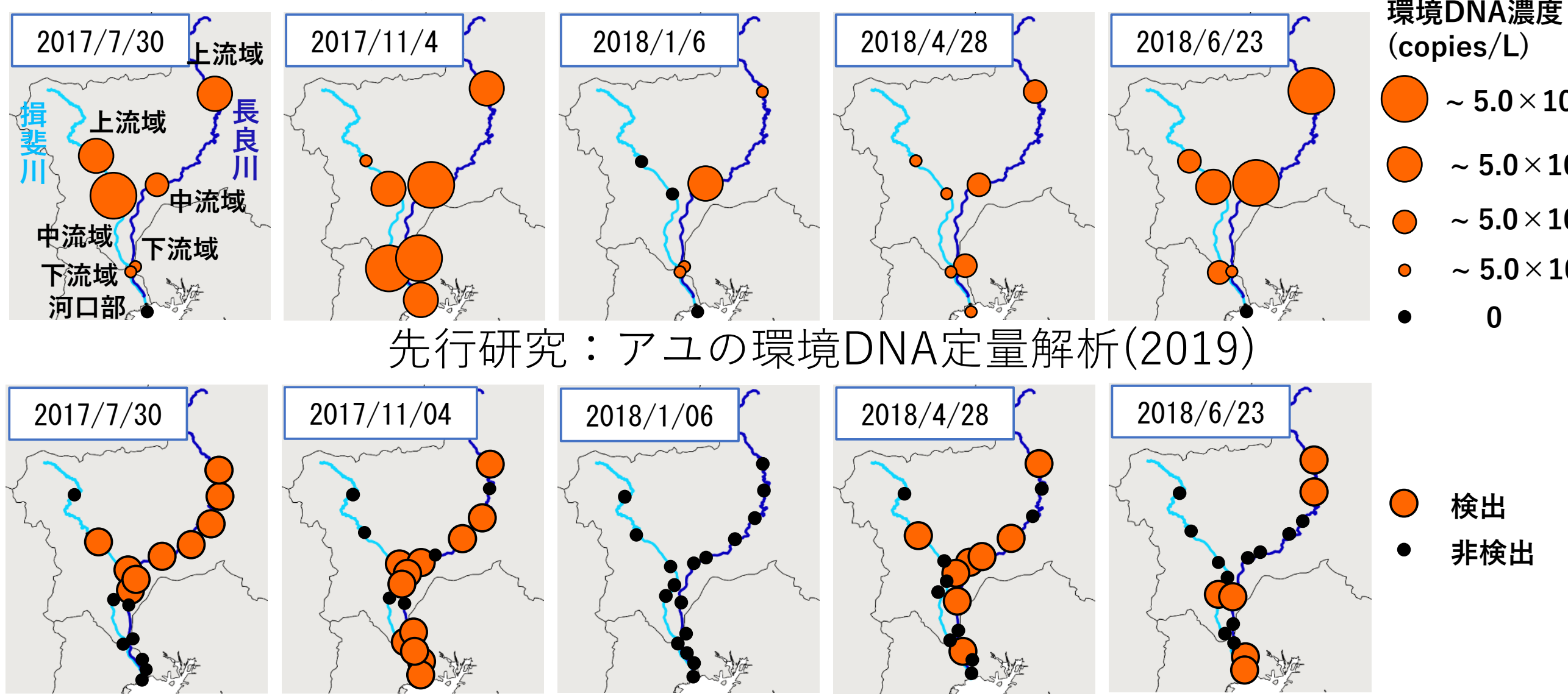


図1 採水地点
(河口からの距離:km)

環境DNAとは生物の糞や皮膚片に由来するDNAである。河川水をくみ、そこに溶けているDNAを解析することで生物の有無や動態を調査することができる。2017年7月からの28ヶ月間、長良川・揖斐川の計18地点で採水を行い、約400サンプルを解析した。先行研究である環境DNA定量解析では種に特異的なプライマー、プローブを用いてDNAを増幅させるため、対象とした1種のみを解析した。対して環境DNAメタバーコーディング解析は魚類に共通のDNAを増幅させるため、多くの種を一挙に検出することができ、広範囲の調査を行う手法として非常に有用である。

I.先行研究との比較

本校では、先行研究として環境DNAメタバーコーディング解析を行う前から、環境DNA定量解析により、アユと冷水病菌の動態把握を行った。本研究では、先行研究に用いた約400のサンプルを用いて、解析を行った。環境DNAメタバーコーディング解析の結果の有用性を確認するために、先行研究と本研究の結果を比較した。



先行研究：アユの環境DNA定量解析(2019)

本研究：MiFish-Uによるアユの環境DNAメタバーコーディング解析

図2 アユを対象とした異なる検出系の結果の比較

結果・考察 I

環境DNA定量解析と環境DNAメタバーコーディング解析の結果が一致

➡ 環境DNAメタバーコーディング解析の有用性を確認

II.検出種数・希少種

アユやカジカ類、ウグイ類など長良川で98種、揖斐川で96種、両河川で117種で検出した。また、本研究の結果を岐阜県レッドデータブックや環境省レッドリストと参照した。

絶滅危惧Ⅰ類		絶滅危惧Ⅱ類		準絶滅危惧		情報不足
イチモンジタナゴ	デメモロコ	スナヤツメ北方種	スナヤツメ南方種	ホトケドジョウ	マハゼ	ツチフキ
イタセンバラ	ネコギギ	シラウオ	ヤリタナゴ	サツキマス	アシシロハゼ	サクラマス
シロヒレタビラ	ハリヨ	クルマサヨリ	アブラボテ	スズキ	トウカイヨシノボ	カワアナゴ
カワバタモロコ		アユカケ	ヌマムツ	ドンコ	チチブ	オオヨシノボリ
ウシモツゴ		カジカ小卵型	イトモロコ	ヒリンゴ		
岐阜県レッドデータブック登録種				判別不能種を含む登録種		

図3 岐阜県レッドデータリストと解析結果の比較

結果・考察 II

①長良川で98種、揖斐川で96種、両河川で117種の魚類を確認

➡ 長良川・揖斐川の生物多様性を確認

②岐阜県レッドデータブック登録種31種中18種、
環境省レッドリスト登録種中21種を検出

➡ 希少種の検出地点については捕獲、潜水による調査が必要

謝辞

環境DNA解析は神戸大学准教授 源利文氏、メタバーコーディング解析は宇都宮大学教授 飯郷雅之氏、岐阜県の魚類については岐阜大学准教授 向井貴彦氏、研究全体の指導は静岡県立焼津中央高等学校教諭 矢追雄一氏など、多くの方々に感謝申し上げます。

まとめ

大規模河川全体の魚類相を継続的に把握
希少種や外来種など様々な魚類を検出

- ・未確認の外来種の検出 ➡ 実地調査の必要性、新たな侵入の可能性
様々な調査との併用で詳細で、効率的な調査が可能
- ・大規模河川の生物相の継続的な把握 ➡ 環境アセスメントへの応用

III.生息未確認種の検出

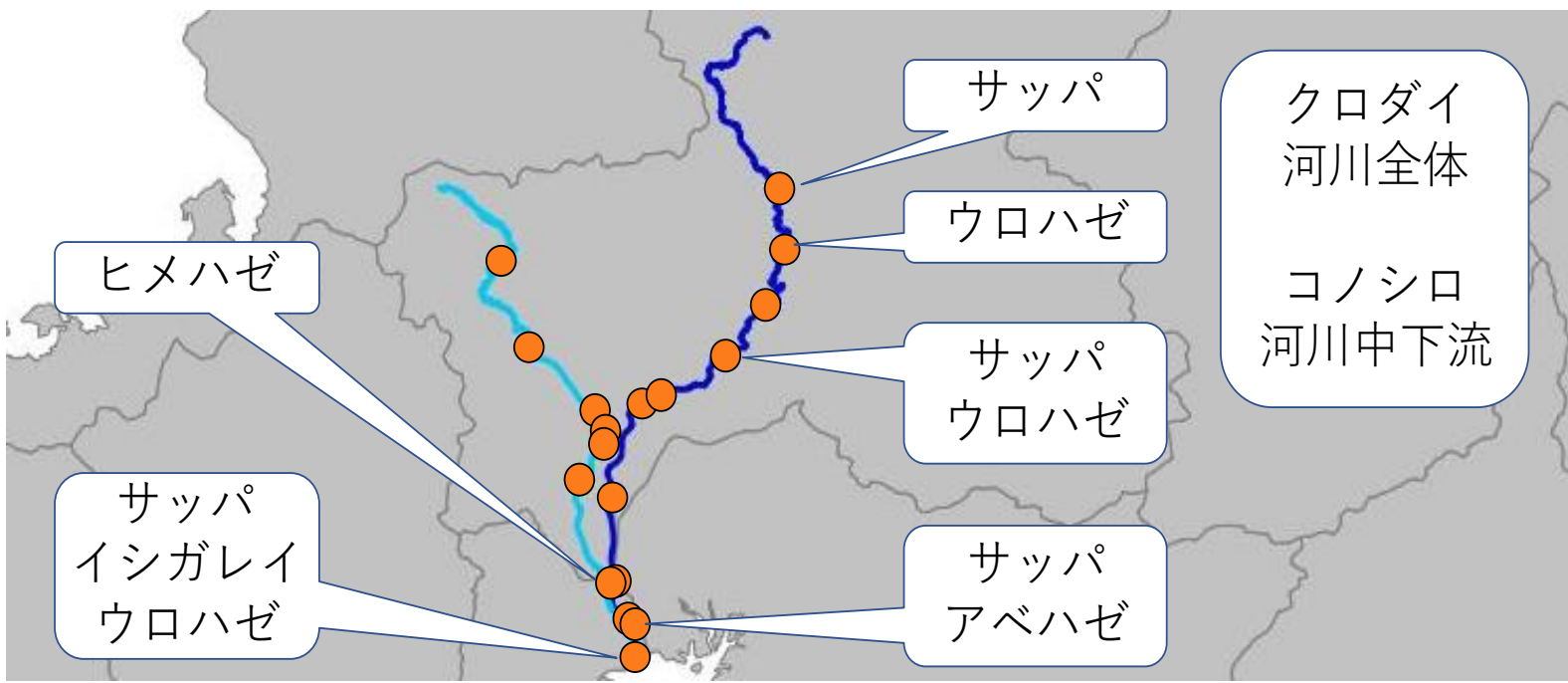


図4 未確認種の検出地点

2019年に出版された「岐阜県の魚類」を参考に、「目撃情報はあるが個体の写真や標本がいまだ存在しない」10種の魚類(サッパ、マゴチ、ウロハゼ、アベハゼ、クサフグ、コノシロ、クロダイ、セスジボラ、ヒメハゼ、イシガレイ)と今回の結果を比較した。

結果・考察 III

①対象種の10種のうち7種を検出

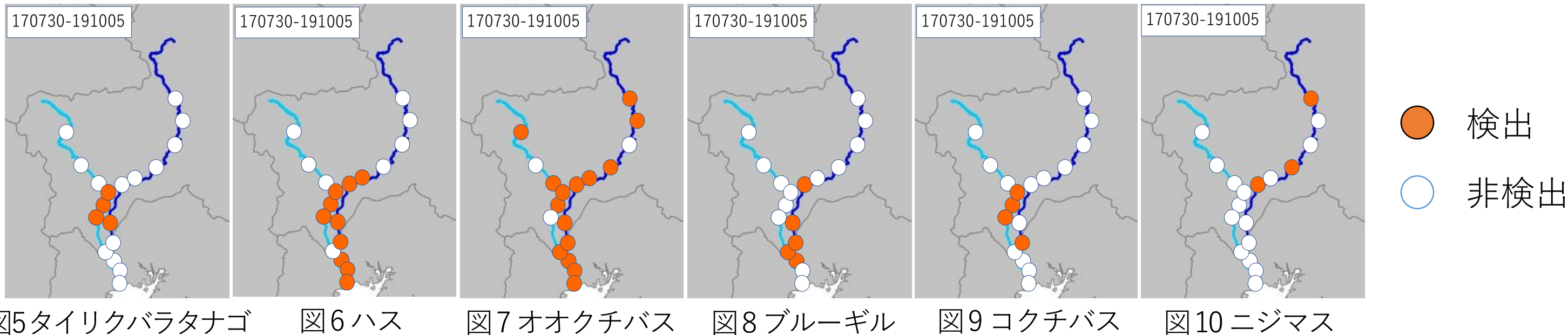
➡ 新たな生息地の特定の可能性
潜水や捕獲調査によるデータの妥当性を確認する必要性

②本来、海洋や汽水域に生息している魚類を河川の上流で検出

➡ コンタミネーション、誤同定、生活排水の混入の可能性
MiFish pipelineの解析結果を詳細に確認し、コピー数の比較、アラインメントを行う

IV.外来種の分布

本研究の結果と環境省が発表している外来種リストを比較した。下図に検出した外来種の分布を示す。



結果・考察 IV

①環境省外来種リストのうち、特定外来種5種、産業外来種1種を検出

➡ すでに在来種へ影響を与えている可能性

②コクチバスのDNAを長良川で初確認

➡ 長良川に侵入の可能性、今後実地調査が必要

V.回遊魚の動態

本研究ではアユカケ(*Rheopresbe kazika*)に着目した。アユカケは春に遡上し、夏は河川で生活、秋に降下し、産卵するという降河回遊魚として知られている。

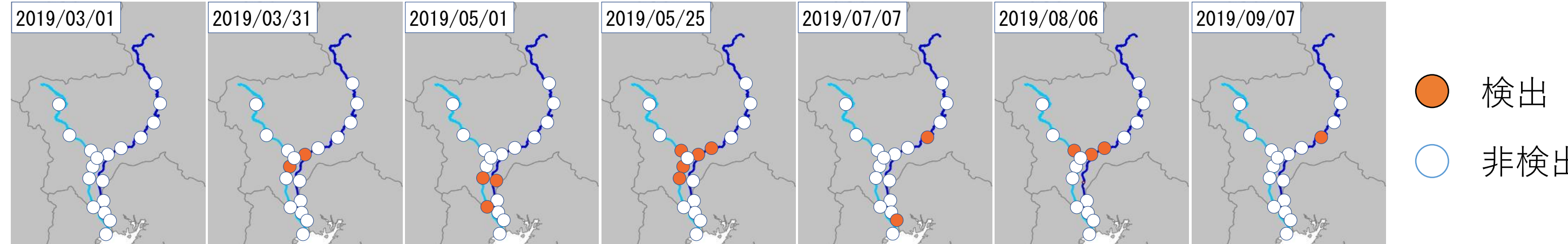


図11 環境DNAメタバーコーディング解析によるアユカケの動態

結果・考察 V

環境DNAメタバーコーディング解析の結果と既知の生活史と一致

➡ 環境DNAメタバーコーディング解析の魚類の動態把握の手法への応用性の確認

展望

- ・継続的にメタバーコーディング解析を行い、希少種のモニタリングや外来種の侵入の早期発見に応用する。
- ・河川工事の前後などでメタバーコーディング解析を行い、人為的な行為が生態系に与える影響を追究する。
- ・メタバーコーディング解析は魚類以外にも鳥類や細菌類でも行われている。そこで、長良川、揖斐川での細菌類メタバーコーディング解析により、細菌類相を把握し、その分布や動態を魚類相と比較して、細菌と魚類、両者の関係を調査し、放流の時期の検討などに応用する。
- ・生息未確認種が確認された地点について、MiFish pipelineの結果を詳細に確認し、生息未確認種とすでに生息が確認されている種のDNA コピー数の比較やDNA配列を実際のアラインメントして、誤同定や生活排水の混入などの可能性について検討する。