

環境DNA多種同時検出法による淡水魚類相調査の試み

近畿地方整備局 琵琶湖河川事務所 河川環境課 後藤 彦幸
パシフィックコンサルタンツ(株) ○ 渡部 健
パシフィックコンサルタンツ(株) 上月 佐葉子
パシフィックコンサルタンツ(株) 松田 尚郎
パシフィックコンサルタンツ(株) 小菅 敏弘
パシフィックコンサルタンツ(株) 桑井 孝一
パシフィックコンサルタンツ(株) 岡田 泰明
兵庫県立大学大学院シミュレーション学研究所 土居 秀幸

論文要旨

自然再生事業の整備効果を確認するモニタリングが行われている野洲川河口ヨシ帯を調査地として、環境DNA多種同時検出法(メタバーコーディング)による淡水魚類相調査を試みた。従来の標準手法(河川水辺の国勢調査マニュアル)による採捕調査で確認される魚種と、環境DNA分析により検出される種数を比較した結果、総種数、希少種の種数、特定外来種の種数において、環境DNA分析による検出種数は採捕調査による確認種数を上回った。また、魚種を分類群(科)単位で見ると、いずれの分類群でも環境DNA分析による検出種数は、採捕調査による確認種数と同程度以上であった。本研究で得られた結果は、環境DNA分析が、魚類相調査の優れたツールとなる可能性を示すものである。

キーワード：自然再生事業，モニタリング，環境DNA，メタバーコーディング，魚類相，河川水辺の国勢調査

1. 緒言

近年、水域に生息する動物の生息状況を把握する新たな技術である環境DNA分析の研究が、急速に進展している^{1),2)}。現在では、次世代シーケンサーを用いた多種同時検出法(メタバーコーディング)により、水試料から魚類、その他の広範な分類群を網羅的に検出する技術も開発されている^{3),4)}。

環境DNA分析による調査は、現地では数ミリリットルから数リットル程度を採水するだけであるため、従来の生物個体を採捕する調査手法と比較して野外調査コストを大幅に削減できる、調査による環境破壊がほとんど無い、夜行性や生息密度の低い種を比較的容易に検出できる等の利点が指摘されている⁵⁾。しかし、従来の調査の代替手法として注目される一方で、河川水辺の国勢調査等で実施されている標準的な採捕による調査結果と、環境DNA分析による検出を比較評価した事例は報告されていない。

そこで、滋賀県・野洲川河口部に再生されたヨシ帯を調査地として、環境DNA多種同時検出法(メタバーコーディング)による淡水魚類相調査を試み、検出される魚種を従来の標準手法である「河川水辺の国勢調査マニュアル」に準拠した採捕調査で確認される魚種と比較し、環境DNA分析の検出力を検証した。

2. 方法

(1) 環境DNA分析

a) 環境DNA試料の採水

環境DNA試料の採水は、2016年7月28日(夏季調査)

及び10月12日(秋季調査)に、琵琶湖に流入する一級河川である野洲川の河口の両岸(約360m区間)で実施した(図1)。

左岸の5箇所、右岸の10箇所、それぞれ1Lの表層水をポリエチレン製容器に採水した。左岸の5箇所及び右岸の5箇所は、ヨシ帯の外側(植生外)で採水し、右岸ではさらにヨシ帯の内側(植生内)の5箇所を採水を行った。

b) DNA分析

採水した試料水は、採水から24時間以内に濾過・冷凍し、分析時まで-20℃以下で保存した。

試料に含まれる魚類のミトコンドリア12SrRNAの遺伝子を対象として、ユニバーサルプライマーMiFish¹⁾により約172塩基対の領域を増幅後、次世代シーケンサーを用いて配列を決定し、データ・ベースと照合し97%以上の相同性を基準として同定し、魚種の検出を行った。

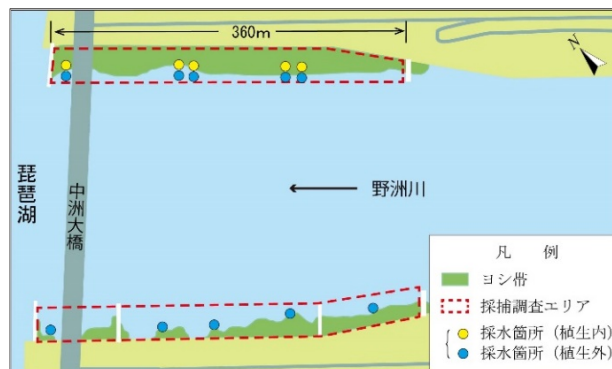


図1 採水箇所と採捕調査範囲の配置

(2) 採捕調査

採捕調査は、2016年7月28日～29日(夏季調査)及び10月12日～13日(秋季調査)に、野洲川河口の両岸(約360m区間)で実施した(図-1)。なお、環境DNA分析の試料に影響を与えないよう、採捕調査は採水作業が終了してから実施した。

調査範囲は、河川水辺の国勢調査の調査地点であり、「河川水辺の国勢調査マニュアル」(以下、水国マニュアル)に準拠した採捕調査が経年的に実施されている。本調査でも、同様にタモ網、投網、定置網、刺網、はえなわ、どう、地曳き網、カゴ網、セルびんを使用した捕獲調査を、マニュアルに準拠した努力量で行った(表-1)。

表-1 採捕調査における使用漁具と努力量

漁具・漁法	努力量
タモ網	1人×60分(／岸)
投網	12mm:10投(／岸), 18mm:10投(／岸)
定置網(大)	1張り×一晚設置(／岸)
刺網(一枚網)	1張り×一晚設置(／岸)
刺網(三枚網)	1張り×一晚設置(／岸)
はえなわ	1張り×一晚設置(／岸)
どう	2統×一晚設置(／岸)
地曳き網	1回×5m程度(／岸)
カゴ網	3個×120分設置(／岸)
セルびん	3個×120分設置(／岸)

3. 結果

(1) 確認状況

a) 環境DNA分析

次世代シーケンサーを用いた環境DNA分析では、春季に24種、秋季に30種、合計4目10科32種の魚種が検出された(表-2)。

琵琶湖に流入する河川の中流域から下流域、及び琵琶湖沿岸に生息している種が網羅的に検出された。

b) 採捕調査

採捕調査の結果、右岸では4目6科15種、左岸では3目5科16種、両岸を併せた、野洲川河口全体では、4目6科18種の魚類が確認された(表-2)。

主に、琵琶湖に流入する河川の中流域から下流域、及び琵琶湖沿岸に見られる種が確認された。

c) 手法別の確認状況

採捕調査の確認種は、概ね環境DNA分析で検出されていた。採捕調査のみで確認されている種はヤリタナゴ1種で、秋季に右岸で1個体が確認された。一方、環境DNA分析では、ピワヒガイ、タモロコ、ドジョウなど採捕調査で確認されていない種が多く確認された(表-3)。

d) 分類群別の確認状況

分類群(科)単位でみると、いずれの分類群(科)でも環境DNA分析によって、採捕調査による確認種数と同程度か、より多くの種数が検出された(表-4)。

特にコイ科では、採捕調査と比較して5~6種、多く検出された。採捕調査では魚類を外部形態で分類するため、主要な分類形質が発達していな仔稚魚についてはコイ科

やフナ属と記録することが多いが、環境DNA分析の場合には、基本的に種まで同定が可能である。

表-2 採捕調査及び環境DNA分析による確認状況

No.	種名	夏季		秋季		2季	
		環境DNA	採捕	環境DNA	採捕	環境DNA	採捕
1	コイ	○	●	○	●	○	●
2	ゲンゴロウブナ	○		○		○	
3	ニゴロブナ	○		○		○	
4	キンギョ	○		○		○	
-	フナ属		●		●		●
5	ヤリタナゴ				●		●
6	カネヒラ	○	●	○	●	○	●
7	ハス	○		○	●	○	●
8	オイカワ	○	●	○	●	○	●
9	カワムツ			○		○	
10	モツゴ	○	●	○	●	○	●
11	ピワヒガイ			○		○	
12	タモロコ			○		○	
13	ゼゼラ	○				○	
14	カマツカ	○		○	●	○	●
-	カマツカ属			○		○	
15	ズナガニゴイ					○	
16	コウライニゴイ	○	●	○	●	○	●
-	ニゴイ属		●		●		●
17	コウライモロコ	○		○		○	
-	スゴモロコ類	○	●	○	●	○	●
18	ドジョウ	○				○	
-	ドジョウ属	○		○		○	
19	アジメドジョウ			○		○	
20	シマドジョウ属					○	
21	ナマズ	○		○	●	○	●
22	アユ		●	○	●	○	●
23	ピワマス			○		○	
24	オヤニラミ	○		○		○	
25	ブルーギル		●	○	●	○	●
26	オオクチバス		●	○	●	○	●
27	コクチバス	○		○		○	
28	ウキゴリ			○		○	
29	イサザ	○				○	
-	ウキゴリ属		●		●		●
30	ヨシノボリ属	○	●	○	●	○	●
31	ヌマチチブ	○	●	○	●	○	●
-	ハゼ科		●		●		●
32	ドンコ			○		○	
33	カムルチー	○	●	○	●	○	●
計	33種	24種	14種	30種	17種	32種	18種

表-3 手法別確認状況

共通に確認された種	コイ、フナ属、カネヒラ、ハス、オイカワ、モツゴ、カマツカ、ニゴイ属、スゴモロコ類、ナマズ、アユ、ブルーギル、オオクチバス、ウキゴリ属、ヨシノボリ属、ヌマチチブ、カムルチー
環境DNA分析のみで検出された種	カワムツ、ピワヒガイ、タモロコ、ゼゼラ、ズナガニゴイ、ドジョウ、アジメドジョウ、シマドジョウ属、ピワマス、オヤニラミ、コクチバス、ウキゴリ、ドンコ
採捕調査のみで確認された種	ヤリタナゴ

※一方の手法で種として確認されており、他方では属レベルで確認されている場合、属レベルで共通に確認しているものとした。

表-4 採捕調査及び環境DNA分析による確認状況

分類群(科)	夏季		秋季		合計	
	環境DNA	採捕	環境DNA	採捕	環境DNA	採捕
コイ科	12	7	15	10	16	10
ドジョウ科	1	0	3	0	3	0
ナマズ科	1	0	1	1	1	1
アユ科	1	1	1	1	1	1
サケ科	0	0	1	0	1	0
ケツギョ科	1	0	1	0	1	0
サンフィッシュ科	3	2	3	2	3	2
ハゼ科	4	3	3	2	4	3
ドンコ科	0	0	1	0	1	0
タイワンドジョウ科	1	1	1	1	1	1
合計	24種	14種	30種	17種	32種	18種

表一 5 希少種の確認状況

No.	種名	環境DNA		採捕調査		選定基準		
		夏季	秋季	夏季	秋季	環境省RL	滋賀県RDB	外来生物法
1	コイ	○	○	○	○	LP	希少	
2	ゲンゴロウブナ	○	○			EN	希少	
3	ニゴロブナ	○	○			EN	希少	
4	ヤリタナゴ				○	NT	危増	
5	カネヒラ	○	○	○	○		危増	
6	ハス	○	○		○	VU	希少	
7	モツゴ	○	○	○	○		希少	
8	ビワヒガイ		○				希少	
9	ゼゼラ	○				VU	希少	
10	ズナガニゴイ		○				危増	
11	コウライニゴイ	○	○	○	○		要注	
12	ドジョウ	○				DD	要注	
13	アジメドジョウ		○			VU	希少	
14	ナマズ	○	○		○		要注	
15	アユ	○	○	○	○		分布	
16	ビワマス		○			NT	要注	
17	ブルーギル	●	●	●	●			特定
18	オオクチバス	●	●	●	●			特定
19	コクチバス	●	●					特定
20	イサザ	○				CR	危惧	
21	ドンコ		○				その他	
計	重要種	17種		8種		10種	18種	3種
	特定外来生物	3種		2種				

<重要種・外来種の指定状況>
 ◇環境省RL:環境省レッドリスト汽水・淡水魚類(平成27年9月)
 EX:絶滅 EW:野生絶滅 CR+EN:絶滅危惧I類
 CR:絶滅危惧II類 EN:絶滅危惧IB類 VU:絶滅危惧II類
 NT:準絶滅危惧 DD:情報不足
 LP:絶滅のおそれのある地域個体群
 ◇滋賀県RDB:滋賀県で大切にすべき野生生物
 -滋賀県レッドデータブック2015年版-(平成28年3月)
 危惧:絶滅危惧種 危増:絶滅危機増大種 希少:希少種
 要注:要注目種 分布:分布上重要種 他重:その他重要種
 絶滅:絶滅種
 ◇外来生物法:特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律 平成16年6月公布・平成26年6月改正
 特定:特定外来生物

表一 6 確認種数の比較

項目	採捕調査	環境DNA分析
確認種数	18種	32種
希少種	8種	17種
特定外来生物	2種	3種

e) 希少種の確認状況

環境DNA分析により検出された重要種は、ゲンゴロウブナ、カネヒラ、ハス、ナマズなど夏季・秋季を通じて合計17種であった(表一5)。

一方、採捕調査ではヤリタナゴ、ナマズ、アユなど8種が確認された。確認された8種のうち、ヤリタナゴを除く7種は、環境DNA分析でも検出された。

環境DNA分析では、採捕調査で確認されていない重要種として、ビワヒガイ、ゼゼラ、ズナガニゴイ、ドジョウ、アジメドジョウ、ビワマス、イサザ、ドンコを検出した。

特定外来生物の確認状況

採捕調査ではブルーギル及びオオクチバスの2種が確認された(表一5)。

一方、環境DNA分析では、採捕調査で確認されたブルーギル、オオクチバスに加えて、コクチバスが検出された。

以上、採捕調査及び環境DNA分析で確認された総種数、希少種の種数、特定外来生物の種数は

表一6のとおりである。総種数、重要な種数、特定外来種の種数のいずれでも、環境DNA分析による検出種数は、採捕調査による確認種数を上回った。

(2) 魚類相調査における採水地点数の検討

季節別・左右岸別の採捕調査による確認種数は平均11.3種であった(表一7)。

一方、季節別・左右岸別に集計した、環境DNA分析による1検体(ヨシ帯外側の検体)あたりの平均検出種数は13.1種であり、捕獲確認種数(全ての漁法による確認種数:平均11.8種)より多い値となった。

従来の漁獲手法に代替可能な手法としての環境DNA分析による検出効果を評価するために、環境DNA分析による確認種が、捕獲確認された魚種のどれくらいの割合を検出しているか(捕獲種適合率)をみると、1検体あたりで平均68.3%(最大82.0%、最小58.5%)であった。

本業務では、右岸・左岸のヨシ帯の外側で各5検体を採水しており、5検体に含まれる種を合わせた捕獲種適合率は、平均87.2%(最大100%、最小76.9%)であった。さらに、右岸では補足的にヨシ帯の内側でも採水していたこと

表一 7 季節別の環境DNA分析による捕獲種適合率¹⁾

項目	夏		秋		平均
	右岸	左岸	右岸	左岸	
捕獲確認種数	10種	13種	11種	13種	11.8種
環境DNA分析による1検体あたりの平均検出種数(ヨシ帯外側の検体)	15.2種	10.2種	13.2種	13.6種	13.1種
1検体平均・捕獲種適合率	82.0%	58.5%	63.6%	69.2%	68.3%
5検体に含まれる捕獲確認種数	9種	10種	9種	13種	10.3種
5検体合計・捕獲種適合率	90.0%	76.9%	81.8%	100%	87.2%
ヨシ帯内側を含めた10検体に含まれる捕獲確認種数 ¹⁾	9種	-	10種	-	9.5種
ヨシ帯内側を含めた10検体合計・捕獲種適合率 ¹⁾	90.0%	-	90.9%	-	90.5%

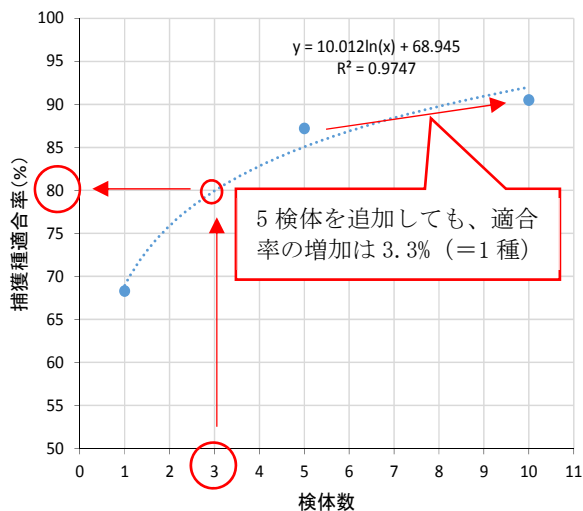
注1) 捕獲種適合率(%) = (環境DNA分析で確認された種/採捕調査の確認種数) × 100

から、ヨシ帯の内側の検体を加えた合計 10 検体に含まれる捕獲種適合率をみると、平均 90.5% (夏季 90.0%、秋季 90.9%) を検出していた。

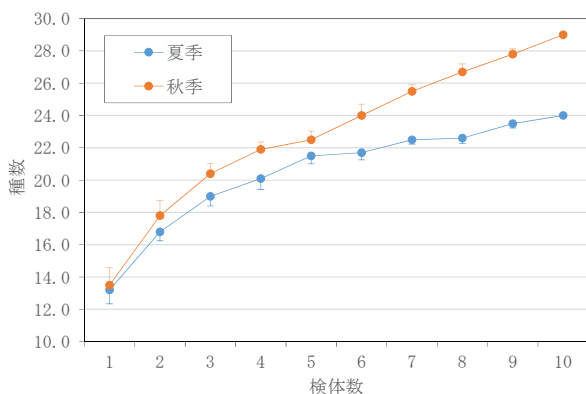
1 検体平均の捕獲種適合率が 68.3%であり、5 検体で 87.2%、10 検体で 90.5%に達することから、この間の増加を対数モデルで近似すると図一 2 のようになる。この推定に基づけば、野洲川河口ヨシ帯の左右岸スケールの魚類相については、1Lの採水容器 3 検体程度の環境 DNA を分析することにより、従来の漁獲調査で確認できる魚種の 80%を網羅する種を検出することが期待できる。

また、5 検体から 10 検体に増加することで、捕獲種適合率について 3.3%の上昇が期待されるが、これは実質的に 1 種数の増加にとどまっており、5 検体より多い検体数による適合率向上の効果は限定的であると考えられる。

一方、環境DNA分析のみで、検体数と検出種数の関係を見ると、4 検体までは検体数の増加に伴う検出種数の増加も大きいいが、4 検体以降は、1 検体増やしても、検出種数の増加は 2 種未満であった。



図一 2 検体数の増加の効果に関する対数モデル



図一 3 検体数と検出種数*の関係 (右岸)

*右岸の 10 検体から、各検体数に応じてランダムに 10 組を抽出し、得られた種数の平均値を示した。エラーバーは標準誤差を示す。

(3) ヨシ帯の内側と外側で検出される種の比較

多くの種で、夏季・秋季のいずれかの季節ではヨシ帯の内側外側でも確認されていたが、ビワヒガイ、タモロコなど 9 種は、両季を通じて、ヨシ帯の内側外側いずれかのみで検出された (表一 8)。

このうち、ヨシ帯の外側でのみ検出されたのは、ビワヒガイ、タモロコ、ズナガニゴイ、スゴモロコ類、アジメドジョウ、シマドジョウ属、コクチバスであった。一方、ドジョウおよびイサザは、ヨシ帯の内側でのみ検出された。

外側でのみ検出された種には、ビワヒガイ、ズナガニゴイ、シマドジョウ属、コクチバスなど、主に砂～砂礫底で、比較的、流れのある開放水面側の環境を好む種が多く含まれている。また、採水箇所はヨシ帯の外側ではあるが、抽水植物の近傍であったことから、タモロコやスゴモロコ類等の生息環境の付近であり、採水環境と検出された種は概ね整合的であるといえる。また、止水の泥底環境を好む種であるドジョウはヨシ帯の内側でのみ確認されており、ドジョウについても、生息環境と採水箇所の環境は整合的であるといえる。

表一 8 ヨシ帯の外側または内側のみで検出された種

種名	夏季		秋季	
	外側	内側	外側	内側
ビワヒガイ			1	
タモロコ			2	
ズナガニゴイ			2	
スゴモロコ類	2		1	
ドジョウ		1		
アジメドジョウ			1	
シマドジョウ属			1	
コクチバス	1		1	
イサザ		1		

(4) 種別の検出箇所数の季節変化

環境 DNA で検出された種が、各調査時期にどれくらいの箇所検出されたかを、表一 9 に示した。

表では、右岸のヨシ帯外側 5 箇所、ヨシ帯内側の 5 箇所、左岸のヨシ帯外側 5 箇所を単位として、それぞれの種が、5 箇所中の何箇所検出されたかを検出箇所の割合として整理し、以下の 3 階級で整理した。

- ・青色：5 箇所中 4～5 箇所検出
- ・黄色：5 箇所中 2～3 箇所検出
- ・薄赤色：5 箇所中の 0～1 箇所検出

秋季は確認種数が多いが、秋のみに確認された種であるビワヒガイ、タモロコ、ズナガニゴイ、アジメドジョウ等は 1 箇所での検出、カワムツは 3 箇所での検出と、検出箇所数が少なかった。

一方、ビワマスについては、秋季に全ての検体で検出されたが、秋季はビワマスの遡上期に当たり、河川内に多く分布していたと考えられる。

コイ・フナ類をみると、コイは、夏・秋季いずれも多く箇所検出されたが、ゲンゴロウブナとニゴロブナは、夏季には多くの箇所確認されたが、秋季は確認箇所数が少なかった。

表 9 ヨシ帯種別の検出箇所数の季節変化

確認種	検出箇所数						検出箇所の割合 (%)						ヨシ帯外側 検出箇所数	
	右岸			左岸			右岸			左岸				
	ヨシ帯外側		ヨシ帯内側	ヨシ帯外側		ヨシ帯内側	ヨシ帯外側		ヨシ帯内側	ヨシ帯外側		ヨシ帯内側		
	夏季	秋季	夏季	秋季	夏季	秋季	夏季	秋季	夏季	秋季	夏季	秋季		
コイ	5	4	4	3	3	3	100	80	80	60	60	60	5	4
ゲンゴロウブナ	4	0	3	1	3	0	80	0	60	20	60	0	4	1
ニゴロブナ	5	0	5	1	3	0	100	0	100	20	60	0	5	1
キンギョ	5	1	5	0	3	2	100	20	100	0	60	40	5	2
カネヒラ	5	5	4	5	5	5	100	100	80	100	100	100	5	5
ハス	5	1	1	0	5	4	100	20	20	0	100	80	5	4
オイカワ	4	5	0	5	4	5	80	100	0	100	80	100	4	5
カワムツ	0	2	0	3	0	1	0	40	0	60	0	20	0	3
モツゴ	0	0	1	1	1	0	0	0	20	20	20	0	1	1
ビワヒガイ	0	1	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	1
タモロコ	0	1	0	0	0	1	0	20	0	0	0	20	0	1
ゼゼラ	3	0	1	0	0	0	60	0	20	0	0	0	3	0
カマツカ	2	3	1	2	0	5	40	60	20	40	0	100	2	5
カマツカ属	0	2	0	1	0	0	0	40	0	20	0	0	0	2
ズナガニゴイ	0	1	0	0	0	1	0	20	0	0	0	20	0	1
コウライニゴイ	5	5	4	5	5	5	100	100	80	100	100	100	5	5
コウライモロコ	5	2	0	2	1	2	100	40	0	40	20	40	5	2
スゴモロコ類	2	0	0	0	0	1	40	0	0	0	0	20	2	1
ドジョウ	0	0	1	0	0	0	0	0	20	0	0	0	1	0
ドジョウ属	0	0	3	1	0	1	0	0	60	20	0	20	3	1
アジメドジョウ	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	20	0	1
シマドジョウ属	0	1	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	1
ナマズ	1	0	0	1	0	1	20	0	0	20	0	20	1	1
アユ	0	5	1	5	0	5	0	100	20	100	0	100	1	5
ビワマス	0	5	0	5	0	5	0	100	0	100	0	100	0	5
オヤニラミ	1	2	1	1	0	0	20	40	20	20	0	0	1	2
ブルーギル	5	3	5	3	2	3	100	60	100	60	40	60	5	3
オオクチバス	5	4	3	5	5	3	100	80	60	100	100	60	5	5
コクチバス	1	1	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	1	1
ヨシノボリ属	5	5	5	5	5	5	100	100	100	100	100	100	5	5
ヌマチチブ	5	5	5	5	5	5	100	100	100	100	100	100	5	5
ウキゴリ	3	4	1	3	0	3	60	80	20	60	0	60	3	4
イサザ	0	0	1	0	0	0	0	0	20	0	0	0	1	0
ドンコ	0	1	0	1	0	0	0	20	0	20	0	0	0	1
カムルチー	2	1	2	3	1	0	40	20	40	60	20	0	2	3

以上の結果から、注目種であるコイ・フナ類や、秋季のみに検出された種について、秋季の検出箇所数は少なく、安定して検出されるかどうかには不確実性が残る。調査結果の安定性の観点からは、夏季調査と秋季調査の両季で調査を実施することが望ましいと考えられる。

4. 考察

夏季調査では、環境 DNA 分析で検出された 24 種に、採捕調査で確認された 14 種全てが含まれていた。秋季調査では、環境 DNA 分析で検出された 30 種に、採捕調査で確認された 17 種のうち、ヤリタナを除く 16 種が含まれていた。以上の結果から、野洲川河口で捕獲確認された魚種は、概ね環境 DNA 分析で網羅的に検出されていたといえる。

また、環境 DNA 分析は、希少種の検出及び特定外来種においても、従来の採捕調査を上回る種数を検出しており、MiFish を用いたメタバーコーディングによる手法が、淡水魚類について高い検出力を持つことが示された。

以上の結果は、環境 DNA 分析の手法が、調査対象とした

野洲川河口ヨシ帯を利用している魚類相を把握する手法として優れたツールとなりうる可能性を示すものであるが、検出された魚種は、近畿圏では一般的な種が多く含まれていることから、同様な調査手法が他の水域にも応用可能であると考えられる。

魚類相把握を目的として環境 DNA 分析を実施する場合、検体数を増やすことで検出種の増加が期待されるが、概ね 4 から 5 検体以上は、検体数を増やしても、検出種数の増加は少なくなるため、今回の調査範囲程度(両岸約 360m)の場合では、片岸あたり 5 検体程度の試料数が目安になると考えられる。

季節別での確認状況を見ると、捕獲調査と環境 DNA 分析のいずれでも、秋季の確認種数が多い傾向がみられ、特に、環境 DNA 分析では、秋季調査のみで、夏・秋季の合計の検出種(32 種)のうち 30 種(約 94%)の種が確認できている。ただし、秋季のみに確認された種であるビワヒガイ、タモロコ、アジメドジョウ等は 15 箇所での採水地点の中の 1 箇所での検出、カワムツは 3 箇所での検出と、検出箇所数が少なかった。コイ・フナ類をみると、コイは、夏・

秋季いずれも多くの箇所で検出された。ゲンゴロウブナとニゴロブナは、夏季には多くの箇所を確認されたが、秋季は確認箇所数が少なかった。

一方、ビワマスについては、湖の深層に生息する夏季には確認されなかったが、遡上・産卵期の秋季には全ての検体で検出された。

コイ・フナ類や秋季のみに検出された種について、秋季の検出箇所数は少なく、安定して検出されるかどうかには不確実性が残ることや、生活史の一時期を河川で過ごす種がいることから、野洲川河口域の魚類相を環境DNA分析により網羅的に検出するためには、複数の季節で調査を実施することが望ましいと考えられる。

本研究の結果は、従来の採捕を主体とした調査手法に比べて環境DNA分析手法のほうが、魚類相の検出力が高いことを強く示すものであるが、一方で、河川のような開放水域では、調査地点で捕捉された環境DNAが、上流から流入してきた分子である可能性があり、検出されても、必ずしも採水箇所に検出された魚種が生息していることを示すものではない。今後の課題としては、環境DNAの流下過程における分散や河床への捕捉に伴う環境DNA濃度の減衰速度と、低濃度時の検出限界の関係を明らかにすることで、環境DNA分析により、流況条件に応じて、どの程度の空間スケール(距離範囲)の情報が得られているのかを明らかにしていくことが必要である。

環境DNA分析技術は、採水するだけで生物の生息状況を調査することが可能となる非侵襲的な手法であるという特徴から、調査による生息場のかく乱が懸念されている希少種のモニタリング等への応用が期待される。また、環境DNAの高い検出力は、外来種の侵入の初期で、人目につかないような低密度の段階でもいち早く侵入を把握できると考えられることから、有効な防除を行うための調査ツールとしての活用も期待される。特に、本研究であつかったメタバーコーディングによる魚類相調査の技術は、今後、従来の採捕を主体とした調査手法に代替しうる手法として生態系モニタリングや環境アセスメントなどの現場で広く応用されていくことが期待される。

参考文献

- 1) Bohmann K, Evans A, Thomas M, Gilbert P, Carvalho GR, Creer S, Knapp M, Yu DW, Bruyn M. (2014) Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*. DOI: 10.1016/j.tree.2014.04.003
- 2) Thomsen PF, Willerslev E. (2015) Environmental DNA - An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* 138: 4-18.
- 3) Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, J. Poulsen JY, Sato K, Minamoto T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Kondoh M, Iwasaki W. (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*. DOI: 10.1098/rsos.150088.
- 4) Deiner K, Fronhofer EA, Mächler E, Walser JC, Altermatt F. (2016) Environmental DNA reveals that rivers are conveyor belts of biodiversity information. *Nature Communications*. DOI: 10.1038/ncomms12544.
- 5) 高原, 山中, 源, 土居, 内井 (2016) 環境DNA分析の手法開発の現状～淡水域の研究事例を中心に～. *日本生態学会誌* 66:583-599.