

■ 調査研究の概要

生物多様性の評価や、絶滅のおそれのある種(レッドリスト記載種)の選定と保全、河川の水生生物の保全に係る水質環境基準類型指定などの、最も基礎的かつ重要な知見として、魚類の生息状況を調査しています。しかしながら従来手法の調査では、人員や労力、熟練の技術がかかるため、より広範囲の調査を行うために環境DNA手法を導入しました。

従来手法の弱点

「生息数が少ない」、「夜行性」、「石の下などに隠れていると捕まえにくい」、「捕まえる技術や、魚類同定の知識が必要」、「地引網など規模の大きな道具が必要」etc. . .

環境DNA手法なら

- ✓ 現地では水を汲むだけ！(サンプリング機材や技術がいらない)
- ✓ たくさんの地点を調査可能！(従来手法より必要人員や時間が少)

■ 調査研究の目的

環境DNAを活用して、希少種な魚類の生息状況を把握するため、検出系(プライマー・プローブセット)の開発、水槽や現地での検出を行っています。

■ 想定される用途

希少種の保護等に必要なる分布調査
外来種侵入状況の早期検知

■ 調査研究の内容

府内のレッドリストに掲載される希少種(イタセンバラ)や、河川の水生生物の保全に係る水質環境基準類型指定の指標となる冷水性魚類(カジカ大卵型、ナガレホトケドジョウ)を対象として現地調査を行った。

・ イタセンバラ

野生復帰を行った城北ワンドでの生息モニタリングや、分布拡大調査に用いている。二枚貝の中にいる稚魚も把握可能となった。

・ カジカ大卵型

従来手法で生息を確認できなかった河川で、環境DNAを検出した地点で改めて従来手法により調査を行ったところ、個体を確認できた。

・ ナガレホトケドジョウ

山間部の細流に生息するナガレホトケドジョウでは、従来手法では調査しにくい地点でも環境DNA手法で検出でき、より詳細な分布調査が可能となった。

投網



夕毛網



地曳網



潜水目視



対象魚種、調査地環境によって上記の他にも様々な漁具を選択、使用には熟練の技術が必要なものもある

図 従来の魚類調査手法

環境DNA：環境中に存在するDNAの総称

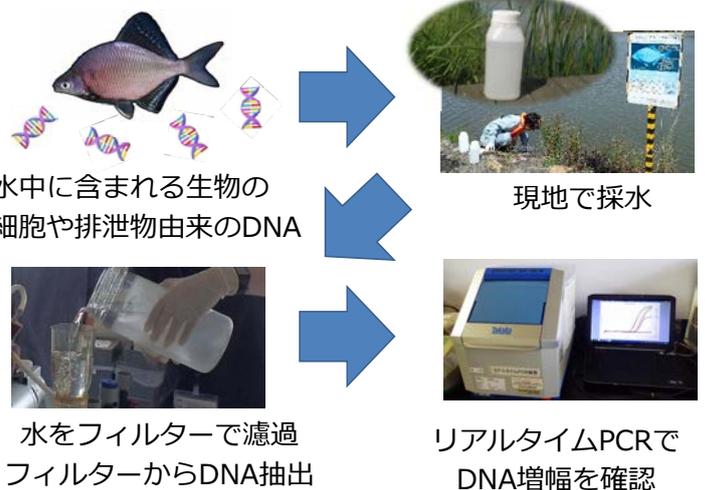


図 環境DNAと調査の流れ

イタセンバラ



生息状況モニタリング



カジカ大卵型



検出河川



ナガレホトケドジョウ



検出河川



図 調査の対象種と生息環境

環境DNAで魚類調査やっています

○山本義彦（環境研究部）

1. 目的

生物多様性の評価や、絶滅のおそれのある種（レッドリスト記載種）の選定と保全、河川の水生生物の保全に係る水質環境基準類型指定、水産対象種の生息状況など目的は様々であるが、河川生態系を評価する上で最も基礎的かつ重要な知見として魚類の生息状況調査を行っている。しかしながら、従来手法では魚種や河川環境によって様々な調査手法を使い分ける必要がある上、投網や地引網など漁具の扱いなどに熟練を要する、人員や労力、時間が必要であった。また魚種によっては夜行性であることや、岩の下に隠れるなどして採捕が困難なもの、また目的とする魚種以外も混獲するなどの課題があった。最近、急速に発展している環境DNAを用いた調査手法は、これらの課題を解決するものとして期待できることから、河川調査への導入について検討した。

2. 方法

(1) プライマー・プローブの設計

環境DNAを用いた調査は、リアルタイムPCRを用いて特定の1種を対象とするプローブ法を用いた。対象としたカジカ大卵型、ナガレホトケドジョウの魚種のミトコンドリアDNAの塩基配列をNCBIなどの公開されたデータベース上で収集し、同所的に生息する魚種と区別できる配列からプライマー・プローブセットをそれぞれ設計した。

(2) 検出試験

作成したプライマー・プローブセットを用いて対象種を検出が可能かを確認するため、対象種の飼育水槽から1Lの水を採取し、グラスフィルターを用いてろ過した。ろ過を行ったフィルターからDNA抽出キットを用いてDNAを抽出した。同様に同所的に生息するカワヨシノボリやタカハヤなどの魚種を飼育している水槽の水、蒸留水のそれぞれからDNAを抽出を行い、サンプルとした。これらのサンプルとそれぞれのプライマー・プローブセットを用いてリアルタイムPCRを行った。

(3) 河川水からの検出

過去にカジカ大卵型の生息記録のある河川、ならびにナガレホトケドジョウの生息を確認している河川で採水を行い、上記と同様にDNAサンプルを作成し、リアルタイムPCRによる検出を試みた。

3. 結果および考察

(1) プライマー・プローブの設計

カジカ大卵型、ナガレホトケドジョウとも他魚種と判別できる配列を探索してプライマー・プローブセットを作成できた。しかしながら、データベース上に登録されている個体数が少ないことから、府内個体群の塩基配列情報を収集する必要がある。

(2) 水槽試験、河川水からの環境DNA検出

水槽試験のサンプルを用いたリアルタイムPCRでは、対象種の飼育水槽のみでDNAの増幅があることを確認した。河川水からの検出は、カジカ大卵型では過去に生息記録のある河川で増幅が確認できた。採水時に従来手法のタモ網による採捕調査を行っていたが、採捕できなかった。しかしながら環境DNA手法で検出が見られた地点を改めて調査したところ個体を得ることができた。ナガレホトケドジョウは、従来手法による確認箇所だけでなく、従来より上流や、他の細流でも検出されたことから、両種とも生息確認の手法として十分に機能することが明らかとなった。今後は本手法を活用して、より広範囲の分布調査を実施し、保全等に役立てていく。