

環境 DNA からわかること ～大阪府内における冷水性魚類の分布～

○山本義彦（環境研究部自然環境グループ）

1. 背景と目的

河川における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、また開発に係る生態系の保全を行う上で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る。本調査では在来種かつ絶滅危惧種としてカジカ大卵型、ナガレホトケドジョウ、アジメドジョウの3種を対象とした。これらの魚種は夏でも水温25度を超えない水域を好み、冷水性魚類として扱われる。夏の暑い大阪での冷水性魚類の生息場所は、山間部など限られた範囲に局地的に存在し、河川改修や気候変動などの影響を受けやすいと考えられる。タモ網などを用いて直接魚を採取する従来の調査手法は、現地での人手や時間が多く必要であることから、現地で汲んだ水の中から生息している魚類から出たDNAを検出することのできる環境DNA手法を導入している。

2. 調査方法と結果概要

○対象種を検出するためのプライマー・プローブセットの開発

対象種や同じ場所に生息する魚類のミトコンドリア DNA の配列を比べ、対象種のみの特異的な配列を探す。その配列にピッタリと合う鍵のようなプライマー・プローブセットを対象種ごとに設計した。このセットと PCR という機器を用いると、DNA を鋳型として同じ配列の DNA を増幅することができる。実際に対象種から直接採取した DNA や、飼育水槽水を用いて、対象種の DNA のみが増幅されることを確認した。

○現地調査

調査地点の選定は対象種の生息記録がある河川や地域を中心に、対象種の生息が期待される上流域を中心に選定した。現地での調査は、各地点で河川水を1リットル採取し、微生物による DNA 分解を止める試薬を添加するのみである。

○実験室での分析

河川水は24時間以内に実験室でガラスフィルター（粒子保持能：0.7 μm ）により濾過した。フィルター上に魚類の細胞やその欠片があれば、DNA を含んでいるため、フィルターごと DNA 抽出を行う。この抽出物と前述のプライマー・プローブセットなどの試薬を混ぜ合わせ、リアルタイム PCR を用いて対象種の DNA が含まれているかを分析する。対象種の DNA があれば蛍光色素で可視化され、DNA の有無を判定できる。

○結果

対象3種は北摂地域でのみ検出され、その他の地域では検出されなかった。アジメドジョウは府内で1河川の狭い範囲のみで採捕調査により確認されていたが、環境DNAによる調査結果をもとに従来の採捕調査を実施したところ、同河川内のより広い範囲に生息していることがわかった。カジカ大卵型やナガレホトケドジョウは、主に河川内でも最上流域で検出された。河川数はわずかであったが、環境DNA調査の結果をもとに、捕獲調査を行ったところ対象種の生息が確認できた。

3. 今後の方向性

開発したプライマー・プローブセットを用いた環境DNA調査によって、3種の生息を確認することができ、府内における分布が北摂地域に偏っていることを明らかにした。しかしながら、カジカ大卵型やナガレホトケドジョウは河川最上流域や、さらにその支川の沢に生息する可能性があるため未調査地域が多く残る。

今後も従来からの採捕調査と新たな環境DNA調査を組み合わせ、魚類の分布を明らかにすることで、大阪の河川における生物多様性の記録や保全を進めていく。