

環境 DNA を用いた河川生物量推定法の開発

山口大学大学院 創成科学研究科 乾 隆帝

1. 目的

近年、河川生態系の保全と防災との両立が河川管理上の重要な課題となっている。現在、環境の変化を捉える指標としては、主に種多様性に着目されることが多い一方、生物の現存量変化が着目されることは少ない。その理由としては、水生生物の定量化の困難さが挙げられる。

そこで本研究では、水産上有用種であるにもかかわらず、定量化が困難なアユに着目し、(1)目視調査によって得られたデータを用い、物理環境の変化に応じたアユの現存量の空間的な分布・現存量予測モデルを構築し、佐波川の直轄区間におけるアユの現存量推定をおこなうこと、(2)環境 DNA 分析を用いてアユの定量化を試み、目視調査による現存量（実測値）との関係性を調べることで、(3)環境 DNA 量と、現存量予測モデルに基づく採水地点上流区間の現存量推定値との関係性を調べることで、環境 DNA の生物量調査方法としての有効性と、空間解像度の検討をおこなうことを目的とする。

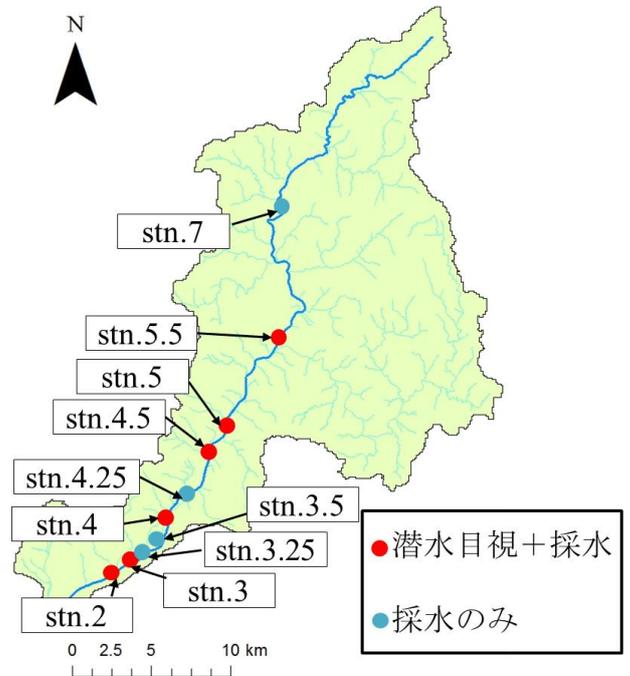


図-1 調査地点

2. 現地観測概要

(1) アユの現存量予測モデルの構築

山口県の一級河川である佐波川の 10 地点を対象に（図-1）、2015 年 5 月 28 日、7 月 30 日、10 月 7 日の 3 回調査を行った。各地点ともに、必ず瀬を含む縦断(上下流)方向約 80m の調査範囲を定め、約 15m 間隔で河川の横断方向に 6 ラインを設定し、潜水目視調査を行った。調査ではラインごとのアユの密度を明らかにし、6 ラインを平均することにより、各地点の密度(n/m^2)とした。また、密度(n/m^2)とアユの平均体重(g/n)を乗ずることで平均重量(g/m^2)とした。なお、アユの平均体重は乾^りによる平均体重調査の結果を用いた。

アユの湿重量と物理環境との関連性を明らかにするためのモデルには一般化線形モデル(GLM)を用い、構築した。目的変数に各月、各ラインにおけるアユの湿重量、説明変数に各月、各ラインにおける流速および河口からの距離を用いた。なお、AIC が最も低いモデルをベストモデルとして選択した。

(2) 環境 DNA 分析

潜水目視調査と同時、調査地点に含まれる瀬の下流側で表層水の採水(1L)を行った。サンプルは冷蔵状態で保管し、当日中に濾過作業を行い、フィルターは冷凍保存した。冷凍保存したフィルターから DNA を抽出後、リアルタイム PCR 法でアユ特異的な DNA を定量化した。

(3) 環境 DNA の空間解像度の検討

存量予測モデルを、iRIC ソフトウェアを用いて算出した流れ場の結果に外挿することにより、佐波川の直轄区間内におけるアユの現存量推定を行った（図-2）。その結果を用いて、各調査地点の採水ポイントから上流に 25m、50m、100m、200m、400m、800m、1600m、3200m、6400m におけるアユの平均推定現存量を算出し、各調査

地点の環境 DNA 量との関係性を単回帰分析によって調べた。

3. 結果

(1) アユの現存量予測モデル

AIC(赤池情報量基準)に基づくベストモデルを以下に示す。なお、流速は V 、河口からの距離は D である。

$$5 \text{ 月} = 11.67854 \times V - 0.00068 \times D + 7.08046$$

$$7 \text{ 月} = 22.66232 \times V - 0.00088 \times D + 6.735$$

$$10 \text{ 月} = 20.22196 \times V - 0.00095 \times D + 8.7625$$

各月の現存量予測モデルから算出される予測値と実測値を単回帰分析した結果、7月の精度が 0.4495 と最も高く、次いで10月で 0.3564、また、5月が最も低く 0.2095 であった。

(2) アユの現存量と環境 DNA の関係

図-3 に潜水目視調査から得られた重量と環境 DNA 量の関係性を示す。なお、今回は紙面の都合上7月のみの結果を示している。R²値が5月では 0.845、7月では 0.747、10月では 0.961 となり、すべての月で高い値を示した。これらの結果から、環境 DNA 量とアユの現存量とは高い相関があることが示された。

(3) 環境 DNA の空間解像度の検討

図-4 に、7月における採水地点から上流の区間毎の平均推定現存量と環境 DNA 量の単回帰分析の結果(R²)を示す。採水地点からの距離が大きくなるにつれて決定係数が高くなる傾向は各月とも同様であったが、5月は 200m 以降で決定係数がほとんど変化せずに 1600m でピーク(0.6661)を迎えた。7月は 800m でピーク(0.6759)を迎え、10月では 400m でピーク(0.9134)を迎えた。7月および10月の現存量予測モデルの精度は5月よりも高かったことから、環境 DNA の空間解像度は、採水地点からおおむね 400m から 800m 範囲内の密度を反映したものと予想される。

4. まとめ

本研究により、環境 DNA 分析は、アユの定量化が可能だけでなく、生息場の季節変化をも捉えることが出来る可能性のある手法であることが示された。環境 DNA は河川の生物モニタリング手法として非常に有用であると言える。本研究手法を他の分類群まで発展させることにより、河川生態系の網羅的な把握が可能になることが期待される。

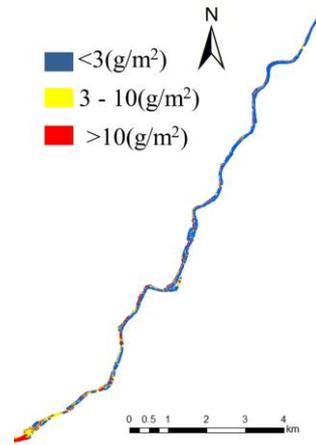


図-2 アユの現存量推定 (7月)

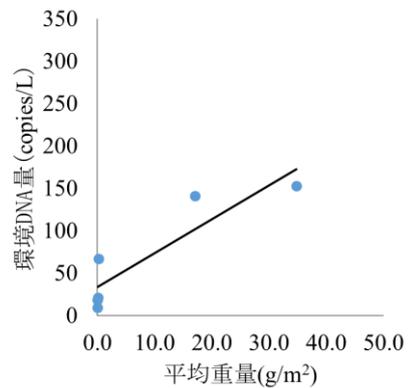


図-3 重量と環境 DNA 量 (7月)

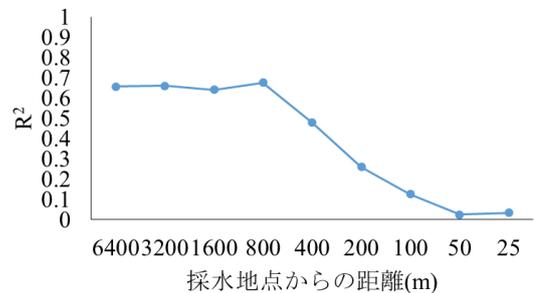


図-4 環境 DNA 量の推移 (7月)