

令和元年6月13日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07951

研究課題名(和文) eDNAを用いた農業水路系における生物多様性分析手法の開発

研究課題名(英文) Development of Biodiversity Analysis Method using eDNA in Agricultural Drainage Canal

研究代表者

森 淳(Mori, Atsushi)

北里大学・獣医学部・教授

研究者番号：10414418

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：eDNA(環境DNA)は、水などに含まれるDNAを分析することにより、水域に生息する生物種を推定する方法である。研究が進められていない農業排水路に生息する魚類などを分析する手法の開発を目的とした。外来生物であるブルーギルが閉鎖系水域から揚水される水とともに移動していると考え上流の溜池でeDNAを分析したところ、ブルーギルDNAが検出された。アユDNA量の経時変化から、その年の稚魚の遡上ピークは5月下旬から6月上旬と推定された。一方、生息個体数が多い種のeDNAが検出されない、逆にほとんど生息していない種のDNA量が多く検出されるなど、今後の課題も明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで知見が乏しかった農業水路系におけるeDNAの分析を行い、有用な知見を得た。アユを対象とした分析ではDNA量から稚魚の遡上ピークを把握することができた。一方、魚類生息調査のデータが蓄積されているいさわ南部地区の原川における分析では、ほとんど生息しておらず同時に行った採捕調査でも採捕された魚類のDNA量が他の優占種より多く検出されるなど、今後の課題も明らかになった。今後これらの課題を解決することにより、農業水利施設における魚類等の調査に適用した、eDNAを用いた効率的な生息調査が可能になる。

研究成果の概要(英文)：Environmental DNA is a method to estimate the species living in water by analyzing the DNA contained in the water. Since little research has been done on agricultural water utilization facilities, we aimed to develop an analysis method for fish that inhabit agricultural drainage channels. Bluegill is invasive alien species. Assuming that Bluegill is carried with irrigation water pumped from the lake, we analyzed eDNA in the upstream reservoir where this water is poured. As a result, this kind of eDNA was detected in two out of four places. From the end of May to the beginning of June, the juvenile peak was estimated from the time-dependent change of the ayu DNA amount. On the other hand, eDNA of an individual having a large number of individuals was not detected, and conversely, DNA of a species having a small number of individuals was sometimes detected in large quantities. Such problems with eDNA have also become apparent.

研究分野：農村生態工学

キーワード：eDNA 農業農村整備事業 農業排水路 魚類 環境配慮

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

農業農村整備事業における環境配慮対策の生物調査では、事業着工前後における生物個体の捕獲調査が用いられている。この手法は、調査経費や時間がかかるのみならず、現象をスナップショットとして捉えることから、調査結果がいつもそこで起きている事象であるという証左にはなり得るという保証はなく、確実性に欠ける。

2. 研究の目的

環境 DNA を農業農村整備事業における環境配慮対策の生物生息を類推する手法として用いることが可能かを検証したうえで、その実用化に向けて、特に農業水利施設における生息場特性に配慮した評価手法を開発する。

3. 研究の方法

研究準備 (調査地区選定)、サンプリングおよび分析、指標種のプライマーの開発、eDNA による最適種多様性評価手法の開発、安定同位体特性と種多様性の関係解析およびとりまとめからなる。

4. 研究成果

本稿では 2018 年度における調査結果を概括する

(1) 調査地点の概要

原川は国営農地再編整備事業「いさわ南部地区」の幹線排水路である。従来水田のみならず山林流域からの排水を流下させる土水路だったが、事業によってコンクリート三面張り水路に改修される予定だった。しかし豊かな魚類など水生動物に恵まれた原川を生態系に配慮した整備を行うべきだとの気運が高まり、ミティゲ ション 5 原則における「除外」を含む配慮がなされることとなった。

本研究における調査地点は A から I の 9 地点で行った。調査地点の位置を図 1 に示す。A 地点はコンクリート 3 面張り水路で施工され、その上流側も同様の工法で施工されている。A 地点の直上流および B と間には高さ 1.5m 程度の落差工が設置され、魚類の遡上は不可能である。

B 地点は小林堤 (溜池) の脇に位置し、本事業の前歴事業によって水路底を土砂のままとする 2 面張りで施工されている。C 地点はコンクリート 3 面張り水路である。D 地点は落差工の代わりに勾配を急にすることで魚類の移動分散に配慮した区間であり、溪流のような景観を呈している。D の直上流までから今回の調査地点の最下流である G 地点までは 2 面張りで施工されている。E 地点、F 地点は eDNA 採取のために設置した。G 地点は水路幅を拡幅した「幅広水路」と称されている区間である。

H 地点は小林堤の上池、I 地点は小林堤の下池である (図 2)。上池の水は塩ビ管を通して下池に流下している。下池の余水は B 地点の下流に放流されている。

(2) 調査方法

2018 年 8 月に定置網を用いた採捕調査と eDNA 分析のための採水を A、D、G、H、I の各地点で、2018 年 12 月に採水を B、C、D、E、F、G の各地点で行った。

(3) 過去の採捕調査の結果

研究代表者は 2003 年より原川において魚類調査を行っており、特に 2013 年～2016 年にかけては定置網を用いた採捕調査をほぼ定期的に行ってきた。図 3 に 4 年間の B (小林堤脇)、D (急流落差工)、G (幅広水路) における種別総個体数を図 1 に示す。

原川の優占種はアブラハヤ、ギバチである。またモツゴも比較的多く生息している。タナゴ類 (タイリクバラタナゴ、アカヒレタビラ) も生息している。この 3 地点以外の全ての採捕地点の中で最も多く捕されたのは幅広水路だった。



図1 調査地点位置図



図2 溜池付近の調査地点位置図

(4)eDNA の解析結果 (2018年8月)

地点別の種別 eDNA を図 4 に示す。地点別に示す。モツゴは小林堤の上下池 (H, I) でのみ検出されたドジョウは新堤脇 (A) で最も多く検出された。

地点別にリード数を見ると、原川の 3 地点ではいずれにおいてもドジョウが検出された。最も多くの種が検出されたのは急流落差工だった。優占種のアブラハヤは幅広水路で最も多く検出された。優占種のギバチは急流落差工で検出され、幅広水路でもわずかに検出された。溜池では小林堤 (上池) で複数種が検出されたが下池で検出されたのはモツゴのみだった。

今回アブラハヤは幅広水路 (G) でのみ採捕され eDNA も検出されたが、eDNA は採捕されなかった急流落差工でも検出された。ドジョウは最もリード数が多かったのは新堤脇 (A) だったが、今回は採捕されなかった。急流落差工、幅広水路では採捕されたものの、eDNA は検出されなかった。溜池では小林堤の上池、下池とも採捕されたが、eDNA が検出されたのは上池のみだった。

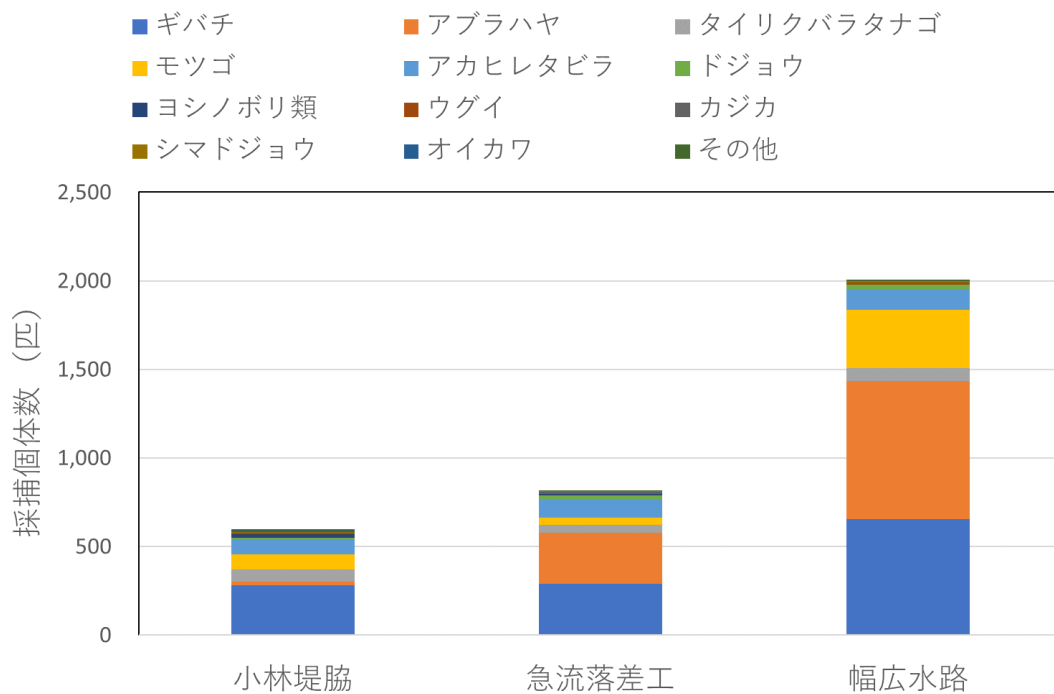


図3 2013年から2016年の採捕総個体数

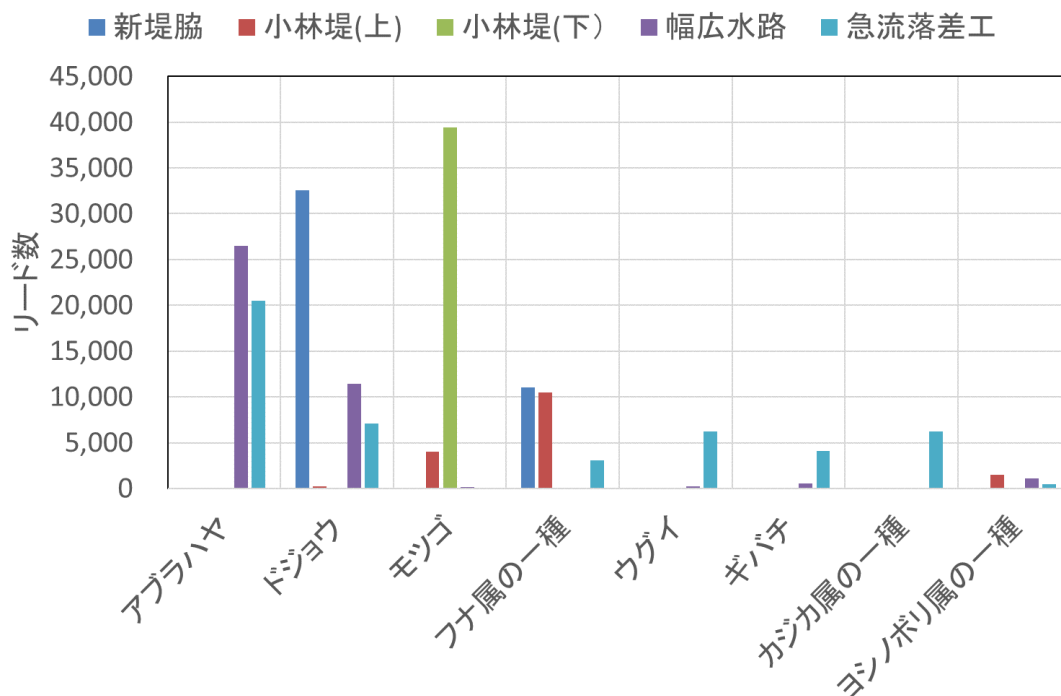


図4 主な採捕種の地点別リード数

モツゴは新堤脇以外の地点で採捕されたが eDNA が検出されたのは小林堤(上池, 下池) だけだった。フナ属は新堤脇, 急流落差工, 小林堤(上池)で eDNA が検出されたが, 今回の採捕調査では採捕されなかった。ウグイも eDNA が急流落差工, 幅広水路で検出されたがいずれの採捕地点でも採捕されなかった。ギバチは急流落差工と幅広水路で採捕され, eDNA も検出された。タイリクバラタナゴは幅広水路で採捕されたが eDNA は検出されなかった。

(5)eDNA の解析結果 (2018年12月)

2018年12月は流下に伴う eDNA の変化を把握することとし, 積雪のため採捕調査は行わなかった。アブラハヤはいずれの地点でも多いリード数を示した。ウグイ, キンプナも同様だった。

ギバチは小林堤脇と急流落差工の間(C)で最も少なかった。

4. 考察

過去の採捕調査によれば、原川に生息する魚類はアブラハヤ、ギバチ、モツゴである。タイリクバラタナゴもこれらに比べて少ないものの、広範に生息している。

アブラハヤのリード数は8月調査、12月調査とも多く、これまでの採捕調査結果と整合している。

本研究と別に2019年5月に行った採捕調査では、急流落差工直下でアブラハヤ304匹とともにギバチ97匹が採捕された。過去の調査でも急流落差工にはギバチが多く生息していることが確認され、ここが繁殖地の一つであると考えられる。これまでに採捕されたギバチの多くは体調が5cm以下の稚魚であり、リード個体数が採捕個体数と比例しているとは限らないが、体長が小さいことはリード数が多かったアブラハヤも同様である。本研究で本種のeDNAは8月調査では急流落差工と幅広水路で、12月調査ではいずれの地点でも検出されたが、リード数がアブラハヤに比べて少なかった理由は不明である。

モツゴのeDNAは8月調査では水路の3地点では検出されなかった。12月調査でもリード数が少なかった。過去の採捕調査では個体数は少ないものの小林堤脇、急流落差工、幅広水路のいずれでも採捕されており、eDNAが生息状況を表しているとは考えにくい。

同様にタイリクバラタナゴもアブラハヤ、ギバチに比べると個体数は少ないものの、原川の広範に生息しているにもかかわらず8月調査では検出されなかった。12月調査でも幅広水路で検出されたのみである。本種もeDNAが生息状況を表しているとは考えにくい結果となった。

一方フナ類は過去の調査では全期間、全地点を合計して12匹採捕されたのみである。ウグイも20匹採捕されたのみである。しかし両種のeDNAは8月調査、12月調査ともアブラハヤに次いで多く検出された。ドジョウについてもかなりのリード数を示したが、採捕調査で多く確認される種ではない。ドジョウは過去に新堤脇において一度に155匹採捕されたことがあった。この採捕地点は上流を含めてコンクリート3面張り水路であり、ドジョウの繁殖は不可能と考えられることから、流域の水田から流下したものと考えられる。しかし採捕調査で採捕されなかったこと、フナ類は採捕されたことがないことから、eDNA分析の問題である蓋然性が強い。

小林堤は上池、下池がつながっており、また下池にもドジョウ、フナ属が生息しているにも関わらず、下池では両種とも検出されなかった。これらの不整合の原因も明らかではない。

農業水路におけるeDNAの減衰の程度も今後の課題である小林堤脇から急流落差工まで目視で踏査したが、魚影は確認できなかった。アブラハヤのリード数は減少すると考えたが、逆に多い値となった。小林堤と急流落差工の間(C地点)ではモツゴ以外の種のDNAが検出された。モツゴは小林堤(下池)から流入する水にDNAが含まれていたと考えればC地点までの間に分解されて検出されなかったとも考えられるが上記の原因は不明である。

このように本研究のうち原川で採水して分析したeDNAは、アブラハヤを除き生息状況を明確に示しているとは言えず、特に、ほとんど生息していない種が検出された原因を解明する必要がある。

最後に、2016～2017年度の共同研究者だった農研機構農村工学研究部門の小出水規行博士、過去の採捕調査を共に行い、結果を取りまとめていただいた農研機構農村工学研究部門の渡部恵司博士に深謝の意を表す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

森 晃, 小出水規行, 森 淳, 守山拓弥: 農村生態系配慮にむけた新しい調査・分析手法, 農業農村工学会誌, 86(11), 59-64 (2019)(査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

小出水規行 渡部恵司: 環境 DNA を利用したアユ稚魚の遡上モニタリング, 平成 30 年度農業農村工学会大会講演会(2018)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 小出水 規行 (2017 年度まで)

ローマ字氏名: Noriyuki KOIZUMI

所属研究機関名: 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

部局名: 農村工学研究部門

職名: 企画管理部企画連携室長

研究者番号(8桁): 60301222

(2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。