

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03623

研究課題名(和文)環境DNAを用いた回遊性魚類分布推定と河川工作物の影響評価

研究課題名(英文) Environmental DNA survey for estimating migratory fish distribution and evaluating impacts of river structures

研究代表者

荒木 仁志 (Araki, Hitoshi)

北海道大学・農学研究院・教授

研究者番号：20707129

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では水を汲むだけで魚の分布を推定できる環境DNA技術を用いて、地域特異性の高い回遊性魚類の生物分布や移動、河川工作物の影響を解明することを目的とした。その結果、希少種イトウやシシャモの自然分布・個体群動態が明らかになったほか、本州に次ぐ面積を有する北海道全域を網羅する解析で>50種の魚類分布が明らかとなった。また、河川のダム・堰堤がサケ科魚類の地域絶滅の原因となった可能性や、魚道設置が実際に魚の上下移動を可能にした結果も併せて示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は環境DNAという新しい技術を用いることで、広域・多河川における複数種の魚類の分布や生態を短期間で科学的かつ網羅的に把握できる可能性を示した。これらの生物の中には絶滅危惧種や希少種のほか、ニジマスやブラウントラウトといった侵略的外来種も含まれており、今後これらの生物の実態をより正確かつ迅速に把握できるモニタリングシステムの構築が可能となることが示唆された。また河川工作物の改良計画時にも有用な生態学的情報を提供する手法として発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed environmental DNA detection systems for understanding distribution and movement of migratory fish species and evaluating impacts of river structures on them. We found that hidden distributions of endangered Sakhalin taimen and Shishamo smelt and their migratory patterns, as well as Hokkaido-wide distributions of >50 freshwater and anadromous fish species including invasive fish species. Together with estimations of environmental parameters, our results suggested that dams and weirs cause local extinctions of salmonid species and that development of fish ladder had positive effects on fish migration.

研究分野：保全遺伝学

キーワード：環境DNA 希少種 外来種 生物分布 河川工作物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 淡水、海水を問わず、魚類に代表される水圏生物の多くは回遊性を有し、生活史の中で目的や成長段階に応じてその生息場所を変える。更に、魚類は捕食・被食の両面で水圏生態系維持に深く関与しており、回遊魚は食物連鎖を介して森・川・海を繋ぐ物質循環の要の役割を担っている。しかし、我々は彼ら回遊魚の分布や季節性動態、河川工作物が彼らに与える影響について、ごく限られた知識しか有していない。

(2) 水圏生物の分布・生態解明には様々な障害がある。河川や湖沼、海洋の環境変動を測定する技術が日進月歩であるのに対し、水圏生物の生態解明は依然として捕獲網や電気ショッカーに頼るところが大きい。この手法では定期的な調査には多大な労力がかかる上、その結果は調査者のスキルや専門知識にも大きく左右される。まして希少種や外来種ともなると、その発見すらままならないことが多い。

(3) そこで本研究では捕獲や目視に頼らず魚類分布を推定可能な「環境 DNA 技術」を用い、回遊魚の実態解明を目指す。野生生物の周辺には水、空気、土壌といった環境媒体が存在するが、近年この環境媒体、特に河川水などの環境水中に検出可能な量の DNA (以下、環境 DNA) が存在することが分かってきた。これを解析することで捕獲に依らず、周辺に生息する水圏生物の存在が分かる。初期の環境 DNA 解析では特定種の検出に限られていたが、近年の研究により、一度に数百もの魚類相解析が出来る系へと飛躍的な発展を遂げつつある。この技術は申請者らによって回遊性魚類にも応用され、河川・湖沼の魚類生息分布を高感度で検出するツールとしても注目されつつある。

2. 研究の目的

本研究では環境 DNA 解析を用いた淡水魚の分布解析技術を確立し、イトウ、シシャモのような希少種はもとより、サケマスのような水産有用種、同じく回遊性魚類であるアユ、ワカサギといった様々な魚類の分布を淡水・汽水域で網羅的に解明することを目的とした。また、これらの生物の季節動態を探ると共に、ダムや堰堤といった人工河川横断工作物が彼らの回遊性や分布に与える影響について評価することも併せて目的とした。

3. 研究の方法

(1) 環境 DNA サンプルング

主に 2017~2018 年度にかけて、共同研究先である国立環境研究所のほか、様々な地域・団体の協力の下、北海道内約 250 の河川において河川水サンプルング調査を実施し、環境 DNA をトラップするためのろ過作業を行った。この際、河川水温や採水日時、塩濃度、現場周辺の生物目視情報等も併せて記録し、その後の解析に供した。また、これまでに当研究室で収集した北海道内河川由来の環境 DNA サンプルに加え、(独) さけます内水面水産試験場において先に実施した絶滅危惧種イトウ (*Parahucho perryi*) を用いた水槽実験時の環境 DNA サンプルについても同様に分析し、本技術の検出感度・定量性に関する検証と実践を並行実施した。

(2) 環境 DNA 分析手法の確立

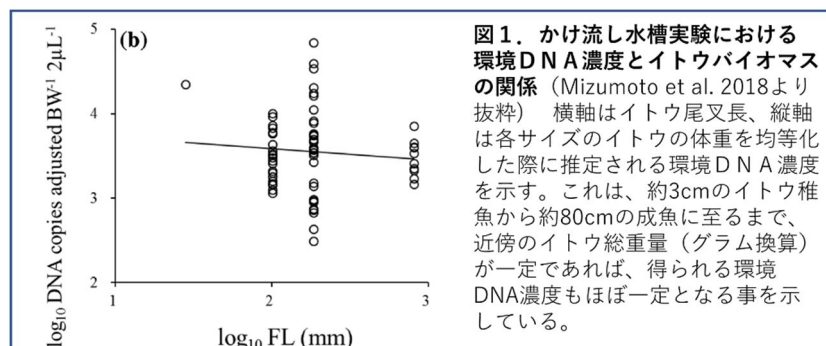
環境 DNA 分析手法については世界的な関心の下、近年飛躍的な発展を遂げつつある。特にこの三年間では使用するろ紙の種類から DNA 抽出・増幅技術、解析用のアルゴリズムに至るまで大きく様変わりした。このため研究室で保管していた過去のサンプルについては比較の為 GF/F というガラスメンブレンを用いた従来の分析手法で統一しつつ、新規サンプルについてはステリボックスというカートリッジ式ろ紙を用いた最新の分析手法を用いて解析を行った。

更に、環境 DNA 技術の定量性については Q-PCR 技術を用いて種特異的な DNA 検出を試みると共に、同じサンプルでも魚類相を推定する際には次世代シーケンシング技術を用いた環境 DNA メタバーコーディング解析を行った。これにより、河川間の生物相比較と回遊魚など、特定種の量的な比較を同一の環境 DNA サンプルから行うことが出来、より広域・多種の魚類分布を効率的に推定することが可能となった。

4. 研究成果

(1) 絶滅危惧種イトウの環境 DNA 定量性検証

イトウは現在、国内では北海道の限られた河川にしか生息しない絶滅危惧種で、IUCN のレッドリストにおいても最も絶滅リスクの高い CR に指定されている。我々はイトウの国内分布を



正確に把握し、その個体群動態や回遊性を明らかにするため、その第一歩として水槽実験を用いた環境 DNA の定量性検証を行った。その結果、検出された環境 DNA 濃度は流水系の飼育環境においてもイトウの個体数や体サイズに比例して上昇することが分かった (Mizumoto et al. 2018)。更にグラム換算の体重当たりの環境 DNA 濃度は 3-80cm と体サイズに大きな開きがある個体間でも一定性が保たれており、野外においてもイトウの環境 DNA 濃度からバイオマスを推定可能であることが示唆された (図 1)。これに基づき道内 120 地点について河川水を分析したところ、少なくとも 7 河川からのイトウ DNA 検出が見られ、その中にはイトウの生息記録がない河川も含まれることが分かってきた (Mizumoto et al. *in review*)。合わせて全道のイトウ生息数は親魚換算で少なくとも 2000 尾は下らないことや、現存するイトウ生息河川では特に下流域における緩やかな流れが維持されており、農地開発が抑制された傾向も明らかになりつつある。

(2) 水産有用種シシャモの自然分布と河川産卵遡上時期の推定

シシャモ (*Spirinchus lanceolatus*) は水産有用種であると同時に日本の北海道太平洋岸にしか分布しない日本固有種である。近年その漁獲量が減少する一方、産卵遡上の実態はよく分かっていない。そこで我々は特に漁獲量の減少が著しい胆振日高地方の河川でシシャモの産卵遡上期に当たる 11 月に複数回環境 DNA 調査を行い、自然分布と産卵遡上期の推定を行った。その結果、シシャモは二週間前後のごく限られた期間、河川に遡上して産卵し、その後すぐに海域に戻っていることが明らかとなった (Yatsuyanagi et al. 2020)。また、この時期に同時調査を行った 4 河川のうち 3 河川からシシャモ環境 DNA の検出が見られた (図 2)。このうち鶴川を除く 2 河川ではシシャモの種苗放流が行われておらず、またシシャモ遡上に関する記録も無いことから、シシャモの自然再生産は小規模ではあるがこの地域の複数河川で時期をずらしながら行われていることが示唆された。シシャモに関しては自然再生産後の沿岸域における生息環境と回遊についても環境 DNA を用

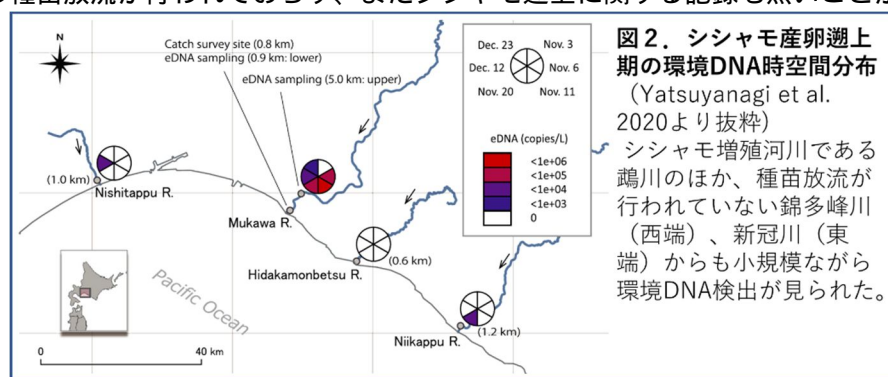


図 2. シシャモ産卵遡上期の環境 DNA 時空間分布 (Yatsuyanagi et al. 2020 より抜粋)
シシャモ増殖河川である鶴川のほか、種苗放流が行われていない錦多峰川(西端)、新冠川(東端)からも小規模ながら環境 DNA 検出が見られた。

いて解析を行い、温度依存的な離岸の可能性を明らかにした (Yatsuyanagi & Araki *in review*)。

(3) 全道魚類相の推定と河川工作物のサケマス分布への影響

環境 DNA メタバーコーディングを用いた 250 河川における魚類相推定により、実に 50 種超の淡水魚・回遊魚に関する全道分布が明らかになった。この中には希少種であるエゾホトケ (*Lefua nikkonis*) のほか、ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)、ブラウントラウト (*Salmo trutta*) やソウギョ (*Ctenopharyngodon idella*) といった侵略的外来種も含まれる (Araki et al. *in prep.*)。

加えて回遊性魚類であるサケマス類への河川横断工作物の影響も明らかとなった。例えば道南地方の 30 河川においてはダムによって分断されたアメマス (*Salvelinus leucomaenis*) 個体群の 1 割が過去 15 年間に地域絶滅を起こしており、地域絶滅を起こした河川は個体群が現存する河川に比べ、ダム上流域の流域規模が有意に小さいことが分かった (Morita et al. 2019)。アメマスについては河川が分断され、水位が低下すると稚魚の生残と定着に大きく影響する事も示されたほか (Miyamoto and Araki 2019)、魚道設置等の河川工作物改良が上下流への魚の移動に好影響を与えることも併せて示されている (Hayamizu et al. *in prep.*)。

本研究で環境 DNA 解析に供したサンプルのうち、約 40 が世界自然遺産・知床半島に位置する河川由来であった。これらサンプルについては特に慎重に河川工作物の影響を評価するため、独自に開発したサケ科種判別用メタバーコーディングプライマーを用いた追解析を行った。その結果、半島内のほぼ全ての河川から北海道を分布南限とするオシヨロコマ (*Salvelinus malma*) の DNA 検出が見られる一方、道内ではメスが全て降海することが知られるサクラマス (*Oncorhynchus masou*) では DNA 検出の見られない河川が不均一に分布しており、河口近くの砂防堰堤が本種の産卵遡上と定着を阻害している可能性が示された (Araki et al. *in prep.*)。

上記メタバーコーディング解析において思わぬ副産物もあった。例えばフクドジョウ (*Barbatula oreas*) は全道大多数の河川でその DNA が検出されるが、環境 DNA 検出に用いられた遺伝子領域に多数の種内多型を有しており、種内多型・系統地理学解析に応用可能な要素を含んでいた。またシロザケ (*Oncorhynchus keta*) は秋から冬にかけて道内河川に産卵遡上するが、遡上数の多い河川では環境 DNA 技術を用いて種内変異の判別が可能であり、捕獲に頼らず環境 DNA を用いて個体群間の系統解析が出来る可能性が示唆されている。これらの可能性については更に複数の分子マーカーを用いて検証し、今後新たな研究展開を目指したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yatsuyanagi Tetsu, Ishida Ryotaro, Sakata Masayuki K., Kanbe Takashi, Mizumoto Hiroki, Kobayashi Yumi, Kamada Shoko, Namba Satoko, Nii Hisaya, Minamoto Toshifumi, Araki Hitoshi	4. 巻 2
2. 論文標題 Environmental DNA monitoring for short term reproductive migration of endemic anadromous species, Shishamo smelt (<i>Spirinchus lanceolatus</i>)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental DNA	6. 最初と最後の頁 130 ~ 139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/edn3.50	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyamoto Kouta, Araki Hitoshi	4. 巻 840
2. 論文標題 Effects of water depth and structural complexity on survival and settlement of white-spotted charr (<i>Salvelinus leucomaenis</i>)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hydrobiologia	6. 最初と最後の頁 103 ~ 112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10750-019-3887-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Morita Kentaro, Sahashi Genki, Miya Masaki, Kamada Shouko, Kanbe Takashi, Araki Hitoshi	4. 巻 840
2. 論文標題 Ongoing localized extinctions of stream-dwelling white-spotted charr populations in small dammed-off habitats of Hokkaido Island, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hydrobiologia	6. 最初と最後の頁 207 ~ 213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10750-019-3891-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mizumoto Hiroki, Urabe Hirokazu, Kanbe Takashi, Fukushima Michio, Araki Hitoshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Establishing an environmental DNA method to detect and estimate the biomass of Sakhalin taimen, a critically endangered Asian salmonid	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Limnology	6. 最初と最後の頁 219 ~ 227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10201-017-0535-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 H. Araki, H. Mizumoto and T. Kanbe
2. 発表標題 Environmental DNA for studying intra-specific variations
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒木仁志
2. 発表標題 オール北海道：北海道を舞台にした環境DNA研究
3. 学会等名 環境DNA学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒木仁志
2. 発表標題 北海道における環境DNAを用いたサケ科魚類のモニタリング
3. 学会等名 日本魚類学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hitoshi Araki
2. 発表標題 Environmental DNA methods as a monitoring tool for understanding salmonid fishes
3. 学会等名 北太平洋溯河性魚類委員会 (NPAFC) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hitoshi Araki
2. 発表標題 Environmental DNA for fish monitoring in the wild
3. 学会等名 北太平洋海洋科学機関 (PICES) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Mizumoto, K. Ikeda, and H. Araki
2. 発表標題 Understanding the distribution and biomass of Sakhalin taimen using environmental DNA
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒木仁志, 水本寛基, 神戸崇, 鎌田頌子, 南波聡子
2. 発表標題 環境DNAを用いた北海道河川魚類相の解明と展望
3. 学会等名 環境DNA学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒木仁志
2. 発表標題 環境DNAを用いた魚類分布・資源量推定の実例紹介
3. 学会等名 環境アセスメント協会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒木仁志
2. 発表標題 環境DNA技術を用いた水圏生物相推定および河川横断工作物影響評価の可能性
3. 学会等名 魚道研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒木仁志
2. 発表標題 環境DNAを通して観る北海道の水圏生物
3. 学会等名 第47回北洋シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水本寛基・荒木仁志・宮正樹
2. 発表標題 環境DNA技術を用いて回遊魚イトウの分布を探る
3. 学会等名 第47回北洋シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 荒木仁志
2. 発表標題 環境DNAを用いた水圏生物研究
3. 学会等名 流域環境研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 荒木仁志
2. 発表標題 環境DNA
3. 学会等名 魚類系統研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水本寛基・荒木仁志
2. 発表標題 環境DNAを用いたイトウの分布調査速報
3. 学会等名 魚類系統研究会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 荒木仁志、宮正樹、池田実、矢部衛	4. 発行年 2018年
2. 出版社 文一総合出版	5. 総ページ数 7
3. 書名 生物学者，地球を行く「北の海に未知なる生命を求めて－環境DNAの挑戦」	

1. 著者名 荒木仁志、水本寛基	4. 発行年 2018年
2. 出版社 生物研究社	5. 総ページ数 5
3. 書名 海洋と生物 [環境DNAを通して観る北海道の水圏生物]	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	福島 路生 (Fukushima Michio) (10291048)	国立研究開発法人国立環境研究所・生物・生態系環境研究センター・主任研究員 (82101)	