

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：82101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K12141

研究課題名(和文) 淡水魚の食性解析による食物網を介した放射性セシウム移行経路の解明

研究課題名(英文) Investigation of radiocesium transfer using metabarcoding diet analysis in freshwater fish

研究代表者

石井 弓美子 (Ishii, Yumiko)

国立研究開発法人国立環境研究所・福島地域協働研究拠点・主任研究員

研究者番号：00620402

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、福島第一原発事故後の放射性セシウムで汚染されたヤマメを対象にDNAメタバーコーディング手法を用いて食性解析を行い、ヤマメの餌生物組成を明らかにした。ヤマメの餌生物は季節・ヤマメの体サイズによって異なっており、大きいヤマメほど餌における陸生昆虫の割合が多かった。また、餌に含まれる放射性セシウムの生物利用性(消化管内容物から体組織への移行率)を評価するため、ヤマメを含む淡水魚の消化管内容物と筋肉部の放射性セシウム濃度を調べた。体の大きな魚ほど消化管内容物に対して筋肉部の放射性セシウム濃度が高く、より生物利用性の高い放射性セシウムを含む餌を利用していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果は、福島県において放射性セシウム汚染により利用が制限されているヤマメの陸域・水域からの放射性セシウム取込み経路を推定するための基礎的な知見を提供するものであり、ヤマメ淡水魚の放射性セシウム濃度の将来推定や汚染管理につながると期待される。また、DNAメタバーコーディングを用いたヤマメ食性解析手法の開発により、消化管内容物の形態観察に比べより幅広い分類群、高い解像度で餌生物の季節や体サイズ依存性が明らかになり、生態学的にも興味深い結果が得られた。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the diet of *Oncorhynchus masou* contaminated with radiocesium after the Fukushima Daiichi nuclear power plant accident using DNA metabarcoding method. The diet composition varied with the season and the size of the *O. masou*, with larger *O. masou* having a higher proportion of terrestrial insects in their diet. Additionally, to evaluate the bioavailability of radiocesium (the transfer rate from the digestive tract content to body tissues) in the diet, we examined the radiocesium concentrations in digestive tract contents and muscle tissues of various freshwater fish species, including *O. masou*. The results indicated that larger fish had higher ¹³⁷Cs concentrations in their muscle compared to their digestive tract contents, suggesting that they consume prey containing ¹³⁷Cs with higher bioavailability.

研究分野：放射生態学

キーワード：淡水魚 ヤマメ 放射性セシウム 食物網

1. 研究開始当初の背景

福島県において、淡水魚の放射性セシウム濃度は海水魚よりも高く、2024年現在でも原発近傍の地域では一部の魚種で出荷制限が続いている。淡水魚の放射性セシウム濃度は、同一地点の同一魚種であっても個体間で非常にばらつきが大きいことが、出荷制限や採捕自粛の解除が遅れる一つの原因になっている。したがって、このばらつきに影響を与える要因を明らかにすることは、淡水魚の放射性セシウム濃度推移の予測精度を向上させ、内水面漁業再開の将来展望を得るために重要である。魚の放射性セシウムのほとんどは餌を通して取り込まれることが知られており、魚の餌生物の違いは、放射性セシウム濃度のばらつきの主な要因であると考えられる。

淡水魚の放射性セシウム濃度のばらつきを説明する重要な要因として、淡水魚の体サイズが知られている。一般に大きい個体ほど放射性セシウム濃度が高い傾向にあり、これは体サイズによる餌の組成の違いや体サイズに依存した代謝速度の違いなどが原因と考えられる。しかし、個体レベルの魚の餌組成と放射性セシウム濃度との関係を明らかにした報告は少ない。本研究では、ヤマメを対象とした食性解析により、個体レベルの餌組成と放射性セシウム濃度の関係を解明することを目指した。渓流域のヤマメは陸生昆虫と水生昆虫を主な餌としており、食性解析により陸域・水域それぞれからの放射性セシウム取り込みの寄与について評価することができると考えられる。また、これまで魚類の食性解析は胃内容物の顕微鏡観察による同定が主であったが、形態による餌生物の同定には専門的な技術が必要であり、また消化の影響から種同定が困難な場合がある。そこで本研究ではDNAメタバーコーディングを用いた食性解析手法の開発を行った。さらに、餌に含まれる放射性セシウムの生物利用性(消化管から体組織への移行率)を評価することは、食物網内の栄養段階間放射性セシウム動態を理解する上で重要であるが、これらを検討した研究はほとんどない。

2. 研究の目的

本研究は、福島第一原子力発電所(FDNPP)から北に約20kmに位置する太田川で採取したヤマメを対象に、DNAメタバーコーディングによるヤマメの食性解析手法を検討する。次に、検討した手法を用いたDNA食性解析により、体サイズと季節がヤマメの餌生物組成に与える影響を明らかにし、放射性セシウム濃度との関係を検討する。さらに、魚の餌の放射性セシウムの生物利用性の指標として、ヤマメを含む幅広い魚種で魚の筋肉部の放射性セシウム濃度を消化管内容物の放射性セシウム濃度で割った栄養段階間移行係数(Trophic transfer factor, TTF)の推定を行い、食性の影響を検討する。

3. 研究の方法

(1) DNAメタバーコーディングによるヤマメ食性解析手法の検討

2018年春から冬にかけて福島県太田川にて採取され、冷凍保存されたヤマメを用いてヤマメ食性解析に最適なプライマーの検討を行った(N=13)。解凍したヤマメの消化管を解剖し、内容物を99.9%エタノールで保存した。内容物は主に陸生昆虫と水生昆虫からなり、顕微鏡観察により同定し重量を測定した。乾燥・粉砕した内容物からQIAamp Fast DNA Stool Mini Kit(QIAGEN)を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAについて、MiSeq(Illumina)を用いたDNAメタバーコーディングを行った。1st PCRのプライマーとして、節足動物のcytochrome c oxidase (COI) 遺伝子領域を対象とした4つのプライマーセット(Z: ZBJ-ArtF1c, ZBJ-ArtR2c (Zeale et al. 2011), F: fwhF2, fwhR2n (Vamos et al. 2017), E: fwhF2, EPTDr2n (Leese et al. 2020), B: BF3, BR2 (Elbrecht et al. 2019))を用いて結果を比較した。得られた塩基配列について不要な塩基配列の除去を行い、dada2による解析によりASV配列を得た。各ASV配列に対する分類群の割り当てをclaident及びBOLDからダウンロードした日本の節足動物塩基配列データを訓練データとして用いたIdTaxaをRにて実行し、結果を比較した。

(2) ヤマメ食性解析

2018-2019年の春(4-5月)、夏(8月)、秋(10月)、冬(12-3月)に太田川上流3地点において採取し冷凍保存されたヤマメ114個体について、解剖により消化管を取り出し99.9%エタノールで保存した。粉砕・乾燥した消化管内容物と、筋肉部はゲルマニウム半導体検出器によって¹³⁷Cs濃度を測定した。(1)と同様の方法で消化管内容物からDNAを抽出し、プライマーF(fwhF2, fwhR2n)を用いた1st PCRによる増幅、MiSeq(Illumina)による塩基配列の決定・分析を行った。得られたASV配列に割り当てられた分類群についてリード数から出現データに変換し、各季節の餌生物の出現頻度を目レベルで計算した。ヤマメの餌生物組成を把握するため、非計量多次元尺度構成法(NMDS)による分析を行い、Rのenvfit関数を用いて季節・サイト・ヤマメの大きさとの関係を調べた。また、分類群に対して陸生昆虫と水生昆虫を割り当て、その出現頻度の季節間変動とヤマメの大きさとの関係を検討した。

(3) 淡水魚の TTF(栄養段階間の移行係数)推定

2017-2020 年の春(4-5 月), 夏(8 月), 秋(10 月), 冬(12 月)に、福島県内の真野川・太田川・はやま湖・猪苗代湖で採取された淡水魚を解剖し、ゲルマニウム半導体検出器によって筋肉部と消化管内容物の ^{137}Cs 濃度を測定し、TTF の値を計算した。TTF の値に影響を与える要因として、魚の重さ、季節、生息地(河川/湖)を固定効果、魚種をランダム効果とした一般化混合線形モデルによる解析を行った。

4. 研究成果

(1) DNA メタバーコーディングによるヤマメの食性解析手法の検討

DNA メタバーコーディングでは、いずれのプライマーにおいても顕微鏡による形態観察より多くの分類群を検出した(図 1)。形態観察による同定では種や属のレベルまでの同定は非常に困難であるのに対し、DNA メタバーコーディングではヤマメの餌を種レベルまで同定することが可能であることが確認された。プライマー間で検出分類群数を比較すると、プライマー F (fwfF2, fwfR2n) の検出数が最も高かった。ASV 配列に対する分類群の判定方法を比べると、目~属レベルでは claident、種レベルでは IdTaxa の検出分類群数が多かった。ただし、本実験では種レベルの同定の正確性は評価できず、ヤマメの食性解析においては目・科レベルで幅広い分類群を検出することが重要だと考えられる。これらの結果から、以降の DNA メタバーコーディングによるヤマメ食性解析において、プライマー F (fwfF2, fwfR2n) と claident を用いることとした。

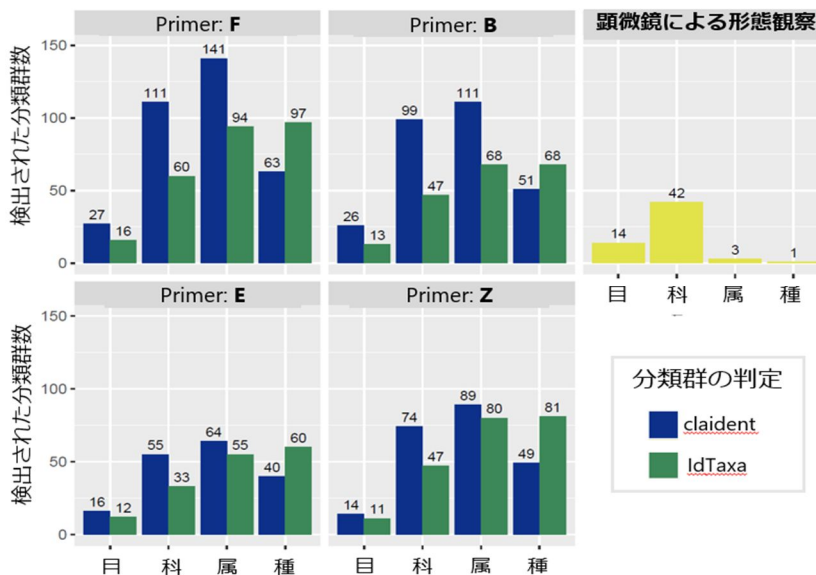


図 1 異なるプライマーと分類群の判定法による検出分類群数の違い

(2) ヤマメ食性解析

DNA メタバーコーディングを用いた食性解析により、形態学的観察よりも高い解像度で、より幅広い分類群の餌を検出した。チョウ目とトンボ目は夏と秋に多く、ハチ目は春夏に高頻度で検出された。チョウ目など体の柔らかい分類群は甲虫等外骨格の硬い生物に比べ消化管内で分解されやすく、解剖時には消化管内に観察されなかったが、DNA メタバーコーディングによる食性解析では高頻度で検出された。また、ヤマメの餌組成は季節・サイト・ヤマメの大きさによって有意に異なっていた。ヤマメの餌に含まれる陸生昆虫の検出割合は季節によって変動し、冬に水生昆虫の割合が大きくなることが確認された(図 3)。陸生昆虫の検出割合はヤマメのサイズによって異なり、大きいヤマメほど陸生昆虫の割合が大きかった。ヤマメでは、体の大きいヤマメほど良い場所を占有し、陸生昆虫を多く食べることが報告されているが、太田川の子ヤマメについても同様の傾向があることが明らかになった。ヤマメの体サイズと筋肉部の ^{137}Cs 濃度には正の相関があり、大きいヤマメほど ^{137}Cs 濃度が高い傾向があった。一方で、餌の陸生昆虫の割合と餌の ^{137}Cs 濃度には有意な関係は見られず、陸生昆虫の割合でヤマメのサイズ効果を説明することはできなかった。今後、採取済みの陸生昆虫と水生昆虫の ^{137}Cs 濃度の分析を進め、ヤマメの ^{137}Cs 取り込みに重要な餌生物について検討を進める予定である。

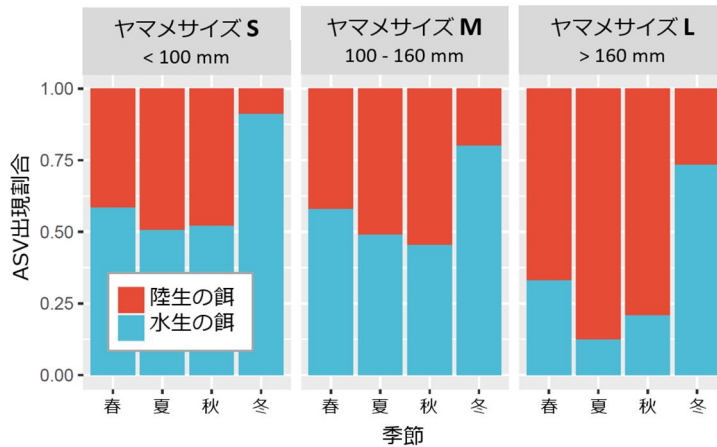


図2 ヤマメのサイズと陸生昆虫の割合

(3) 淡水魚の TTF (栄養段階間の移行係数) 推定

ヤマメの TTF の値は 0.05 から 3 となり、餌よりも高濃度に ^{137}Cs を濃縮している個体があることが明らかになった。ヤマメを含む淡水魚の TTF の値には、魚の重さ・季節・生息地が有意に影響していた。魚の重さと TTF には正の相関があり、大きい魚ほど TTF が大きく、餌の ^{137}Cs 濃度に対して筋肉部の ^{137}Cs 濃度が 6 倍程度まで高くなる傾向が見られた(図3)。コクチバスなど大型の魚の消化管からは小魚や両生類などの餌生物が観察され、これらの餌に含まれる ^{137}Cs の生物利用性が高く、筋肉組織に移行しやすいことが示唆された。一方で、アユなど藻食の魚では TTF は 1 以下であり、餌の ^{137}Cs 濃度に対して筋肉部の ^{137}Cs 濃度が低かった。藻類などには粘土鉱物などの懸濁物質に強く固定された ^{137}Cs も含まれると考えられ、これらの餌に含まれる ^{137}Cs の生物利用性は低く、筋肉部に移行しにくい。これらの魚の食性の違いに加え、魚の ^{137}Cs 取り込み速度と排出速度のバランスによって TTF の値は決まると考えられ、体サイズに依存した代謝速度の違いも影響していると考えられる。

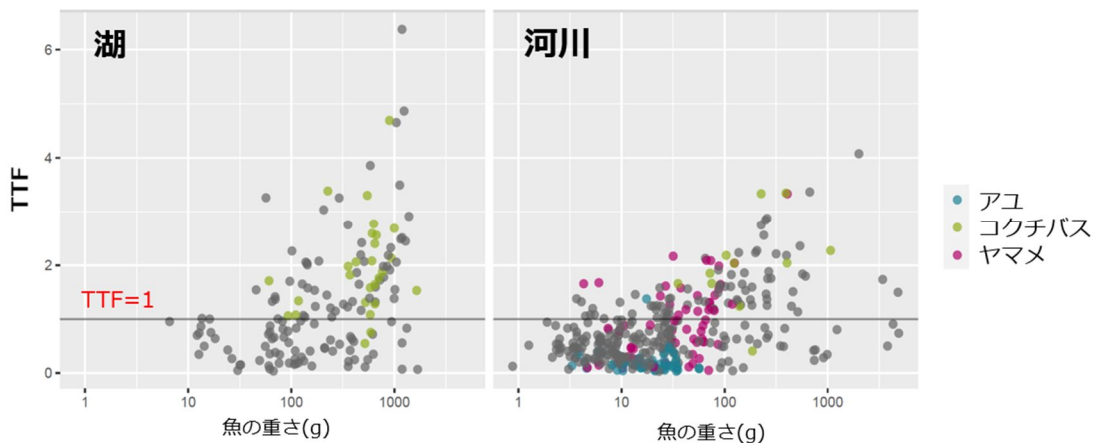


図3 魚のサイズと TTF の関係

< 引用文献 >

1. Zeale MRK, Butlin RK, Barker GLA, Lees DC, Jones G. Taxon-specific PCR for DNA barcoding arthropod prey in bat faeces. *Mol Ecol Resour.* 2011;11: 236-244.
2. Vamos EE, Elbrecht V, Leese F. Short COI markers for freshwater macroinvertebrate metabarcoding. *PeerJ Preprints*; 2017 Aug. Report No.: e3037v2. doi:10.7287/peerj.preprints.3037v2
3. Leese F, Sander M, Buchner D, Elbrecht V, Haase P, Zizka VMA. Improved freshwater macroinvertebrate detection from environmental DNA through minimized nontarget amplification. *Environmental DNA.* 2021;3: 261-276.
4. Elbrecht V, Braukmann TWA, Ivanova NV, Prosser SWJ, Hajibabaei M, Wright M, et al. Validation of COI metabarcoding primers for terrestrial arthropods. *PeerJ.*

2019;7: e7745.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 石井弓美子
2. 発表標題 DNAメタバーコーディングによるヤマメ食性解析.
3. 学会等名 日本陸水学会・水生昆虫談話会共催公開シンポジウム「水生昆虫における環境DNAのいま」（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ishii Y., Miura H., Jo J., Tsuji H., Saito R., Koarai K., Hayashi S
2. 発表標題 Radiocesium bearing microparticles cause a large variation in 137 Cs concentration in the aquatic insect, <i>Stenopsyche marmorata</i> in the Ota River, Fukushima, Japan. European Geoscience Union 2021
3. 学会等名 European Geoscience Union 2021 (vEGU21: Gather Online) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石井弓美子, 趙在翼, 斎藤梨絵, 今藤夏子, 玉置雅紀, 中嶋信美, 金指努, 和田敏裕, 難波謙二, 舟木優斗, 寺本航, 小荒井一真, 林誠二
2. 発表標題 福島県太田川における DNA メタバーコーディングによるヤマメ食性解析.
3. 学会等名 環境DNA学会第4回大会（オンライン）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石井弓美子, JO Jaeick, 今藤夏子, 玉置雅紀, 中嶋信美, 林誠二, 金指努, 難波謙二, 舟木優斗, 寺本航, 早乙女忠弘, 小荒井一真, 斎藤梨絵, 和田敏裕
2. 発表標題 DNAによるヤマメ食性解析手法の検討
3. 学会等名 第68回日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石井弓美子, 三浦輝, 辻英樹, J0 Jaeick, 和田敏裕, 金指努, 難波謙二, 寺本航, 舟木優斗, 早乙女忠弘, 斎藤梨絵, 小荒井一真, 林誠二
2. 発表標題 水生昆虫において発見された高線量放射性セシウム粒子
3. 学会等名 2020年度ERAN年次報告会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 J0 Jaeick, 石井弓美子, 斎藤梨絵, 和田敏裕, 難波謙二, 金指努, 舟木優斗, 寺本航, 早乙女忠弘, 小荒井一真, 林誠二
2. 発表標題 福島県南相馬市の太田川河川生態系における無脊椎動物類への放射性セシウムの移行
3. 学会等名 第22回環境放射能研究会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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	和田 敏裕 (Wada Toshihiro) (90505562)	福島大学・環境放射能研究所・教授 (11601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------