

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2023

課題番号：20K22426

研究課題名（和文）出水時の環境DNA動態に着目した河川水域と河畔域の生物相モニタリング手法の開発

研究課題名（英文）Verifying the flush regime of environmental DNA and developing monitoring methods for aquatic and terrestrial biotas

研究代表者

内田 典子（Uchida, Noriko）

東北大学・災害科学国際研究所・助教

研究者番号：50876464

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は降雨を利用した集水域の水生・陸生無脊椎動物の生物多様性を同時かつ効率的に調査する手法の開発を目指すものである。野外において降雨の開始前から開始後まで連続的に採水を行い、また異なる降雨強度による差異を検討する予定だったが、複数人での調査に関する実施制限が続いた影響を受け、2回の降雨イベントのみ実施できた。河川水への雨水流入開始時点は電気伝導度の減少を指標とした。その結果、環境DNAによる塩基配列多様性は降雨水影響開始後から1時間後に増加しはじめ、陸生昆虫由来塩基配列も影響開始から時間が経過するほど増加する傾向が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

河川から提供される水資源や水質浄化機能は、私たちの生活に不可欠であり、これらの生態系サービスは多様な生物により構成された河川生態系の存在によるものである。陸上や水中など生態系を横断して生物多様性を把握することは、必要となる調査技術や種同定の専門性が高く労力が大きいことから、長期的かつ十分な頻度の観測が現実的ではない。本研究の成果は、河川を取り巻く水中・河畔環境を主とした水生・陸生生物の多様性に対する網羅的かつ効率的な把握戦略を示すものであり、汎用性の高い生物モニタリング手法の確立に貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to develop a method to simultaneously and efficiently survey aquatic and terrestrial invertebrate biodiversity in catchments using rainfall. Although we planned to conduct continuous water sampling in the field from before to after the onset of rainfall and to study differences due to different rainfall intensities, only two rainfall events could be conducted due to the effects of ongoing enforcement restrictions on multi-person surveys. The time point at which rainwater starts to enter the river water was indexed by the decrease in electrical conductivity. The results showed that sequence diversity from environmental DNA began to increase one hour after the start of rainfall water inflow and sequence from terrestrial insects also tended to increase with time after rainfall.

研究分野：Freshwater ecosystem

キーワード：rainfall terrestrial freshwater environmental DNA macroinvertebrates

1. 研究開始当初の背景

水域・河畔域に生息する無脊椎動物は、河川生態系の中核であり、健全な河川環境の維持に不可欠である(図1)。しかし、水域・河畔域の生物相を同時に把握するためには、調査範囲を拡大すること、それぞれに適した調査技術や分類種同定の専門性を要することから、時間・労力・経済的コストが大きい。このため、河川環境における水・河畔域の生物相に関する十分なデータを得ることが困難である。よって、水・河畔域の生物相を迅速かつ簡便に調査する手法の開発が必要である。

生物調査の省力化において、環境DNAは現在最も有力な手段の一つである。環境DNAとは、水や土壌などから検出できる、生物細胞由来のDNAである¹⁾。河川水から抽出したDNAの塩基配列を網羅的解析により、水・陸に生息する生物を直接採集・同定することなく、その在不在を調べることができる。

河川では出水時において水・陸間の物質移動が発生する。このため、陸域に住む生物のDNAも出水時に水域へと多く運搬されると考えられ、出水時は陸域の生物種を検出するのに好適な機会である可能性が高い。しかし、出水時における環境DNAの動態を調べた例はほぼない²⁾。

参考文献：1) Rees et al., *J. Appl. Ecol.*, 2014; 2) Staley et al., *Sci. Rep.*, 2018



図1 研究の概念図

2. 研究の目的

出水時における河川水中の環境DNAの動態に着目し、河川環境における水生・陸生生物の統合的なモニタリング方法の確立を目的とする。この目的の達成のため、2つの小課題を設定した。1つ目は平水時・増水中・増水後において、環境DNAによる水・陸生生物種数および種構成を評価し、水域に対する河畔域DNAの割合が最大化するタイミングや、生物相の変化パターンを明らかにすることである。2つ目は複数の出水イベントを対象として、出水前・中・後において環境DNAの観測を行うことで、水・陸生種検出種数の変化様式を明らかにする。また、群集構造は出水前後で戻るのか、異なるのかについて、出水規模の違いにより明らかにすることである。仮に出水時において検出率が大きく異なるのであれば、これまで絶滅したとされていた種の再発見や、ヒアリなど侵略的外来種の早期発見、水・陸一体的な生物多様性の精確な把握・保全に繋がることが期待される。

3. 研究の方法

調査地点は、集水域の土地利用が森林のみである宮城県内の地点を選定した。2022年7月初旬に発生した3日間総雨量22mmの降雨を対象として、降雨開始・中・後にかけて調査を実施し、計15時点*3反復の計45サンプルを収集した。環境DNAサンプルは1時点あたり河川表面水1Lずつを採取し、孔径0.45μmのステリベクスフィルターとシリンジによって加圧濾過した。同時に水温、pH、電気伝導率(EC)、溶存酸素濃度(DO)を測定した。収集したサンプルはDNA抽出、PCR阻害物質除去処理、ライブラリ調整を行い、昆虫相の解析に頻繁に利用されるユニバーサルプライマー(mlCOIintF-jgHC02198、ミトコンドリアDNA、COI領域、増幅断片長313bp)を用いて超並列塩基配列解析(メタバーコーディング)を行った。

4. 研究成果

降雨水が河川水に流入すると電気伝導度の顕著な低下が観測されることから、1日目16:45を降雨水の影響開始時点とした(図2b)。メタバーコーディング分析結果のうち、昆虫網Insectaに同定された塩基配列群(ZOTU)のみを抽出し、昆虫網全体の多様性を示した。その結果、降雨影響開始後1時間後に多様性のピークが現れ、翌日以降も同程度の多様性が維持された(図2c)。さらに、生活環のなかで水中生活を必須とする5目レベル分類群(カゲロウ目、トビケラ目、カワゲラ目、トンボ目、ヘビトンボ目)およびハエ目5科(カ科、ヒメガガンボ科、ブユ科、ガガンボ科、ユスリカ科)、コウチュウ目3科(ゲンゴロウ科、ダルマガムシ科、マルハナノミ科)に同定された塩基配列を水生昆虫、その他7目レベル分類群(カメムシ目、ハチ目、チョウ

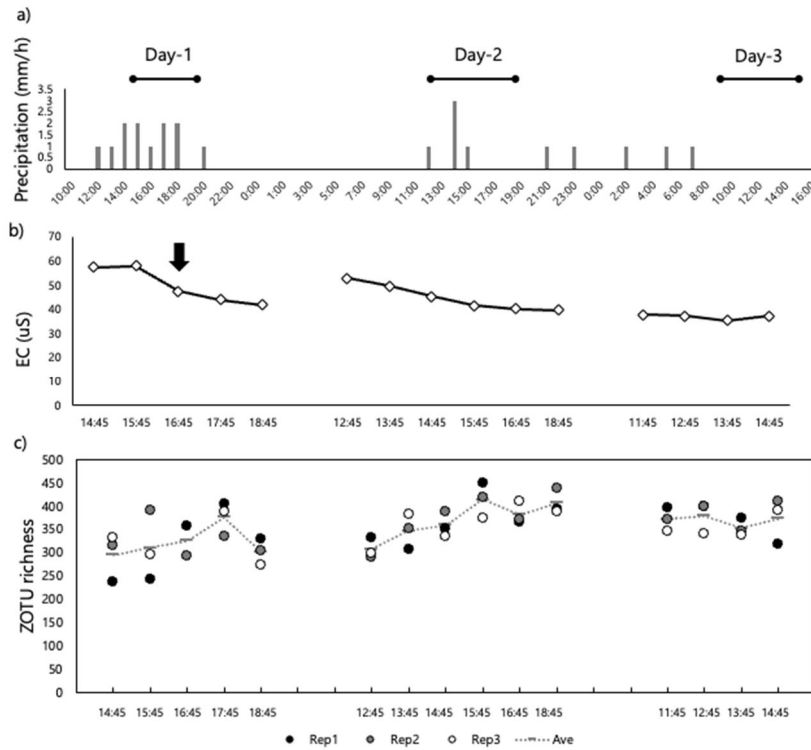


図 2 . a) 調査時期の時間降雨量, b) 電気伝導度と降雨影響開始時点 (黒矢印), c) 昆虫網 Insecta 全体の ZOTU 多様度 (多様性)

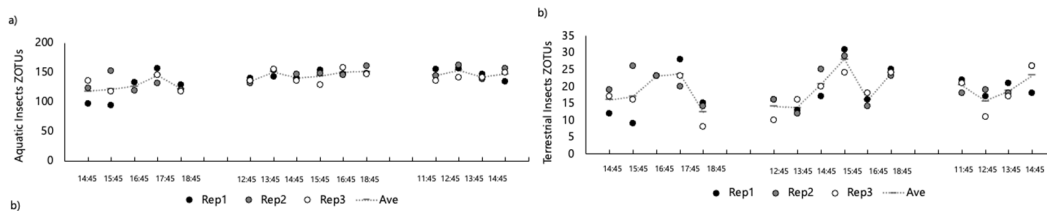


図 3 . a) 水生昆虫, b) 陸生昆虫の検出種数の推移

目, チャタテムシ目, バッタ目, アザミウマ目および先述以外のハエ目) に同定された塩基配列を陸生昆虫と区分し, 検出種数の時間推移を観察した (図 3a-b). 水生昆虫 DNA はおおむね昆虫網全体と同様の増減傾向を示した. 一方, 陸生昆虫の検出種数は降雨発生から時間が経過するほど増加していく傾向が見られ, とくに降雨が再開した 2 日目 16:45 において最多となるなど, 水生種と陸生種で多様性の検出ピークが異なる可能性が示された. 他方, 検出種数の割合としては水生昆虫由来の平均 39.6%, 陸生昆虫由来は平均 5.31%, その他を未分類の塩基配列が占めたことから, 検出割合の遷移については課題が残る結果となった. また, 電気伝導度が降雨前と同程度に戻るまでの長期的なサンプリングには至らなかったことから, 追加調査を実施したが, 研究期間中にデータ解析まで至らなかった. 本研究は今後も継続し, 当初の研究目的を達成する予定である.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Noriko Uchida
2. 発表標題 What is happening during rainfall?
3. 学会等名 The eDNA society International Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------