

# 環境 DNA 技術を用いた魚類モニタリング調査手法の検討

環境科学課 生物担当

## 1 はじめに

本市では博多湾環境保全計画を推進するための現状把握・施策評価の一環として、能古島及び志賀島のアマモ場にて捕獲による魚類のモニタリング調査を行っている。近年、環境 DNA メタバーコーディング法を用いた魚類のモニタリング調査手法が開発されており、捕獲調査に劣らない精度を持つことが報告されている<sup>1)</sup>。今回、前述した魚類の捕獲調査と環境 DNA メタバーコーディング法による調査（以下、「環境 DNA 調査」とする。）を同時に行い、結果を比較したため報告する。

## 2 方法

### 2.1 調査地点及び調査時期

博多湾に位置する能古島及び志賀島のアマモ場 2 地点（図 1）において、魚類の捕獲調査及び環境 DNA 調査を同時に行った。調査は、年 4 回の頻度で大潮の干潮時に行った。



図 1 調査地点

### 2.2 令和元年度～令和 2 年度調査

#### 2.2.1 調査日

原則として、魚類の捕獲調査及び環境 DNA 調査を同時に行った。能古島調査は、令和元年 10 月 11 日、令和 2 年 1 月 10 日、4 月 22 日及び 7 月 19 日に行った。ただし、令和元年 10 月 11 日の調査では捕獲調査のみを実施し、環境 DNA 調査は令和元年 11 月 11 日に実施した。

志賀島調査は、令和元年 10 月 13 日、令和 2 年 1 月 11 日、4 月 23 日及び 7 月 20 日に行った。ただし、令和 2 年 1 月 11 日の調査では捕獲調査のみを実施し、環境 DNA

調査は令和 2 年 1 月 24 日に実施した。

#### 2.2.2 調査方法

##### 1) 捕獲調査

アマモ場を中心に地引網（長さ 10 m、高さ 1.5 m、目合 1 mm）を用い、約 30 m の距離を 2 回引網して魚類を捕獲した。

##### 2) 環境 DNA 調査

###### (1) 採水

捕獲調査を行ったアマモ場の中心で表層水をあらかじめ次亜塩素酸ナトリウム溶液で除染したポリエチレン製の容器に 1 L 採水し、DNA 分解抑制のため 10%塩化ベンザルコニウム液を 1 mL 添加した。

###### (2) 分析

採水した試料は、外部検査機関に環境 DNA メタバーコーディング法による分析を依頼した。プライマーは MiFish-U<sup>2)</sup> 及び MiFish-E<sup>2)</sup> の混合プライマーを使用した。

分析結果から得られた代表配列のうち、リード数が 100 未満のものは除外し、BLAST 検索結果の塩基配列の相同性が 97%以上合致した魚種の中から、過去の生息状況調査の結果を考慮して検出魚種を判断した。魚種間で MiFish 領域の配列に差がなく、複数種候補がある場合は、検出された魚種の分布域と過去の捕獲調査結果から種を特定した。魚種の分布域と過去の捕獲調査結果から特定できない場合は、属名までの識別又は複合種群とした。

### 2.3 令和 3 年度調査

#### 2.3.1 調査日

環境 DNA 調査は、能古島で令和 3 年 4 月 28 日、7 月 21 日、10 月 20 日、令和 4 年 1 月 18 日、志賀島で令和 3 年 4 月 26 日、7 月 22 日、10 月 21 日、令和 4 年 1 月 17 日に実施した。捕獲調査は能古島および志賀島ともに令和 3 年 4 月 26 日、7 月 22 日、10 月 19 日、令和 4 年 1 月 17 日に実施した。

#### 2.3.2 調査方法

##### 1) 捕獲調査

2.2.2 1)と同様の方法で行った。

##### 2) 環境 DNA 調査

###### (1) 採水

捕獲調査を行ったアマモ場周辺の 5 か所にて、表層水及び底層水を 1 L ずつ採水し混合した後、ステリベクス（孔径 0.45 μm, Merck）を用いて、最大 1 L 現地でもろ過を行った。ろ過後はステリベクス内の水分を除去し、

DNA 分解防止のため RNAlater™ Solution (Thermo Fisher Scientific) を 2 mL 添加した。実験室に持ち帰った後、-20℃で凍結させたものを試料とした。

## (2) 分析

2.2.2 2) (2)と同様の方法で行った。

## 3 結果

### 3.1 令和元年度～令和2年度調査

表1に能古島、表2に志賀島で確認(検出)された種数を示す。また、表5、6に両調査で確認(検出)された魚種の一覧を示す。一致率は、捕獲調査の確認種に対する環境DNA調査の検出種の比率であり、捕獲調査で確認された種を環境DNA調査でどの程度検出できたかを示している。

能古島では、捕獲調査で21種、環境DNA調査で40種が確認(検出)された。志賀島では、捕獲調査で26種、環境DNA調査では17種が確認(検出)され、環境DNA調査で検出された種の方が少なく、能古島とは異なる傾向だった。一致率は能古島で0～62%、志賀島で0～42%の範囲だった。

### 3.2 令和3年度調査

表3に能古島、表4に志賀島で確認(検出)された種数を示す。また、表7、8に両調査で確認(検出)された魚種の一覧を示す。能古島では、捕獲調査で22種、環境DNA調査では34種、志賀島では、捕獲調査で32種、環境DNA調査で33種が確認(検出)された。両地点とも環境DNA調査の検出種数の方が多かった。一致率は能古島で25～50%、志賀島で0～63%の範囲だった。

表1 能古島調査結果(令和元年度～令和2年度調査)

能古島	R1.10	R2.1	R2.4	R2.7	種数
捕獲確認種数	10	2	7	13	21
環境DNA検出種数	16	24	6	14	40
両調査で確認(検出)	3	0	2	8	12
一致率	30%	0%	29%	62%	57%

表2 志賀島調査結果(令和元年度～令和2年度調査)

志賀島	R1.10	R2.1	R2.4	R2.7	種数
捕獲確認種数	15	8	10	12	26
環境DNA検出種数	3	7	5	9	17
両調査で確認(検出)	0	1	3	5	8
一致率	0%	13%	30%	42%	31%

表3 能古島調査結果(令和3年度調査)

能古島	R3.4	R3.7	R3.10	R4.1	種数
捕獲確認種数	10	8	10	4	22
環境DNA検出種数	10	19	24	6	34
両調査で確認(検出)	5	3	5	1	14
一致率	50%	38%	50%	25%	64%

表4 志賀島調査結果(令和3年度調査)

志賀島	R3.4	R3.7	R3.10	R4.1	種数
捕獲確認種数	8	22	8	5	32
環境DNA検出種数	6	17	21	5	33
両調査で確認(検出)	1	7	5	0	14
一致率	13%	32%	63%	0%	44%

## 4 まとめ

能古島及び志賀島のアマモ場において、地引網による魚類の捕獲調査と環境DNAメタバーコーディング法を同時に行い、結果の比較を行った。捕獲調査の確認種に対する一致率は0～63%の範囲であり、捕獲調査で確認されたが環境DNA調査では検出されなかった種が見られた。一方で、捕獲調査で確認されなかったが環境DNA調査で検出された種も見られた。また、環境DNA調査の検出種数は採水地点を増やすほど、一地点あたりの採水回数を増やすほど増加することが報告されている<sup>3)</sup>。今後は環境DNA調査の検出種数の向上並びに捕獲調査との一致率向上に向け、採水方法や分析結果の解析方法について検討していく。

## 文献

- 1) 北川哲郎, 他: 河川水辺の国勢調査(魚類)における環境DNAメタバーコーディング解析の適用事例分析, 河川技術論文集, 第26巻, 319～324, 2020年6月
- 2) 一般社団法人環境DNA学会: 環境DNA調査・実験マニュアル Ver. 2.2, 61～62, 2020年4月
- 3) 環境省自然環境局生物多様性センター: 環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き 第2版, 53～56, 2021年6月

表5 令和元年度～2年度調査結果（能古島）

科名	種名	R1.10		R2.1		R2.4		R2.7		種数	
		捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA
アイゴ	アイゴ	○	●						●	○	●
アイナメ	クジメ		●		●	○		○	●	○	●
アカエイ	アカエイ		●								●
アジ	マアジ				●						●
	ヒラマサ				●						●
イサキ	イサキ				●						●
	コショウダイ				●						●
イソギンボ	イダテンギンボ		●								●
	イソギンボ		●								●
ウナギ	ニホンウナギ				●						●
ウミタナゴ	ウミタナゴ属		●		●	○		○	●	○	●
カタクチイワシ	カタクチイワシ						●				●
カレイ	マコガレイ						●				●
カワハギ	アミメハギ	○		○		○		○		○	
	カワハギ							○		○	
	ウマヅラハギ				●						●
キス	シロギス	○			●					○	●
ゴンズイ	ゴンズイ	○	●					○	●	○	●
ササウシノシタ	ササウシノシタ	○								○	
サバ	サワラ				●						●
シマイサキ	シマイサキ								●		●
スズキ	スズキ					○	●			○	●
スズメダイ	オヤビッチャ				●						●
タイ	クロダイ		●		●				●		●
	マダイ				●						●
タウエガジ	ダイナンギンボ		●		●						●
トウゴロウイワシ	トウゴロウイワシ								●		●
ニシキギンボ	ギンボ					○				○	
ニシン	サツバ属		●								●
ネズッコ	ハタタテヌメリ				●						●
ハゼ	ニクハゼ							○		○	
	シロウオ	○								○	
	ヒメハゼ	○		○				○	●	○	●
	ツマグロスジハゼ	○								○	
	スジハゼ	○						○	●	○	●
	アカオビシマハゼ		●		●		●	○	●	○	●
	ヒモハゼ				●						●
ハタ	アカイサキ				●						●
ヒイラギ	ヒイラギ				●				●		●
ヒメジ	ヒメジ							○		○	
フグ	トラフグ属	○	●		●	○	●	○	●	○	●
ベラ	イラ				●						●
ボラ	ボラ		●		●		●		●		●
ミシマオコゼ	ミシマオコゼ				●						●
メジナ	メジナ				●			○	●	○	●
メバル	メバル属					○				○	
ヨウジウオ	ヨウジウオ		●					○		○	●
	タツノオトシゴ		●								●
	サンゴタツ		●								●
計		10	16	2	24	7	6	13	14	21	40

表 6 令和元年度～2年度調査結果（志賀島）

科名	種名	R1.10		R2.1		R2.4		R2.7		種数	
		捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA
アイゴ	アイゴ	○						○	●	○	●
アイナメ	クジメ					○		○	●	○	●
アカエイ	アカエイ		●								●
アジ	マアジ				●						●
イソギンボ	ニジギンボ							○		○	
	ナベカ								●		●
	ホシギンボ								●		●
ウシノシタ	クロウシノシタ				●					●	
ウミタナゴ	ウミタナゴ属	○						○	●	○	●
カジカ	アナハゼ					○		○		○	
	アサヒアナハゼ					○				○	
カタクチイワシ	カタクチイワシ	○			●					○	●
カワハギ	アミメハギ	○		○				○	●	○	●
	カワハギ	○						○		○	
	ヨソギ	○								○	
キス	シロギス	○								○	
ゴンズイ	ゴンズイ	○				○	●	○		○	●
シマイサキ	シマイサキ	○								○	
	コトヒキ			○						○	
スズキ	スズキ				●						●
タイ	クロダイ		●		●				●		●
タウエガジ	ダイナンギンボ						●				●
	タウエガジ			○						○	
タカノハダイ	タカノハダイ					○				○	
ニシキギンボ	ギンボ			○		○				○	
ハオコゼ	ハオコゼ	○		○						○	
ハゼ	シロウオ	○								○	
	ヒメハゼ	○		○						○	
	スジハゼ					○		○		○	
ヒイラギ	ヒイラギ							○		○	
フエダイ	シロダイ	○								○	
フグ	トラフグ属	○		○	●	○	●	○	●	○	●
ボラ	ボラ		●		●		●		●		●
メバル	メバル属					○	●			○	●
ヨウジウオ	ヨウジウオ	○		○		○		○		○	
計		15	3	8	7	10	5	12	9	26	17

表 7 令和3年度調査結果（能古島）

科名	種名	R3.4		R3.7		R3.10		R4.1		種数	
		捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA
アイゴ	アイゴ			○			●			○	●
アイナメ	クジメ	○			●					○	●
アカエイ	アカエイ				●		●				●
イソギンボ	イダテンギンボ						●				●
	イソギンボ				●						●
	ナベカ				●			●			●
ウミタナゴ	ウミタナゴ属	○	●		●		●			○	●
カジカ	アナハゼ	○								○	
カタクチイワシ	カタクチイワシ		●				●				●
カレイ	マコガレイ		●		●			●			●
カワハギ	アミメハギ			○	●		●			○	●
キス	シロギス					○	●			○	●
ゴンズイ	ゴンズイ				●		●				●
サヨリ	サヨリ		●								●
スズキ	スズキ	○		○			●		●	○	●
	ヒラスズキ		●								●
タイ	クロダイ				●		●				●
	ヘダイ				●		●				●
	キチヌ						●				●
タウエガジ	ダイナンギンボ						●				●
	タウエガジ			○						○	
	ムスジガジ							●			●
ツバクロエイ	ツバクロエイ				●					●	
トウゴロウイワシ	トウゴロウイワシ				●		●			●	
ニシキギンボ	ギンボ	○	●							○	●
ニシン	サッパ属						●				●
ネズッコ	ネズミゴチ・ヌメリゴチ・ヨメゴチ複合種群				●		●				●
ハゼ	ニクハゼ	○		○						○	
	シロウオ					○				○	
	ヒメハゼ	○	●			○	●	○		○	●
	ツマグロスジハゼ					○				○	
	スジハゼ				●			○		○	●
	アカオビシマハゼ				●	○	●			○	●
モヨウハゼ						●				●	
ヒイラギ	ヒイラギ				●	○	●		●	○	●
フグ	トラフグ属	○	●	○	●		●	○	●	○	●
ボラ	ボラ		●		●		●				●
メジナ	メジナ			○	●		●			○	●
メバル	メバル属	○	●				●			○	●
ヨウジウオ	ヨウジウオ	○		○		○		○		○	
	ヒメタツ					○				○	
	オクヨウジ					○				○	
計		10	10	8	19	10	24	4	6	22	34

表 8 令和3年度調査結果（志賀島）

科名	種名	R3.4		R3.7		R3.10		R4.1		種数	
		捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA
アイゴ	アイゴ			○			●			○	●
アイナメ	クジメ	○		○	●					○	●
アカエイ	アカエイ				●						●
イソギンボ	イソギンボ				●		●	○		○	●
	イダテンギンボ						●				●
	ナベカ				●		●				●
	ニジギンボ			○						○	
ウシノシタ	クロウシノシタ	○					●			○	●
ウミタナゴ	ウミタナゴ属			○	●					○	●
カジカ	アナハゼ			○						○	
カタクチイワシ	カタクチイワシ		●				●				●
カレイ	マコガレイ				●						●
カワハギ	アミメハギ			○		○				○	
	カワハギ			○						○	
キス	シロギス			○	●	○	●			○	●
キュウリウオ	アユ							○		○	
ゴンズイ	ゴンズイ			○	●		●			○	●
サバ	サワラ						●				●
タイ	クロダイ		●		●		●				●
	マダイ			○						○	
タウエガジ	ガズナギ	○								○	
タカノハダイ	タカノハダイ	○								○	
ダツ	ダツ				●						●
トウゴロウイワシ	トウゴロウイワシ				●		●				●
ドチザメ	ドチザメ			○						○	
ニシキギンボ	ギンボ	○								○	
ニシン	コノシロ		●				●				●
	サツバ属						●				●
ネズッコ	ネズミゴチ・ヌメリゴチ・ヨメゴチ複合種群		●	○		○		○		○	●
	セトヌメリ・トビスメリ複合種群								●		●
	ハナビヌメリ								●		●
ハゼ	シロウオ							○		○	
	ヒメハゼ					○		○		○	
	スジハゼ			○		○	●			○	●
	アカオビシマハゼ						●				●
	セジロハゼ				●						●
	シモフリシマハゼ	○								○	
カツワハゼ						●				●	
ヒイラギ	ヒイラギ			○	●					○	●
ヒメジ	ヨメヒメジ			○						○	
ヒラメ	ヒラメ				●						●
フエフキダイ	イトフエフキ					○	●			○	●
フグ	トラフグ属	○	●	○	●	○	●		●	○	●
バラ	キュウセン	○		○		○	●			○	●
	ホンバラ			○	●					○	●
ボラ	ボラ		●				●		●		●
メジナ	メジナ				●		●		●		●
メバル	メバル属			○						○	
	カサゴ			○						○	
ヨウジウオ	ヨウジウオ			○						○	
	タツノオトシゴ			○						○	
計		8	6	22	17	8	21	5	5	32	33