

環境 DNA を活用した関空島周辺の藻場魚類（キジハタ等）の 分布調査法の確立

地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所
主任研究員 辻村浩隆

関空島は生物多様性に配慮した傾斜護岸として造成され、魚類の貴重な生息の場となっている。過去に魚類の分布調査が行われてきたが、コストも時間も掛かる。近年、低コストで行える環境 DNA による魚類分布調査手法が開発され、2017 年度の本助成事業で関空島周辺から環境 DNA の検出に成功した。本研究では環境 DNA の動態を明らかにするため、異なる条件でキジハタを収容した水槽水の測定を行った結果、総全長と環境 DNA 濃度との間に関係が見られ、密度推定に必要な知見を得た。また、異なる時期において関空等周辺の濃度を測定した結果、冬季に表層で濃く、夏季には底層で検出され、分布調査に必要な情報を得た。

キーワード：関空島、環境 DNA、キジハタ

1. はじめに

関空島の周囲には生物多様性に配慮した緩傾斜護岸が造成され、藻場や岩礁域を生息場とする魚類にとって貴重な生息・再生産の場となっているだけでなく、周辺海域へ稚魚を供給し漁業資源の維持増大に貢献していると推測されている。過去には生息魚類の種類や分布、現存量の把握等が行われてきたが、従来の漁具による調査方法はコストも時間も非常に掛かる。そのため、近年では定量的な調査は行われていない。

近年、水を調べるだけで、そこに生息する生物を調べる事が可能な環境 DNA 法が開発された。現時点においては統一的な手法はなく研究者によって様々な手法が試されている。海域での調査事例は少ないが、この手法が確立されれば漁具による手法より低コストで分布が把握できる。また、魚類の活動が低下し漁具に掛らない時期でも環境 DNA であれば把握することでき安定的な調査が可能となる。更に、分布の把握から現存量の推定に発展できる可能性がある。

キジハタ (*Epinephelus akaara*) は大阪府がブランド化を目指している高級魚であり、

大阪府の沿岸海域と関空島周辺海域に生息している。緩傾斜護岸のある関空島周辺海域には、大阪府沿岸の他海域ではあまり認められない大型のキジハタ親魚が数多く生息しており、関空島周辺海域は周辺海域への稚魚の供給源としても期待されている。また、資源増大の取り組みとして、関空島周辺での調査で捕獲されるキジハタを親魚として(公財)大阪府漁業振興基金が種苗生産を行い、大阪府沿岸に稚魚の放流を行っている。

2017 年度に行った本助成事業による研究では多種多様の DNA が混在する海域からキジハタの DNA の検出に成功した。さらに場所による分布密度の高低を反映したと推定される DNA 濃度の濃淡も認められた。そこで本研究では水槽試験による季節や体重の違いによる環境 DNA 濃度を測定、また、海域における季節や水深による DNA 濃度の違いを測定することで、分布密度推定に向けた検証を行う。

2. 材料と方法

2.1 環境 DNA の検出

環境 DNA の検出手法に昨年度本助成事業で確立した手法に沿って行った(辻村、2018)

が、検出力を上げるため PCR 時に加えるサンプル DNA については 2 μ l から 4 μ l とした。

環境 DNA の濃度を測定するため、人工合成 DNA を用いて検量線を作成した。遺伝子データベースから明らかになっている PCR 増幅を行う領域を含む 312bp の塩基配列を人工的に合成した。濃度が分かっている合成した DNA を段階的に希釈し PCR 増幅を行い、検量線の作成を行った。これをスタンダードサンプルとし、各サンプルの濃度を求めた。

2.2 水槽試験

体重別・季節別の環境 DNA 濃度を調べるため、水槽にキジハタを収容し飼育水の採水を行った。試験には（公財）大阪府漁業振興基金栽培事業場が飼育している採卵用親魚を用いた。コンクリート水槽（約 6.5m \times 3.5m \times 1.5m）に大サイズ（体重約 1.5kg）、中サイズ（体重約 1.0kg）、小サイズ（体重約 0.5kg）のキジハタを 1 尾ずつ収容、収容後 6 日目に表層および底層の採水を行った。採水量は 2.5l とし、採水後、ProClin300 を 200 μ l 加えた。サンプル水は濾過を行うまでの間、冷蔵庫にて保管した。季節変化を調べるため試験は 2018 年 7 月～8 月、12 月、2019 年 2 月に行った。

稚魚の環境 DNA 濃度を調べるため、（公財）大阪府漁業振興基金栽培事業場で生産された稚魚（平均全長 80.5mm）を用いて試験を行った。水槽に高密度（合計体重 1,504g、178 尾）、中密度（合計体重 502g、60 尾）、低密度（合計体重 150g、18 尾）になるように収容し、採水およびその他の手法については体重別・季節別の試験と同様に行った。試験は 12 月に行った。

2.3 天然海域からの検出

海域の環境 DNA 濃度を調べるため、関空島周辺に 10 地点の採水地点を設定した（図 1）。8 地点は関空島の岸から 50m 以内、残りの点は 1km 以上離れた場所とした。すべての地点で表層採水を行い、関空二期島近傍の 5 地点（地点番号 4～8）については、中層（水深 10m）および底層（水底から 1m 上層）の採水を行い、計 20 サンプルを得た。採水量は 2.5l とし、サンプル水に ProClin300 を 200 μ l 加えた。サンプル水は温度が上がらないように研究室へ持ち帰り、

濾過を行うまでの間、冷蔵庫にて保管した。季節変化を調べるため、2018 年 7 月 31 日、11 月 28 日、2019 年 2 月 25 日に採水を行った。

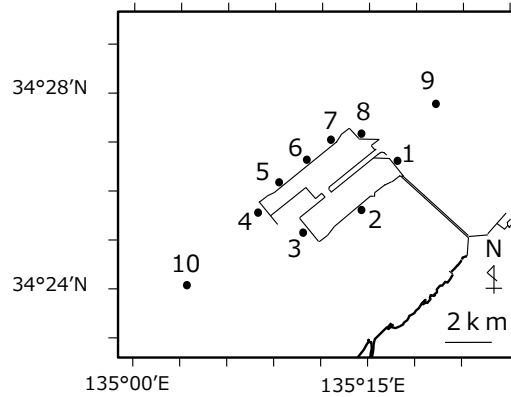


図 1 採水地点

3. 結果と考察

3.1 水槽試験

体重別・季節別の試験結果を図 2 に示した。特異的に高い値が検出されることがあったが、これらを除くと水槽水から概ね 100～200copies/ml の濃度で環境 DNA が検出された。体重および季節の間における明瞭な濃度差は見られなかった。水温が高いほど環境 DNA 放出量が増えると考えられるが、分解速度も速くなるため、今回の試験結果では水槽内の環境 DNA 濃度に季節間の差が見られなかったと考えられた。稚魚の試験結果について図 3 に示した。密度が高いほど環境 DNA の濃度が高くなるが上昇は緩やかになるという関係が確認された。

稚魚と親魚の環境 DNA 濃度の関係を繋げるため、12 月に行った試験結果について水槽内に収容した個体の総全長と環境 DNA 濃度の関係を図 4 に示した。親魚の 2 例で高い値が検出されているが、これらを除くと関係性が見られた。このことから環境 DNA 濃度が分かれば、全長組成データが必要であるものの、天然海域の密度推定が可能であることを示している。

3.2 関空島周辺の環境 DNA 濃度

関空島周辺における表層の DNA 濃度のコンターを図 5 に示した。コンター図から 7 月は関空島北西側、2 月は北側で高くなる傾向が

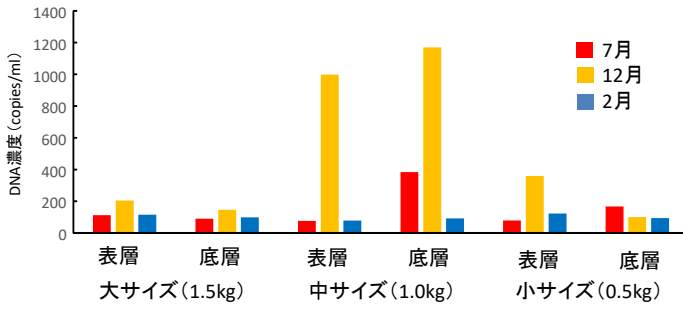


図2 体重別・季節別環境 DNA 測定結果 (親魚・水槽試験)

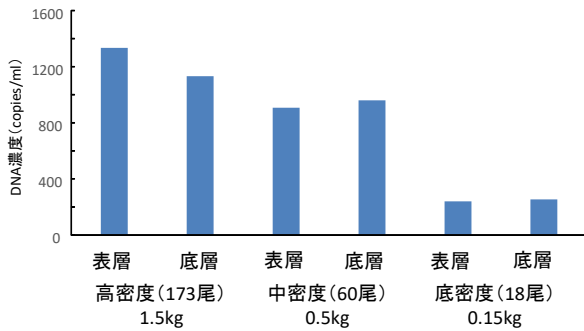


図3 密度別環境 DNA 測定結果 (稚魚・水槽試験)

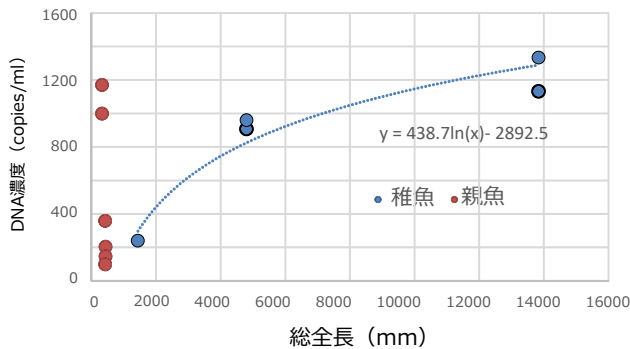


図4 総全長と環境 DNA の関係 (水槽試験)

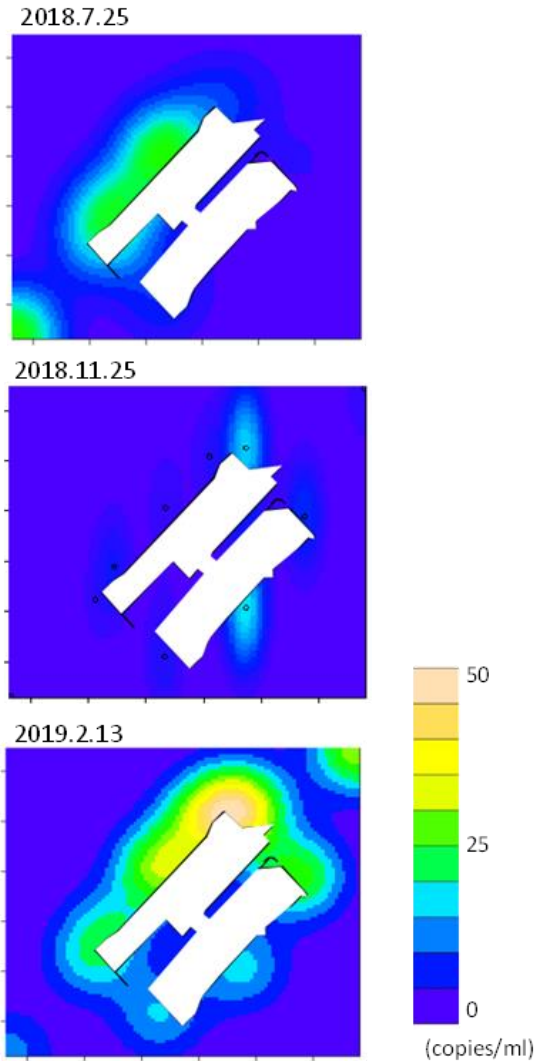


図5 関空島周辺のキジハタの環境 DNA 濃度 (表層コンター図)

見られた。2018年8~10月に行われた籠網によるキジハタの採捕尾数 (関西国際空港株式会社、2019) では関空島北西側で多く採捕される傾向が見られており、環境 DNA の測定結果は実際の採捕結果と矛盾しておらず、分布を反映していると考えられる。

関空島北西側近傍 (地点4~8) における鉛直方向の環境 DNA のコンター図を図6に示した。コンター図から中層で低いこと、夏季は底層と表層で、冬季は表層でも高いことが明らかとなった。キジハタは底層に近い場所に生息しているため、7月に底層で検出されている環境 DNA は表層に比べより生息場所を

強く反映していると考えられた。2月は表層で高く、この値は7月より高い値であった。水温が低いため環境 DNA の分解が遅く保存されていると推察され、密度が低くても検出可能であると考えられた。

水槽試験では季節間の違いが見られなかったが、天然海域では明らかな違いが確認された。水槽実験では給餌を行っておらず、観察している限りではほとんど活動していなかったことなどから、天然状態を再現できていない可能性がある。つまり環境 DNA の放出量はキジハタの行動と関係している可能性があり、この点については課題として残された。

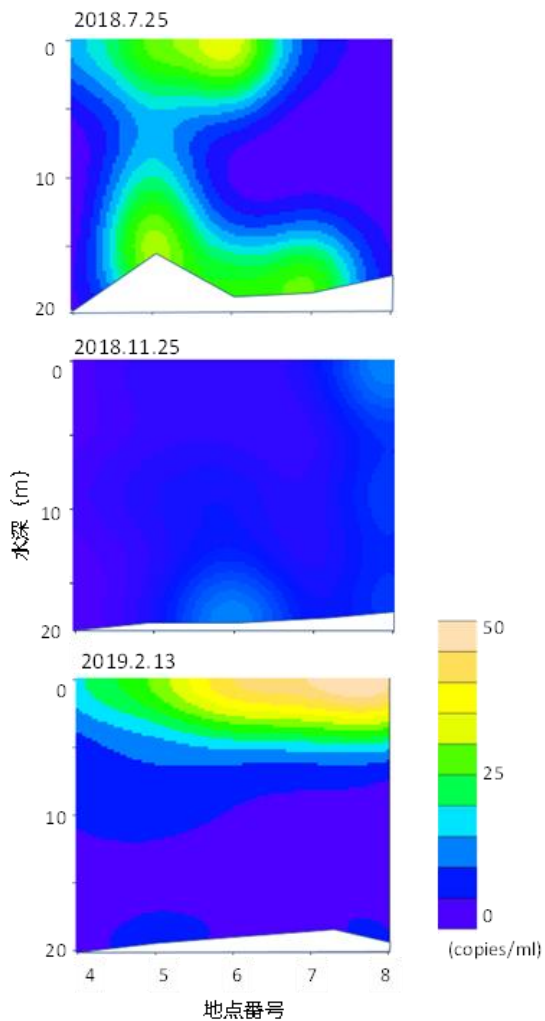


図 6 関空島近傍のキジハタの環境 DNA 濃度 (鉛直カウンター図)

3.3 分布調査手法について

天然海域の環境 DNA 濃度を測定した結果、濃度差の検出も可能であり、籠網による採捕結果と矛盾しないことから相対的な分布密度を調べるには実用的であると考えられる。また、冬季の表層で濃度が高かったことから、分布密度が低くても検出される可能性が高く、分布の有無を調べるにはこの時季が優れていると考えられた。夏季には底層水を採水する作業が必要となるものの、水温が高いため環境 DNA の分解速度が早く、より分布している場所の近傍で検出されるため、詳細な分布を調べるにはこの時季が優れていると考えられた。

水槽試験から分布密度推定につながる知見が得られたが、天然海域の環境 DNA の動態については不明な点が多い。得られた環境 DNA 濃度から密度推定を行う精度を高めるためには更なる知見を積み重ねが必要である。特に今回見られた季節間の濃度の違いは環境 DNA の分解速度が強い影響を与えている可能性が示唆され、詳しく調べる必要があると考えられた。

参考文献

- 1) 辻村浩隆：環境 DNA を活用した関空島周辺の藻場魚類 (カサゴ、キジハタ) の分布調査法の確立. 一般社団法人関西空港調査会 2017 年度調査研究助成事業成果報告書, 2018.

