

河川域の鳥類を対象とした環境DNA解析と観察 調査の比較—那珂川を事例に—

COMPARISON OF ENVIRONMENTAL DNA ANALYSIS AND OBSERVATIONAL SURVEYS FOR BIRD COMMUNITY IN THE NAKA RIVER, JAPAN

田和康太¹・篠原隆佑²・菅野一輝³・村岡敬子⁴・中村圭吾⁵
Kota TAWA, Ryusuke SHINOHARA, Kazuki KANNO, Keiko MURAOKA, and Keigo
NAKAMURA

¹非会員 博 (環境科学) (国研) 土木研究所 水環境研究グループ 河川生態チーム (〒305-8516 茨城県つくば市南原1番地6) ※現所属 (国研) 国立環境研究所 気候変動適応センター 気候変動影響観測研究室 (〒305-0053 茨城県つくば市小野川16番地2)

²非会員 修 (生物資源科学) (国研) 土木研究所 流域水環境研究グループ 流域生態チーム (〒305-8516 茨城県つくば市南原1番地6)

³非会員 博 (農) (国研) 土木研究所 流域水環境研究グループ 流域生態チーム (同上)

⁴正会員 (国研) 土木研究所 流域水環境研究グループ 流域生態チーム (同上)

⁵正会員 博 (工) (国研) 土木研究所 水環境研究グループ 河川生態チーム (同上) ※現所属 (公財) リバーフロント研究所 (〒104-0033 東京都中央区新川1丁目17番地24 NMF茅場町ビル7F)

筆者らは、鳥類、特に多種の水禽類や渉禽類の生息に重要な内陸湿地の一つである河川域に着目し、那珂川 (関東) の様々な環境において、河川表層水中に含まれる鳥類の環境DNAメタバーコーディング解析 (以下、MB解析) を実施した。また同時に実施した鳥類の観察調査の結果と照合することで、各調査方法の特性を比較し、今後の河川域の鳥類相に対するMB解析の有効性について検討した。調査の結果、MB解析と観察調査に共通して生息し、検出された種の特徴として、水面を遊泳する水・渉禽類や待ち伏せ型の採餌方法を得意とする大型渉禽類のサギ類が挙げられた。その一方で観察調査のみで確認された種の特徴として、コチドリやセグロセキレイ、ハクセキレイといった小型かつ水際で探索型の採餌を行う渉禽類や水辺の陸鳥が挙げられた。また、MB解析のみで検出された種や、MB解析でのみ検出されたが、他の時期には観察された種も存在した。以上の結果は、従来の観察調査に加えてMB解析を補完的に実施することにより、対象水域のより網羅的な鳥類相を把握できる可能性があることを示唆するものである。

Key Words: eDNA, bird community, river habitat, water bird, ecotone

1. はじめに

近年、対象水域の生物相を把握するために水域における環境DNA (以下、eDNA) を解析する技術が急速に発展しており、鳥類にもその技術が応用され始めている。例えば、湿地群における水中のeDNA解析により、国際自然保護連合 (IUCN) のレッドリストで絶滅危惧種に指定されているコキンチョウ *Chloebia gouldiae* やクロコクイナ *Laterallus jamaicensis* の新たな生息地の発見に繋がっている^{1,2)}。また、希少種等の特定の鳥類種をターゲットとした解析のみならず、動物園における実験下では多種同時検出法 (メタバーコーディング、以下MB解

析) によって鳥類相を把握できることも明らかになっている³⁾。しかしながら、自然界の水域においてMB解析によって鳥類相を把握し、その妥当性を検証した例は数少ない。千葉県立博物館にある舟田池では、MB解析によってハシビロガモ *Anas chrypeata* やバン *Gallinula chloropus* などの水鳥類のeDNA検出に成功しているが、この調査地では定期的な鳥類のモニタリングが実施されていないため、実際の鳥類の生息状況とMB解析の結果との整合性が検討されていない³⁾。また、チリ南部の49か所の沿岸湿地では、MB解析により31種の鳥類が検出され、そのうち27種が過去に生息の確認された種であったことが示されているが⁴⁾、eDNAの採水のタイミングと鳥類の生息が確認された時期にタイムラグが存在す



図-1 那珂川における5地点のeDNA採水地点とその環境

調査地の背景地図には国土地理院発行の電子国土基本図（オルソ画像）を使用し（https://maps.gsi.go.jp/#14/36.424977/140.428190/&base=std&ls=std%7Cdst%7C_ort%7Ccpp&blend=00&disp=1111&lcd=_ort&vs=c1j0h0k0l0u0t0z0r0s0m0f1&d=m），筆者の田和康太が加工して作成。

る。このように対象水域において鳥類のMB解析と生息状況調査とが同時に実施された例はなく、その有効性が判然としない。

そこで筆者らは、鳥類、特に多種の水鳥類の生息地として重要な内陸湿地の一つである河川域に着目し、那珂川（関東）の様々な河川環境において、河川水中に含まれる鳥類のMB解析を実施した。また同時に実施した鳥類の観察調査の結果と照合することで、各調査方法の特性を比較し、今後の河川域における鳥類相の把握に対するMB解析の有効性について検討した。

2. 調査方法

(1) 採水調査

2021年4月28日ならびに10月28日に那珂川水系那珂川（茨城県水戸市）の合計5地点（20～23kp）において日中（8時～16時）に採水調査を実施した。天候について4月28日は曇り、10月28日は晴れだった。5地点の採水箇所（図-1）の河川環境については、ワンドが2地点、たまりが1地点、淵が1地点、平瀬が1地点であった（図-1）。1名の調査者が各地点で約1,000 mlの河川水を表層から採水した。平瀬以外の4地点については、岸際から採水した。採水日にこれらの5つの試水を10°C以下にて保冷し、土木研究所（茨城県つくば市）の実験室に持ち帰った。

(2) eDNAの抽出・精製とPCR, MB解析

採水日当日に5つの試水それぞれの全量（約1,000 ml）を孔径0.45 μmのメンブレンフィルター（ADVANTEC社）で濾過した。濾過後の残渣からDNAを抽出・精製した。精製にはOneStep PCR Inhibitor Removal kit（ZYMO RESEARCH社）を使用した。精製後のDNAに対し、PCRを実施した。増幅が確認できなかった試料について

は、DNeasy PowerClean Cleanup Kit（QIAGEN社）で再精製したうえで再度PCRを行った。増幅した産物からライブラリの調整を行い、MiSeqシステムおよびMiSeq Reagent Kit v3（Illumina社）を用いて2×300 bp条件下でシーケンシングを行った。プライマーには、鳥類のユニバーサルプライマーであるMibird³⁾（ミトコンドリアDNAの12S-rRNA遺伝子上に設計）を用いた。

FASTX Toolkit（ver. 0.0.14）のfastx_barcode_splitter toolを用いて得られたリード配列の読み始めが使用したプライマー配列と完全に一致するリード配列のみを抽出した。次にQiime2（ver. 2021.4）のdada2プラグインでプライマー配列と末端の120 bp、キメラ配列、ノイズ配列を除去した後、代表配列（OTU：Operational Taxonomic Unit）を取得した。取得した代表配列をNCBI（National Center of Biotechnology Information）の配列データベースに対して、高速な相同性検索（BLASTN ver. 2.9.0）を行い、OTU配列とデータベース配列の一致した塩基の割合[%]および比較した塩基長[bp]が最も高いものを最も相同性が高い種として検出した。塩基の割合と塩基長が全く同一の種が複数存在する場合は候補種として残した。

(3) 採水地点周辺における鳥類の生息状況調査

採水を実施した5地点において2021年4月28日および10月28日の日中に鳥類の生息状況を調査した。調査方法については、目視と双眼鏡（倍率8～10倍）を用いた観察によるスポットセンサスとした。1名の調査者が1地点につき約20分の調査時間を設定した。この際、採水地点の周囲約200 m圏内に観察された鳥類種およびその行動を記録した。

(4) 鳥類の分類

MB解析で生息が推定された、または観察調査で記録された鳥類について中村・中村⁹⁾を参考に水域の利用情

表-1 2021年4月28日の採水により抽出された鳥類のeDNAと観察調査で記録された鳥類の対応
 地点ごとに結果を示した。調査地③と④は近接しているため、観察結果が同一であることを注意。

| タイプ | 科 | 種名 | 学名 | ① 淵 (20kp右岸) | | ② たまり (20kp左岸) | | ③ ワンド (21kp右岸) | | ④ 平瀬 (21kp右岸) | | ⑤ ワンド (23kp右岸) | | 直接観察 合計 | eDNA 合計 | 備考 | |
|---------|-------|----------------------|--------------------------------|-------------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|------------------|------|-------------------|------|------------|------------|-------------------------|------------------------------|
| | | | | 観察 | eDNA | 観察 | eDNA | 観察 | eDNA | 観察 | eDNA | 観察 | eDNA | | | | |
| 渉禽類 | サギ科 | コサギ | <i>Egretta garzetta</i> | | | | | ● | ● | ● | ● | | | ● | ● | | |
| | | ダイサギ | <i>Ardea alba</i> | | ● | | | | | | ● | | | | ● | ● | 24kpでは調査日に生息確認 |
| | アオサギ | <i>Ardea cinerea</i> | ● | ● | | | | ● | | | | | | ● | ● | | |
| | クイナ科 | オオバン | <i>Fulica atra</i> | ● | ● | | | ● | ● | ● | ● | | | ● | ● | | |
| | チドリ科 | コチドリ | <i>Charadrius dubius</i> | ● | | | | ● | ● | | | | | ● | ● | 未検出 | |
| 水禽類 | ウ科 | カワウ | <i>Phalacrocorax carbo</i> | ● | ● | | | ● | ● | ● | ● | | | ● | ● | | |
| | | カモ科 | カルガモ | <i>Anas zonorhyncha</i> | ● | | | | ● | ● | ● | ● | | | ● | ● | |
| | | コガモ | <i>Anas crecca</i> | | ● | | | | | | | | | | ● | ● | 2021年3月調査時には生息確認 |
| 水辺の陸鳥 | タカ科 | トビ | <i>Milvus migrans</i> | ● | | | | ● | ● | | | | No | ● | ● | 未検出 | |
| | ハト科 | キジバト | <i>Streptopelia orientalis</i> | ● | ● | No | data | | | | | | No | ● | ● | | |
| | セキレイ科 | ハクセキレイ | <i>Motacilla alba</i> | | | | | ● | ● | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | | セグロセキレイ | <i>Motacilla grandis</i> | ● | | | | ● | ● | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | | セキレイ属sp. | <i>Motacilla sp.</i> | | ● | | | | | | | | | ● | ● | ● | ハクセキレイ、セグロセキレイの可能性があり、種数に含めず |
| | ヒヨドリ科 | ヒヨドリ | <i>Hypsipetes amaurotis</i> | | ● | | | | | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | アトリ科 | カワラヒワ | <i>Chloris sinica</i> | | ● | | | | | | | | | ● | ● | ● | 2021年3月調査時には生息確認 |
| | カラス科 | ハシボソガラス | <i>Corvus corone</i> | ● | | | | ● | ● | | | | | ● | ● | ● | カラス属sp.の可能性があるため、未検出とせず |
| カラス属sp. | | <i>Corvus sp.</i> | | ● | | | | | | | | | | ● | ● | ● | |
| 家禽類 | キジ科 | ヤケイ属sp. | <i>Gallus sp.</i> | | | | | ● | | | | | | ● | ● | eDNA候補：ニワトリ、ハイロヤケイ、キンケイ | |
| 種数 | | | | 9 | 9 | 2 | | 9 | 5 | 9 | 4 | 1 | 12 | 11 | | | |

表-2 2021年10月28日の採水により抽出された鳥類のeDNAと観察調査で記録された鳥類の対応
 地点ごとに結果を示した。調査地③と④は近接しているため、観察結果が同一であることを注意。

| タイプ | 科 | 種名 | 学名 | ① 淵 (20kp右岸) | | ② たまり (20kp左岸) | | ③ ワンド (21kp右岸) | | ④ 平瀬 (21kp右岸) | | ⑤ ワンド (23kp右岸) | | 直接観察 合計 | eDNA 合計 | 備考 | |
|-------|---------|----------------------------|-------------------------------|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|------------------|------|-------------------|------|------------|------------|---------------------------|-------------------------|
| | | | | 観察 | eDNA | 観察 | eDNA | 観察 | eDNA | 観察 | eDNA | 観察 | eDNA | | | | |
| 渉禽類 | サギ科 | ダイサギ | <i>Ardea alba</i> | ● | ● | | | | ● | ● | | | | ● | ● | | |
| | | アオサギ | <i>Ardea cinerea</i> | ● | ● | | | ● | ● | ● | ● | | | ● | ● | | |
| | クイナ科 | バン | <i>Gallinula chloropus</i> | | | ● | | | | | | | | ● | ● | | |
| | | オオバン | <i>Fulica atra</i> | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | | | ● | ● | | | |
| 水禽類 | カイツブリ科 | カイツブリ | <i>Tachybaptus ruficollis</i> | | ● | | | | | | | | | ● | ● | 2021年12月の調査時には生息確認 | |
| | ウ科 | カワウ | <i>Phalacrocorax carbo</i> | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | | | ● | ● | | |
| | カモ科 | オシドリ | <i>Aix galericulata</i> | | ● | | | | | | | | | ● | ● | ● | カモ属sp.1の可能性があるので未検出とせず |
| | | カルガモ | <i>Anas zonorhyncha</i> | ● | | | | | | | | | | ● | ● | ● | |
| | | コガモ | <i>Anas crecca</i> | | ● | ● | | | | | | | | ● | ● | ● | |
| | | オナガガモ | <i>Anas acuta</i> | | ● | | | | | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | | ハシビロガモ | <i>Anas clypeata</i> | | | | | | | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | | カモ属sp.1 | <i>Anas sp.1</i> | ● | | ● | | ● | ● | | | | | No | ● | ● | eDNA候補：ツクシガモ、カルガモ、マガモ |
| | カモ属sp.2 | <i>Anas sp.2</i> | | | ● | | | | | | | | No | ● | ● | eDNA候補：ヒドリガモ、ヨシガモ、アメリカヒドリ | |
| カモ科 | ウミネコ | <i>Larus crassirostris</i> | | | | | ● | ● | | | | | ● | ● | ● | 未検出 | |
| 水辺の陸鳥 | ミサゴ科 | ミサゴ | <i>Pandion haliaetus</i> | | | | | ● | ● | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | タカ科 | トビ | <i>Milvus migrans</i> | ● | ● | | | ● | ● | ● | ● | | | ● | ● | ● | |
| | キジ科 | キジ | <i>Phasianus colchicus</i> | | ● | ● | | | | | | | | ● | ● | ● | |
| | カワセミ科 | カワセミ | <i>Alcedo atthis</i> | | | | | | | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | ツバメ科 | コシアカツバメ | <i>Cecropis daurica</i> | | | | | ● | | | | | | ● | ● | ● | |
| | セキレイ科 | ハクセキレイ | <i>Motacilla alba</i> | | | | | ● | ● | | | | | ● | ● | ● | セキレイ属sp.の可能性があるので未検出とせず |
| | | セグロセキレイ | <i>Motacilla grandis</i> | | | | | ● | ● | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | | セキレイ属sp. | <i>Motacilla sp.</i> | | | | | | ● | | | | | ● | ● | ● | eDNA候補：キセキレイ、ハクセキレイ |
| | ホオジロ科 | アオジ | <i>Emberiza sspodocephala</i> | | | | | | | | | | | ● | ● | ● | 未検出 |
| | アトリ科 | カワラヒワ | <i>Chloris sinica</i> | | ● | | | | | | | | | ● | ● | ● | |
| 種数 | | | | 6 | 10 | 3 | 8 | 7 | 8 | 7 | 5 | 6 | 15 | 16 | | | |

況から渉禽類、水禽類、水辺の陸鳥の3つのパターンに分類した。

3. 結果

(1) 観察調査とeDNAで検出された鳥類種の比較

MB解析の結果、4月の調査では5地点中3地点で、10月の調査では5地点中4地点でそれぞれ鳥類と推測されるeDNAが検出された。4月の20kp左岸たまりと23kp右岸ワンド、10月の23kp右岸ワンドにおける試水ではPCRによるDNAの増幅がみられなかった。4月のMB解析では、3地点で合計11種の鳥類の生息が推測された。渉禽類がコサギ*Egretta garzetta*、ダイサギ*Ardea alba*、アオサギ

Ardea cinerea、オオバン*Fulica atra*の4種、水禽類がカワウ*Phalacrocorax carbo*、カルガモ*Anas zonorhyncha*、コガモ*Anas crecca*の3種であり、過半数が水鳥類で占められた。観察調査では、5地点で合計12種の鳥類が記録された。渉禽類がコサギ、アオサギ、オオバン、コチドリ*Charadrius dubius*の4種、水禽類がカワウとカルガモの2種であり、こちらも水鳥類が過半数を占めた。4月にMB解析で検出され、観察調査で確認された種はコサギ、アオサギ、オオバン、カワウ、カルガモ、キジバト*Streptopelia orientalis*の6種だった(表-1)。

10月のMB解析では、23kp右岸ワンドを除く4地点で合計16種の鳥類種の生息が推測された。渉禽類がダイサギ、アオサギ、バン*Gallinula chloropus*、オオバンの4種、水禽類がカワウ、カイツブリ*Tachybaptus ruficollis*、

2021年4月28日

2021年10月28日

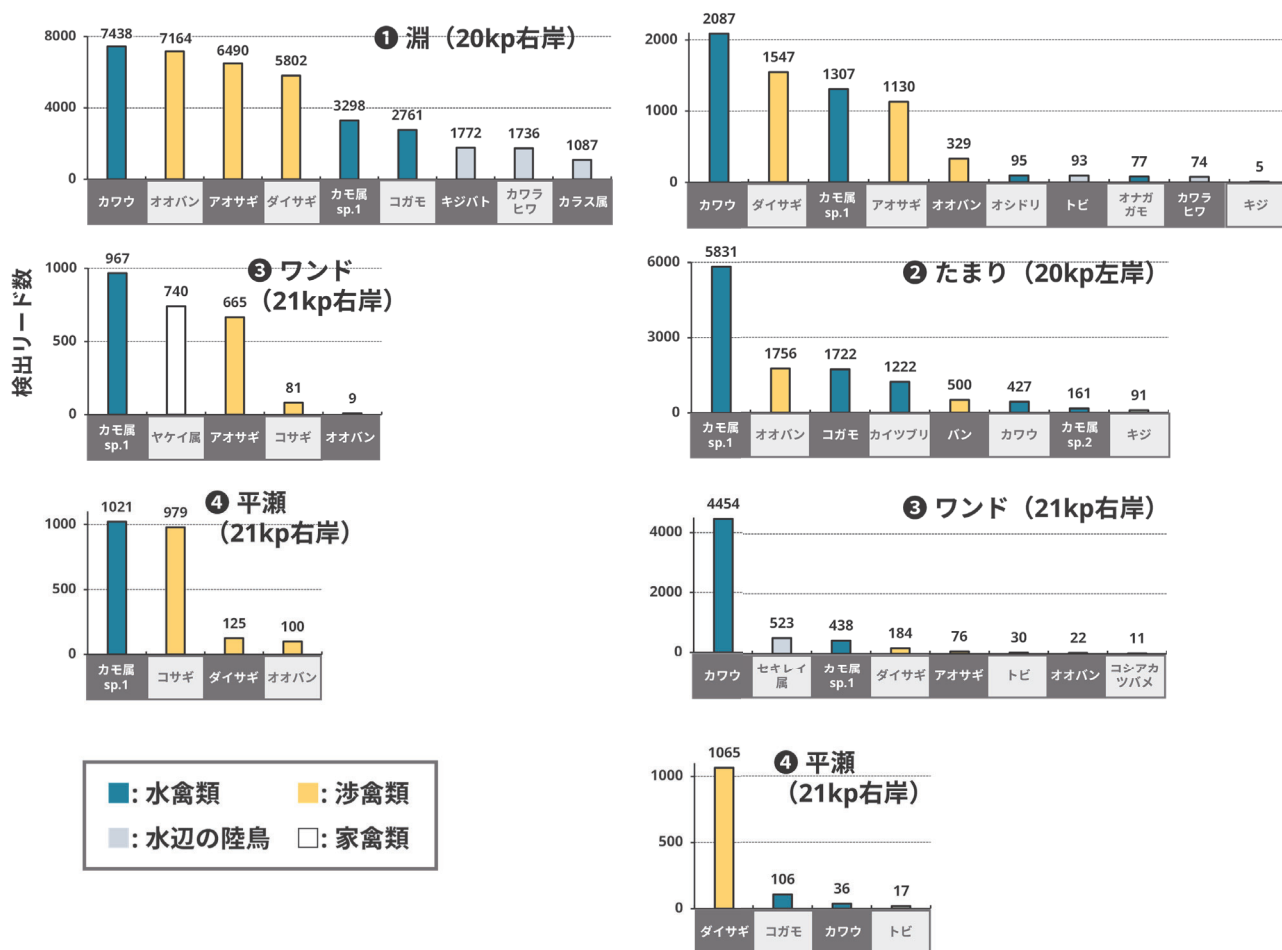


図-2 各eDNAサンプルのMB解析によって検出された鳥類の種ごとのリード数

コガモ, オナガガモ*Anas acuta*, オンドリ*Aix chloropus*, カモ属sp.1*Anas sp.1*, カモ属sp.2*Anas sp.2*の7種であり, 過半数を水禽類が占めた. 観察調査では, 5地点で合計15種の鳥類が観察された. 渉禽類がダイサギ, アオサギ, オオバンの3種, 水禽類がカワウ, ウミネコ*Larus crassirostris*, コガモ, カルガモ, ハシビロガモ*Anas chrypeata*の5種だった. 10月にMB解析で検出され, 観察調査で確認された種はダイサギ, アオサギ, オオバン, カワウ, コガモ, トビ*Milvus migrans*の6種だった(表-2).

調査地点ごとの特徴として, 4月の観察調査では20kp右岸淵, 21kp右岸ワンドおよび平瀬にてそれぞれ9種が記録されたが, MB解析において推測された種数はそれぞれ9種, 4種, 4種と地点ごとに大きく異なった(表-1). 10月の調査では, 20kp右岸淵と20kp左岸たまりにおいてeDNAによる推測種数が観察調査の種数を大きく上回った. その一方で21kp右岸のワンドでは観察調査よりもeDNAの検出種数が1種多いのみにとどまり, 21kp右岸平瀬ではeDNAの検出種数のほうが少なかった(表-2).

(2) MB解析におけるリード数の多い鳥類種の特徴

鳥類と推測されるeDNAが検出された4月の3地点および10月の4地点について, 各サンプル内における鳥類種ごとのリード数を比較した(図-2). どの季節, 調査地においてもサギ類, オオバン, カモ属sp.1, カワウといった水・渉禽類がリード数の上位を占めた. 水辺の陸鳥のリード数はどの調査地においても少なかった.

(3) MB解析で生息が推定されなかった鳥類の特徴

4月ではコチドリ, トビ, ハクセキレイ*Motacilla alba*, セグロセキレイ*Motacilla grandis*, ヒヨドリ*Hypsipetes amaurotis*が未検出だった(表-1). ヒヨドリはDNAが増幅できなかった20kp左岸たまりのみで観察されたため, MB解析が実施できた地点のみに限定するとコチドリ, トビ, ハクセキレイ, セグロセキレイの4種となった. 10月ではウミネコ, ハシビロガモ, セグロセキレイ, ミサゴ*Pandion haliaetus*, カワセミ*Alcedo atthis*, アオジ*Emberiza spodocephala*が未検出だった(表-2). ハシビロガモ, カワセミ, アオジの3種はDNAが増幅できなかった23kp右岸ワンドのみで観察されたため, MB解析が実施できた地点のみに限定するとウミネ



図-3 調査地においてMB解析で生息が推定されなかった水際を利用する鳥類種

(a) コチドリ, (b) ハクセキレイ, (c) セグロセキレイ. 21kp右岸の砂礫地において2021年4月28日撮影.

コ, セグロセキレイ, ミサゴの3種となった. コチドリとハクセキレイ, セグロセキレイは21kp採水地点付近の砂礫地移行帯で採餌していた (図-3).

(4) MB解析で生息が推定されたが, 観察調査で生息が確認できなかった鳥類の特徴

4月ではダイサギ, コガモ, カワラヒワ *Chloris sinica* の3種であった (表-1). 10月では, バン, カイツブリ, オナガガモ, オシドリ, カモ属sp.2, コシアカツバメ *Cecropis daurica*, カワラヒワの7種であった (表-2). ダイサギは4月の調査日に24kp左岸砂礫地で記録された. また, 筆者らが本研究と同様の方法で2021年に実施した鳥類観察調査において, コガモは2月25日に20kp右岸淵で, カワラヒワは3月2日に18kp左岸の堤外水田で, コシアカツバメは5月25日に20kp右岸淵で, カイツブリは12月22日に20kp右岸淵でそれぞれ観察された. そのため, 筆者らが本研究およびその他の研究を含め, 調査地において観察していない種はバン, オナガガモ, オシドリ, カモ属sp.2の4種となった.

4. 考察

(1) 調査地の環境からみたMB解析の検出特性

本研究では様々な河川環境における水域のMB解析により, 渉禽類, 水禽類といった水鳥類を中心とした鳥類種の生息を推定できる可能性が示唆された. その一方で23kp右岸ワンドではどちらの季節もサンプルのDNA増幅がみられないなど, MB解析の適用には調査地の条件による制約があることが示唆された. 23kp右岸ワンドは那珂川本川とは常時連続しているものの, 他の調査地点に比べて透明度が著しく低く, 4月の調査時にはヒシ類が水面全体を覆っている状態だった (図-1). eDNAサンプルの中にフミン酸等の腐植酸が含まれる場合, それがPCR阻害物質となることが知られており⁹⁾, 腐植酸は水生植物の枯死体の分解過程で発生することがある⁷⁾. このような調査地では, 先行研究で示されているようなサンプルの希釈やカラム精製⁸⁾を検討する必要がある.

(2) 鳥類の採餌行動からみたMB解析の検出特性

MB解析と観察調査の比較の結果, どちらの季節にも検出され, 生息が確認されたのはアオサギ, オオバン, カワウの3種だった. また4月にはこれら3種に加えてコサギ, カルガモ, キジバトが, 10月にはダイサギ, コガモ, トビが該当した. その一方で, どちらの季節にも観察調査による生息のみ確認されたのはセグロセキレイだった. また4月にはコチドリ, トビ, ハクセキレイが, 10月にはウミネコとミサゴが観察調査のみで確認された.

MB解析で検出され, 観察調査で生息が確認された種の特徴として, まず, 水面を遊泳する水禽類および渉禽類が挙げられる. オオバンはツル目クイナ科の渉禽類だが, 趾に発達した弁膜を有しているため, 水面に浮かぶことが可能である⁹⁾. これらの種は観察調査でも発見しやすく, また水面を利用するため, 表層からの採水によって検出しやすかった可能性が高い. そしてアオサギやダイサギ, コサギは渉禽類の中でも大型であり, 移行帯において待ち伏せ型の採餌を得意とする¹⁰⁾¹¹⁾. その分河川への滞在時間も長くなるため, 観察調査で発見しやすく, なおかつ河川水中から検出しやすくなるものと考えられる.

観察調査のみで確認された種の特徴として, コチドリやセグロセキレイ, ハクセキレイといった小型かつ水際で探索型の採餌を行う渉禽類や水辺の陸鳥が挙げられる. これらの種は採水地点付近の砂礫地移行帯で実際に採餌行動をとっていた (図-3). 渉禽類の場合, 採餌に利用できる水域の水深は分類群ごとに大きく異なり, 例えばコチドリのような小型種は水深5 cm未満でしか採餌できず, サギ類のような大型種は水深30 cmまで採餌可能となる¹²⁾. 小型の渉禽類やセキレイ類を検出しやすくするためには, 水深の浅い場所を選んで採水する, あるいは土壌中のeDNAを調べるなどの検討が今後必要だろう. なお, 10月には大型の水禽類であるウミネコがMB解析から検出されなかった. この原因としてウミネコの確認地点が採水地点から下流200 mlほどの距離だったことが考えられる. 採水地点の最適化は今後の大きな課題といえるだろう.

水辺の陸鳥であるトビは4月にMB解析で検出されなかった一方で, 10月には検出された. またミサゴは10月に観察調査のみで確認された. これらの水辺の陸鳥は探索型ではなく視覚による採餌を行うため¹³⁾, 採餌のため

に水面に接近する、あるいは進入する時間は水鳥類やセキレイ類に比べ限定的である。このような採餌行動の特性から、これらの種が検出されにくい可能性がある。水辺の陸鳥に対するMB解析の妥当性についても今後を検討すべき課題である。

バン、オナガガモ、オシドリ、カモ属sp.2は調査地で筆者らが観察しておらず、MB解析のみで生息が推定された。この結果は、観察調査に加え、水域のMB解析を補完的に実施することによって、より網羅的に対象水域の鳥類群集を把握できる可能性を示唆する。ただし、本研究のように観察調査で記録されていない鳥類種の生息が推定された場合には、調査地を限定したより入念な野外調査によって実際の生息実態を検証する必要がある。なお、対象種は限定されるものの、湿地に営巣する水鳥類では、繁殖期にテープレコーダーによって録音された対象種の鳴き声を再生し、それに反応して鳴き声を上げた対象種（オス）の個体数を計数して分布域を特定する調査方法（コールバック）も存在する¹⁴⁾。例えばMB解析によって生息が推定された調査地で観察調査が困難な場合、このような調査方法を組み合わせることでその生息実態をより頑健なものとする事ができる。

5. おわりに

本研究はあくまで試行的事例研究に留まり、水辺の移行帯を利用する小型の涉禽類や陸鳥の検出には注意を要するものの、今後の河川域における鳥類相把握に資するMB解析の適用可能性を広く示す結果が得られた。MB解析の活用は水辺を利用する鳥類の種多様性を簡易に比較できることから、鳥類にとって良好な生息場となる水辺の評価、河川改修の影響評価や治水、自然再生事業の評価などに応用できる可能性がある。また、海域や池沼群における魚類の分布域の把握を目的としたMB解析において、採水サンプルから水鳥や陸鳥のDNAが検出された例も存在しており¹⁵⁾¹⁶⁾、他の分類群や水質調査を目的とした採水サンプルから、MB解析により鳥類相を把握できる可能性が高い。今後、様々な河川域において鳥類を対象としたMB解析の妥当性に関する詳細な検討が行われることを望んでいる。

謝辞：常陸河川国道事務所、那珂出張所、水戸出張所の皆様には調査地の情報を提供いただいた。また、相島芳江氏、雨貝則子氏をはじめとする土木研究所河川生態チームの諸氏からは解析作業に関して技術的協力を得た。ここに記して謝意を表する。

参考文献

1) Neice, A. A., and McRae, S. B.: An eDNA diagnostic test to detect a

rare, secretive marsh bird. *Glob. Ecol. Conserv.*, 27, e01529.222, 2021.

- 2) Day, K., Campbell, H., Fisher, A., Gibb, K., Hill, B., Rose, A., and Jarman, S. N.: Development and validation of an environmental DNA test for the endangered Gouldian finch. *Endanger Species Res.* 40, pp.171-182, 2019.
- 3) Ushio, M., Murata, K., Sado, T., Nishiumi, I., Takeshita, M., Iwasaki, W., and Miya, M.: Demonstration of the potential of environmental DNA as a tool for the detection of avian species. *Sci. Rep.*, 8, pp.1-10, 2018.
- 4) Saenz-Agudelo, P., Delrieu-Trotin, E., DiBattista, J. D., Martínez-Rincon, D., Morales-González, S., Pontigo, F., Ramírez, P., Silva, A., Soto, M., and Correa, C.: Monitoring vertebrate biodiversity of a protected coastal wetland using eDNA metabarcoding. *Env. DNA*, 4, pp. 77-92, 2022.
- 5) 中村登流, 中村雅彦: 日本野鳥生態図鑑水鳥編, 保育社, 1995.
- 6) 環境 DNA 調査・実験マニュアル Ver. 2.2: https://ednasociety.org/wp/wp-content/uploads/2020/09/eDNA_manual_ver2_2_1.pdf
- 7) Wetzel, R. G.: *Limnology Lake and River Ecosystems*, Third Edition, p. 734-736, Academic Press, 2001.
- 8) McKee, A. M., Spear, S. F., and Pierson, T. W.: The effect of dilution and the use of a post-extraction nucleic acid purification column on the accuracy, precision, and inhibition of environmental DNA samples. *Biol. Conserv.*, 183, pp.70-76, 2015.
- 9) Tokita, M., Matsushita, H. and Asakura, Y.: Developmental mechanisms underlying webbed foot morphological diversity in waterbirds. *Sci. Rep.*, 10, pp.1-11, 2020.
- 10) 山田清: 餌および採食環境に応じたコサギ (*Egretta garzetta*) の採食行動と採食なわばり. 日本鳥学会誌, 42, pp.61-75, 1994.
- 11) Tojo, H.: Habitat selection, foraging behaviour and prey of five heron species in Japan. *Jpn. J. Ornithol.*, 45, pp.141-158, 1996.
- 12) Ma, Z., Cai, Y., Li, B., and Chen, J.: Managing wetland habitats for waterbirds: an international perspective. *Wetlands*, 30, pp.15-27, 2010.
- 13) 中村登流, 中村雅彦: 日本野鳥生態図鑑陸鳥編, 保育社, 1995.
- 14) 平野敏明: 渡良瀬遊水地における繁殖期のクイナ・ヒクイナの生息状況と生息環境. *Bird Res.* 2, pp.35-46, 2006.
- 15) Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L., Møller, P. R., Rasmussen, M., and Willerslev, E.: Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *PLoS ONE*, 7, e41732, 2012.
- 16) Feng, W., Bulté, G., and Loughheed, S. C.: Environmental DNA surveys help to identify winter hibernacula of a temperate freshwater turtle. *Env. DNA*, 2, pp. 200-209, 2020.

(2022. 3. 25受付)