

研究コラム

環境DNA調査で参照するデータベースに登録された魚類の塩基配列情報の充足度

1. はじめに

河川水などに含まれる魚類由来のDNAを網羅的に検出し、そこにいる魚種を明らかにするMiFish法¹⁾による環境DNA調査^{*}は、効率的に魚類相を把握できる手法として注目され、河川水辺の国勢調査（魚類調査）への導入も検討されています²⁾。

環境DNA調査では、河川水などのサンプルを分析して得たDNA配列の情報を、国際塩基配列データベースに登録されている配列群（以下「リファレンス」という。）と照合し（図-1）、サンプルから得た配列と最も近いリファレンス配列に対応づいた種を検出された種として扱います。このため、リファレンスが十分でない場合、環境DNA調査で魚類のDNAを捉えても照合結果が該

当なしとなる場合や、実際とは異なる種を検出したと判断してしまう可能性があり、調査結果の精度は低くなってしまいます。したがって、精度の高い環境DNA調査を全国で安定して行うためには、各地の魚類についてリファレンス配列が十分登録されていることが重要です。リファレンスが不足傾向にある場合、環境DNA調査でその種が検出できた場合でも、得られた配列のリファレンス配列との一致率が低くなります。そこで、土木研究所が収集した環境DNAサンプルの分析結果をもとに配列の一致率を整理することで、全国の魚類のリファレンス登録状況を確認しました。

2. リファレンスの充足度

令和2～4年度の河川水辺の国勢調査「テーマ調査」の枠組みによって全国の河川・ダム管理者の協力のもと入手した2,416の環境DNAサンプルを分析し、得られた配列をリファレンス配列との一致率が98.5%以上の配列（高一致配列）と98.5%未満の配列（低一致配列）に分け、それぞれの検出割合を種および地域（地方および水系の



図-1 環境DNAとリファレンスのイメージ図

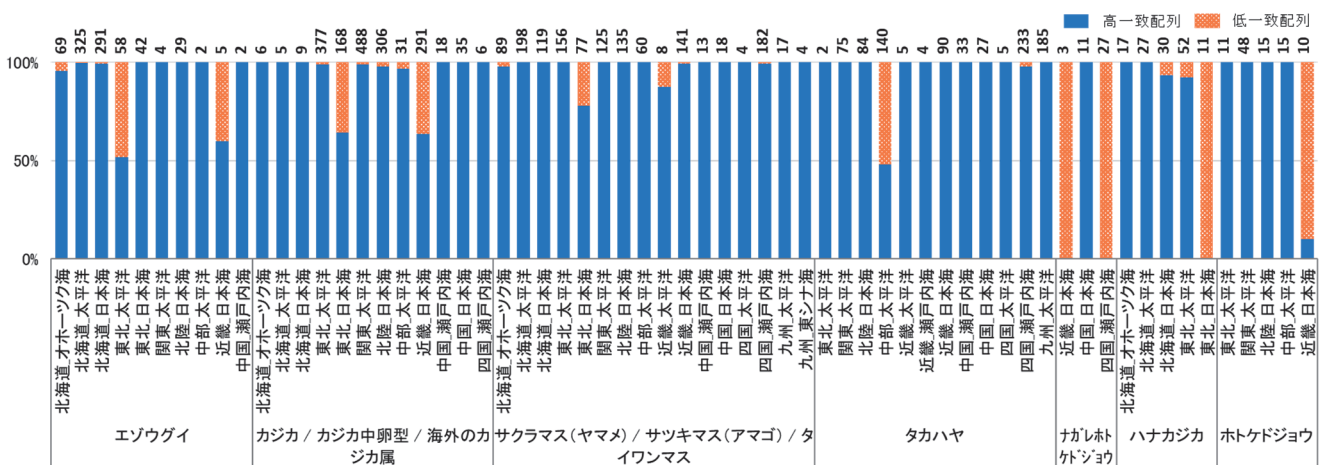


図-2 種別・地域別に整理した主な種のリファレンス登録状況

グラフ上部の数字は配列が検出された例数を示し、グラフはそのうちの高一一致配列と低一致配列が検出された割合を示す。低一致配列の割合が大きいほど、当該地域においてその種のリファレンスが不足傾向にあることを示す。1種に絞れない種は該当する可能性のあるすべての種をスラッシュで結び表記している（以下同様）。各種について検出例数が1以下の地域は除外している。本州の地方名は地方整備局の管轄に基づく。中島ほか⁴⁾を編集し、一部の種についてのみ表示。

^{*}土木用語解説：MiFish法による環境DNA調査

面する海) ごとに整理しました。なお、98.5%は環境省の環境DNA調査マニュアル³⁾等で結果を採用する閾値として用いられており、また、一致率98.5%以上とは、MiFish法ではリファレンス配列との差異が2塩基対未満であることに相当します。地域ごとに分けたのは、一般に同じ種でも生息域が離れると遺伝的違いが大きくなり、同じ種でも異なる地域のリファレンス配列しか登録されていない場合は一致率が低くなることもあるためです。

整理の結果、大半の種ではリファレンスは概ね整備されていると考えられましたが、一部の種では低一致配列の割合が大きい地域がみられました。低一致配列の割合が大きい種・地域として、東北地方日本海側のハナカジカ、四国地方瀬戸内海側のナガレホトケドジョウ、近畿地方日本海側のホトケドジョウ、中部地方太平洋側のタカハヤなどが抽出されました(表-1)。地域によって低一致配列の割合が大きい種は異なり、また、種によって低一致配列の割合が大きい地域は異なっていました。特にナガレホトケドジョウやハナカジカでは地域的な偏りが顕著であり、例えばハナカジカでは北海道と東北地方太平洋側では高一致配列の検出がほとんどである一方、東北地方日本海側では検出された全配列が低一致配列でした(図-2)。ナガレホトケドジョウやハナカジカは河川上流部に生息し、水系間の交流がなく地域による遺伝的違いが大きいことが知られているため、過去の分類学などの研究で遺伝子分析の対象とされなかった地域において低一致配列が数多く検出されたものと考えられます。

3. おわりに

全国から得た環境DNAサンプルの分析結果から、低一致配列の割合が大きくりファレンスが不足傾向にあると考えられる種・地域を特定できました。これらの種・地域では、捕獲調査で得た標本サンプルのDNAを分析して国際塩基配列データベースに登録するなどの取り組みによりリファレンスを補足できれば、より高精度な調査が可能になると考えられます。

表-1 各地域において低一致配列が多く検出された地域において配列が10回以上検出され、かつ低一致配列が10%以上検出された種を表示。中島ほか⁴⁾より引用。

地域 (地方,面する海)	種名	検出 例数	低一致配 列の割合
東北,太平洋	エゾウグイ	58	48.3%
	キタドジョウ	42	16.7%
東北,日本海	ハナカジカ	11	100%
	カジカ/カジカ中卵型/海外のカジカ属	168	35.7%
	サクラマス(ヤマメ)/サツキマス(アマゴ)/タイワンマス	77	22.1%
	アブラハヤ	171	19.3%
	ヨシノボリ属(カワヨシ・ゴクラクを除く)	88	15.9%
	コイ(野生型)	32	15.6%
	オイカワ	118	15.3%
	ウグイ	186	15.1%
	ドジョウ類	81	14.8%
	トミヨ属(淡水型・汽水型・雄物型含む)	19	10.5%
関東,太平洋	ウツセミカジカ	111	27.9%
北陸,日本海	カワヨシノボリ	70	38.6%
	シマドジョウ種群の1種	70	30.0%
	ウキゴリ	72	15.3%
中部,太平洋	タカハヤ	140	52.1%
	アブラボテ	11	36.4%
近畿,日本海	ホトケドジョウ	10	90.0%
	カジカ/カジカ中卵型/海外のカジカ属	291	36.4%
中国,瀬戸内海	クサフグ	19	10.5%
中国,日本海	ドンコ	50	36.0%
四国,瀬戸内海	ナガレホトケドジョウ	27	100%
九州,太平洋	カワスズメ	42	100%
九州,東シナ海	アリアケヒメシラウオ	19	21.1%

参考文献

- 1) Miya M., Sato Y., Fukunaga T., Sado T., Poulsen J.Y., Sato K. et al.: MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. Royal Society Open Science. Vol.2, No.7, p.150088, 2015
- 2) 村岡敬子、菅野一輝、篠原隆佑、天羽淳、中村圭吾：河川水辺の国勢調査への環境DNA導入に向けた取り組み、土木技術資料、第64巻、第5号、pp.12~17、2022
- 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3版、85p、2023
- 4) 中島颯大、菅野一輝、釣健司、村岡敬子、崎谷 和貴：環境DNAを活用した魚類調査における基礎的データの整備状況、令和5年度国土技術研究会発表論文集<活力> pp.54~57、2023