

池田湖及び導水3河川における環境DNAを用いた生物調査

鹿児島県環境保健センター ○今岡 慶明 荒川 浩亮 松岡 洋一郎

1 はじめに

公共用水域に生息する生物は、水質等の環境変化に敏感に対応することから、水環境の健全度評価における重要な指標となるため、定期的な生物調査が行われている。これまでは捕獲による調査が主流であったが、人員、労力、費用、時間がいずれも膨大なものとなっている。

近年、捕獲調査を補完し得る手法として、環境中に放出された生物のDNA断片から生息状況を把握する「環境DNA技術」が開発され、既に一部の機関ではそれを用いた調査が行われ、成果を上げている¹⁾。環境DNA技術は、試料としては対象水域の水のみあれば調査可能であり、労力、時間等も大幅に削減可能である。

指宿市にある池田湖においては、「池田湖水質環境管理計画」の一環として捕獲による生物調査が行われているが、2020年度の調査では保護上重要な種であるオオウナギ、カラスガイ等が確認されず²⁾、また、調査範囲が水深20m程度までに限られる等の課題がある。そこで、当センターでは新たな生物調査手法として、環境DNA技術導入に向けた可能性を探るため、池田湖及び導水3河川における環境DNAを用いた生物の網羅的調査を実施したので報告する。

なお、本調査は国立環境研究所とのII型共同研究の一環として実施した。

2 調査方法

2.1 採水日

- (1) 2024年9月10日
- (2) 2025年8月4日

2.2 調査地点

- (1) 2024年度

池田湖北西部沿岸(図1)、馬渡川、高取川、集川の各頭首工(いずれも南九州市)

- (2) 2025年度

池田湖中心部(図1 基準点2)、高取川頭首工

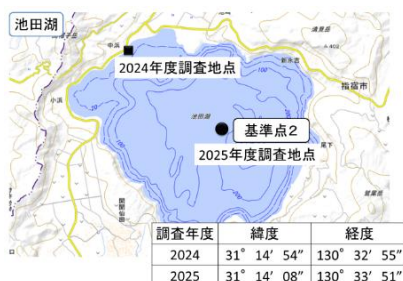


図1 池田湖調査地点

2.3 調査対象

2024年度は昆虫類, 2025年度は昆虫類及び脊椎動物を対象とした。

2.4 分析方法

(1) 採水およびろ過

各地点毎に表層水を採水し、現地にてシリンジを用い、ステリベクスフィルターに必要量(2024年度は1L, 2025年度は0.5L)をろ過し、水分を除去した後にRNALaterを注入した。DNA抽出を行うまで冷凍で保存した。

(2) DNA抽出

DNeasy Blood and Tissue kit(キアゲン社)を用いて(1)のステリベクスフィルターからDNAの抽出を行った。

(3) DNA増幅

2024年度は昆虫類を対象としたプライマーMTinsect, 2025年度はMTinsectに加え、脊椎動物全般を対象としたプライマーAmphi16Sを混合し、1stPCRによりDNAの増幅を行った。

(4) インデックスプライマー付与

1stPCR産物を磁気ビーズを用いて精製し、インデックスプライマー(サンプル毎に配列が異なり、同時に解析を行う他サンプルと区別するのが目的)を混合し、2ndPCRにより付与した。

(5) DNA解析

2ndPCR産物を磁気ビーズを用いて精製し、濃度が4nMとなるよう希釈し、次世代シーケンサー(MiSeq イルミナ社)を用いてDNAの解析を行った。

3 結果

- 2024年度の結果を図2に示す。池田湖では2目3種、馬渡川では13目92種、高取川では14目59種、集川では11目48種の昆虫類のDNAが検出された。
- 2025年度の昆虫類目別検出種類数の結果を図3、脊椎動物目別検出種類数の結果を図4に示す。池田湖では2目2種の昆虫類及び1目1種の魚類、

高取川では8目13種の昆虫類及び2目6種の魚類のDNAが検出された。

- 池田湖では、脊椎動物において2020年度の捕獲調査で確認された種のDNAが検出されなかったが、過去に生息情報があるゲンゴロウブナのDNAが検出された。
- 調査全体を通して検出された中には、現時点ではDNAデータベースに掲載されておらず、種が特定できない生物のDNAも多数存在した。

4 考察

導水3河川においては、2024年度に多種の昆虫類のDNAが検出されたが、2025年度には高取川において昆虫類のDNA検出種類数が減少した。この要因としては、2024年度と比較し、試料量が少なかった影響や、採水時点での生物の生息密度が低かった可能性が考えられる。

池田湖においては、検出種類数が少なく、これまで捕獲調査で確認されている多くの種が検出されなかった。これは、池田湖は河川と比較して面積が広く、同一湖内でも生息密度が異なることから、採水地点が1箇所であったことが影響した可能性が考え

られる。

また、現時点では種が特定できないものも多数あるため、より正確な水環境の健全度評価に向けてDNAデータベースの充実が不可欠である。

2024年度、2025年度に実施した本調査の結果、新たな生物調査手法として環境DNA技術の導入に向けた可能性が示唆された。今後はより精度の高い調査に向け、採水地点の選定、最適な採水方法の検討等が必要である。

5 謝辞

本調査の実施にあたり、MiSeqを用いたDNAの解析をいただいた神奈川県環境科学センター 長谷部勇太主任研究員に感謝いたします。

参考文献

- 1) 長谷部勇太 他 環境DNAを用いた県内生物多様性調査手法の確立 神奈川県環境科学センター 研究報告 No. 45 (2022)
- 2) 鹿児島県 池田湖水質環境管理計画 令和3年 3月

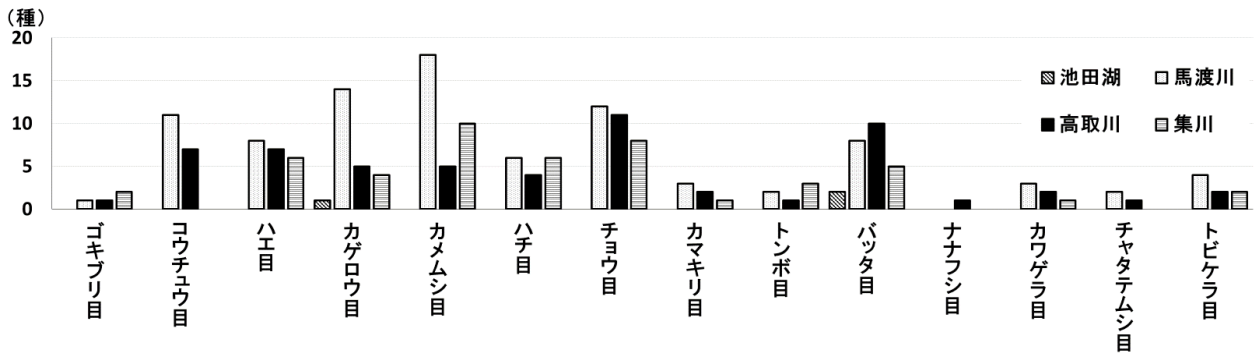


図2 2024年度昆虫類目別検出種類数

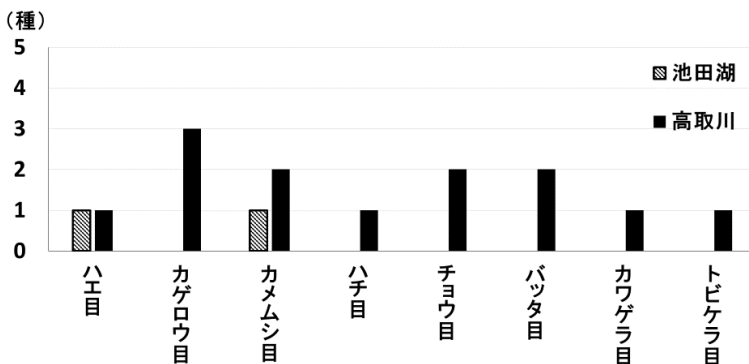


図3 2025年度昆虫類目別検出種類数

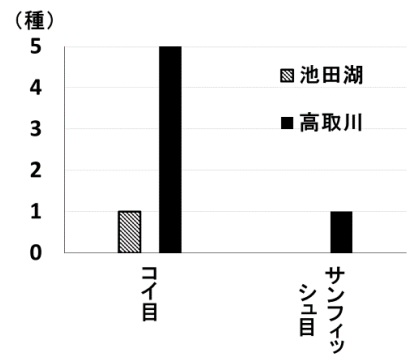


図4 2025年度脊椎動物目別検出種類数