

# 環境 DNA メタバーコーディングに基づく河北潟流域の魚類相 (1) 調整池及び大野川河口域

山本将也・川畑遼太

兵庫教育大学

〒 673-1494 兵庫県加東市下久米 942-1

要約:河北潟流域の3水域(東部承水路・調整池・大野川河口域)において、環境DNA分析による魚類調査を行った。東部承水路のサンプルは水の濁度や劣化等の影響によって解析を行えなかったものの、調整池で28 taxa、大野川河口域で23 taxaの魚種が検出された。河北潟調整池で検出された魚種の中には、潟内で長期間生息が確認されていなかったアユ・シラウオ・サケ類などが含まれ、生息個体数が激減したと考えられてきた種に対しても環境DNA分析が有効であることが示された。また、これまで潟内で記録がなかったものとして、ニゴイやニッポンバラタナゴ等が検出されたが、移入種や交雑由来の個体であると推察された。金沢港防潮水門下流の大野川河口域と水門上流の河北潟調整池では、調整池の淡水化の影響で汽水性魚種の種数・存在量に大きな違いが認められ、淡水化した潟内では移入魚の定着が進んでいることが示唆された。以上から、河北潟の魚類相は防潮水門の設置による淡水化以降大きく変容しており、現在も動的な状態が続いていることが明らかになった。

キーワード: 河北潟, 汽水湖, 魚類相調査, MiFish, 保全

## はじめに

石川県中部に位置する河北潟は、かつて北陸地方最大の汽水湖として知られ、淡水から海水域までをハビタットとする多様な魚が棲んでいた(石川県水産試験場, 1912)。しかしながら、1963年に始まった干拓事業によって淡水化が進んだこと(川幡, 1993)、潟周辺の都市化により水質が悪化したこと(石川県環境安全部, 2006)などが主な要因となり、河北潟の魚類相は大きな変容を余儀なくされた。文献や過去の捕獲記録に基づいて河北潟の魚類相の変遷をまとめた高橋(1997)によれば、次の3点が魚類相変化の傾向として挙げられている。

- (1) 汽水性の種の消失
- (2) 在来種の減少
- (3) 多くの移入種の定着

最近の調査では25種程度の魚類が河北潟で見出されているが(石川県環境部, 2001; 河北潟水質浄化連絡協議会・北陸水生生物研究センター, 2005)、やはり汽水性や回遊性の種の消失が顕著な傾向にあることは容易に見て取れる。実際、ニホンウナギ・アユ・クロダイ・シラウオ・シロウオ・サケ類などは潟内で約半世紀の間確

認されていない(平井・角田, 1983)。加えて、近年では他の多くの湖沼や河川と同様に外来種の問題も顕在化しており(高橋, 2013)、河北潟の魚類相は現在進行形の大きな構造的変化を強いられている状態である。

2016年4月、河北潟は日本における「生物多様性保全上重要な湿地(略称: 重要湿地)」に選出された。これは、干拓後も河北潟が水鳥などにとって重要な繁殖地や渡来地として機能し続けていることを意味しているが(山本ら, 2000)、文字通り「水面下」で起きている生物相の変化はより劇的かつ深刻である(例えば, Kawabata & Defaye, 1994; 永坂, 1997; 野田・鎌田, 2003; 野村・高橋, 2006; 高橋, 2013)。特に魚類は、水生動物の中では高次捕食者であることが多く、河北潟全体の生態系保全を考える上での象徴的存在であり、変化し続ける魚類相の実態を把握することは早急の課題といえよう。しかしながら、従来の投網やボサ簗などを使った捕獲調査や潜水による目視の調査では、広い水域をカバーする十分なモニタリングを行うために大変な人的あるいは金銭的コストを要するという課題がある。

そこで本研究では、魚類の簡易なモニタリングの手法として、近年急速に開発が進んでいる環境DNA分析

に着目した。環境 DNA 分析とは、水サンプルの中に存在する DNA（環境 DNA）を次世代シーケンサーなどで解析し、対象とする水生生物の在・不在を評価する生物モニタリング手法の一つである。魚類では、Miya *et al.* (2015) によって特定の DNA 領域をバーコードのように利用して魚種を判別するメタバーコーディング解析（以降、MB 解析と呼ぶ）が確立されたこともあり、この手法を用いた網羅的な魚類相の調査が日本各地で実践されている（Miya *et al.*, 2020）。本研究では、河北潟流域の魚類相の現状把握を目的として、河北潟流域の 3 つの水域（調整池・東部承水路・大野川河口域）から採水したサンプルの MB 解析を実施したのでここに報告する。

### 調査地および方法

2020 年 8 月 18 日、河北潟流域の 3 つの水域（調整池、大野川河口域、東部承水路）を対象に、水域あたり 3 地点を採水地点として選定し採水作業を実施した（図 1）。採水作業は釣り用の水汲みバケツを用いて行い、岸から 1 m 以上離れた流心付近の表層水を採水した。各地点で 350 mL 程度採水し、水域あたりの合計が 1 L となるように pooling したものを 1 検体とした。得られた検体は濾過作業を行うまでの間、クーラーボックスを用いて冷暗環境で保存した。当日の正午までには 3 つの水域すべてから検体を得ることができ、随時濾過作業へと移行した。濾過作業は、株式会社生物技研が貸し出している「環境 DNA 用ポータブルチューブポンプ」を用いて行い、各検体をメンブランフィルター（Sterivex-GP™, Millipore 社、孔径：0.22  $\mu\text{m}$ ）で全量濾過したものに核酸保存液を加え冷蔵保存した。3 検体全ての濾過作業は当日中に完了し、翌日には MB 解析の依頼先企業である（株）生物技研へ濾過後の検体を送付した。

フィルタリングされた懸濁物からの DNA 抽出・ライブラリー作成・シーケンシング・データ解析については、（株）生物技研に依頼した。まず Miya *et al.* (2016) の方法に従い DNA を抽出し、MPure-12™system（MP Biomedicals 社）及び MPure Bacterial DNA Extraction Kit（MP Biomedicals 社）を用いて DNA を精製、さらに 1  $\times$  AMPure（BECKMAN COULTER 社）を添加し再度精製を行った。次に、マイクロプレートリーダー（Synergy LX, Bio Tek Instrument 社）と二本鎖 DNA 定量試薬（QuantiFluor dsDNA System,

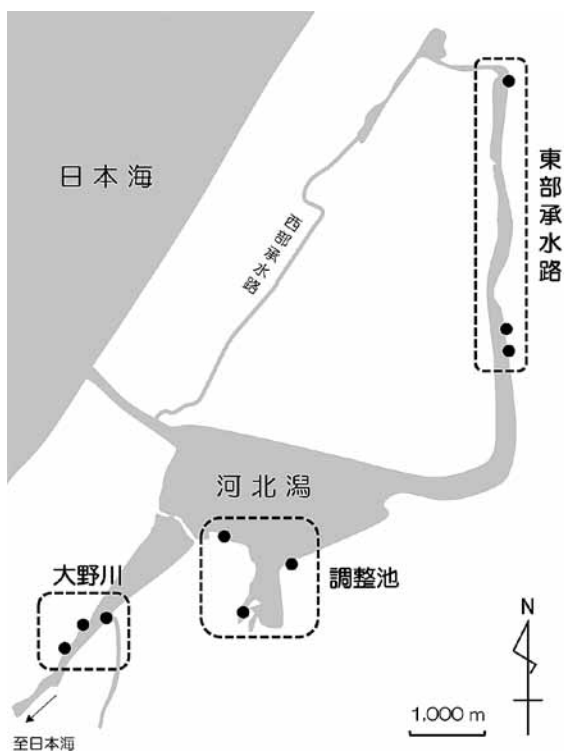


図 1. 河北潟の概要と採水地点。採水地点は黒丸で表し、破線で囲まれた水域内の各地点で採水したサンプルは水域ごとに 1 つの検体にプールし MB 解析に供した。

Promega 社）を用いて、精製した DNA 溶液の濃度を測定した。魚類用の DNA バーコーディングプライマーセット（cMiFish）を用いて、2 step tailed PCR 法によりライブラリーの作製を行った。cMiFish は、MiFish-U-F/R（Miya *et al.*, 2015）と依頼先企業が独自に開発した 3 つのプライマーセット MiFish-E-F/R-v2, MiFish-U2-F/R, MiFish-Ayu&Wakasagi を 4:2:2:1 で混合したものである。Fragment Analyzer と dsDNA 915 Reagent Kit（Advanced Analytical Technologies 社）でライブラリーの品質と濃度を確認し、次世代シーケンサー Miseq（Illumina 社）を用いて 2  $\times$  300 bp の条件でシーケンシングを行った。シーケンシング後、Fastx toolkit (ver. 0.0.14) を用いてプライマー配列に一致したリードを抽出、Qiime2 (ver. 2020.8) の dada2 プラグインでキメラ配列・ノイズ配列を除去し、代表配列を取得した。データベース MitoFish (ver. 3.53) と MiFish 用参照配列に対して得られた代表配列の Blast 検索を行い、相同性が 98% 以上となる分類群を特定し、検出された魚類のリスト

表 1. MB 解析に供したサンプルの濃度と得られたリード数.

| 採水地点   | 溶液濃度 (ng/μl) |        | リード数    |
|--------|--------------|--------|---------|
|        | DNA 溶液       | ライブラリー |         |
| 東部承水路  | 14.4         | -      | -       |
| 調整池    | 20.1         | 18.3   | 86,138  |
| 大野川河口域 | 31.3         | 19.0   | 117,428 |

を作成した. 種まで同定できた場合の学名については, 日本産魚類全種目録 (本村, 2020) に従った. また, 検出された魚種の生活型 (純淡水魚・通し回遊魚・汽水魚・海水魚) については, 金沢市 (1993) および FishBase (<https://www.fishbase.se/search.php>) のデータを参考にした. 一方で, 種レベルまでの判別が難しい場合については, 過去の河北潟における魚類相に関する文献等 (例えば, 平井・角田, 1983; 金沢市, 1993; 石川県淡水魚類研究会, 1996; 高橋, 1997) を参照しつつ, 既往知見に基づいて特定可能な分類階級までの集計にとどめた (例えば, 環境省自然環境局, 2019).

水域ごとの魚類の群集構造を定量的に評価・比較するために, 本研究では Hellinger 変換した各分類群のリード数を用いた. 一般に, MB 解析によって得られたリードの数が対象種の実際の存在量 (≡個体数) を必ずしも反映するとは限らない (東樹, 2016). とりわけ, 菌類等と異なり魚類は種によって体サイズに大きな違いがあるために, 単純にリード数から存在量を推定することには難しい側面がある. 故に, 魚類の環境 DNA 分析では, 種特異的なプライマーの開発と定量性を検証する予備実験を行い, 定量 PCR 法などによって対象種の存在量を評価することが一般的である (例えば, Maruyama *et al.*, 2018). しかし, 本研究のように, MB 解析で検出された全分類群でそれらを実施することは現実的ではない. その一方で, MB 解析によって得られたリード数を Hellinger 変換することで, 分類群間におけるリード数の大きな偏りを補正し, 検出された魚種の相対的な存在量 (relative abundance) を求めている事例も少なくない (例えば, Leduc *et al.*, 2019; Laporte *et al.*, 2021; García-Machado *et al.*, 2021). そこで本研究では, Hellinger 変換後のリード数を存在量とみなし, 各分類群の存在量を水域内全体の存在量で除いたものを相対存在量として算出した. これに加えて, 水域内の種多様性および水域間における種組成の類似性を評価するために,  $\alpha$  多様性

指数である Shannon-Wiener Index, Simpson Index,  $\beta$  多様性指数である Bray-Curtis Index, Jaccard Index を計算した. 以上の計算や統計処理は全てソフトウェア R (ver. 4.0.3, R Core Team, 2020) のパッケージである vegan (Oksanen *et al.*, 2013) を使用した. サンプル間の総リード数の違いは, 水域間における検出種数やそれに基づく群集構造の比較結果に影響を及ぼすため (東樹, 2016), Hellinger 変換を行う前に希薄化 (rarefaction) して揃えた. また, Jaccard Index については, データテーブルを二項形式 (在・不在) に変換し, リード数の影響を排除して計算した.

## 結 果

対象とした 3 つの水域から得られた検体のうち, 東部承水路で採水したものについては抽出された DNA の濃度も低く (表 1), Fragment 解析の結果からも MiFish の対象領域における増幅がほとんど認められなかった. そのため, シーケンシング解析については, 調整池と大野川河口域で得られた検体のみで実施し, 2 水域合計で 203 566 リードの配列情報が得られた (表 1). データベースを基にした代表配列の相同性検索の結果, 調整池で 28 taxa, 大野川河口域で 23 taxa が検出され (表 2), 種のレベルまで特定できたものは全体の 83.8% (31/37 taxa) であった. 文献情報と照らし合わせた結果, 今回の環境 DNA 分析で検出されたほぼ全ての分類群 (魚種も含む) は過去に河北潟での生息が認められたものであったが, ニゴイ属・ニッポンバラタナゴ・タカハヤについては記録が存在しなかった. 検出された分類群の中で特筆すべきものとしては, 長期間捕獲記録がなかったアユ・シラウオ・タイハイヨウサケ属 (サケ・サクラマス・ニジマスのいずれか) などが挙げられるほか, 環境省のレッドリスト掲載種であるニッポンバラタナゴ (CR)・クルマサヨリ (NT)・ドジョウ (NT)・シンジコハゼ (VU)・キタノメダカ

表 2. 環境 DNA メタバーコーディングによって検出された魚類（分類群・種）と文献記録.

| 和名          | 学名                                      | 生活型    | 調整池      |                       | 大野川河口域   |                       |
|-------------|-----------------------------------------|--------|----------|-----------------------|----------|-----------------------|
|             |                                         |        | MB<br>解析 | 文献<br>記録 <sup>a</sup> | MB<br>解析 | 文献<br>記録 <sup>b</sup> |
| サッパ         | <i>Sardinella zunasi</i>                | 汽水・海水魚 |          | ●                     | ●        |                       |
| フナ属 * §     | <i>Carassius</i> spp.                   | 純淡水魚   | ●        | ○                     | ●        | ○                     |
| コイ          | <i>Cyprinus carpio</i>                  | 純淡水魚   | ●        | ●                     | ●        | ●                     |
| タモロコ        | <i>Gnathopogon elongatus elongatus</i>  | 純淡水魚   | ●        | ●                     | ●        |                       |
| ニゴイ属 *      | <i>Hemibarbus</i> sp.                   | 純淡水魚   | ●        |                       | ●        |                       |
| オイカワ        | <i>Opsariichthys platypus</i>           | 純淡水魚   | ●        | ●                     | ●        | ●                     |
| ウグイ         | <i>Pseudaspius hakonensis</i>           | 純淡水魚   | ●        | ●                     | ●        |                       |
| カマツカ        | <i>Pseudogobio esocinus</i>             | 純淡水魚   | ●        | ●                     | ●        |                       |
| モツゴ         | <i>Pseudorasbora parva</i>              | 純淡水魚   | ●        | ●                     |          |                       |
| ニッポンバラタナゴ   | <i>Rhodeus ocellatus kurumeus</i>       | 純淡水魚   | ●        |                       |          |                       |
| タイリクバラタナゴ   | <i>Rhodeus ocellatus ocellatus</i>      | 純淡水魚   | ●        | ●                     |          | ●                     |
| タカハヤ        | <i>Rhynchocypris oxycephala jouyi</i>   | 純淡水魚   | ●        |                       |          |                       |
| ドジョウ        | <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>       | 純淡水魚   |          | ●                     | ●        |                       |
| ナマズ         | <i>Silurus asotus</i>                   | 純淡水魚   | ●        | ●                     |          |                       |
| アユ          | <i>Plecoglossus altivelis altivelis</i> | 通し回遊魚  | ●        | ●                     | ●        |                       |
| シラウオ        | <i>Salangichthys microdon</i>           | 通し回遊魚  | ●        | ●                     |          |                       |
| タイヘイヨウサケ属 * | <i>Oncorhynchus</i> sp.                 | 通し回遊魚  | ●        | ○                     |          |                       |
| メナダ         | <i>Planiliza haematocheilus</i>         | 汽水・海水魚 | ●        | ●                     | ●        | ●                     |
| セスジボラ       | <i>Chelon lauvergnii</i>                | 汽水・海水魚 |          |                       | ●        | ●                     |
| ボラ          | <i>Mugil cephalus cephalus</i>          | 汽水・海水魚 | ●        | ●                     | ●        | ●                     |
| キタノメダカ      | <i>Oryzias sakaizumii</i>               | 純淡水魚   | ●        | ●                     |          | ●                     |
| クルマサケヨリ     | <i>Hyporhamphus intermedius</i>         | 汽水・海水魚 | ●        | ●                     |          |                       |
| スズキ         | <i>Lateolabrax japonicus</i>            | 汽水・海水魚 | ●        | ●                     | ●        | ●                     |
| ブルーギル       | <i>Lepomis macrochirus macrochirus</i>  | 純淡水魚   | ●        | ●                     |          | ●                     |
| クロダイ        | <i>Acanthopagrus schlegelii</i>         | 汽水・海水魚 |          | ●                     | ●        |                       |
| ドンコ         | <i>Odontobutis obscurus</i>             | 純淡水魚   | ●        | ●                     |          |                       |
| カワアナゴ       | <i>Eleotris oxycephala</i>              | 通し回遊魚  |          | ●                     | ●        |                       |
| マハゼ         | <i>Acanthogobius flavimanus</i>         | 汽水・海水魚 |          | ●                     | ●        | ●                     |
| アシシロハゼ      | <i>Acanthogobius lactipes</i>           | 汽水・海水魚 | ●        | ●                     | ●        | ●                     |
| ウロハゼ        | <i>Glossogobius olivaceus</i>           | 汽水・海水魚 |          |                       | ●        |                       |
| ウキゴリ属 * §   | <i>Gymnogobius</i> spp.                 | 通し回遊魚  | ●        | ○                     |          | ○                     |
| シンジコハゼ      | <i>Gymnogobius taranetzi</i>            | 汽水・海水魚 | ●        | ●                     |          | ●                     |
| アベハゼ        | <i>Mugilogobius abei</i>                | 汽水・海水魚 |          |                       | ●        | ●                     |
| ヨシノボリ属 * §  | <i>Rhinogobius</i> spp.                 | 通し回遊魚  | ●        | ○                     | ●        | ○                     |
| シモフリシマハゼ    | <i>Tridentiger bifasciatus</i>          | 汽水・海水魚 |          |                       | ●        | ●                     |
| チチブ属 * §    | <i>Tridentiger</i> spp.                 | 汽水・海水魚 | ●        | ○                     | ●        | ○                     |
| カムルチー       | <i>Channa argus</i>                     | 純淡水魚   | ●        | ●                     |          |                       |

●は MB 解析で検出されたもの及び過去に河北潟・大野川で捕獲された記録があるもの。MB 解析において種まで特定できていない分類群については、同属の捕獲記録が存在する場合に○で示す。

<sup>a</sup> 平井・角田（1983）、石川県淡水魚類研究会（1996）、高橋（1997）、金沢市（1993）、石川県（2001）。

<sup>b</sup> 金沢市（1993）、石川県淡水魚類研究会（1996）。

\*MiFish 法での識別が困難な種群。フナ属はギンブナ・キンブナ・オオキンブナのいずれか、ニゴイ属はニゴイ・コウライニゴイ・ズナガニゴイのいずれか、タイヘイヨウサケ属はサケ・サクラマス・ニジマスのいずれか、ウキゴリ属はウキゴリ・スミウキゴリ・シマウキゴリのいずれか、ヨシノボリ属はトウヨシノボリ・ルリヨシノボリ・シマヨシノボリのいずれか、チチブ属はチチブ・ヌマチチブのいずれか。

§ 2 つ以上の代表配列が検出されたことから、複数の種が含まれる可能性がある。

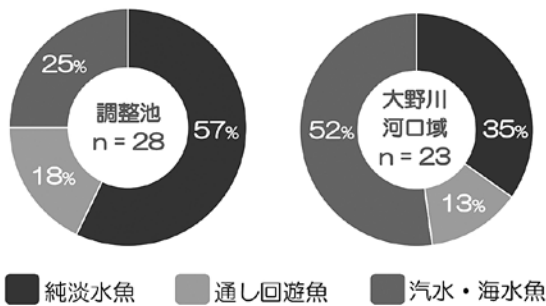


図 2. 各地点で検出された魚種の生活型の割合.

(VU) が検出された.

環境 DNA が検出された計 37 taxa のうち、両水域で検出されたものは約 4 割 (14/37 taxa) に及んだが、2 つの水域で生息する魚類の間には生活型に明瞭な違いがみられた。水域ごとに検出された魚種の生活型の割合を調べたところ (図 2)、調整池では純淡水魚が全体の 57% を占めることに対して、大野川河口域では純淡水魚の割合が 35% と比較的低く、汽水性及び海水性の魚種が 52% と半数以上を占める結果となった。一方、回遊性の魚類が占める割合については水域間で大きな差はなく、どちらも 2 割未満であった。また、単純な種数や構成する魚種の生活型だけでなく、水域間における各分類群の相対存在量についても大きな違いが見られた (図 3)。それぞれの水域別に相対存在量が高いものを順に列挙すると、調整池ではチチブ属 (11%)・タイリクバラタナゴ (9.2%)・フナ属 (8.2%)・スズキ (8.0%)・ボラ (7.5%) などが高い割合でかつ同程度に存在することがわかるが、大野川河口域ではボラ (22%) の相対存在量突出しており、そこから大きく間をあけてシモフリシマハゼ (11%)・マハゼ (9.9%)・メナダ (8.7%)・コイ (6.5%) が上位に入った。相対存在量が 1% 未満のものについては、調整池ではニゴイ属・ウグイ・シラウオ・タイヘイヨウサケ属、大野川河口域ではカマツカ・アシシロハゼ・カワアナゴ・ウロハゼ・アユが含まれた。全体として、調整池では多様な種が比較的均一に存在する傾向がみられた。この傾向は種の多様性を示す  $\alpha$  多様性指数からも裏付けられ、Shannon-Weiner Index と Simpson Index はいずれも調整池で魚類の種多様性が高いことを示した (表 3)。また、2 つの水域の魚類間の類似性の度合いを示す  $\beta$  多様性 (0 から 1 の間の値を取り、1 に近づくほど群間の類似性が低

いことを意味する) については、存在量を考慮した場合でも (Bray-Curtis Index = 0.62)、単純な種数を比較した場合においても (Jaccard Index = 0.76) 高い値を示しており、調整池と大野川河口域では魚類の群集構造に違いがあることを意味する結果が得られた。

## 考 察

### 環境 DNA 分析と過去の現地調査の比較

河北潟では、干拓後の 70 年代から 90 年代にかけて詳細な現地調査をもとに魚類相を把握する試みが行われてきた。それらを通して明らかになったことは、河北潟の魚類相が安定した状態になく、絶え間なく変化し続けていることであった。したがって、本研究で実施した環境 DNA 分析の結果を精査するためには、より最近に行われた現地調査の結果と比較することが肝要である。

照会可能な最近の調査報告によれば、2000 年に 25 種 (石川県環境部, 2001)、2005 年に 22 種 (河北潟水質浄化連絡協議会・北陸水生生物研究センター, 2005) の魚類が河北潟で確認されている。これらを調整池の分析結果と比較すると、環境 DNA 分析で判別可能な分類群に限定した場合、本研究では 6 種を検出することができなかった。すなわち、ゲンゴロウブナ・ドジョウ・スラムツ・ワカサギ・ヒイラギ・オオクチバスである。これらのうち、ゲンゴロウブナとドジョウについては、2021 年に我々が行った環境 DNA 分析で東部承水路から検出されているため (山本・川畑, 未発表)、潟内における各種の空間分布が影響した可能性が高い。残りの 4 種はいずれも近底層～表層を遊泳するという特徴をもつが、全国 18 の湖沼を対象に行われた環境 DNA 分析の研究からは (Doi *et al.*, 2020)、表層部を遊泳する魚種が検出されにくい傾向にあることが示唆されている。したがって、この 4 種は、環境 DNA 分析が抱える弱点や、そもそのサンプルサイズ (MB 解析に供した水サンプルの数) の影響によって検出することができなかったと考えるのが妥当だろう。本研究結果は決してこれらの存在を否定するものではない。

本研究では、最近の調査で未確認だった 7 taxa (ニゴイ属・ニッポンバラタナゴ・タカハヤ・アユ・シラウオ・タイヘイヨウサケ属・アシシロハゼ) が検出された。いくつかの分類群については、過去に一度も河北潟で発見されていないものがあるため、後ほど議論することとして、70 年

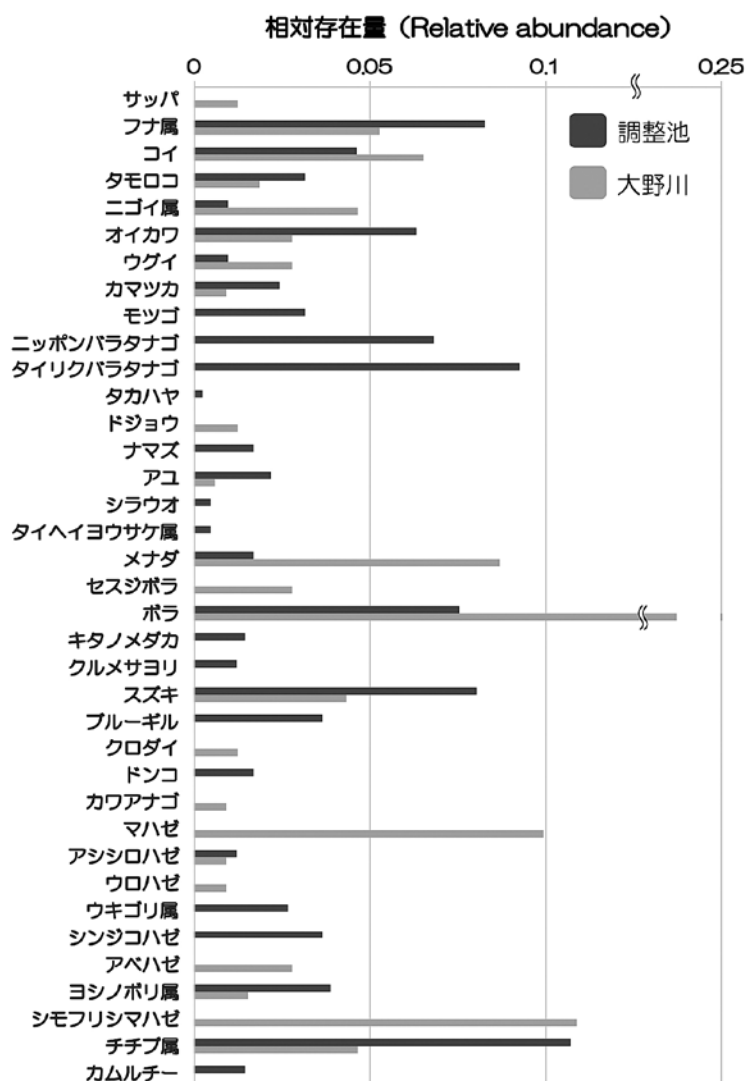


図 3. リード数を Hellinger 変換して推定された魚類 (種・分類群) の相対存在量.

代以降に潟内で捕獲記録がなかったアユ・シラウオ・タイヘイヨウサケ属が検出された意義は大きい。この 3 種の推定存在量は非常に少なく (図 3)、これまでの現地調査で発見が困難であったことは容易に推察される。捕獲調査によって確証を得ない限り、これらの存在を認めることは早計かもしれないが、水の中から検出された僅かな DNA 断片は、これらの分類群 (魚種) が金沢港防潮水門で大野川感潮域と仕切られた河北潟を生活の場として現在も利用していることを強く示唆している。実際、シラウオについては、ごく最近に金沢港防潮水門の下流側の大野川河口域と東部承水路に流入する能瀬川で採集されて

おり (坂井・山本, 2016)、河北潟内に生息することはほぼ間違いないだろう。

#### 環境 DNA 分析で新たに発見された魚種について

調整池から検出されたニゴイ属・ニッポンバラタナゴ・タカハヤについては、河北潟でこれまでに一度も記録がない。以下ではこれらの魚種が河北潟水域に生息する可能性について考察したい。

ニゴイ属：分布や捕獲記録を考慮すれば (例えば、石川県環境安全部自然保護課, 1999; 細谷, 2019)、ニゴイと考えて間違いないだろう。ただし、体サイズも比較的大

表 3. 河北潟の調整池と大野川河口域で検出された魚類相の多様度と類似度.

| 多様性指数                | 調整池  | 大野川<br>河口域 |
|----------------------|------|------------|
| $\alpha$ 多様性         |      |            |
| 分類群の数                | 28   | 23         |
| Shannon-Wiener Index | 3.02 | 2.68       |
| Simpson Index        | 0.94 | 0.90       |
| $\beta$ 多様性          |      |            |
| Bray-Curtis Index    | 0.62 |            |
| Jaccard Index        | 0.76 |            |

さく、分類も容易であることから、これまでの現地調査で本種が見逃されてきたと考えるのには少し無理がある。県内では、河北潟より南方の水系を異にする梯川および動橋川で採集されていることから（石川県淡水魚類研究会, 1996）、近年これらの河川から放流等によって移植されたのかもしれない。推定された相対存在量からも（図 3）、すでに定着していると考えべきである。

ニッポンバラタナゴ：本種の本来の分布域は、琵琶湖以西の西日本各地の平野部の溜池や小規模河川である（Kimura & Nagata, 1992）。したがって、本来の分布域から大きく離れた河北潟に本種が自然分布するとは考えにくい。おそらく、過去に琵琶湖産のゲンゴロウブナやアユの放流が盛んに行われた際に（石川県淡水魚類研究会, 1996）、河北潟に随伴放流されたのだろう。基亜種のタイリクバラタナゴも本研究で検出されているが（表 2）、DNA 分析はこの 2 亜種を識別する精度を持っている。したがって、本種の DNA が検出されたことに対する解釈としては次の 3 つがある。

- (1) かなり最近に河北潟に本種が移入した。
- (2) 実際にニッポンバラタナゴは河北潟に生息していたが、これまでの現地調査ではタイリクバラタナゴとして処理されてきた。
- (3) ニッポンバラタナゴは存在せず、浸透性交雑によってミトコンドリア DNA がニッポンバラタナゴ由来のものに置き換わったタイリクバラタナゴが一定数存在する。

推定されたニッポンバラタナゴの相対存在量を考慮すれば、すでにかかなりの個体が河北潟に生育していると予想されるため、移入後しばらくの時間が経過しているものと推察される。したがって、(1) である可能性はそれほど高く

ないだろう。(2) と (3) の解釈を検討するためには追加の研究が必要であるが、興味深い調査結果が県内の湖から報告されているのでここで紹介したい。小松市の木場潟では、捕獲と環境 DNA 分析の両面から魚類相の調査が行われ（木場潟自然環境調査検討委員会, 2020）、本研究と同じようにタイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴの両方が環境 DNA 分析で検出されている。しかし、捕獲されたのはタイリクバラタナゴのみで、ニッポンバラタナゴは発見されなかった。これまで河北潟では数多くの捕獲調査が行われており、その全てでニッポンバラタナゴが見逃されてきたと考える (2) の解釈は少し無理があるかもしれない。やはり、浸透性交雑によって DNA の一部がニッポンバラタナゴに置き換わったタイリクバラタナゴが河北潟に一定数存在し、県内でも広がっていると考えるのが妥当である。

タカハヤ：本種は潟内での存在が確認されていないものの、流入する複数の河川で捕獲記録がある（例えば、金沢市, 1993；石川県淡水魚類研究会, 1996）。したがって、実際に潟内に生息する可能性も否定することはできないが、偶発的に調整池に迷い込んできた個体、あるいは流入河川から流れてきた環境 DNA を検出した可能性の方が高いかもしれない。推定された相対存在量が極めて少ないこともこの考えに矛盾しておらず、本来は河川の中・上流に生息するタカハヤが河北潟を利用しているとは考えにくい。また別の可能性として、潟内に生息する近縁種のアブラハヤはタカハヤとしばしば交雑するため（樋口・渡辺, 2005）、上述したニッポンバラタナゴと同様に、浸透性交雑によって部分的にタカハヤの DNA をもつアブラハヤが潟内に生育する可能性もあるだろう。本研究ではこれらの可能性についてこれ以上検討することができないため、今後の捕獲調査において注意を払う必要がある。

#### 水門で隔てられた魚類の群集構造と多様性の違い

調整池と大野川河口域では魚種の群集構造が大きく異なることが本研究によって示された（図 2；表 3）。特に汽水性魚種の在・不在がその差異に大きく関わっていることは明白であり（図 2）、高橋（1997）が指摘するように、潟内の淡水化の影響が強く反映されている。その一方で、淡水と汽水の両方のハビタットを利用するアユ・シラウオ・タイヘイヨウサケ属・ウキゴリ属・ヨシノボリ属等の通し回遊魚は、水門で仕切られて淡水化した河北潟を現在も利用していることがうかがえた。河北潟と大野川を仕

切る貯木場水門は通常閉鎖されているため、これらの魚種は大野川への越流および大野川からの潮汐を利用して水域間の往来を行なっているものと考えられる（坂井・山本, 2013）。しかしながら、それらの推定存在量は他の魚種と比較しても軒並み低い水準であり（図 3）、やはり回遊魚の遡上・下降に対する水門の影響は大きいといわざるを得ない。過去の捕獲調査と同じように、本研究の結果も防潮水門によって淡水化した河北潟で深刻な魚類相の変化がもたらされていることを示している。

水域間で種数を比較した結果、調整池でより種多様性が高いことが示された（表 3）。しかし、この結果をもって「潟内の方が魚類の多様性が高い」と捉えるのは誤りだろう。調整池と大野川河口域で検出された 37 taxa のうち、明らかに移入魚と考えられるものは 6 taxa 存在した、すなわち、ニゴイ属・オイカワ・ニッポンバラタナゴ・タイリクバラタナゴ・ブルーギル・カムルチーである。ニゴイ属およびオイカワは両地点で検出されたが、残りの 4 種は調整池のみで検出されたものである（表 2）。検出された在来種の数を実単純に比較すると、2 地点の違いはほとんどなくなることから（調整池：22 taxa vs. 大野川河口域：21 taxa）、移入魚の影響で調整池の多様性指数が高く出た感は否めない。あくまでリード数を標準化した値であるので参考程度にとどめるべきだが、この 4 種の相対存在量の合計は全体の 2 割を超えている（図 3）。これらの結果は、今後とも継続した移入魚のモニタリングが重要であることを示している。

## まとめ

本研究は、河北潟で実施された初めての環境 DNA 分析である。MiFish 法を用いた MB 解析では、調整池と大野川河口域で計 37 taxa の魚種が検出され、淡水化が進んだ河北潟調整池で汽水性および在来の魚類が減少していること、および移入魚が定着していることが示唆された。これらの結果はこれまでの捕獲調査でも認知されていることであったが（例えば、高橋, 1997）、潟内ですでに消失した可能性もあったアユ・シラウオ・サケ類が検出されるなど、環境 DNA 分析の有用性も十分に示すことができた。今後、河北潟の生態系保全・再生に資する情報を得る手段として、環境 DNA 分析が担う役割は大きくなるだろう。解析が十分に行えなかった東部承水路を含めて、サンプルサイズを増やし、継続的な DNA 分析

を行うことが重要である。

## 謝 辞

本研究を進めるに当たって、永坂正夫教授（金沢星稜大学）・高橋久博士（河北潟湖沼研究所）・山本邦彦氏（いしかわ動物園）には、現地調査をはじめ、文献の照会や検出された魚類の確認など多大なご協力をいただきました。また、池田匡史助教（兵庫教育大学）には、草稿に対してご助言をいただいた。この場を借りて厚く御礼申し上げます。本研究は NPO 法人河北潟研究所による 2019 年度河北潟研究奨励助成を受けて行われたものです。

## 引用文献

- Doi, H., Matsuoka, S., Shin-ichiro, S. M., Nagano, M., Sato, H., Yamanaka, H., ... & Miya, M. 2020. Effects of species traits and ecosystem characteristics on species detection by eDNA metabarcoding in lake fish communities. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.09.25.314336>.
- García - Machado, E., Laporte, M., Normandeau, E., Hernández, C., Côté, G., Paradis, Y., Paradis, Y., & Bernatchez, L. 2021. Fish community shifts along a strong fluvial environmental gradient revealed by eDNA metabarcoding. Environmental DNA. <https://doi.org/10.1002/edn3.221>.
- 平井賢一・角田健治. 1983. 石川県の淡水魚類 3 河北潟とその流入河川. 金沢大学日本海域研究所. 15: 15-32.
- 細谷和海. 2019. 山溪ハンディ図鑑 15 増補改訂日本の淡水魚. 山と溪谷社, 東京.
- 石川県環境部. 2001. 平成 12 年度河北潟環境保全対策調査報告書. 石川県.
- 石川県環境安全部. 2006. 河北潟水質保全対策検討調査報告書. 石川県.
- 石川県環境安全部自然保護課. 1999. 新版石川の動植物. 石川県.
- 石川県水産試験場. 1912. 石川県湖潟内湾水面利用調査報告—第四巻（河北潟之部）. 石川県水産試

- 験場.  
石川県淡水魚類研究会. 1996. 石川県の淡水魚類. 石川県.  
河北潟水質浄化連絡協議会・北陸水生生物研究センター. 2005. 平成16年度河北潟生物生息調査業務報告書. 河北潟水質浄化連絡協議会・北陸水生生物研究センター.  
金沢市. 1993. 金沢のさかな. 金沢市環境部環境保全課.  
環境省自然環境局. 2019. 環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き 第1版, [http://www.biodic.go.jp/edna/reports/fwfish\\_tebiki1.pdf](http://www.biodic.go.jp/edna/reports/fwfish_tebiki1.pdf).  
川幡佳一. 1993. 干拓・淡水化の汽水湖生態系に及ぼす影響. 日産科学振興財団研究報告書. 16: 321-323.  
Kawabata, K., & Defaye, D. 1994. Description of Planktonic Copepods from Lake Kahoku-gata, Japan. Japanese Journal of Limnology. 55: 143-158.  
木場潟自然環境調査検討委員会. 2020. 木場潟周辺自然環境調査報告書. 小松市.  
Kimura, S., & Nagata, Y. 1992. Scientific name of Nippon-baratanago, a Japanese bitterling of the genus Rhodeus. Japanese Journal of Ichthyology. 38: 425-429.  
Laporte, M., Reny - Nolin, E., Chouinard, V., Hernandez, C., Normandeau, E., Bougas, B., Cote, C., Behmel, S., & Bernatchez, L. 2021. Proper environmental DNA metabarcoding data transformation reveals temporal stability of fish communities in a dendritic river system. Environmental DNA. 3: 1007-1022.  
Leduc, N., Lacoursière - Roussel, A., Howland, K. L., Archambault, P., Sevellec, M., Normandeau, E., Dispas, A., Winkler, G., Mckindsey, C. W., Simard, N., & Bernatchez, L. 2019. Comparing eDNA metabarcoding and species collection for documenting Arctic metazoan biodiversity. Environmental DNA. 1: 342-358.  
Maruyama, A., Sugatani, K., Watanabe, K., Yamanaka, H., & Imamura, A. 2018. Environmental DNA analysis as a non - invasive quantitative tool for reproductive migration of a threatened endemic fish in rivers. Ecology and Evolution. 8: 11964-11974.  
Miya, M., Gotoh, R. O., & Sado, T. 2020. MiFish metabarcoding: a high-throughput approach for simultaneous detection of multiple fish species from environmental DNA and other samples. Fisheries Science. 86: 939-970.  
Miya, M., Minamoto, T., Yamanaka, H., Oka, S. I., Sato, K., Yamamoto, S., Sado, T., & Doi, H. 2016. Use of a filter cartridge for filtration of water samples and extraction of environmental DNA. Journal of Visualized Experiments. 117: e54741.  
Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., & Iwasaki, W. 2015. 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. 2: 150088.  
本村浩之. 2020. 日本産魚類全種目録. 鹿児島大学総合研究博物館.  
永坂正夫. 1997. 河北潟の水生植物の現状. 河北潟総合研究. 1: 3-8.  
野田英樹・鎌田直人. 2003. 河北潟におけるカメ類の生息状況. 河北潟総合研究. 9: 11-22.  
野村卓之・高橋久. 2006. 河北潟地域の陸・淡水貝類相. 河北潟総合研究. 6: 7-17.  
Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O' Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., & Wagner, H. 2013. Package 'vegan'. <http://cran.rproject.org/web/packages/vegan/index.html>  
R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.  
坂井恵一・山本邦彦. 2016. 新たに見つかった石川県におけるシラウオ *Salangichthys microdon* の生息地. のと海洋ふれあいセンター研究報告, 22: 1-10.  
高橋久. 1997. 河北潟の魚類相の変遷. telos. 17: 1-6.

- 高橋久. 2013. 河北潟における魚類相の変遷. 河北潟湖沼研究所（編）. 「河北潟レッドデータブック」. p. 156. 橋本確文堂.
- 東樹宏和. 2016. DNA 情報で生態系を読み解くー環境DNA・大規模群集調査・生態ネットワーク. 共立出版.
- 山本浩伸・桑原和之・竹田伸一・平田豊治・中川富男. 2000. 河北潟の鳥類相. 我孫子市鳥の博物館調査研究報告. 8:1-23.