

## 環境 DNA を用いたため池群の生態系保全機能評価の検証

Verification of the evaluation of the biodiversity conservation function of a group of reservoirs

正原大輝<sup>1</sup>、乃田啓吾<sup>1</sup>、木村匡臣<sup>2</sup>、渡部哲史<sup>3</sup>

Hiroki SHOHARA<sup>1</sup>, Keigo NODA<sup>1</sup>, Masaomi KIMURA<sup>2</sup>, Satoshi WATANABE<sup>3</sup>

## 1. はじめに

農業用ため池は、農業用水の確保・供給のために築造された人工的な池のことである。近年、安全性が低く、農業利用のしていないため池の統合・廃止が検討されている。しかし、ため池は生物多様性にも寄与していると考えられるため、生物多様性の観点も含めた多方面からの評価が必要である。ため池群の生物多様性評価手法は柳原(2020)が開発している。しかし、この手法は実際にため池で生物を調査したわけではない。よって本研究では、現地での調査結果と計算上の結果が一致するのか検証することを目的とした。

## 2. 方法

調査地は愛媛県西条市のため池とし、集水域外からの影響を受けないよう道前用水とながっていないため池の中から、柳原(2020)の提案した生息環境の指標である Quality 値(Q値)が上位から下位で偏りが無い様に12か所を選出した(図1)。

採水は2021年10月31日および11月1日にプラスチックボトルを用いて行った。その際、自身のDNAが混入しないように使い捨てのゴム手袋を着用した。採水したものは生物技研に環境DNAの分析を依頼した。サンプルはGF/Aフィルター(Whatman/1.6 $\mu$ m)及びステリベクス(メルクミリポア/0.22 $\mu$ m)を用いて濾過され、環境DNAが含まれる細胞片等を濃縮した。リードの抽出に

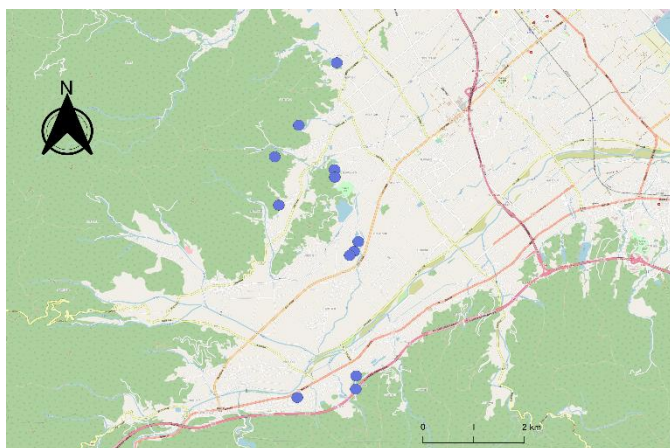


図1. 調査したため池

Researched reservoir

はFASTX-Toolkit(ver.0.0.14)のfastx\_barcode\_splittertool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を抽出した。環境DNAには調査結果のデータをターゲットのDNAがある場合は1、ない場合は0で表し、そのデータを用いて解析を行った。解析は主成分回帰分析とロジスティック回帰分析を行い、Q値と関

<sup>1</sup> 岐阜大学応用生物科学部(Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University)

<sup>2</sup> 近畿大学農学部(Faculty of Agriculture, Kindai University)

<sup>3</sup> 京都大学防災研究所(Disaster Prevention Research Institute, Kyoto University)

キーワード：生物多様性, ため池, 環境DNA

係があるかどうかを検証した。主成分回帰分析は各ため池の環境 DNA から主成分を調べ、どのため池の生物多様性が大きいかということ調べるために行った。ロジスティック回帰分析では環境 DNA の 0, 1 表を目的変数、各ため池の Q 値を説明変数として分析を行い、多くの環境 DNA の中から実際に存在している可能性の高い生物種を調べるために行った。

### 3. 結果・考察

R を用いて主成分分析を行った結果、第二主成分までの累積寄与率が約 25%という値となった。第一主成分と第二主成分の結果を用いて各ため池の Q 値と相関を調べた(図 2)。第一主成分と Q 値との相関は 0.18 で第二主成分とは-0.039 であった。よってどちらとも Q 値と相関があるとは言えない。よって冬季の環境 DNA は Q 値と相関があるとは言えない。

ロジスティック回帰分析では得られた値から、実際にため池にいると考えられる生物を示した(表 1)。今回は P 値が 0.4 以下の数値を対象として選定した。表 1 においてオオクチバス、ブルーギル、ウシガエルは全国的に分布している外来種であり、妥当性が高いと考えられる。表 1 から分かった生物種のターゲット DNA が各ため池に存在するかどうかで多様性の順位をつけることが出来ると考えている。

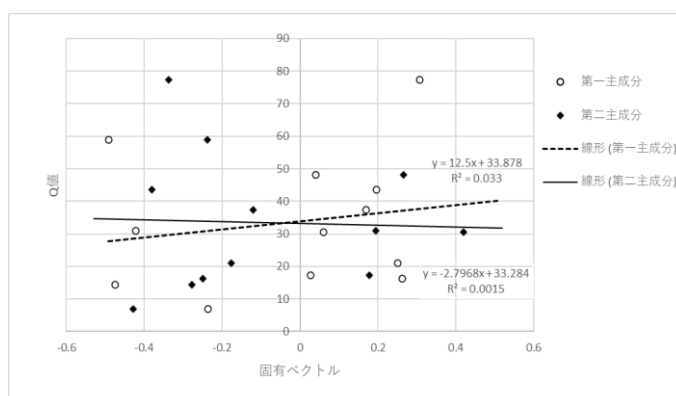


図 2. 第一主成分、第二主成分と Q 値との相関

Correlation with Q-value

表 1. 存在確率の高い生物種

Species likely to be present

ターゲットDNA(仮名)	P-value	生物種1位	生物種2位
ASV_007	0.1228	ゴクラクハゼ	ゴクラクハゼ
ASV_009	0.2250	オオヨシノボリ	ヨシノボリ属の一種
ASV_013	0.2570	アオサギ	ムラサキサギ
ASV_075	0.2570	ウシガエル	ウシガエル
ASV_079	0.2870	ヨシノボリ属の一種	クロダハゼ
ASV_025	0.2910	ブルーギル	ブルーギル
ASV_035	0.3800	ブルーギル	ブルーギル
ASV_069	0.3800	オオクチバス	オオクチバス
ASV_011	0.3800	クロヨシノボリ	ヨシノボリ属の一種

### 4. 今後の展望

冬季に行った調査では Q 値と相関のある結果を得ることは出来なかった。柳原(2020)のモデルでは両生類を基準に設計しているが、今回の調査では両生類の環境 DNA の採取が出来なかった。そのため夏季にもサンプルを採水し、同様に分析を行う必要がある。

#### 参考文献

柳原未侖, 乃田啓吾: ため池の持続的価値評価に向けた生物多様性保全基準の検討, 農業農村工学会全国大会講演要旨集, pp.691-692, 2020.