

カワバタモロコの調査方法に関する研究

坂根 啓太・安原 璃空・平山 佳樹（兵庫県立農業高等学校生物部1年）

はじめに

私たち生物部は2008年にカワバタモロコが生息しているため池で池干しによる外来種の駆除を行い、その後、標識再捕法による生息数の変化を8年間調べてきた。また、2014年より環境DNAを用いたカワバタモロコの調査を大学と共同で行ってきた。

2. 標識再捕法を用いた生息数調査

(1) 2008年～2017年の結果・考察

これまでの結果、2009年に2,619匹、2010年に940匹、2011年に4,931匹、2012年に2,505匹のように、1年ごとに増減を繰り返しながら個体数を維持していることが分かった。しかし、2013年に986匹に減少したが、2014年は増加して4,515匹、2015年には減少して2,852匹と再び増減した。このことから2016年は増加すると予想していたが、結果は1,625匹となり減少した。(図1) これまでは1年ごとに増減を繰り返して個体数を維持していると考えていたが、2013年、2016年の調査で推定生息数が減少したため、2年で数を減らして3年目に大きく数を増加させるという、3年周期の生態なのではないかと考察した。新たな仮説についての証明は、さらに3年の調査が必要になる。

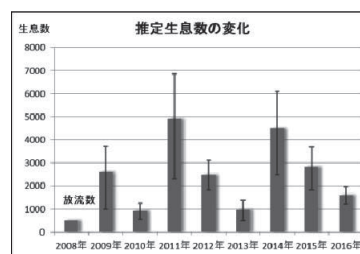


図1 推定生息数の変化

(2) BB弾での検証実験

標識再捕法の結果は本当に信頼できるのかを調べるために、BB弾を使って標識再捕法の検証実験を行った。実験方法は、BB弾の白色1,000個と黄色を2,000個用意する。白色のBB弾は標識付きのカワバタモロコ、黄色のBB弾は標識無しのカワバタモロコとした。生息数を2,000匹とし、黄色を1,900個、白色を100個かごに入れ、まんべんなく混ぜる。そこから無作為に300個取り出してその中にある白色のBB弾の数を数え、数式に代入し生息数を求めた。この実験を合計10回行い10回の平均を求めたあと、白と黄色のBB弾を100個ずつ入れ替え、同じように測定を行う。最終的には黄色、白色ともに1,000個なるまで繰り返した。

実験の結果から標識数が多くなるほど誤差が小さくなることが分かった(表1)。しかし、標識数が300を超えたあたりからほとんど変化がなかった。ため池での標識再捕法では標識数が200～300匹なので、標識数を300匹にした時の実験結果をグラフにした。(図2) 3回目と6回目以外は約1,700～1,900匹となりあまり誤差が出ないことがわかった。そして6回目以外は推定生息数が全体の生息数より少ない値が算出されている。このことから標識再捕法は実際の生息数より少ない値が算出されやすい手法ではないかと思った。実際の生息数より少ない値が算出されている可能性があると考えられる。

標識数	結果	誤差	最大	最少
100	2240.9	240.9	3750	1428.6
200	1832.6	-167.4	2307.7	1428.6
300	1813.5	-186.5	2195.1	1428.6
400	1936.4	-63.6	2142.9	1690.1
500	1944.8	-55.2	2343.8	1744.2
600	2076.2	76.2	2278.5	1894.7
700	1940	-60	2142.8	1810.3
800	1900.8	-99.2	2181.8	1739.1
900	1993.7	-6.3	2177.4	1812.1
1000	1903.6	-96.4	1986.7	1796.4

表1 標識数による推定生息

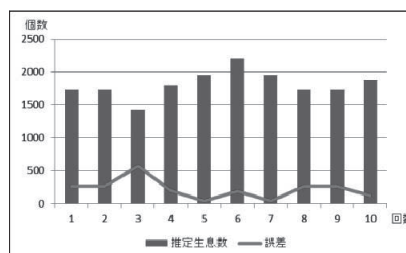


図2 標識数300の時の誤差

(3) 標識再捕法と BB 弾実験の比較

BB 弾を 2,000 個用いて標識数を 300 とした時の生息数と最大値、最小値を、標識再捕法による数値に換算して比較した。実際の数よりも少なく見積もられたため各年度においても標識再捕法の値より小さくなったが、最大値、最小値の範囲内に標識再捕法の値が入っているため、標識再捕法の値は信用できると言える。

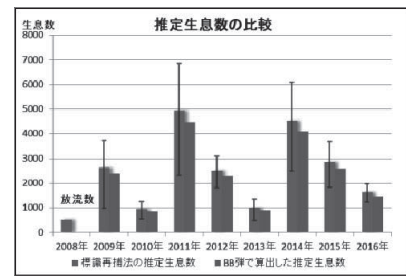


図3 推定生息数の比較

3. 環境 DNA 手法を用いた生息数調査

(1) 環境中のカワバタモロコ DNA の検出実験

環境 DNA の精度を確かめるためカワバタモロコが生息しているため池 7 箇所と生息していないため池 4 箇所の計 11 箇所にて採水を行い、環境 DNA の検出率を求める実験を行った。実験の結果、カワバタモロコの生息が確認されている全てのため池で DNA が検出でき、生息が確認されていないため池では検出されなかった。

(2) 新たな生息地の発見

次にカワバタモロコの新たな生息地の発見を試みる実験を行った。83 箇所のため池で DNA を検出したところ 7 箇所にてカワバタモロコの DNA が検出された。それらのため池でカワバタモロコを捕獲したところ、7 箇所のうち 6 箇所にて捕獲確認することができた。1 箇所生息が確認できなかったため池については、2 回捕獲を試みたが確認はできなかった。原因としては生息数が非常に少なかったのではないかと考えられる。

(3) 個体数と環境による DNA 量の違いを調べる

カワバタモロコの生息数を求めるために、個体数や環境によって DNA 量にどのような違いが生じるかを調べるために丸型容器、ビオトープ、噴水池で実験を行った。

① 丸型容器 (水量 78L)

実験前にカワバタモロコの各個体重量を測定し、個体数を 1 匹、10 匹、50 匹、0 匹とし、水道水を入れた丸型容器で一週間飼育した。1 週間後採水を行い、これを 3 週間にわたって 3 回行った。

② ビオトープ (水量 2,000L)

1 匹放流し、それぞれ 1 週間後に 2 箇所採水、ろ過を行った。その後、9 匹を追加して 10 匹、40 匹を追加して 50 匹として、それぞれ 1 週間後に採水を行った。

③ 噴水池 (水量 31,400L)

噴水池の中央にかごを設置し、重量を測定したカワバタモロコをかごの中に入れ 1 週間後に噴水池の中央から 1m、3m、5m の 3 点、3 方向の計 9 箇所から採水を行い、その後ビオトープの実験と同様に個体数を追加して実験を行った。

④ 結果

生体重と DNA 量の相関より丸型容器では回帰式、 $y=0.003x$ 、ビオトープでは回帰式 $y=0.0006x$ 、噴水池では $y=0.0003x$ と検出限界水量 963, 352L/匹を得ることができた。その後、ため池の水と水道水を用いて分解実験を行った結果、自然環境に近いビオトープの結果が最も信頼できるデータであると考えた。

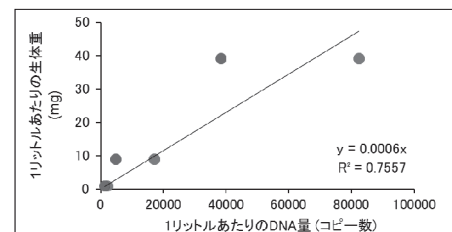


図4 ビオトープ実験の相関図

(4) 推定生息数の比較 (2015, 2016)

大きなため池 A と小さなため池 B の 2 箇所と比較した(表 2)。

①A 池 (水量 1750, 000L) での推定生息数

A 池の 4 箇所で採水した水から検出した DNA 量をビオトープの回帰式 $y=0.0006x$ にあてはめた。昨年 2015 年の結果は 4 箇所の推定生息数の平均が 855 匹で標識再捕法による推定生息数は 2,852 匹となり、誤差が 1,997 匹となった。2016 年の結果は 4 箇所の推定生息数の平均が 47 匹で標識再捕法による推定生息数が 1,625 匹となり、誤差が 1,578 匹となった。

②B 池 (水量 22, 500L) での推定生息数

B 池で採水した水から検出した DNA 量を A 池と同様、ビオトープの回帰式にあてはめた。2015 年の結果は 3 箇所の推定生息数の平均が 824 匹で標識再捕法による推定生息数は 1,258 匹となり、誤差が 434 匹となった。こちらのため池は DNA 量が多く、標識再捕法の結果と近い結果となった。2016 年の結果は 3 箇所の推定生息数の平均が 345 匹で標識再捕法による推定生息数は 3,000 匹となり、誤差が 2,655 匹となった。

表 2 推定生息数の比較

2015						2016					
採水場所	池の水1LあたりのDNA量	池の水1Lあたりの推定生体重 (mg)	池全体の推定生体重 (mg)	池全体の推定生息数(匹)	推定生息数の平均	採水場所	池の水1LあたりのDNA量	池の水1Lあたりの推定生体重 (mg)	池全体の推定生体重 (mg)	池全体の推定生息数(匹)	推定生息数の平均
ため池 A	①	297	0.178	312.027	294	855	①	20	0.012	21.401	21
	②	266	0.160	279.679	264		②	57	0.034	60.316	58
	③	2,499	1.500	2,629.190	2,480		③	95	0.057	100.005	96
	④	385	0.231	405.441	382		④	14	0.009	14.936	14
	標識再捕法による推定生息数						2,852	標識再捕法による推定生息数			
標識再捕法との誤差(2,852-855)					1,997	標識再捕法との誤差(1,625-47)					1,578
2015						2016					
ため池 B	①	36.830	22	497.199	469	824	①	47.517	29	641.483	605
	②	66.920	40	903.426	852		②	20.950	13	282.825	267
	③	90.330	54	1,219.458	1,150		③	12.764	8	172.312	163
	標識再捕法による推定生息数						1,258	標識再捕法による推定生息数			
標識再捕法との誤差(1,258-824)					434	標識再捕法との誤差(3,000-345)					2,655

(5) 環境 DNA 手法のまとめ

2015 年は大きなため池では誤差が大きく、小さなため池では誤差が小さいことから、小さな池の方が正確に生息数を求められると考察したが、今年の結果は昨年と逆になり、池の大きさは関係がないという考察になった。このことから現時点では環境 DNA 手法はカワバタモロコの生息確認には有効だが、生息密度を調査する手法としては難しいと言える。

4. まとめ

今回の実験では標識再捕法の精度を検証し、あらためて標識再捕法が信頼できることが分かった。また標識再捕法と環境 DNA 手法を比べて推定生息数を算出してみたが、環境 DNA 手法は数値がばらつき誤差が大きいため、今後もさらに実験方法を検討するべきだと思った。

5. 参考文献

兵庫県立農業高等学校生物部(2016)環境 DNA 手法を用いた希少種調査方法の確立第 2 報,共生の広場,11 号,179-183