

アイランドシティはばたき公園の止水性湿地における 年間を通じた環境DNAメタバーコーディング法 に基づく鳥類調査の取り組み

¹更谷有哉, ¹中島淳, ¹平川周作, ¹石間妙子, ²服部卓郎, ¹香月進

¹ 福岡県保健環境研究所, ² NPO法人ふくおか湿地保全研究会



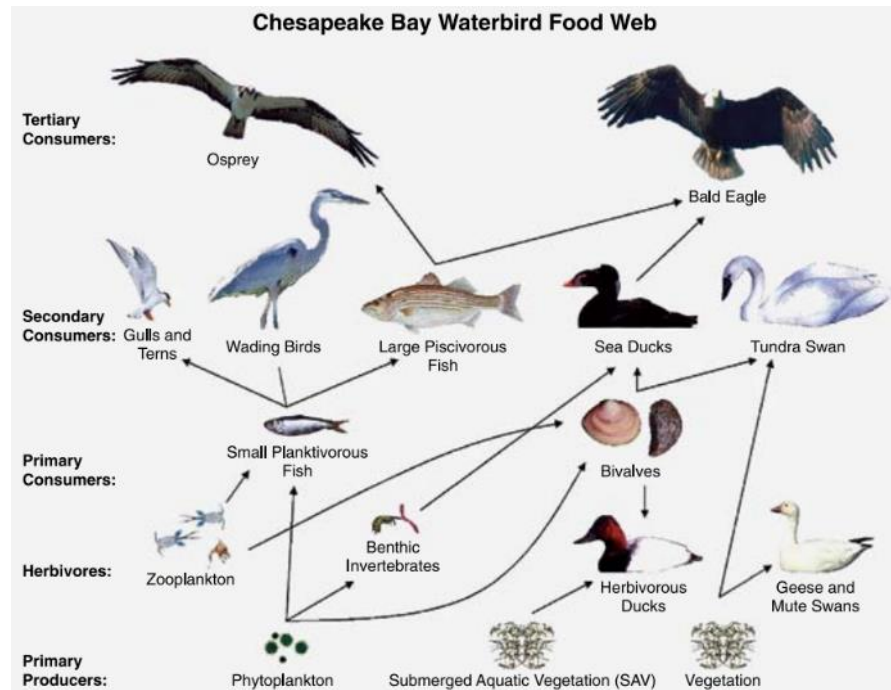
アイランドシティはばたき公園



https://www.city.fukuoka.lg.jp/data/open/cnt/3/73549/1/R05.03_sankoushiryou4.pdf より改変

- ・アイランドシティはばたき公園は、周辺の干潟や浅海域と分担しながら、鳥類の生息域を保全するために整備された。
- ・公園周辺には、渡りの中継地や越冬地として、毎年多くの鳥類が飛来する。
- ・九州北部は、北方からの渡り鳥の飛行ルートの交差点にあたる。

生態系の中での鳥類



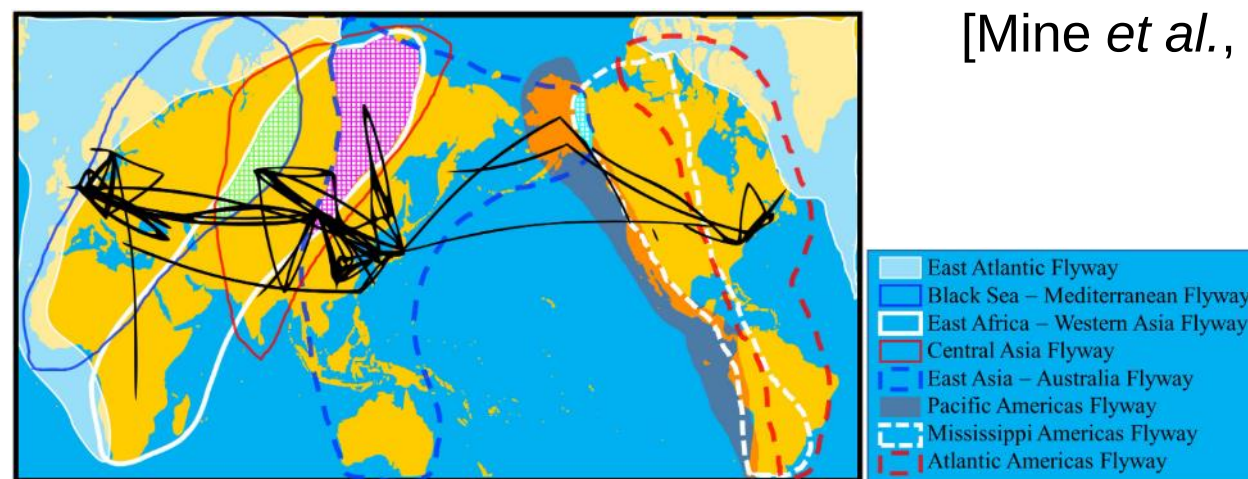
[USGS, Synthesis of U.S. Geological Survey science for the Chesapeake Bay ecosystem and implications for environmental management]

・食物連鎖などの生物間相互作用や移動による物質循環など、鳥類は生態系の中で重要な役割を果たす。

・ワンヘルスの観点からも、地域の鳥類相を把握することは重要である。

・近年繰り返し報告されている鳥インフルエンザは、ウイルス拡散に渡り鳥の移動が関与しているとされる。

[Mine *et al.*, 2019]



[Mine *et al.*, 2019]

従来の野生生物調査

- ・従来の調査手法は高度な技量が求められ、調査者の経験への依存度が高いほか、対象となる鳥類や生態系への侵襲性がある場合がある。

- ・従来の調査手法

目視観察調査

音声観測調査

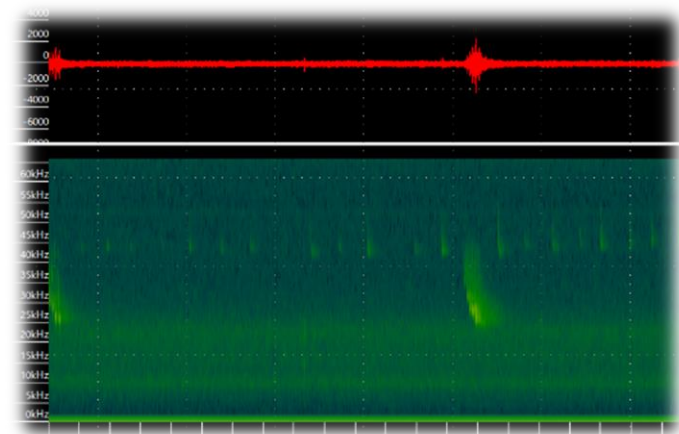
痕跡調査

標識調査

発信機装着による調査



目視観察調査



音声観測調査



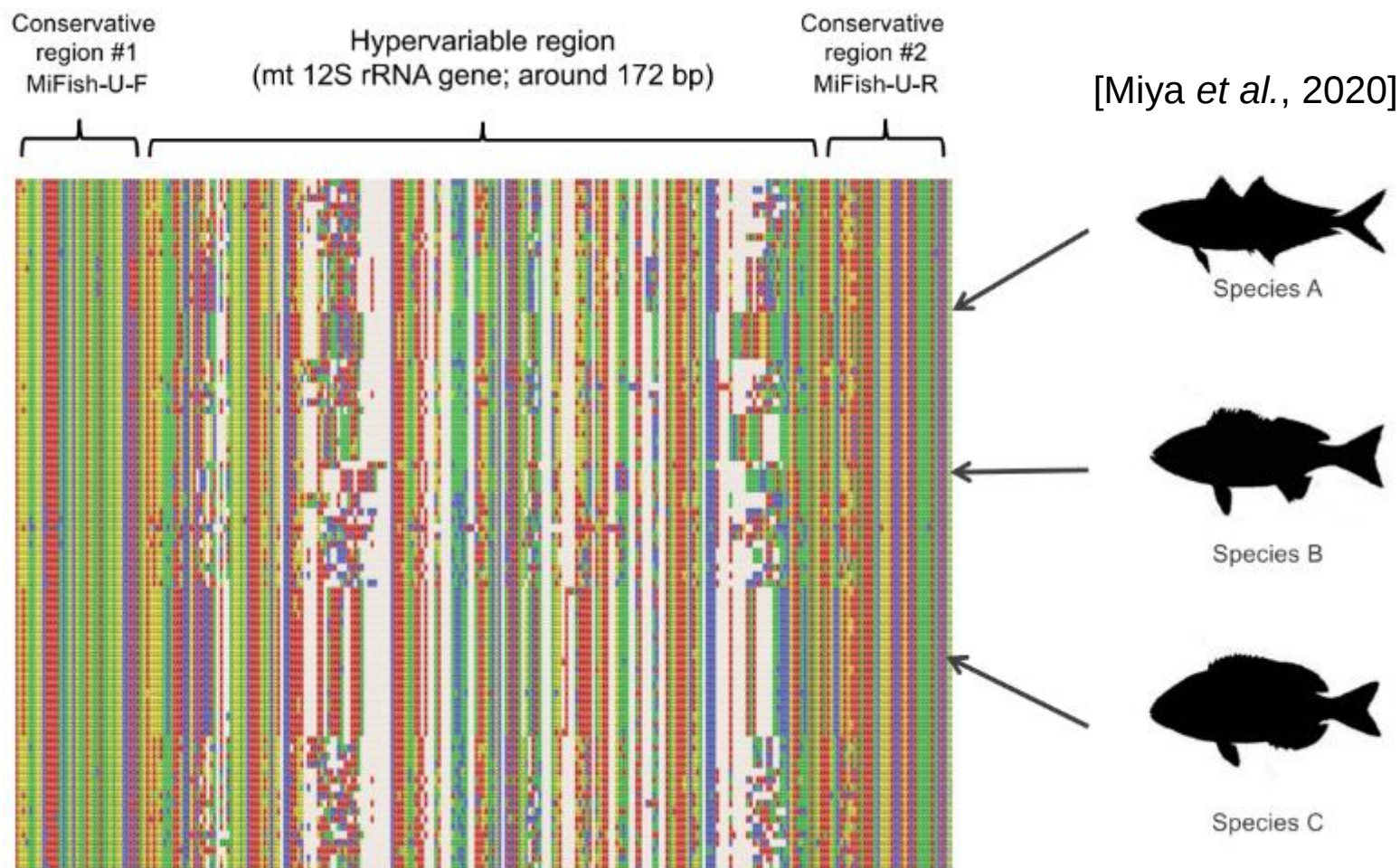
標識調査



目視観察調査

環境 DNA 分析

- ・水中, 土壌中, 大気中など環境中にある生物由来の DNA を「環境 DNA」という。
- ・種判別可能な領域の DNA 断片を増幅し, 生物種の在不在を一括して判定する「メタバーコーディング法」は, 従来法に比べて現地での作業負担を軽減できる。



先行研究: 目的と方法

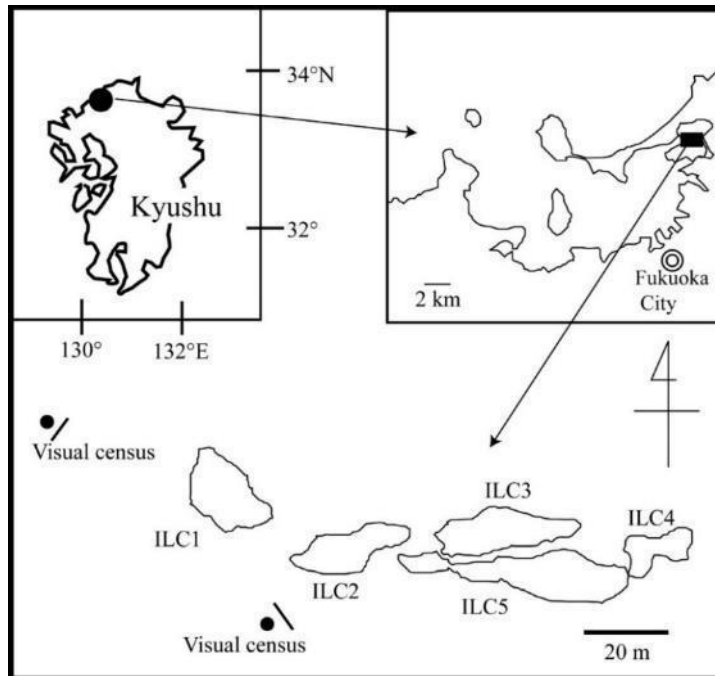
- ・水辺の鳥類の調査にメタバーコーディング法が適用できるか調べるために、福岡市内の止水性湿地で目視観察と環境 DNA 調査を並行して行った。
- ・採水調査: 2022 年 2 月 25 日に, 5 地点 (ILC1-5) で, 1 L ずつ採水した. 各地点において複数力所から 100 mL ずつ採水し, 混合して 1 L とした。

・PCR: 2-step tailed PCR 法

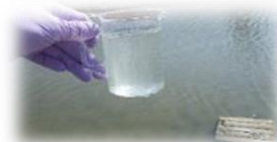
1st PCR: 35 cycle

2nd PCR: 10 cycle

1 st PCR 用プライマー	標的領域	配列長
gBird (株式会社生物技研設計)	16S rRNA	約 390 bp
MiBird (Ushio <i>et al.</i> , 2018)	12S rRNA	約 171 bp



調査地: 福岡市東区の人工湿地



ILC5



ILC4



ILC1



ILC2



ILC3

先行研究：結果

種 名	目視観察		環境DNA分析	
	2022/2/12	2022/2/26	gBird	MiBird
			2022/2/25	
アオサギ	1	1		
ダイサギ		1		
ツクシガモ	3	3		●
マガモ	14	18	▲	▲
カルガモ	38	18		
コガモ	3	4		●
オカヨシガモ	4	6	●	▲
ヒドリガモ	16	12	▲	
オナガガモ	8	23	●	●
ハシビロガモ	1	2	●	●
スズガモ		1		
ホシハジロ	3	8	●	●
ミサゴ	3	2		
ハヤブサ	1			
トビ	3	2		
チョウゲンボウ	1	1		
オオバン	1	2		
イソシギ	1			
ヒバリ	14	12		
ハクセキレイ	3	1		
モズ	1			
ジョウビタキ	4	2		
セッカ	1	2		
ホオジロ	8			
カワラヒワ		4		
スズメ	6	8		
ハシボソガラス	2	2		
ハシブトガラス	4	2		

・目視観察では 28 種類が記録され、このうちマガモ, カルガモ, ヒドリガモ, オナガガモなどが比較的多く見られた。

・環境 DNA 分析では, 目視観察で記録された種類のうちカモ類のみが検出された。

・環境 DNA 分析では, 候補種に複数種が挙がるケースがみられた。

青背景は水鳥

● 標的領域の配列で他種と分類が可能と考えられるもの

▲ 標的領域の配列において完全一致する登録配列が複数種あり
分類困難と考えられるもの

[更谷ら, 2024]

先行研究：結果

種 名	目視観察		環境DNA分析	
	2022/2/12	2022/2/26	gBird	MiBird
アオサギ	1	1		
ダイサギ		1		
ツクシガモ	3	3		●
マガモ	14	18	▲	▲
カルガモ	38	18		
コガモ	3	4		●
オカヨシガモ	4	6	●	▲
ヒドリガモ	16	12	▲	
オナガガモ	8	23	●	●
ハシビロガモ	1	2	●	●
スズガモ		1		
ホシハジロ	3	8	●	●
ミサゴ	3	2		
ハヤブサ	1			
トビ	3	2		
チョウゲンボウ	1	1		
オオバン	1	2		
イソシギ	1			
ヒバリ	14	12		
ハクセキレイ	3	1		
モズ	1			
ジョウビタキ	4	2		
セッカ	1	2		
ホオジロ	8			
カワラヒワ		4		
スズメ	6	8		
ハシボソガラス	2	2		
ハシブトガラス	4	2		

・目視観察では 28 種類が記録され、このうちマガモ, カルガモ, ヒドリガモ, オナガガモなどが比較的多く見られた。

・環境 DNA 分析では, 目視観察で記録された種類のうちカモ類のみが検出された。

カモ類の少ない夏季のサンプリングが有効？

・環境 DNA 分析では, 候補種に複数種が挙がるケースがみられた。

参照データベースの精査が必要？

青背景は水鳥

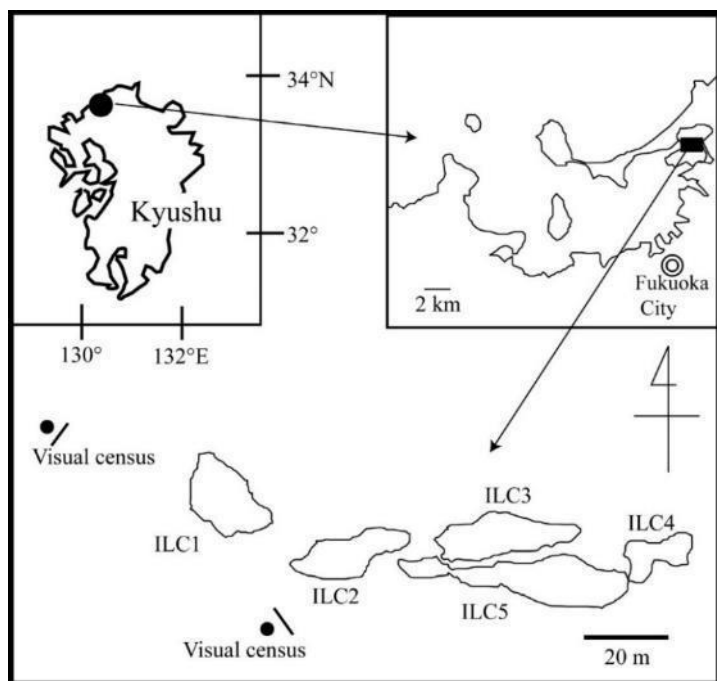
- 標的領域の配列で他種と分類が可能と考えられるもの
- ▲ 標的領域の配列において完全一致する登録配列が複数種あり分類困難と考えられるもの

[更谷ら, 2024]

目的と方法

- ・水辺の鳥類の調査にメタバーコーディング法が適用できるか調べるため、福岡市内の止水性湿地で目視観察と環境 DNA 調査を1年間にわたり並行して行った。
- ・目視観察: 2 カ所のバードハイドから、約 2 時間、スコープと双眼鏡を用いて観察した。
- ・採水調査: 2 地点 (ILC1, 5) で 1 L ずつ採水した。各地点において複数カ所から 100 mL ずつ採水し、混合して 1 L とした。

1st PCR 用プライマー	標的領域	配列長
MiBird	12S rRNA	約 171 bp



調査地: 福岡市東区の人工湿地



ILC1



ILC5



夏

目視觀察結果

冬													夏													冬													冬													夏													冬												
種名	1/18	2/11	3/31	4/20	5/25	6/22	7/26	8/30	9/22	10/21	11/25	12/30	種名	1/18	2/11	3/31	4/20	5/25	6/22	7/26	8/30	9/22	10/21	11/25	12/30	種名	1/18	2/11	3/31	4/20	5/25	6/22	7/26	8/30	9/22	10/21	11/25	12/30																																							
カイツブリ						1							コチドリ				1	2	2	3						シロチドリ				4		2		1																																											
アオサギ			1	1	3	2	1	3	2	1			タゲリ												1	タゲリ												1																																							
ダイサギ			3	1	2	3	3	2	2	1		1	イソシギ							1	1		1			イソシギ										1																																									
アマサギ				1	1								オグロシギ			1										オグロシギ				1																																															
チュウサギ					1	8							タシギ		1								1	2	1	1	タシギ									1	2	1	1																																						
コサギ							1	1	1	1			キジバト									1				キジバト								1																																											
ハラサギ			1		1								ヒバリ													ヒバリ																																																			
クロツラハラサギ			3	5	5		1						ハクセキレイ		5	12	12	8	18	18	16	12	8	10	6	3	ハクセキレイ		5	12	12	8	18	18	16	12	8	10	6	3																																					
ヒシクイ										4			モズ		2	3	2	2	1	2	3	1	1	1	2	モズ		2	3	2	2	1	2	3	1	1	1	2																																							
ツクシガモ	2	1	3										ノビタキ		2	2	1								1	1	ノビタキ																																																		
マガモ	3	6	18	58	2	2			1	6	2		ジョウビタキ											6		ジョウビタキ																																																			
カルガモ	72	66	54	42	18	12	6	2	10	56	6		ツバメ		3	4									2	ツバメ																																																			
コガモ	8		12	4				2	6	24	4	1	ツグミ				6	8	5	5	6	4	2			ツグミ				6	8	5	5	6	4	2																																									
オカヨシガモ	2		2	6									オオヨシキリ		6	20	4									オオヨシキリ					6	8	8																																												
ヒドリガモ	4	2	22	4						8		1	セッカ					6	6	8	10	6	4	4	2	セッカ					6	6	8	10	6	4	4	2																																							
オナガガモ	2	28	14							2			シロハラ		4	4	4	6	6	6	8	10	6	4	4	2	シロハラ		4	4	4	6	6	6	8	10	6	4	4	2																																					
シマアジ								2					ツリスガラ		2	3	1									ツリスガラ																																																			
ハシビロガモ		1	2							2		1	ホオジロ												4	ホオジロ													4																																						
ホシハジロ		1		1	1								アオジ		8	6	8	5	6	4	6	6	6	3	4	アオジ		8	6	8	5	6	4	6	6	6	6	3	4																																						
ミサゴ	1	3	3	2	2	2	3	1	2	1	1	1	カワラヒワ				1									カワラヒワ																																																			
ハヤブサ			1		1	1	1						オオジュリン		16	12	6		5	10	16	6	12	12		オオジュリン		16	12	6		5	10	16	6	12	12																																								
トビ	2	2	2	2	3	1	3	2	3	3	2	2	スズメ		2	3								1	2	2	スズメ		2	3								1	2	2																																					
ハイタカ												1	ハシボソガラス		20	30	20	6	3		4	20	20	14	8	20	ハシボソガラス		20	30	20	6	3		4	20	20	14	8	20																																					
チョウゲンボウ	2	1	1							1	1	1	ハシブトガラス		3	2	2	3	2	2	2	1			1	ハシブトガラス		3	2	2	3	2	2	2	1			1																																							
カワセミ										1			ハシブトガラス		2	2	3		1					2	3	ハシブトガラス		2	2	3		1					2	2	3																																						
オオバン	1	1		1									青背景は水鳥													橙背景は環境 DNA 分析で検出された種類																																																			
バン			1	5	8	10	8	10	6	5																																																																			

- ・目視観察では、マガモ、カルガモ、ヒバリ、スズメなど 52 種類が記録された。
- ・カモ類は冬季に多く、サギ類やバンなどは夏季に多いといった季節性がみられた。

環境 DNA 分析

冬

夏

冬

種名	1月		2月		3月		4月		5月		6月		7月		8月		9月		10月		11月		12月	
	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5
アオサギ				○	○															○				
ヒシクイ																			○	○				
ツクシガモ	○		○		○																			
マガモ/カルガモ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○			○	○	○	○	○	○	○	○
コガモ		○		○			○		○								○	○		○	○	○	○	○
オカヨシガモ					○																○		○	○
ヒドリガモ		○		○		○	○																○	○
オナガガモ				○		○													○	○	○		○	○
ハシビロガモ					○	○									○									
ホシハジロ									○															○
オオバン	○	○																						
バン							○	○	○	○	○		○		○	○	○		○		○	○		

青背景は水鳥

橙背景は同時期（10 日内）の目視観察調査で検出された種類

・環境 DNA 分析では、カモ類、アオサギ、ヒシクイ、オオバン、バンといった水鳥が検出された。

・多くのサンプルで、目視観察で記録されたのと同じ時期（10 日以内）に、環境 DNA 分析でも陽性反応がみられた。

環境 DNA 分析

冬

夏

冬

種名	1月		2月		3月		4月		5月		6月		7月		8月		9月		10月		11月		12月	
	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5
アオサギ				○	○															○				
ヒシクイ																			○	○				
ツクシガモ	○		○			○																		
マガモ/カルガモ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○			○	○	○	○	○	○	○	○
コガモ		○		○				○		○							○	○		○	○	○	○	○
オカヨシガモ						○															○		○	○
ヒドリガモ		○		○		○		○															○	○
オナガガモ				○		○													○	○	○		○	○
ハシビロガモ					○	○									○									
ホシハジロ										○														○
オオバン	○	○																						
バン							○	○	○	○	○		○		○	○	○		○		○	○		

青背景は水鳥

橙背景は同時期（10 日内）の目視観察調査で検出された種類

・BLASTではヨシガモ, オカヨシガモ, ヒドリガモ, アメリカヒドリがトップヒットしたが, 代表配列とデータベース配列の類似性および目視観察の結果から, オカヨシガモまたはヒドリガモと判定した.

・BLASTではヒシクイ, サカツラガン, マガン, ハイイロガンがトップヒットしたが, 目視観察の結果を踏まえてヒシクイと判定した.

環境 DNA 分析

冬

夏

冬

種名	1月		2月		3月		4月		5月		6月		7月		8月		9月		10月		11月		12月	
	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5	ILC1	ILC5
アオサギ				○	○															○				
ヒシクイ																			○	○				
ツクシガモ	○		○		○																			
マガモ/カルガモ	○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○	○				○	○	○	○	○	○	○	○
コガモ		○		○			○		○								○	○		○	○	○	○	○
オカヨシガモ					○																○		○	○
ヒドリガモ		○		○		○	○																○	○
オナガガモ				○		○													○	○	○		○	○
ハシビロガモ					○	○									○									
ホシハジロ									○															○
オオバン	○	○																						
バン							○	○	○	○	○		○		○	○	○		○		○	○		

青背景は水鳥

橙背景は同時期（10 日内）の目視観察調査で検出された種類

・BLASTではヨシガモ, オカヨシガモ, ヒドリガモ, アメリカヒドリがトップヒットしたが, 代表配列とデータベース配列の類似性および目視観察の結果から, オカヨシガモまたはヒドリガモと判定した.

・BLASTではヒシクイ, サカツラガン, マガン, ハイイロガンがトップヒットしたが, 目視観察の結果を踏まえてヒシクイと判定した.

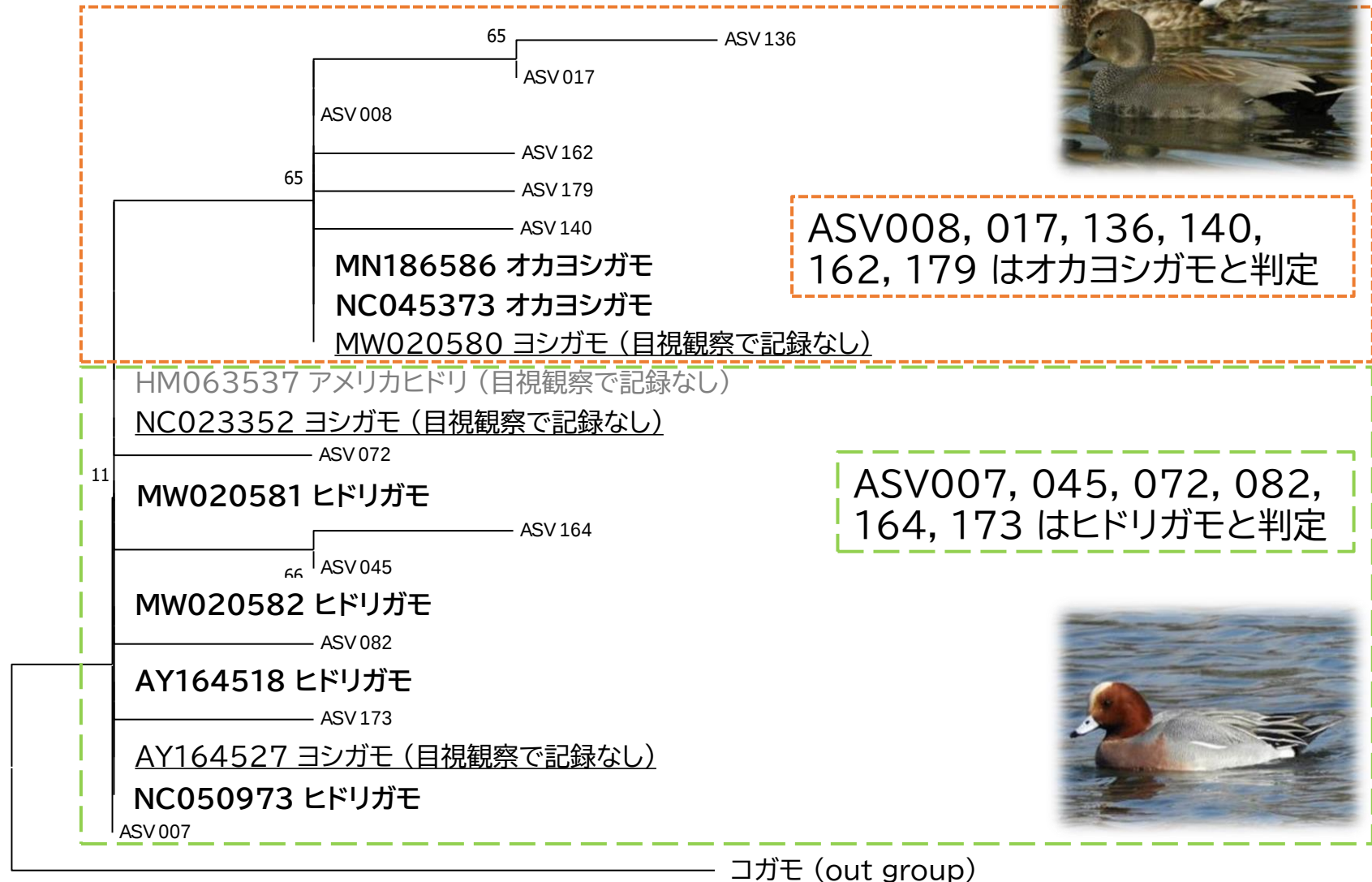
ヨシガモ属・マガン属代表配列の BLAST 結果

- ヨシガモ, オカヨシガモ, ヒドリガモ, アメリカヒドリが同率でトップヒットする代表配列と, サカツラガン, マガン, ハイイロガン, ヒシクイが同率でトップヒットする代表配列がみられた。

黄背景はトップヒットの種類

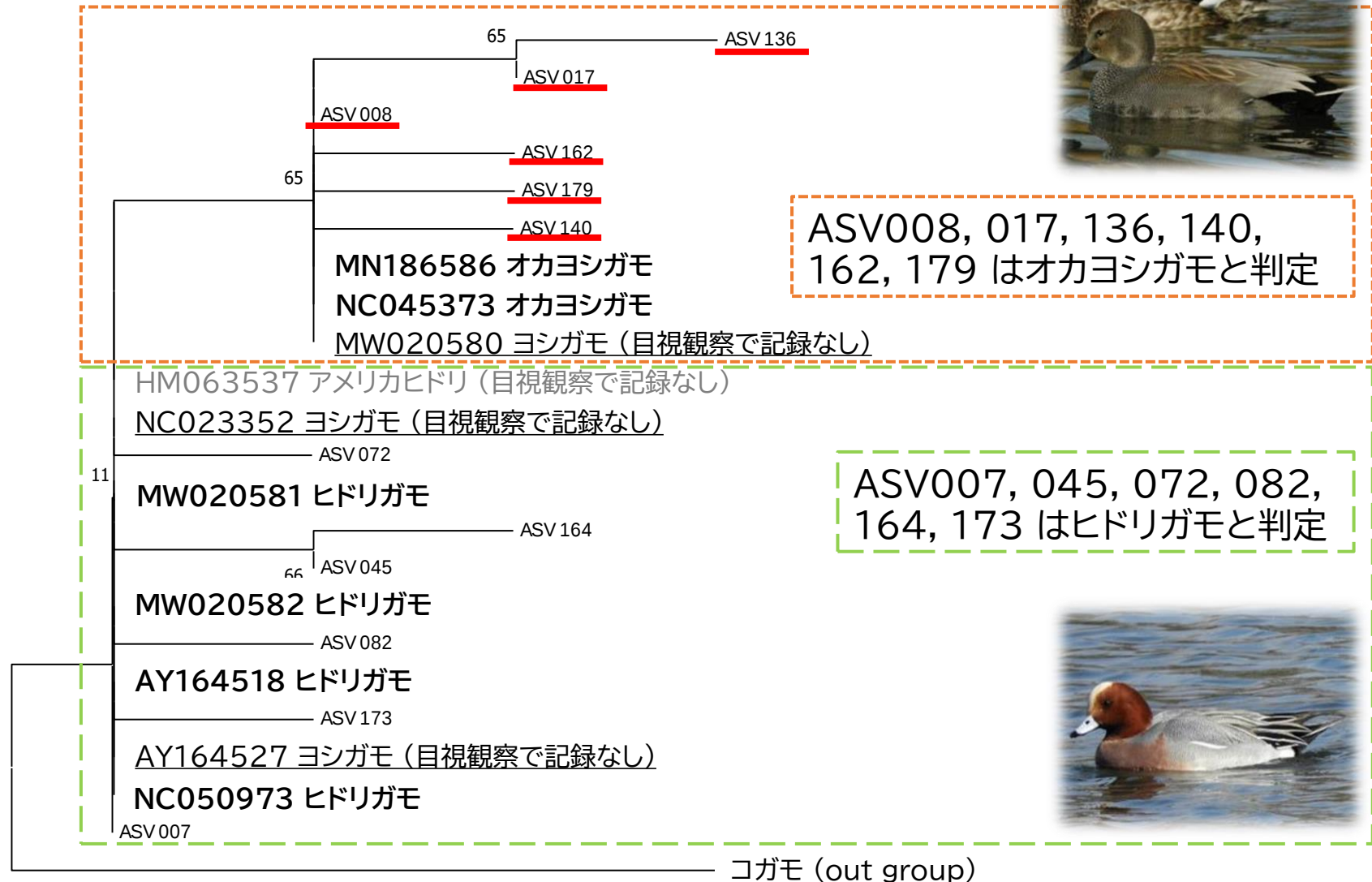
[illegible]

ヨシガモ属の種判別



・ヨシガモ属の登録配列と ASV 代表配列を用いて系統解析を行った。

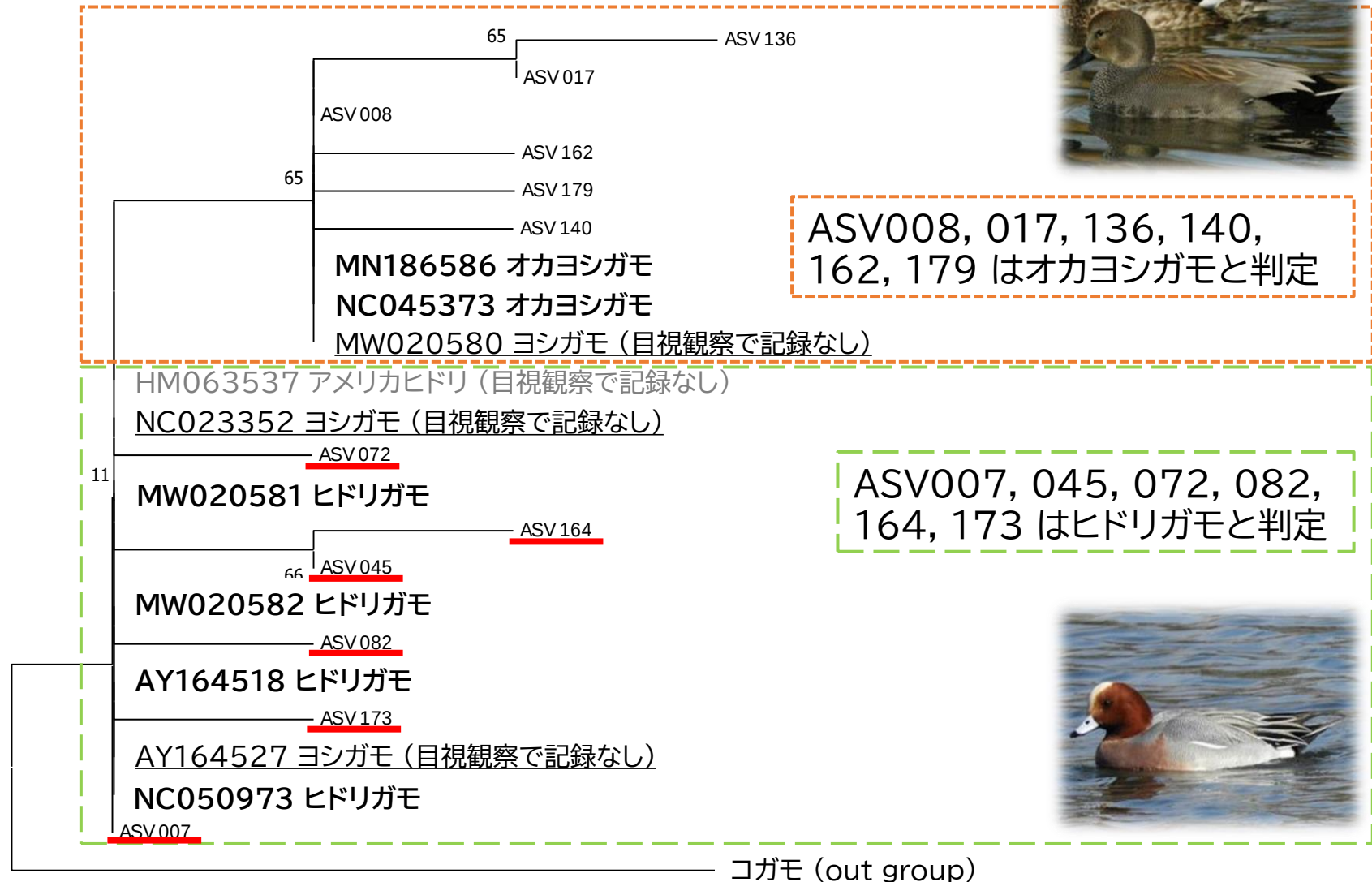
ヨシガモ属の種判別



0.01

・ヨシガモ属の登録配列と ASV 代表配列を用いて系統解析を行った。

ヨシガモ属の種判別



・ヨシガモ属の登録配列と ASV 代表配列を用いて系統解析を行った。

マガン属の種判別



目視観察の結果を踏まえて, ASV003, 022, 030, 032, 037, 042, 053, 059, 069, 070, 129, 195 はヒシクイと判定

・マガン属の登録配列と ASV 代表配列を用いて系統解析を行った.

・MiBird 領域ではマガン属のサカツラガン, ハイロガン, マガン, ヒシクイの判別は困難.



0.01

マガン属の種判別



目視観察の結果を踏まえて, ASV003, 022, 030, 032, 037, 042, 053, 059, 069, 070, 129, 195 はヒシクイと判定

・マガン属の登録配列と ASV 代表配列を用いて系統解析を行った.

・MiBird 領域ではマガン属のサカツラガン, ハイロガン, マガン, ヒシクイの判別は困難.



0.01

まとめ

- 環境 DNA 分析では, 現地作業は採水のみであるため, 調査の負担軽減が期待できる.
- 今回の環境 DNA 調査では, 前回の冬季に 1 回のみの調査で検出されたカモ類に加えて, アオサギ, ヒシクイ, オオバン, バンといった水鳥も検出することができた.
- 環境 DNA 分析の同定精度向上には, 参照する登録配列の精査, データベースの拡充が必要である.
- 種同定が難しいグループがあると思われるので, 属レベル等の判定になるグループと種同定可能なグループの整理が必要である.

謝辞

- 本調査を実施するにあたり許可をいただいた福岡市港湾局に感謝申し上げます.
- 本研究は厚生労働省行政推進調査事業補助金 JPMH21HA2006 の研究助成を受けて行われた.