

神戸市立相楽園におけるニホンイシガメ保護の試み(続報)と環境DNAの季節変動(中間報告)

樽井優華・佐藤 瞭・浅野裕唯・山口翠月・福岡希心・中谷卓司

650-0006 兵庫県神戸市中央区諏訪山町6番1号 神戸山手女子高等学校 (仮)カメラ部

Conservation activities for Japanese pond turtles in Japanese garden "Sorakuen" and Seasonal variation of environmental DNA

By Yuuka TARUI, Akira SATOH, Yui ASANO, Mizuki YAMAGUCHI, Mami FUKUOKA and Takuji NAKATANI

Kobe Yamate Girls' High School, 6-1 Suwayama, Kobe, Chuo, Hyogo 650-0006, Japan

1. 目的

2011年から神戸山手女子高等学校は神戸市立相楽園の池をフィールドにして、ニホンイシガメの域外飼育を試行・調査している。また、環境DNAの分析によってニホンイシガメの生存の有無を確認できる(河田他, 2018)ことから、その手法を習得し、さらに応用を検討している。

2. ニホンイシガメの域外飼育

(1) 概要と調査方法

閉鎖された比較的広い空間で繁殖の可否を調べるために、相楽園で捕獲した1匹に加え、神戸市立須磨海浜水族園に協力を得て、兵庫県産のニホンイシガメ22匹を譲り受けた。各個体はナンバリングし身体計測を行った上で、2011年11月に3匹、2012年9月に20匹、相楽園の日本庭園の池に放流した。これを不定期に、池外周から目視観察と網による捕獲を行って、各個体の追跡調査を実施している。

(2) 導入個体の動向

捕獲または目視による確認が行われた各個体とその時期を表1・表2に示す。●は捕獲による確認、○は目視による確認を表す。全23個体のうち、個体番号が確認できている個体は3個体、推定4~5個体に減少している。

さらに相楽園で発見された幼体数を表1・2の右に示す。発見した幼体はその場で捕獲し、保護している。2020年12月現在、計30個体の幼体を保護した(うち9個体は死亡)。2020年も2個体の幼体を捕獲できていることから、繁殖行動が継続していることが分かる。さらに1年前や2~3年前に孵化したと思われる捕獲歴のない幼体も発見されたことから、このような幼体でも相楽園で越冬できることが確認できている。

(3) 生態の観察

甲羅干し、食餌行動や繁殖・求愛行動と思われる行動、産卵行動が園内で観察できている。

3. 環境DNAに関する研究

(1) 概要と調査方法

環境DNAとは水中や土壌中、空気中などの環境中に存在する、生体内や生体外の動植物の排泄物・組織片などに由来するDNAのことである。その環境DNAを採取し分析することで、生物の存在や個体数、さらには遺伝情報などの膨大なデータを得ることが可能となってきた(源, 2019)。

表1 2012~2016年の各個体の動向. ●は捕獲による個体の確認, ○は目視による確認, 「数字/捕」は個体が捕獲された日付, 「日付/再」は個体が再導入された日付を示す

年月	個体No 性別	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	17	18	19	20	21	大 吉	ジュ リア	ペリ ー	マイ ケル	30番 (続き)	36番	37番	38番	幼体数 幼体情報								
		♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♀	♂	幼体	幼体	幼体	幼体		幼体							
2012	9					○					●	●	●	●	●	●	●	●	●																			
2012	10									●																												
2012	11		●																																			
2012	12																																					
2013	1																																					
2013	2																																					
2013	3					●																																
2013	4																																					
2013	5																																					
2013	6																																					
2013	7																																					
2013	8																																					
2013	9									○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●																		
2013	10									●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●																		
2013	11									●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●																		
2013	12																																					
2014	1																																					
2014	2																																					
2014	3																																					
2014	4																																					
2014	5																																					
2014	6																																					
2014	7																																					
2014	8																																					
2014	9																																					
2014	10																																					
2014	11																																					
2014	12																																					
2015	1																																					
2015	2																																					
2015	3																																					
2015	4																																					
2015	5																																					
2015	6																																					
2015	7																																					
2015	8																																					
2015	9																																					
2015	10																																					
2015	11																																					
2015	12																																					
2016	1																																					
2016	2																																					
2016	3																																					
2016	4																																					
2016	5																																					
2016	6																																					
2016	7																																					
2016	8																																					
2016	9																																					
2016	10																																					
2016	11																																					
2016	12																																					

☆は産卵確認
人工孵化1匹

神戸大学の源利文先生にご協力いただき、ニホンイシガメを導入している相楽園内池の環境DNAを調査している。一部のカメ類の環境DNAを調査するためのプライマーは決定されているが、冬期は活動が鈍り、環境DNAの検出が困難であることが問題点としてあげられる(河田他, 2018)。そこで、生活環境と生存数がある程度把握できている相楽園の日本庭園の池で、ニホンイシガメの環境DNAの季節変化を調査した。

(2) 環境DNAの調査方法

①相楽園内の池、5カ所(図1内の①から⑤)で500mL採水し、ガラスフィルターで吸引濾過する。なお、給水口である①の地点はコントロール実験として採水した。

②ガラスフィルターからDNeasy Blood&Tissue Kitを使って、DNA抽出サンプル110μLを得る。

③ニホンイシガメのプライマーを加えて、リアルタイムPCRで増幅、定量する。(この作業は神戸大学大学院人間発達環境学研究科の源研究室で行った。)

(3) ニホンイシガメの環境DNAの抽出結果

2019年3月から2020年2月まで、毎月、相楽園内の5カ所で採水を水面近くで行った。その結果を表3に示す。○は検出を、×は検出できないことを表す。また図1の矢印は流水の場所とその方向を表し、②、③、④の地点でニホンイシガメの環境DNAが検出された。

4. 進行状況と今後の展望・課題

(1) 保全活動について

ニホンイシガメを公園内に導入し、定期的な調査を実施することにより、繁殖が十分可能であることが分かった。現在、保護した幼体の導入先を探している。

(2) 環境DNAについて

ニホンイシガメの環境DNAは7月から10月の晩夏から初秋に検出しやすいことが確認できた。ただ検出

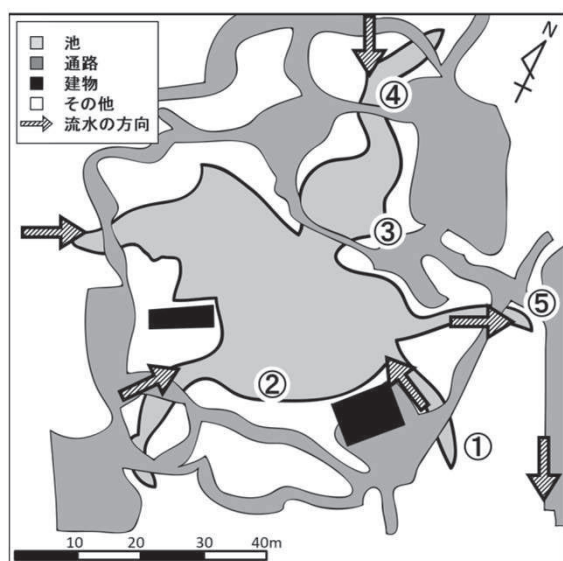


図1. 相楽園内地図

※地図内の番号は表3の地点番号と一致する

表3. 各地点のニホンイシガメの環境DNA抽出の有無

サンプル	年月	地点①	地点②	地点③	地点④	地点⑤
1	2019年3月	×	×	×	×	×
2	4月	×	×	×	×	×
3	5月	×	×	×	×	×
4	6月	×	×	×	×	×
5	7月	×	×	×	○	×
6	8月	×	○	×	×	×
7	9月	×	○	×	○	×
8	10月	×	×	○	×	×
9	11月	×	×	×	×	×
10	12月	×	×	×	×	×
11	2020年1月	×	×	×	×	×
12	2月	×	×	×	×	×

できた時期に、池の水が排水されるポイントである地点⑤で検出できていない。この理由として、甲羅で覆われたカメ類の環境DNAは体表からの脱落が無く、糞等の排出物に由来し、池底に沈殿しているので、排水ポイント近辺の水面近くでの採水では環境DNAが検出されなかったと考えられた。そこで今後は、池底の泥を採取して環境DNAの抽出を検討したい。

謝辞

本稿は2020年2月24日に開催された第7回淡水ガメ情報交換会の口頭発表用にまとめた資料に、その後の調査データを追加したものです。この調査研究に当たって、調査地を提供して頂いている神戸市立相楽園、ニホンイシガメの提供と助言を頂いている神戸市立須磨海浜水族園、岡山理科大学生物地球学部亀崎直樹先生、(株)自然回復、そして環境DNAに関してご指導頂き分析をお願いしている神戸大学大学院人間発達環境学研究科源利文先生に深くお礼申し上げます。さらに2019年度、公益信託コープこうべ環境基金の助成を頂きました。この場を借りてお礼申し上げます。

引用文献

- 河田萌音・上野真太郎・藤林真・亀崎直樹・源利文. 2018. 環境DNA分析手法を用いた淡水ガメの検出. 亀楽 15:7.
- 源利文. 2019. 環境DNA分析の概要と希少種の検出. 化学と生物 57(3):181-186.