

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

(2) 東部及び西部承水路

山本 将也・川畑 遼太

兵庫教育大学

要約: 河北潟の東承部水路において環境 DNA 分析による魚類相の調査を実施した。濾過方法などを改良した結果、東部及び西部承水路の上流 (Site A) と東部承水路の下流 (Site B) でそれぞれ 17, 22 分類群の魚種を検出することに成功した。検出された魚種の中には、捕獲記録はあるものの、河北潟調整池で実施した筆者らの環境 DNA 分析で検出されなかったゲンゴロウブナ・ドジョウ・アブラハヤなどが含まれていた。また、捕獲記録のないものとしては東部及び西部承水路の上流 (Site A) でキンギョが検出された。過去の研究結果と比較すると、東部及び西部承水路は調整池よりも種多様性が低い傾向にあること、群集構造に一定の違いがあることが認められ、海水・汽水性魚種や通し回遊魚の多寡がそれらに影響を与えているものと考えられた。本研究で得られた結果は、河北潟における魚類相とその空間分布について重要な示唆をもたらすものであり、今後の生態系保全における基礎資料となるだろう。

キーワード: 河北潟, 汽水湖, 魚類相調査, MiFish, 保全

はじめに

かつて北陸最大の汽水湖であった河北潟の魚類相は 1963 年に始まった国営干拓事業によって大きな変容を余儀なくされた。その変遷をまとめた高橋 (1997) によれば、淡水化が進んだことによる汽水性種の消失や在来種の減少が指摘されている。実際、河北潟と大野川を区切る防潮水門が建設された 1980 年以降現在まで約半世紀の間、干拓前に豊富に存在したニホンウナギ・アユ・シラウオなどの魚種については捕獲記録が存在しない (平井・角田, 1983)。さらに、近年では、オオクチバスやカムルチーなどの外来種の問題も顕在化している (高橋, 2013)。魚類は水生動物の中で高次捕食者の地位を占めるため、河北潟の生態系全体を考える上で極めて重要な存在であり、その変化を継続してモニタリングすることは生態系保全の観点からも欠かすことができない。

水中で絶え間なく動き続ける魚類の捕獲調査には多大な労力と金銭的コストを要するため、継続して魚類相をモニタリングすることは容易ではない。そこで近年では、魚類の簡易なモニタリング手法として、水中に漂う魚類の DNA 断片を検出する環境 DNA メタバーコーディング解析 (以降、MB 解析とよぶ) が広く活用されている (Miya

et al., 2015)。詳しい原理や実践例については、開発者による分かりやすい解説 (宮, 2019, 2020) をぜひ参照されたい。さて、2020 年に河北潟流域で初めて実施された MB 解析 (山本・川畑, 2022) では、河北潟の調整池 (図1) から 28 分類群の魚種が検出された。この中には、先述したような長らく捕獲記録のなかったアユやシラウオなどの通し回遊魚や汽水性魚種も含まれていた。近年実施された河北潟の調整池における捕獲調査で 25 種の魚類が確認されていることを踏まえれば (石川県淡水魚類研究会, 1996; 石川県環境部, 2001)、環境 DNA の分析に基づく魚類相モニタリングが河北潟においても有効な手段であることが証明されたと言える。

山本・川畑 (2022) が 2020 年に実施した MB 解析では、河北潟の調整池・東部承水路・大野川 (図1) で採水したサンプルから魚類の環境 DNA の検出を試みている。このうち、河北潟の調整池と大野川では十分な量の環境 DNA を検出することに成功したが、東部承水路から得たサンプルには含まれる DNA 量が少なく、残念ながら MB 解析で対象とする遺伝子領域の増幅が認められなかった (山本・川畑, 2022)。東部及び西部承水路は複数の流入河川と調整池を繋ぐ役割を果たしており、河北潟に生息する魚種の多様性及び群集構造の空間

パターンを把握し保全する上で重要な水域である。本稿では 2021 年に新たに東部及び西部承水路から採水し MB 解析を実施した結果、ならびに、山本・川畑 (2022) の調査結果との比較分析を行った結果を報告する。

調査地および方法

採水作業は 2021 年 8 月 11 日に東部及び西部承水路の 4 地点で実施した (図 1)。採水作業は釣り用の水汲みバケツで行い、岸から 1 m 以上離れた地点の表層水を回収した。各地点で 500 ml 採水し、1 Site あたりの合計が 1000 ml となるように pooling したものを MB 解析用のサンプルとした。本研究では、東部及び西部承水路の上流にあたる Site A と東部承水路下流の調整池に近い Site B の 2 サンプルを MB 解析に供した (図 1)。

山本・川畑 (2022) では、ポータブルタイプのチューブポンプ (株式会社生物技研提供) とメンブレンフィルター (Sterivex-GPTM, Millipore 社, 孔径: $0.22\ \mu\text{m}$) を採水現場に持ち込み、採水後すぐに濾過作業を行っている。先の研究で東部承水路のサンプルから DNA を回収できなかった要因については、濁度が高い水をそのまま濾過したことが関係していると考えられ、メンブレンフィルターの目詰とそれに伴う濾過効率の低下、そして、濾過閉塞を防ぐために通水量を減少せざるを得なかったことが解析結果に影響を及ぼしたと推察される。これに加えて、濁水にはフミン質などの PCR 阻害物質が含まれることが報告されており (例えば, McKee *et al.*, 2015), 先の研究と同じ手法を用いることは適切ではないと判断した。そこで本研究では、採水現場での即時濾過は行わず、採水後すぐに環境 DNA を保護する効果がある塩化ベンザルコニウム (オスバン S, 日本製薬社) を 0.01% 添加し、採水日に濾過前の pooling した水サンプルを MB 解析の依頼先企業である (株) 生物技研へ冷蔵便で送付した。なお、採水後に塩化ベンザルコニウムを添加した水サンプルについては、発送までクーラーボックスに入れて低温で保管し、環境 DNA の分解が進まないよう慎重に管理した。濾過作業は発送の翌日に (株) 生物技研にて実施され、濁度が高いことを考慮して、GF/A フィルター (Whatman 社, 孔径: $1.6\ \mu\text{m}$) によるプレ濾過 (受託解析機関が推奨するプロトコルに準拠)、次に Sterivex-GPTM フィルターによる濾過が実施された。濾過された懸濁物からの環境 DNA の抽出・ライブラリー作成・シーケンシング・デー



図 1. 河北潟の概要と採水地点。採水地点は丸および四角で表し、破線で囲まれた 2 地点で採水したサンプルはサイトごとに 1 つの検体にプールして MB 解析に供した。

タ解析 (リードの抽出から代表配列の Blast 検索) については (株) 生物技研の受託解析サービスを利用し、山本・川畑 (2022) に記載した方法と全く同様の方法で行ったのでここでは省略する。

種まで同定できた場合の学名は日本産魚類全種目録 (本村, 2020) に従い、種レベルの判別が難しい場合は過去の河北潟における魚類調査の文献 (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; 石川県環境部, 2001) を参照し、特定可能な分類階級までの集計を行った。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) の分類は金沢市 (1993) 及び FishBase (<https://fishbase.se/search.php>) の記録を参考にした。

東部及び西部承水路における魚類の多様性および群集構造を定量的に評価・比較するために、本研究でも山本・川畑 (2022) と同様にリード数を Hellinger 変換した値を各魚種の相対的な存在量とみなした。このデータを用いて、まず、種多様性を示す α 多様性指数 (Shannon-Wiener Index と Simpson Index) を Site A (東部及び

表 1. 東部及び西部承水路において環境 DNA が検出された魚類（分類群・種）と文献記録.

和 名	学 名	生活型	Site A	Site B	文献記録 ^a
フナ属 * [§]	<i>Carassius spp.</i>	純淡水魚	●	●	○
キンギョ	<i>Carassius auratus</i>	純淡水魚	●		
コイ	<i>Cyprinus carpio</i>	純淡水魚	●	●	●
ゲンゴロウブナ	<i>Carassius cuvieri</i>	純淡水魚	●	●	●
タモロコ	<i>Gnathopogon elongatus elongatus</i>	純淡水魚		●	●
ニゴイ	<i>Hemibarbus barbus</i>	純淡水魚	●	●	
オイカワ	<i>Opsariichthys platypus</i>	純淡水魚	●	●	●
モツゴ	<i>Pseudorasbora parva</i>	純淡水魚	●	●	●
タイリクバラタナゴ	<i>Rhodeus ocellatus ocellatus</i>	純淡水魚	●	●	●
ニッポンバラタナゴ	<i>Rhodeus ocellatus kurumeus</i>	純淡水魚		●	
アブラハヤ	<i>Rhynchocypris lagowskii steindachneri</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		●	●
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	●	●	●
アシシロハゼ	<i>Acanthogobius lactipes</i>	汽水・海水魚		●	●
シンジコハゼ	<i>Gymnogobius taranetzi</i>	汽水・海水魚	●	●	●
ヨシノボリ属 * [§]	<i>Rhinogobius spp.</i>	通し回遊魚	●	●	○
チチブ属 * [§]	<i>Tridentiger spp.</i>	通し回遊魚	●	●	○
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。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。

^a 河北潟の調整池で行われた捕獲調査に基づく記録（石川県淡水魚類研究会, 1996; 金沢市, 1993; 石川県環境部, 2001）。

*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、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。

西部承水路）と Site B（東部承水路）のそれぞれで計算した。さらに、東部及び西部承水路（Site A 及び Site B）と調整池、大野川の間の種組成の類似性を評価するために、 β 多様性指数（Bray-Curtis Index と Jaccard Index）も計算した。調整池と大野川のデータについては、山本・川畑（2022）で得られたものを利用した。サンプル間の総リード数の違いは群集構造の比較結果に影響を及ぼすため（東樹, 2016）、Hellinger 変換の前に希薄化（rarefaction）して揃えた。上記の計算や統計処理には、全てソフトウェア R（ver. 4.0.3, R Core Team, 2020）のパッケージ vegan（Oksanen *et al.*, 2013）を使用した。

結 果

濾過後の溶液に含まれる DNA 濃度を測定した結果、

Site A で 18.4 ng/ μ L, Site B では 15.5 ng/ μ L の DNA が検出され、ライブラリー作成後の Fragment 解析でも MiFish 領域の増幅が確認された。その後のシーケンシングでは、Site A で 104 616 リード、Site B で 105 130 リードの配列情報が得られ、山本・川畑（2022）と比較しても同程度の配列情報を取得することに成功した。得られた代表配列をデータベースに照合して相同性検索を行った結果、Site A で 17 分類群、Site B で 22 分類群の魚種が検出された（表1）。種まで特定できたのは全体の 82.6% で、MiFish 領域に種間の変異がほとんどないフナ属 *Carassius*・ヨシノボリ属 *Rhinogobius*・チチブ属 *Tridentiger* については属レベルの特定に留めた。河北潟の調整池で実施された捕獲調査に基づく記録（石川県淡水魚類研究会, 1996; 金沢市, 1993; 石川県環境部, 2001）と照合した結果、検出された魚種のほとんどは過去に生息が確認されているものであったが、キン

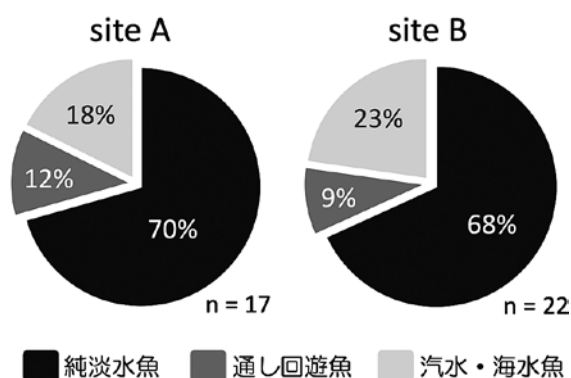


図 2. 東部及び西部承水路の各サイトで検出された魚種の生活型の割合。

ギョ *Carassius auratus*・ニゴイ *Hemibarbus barbus*・ニッポンバラタナゴ *Rhodeus ocellatus kurumeus* の 3 種については記録がなかった。また、河北潟の調整池で捕獲記録があるものの（例えば、石川県淡水魚類研究会, 1996; 金沢市, 1993; 石川県環境部, 2001), 過去に実施した MB 解析 (山本・川畑, 2022) で検出されなかったゲンゴロウブナ *Carassius cuvieri*・ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus*・アブラハヤ *Rhynchocypris lagowskii steindachneri* が新たに検出された。

Site A 及び Site B で検出された魚種の生活型をまとめたものを図 2 に示す。地点間でその割合に違いはほとんど見られず、純淡水魚が約 7 割を占める結果となり、汽水・海水魚（約 2 割）と通し海水魚（約 1 割）の割合も同程度であった。その一方で、相対存在量には 2 地点間で異なる傾向が認められた（図 3）。Site A では、ゲンゴロウブナの相対存在量が突出しており（19.0%）、それに次いでフナ属（8.9%）、ヨシノボリ属（7.7%）が高い値を示した。キンギョは Site A のみで検出されたが、その相対存在量は 4.2% と低いものであった。Site B では、Site A のような特定の分類群への極端な偏りは見られず、最も相対存在量が高かったのはタイリクバラタナゴ（12.2%）であり、次いでフナ属（11.0%）、チチブ属（10.1%）という結果であった。Site A で相対存在量の約 20% を占めたゲンゴロウブナは Site B で 6.7% と低い値を示した一方で、Site B で多く検出されたタイリクバラタナゴやチチブ属は Site A であまり検出されておらず（相対存在量はいずれも 5% 程度）、地点間で検出された種の組成に違いが認められた。また、Site B のみで検出されたタモロコ・ニッポンバラタナゴ・アブラハヤ・ナマズ・クルマサヨリ・ア

表 2. β 多様性指数に基づく群集構造の類似度。

採水地点	Site A	Site B	調整池 *	大野川 *
Site A	—	0.52	0.66	0.81
Site B	0.35	—	0.44	0.81
調整池 *	0.49	0.28	—	0.76
大野川 *	0.68	0.69	0.62	—

上段: Jaccard Index, 下段: Bray-Curtis Index.

* 山本・川畑（2022）のデータを使用。

シシロハゼについては、ニッポンバラタナゴ（8.0%）を除いてその相対存在量は 1% 未満であった。

α 多様性を Site A と Site B で算出したところ、Shannon-Weiner Index (Site A: 2.68, Site B: 2.85) と Simpson Index (Site A: 0.92, Site B: 0.93) はともに検出された魚種の多かった Site B で高い値を示したが、いずれの指標も山本・川畑（2022）で得られた調整池における結果 (Shannon-Weiner Index: 3.02, Simpson Index: 0.94) に比べ低い値を示した。最後に、魚種の群集構造における類似性を示す β 多様性の比較結果を表 2 に示す。本研究で対象とした東部及び西部承水路 (Site A 及び Site B) は大野川 (e.g., Bray-Curtis Index [Site A vs. 大野川]: 0.68) よりも調整池 (e.g., Bray-Curtis Index [Site A vs. 調整池]: 0.49) と類似性が高いことが示された。また、Site A よりも Site B にその傾向が強いことが明らかになった (e.g., Bray-Curtis Index [Site B vs. 調整池]: 0.28)。

考 察

東部及び西部承水路で新たに検出された魚種

本研究では濁度が高い東部及び西部承水路における濾過方法を改良し、改めて環境 DNA の MB 解析を実施した。その結果、東部及び西部承水路で 23 分類群の魚種を検出することに成功し、その中には調整池 (山本・川畑, 2022) で検出されなかったゲンゴロウブナ・アブラハヤ・ドジョウが含まれていた。本研究と調整池で実施された MB 解析の結果を合わせると、河北潟全体では 33 分類群の魚種が検出されたことになる。これはこれまでの捕獲による調査結果を上回る数字である。一方で、MiFish の解析精度の限界は認めざるを得ない部分があった。したがって、種までの特定が困難であったフナ属やチチブ属、ヨシノボリ属については、従来通りの捕獲調

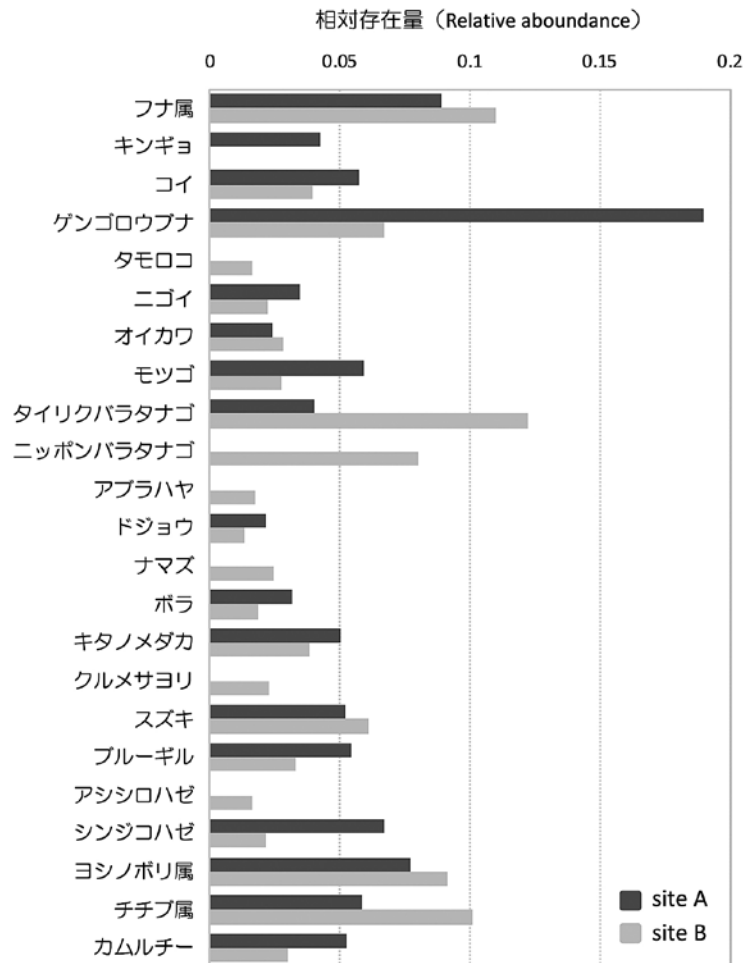


図 3. リード数を Hellinger 変換して推定された魚類（種・分類群）の相対存在量.

査と専門家による同定作業が今後も重要な役割を担うことになるだろう。

東部及び西部承水路で検出された魚種のほとんどは過去の捕獲調査等で確認されているものであったが、キンギョ・ニッポンバラタナゴ・ニゴイの3種については記録がなかった。このうち、ニッポンバラタナゴとニゴイについては、山本・川畑（2022）の調整池におけるMB解析でも検出されていることから、河北潟の調整池と承水路に定着していると考えられる。ただし、山本・川畑（2022）でも指摘しているように、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴについては浸透性交雑が起きている可能性があるため、捕獲調査による再確認が必要である。これに対して、キンギョの環境DNAが河北潟から検出されたのは初めてのことである。少なくとも日本では、観賞用に品種改良されたキンギョ（金魚）が野外環境で定着しているという事例

は報告されていないため、何らかの要因で本来生息するはずのないキンギョのDNAが検出されたと考えるほかない。本研究と同様に捕獲記録の無い水域でキンギョの環境DNAが検出された研究（平川・中島, 2020）では、その環境DNAが検出された要因として、飼育個体の放流により一時的に生存していた個体を検出した可能性やキンギョを飼育する家庭からの生活排水にそのDNAが含まれていた可能性、放流されたキンギョと在来フナ類の交雑個体のDNAを検出した可能性などが挙げられている。加えて、河北潟の上流部には金魚を養殖している施設もあることから、そこからの環境DNAの流入も十分に考えられる。単に環境DNAが流れついているだけでは問題はないが、在来フナ類との交雑個体が定着している場合には深刻な遺伝子汚染が進行していることになるため、その実態を明らかにするための捕獲調査や遺伝

子解析（例えば、富澤ら, 2015）を早急に行う必要があるだろう。

河北潟における魚種の多様性と群集構造の空間パターン

本研究と調整池における結果（山本・川畑, 2022）を比較することで、河北潟における魚類の多様性および群集構造の空間パターンに関するいくつかの知見が得られた。まず、多様性に関しては、東部及び西部承水路の北端にあたる Site A で最も低く、東部承水路 Site B、調整池と下流側に行くほど高くなる傾向が認められた。最下流に位置し、全ての流入河川の影響を受けるだけでなく、広大な面積を有する調整池で多様性が最も高くなることは極めて合理的であり、本研究の結果は調整池に多様な魚種の生育を可能にする空間と環境が存在することを示唆するものである。しかしながら、採水した時期や採水地点の数、地点間の距離が異なるので、得られた数値を単純に比較することには注意が必要である。正確な種多様性の空間パターンを明らかにするためには、多様性の年変動や季節変化をモニタリングしつつ詳細な検討をする必要があるだろう。

東部及び西部承水路と調整池で検出された魚種の生活型を比較すると、東部及び西部承水路（Site A: 70%, Site B: 68%, 図 2）の方が純淡水魚の割合がやや高く（調整池: 57%, 山本・川畑, 2022）、群集構造にも一定の違いが認められた（表 2）。調整池における MB 解析（山本・川畑, 2022）で検出されなかった純淡水魚のゲンゴロウプナ・ドジョウ・アブラハヤが本研究で初めて検出されたこと、調整池で多く検出されたボラやスズキなどの海水・汽水性魚種の相対存在量が東部及び西部承水路で一般的に低い値を示したことを踏まえれば（図 3）、この群集構造の違いを塩分濃度と結びつけるのはごく自然な発想だろう。しかしながら、防潮水門によって仕切られた河北潟は完全に淡水化しており、実際に河北潟の調整池と東西の承水路の電気伝導度に顕著な違いは見られない（奥川ら, 2022）。したがって、河北潟では一般的な河川のように塩分濃度の変化が直接的に群集構造の空間パターンに影響を及ぼしている可能性は低いだろう。その一方で、調整池に生息する海水・汽水性魚種が大野川からの潮汐を利用して往来していることは以前から指摘されており（坂井・山本, 2016）、単純に防潮水門からの距離が群集構造に影響を与えている可能性も十分

に考えられる。今後は魚類の移動能力と β 多様性の関係、環境要因（流量や水質、河床環境など）と β 多様性の関係を明らかにすることで河北潟における群集構造の空間パターンの理解につながるだろう。

おわりに

恥ずかしながら、筆者は環境 DNA の専門家でも魚類分類学者でもない、趣味で海釣りを嗜む程度に魚が好きでなだけであり、泳ぐ魚を網や電気ショックで捕獲し同定した経験などももちろんない。本研究と先の研究（山本・川畑, 2022）における成果は、そんな素人同然の筆者とその指導学生 1 名が協力し、2 年間で実働 2 日間だけの現地調査から得られたものであることをここで強調したい。というのも、近年、環境 DNA と市民科学の高い親和性を利用した生物調査が各地で実施されており、特定の水域で網羅的かつ継続的に魚類相をモニタリングすることはもはや実現不可能なことではなくなってきている。有名なものとして、龍谷大学主催の「びわ湖 100 地点環境 DNA 調査」や認定 NPO 法人アースウォッチ・ジャパンが実施する「環境 DNA を用いた魚類調査」があり、いずれも市民ボランティアへ採水作業を依頼することで高い精度の生物調査を実現している。採水作業では、安全性やサンプルのコンタミネーション、保存・輸送方法など、環境 DNA の性質上、留意しなければならない点がいくつかあるが、上述したプロジェクトでは事前説明会や作業マニュアルを配布するなどしてその対策を講じているようである。DNA 抽出やシーケンスの作業、データ分析に関してはハードルが高く、専門家が行う必要があるものの（民間企業の受託解析サービスを利用することも可能）、このような取り組みが河北潟においても実現できれば、生態系保全に貢献するだけでなく、周辺住民が河北潟に関わる環境問題を「我がごと」として捉える機会・経験を提供することが期待できる。本研究の成果がそれらの一助になれば幸いである。

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

できました。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2021 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

- 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.
- 平川周作・中島淳. 2020. 河川水を対象とした環境 DNA 分析による魚類相調査の可能性. 福岡県保健環境研究所年報第. 47: 62-66.
- 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.
- 石川県淡水魚類研究会. 1996. 石川県の淡水魚類. 石川県.
- 金沢市. 1993. 金沢のさかな. 金沢市環境部環境保全課.
- McKee, A.M., Spear, S.F., & Pierson, T.W. 2015. The effect of dilution and the use of a post-extraction nucleic acid purification column on the accuracy, precision, and inhibition of environmental DNA samples. *Biological Conservation*. 183: 70-76.
- 宮正樹. 2019. 環境 DNA メタバーコーディング—魚類群集研究の革新的手法 バケツ一杯の水で棲んでいる魚がわかる技術. *化学と生物*. 57: 242-250.
- 宮正樹. 2020. バケツ一杯の水で棲んでいる魚が丸ごとわかる技術: MiFish プライマーを用いた環境 DNA メタバーコーディング法の最新情報. *環境アセスメント学会誌*. 18: 20-24.
- 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.
- 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>.
- 奥川光治・永坂正夫・福原晴夫・高野典礼・川原奈苗. 2022. 河北潟および大野川における電導度の連続計測. *河北潟総合研究*. 25: 11-23.
- 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.
- 富澤輝樹・木島隆・二見邦彦・高橋清孝・岡本信明. 2015. ミトコンドリア DNA および核 DNA の解析による魚取沼テツギョの起源. *魚類学雑誌*. 62: 51-57.
- 東樹宏和. 2016. DNA 情報で生態系を読み解く—環境 DNA・大規模群集調査・生態ネットワーク. 共立出版.
- 山本将也・川畑遼太. 2022. 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. *河北潟総合研究*. 25: 1-10.