

DNA 情報を利用したコクチバス等の生息診断法の検討 (水産庁委託事業)

とりまとめ：谷沢弘将

事業名

効果的な外来魚等生息管理技術開発事業

結果の概要

近年発展している環境 DNA の技術を導入し、コクチバスの在・不在を検証する手法を確立するため、既にコクチバスの生息が確認されている琴川ダム貯水池内と同種の生息が確認されていない同ダム貯水池上・下流の琴川において、環境水中からのコクチバス特異的 DNA の検出を試みた。

琴川ダム貯水池は富士川水系笛吹川支流の琴川上流域に位置し、2008 年 3 月に完成した多目的ダムである。ダム天端標高 1,464 m、常時満水位は 1,453.5 m と多目的ダムでは日本一高所にあるのが特徴で、一部に漁業権が設定されている。

総貯水容量 5,150,000 m³、貯水池面積 0.3 km²、湖岸長約 3.8 km であり、例年、凡そ 1 月に結氷が始まり、2 月に水面が全面結氷した後、3 月には解氷する。採水は 7 月 29 日にダム貯水池内、9 月 28 日にダム貯水池の 400 m 上流の地点、ダム貯水池内、ダムより 500 m 下流地点、ダムより 1 km 下流地点において行い、いずれも表層水を採取した (図 1)。

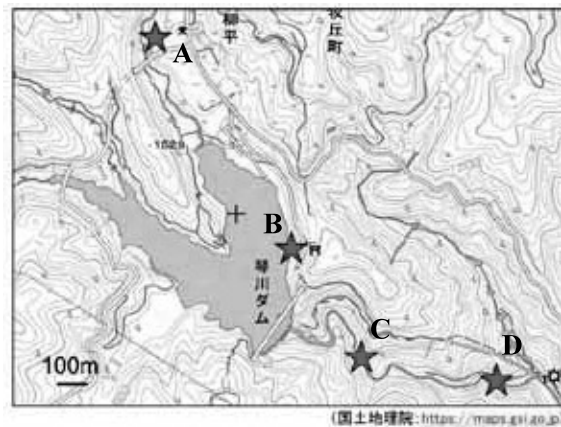


図 1 調査地点

採水後の分析方法の概要を図 2 に示す。採取した環境水サンプル 1L を帰所後速やかにグラスファイバーフィルター (AP40, Merck) 1 枚でろ過し、フィルターを冷凍保存した。後日、冷凍保存したフィルターから DNA 抽出を行い、TaqMan プローブ法によるリアルタイム PCR によりコクチバス特異的 DNA の検出を行った。

反応試薬と反応条件は Jo *et al.*, (2020) に準じた。濃度既知のコクチバス DNA を用い 10,10²,10³,10⁴ の 4 段階の希釈系列を用意し、サーマルサイクラー (BMSHB0003, ビーエムバイオ社製) に搭載されている分析ソフトにより定量を行った。なお、コクチバスの生息が確認されているダム貯水池内の環境水からのコクチバス特異的 DNA の検出頻度が低かったため、分析は 1 サンプルにつき 7 月 29 日サンプルは 10 回、9 月 28 日サンプルは 20 回行った。

分析方法

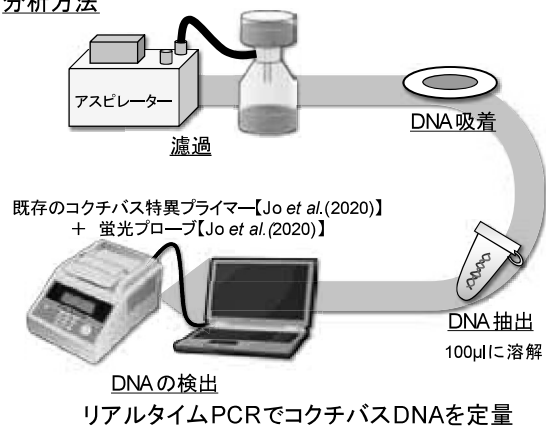


図 2 分析方法の概要

リアルタイム PCR によるコクチバス特異的 DNA の定量の結果、7月29日にダム貯水地内で採水した環境水からは10回の分析中8回、平均322コピー/Lのコクチバス特異的DNAが検出されたのに対し、9月28日に採水した環境水からは、ダムから500m下流地点においてのみ、20回中4回、微量のコクチバスDNAが検出された(図3)。ダム貯水池内でコクチバス由来のDNAが検出されなかった理由として、琴川ダム貯水池の総貯水容量5,150,000 m³に対し

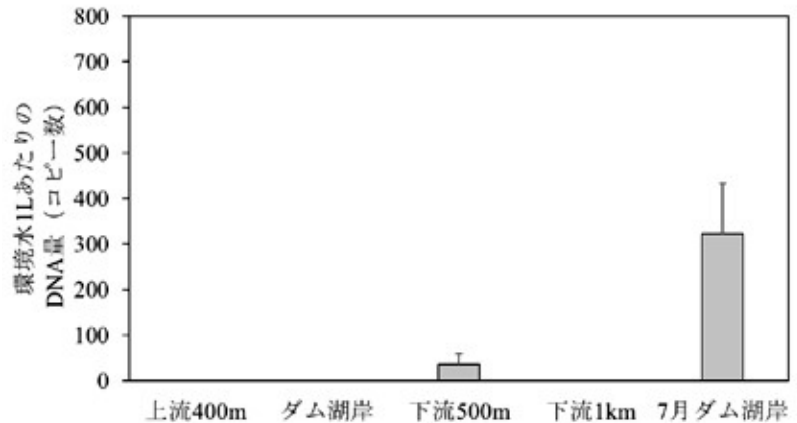


図3 リアルタイム PCR によるコクチバス DNA の定量分析結果
エラーバーは標準誤差を示す

て、コクチバスの個体数は約100個体と推定されており、この程度の生息密度では、DNAの検出が困難であった可能性が示唆される。また、採水を行った9月下旬は目視個体数、刺網のCPUEが0になった直後であり、コクチバスが深場へ移動し、表層水の採水では検出されにくかった可能性も考えられる。この結果により、過去に目視個体数が多く刺網のCPUEも高くなる傾向にある6-8月の採水が効果的と推察される。

ダム貯水池内で検出されず、500m下流地点で微量のコクチバスのDNAが検出された理由としては、ダムの放水口の水深が影響している可能性がある。ダム貯水池内では表層水をサンプルとして採取したが、放水口は水深5mに位置しており、ダム下流の河川水はこの放水口から流出する水が主体となる。ダム貯水池内におけるコクチバス特異的DNAの検出コピー数との比較のため、ダム貯水池内の放水口付近の水深5m地点の採水が必要と予想される。現時点では、DNA量がごく微量であること、1km下流地点でDNAが検出されていないことから、貯水池から流下したDNAを検出した可能性が高い。また、令和2年に行った同地点付近の電気ショッカー調査でもコクチバスは捕獲されず、500m下流地点でコクチバスが生息している可能性は低いと推察される。

本試験では琴川ダム貯水池において、環境DNAの手法により微量のコクチバスDNAでも分析を複数回実施することで検出が可能であることが示された。これまでと異なるアプローチによるデータが得られるため、駆除の検証などを行う際により深い考察が可能となり、今後の駆除効率化に活かすことができる。ただし、すでにコクチバス個体数が少なく検出が容易ではないため、今後も環境DNAデータを蓄積して、最適な採水時期や場所について引き続き検討していくことが必要である。

文献

Jo T, Fukuoka A, Uchida K, Ushimaru A, Minamoto T. Multiplex real-time PCR enables the simultaneous detection of environmental DNA from freshwater fishes: a case study of three exotic and three threatened native fishes in Japan. *Biological Invasions* 2020; 22: 455–471.