

環境 DNA を利用した魚類生息分布の予備推定：
岩手県いさわ南部地区のアブラハヤを事例として

Preliminary estimation of fish distribution using environmental DNA:
a case study of the Amur minnow in Isawa Nanbu area, Iwate Prefecture

○小出水規行・森 淳・渡部恵司・竹村武士・嶺田拓也・山岡 賢

Koizumi, N., Mori, A., Watabe, K., Takemura, T., Mineta, T. and Yamaoka, M.

1. はじめに

演者らは、環境中の水、土壌、糞等に含まれている DNA を抽出し、その中から対象生物種の DNA を検出することにより、当該種の生息の有無や分布を推定する環境 DNA 手法の開発に取り組んでいる。環境 DNA は微生物の他、そこに生息している生物個体の代謝物、排泄物、死骸等に由来すると考えられ、この DNA 分析手法は個体採捕を必要とせず、DNA の検出力も高いことから、現在、世界的に注目されている。

我が国における環境 DNA 手法の取り組みは、湖沼、河川、沿岸域を中心に進められている（例えば、Takahara et al., 2013; Yamanaka and Minamoto, 2015; Yamamoto et al., 2016）。しかし、農村水域においては演者らによる本手法の適用可能性（いわゆる、生息の有無）が示されただけである（Koizumi et al., 2015）。本発表では環境 DNA を用いた魚類生息分布推定の試みとして、岩手県いさわ南部地区の農業用排水路に生息するアブラハヤを事例に、環境 DNA に含まれる本種の DNA 量と採捕個体数との関係について解析した。

2. 材料と方法

1) 調査水路と採水及びアブラハヤ採捕 いさわ南部地区の水路延長約 3km 区間において、採水とアブラハヤ採捕を行うための 6 調査地点を設置した（図 1）。各地点での採水を 2015 年 6 月 8 日に行い、表層からくみ取った水 1L をその場でフィルターろ過し、残渣をフィルターごとエタノールで固定した。アブラハヤ採捕を 2014 年 7 月 8～10 日及び 2015 年の採水直後に行った。小型定置網を一晩仕掛け、翌日に採捕された個体を計数した。なお、全ての作業において水位が大きく変化するような降雨はなかった。



図 1 岩手県いさわ南部地区の農業排水路における採水及びアブラハヤ採捕の 6 調査地点（Six sites for sampling water and individuals of the Amur minnow in agricultural drainage canal, Isawa Nanbu area, Iwate Prefecture）

農研機構・農村工学研究部門（Institute for Rural Engineering, NARO）

キーワード：PCR, 生きもの調査, 生物多様性, 農業水路

2) 環境 DNA 分析と採捕個体数との関係解析

環境 DNA 分析の手順は Koizumi et al. (2015) に準拠した。市販のキットを用いてろ過フィルター上の残渣から DNA を抽出し、アブラハヤの種特異的プライマーを用いて PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) 増幅した。PCR 増幅産物を電気泳動し、電圧として計測された DNA バンドの輝度を環境 DNA に含まれているアブラハヤ DNA 量の指標とした (図 2)。また、DNA 量と採捕個体数との関係解析については、アブラハヤの生息数が多いほど DNA 量も多くなると仮定し、各地点の DNA 量と採捕個体数を比較し、その相関関係を調べた。

3. 結果とまとめ

アブラハヤの DNA は全地点から検出され、各地点の DNA 量は地点 3, 4 で多く、地点 1, 6 で少なかった (図 3 上)。一方、採捕個体数は地点 4, 5 で多く、地点 2, 3 で少なかった (図 3 下)。両者の相関関係を図 4 に示す。結果として、地点 2, 3 を外れ値として除くと、各地点の DNA 量は採捕個体数と強い正の相関を示し、DNA 量が生息数を反映している可能性を示唆している。また、地点 2, 3 は、流れが速く水路底も不安定なため、定置網の設置が難しい場所であった。採捕個体数が生息数を十分に反映していないのかも知れない。

以上、調査地点数が少ない等のいくつかの課題は残されているが、環境 DNA を利用して魚類生息分布を推定できる可能性が示された。今後は推定精度を高めるための採水量、時期、場所等の最適なサンプリング方法について検討し、本手法の実用化に向けた取り組みを行う予定である。

参考文献 Koizumi et al. (2015) : 農業農村工学会論文集, **297**, IV_7-IV_8. Takahara et al. (2013) : *PLoS ONE*, **8**, e56584. Yamamoto et al. (2016) : *PLoS ONE*, **11**, e0149786. Yamanaka and Minamoto (2015) : *Ecological Indicators*, **62**, 147-153.

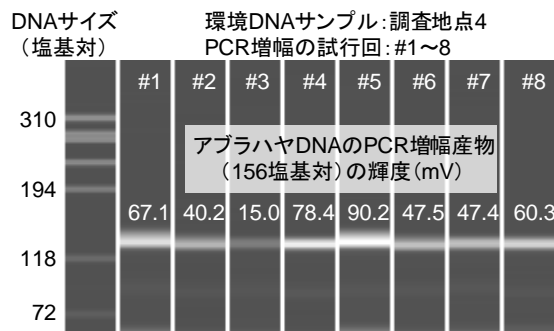


図 2 PCR 増幅産物の電気泳動画像の例 (Example of electrophoresis profile for PCR amplification product)

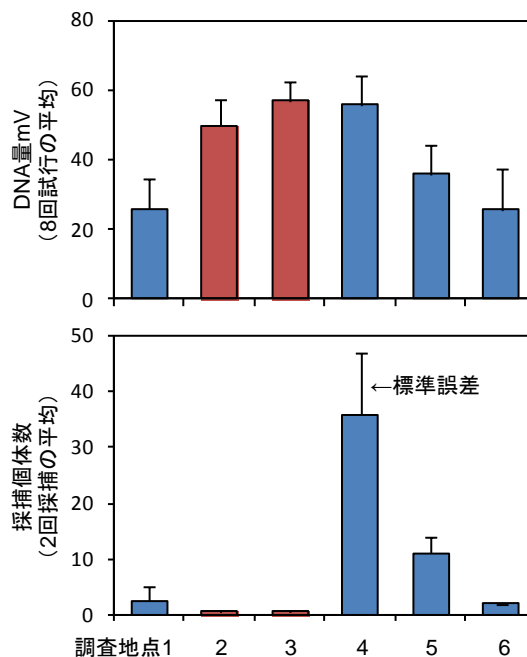


図 3 各調査地点のアブラハヤ DNA 量 (上) と採捕個体数 (下) の平均 (Averages of DNA volumes and trapped individuals, the upper and bottom, respectively, of the Amur minnow in sampling sites)

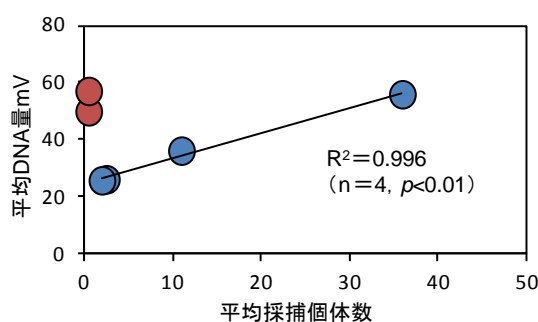


図 4 各調査地点のアブラハヤ平均 DNA 量と採捕個体数の相関関係 (Correlation between average DNA volumes and trapped individuals of the Amur minnow in sampling sites)