

岡山市藤田地区の農業用パイプラインに定着した外来種タイワンシジミへの環境DNA分析の適用

Application of environmental DNA detection assays for an invasive Asian clam *Corbicula fluminea* in the agricultural pipeline in Fujita district of Okayama City

○東 哲平*, 濱田麻友子*, 勝原光希*, 西村圭太**, 川上 潤**, 中田和義*
Azuma, T., Hamada, M., Katsuhara, K., Nishimura, K., Kawakami, J., Nakata, K.

1. はじめに

外来淡水二枚貝類のタイワンシジミ *Corbicula fluminea* (Fig. 1) は、1980年代に日本に移入されて以来、全国各地の河川や湖沼に定着しており、生態系被害防止外来種リストでは総合対策外来種に選定されている。岡山市藤田地区に導入されている農業用パイプラインでは、近年、本種による通水障害が発生しており、分布を把握し除去する対策が必要とされている。しかし、パイプライン内において本種の分布を調査することは、技術的に困難である。水生動物の分布調査手法として、近年、環境DNA分析が用いられている。



Fig. 1 藤田地区で採集されたタイワンシジミ

Corbicula fluminea
collected at Fujita district

タイワンシジミを対象とした研究では、Suzuki et al.¹⁾ が本種に特異的なプライマーセットを設計し、環境DNA検出を可能とした。本研究ではまず、Suzuki et al.¹⁾ が設計したプライマーセットについて、藤田地区のタイワンシジミの環境DNAを高感度に検出できるように改良を試みた。そして、改良したプライマーセットを用いた環境DNA分析の有効性を検証するため、藤田地区で採集した本種を用いる室内実験を行った。また、現地での適用性を検証するため、藤田地区で現地採水を行い、本種の環境DNAの検出を試みた。



Fig. 2 野外調査を実施した用水吐水槽 (左: 藤田揚排水機場, 右: 大曲揚排水機場)

Water storage tanks where the field investigation was conducted (left: Fujita Irrigation and Drainage Pump Station, right: Omagari Irrigation and Drainage Pump Station)

2. 材料および方法

室内実験では、2023年11月15日と16日に、曝気水3.5 Lを満たした水槽 (縦12 cm × 横19.5 cm × 高さ13 cm) 底面に、藤田地区で採集したタイワンシジミを低密度区・中密度区・高密度区としてそれぞれ1・15・30個体静置した。実験時間は、短時間・中時間・長時間として、3・30・60分とした。全ての実験区について、大型個体 (平

*岡山大学大学院 環境生命自然科学研究科 (Graduate School of Environmental, Life, Natural Science and Technology, Okayama University), **岡山県農林水産部耕地課 (Agricultural Land Division, Agriculture, Forestry and Fisheries Department, Okayama Prefecture Office). キーワード: タイワンシジミ, 環境DNA, 外来種, 通水障害

均殻長23.0 mm)と小型個体(平均殻長12.3 mm)を用いる実験区をそれぞれ用意した。実験は短時間・中時間・長時間の順に連続して行い、各実験時間の終了後には、次の実験水槽(長時間終了後は別水槽)に実験個体を移してから、速やかに採水(500 mL×3本)を行った。また、対照区として本種を入れない水槽を用意し、曝気水を入れてから3・30・60分後に採水した。採水サンプルは、吸引濾過後にDNAを抽出し、リアルタイムPCRによるDNA検出と定量を行った。特異的プライマーセットは、Suzuki et al.¹⁾で報告された配列を、藤田地区に生息するタイワンシジミND3遺伝子配列の種内多型に対応するものに改変した。

藤田地区で実施した野外調査では、2023年10月20日と27日に、タイワンシジミの生息の有無が不明であった2カ所の揚排水機場(藤田揚排水機場および大曲揚排水機場; Fig. 2)の用水吐水槽で採水を行った。本研究の採水は、農林水産省中国四国農政局が実施した両機場の機能診断業務時に実施したため、水位は水槽の半分程度であった。このため、足場から水面までに高低差が生じていたことから、ロープを括り付けたバケツを用いて1 L×3本の採水を行った。また、陰性対照として超純水を1 L入れた採水瓶を用意した。採水後の手順は室内実験に準じた。

3. 結果および考察

室内実験の結果、タイワンシジミを静置した実験区のうち、「小型個体・低密度区・長時間」を除く全ての実験区のサンプルから、本種の環境DNAが検出された。一方で、対照区で採水したサンプルからは、タイワンシジミの環境DNAは検出されなかった。野外

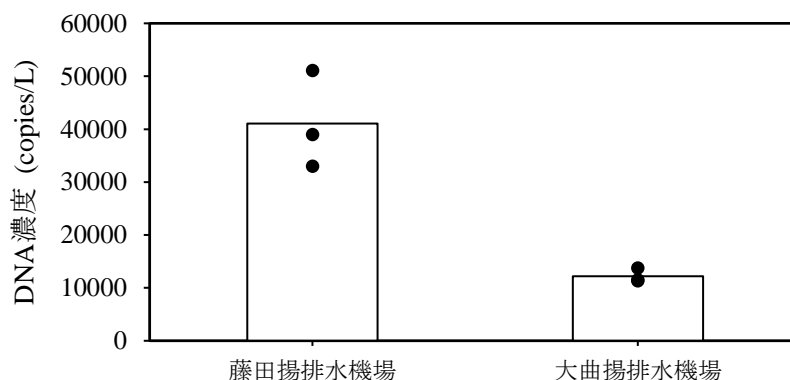


Fig. 3 野外調査の各採水地点で検出されたタイワンシジミの環境DNA濃度

Environmental DNA concentrations of *Corbicula fluminea* at each of the sampling site in the field investigation

調査の結果、両機場の用水吐水槽の採水サンプルから、タイワンシジミの環境DNAが検出された (Fig. 3)。藤田揚排水機場では、用水吐水槽内において、タイワンシジミが生息していることが実際に目視確認された。一方で、ネガティブコントロールからは本種の環境DNAは検出されなかった。

以上から、改良したプライマーセットを用いる環境DNA分析では、藤田地区のタイワンシジミの環境DNAを検出できることが示された。藤田地区の農業用パイプラインにおける通水障害を改善するためには、採水調査と環境DNA分析によってパイプライン管内におけるタイワンシジミの分布の詳細や生息密度を明らかにし、優先的に除去作業を行う箇所を選定することが有効と考えられる。

4. 参考文献

1) Suzuki, R., S. Houki, K. Ito and H. Shibaike (2023) PCR and LAMP detection of environmental DNA of the invasive clam *Corbicula fluminea*. Plankton & Benthos Research, 18(4): 206–213.