

DNA 情報を利用したコクチバス等の生息診断法の検討

要 旨

琴川ダム貯水池においては R2 年度から本格的な駆除を始めているが、駆除は順調に進んでおり、R2 年度の 961-1,116 個体から R4 年度は 91-107 個体に減少している。これまでの目視や電気ショッカーによる調査で貯水池の上下流にはコクチバスは確認されていないが、本試験では、環境 DNA による同様の検証を行った。その結果、ダム下流 500m において微量のコクチバスの DNA を検出したのみであり、貯水池内では検出されなかった。すでに貯水池内のコクチバス個体数が少ないこと、採水した 9 月下旬にはコクチバスが浅場から離れたことなどが理由と推察される。浅場で多く目視できる 6 月～8 月などでなければ DNA が検出されない可能性が示された。残された課題として、経時的なサンプリングにより環境 DNA データを蓄積して最適な採水時期の検討が必要である。

1. はじめに

R 元年度に山梨県内の琴川ダム貯水池においてコクチバスの定着が確認された。R2 年度より始まった本格的な調査・駆除により、5 月中旬頃から 7 月中旬までが効率的に産卵親魚を駆除できること、雌は全長約 20cm から成熟することなどを明らかにした(谷沢ら, 2022)。R4 年度までの 3 年間の本格的な駆除により、コクチバスの個体数は減少している。一方、個体数が減るほどコクチバスの生息確認等が難しくなってくるため、近年、発展している環境 DNA の技術を導入し、従前より行ってきた調査と組み合わせ、より精度の高い分析を行うことを目標とする。本年度は琴川ダム貯水池付近の複数地点で採水を行い、コクチバスの生息はダム貯水池内のみであり、上流、下流での生息が無いという仮定を検証した。

2. 材料及び方法

(1) 調査水域

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(図 1)、2008 年 3 月に完成した多目的ダムである。ダム天端標高 1,464m、常時満水位は 1,453.5m 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 5,150,000m³、貯水池面積 0.3km²、湖周約 3.8km 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。採水はこの琴川ダム貯水池の上流の最初の堰から 400m 上流の地点、ダム貯水池内、ダムより 500m 下流地点、ダム



図1 琴川ダム貯水池の位置図

より 1km 下流地点において 9 月 28 日に行った。

(2) 測定方法

採水後の処理の概要図を図 2 に示す。試水 1 リットルを採水後速やかにろ過し、ろ過したフィルターを冷凍保存した。後日、DNA 抽出を行い、TaqMan プローブ法によりリアルタイム PCR による DNA の定量を行った。コクチバステ異プライマーと蛍光プローブは既報のものを使用した (Jo et al., 2020)。反応試薬については表 1 のとおりである。既知濃度のコクチバス DNA を用い $10, 10^2, 10^3, 10^4$ の 4 段階の希釈系列を用意し、サーマルサイクラーに搭載されている分析ソフトにより定量を行った。分析は 1 サンプルにつき 20 回行った。

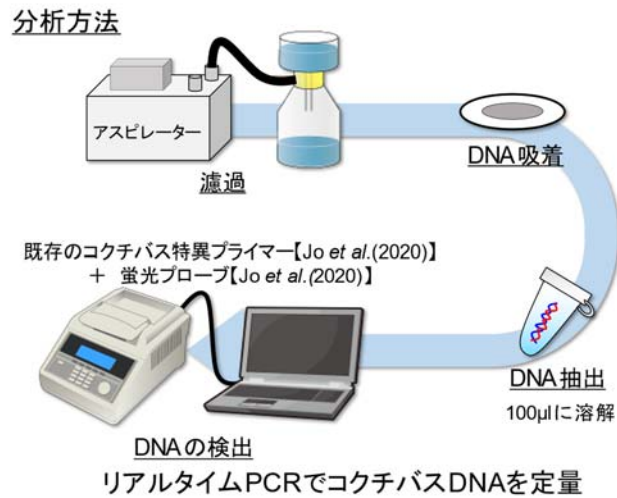


図 2 分析方法の概要図

表 1

	×1 (μL)
2×Environmental Master Mix	10
AmpErase Uracil N-glycosylase	0.1
primerF(10μM)	1.8
primerR(10μM)	1.8
probe(2.5μM)	1
templateDNA	2
DW	3.3
Total volume	20

3. 結果及び考察

リアルタイム PCR によるコクチバス DNA の定量の結果、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 を検出した (図 3)。琴川ダム貯水池の総貯水容量は $5,150,000\text{m}^3$ であり、コクチバスの個体数は約 100 個体と推定されている。現時点の生息数程度では、常に DNA が検出できる密度ではない可能性が示唆された。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 (図 4)、来年度以降は過去に目視個体数が多く刺網 CPUE も高くなる傾向にある 6~8 月に採水することが効果的と考えられる。実際 7 月に採水したサンプルからは 10 回中 8 回コクチバスの DNA が検出された。

500m 下流地点で微量の DNA が検出された理由としては、1km 下流地点で検出されていないことから、コクチバスが生息しているのではなく貯水池から流下した DNA を検出したものと推察される。ダム貯水池の水は水深 5m にある放出口から放水されてい

るため、9月下旬に浅場から深場に移動するコクチバスの DNA を捉えたかもしれないが現時点で不明であり、今後も調査を重ねる必要がある。

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、残された課題として、経時的なサンプリングにより環境 DNA データを蓄積して最適な採水時期の検討が必要である。

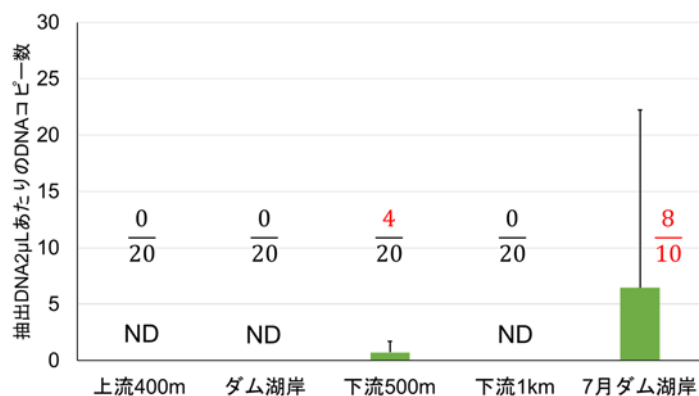


図3 リアルタイム PCR によるコクチバス DNA の定量

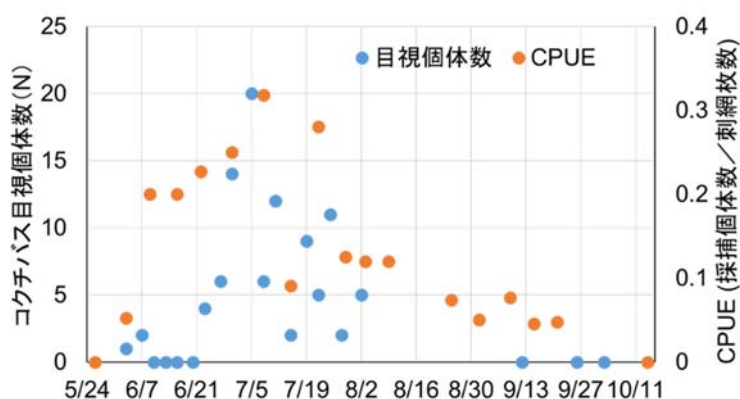


図4 R4 目視個体数と刺網の CPUE

8. 引用文献

谷沢弘将, 大浜秀, 青柳敏裕. 日本一高所に定着したコクチバス *Micropterus dolomieu* の生息状況と駆除結果に基づいた順応的管理の提案. 伊豆沼・内沼研究報告 2022; 16: 79–95.

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.

谷沢弘将・藤原亮・三浦正之（山梨県水産技術センター）