

環境 DNA 分析によるアユの降下・産卵モニタリングの有効性の検証と適用

山口大学大学院 特命助教 正会員 ○乾隆帝
 山口大学大学院 准教授 正会員 赤松良久
 山口大学大学院 学術研究員 正会員 後藤益滋
 山口大学大学院 学生会員 河野誉仁
 たかはし河川生物調査事務所 非会員 高橋勇夫
 徳島大学大学院准教授 正会員 河口洋一

1. はじめに

アユは河川における漁業対象として最も重要な種の一つであるが、漁獲量は全国的に減少傾向であり、特に西日本においての減少は顕著である¹⁾。アユは両側回遊性の年魚であるが、近年、アユにとって好適な産卵場の減少が資源量減少の要因となっている可能性が示唆されていることや、西日本のいくつかの河川において、仔魚の海域への流下時期と回帰率の関係性が示唆されていることから²⁾、西日本におけるアユの資源量を回復させるためには、産卵～ふ化期における負の要因を解明し、可能な限りそれらを取り除くことが急務である。

そこで本研究では、アユの降下・産卵に着目し、人工産卵場が主要産卵場になっている高知県東部奈半利川において、アユの産卵状況モニタリングとしての環境 DNA 分析手法の有効性の検証を試み、さらに島根県西部の高津川において実際に環境 DNA 手法を適用し、アユの降下生態ならびに好適産卵場を明らかにすることを試みた。

2. 方法

2.1 奈半利川における検証

採水は2017年10月から12月にかけて4回おこなった。10月7日および11月29日の2回については日中(14時から16時の間)のみ、産卵期にあたる11月9日と11月24から25日にかけての2回については、日中と日没約3時間後(以下夜間)におこなった。アユの産卵時間は日没後が中心であることが知られているため、産卵期における産卵場において夜間に得られたサンプルの環境 DNA 濃度が日中に比べて高くなることが予想されたためである。

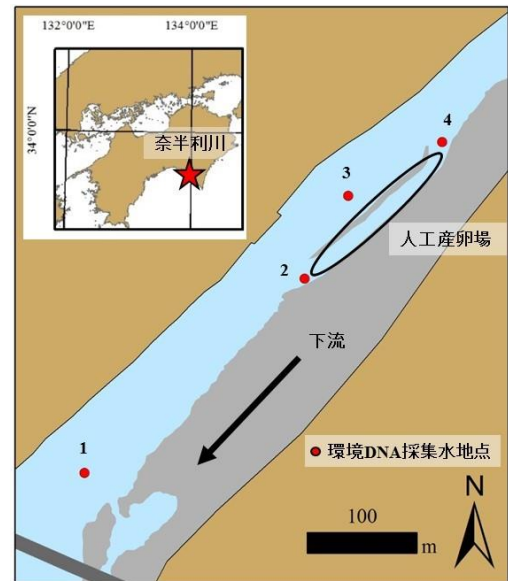


図-1 奈半利川の調査地点

調査地点は、人工産卵場の直下(地点2)、下流の対照区(地点1)、人工産卵場近傍の本流の対照区(地点3)、上流の対照区(地点4)の4箇所を設定し(図-1)、これらの地点において、表層水1Lを採集し、DNAの分解を阻害するために塩化ベンザルコニウム溶液(w/v%で10%の濃度)を1Lあたり1mL入れた後、クーラーボックスに入れ、冷却して持ち帰った。また、輸送時のDNAの混入を確認するために、輸送時のクーラーボックスの中に、採水ボトルに脱イオン水を入れたクーラーブランクを入れた。

2.2 高津川での適用

河口から1.2km～10.6kmの区間に9地点を設定し、昼間採水については、2017年10月1日、13日、18日、28日、11月7日、13日、21日、12月1日および13日の計9回行った。なお、最下流の1.2km地点について

キーワード アユ、河川、環境 DNA、産卵、資源、動態

連絡先 〒755-8611 山口県宇部市常盤台 2-16-1 山口大学創成科学研究科 TEL0836-85-9339

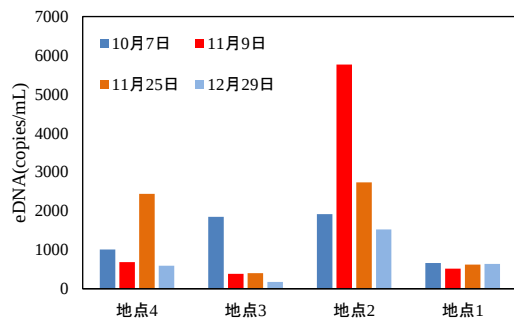


図-2 奈半利川における日中の環境 DNA 濃度

ては11月13日以降に採水調査を行った。夜間採水は、これらのうち5.6km地点、4.5km地点、3.4km地点の3地点で、10月1日、11月7日、13日、21日、12月1日の日没3時間後から4時間後の間に計5回行った。日中は瀬の上流側、夜間は瀬の上流側と下流側の2箇所、表層水1Lを採集した。

2.3 環境 DNA 分析

サンプル水は、冷却して持ち帰った後、採水から48時間以内に、GF/F ガラスフィルター(pore size c. 0.7 μm)で濾過した。抽出およびPCRについてはDoi et al.²⁾に従い、フィルターからの抽出はサリベットチューブおよびDNA抽出キットを用い、アユに特異的なプライマーおよび蛍光プローブを用いて定量PCRをおこなった。

3. 結果

3.1 奈半利川における検証

図-2に各調査日における日中の分析結果を示している。各調査回での環境DNA濃度は、産卵盛期である11月下旬にかけて増加し、その後減少することが明らかになったことから、日中のデータを比較することで、アユの産卵期がおおむね明らかになることが示された。さらに、日中と夜間の環境DNA濃度を平均値で比較すると、11月9日は、夜間が日中の約2倍になり、11月25日は約11倍になっていた。これらの結果から、産卵期においては、日中よりも夜間のほうが検出されるDNA濃度が高くなることが示された。

3.2 高津川での適用

昼間における環境DNA濃度の地点別時系列変化を示す(図-3)。10/1から10/13にかけて、今回の調査範

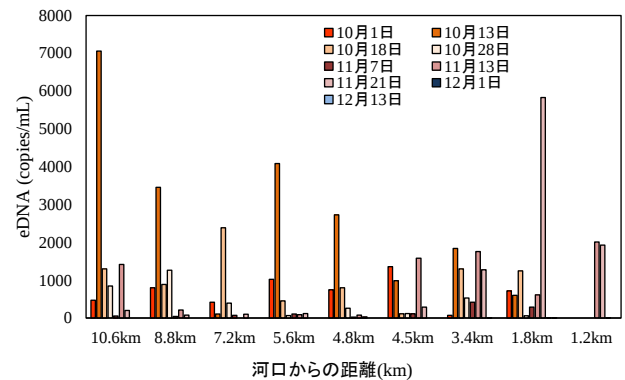


図-3 高津川における日中の環境 DNA 濃度

囲の全域において環境DNA濃度が大きく上昇し、その後は全体的に減少傾向となり、11/21に再び下流域において濃度が上昇し、12/1にはほとんど環境DNAが検出されなくなった。

さらに、3.4km地点、4.5km地点、および5.6km地点の日中と夜間の環境DNA濃度を比較したところ、10月は、夜間のDNA濃度は、いずれの地点においても昼間に比べて顕著に高かった一方、11月では3.4km地点でのみ、日中に比べて夜間の環境DNA濃度が顕著に高かった。

4. 結論

奈半利川における検証の結果、アユの降下・産卵期における環境DNA分析は、日中の分析結果を時系列で比較することにより、アユの降下および産卵期を、日中と夜間の分析結果を比較することにより、アユの好適産卵場を示すことができることが明らかになった。さらに、高津川での適用の結果、アユの降下および産卵期のピークは10月と11月の2回存在すること、12月上旬に産卵が終了している可能性が高いこと、そして10月には比較的広範囲が主要産卵場になっていることに対して、11月には主要産卵場が下流に移行することが明らかになった。

参考文献

- 1) 高橋勇夫：天然アユが育つ川，築地書館，東京，2009.
- 2) Doi H., Inui R., Akamatsu Y., Kanno K., Yamanaka H., Takahara T. and Minamoto T.: Environmental DNA analysis for estimating the abundance and biomass of stream fish, *Freshwater Biology*, 62, pp.30-39, 2017.