

河川における環境 DNA を活用した魚類遡上のモニタリングに関する検討

大成建設 正会員 ○赤塚 真依子 大成建設 正会員 高山 百合子
大成建設 フェロー会員 伊藤 一教

1. はじめに

環境 DNA 分析は、水域に存在する生物の組織片や排泄物などから生物由来の DNA を調べることで、その水域に生息する生物の情報（生物の種類、存否、生物量）を得る技術として注目されている¹⁾。水生生物の調査は、従来、種の判定など専門性の高い目視確認や潜水、捕獲調査など、多大な労力となることが多い。本研究では、魚類の遡上に関する情報を得る方法として、現地作業が採水のみとなる環境 DNA 分析の活用を検討した。河川におけるサクラマス²⁾の遡上を対象とし、2 地点（上流、下流）において 6 ヶ月間の採水を行い、環境 DNA 分析したモニタリング結果を報告する。

2. 対象生物と採水地点

サケ目サケ科のサクラマス（写真 1）は 3 年魚といわれ、河川上流で春に孵化し、1 年経過後の春にスモルトとなり海洋へ下降する。翌年秋、成魚となり、河川を遡上し、産卵、壊死する（図 1）。また、スモルト化せずに河川に残る個体もあり、その成魚はヤマメと呼ばれ、主に遡上したサクラマスと交配する²⁾。なお、サクラマスとヤマメの外観は大きく異なるが、DNA 配列は同じことから環境 DNA 分析での区別はできない。採水地点は、サクラマスの遡上が毎年確認されている河川の産卵場に近い地点（上流）とその約 7 km 下流の地点（下流）の 2 地点とした（図 2）。この 2 地点間の経路に支流等はなく、例年、成魚は下流から上流へ数日から 1 週間ほどかけて移動することが確認されている²⁾。



写真 1 サクラマス

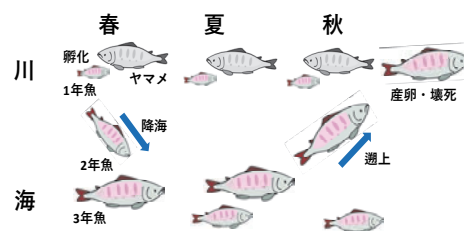


図 1 サクラマスの生活史

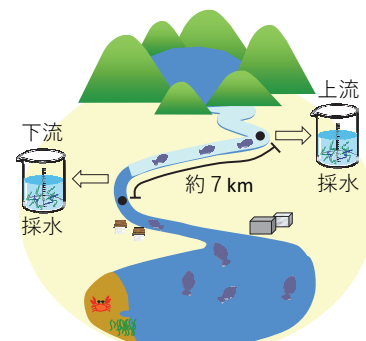


図 2 採水地点の概要

3. 環境 DNA の分析方法

スモルトの降下後となる 2018 年 6 月下旬から成魚の遡上・産卵期を含む 11 月中旬までの期間、2 地点で全 12 回の採水を行った。1 回あたり 4 L を採水し、1 L に分注して 4 試料とした。DNA の分解を抑制するため塩化ベンザルコニウム 10w/v% 水溶液を 1 ml 添加後、実験室へ冷蔵輸送した。採水した翌日にガラス繊維ろ紙 (0.7 μ m, Φ 47mm) でろ過し、ろ紙を冷凍保存 (-20℃) した。DNeasy Blood & Tissue kit (QIAGEN) を用い、Yamamoto et al. の方法¹⁾でろ紙から DNA を抽出した。特定種の DNA を定量するリアルタイム PCR 解析

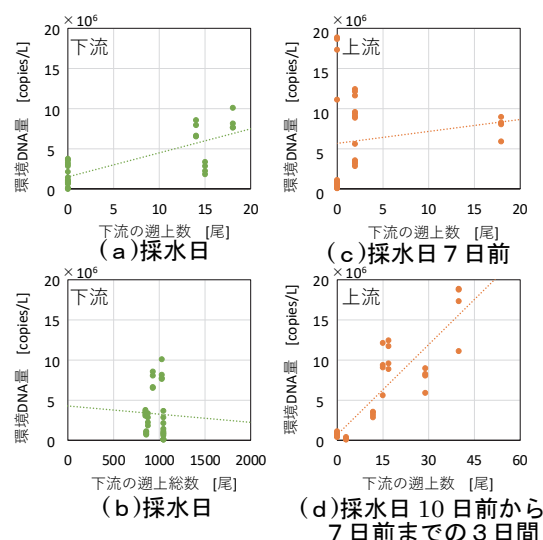
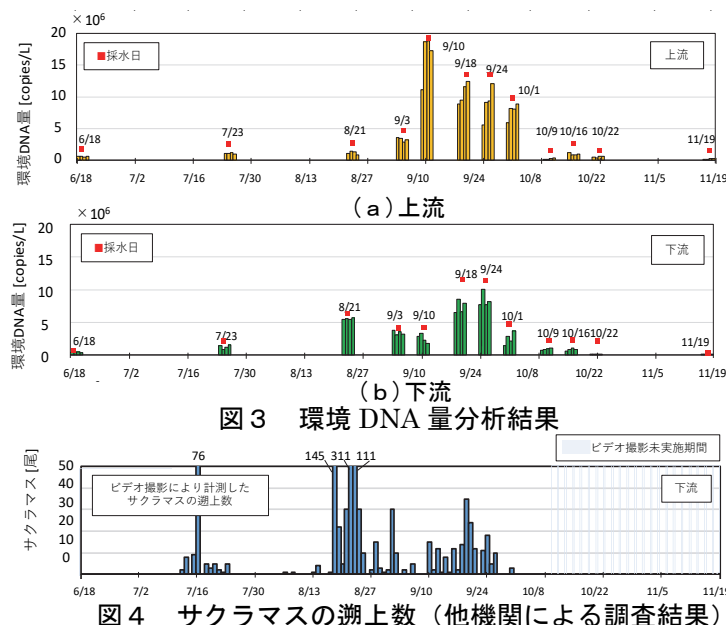
（以下、qPCR, Thermo Fisher Scientific 製, QuantStudio 6）を用いてサクラマスの DNA を分析した。qPCR 反応条件および対象とした DNA 領域の配列情報は半田らの方法（生物技研株式会社、未公表）に準拠した。

4. 結果と考察

（1）環境 DNA 分析結果 環境 DNA 分析結果（図 3）は、1 回の採水につき 4 試料を分析したため、各採水日に 4 つの値を図示した。環境 DNA 量の変化としては、6 月、7 月における値に対して、8 月～10 月上旬に高い値を示し、10 月上旬以降は 6 月と同程度の値まで下がった。各採水日における 4 試料の差異は 4 試料の平均値から最大 10% となったが、採水期間中の環境 DNA 量の変化を捉えることができた。

キーワード 環境 DNA, サクラマス, 環境影響評価, 遡上, 河川環境

連絡先 〒245-0051 神奈川県横浜市戸塚区名瀬町 344-1 大成建設（株）技術センター TEL: 045-814-7234



(2) 環境DNA量とサクラマスの遡上数の比較 採水した下流近くでは、撮影されたビデオから計測した遡上数が公開されている²⁾。図4より、調査年は7月と8～9月にサクラマスが遡上した。下流(図3(b))の環境DNA量(7/23)は、6/18に比べて増加し、環境DNA量(8/21以降)は、7/23に比べて増加した。このことから、サクラマスの遡上による生物量の変化が下流の環境DNA量に反映されたと考えられる。上流の環境DNA量(図3(a))は、下流に対して値が高い期間(9/10～10/1)があった。海から遡上し河川で産卵するアユを対象とした調査では、産卵時に精子由来のDNAが多く放出されることで、環境DNA量が産卵前に比べて高い値を示す報告³⁾があり、上流では遡上したサクラマスの滞留や産卵後の壊死体に加え、産卵活動によって高くなった可能性が考えられる。10/9以降は上流、下流において6/18と同程度まで環境DNA量が低下し、ビデオでは遡上が確認されていないため、遡上の終了を環境DNA量から確認できる可能性が示唆された。

環境DNA量と通過した生物量や経過日数との関係を考察するため、週1回の頻度で採水した期間(9/3～10/22)について、環境DNA量と遡上数の関係を図示した(図5)。下流では、遡上数の観測点と採水地点が近いので採水日における環境DNA量と遡上数を図示し、正の相関が得られた(図5(a))。遡上のビデオ観測を始めた7/10から採水日までに遡上した全数に対する環境DNA量の関係も確認したが、相関は得られなかった(図5(b))。また、10月上旬に遡上が終わると環境DNA量が翌週には低下したこと(図3(b))から、下流で採水して得られた環境DNA量は、ある期間およびある範囲に存在した生物量を反映している可能性が考えられる。一方、上流では、遡上数を観測した下流からの移動日数(概ね数日～1週間²⁾)の影響があるため、環境DNA量と比較する遡上数は、採水日から10日前までの遡上数を対象とした。結果の一例として、上流の環境DNA量と採水日の7日前(1日間)の遡上数(図5(c))、10日前から7日前まで(3日間)の遡上数(図5(d))との関係を示す。上流の環境DNA量は、採水日の7日前(1日間)に比べ、採水日の10日前から7日前まで(3日間)の遡上数と正の相関が得られた。3日間の遡上数との相関が良かった理由としては、移動速度の個体差や採水地点近傍に遡上した個体の滞留などが考えられる。このことから、調査地点を増やすことにより、魚類が下流から上流まで移動する日数等の情報が得られる可能性が示唆された。

5. まとめ

サクラマスを対象として、魚類の遡上を環境DNA分析でモニタリングできる可能性を検討した。サクラマスの環境DNA量は、遡上・産卵期にDNA量が高くなり、遡上終了後には低くなったことから、環境DNA分析は遡上の有無や時期の推定に役立てる可能性が示唆された。

参考文献 1)Yamamoto S et al.:Environmental DNA metabarcoding reveals local fish communities in a species-rich coastal sea, Scientific Reports, 7, 40368, 2017. 2)天塩川における魚類等の生息環境保全に関する平成29年度年次報告書, pp40-43(2018) 3)乾 隆帝 他:江の川における環境DNA分析を用いたアユの定量化と生物量に影響を与える環境要因の検討, 土木学会論文集 B1(水工学), 73(4), 1105-1110, 2017