

環境 DNA 分析を用いたサクラマスとニッコウイワナの移動生態評価

山形大学農学部	正会員	○西山正晃, 渡部徹, 渡邊一哉
山形大学大学院農学研究科	非会員	菊田将太郎
山形大学農学部	非会員	小笠原舞美

1. はじめに

河川上流や渓流域は、サケ科魚類の産卵環境として重要な場である。それと同時に、ヒトの生活圏にとっても必須の水環境であるため、治水・利水を目的とした河川横断構造物が設置されてきた。横断構造物の建設は、河川の連続性を分断し、物質や水圏生物の移動障害が発生する。これらが原因となって、魚類等の利用可能な生息環境が少なくなり¹⁾、生物資源の減少を引き起こしている事例が報告されている^{2),3)}。

山形県の県魚に指定されているサクラマス (*Oncorhynchus masou masou*) は、水産資源としてだけではなく、最上川・赤川流域の祭事の際の供物となるなど、文化的資源としても重要な種である。しかしながら、山形県内のサクラマスの漁獲量は 1994 年の 30t をピークに減少し、近年 (2015 年から 2019 年) は 5t/年で推移している⁴⁾。県内の内水面漁業協同組合は、赤川水系のサクラマスの増殖を目的として、種苗放流を毎年約 50 万尾行っているものの、資源量の回復は認められていない。その理由として、サクラマスが県内河川に定着する場 (生息場) や産卵床の造成が十分でないことがあげられる。

本研究では、重要な水産資源であるサクラマスとニッコウイワナ (*Salvelinus leucomaenis pluvius*) を対象に、環境 DNA (Environmental DNA : eDNA) 分析を用いて山形県の赤川水系における両魚類の生息地の推定と、季節に応じた移動生態を評価した。

2. 実験方法

2.1 調査地点と試料採取

調査は、山形県内を流下する一級河川である赤川 (幹川流路延長 : 70.4 km, 流域面積 : 856 km²) とその支川である早田川と大鳥川で実施し、2021 年 7 月から 11 月にかけて毎月 1 回行った。赤川水系の河川には毎年サクラマスの遡上が確認されており、特に赤川の上流に位置する早田川はサクラマスの産卵場として利用されている。赤川本川では 2 地点 (AK3 と AK2)、支流である大鳥川では 1 地点 (AK1) で採水を行った。早田川からは、河川横断構造物による魚類の移動生態への影響を把握するために、6 地点の採水地点 (WS1~WS6) を選定した。WS2 と WS3 の間には砂防堰堤、WS4 の直上には農業用取水堰があり、WS4 から WS3 へ、そして WS3 から WS2 へは魚類の遡上ができない構造となっている。現地での河川水の採水は、環境 DNA 調査・実験マニュアル (ver.2.2) に準じて行った⁵⁾。採水は、1 地点につき、1L のポリ瓶で 2 回行った。

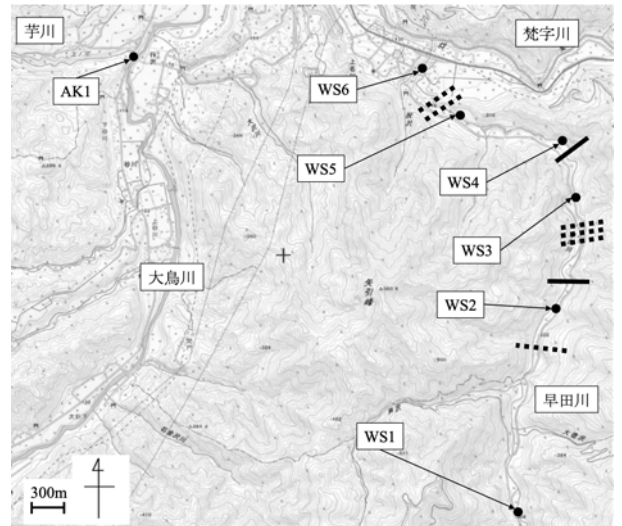


図 1 早田川のサンプリング地点 (実線は遡上不可能な構造物を、破線はスリット化された構造物を表している)

2.2 DNA 抽出と定量 PCR

河川水からの DNA 抽出には、DNeasy Blood & Tissue Kits (QIAGEN) を使用し、付属の使用説明書に準じて行った。抽出した DNA の濃度は、Nanodrop 2000c (Thermo Fisher Scientific) を使用して測定した。各試料から抽出して DNA を使用して、定量 PCR を行った。定量 PCR の反応には、TaqMan™ Environmental Master Mix キーワード 環境 DNA, 河川管理, サクラマス, ニッコウイワナ, 定量 PCR

連絡先 〒997-8555 山形県鶴岡市若葉町 1-23, Tel.0235-28-2894, e-mail:m-nishiyama@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp

2.0 (Thermo Fisher Scientific) を使用し、3.05 μL の Nuclease Free water (QIAGEN), 10.0 μL の 2 \times Environmental Master Mix 2.0, 0.1 μL の AmpErase Uracil N-Glycosylase (Thermo Fisher Scientific), 各 1.8 μL のプライマー (10 mM), 0.25 μL のプローブ (10 mM) 3.0 μL の DNA を加え、全量を 20 μL とした。PCR の反応条件は、50 $^{\circ}\text{C}$ (2分), 95 $^{\circ}\text{C}$ (10分) の反応の後、95 $^{\circ}\text{C}$ (10秒) と 55 $^{\circ}\text{C}$ (1分) の反応を 50 サイクル行った。陽性区には両魚種から抽出した DNA を、陰性区には Nuclease Free water を使用した。試料およびコントロールからの遺伝子定量は $\Delta\Delta\text{Ct}$ 法に則り、各 2 回の繰り返し測定を行った。

2.3 統計解析

赤川水系における両魚種の eDNA の検出量について、経月変化の有無や地点間の統計的差異を判定するために、Kruskal-Wallis の順位和検定を行った。

3. 結果と考察

調査期間である 7 月から 11 月までの調査期間を通じて採水した計 90 試料のうち、サクラマスとニッコウイワナの eDNA の陽性検体数は、それぞれ 68 試料と 88 試料であり、両者の陽性数に差がみられた。各月におけるサクラマスの eDNA 量の平均値は、7 月は 439 copies/L であったのに対して、10 月の平均値は 1,568 copies/L と、調査期間で最大となった。各採水月におけるサクラマスの eDNA 量の間には統計学的に有意差が認められ ($p=0.018$)、降海型サクラマスが沿岸域から繁殖のための移動生態を反映していると考えられる。一方で、ニッコウイワナの eDNA 量は月ごとに大きな変動はみられなかったが、サクラマスと同様に繁殖時期に eDNA は最大となった (11 月, 2,699 copies/L)。

図 2 に、各調査地点におけるサクラマスとニッコウイワナの eDNA 量を示す。サクラマスの eDNA は、AK1 を除いた全ての地点から検出された。AK1 からは eDNA が調査期間を通じて検出されなかったことは、大鳥川にはサクラマスの個体数が極めて少ないと推察される。WS4, WS5, WS6 におけるサクラマスの eDNA は、上流域である WS1, WS2, WS3 と比較して高かった (図 2)。WS3 と WS4 の間には農業用取水堰が設置されており、赤川本川から遡上した降海型サクラマスの遡上限界が WS4 であることを表している。一方で、WS1, WS2, WS3 で常に一定量検出される eDNA は、河川残留型のサクラマスの個体数を反映していると考えられ、河川が分断された上流域 (WS1, WS2), 中流域 (WS3) と下流域 (WS4, WS5, WS6) では、生活史の異なる個体群が存在していることを示唆している。農業用取水堰の上流 (WS1, WS2, WS3) におけるニッコウイワナの eDNA の平均値は、取水堰下流より高く検出された (図 2)。農業用取水堰の前後で両魚種の eDNA の検出傾向が異なったことは、前述したような両魚種的生活史の違いが影響していると考えられる。

以上のことから、eDNA 分析を用いて赤川水系流域におけるサクラマスとニッコウイワナの生息場と季節的な移動生態が把握でき、遡上限界地点や産卵行動の推定などにも活用できる可能性が考えられた。

参考文献

- (1) 藁田ら, 応用生態工学, 15(2), 187-195, 2012. (2) 菊池ら, 応用生態工学, 17(1), 17-28, 2014. (3) 畠山, 環境と公害, 35(3), 6-11, 2006. (4) 令和 2 年度 国際漁業資源の現況, 63-69, 2021. (5) 環境 DNA 調査・実験マニュアル Ver. 2.2 (2020 年 3 月発行)

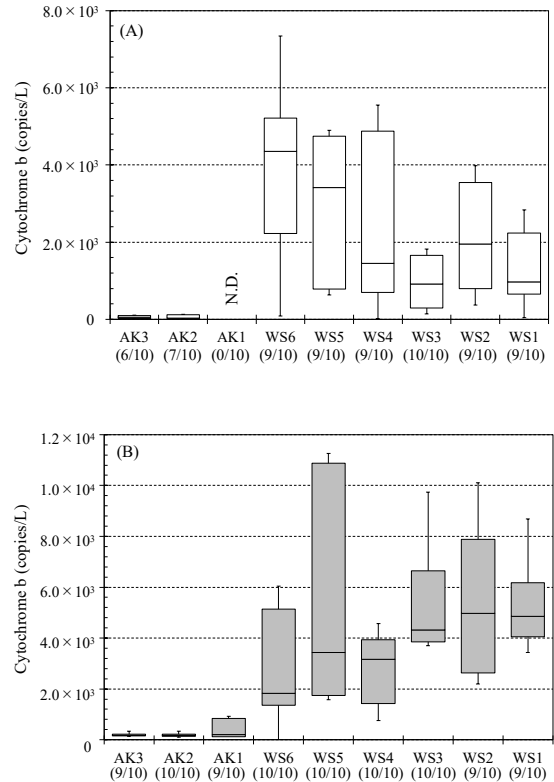


図 2 各調査地点における(A)サクラマスと(B)ニッコウイワナの eDNA 量 (括弧内の数値は試料中の陽性数を, N.D.は非検出を表す)