

# DNA 情報を利用したコクチバス等の生息診断法の検討 (水産庁委託事業)

とりまとめ：谷沢弘将

## 事業名

令和5年度効果的な外来魚等抑制管理技術開発事業

## 結果の概要

琴川ダム貯水池においては2020年から積極的な駆除を始めている。コクチバスのモニタリングや駆除に活かすため環境DNAによる調査を行った。

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、2008年3月に完成した多目的ダムであり、総貯水容量5,150,000m<sup>3</sup>、貯水池面積0.3km<sup>2</sup>である。2023年の採水地点等を図1に示す。採水地点や時期はコクチバスDNAを検出しやすい採水適期の調査、ダム貯水池上下流のコクチバス生息調査を目的として選択した。環境DNAの測定は環境DNA学会のマニュアル(ver. 2.2)に則って行った。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。コクチバス特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<sup>1</sup>,10<sup>2</sup>,10<sup>3</sup>,10<sup>4</sup>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。全ての調査回においてフィールドブランクを作成し、フィールドブランクではコクチバスDNAは検出されなかった。

2023年採水地点(採水適期を調査)

3地点で採水

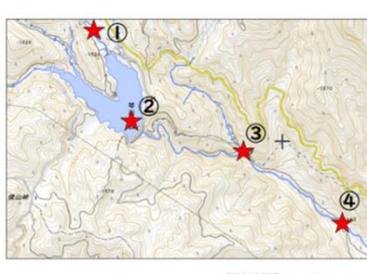


採水時期:  
2023年5月31日  
~同年10月4日  
おおよそ週1回、合計18回

- 実験区
- ①塩水沢川筋
  - ②琴川筋
  - ③ダムサイト

2023年採水地点(ダム上下流を調査)

4地点で採水



採水時期:  
2023年6月~9月  
月1回、合計4回

- 実験区
- ①堰から上流400m地点
  - ②ダムサイト水深5m
  - ③ダム下流1km地点
  - ④ダム下流2km地点
- 水深5m地点から下流に水を放流していることから調査地点とした。

図1 採水地点の概要

## 分析方法

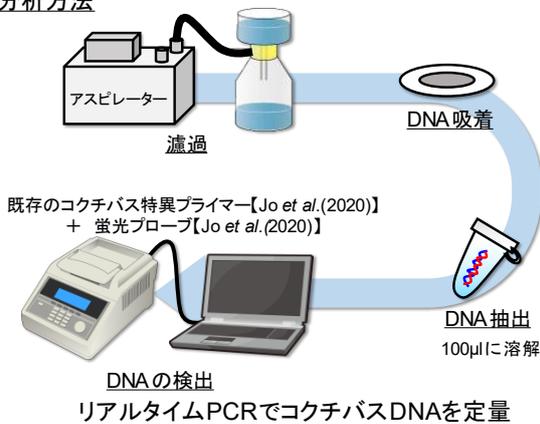


図2 分析方法の概要図

表1 使用した反応試薬

	×1(µL)
2×TaqPath Mix	10
primerF(10µM)	1.8
primerR(10µM)	1.8
probe(2.5µM)	1
templateDNA	5
DW	0.4
<b>Total volume</b>	<b>20</b>

分析結果より、5月～10月までの調査期間中において、6月15日～8月2日の間でコクチバス DNA が検出され、水温は 13.8℃（6月15日）～22.5℃（8月2日）の範囲であった。同期間は成熟魚を狙った目合 50mm 以上の刺網で捕獲されたコクチバスの個体数と関係性があるようにみられた（図3）。一方8月以降は小型のコクチバスが多く捕獲される時期であったが、8月2日を最後に DNA は検出されなかった。以上のことから初夏から盛夏までがモニタリングの適期と考えられた。ただし、すでに検出量は少なく、適期に複数回サンプリングを実施する事が望ましいと考えられた。

また、琴川ダム貯水池上下流でも環境 DNA による調査をしたが、コクチバス DNA は検出されなかった。

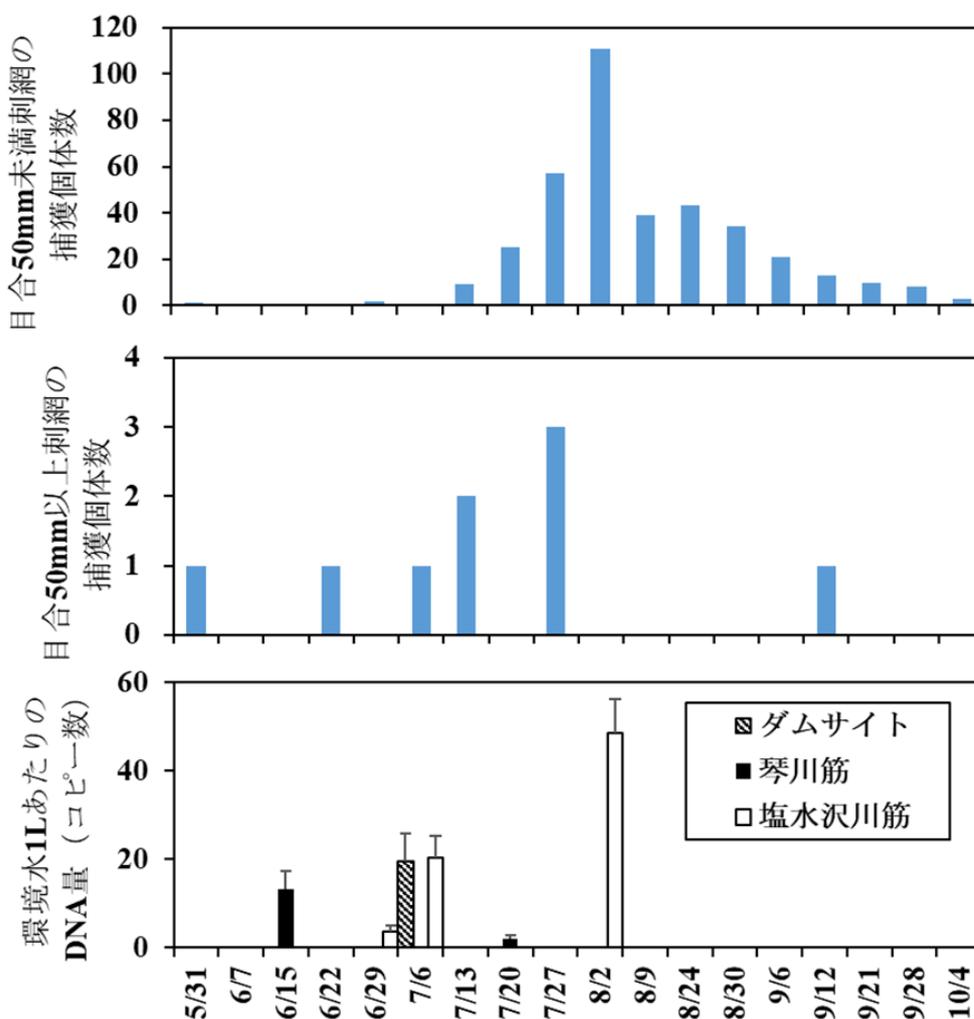


図3 コクチバス DNA 定量結果と目合毎のコクチバスの捕獲個体数

#### 引用文献

環境 DNA 調査・実験マニュアル (ver. 2.2). <https://ednasociety.org/manual/> (2023/12/11 確認), 一般社団法人 環境 DNA 学会

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.