

環境 DNA を用いたスイゲンゼニタナゴと近縁外来種の同時検出系の開発と実践

木原菜摘、源利文（神戸大・院・発達）

外来種への対策を講じるにあたって、その生息域を正確かつ迅速に把握する事は重要な第一歩であり、そのような目的に適している生物モニタリング手法のひとつに環境 DNA 分析が挙げられる。環境 DNA とは、河川や湖の水、さらには土壌や空気などあらゆる環境に存在する生物の細胞内および細胞外の DNA の総称を指し、環境 DNA 分析を行うことでその環境に生息する生物の在不在や生物量、個体数の推定ができるとされる。環境 DNA 分析は、目視調査や採捕調査などの従来法に比べ調査労力を抑えることができ、DNA で種を識別するため形態学的な区別が困難な種でも比較的簡便に識別できるなどのメリットがある。一方で、環境 DNA 分析によって複数種の同時検出を行おうとする際には一般に用いられる種特異的リアルタイム PCR を用いる手法では検出系の設計が難しい場合がある。これを解決する手段として、HRM (High Resolution Melt) 法とマルチプレックスプローブ法 (以下、MPP 法) のふたつの手法が挙げられる。どちらも従来のリアルタイム PCR 法に比べ、検出系の開発が容易であり、これまで種特異的検出の適用が困難であった生物種に対しても、種特異的な検出が可能になると期待される。本研究では、岡山県内に自然分布する希少種であるスイゲンゼニタナゴと、そこに侵入し問題となっている外来 2 種 (カゼトゲタナゴ、外来種 A) の合計 3 種を対象として、HRM 法と MPP 法による検出系の開発を行った。比較のために、従来用いられてきたリアルタイム PCR 法を用いた検出系も適用し、同時検出系 2 手法の実用可能性を検討した。組織由来の DNA を用いた実験の結果、3 手法とも対象 3 種の DNA を正確に判別できることが明らかになった。野外サンプルを用いた実験では、HRM 法において一部のサンプルで種判別が困難なケースがあったものの、3 手法の間で結果が概ね一致した。本研究は、HRM 法と MPP 法による環境 DNA を用いた近縁 3 種同時検出系の開発と野外適用に成功した数少ない研究例である。特に、HRM 法はプローブを用いる手法によって検出できなかった種を検出できた場合もあり、プローブ法の代替手段もしくは補完する手段としての有効性が示された。

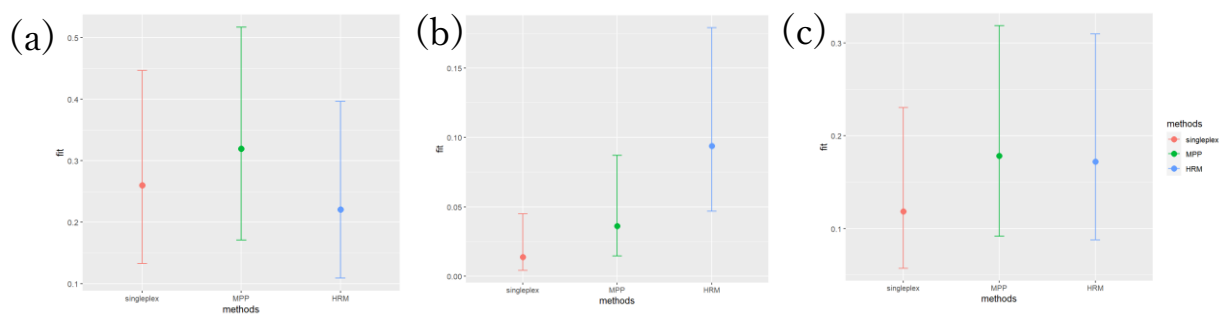


図 1 各手法における各対象種の推定検出確率

(a)にスイゲンゼニタナゴ、(b)にカゼトゲタナゴ、(c)に外来種 A の結果を図示した。横軸は手法、縦軸は GLMM のモデルにより推定される検出確率を示す。