

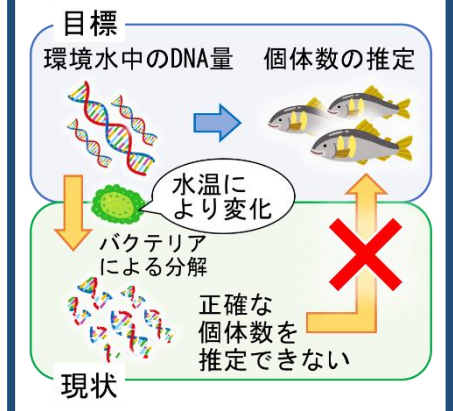


はじめに

環境 DNA とは水・土壌などの環境中に単独で存在する DNA のことで、特に河川などから採取した水は生物種の特定などに利用されている。これまで水中の DNA 量から個体数の推定方法が模索されてきたが、DNA 放出・分解速度の変化で DNA 量が変わってしまい、未だ開発途上の段階である。DNA の分解に関わるバクテリアは水温によって活性が変わるとの報告がある。本研究では水温による影響がどの程度かを検証するために、ドジョウ飼育水を用いて四季を想定した各水温における DNA 量の経時的変化を計測した。

結論

ドジョウ DNA は時間経過とともに分解が進み、温度が低いほど DNA 分解速度は小さい。



川の調査

・七尾市の御祓川水系で 2023 年の 6 月から 7 月にかけて河川の水環境条件を調べた。



図 1 御祓川水系における調査地点間・調査日間での水温の違い

⇒水温において調査地点や調査日による差が大きかった(図 1)。

実験①：48 時間での環境 DNA 量の変化

＜目的＞温度と時間経過が DNA 量変化に与える影響を検証する。

＜方法＞以下の各タイムラインに従って、採水・吸引ろ過を行った(図 2)。

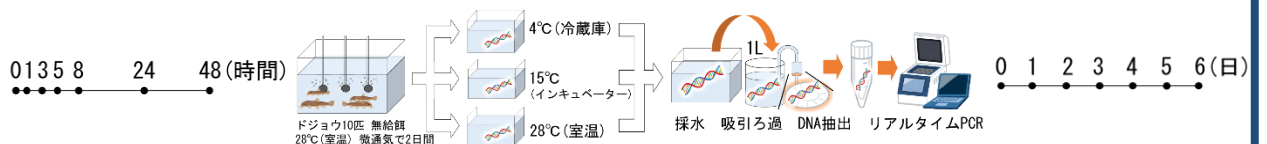


図 2 飼育水の保管温度と採水後のワークフロー

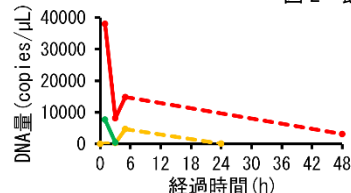


図 3 各温度における 48 時間後までの DNA 量の経時的変化

実験②：6 日間での環境 DNA 量の変化

＜目的＞温度と実験①より長い時間経過が DNA 量変化に与える影響を検証する。

＜方法＞以下の各タイムラインに従って、採水・吸引ろ過を行った(図 2)。

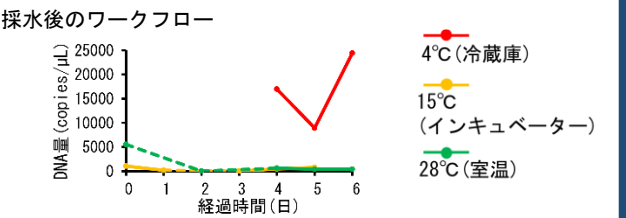
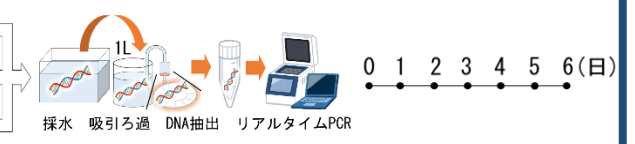


図 4 各温度における 6 日後までの DNA 量の経時的変化

＜結果＞両実験で DNA は 2 日後までに減少し、4°C の DNA は 15°C・28°C より多く残存した(図 3, 4)。

実験③：バクテリアを添加したときの環境 DNA 量の経時的変化

＜目的＞実験①・②の DNA 量変化がバクテリアの働きによるものなのか、バクテリア量に左右されるのかを検証する。

＜方法＞一方にバクテリアを添加し、2 つの容器を室温 28°C の環境下で保管した(図 5)。

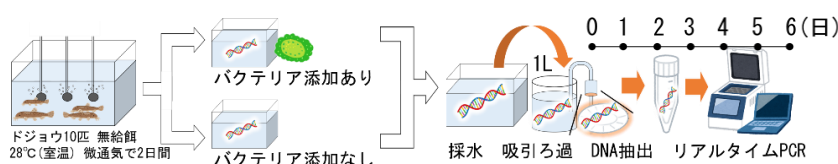


図 5 バクテリア添加と採水後のワークフロー

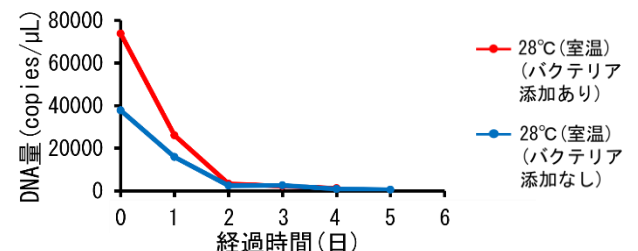


図 6 バクテリアの添加有無における DNA 量の経時的変化

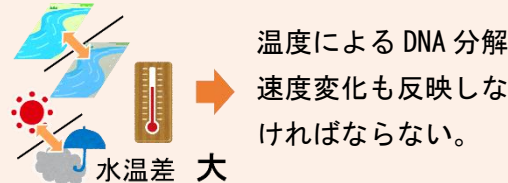
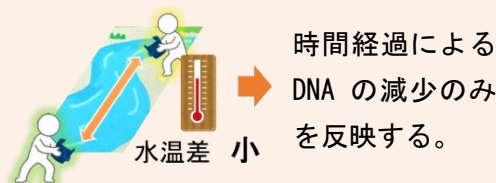
＜結果＞DNA は 2 日後までに減少し、バクテリアを添加した方の容器は DNA の減少が早かった(図 6)。

考察

＜個体数推定について＞

・調査日や調査河川が同一の場合

・調査日や調査河川が異なる場合



＜2 日後までの DNA 量減少について＞

河川の流速、地形など

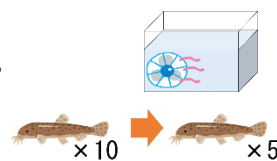
- ⇒DNA を放出した種の存在範囲の推定
- ⇒生息範囲推定方法の開発



今後の展望

DNA 量の減少をより正確に比較するために…

- ・保管する環境下の温度設定を細かくして同様の実験を行う。
- ・ドジョウ飼育時に水流を作ったり、飼育するドジョウの個体数を減らしたりして同様の実験を行う。



参考文献

平岡 礼鳥, 市川 哲也, 今尾 和正, 宮向 智興, 高倍 昭洋, 田中 義人, 鈴木 輝明
・2022. 飼育実験によるタイワンガザミの環境 DNA 分解速度と放出速度の算出

謝辞

・石川県立大学 中谷内修講師
リアルタイム PCR を使用させていただき、使用方法についてもご指導いただきました。
・環境公害研究センター
サンプリングや解析の方法についてご指導いただき、ドジョウのプライマーを提供いただきました。
深く感謝いたします。