

水を汲んで魚類の産卵をモニタリング！

—放精による環境 DNA 濃度の急上昇から産卵行動の有無と規模を知る—

研究成果のポイント

- 2種のメダカを用い、産卵行動によって放出された精子が繁殖期に水中の環境 DNA (※1) 濃度を急上昇させる主要因であることを実証しました。
- メダカの産卵時間帯の前後における環境 DNA 濃度の違いは、放卵・放精を伴う産卵行動の回数を反映することが示されました。
- 各メダカの野外生息地においても、繁殖期にのみ産卵時間帯の後に環境 DNA 濃度の急上昇が観察されました。
- 本研究の成果は、環境 DNA 分析が生物の分布調査だけでなく、今後は産卵調査にも有用な技術となり得ることを示唆しています。

研究成果の概要

山口大学環境 DNA 研究センター 辻冨月（つじさつき）学術研究員と環境総合リサーチ（株） 芝田直樹（しばたなおき）氏の研究グループは、2種のメダカを用いた水槽実験および野外調査によって、産卵行動によって放出された精子が水中の環境 DNA 濃度の一時的な急上昇を引き起こすことを明らかにしました。また、その増加量は放卵・放精を伴う産卵行動の回数にのみ影響を受け、見せかけの産卵行動である偽産卵（※2）の回数は反映しないことが示されました。これらの結果は、環境 DNA 分析が生物の分布調査だけでなく、産卵調査にも有用な技術となり得ることを示唆しています。本成果は、2020年10月19日に国際学術誌「Environmental DNA」電子版、Special Issue に掲載されました。

研究論文名：Identifying spawning events in fish by observing a spike in environmental DNA concentration after spawning

著者：辻冨月（山口大学）、芝田直樹（環境総合リサーチ(株)）

公表雑誌：Environmental DNA

公表日：10月19日（月）18時（日本時間）

研究成果の詳細

（背景）

魚類にとって繁殖は種や個体群の安定的な存続において最も重要なイベントのひとつで

す。なかでも、産卵行動に関する知見は種の保全・生物資源の維持管理に不可欠な情報と言えます。しかし、一般的な魚類の産卵調査で実施される親魚および卵の目視や捕獲調査は、多くの場合、地理的な制約や偽産卵（放卵・放精を伴わない見せかけの産卵行動）によるミスカウントが結果の信頼性の低下を引き起こすほか、捕獲時の物理的ダメージは親魚に大きな負担をかけてしまいます。そこで、魚類の産卵行動をモニタリングするための、より信頼性が高く、かつ非侵襲的な技術の登場が望まれます。

近年、非侵襲的な生物調査手法として環境 DNA 分析手法が広く利用されるようになり、種の分布推定や環境中の環境 DNA 濃度に基づく生物量推定の試みがなされています。また、環境中の環境 DNA 濃度は、対象生物の産卵期には明らかな上昇や日周変動がみられることが複数の先行研究によって報告されており、産卵調査への応用が期待されていました。しかし、この産卵期に関連した環境 DNA 濃度の上昇や変動は産卵行動に起因することが示唆されているものの、その主要因を実証した例はありませんでした。また、産卵行動前後における環境 DNA 濃度の変化量に着目することにより、産卵行動の有無だけでなくその相対的な量の違いも推定できる可能性が高いと考えました。

（研究手法）

本研究では、まず (1) キタノメダカ (*Orizias sakaizumii*) とミナミメダカ (*O. latipes*) 各 1 尾を雌雄の組み合わせを変えて水槽で交雑させました。産卵行動の前後における各種の環境 DNA 量を種特異的に定量し、オスまたはメス、どちらの種の環境 DNA 濃度が産卵行動の後に急上昇するかを検討しました。また、(2) 複数のオスのキタノメダカとメスのミナミメダカをひとつの水槽で飼育し、産卵行動の回数と産卵後のキタノメダカの環境 DNA 濃度をモニタリングしました。さらに、(3) 各種の野外生息地において、繁殖期と非繁殖期にそれぞれ産卵時間帯の前後で採水調査を行い、野外においても産卵行動に起因する環境 DNA 濃度の急上昇が観察されるかを検証しました。

（研究成果）

水槽で雌雄の組み合わせを変えて 2 種のメダカを交雑させたところ、どちらの組み合わせの場合でも、産卵行動の後にオス側の種の環境 DNA 濃度が急上昇し、オスの放精が産卵行動に関連する環境 DNA 濃度の急上昇の主要因であることが初めて実証されました(図 1)。さらに、複数のキタノメダカのオスとミナミメダカのメスをひとつの水槽で交雑させた場合、放卵・放精を伴う産卵行動の回数と産卵後の環境 DNA 濃度に有意な関係が認められました。一方で、一般的な目視観察法において産卵行動のミスカウントを引き起こす偽産卵（放卵・放精を伴わない見せかけの産卵行動）の回数は環境 DNA 濃度の増加に影響を与えないことが示されました。

野外調査では両種ともに繁殖期にのみ産卵時間帯の前後において環境 DNA 濃度の急上昇が観察され、産卵後には産卵前の 3~25 倍の濃度となりました。また、調査地点間にお

ける環境 DNA 濃度の増加量の違いは、調査時期や水温から想定される各調査地の相対的な産卵量の違いを反映している可能性が高いと考えられます。

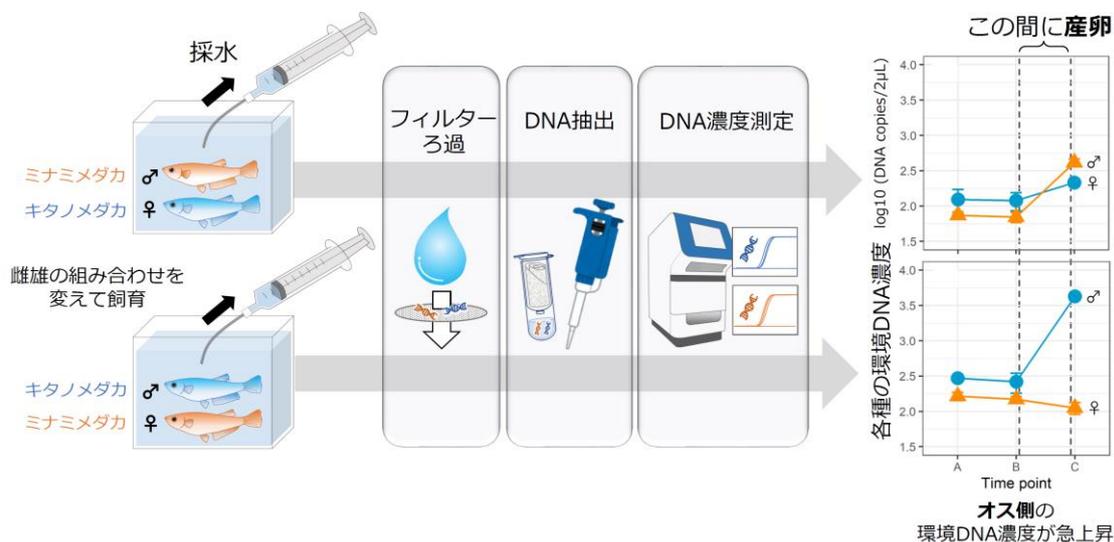


図 1, 放精に起因する環境 DNA 濃度の急上昇

(今後の展望)

本研究の成果は、産卵行動の前後における環境 DNA 濃度の急上昇を捉えることにより、環境 DNA 分析が生物の分布調査だけでなく、産卵調査にも利用可能であることを示しています。また、さらなる検証は必要であるものの、環境 DNA 分析は既存の目視や捕獲による産卵調査における産卵行動のミスカウントや侵襲性などの欠点を補い、より正確かつ非侵襲的に産卵行動の有無やその量を把握するための有用な観測技術となる可能性を秘めています。今後は、精子由来の環境 DNA の水中における動態などを明らかにすることで、環境 DNA 分析による産卵調査の精度を高めていく必要があります。

また、産卵調査への環境 DNA 分析の適用という本研究の主旨とは少し異なるものの、生息密度の低い希少種の検出において、対象種の環境 DNA 濃度が最大限に高まると考えられる繁殖期の産卵時間帯に調査を行うことにより、検出確率を向上させることができると期待できます。一方、対象の分類群に属する種を網羅的に検出する環境 DNA メタバーコーディングでは、優占的な種の繁殖期・産卵時間帯に調査を行うと大量のリードが消費されてしまい、生物量の少ない種を取りこぼす原因になりかねません。このように、本研究で示された繁殖期の産卵時間帯に対象種の環境 DNA 濃度が急上昇するという知見は、環境 DNA 分析による種検出に対しても重要な情報となります。

謝辞

本研究は、下記の研究助成を受けて行いました。

- ・日本学術振興会特別研究員奨励費（JP18J10088）
- ・日本学術振興会科研費（JP20K15578）

用語解説

1, 環境 DNA

生物が自身の生息環境中（水中や土壌中など）に放出した DNA 物質の総称。魚類の場合は、排泄物や粘液、表皮、精子などに由来する。

2, 偽産卵

本研究では、産卵行動の前半（追尾・求愛定位、求愛円舞、抱接）までを完了したものの、放卵・放精に至る前に雌雄が離れることを指す。

お問い合わせ先

山口大学環境 DNA 研究センター 辻冨月（つじさつき）

TEL : 0836-85-9317

HP : <http://cedna.kenkyu.yamaguchi-u.ac.jp/>