

[成果情報名] 遺伝情報を用いたカワウ胃内容物の同定方法の検討

[要 約] ミトコンドリア遺伝情報を用いてカワウ胃内容物に含まれる魚類の同定が可能であるかを検証したところ、肉片試料から遺伝情報が取得でき、魚類の同定が可能であった。このことから、カワウ胃内容物の同定法として上記手法が有効であることが示された。

[部 署] 山形県内水面水産試験場・資源調査部

[連絡先] TEL 0238-38-3214

[成果区分] 政

[キーワード] カワウ、胃内容物、ミトコンドリア、同定

[背景・ねらい]

近年、カワウの個体数増加と生息域の拡大により内水面漁業に大きな被害がでていとされる。カワウの胃内容物を解析することは、具体的な被害量および被害金額の推定に有効な手段であるが、消化により外部形態からの種同定が不可能であることが多い。そこで、胃内容中の肉片から DNA を抽出し、ミトコンドリア遺伝情報を用いてカワウ胃内容物中に含まれる魚類の同定を試みた。

[成果の内容・特徴]

1. 平成 27 年 10 月 4 日に相沢川で駆除されたカワウ 1 羽から胃を摘出し、99%エタノールで液浸固定を行った。
2. 固定後、胃を解剖したところ、アユ 2 尾が含まれていた。また、外部形態からは同定不可能な魚類 2 尾が含まれていた (図 1)。
3. 本未同定サンプル 2 尾を清浄なエタノールを用いて洗浄し、内部の筋肉サンプルから DNA を抽出した。比較対象として、アユ 2 尾からも同様に DNA 抽出を行った。なお、DNA の抽出には市販品のゲノム精製キットを使用した。
4. 3. で抽出した DNA をテンプレートにミトコンドリア DNA の CO I 領域をターゲットとして PCR を行った。CO I 領域は種判別に利用される標準的な領域の 1 つである。PCR 産物の精製は酵素反応を用いる市販品を利用し、塩基配列の解析は民間企業に委託した。なお、プライマーの配列、PCR 条件は日本バーコードオブライフ・イニシアチブの WEB サイト記載条件に従った (表 1、図 2)。
5. 得られた塩基配列を公開されたデータベース (mitoFish) と照合したところ、未同定のサンプルはコンタミネーション (他試料による汚染) が見られたが、部分的にウグイの配列と 71 塩基中 71 塩基一致した (100%一致、表 2)。次点は 95%一致でエゾウグイであったことから、未同定のサンプルはウグイと判断された。また、比較対象は外部形態での同定と異ならず、アユの配列と 470 塩基中 466 塩基一致した (95%一致)。次点は 85%一致で海産魚のアカヒメジであったため、アユのサンプルはアユとして判断された (表 3) ことから、カワウ胃内容物中に含まれる未同定サンプルの同定に、ミトコンドリア遺伝情報を活用した手法が有効であることが示された。

[成果の活用面・留意点]

1. 外部形態からの種同定が不可能であった場合に、補助的な手法として本成果を利用する。
2. 塩基配列の解析費用は 1 検体あたり約 350 円、PCR その他にかかる費用が約 450 円である。
3. 上記のウグイの例のように極微量の試料が対象に混入しただけでも、結果が不明瞭になるため、試料を採取するには汚染が無い部位を選択する、あるいは試料の洗浄等に留意する必要がある。

[具体的なデータ]



図1. カワウの胃から摘出したアユ（上：2尾）および同定不可能な小型魚（下：2尾）スケールは20 cm

PCR反応条件

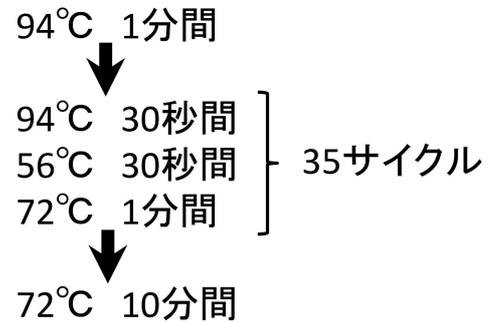


図2. PCRの反応条件（日本バーコードオブライフ・イニシアチブから参照）

表1. 用いたプライマー配列（日本バーコードオブライフ・イニシアチブから参照）

| プライマー名 | 塩基配列（5'-3'） |
|---------|----------------------------|
| LCO1490 | GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG |
| HCO2198 | TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA |

表2. 未同定サンプルの塩基配列

| 試料名 | ※得られた塩基配列（5'-3'） |
|-----------|---|
| 未同定サンプル_A | AGGGTGTGGTACTGGGAGATGGCTGGGGGTTTCATATTAAT |
| 未同定サンプル_B | AGGGTGTGGTACTGGGAGATGGCTGGGGGTTTCATATTAAT |
| ウグイの参照配列 | AGGGTGTGGTACTGGGAGATGGCTGGGGGTTTCATATTAAT |

※一部塩基配列を抜粋

表3. アユサンプルの塩基配列

| 試料名 | ※得られた塩基配列（5'-3'） |
|----------|---|
| アユサンプル_A | GACTGATCCCTCTGATGATCGGGGCCCCAGACATGGCCTTTCC |
| アユサンプル_B | GACTGATCCCTCTGATGATCGGGGCCCCAGACATGGCCTTTCC |
| アユの参照配列 | GACTGATCCCTCTGATGATCGGGGCTCCAGACATGGCCTTTCC |

※一部塩基配列を抜粋、アンダーバーがついた塩基は参照配列と一致しないことを示す

[その他]

研究課題名：カワウ・外来魚対策事業
 予算区分：県単
 研究期間：平成27年度（平成27年度）

研究担当者：鈴木悠斗
 発表論文等：発表予定なし