

近藤 倫生

学校法人龍谷大学 理工学部
准教授

環境 DNA 分析に基づく魚類群集の定量モニタリングと生態系評価手法の開発

§ 1. 研究実施体制

(1) 近藤グループ

- ① 研究代表者:近藤 倫生 (龍谷大学理工学部、准教授)
- ② 研究項目
 - ・環境 DNA による特定対象種の検出系の開発
 - ・環境 DNA の回収効率に関する水質条件の検討

(2) 源グループ

- ① 主たる共同研究者:源 利文 (神戸大学大学院人間発達環境学研究科、特命助教)
- ② 研究項目
 - ・海水からの効率的 DNA 回収法の開発
 - ・特定対象種の高精度 DNA 量評価手法の開発
 - ・環境 DNA の由来に関する研究

(3) 益田グループ

- ① 主たる共同研究者:益田 玲爾 (京都大学フィールド科学教育研究センター、准教授)
- ② 研究項目
 - ・生物分布・生物量の定量モニタリング技術
 - フィールド実証実験
 - 舞鶴湾における目視潜水調査と環境 DNA 量との対応の検証
 - 水槽実験
 - 水槽内における環境 DNA 量の偏在性の検証
 - 発電所温排水実験

温排水による局所的温暖化海域における魚類群集の検討

(4) 笠井グループ

①主たる共同研究者:笠井 亮秀 (京都大学フィールド科学教育研究センター、准教授)

② 研究項目

- ・環境 DNA を利用したスズキの生物量・分布評価の実証実験
- ・環境 DNA 情報を魚類定量情報へと「翻訳」する技術の開発

(5) 宮グループ

①主たる共同研究者:宮 正樹 (千葉県立中央博物館、動物学研究科長)

② 研究項目

- ・次世代シーケンサを用いた環境 DNA 分析法の確立と魚類ミトゲノム全長配列の網羅的決定
- ・魚類ミトゲノムデータベース *MitoFish* の開発・運用

§ 2. 研究実施の概要

本研究では、環境 DNA を活用した、三つの魚類モニタリング・管理技術の開発を目標に設定している。それぞれ、[目標1] 生物分布・生物量の定量モニタリング技術、[目標2] 魚類群集構造の種解像度モニタリング技術、[目標3] 非線形予測を応用した群集動態評価・予測技術の開発である。これらのうち、目標 1・2 は分子手法の開発、翻訳技術の開発、実証実験を組み合わせることで推進され、目標 3 は数理モデルを利用した理論的な研究が主となる。今年度は、個々の目標・課題について、以下の研究を実施した。

<近藤グループ>

主として目標1における課題「分子手法の開発」に関連して、研究設備の整備と、参加研究者の環境 DNA を用いた調査分析技術への習熟に時間をかけて取り組んだ。環境 DNA 試料はごく薄い試料であるために、その分析過程で分析器具だけでなく空間も使い分けるなどして必要がある。近藤グループは参加研究者が多いため、来年度以降の多量の試料の処理・分析を試料の汚染等なく進めるために実験上の注意点について入念なブリーフィングとトレーニングを繰り返した。また、特定対象種の検出系の開発では5種の海水魚を対象に検出系の設計に必要なDNAの塩基配列情報の収集と解析を行った。また、環境 DNA の回収効率に関する水質条件の検討では現在使用している濾過フィルタでの DNA 捕捉に強く影響すると考えられる水質項目について検討し、より効率の高い回収条件を明らかにした。

目標3における課題「生態系モニタリングのための統計的手法開発」に関連して、DNA の空間分布を基に生物量と分布の推定をおこなうための統計モデルの検討を行った。モデリングに必要な基礎的情報を得るために、新しく魚群探知機と環境 DNA 手法を併用した野外実験を行うことを立案した。また、同目標での課題「数理モデルによる環境 DNA を利用した群集把握」については、

CCM を利用した時系列データ解析に必要な研究環境を整え、国立台湾大と龍谷大のメンバーでの間の討議を経て、具体的な研究の進め方を決定した。

<源グループ>

源(神戸大学)グループでは、目標1における課題「分子手法の開発」に関連して、主に研究体制の整備と、海水からの効率的 DNA 回収法の開発、さけます環境 DNA の予備実験を行った。研究体制の整備では必要な機器類の設置と研究員の雇用準備等を行った。海水からの効率的 DNA 回収法の開発では、サンプル水から濃縮 DNA 溶液を得るまでに要する時間を従来の半分以下の 3 時間以内に短縮する事に成功し、来年度以降の研究をより効率的に進めることのできる体制が整った。さけます環境 DNA の予備実験では、ふ化場での採水サンプリングおよびフィルタリングを行い、来年度以降の解析に備えた。

<益田グループ>

目標1および目標2における課題「実証実験」として、[1] フィールド実証実験、[2] 水槽実験、[3] 発電所温排水実験に関連する以下の研究を行った。

[1] 目標1・2:フィールド実証実験「舞鶴湾における目視潜水調査と環境 DNA 量との対応の検証」京都府舞鶴湾において、毎月 2 回の潜水調査を行い、調査測線中に出現する魚類の種・体長および個体数を記録した。これと同時に、毎月 1 回、トランゼクトの中央付近で採水を行い、濾過した。これらサンプルから環境 DNA の抽出を行い、出現した魚類と環境水から検出される DNA との対応を調べてゆく。

[2] 目標1:水槽実験「水槽内における環境 DNA 量の偏在性の検証」水槽にマアジを収容し、1 週間静置したのち、表層・中層・底層からそれぞれ 1 リットルずつの採水を行い、濾過して環境 DNA の検出に供した。検出される環境 DNA 量は中層で安定し、表層と底層では極端に高い値が出やすく、ばらつきが大きいことが明らかになった。このことから、表層に漂う粘液と低層に滞留する糞とは、いずれも DNA 量が多く、定量系の構築には中層からの採水が適しているものと考えられた。

[3] 目標2:発電所温排水実験「温排水による局所的温暖化海域における魚類群集の検討」高浜原発から 2km の地点にある福井県高浜町音海において、毎月 1 回の目視潜水調査を行うとともに、海水を採取し濾過した。同原発は現在、稼働を停止しており、温排水は出ていない。再稼働した場合、南方系の業種が越冬することが予想されるため、目視および環境 DNA によるモニタリングを継続して行う。

<笠井グループ>

目標1における課題「実証実験」のうち「丹後海スズキ実験」として、環境 DNA を利用したスズキの生物量・分布評価の実証実験をおこなった。冬季にスズキ卵稚仔が出現する丹後海において、ネットサンプリングによりスズキ卵稚仔を採集するとともに、環境水を採集し、水中に含まれるスズキの DNA 量を分析した。スズキ稚魚密度と DNA 量の間には正の相関がみられた。

また、目標1における課題「翻訳技術の開発」に関連して、環境 DNA 情報を魚類定量情報へと

「翻訳」する技術の開発に必要な情報の観測を開始した。具体的には、舞鶴湾を含む丹後海において、水温・塩分・流速などの物理パラメータを、月に1回の頻度で観測している。

<宮グループ>

目標2における課題「分子手法の開発」および「実証実験(水族館実験)」をおこなった。次世代シーケンサを用いた魚類群集の定性的・定量的モニタリング法を確立するために、魚類環境 DNA 用ユニバーサルプライマーを開発し、多種の魚類の抽出 DNA から PCR 産物を増幅することに成功した。さらに、美ら海水族館の大水槽から得られた環境 DNA を用いた PCR 産物の増幅にも成功し、アダプターとインデックスを付加することにより、超並列シーケンス用ライブラリの作成にも成功した。また、得られた大量のシーケンスデータを解析するパイプラインがほぼ完成に近づいた。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

1

Akihiko Mougi and Michio Kondoh, “Instability of a hybrid module of antagonistic and mutualistic interactions”, *Population Ecology* vol. 56, pp.257-263, 2014 (DOI: 10.1007/s10144-014-0430-9)

2

Akihiko Mougi and Michio Kondoh, “Adaptation in a hybrid world with multiple interaction types: a new mechanism for species coexistence”, *Ecological Research*, vol. 29, pp113-119, 2014 (10.1007/s11284-013-1111-4)