

「海洋生物多様性および生態系の保全・再生に資する基盤技術の創出」
平成25年度採択研究代表者

H28 年度 実績報告書

近藤倫生

龍谷大学 理工学部
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 (龍谷大学)

- ① 研究代表者: 近藤 倫生 (龍谷大学理工学部、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
 - ・環境 DNA から種間相互作用を検出する技術、および生物定量をおこなう技術の開発

(2) 源グループ (神戸大学)

- ① 主たる共同研究者: 源 利文 (神戸大学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 (京都大学)

- 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(北海道大学)

①主たる共同研究者:笠井 亮秀 (北海道大学水産科学研究院、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(千葉県立中央博物館)

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

(6)荒木グループ(北海道大学)

① 主たる共同研究者:荒木 仁志 (北海道大学農学研究院、教授)

② 研究項目

- ・海洋における環境 DNA を利用した核 DNA 多型検出技術の開発
- ・環境 DNA 種内多型解析手法の開発と応用

§ 2. 研究実施の概要

<全体の概要>

本研究では、環境 DNA を活用した、[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・予測技術の開発を目標としている。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>

次世代シーケンサを活用した種組成・個体群レベルの推定手法を提案・公表した。これを舞鶴湾内で取得された環境 DNA メタバーコーディングデータに適用し、時系列データを得ることに成功した。また、個体群レベルの時系列データをもとに、種間相互作用やその強度、安定性の時間変動を推定する手法を開発した。さらに、笠井 G の作成した物理モデルを用いた統計モデルを構築し、舞鶴湾内の環境 DNA 濃度分布から湾内のマアジ個体数を逆推定する手続きを開発した。

<源グループ>

環境 DNA メタバーコーディングの野外での有用性を評価した結果、1日の調査で128種もの魚種を検出でき、野外でも確かに有用であることを示すことができた。また、より長い DNA 断片を用いることで、マアジの定量推定の精度が改善することを明らかにした。さらに、定量精度改善のための環境 DNA の由来や正体といった基礎情報の収集、他水域・多生物種への適用、実験条件の検討などを行った。

<益田グループ>

舞鶴湾全域100定点において、表層・中層・底層からの採水試料を環境 DNA 分析に供した。これらを計量魚群探知機で推定されるマアジ密度と比較している。また、京都府舞鶴湾では毎月2回、福井県高浜町音海では毎月1回、気仙沼市舞根湾では2ヶ月に1回の潜水目視調査を行い、出現する魚類の種数・体長・個体数を記録した。潜水中に調査測線上で採水し、環境 DNA の抽出を行った。その一部については DNA メタバーコーディング分析に供した。

<笠井グループ>

日本各地の沿岸域において、スズキ稚魚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。地域ごとにみると、スズキ稚魚密度と環境 DNA 量の間には正の相関がみられた。また、「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シミュレーションを行った。その結果、舞鶴湾のマアジ環境 DNA 濃度を、比較的高い精度で再現することができた。

<宮グループ>

カートリッジ封入型フィルターを用いた大量ろ過法と、このカートリッジを破壊せずに DNA を抽出する新たな手法を開発した (Miya et al. 2016)。この抽出 DNA を用いて同じ PCR を 8 回繰り返すことにより、事前に濃度が不明な魚類環境 DNA でも良好なライブラリを構築できる実験手法を確立した。また、データベース MitoFish 内に、魚類環境 DNA メタバーコーディングで得られた大量データを分析するツール MiFish 解析パイプラインを搭載し、一般の利用を可能にした。さらに、長崎県対馬・五島の海洋保護区設定に関する基礎データとなる魚類相データを提供することができた。

<荒木グループ>

サケ科魚類を対象種として環境 DNA を用いた生物量定量技術開発を行ってきた。この技術を基に、これまで使用してきたミトコンドリア DNA 由来の遺伝情報ではなく、より種内多型に関する情報量の多い核 DNA 由来の遺伝情報を環境水から検出する技術の開発を行った。本技術はまだその萌芽的段階にあるが、局所的かつ一時的に生物が局所分布するサケのような回遊性魚類においては、うまくそのピーク時を捉えることで、河川や海からも核 DNA 由来の遺伝情報を数リットル程度の環境水中より抽出可能であることを確かめた。

<主要論文>

Satoshi Yamamoto, Reiji Masuda, Yukuto Sato, Tetsuya Sado, Hitoshi Araki, Michio Kondoh, Toshifumi Minamoto, Masaki Miya, "Environmental DNA metabarcoding reveals local fish communities in a species-rich coastal sea", *Scientific Reports* vol. 7, pp. 40368, 2017.

Toshifumi Minamoto, Miho Fukuda, Koki R. Katsuhara, Ayaka Fujiwara, Shunsuke Hidaka, Satoshi Yamamoto, Koji Takahashi, Reiji Masuda, "Environmental DNA reflects spatial and temporal jellyfish distribution", *PLOS ONE*, vol. 12, No. 2, pp. E0173073, 2017

Masaki Miya, Toshifumi Minamoto, Hiroki Yamanaka, Shinichiro Oka, Keiichi Sato, Satoshi Yamamoto, Tetsuya Sado and Hideyuki Doi. "Use of a filter cartridge for filtration of water samples and extraction of environmental DNA". *Journal of Visualized Experiments*, No. 117, p. e54741, 2016