

「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

H29 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 准教授)
- 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生態・環境研究部 部長)

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

(7) 清野グループ(九州大学)

① 主たる共同研究者: 清野 聡子 (九州大学大学院工学研究院 准教授)

② 研究項目

- ・対馬暖流域における環境 DNA メタバーコーディングに基づく海洋保護区の設定とその管理に関わる研究

§ 2. 研究実施の概要

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>

開発した複数個体群時系列データをもとに、種間相互作用とその符号・強度、さらに群集の動的安定性を評価する手法を開発した。これを舞鶴湾における長期潜水観測データに適用し、種多様性が生物群集動態の安定性を高めることを発見、Nature にて学術論文として公表した。また、舞鶴湾内の環境 DNA 濃度分布から湾内のマアジ個体数を推定することに成功した。そのほか、時系列データ解析の新たな手法開発を行った。

<源グループ>

環境 DNA の放出、分解、サイズ分布に関する基礎的な知見を集積し、密度が高いほどあるいは水温が高いほど放出量が増えると同時に分解速度も高まること、時間経過とともにサイズ分布が変化することなどを明らかにした。これは定量精度を高める上で、また環境 DNA の由来や正体を知る上で重要な成果である。また、多魚種への適用、他水域や魚類以外の生物種への適用、開発した手法の普及活動などを行った。

<益田グループ>

舞鶴湾の 100 定点で採水した試料についてマアジとカタクチイワシの環境 DNA 分析を行い、これらの分布が魚群探知機のシグナルや既往の生態知見と一致することを明らかにした。マアジを用いた飼育実験では、個体レベルでの環境 DNA 放出量に顕著な変異のあることが示された。京都府由良川の沖合 35 km までの間で採水を行い、クロダイの環境 DNA の季節分布を明らかにした。再稼働した高浜原発近傍での潜水調査と採水を継続して行った。

<笠井グループ>

松川浦の感潮域～河川下流域において、ニホンウナギを採集するとともに環境水を採集し、水中に含まれる DNA 量を分析した。ニホンウナギ密度と環境 DNA 量の間には正の相関がみられた。堰がウナギの分布に大きく影響を及ぼしていることが示唆された。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」する技術の開発を進めた。その結果、舞鶴湾のマアジ資源量を推定するための環境 DNA のサンプリングに適した場所を特定することができた。

<宮グループ>

携帯用の採水・現場ろ過キットを開発し、2017 年夏に行われた全国一斉魚類相調査で用いた。

千葉中央博は、計 567 地点のうち 243 地点の採水・現場ろ過を担当し、質の高い環境 DNA サンプルを得ることができた。また、この調査で得られた大量データを処理するための新たな解析パイプラインを開発し、7000 万本以上の DNA 塩基配列を 3 時間余りで解析することに成功した。さらに、房総半島南端に 11 測点を設け、2017 年 8 月末から隔週サンプリングを開始した。年度内に計 15 回のサンプリングを終え、データの予備的解析を行ったところ、時空間の構造を反映した魚類群集の動態を明らかにできる見通しが立った。

< 荒木グループ >

環境 DNA を用いた生物量定量技術を基に、種内多型解析を目的とした核 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。その結果、濃度依存的ではあるが、地理的に離れた個体群間での集団特異的対立遺伝子頻度分布の検出は物理的に可能であることが分かってきた。

< 清野グループ >

対馬沿岸の魚類相のインベントリが充実しや分布特性の知見を得ることが出来た。海洋保護区の設定に有用な情報が得られた。水産有用種以外の小型魚や底生魚など生物多様性や生態系の全体像を把握できる可能性が開かれた。6 エリアから 150 種超が検出され、各エリアの特性が示された。磯焼けで混迷している漁村や地域行政の生物多様性の保全、持続可能な利用、沿岸域管理に有用な情報を提供できた。

< 代表的な原著論文 >

1. Masayuki Ushio, Chih-hao Hsieh, Reiji Masuda, Ethan R Deyle, Hao Ye, Chun-Wei Chang, George Sugihara, Michio Kondoh, "Fluctuating interaction network and time-varying stability of a natural fish community." *Nature* 554: 360-363, 2018.
2. Masayuki Ushio, Hiroaki Murakami, Reiji Masuda, Tetsuya Sado, Masaki Miya, Sho Sakurai, Hiroki Yamanaka, Toshifumi Minamoto, Michio Kondoh. "Quantitative monitoring of multispecies fish environmental DNA using high-throughput sequencing." *Metabarcoding and Metagenomics*, 2: e23297, 2018.
3. Toshiaki Jo, Hiroaki Murakami, Reiji Masuda, Masayuki K. Sakata, Satoshi Yamamoto, and Toshifumi Minamoto "Rapid degradation of longer DNA fragments enables the improved estimation of distribution and biomass using environmental DNA", *Molecular Ecology Resources*, col. 17, No. 6, pp. e25-e32, 2017