

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19281

研究課題名（和文）海底コアの環境DNAに基づく新しい漁業資源変遷史の復元法

研究課題名（英文）Reconstruction of marine fishery resource transitions using environmental DNA analysis of submarine cores

研究代表者

黒木 真理（Kuroki, Mari）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・助教

研究者番号：00568800

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：環境DNAに基づく漁業資源変遷史の復元法を開発するため、貧酸素海域の東京湾において採水、採泥、小型底曳網漁船による魚類採集の調査を実施し、環境DNA分析と採集調査による魚類相推定法を対照した。海水の環境DNA分析では、採集調査と比べて広範な分類群が検出され、希少種や外来種の存在も効率的に把握できることが明らかとなった。一方、軟骨魚類などの魚種に対しては環境DNAの検出力は低く、生息種をすべて検出することはできなかった。海底コアの環境DNA分析では、海底から数十cmの堆積層まで魚類のDNAが検出されたことから、東京湾の海底泥の堆積速度を考慮すると、環境DNAが長期間保存される可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

東京湾をモデル調査水域に選定し、魚類相の経年変化のデータベースと環境DNA分析の結果を対照した結果、高い検出力をもつ環境DNAは魚類相推定に有用な手法であることが明らかとなった。本手法を適用することで、調査船の大きな採集調査に費やす労力や費用を削減でき、種査定に専門知識や経験のない研究者でも応用可能なことから、学術的価値は高いと位置づけられる。また、環境DNA分析を適用することにより、これまで漁具を用いた採集調査で出現記録のなかった広範な分類群の魚類が網羅的に検出され、希少種や外来種の存在も効率的に把握できたことから、海洋生態系の保全管理にも役立つと考えられる。

研究成果の概要（英文）：To develop a method for reconstructing historical changes in fishery resources based on eDNA metabarcoding of sea sediment cores, sampling surveys were carried out to collect fishes with a beam trawl net, seawater, and bottom sediment cores in Tokyo Bay, where a long-term benthic ichthyofauna monitoring survey has been conducted. The eDNA metabarcoding detected about 90 fish taxa in the water samples, which is a greater number of species compared to the fish species collected during the 34-years trawling surveys. It was revealed that the pelagic fish and reef fish species were only detected by the eDNA metabarcoding, but the detection sensitivity of eDNA was low for cartilaginous fish. The eDNA of fish taxa was detected from the surface to a depth of several tens of centimeters of the sediment core, suggesting that eDNA might be preserved for a long time considering the sedimentation rate in Tokyo Bay.

研究分野：水圏生態学

キーワード：漁業資源 海底コア 環境DNA

1. 研究開始当初の背景

海の水産資源は、人類の食卓を豊かにしてきた。しかし、その種組成や資源量は年や季節、あるいは生物の生活史段階によって大きく変動する。こうした水産資源の動態を把握するためにこれまで調査船による定期的な採集調査が実施されてきた。しかし、海域ごとに異なる漁業資源を広範かつ永続的に調査することは容易でなく、長い時間スケールの変動傾向は掴み難い。正確かつ簡便に過去の魚類相の変遷過程と資源変動の歴史を推定する手法を開発することができれば、資源の将来予測に役立つと考えられる。

環境 DNA (eDNA) 分析は、環境水中や土壌に溶出・堆積した生物由来の DNA 断片を環境試料中から抽出・増幅し、その環境に存在する生物種や生物量を推定する手法で、近年は生態学や水産学の分野での活用が広がりつつある。これまで魚類については、河川や湖沼、内湾といった比較的閉鎖的な水圏環境で適用されているが、これらは現時点で生息している生物を対象としたものであり、時系列的な解析を試みた研究例はない。

一方、海底に降り積もった堆積物のコアは、地球環境を記録したバイオマーカーとして地質学や古生物学の分野で利用されており、数十年に亘って継続調査してきた魚類相のデータベースを新しい形で活用し、海底コアの eDNA と長年の魚類調査のデータを対照することができれば、新たな漁業資源変遷史を復元できる可能性がある。

2. 研究の目的

ある海域において魚類の種組成を明らかにするには、これまで魚網や釣りによる直接的な採集が必須であった。これには多くの時間と労力を要し、広範な海域での永続的な調査は極めて困難である。しかし、海底に降り積もって保存されている堆積物に残存する eDNA を抽出できれば、魚類を直接採集しなくてもその海域に生息する種や資源豊度を推定できる可能性がある。さらには、科学的調査のなかった古い時代や海域など、幅広い時空間的スケールにおいて、海底コアの eDNA からその時代・海域の魚種組成を読み解くことさえできる可能性をもつ。そこで本研究では、海底に堆積した地層のコアに残る eDNA を用いて、その海域に生息していた魚類の種組成および資源豊度の変遷史を復元するための新規の漁業資源時系列解析法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

長期に亘って同一手法で底生魚類を継続調査し、そのデータベースが現存する東京湾をモデル海域として、貧酸素海域である湾奥部から湾口部にかけて、小型底曳網漁船による魚類の採集 (20 地点)、採水 (10 地点)、採泥 (3 地点) の 3 つの調査を年に 2 回実施した (図 1)。

小型底曳網漁船で採集された魚類は、形態学的特徴に基づいて分類し、各種の採集個体数および湿重量を計測した。さらに、長期的な東京湾の魚類相について、1977~2017 年 (1996~2001, 2014 年を除く) の 34 年間に亘る小型底曳網による採集記録からデータベースを作成した。水試料については、ニスキン採水器を用いて各観測地点の海底より 1 m の水深から 2 L の海水を採取し、現場で速やかに濾過してガラス製のメンブレンフィルターで eDNA を捕捉後、RNA レターで保存した。泥試料については、海底表層はエクマンバージ採泥器、海底に堆積されたコアは不攪乱柱状採泥器 (HR 型) を用いて採取し、堆積層ごとに切り分けて、-80 度で冷凍保存した。

これらの eDNA 試料は研究室に持ち帰った後、常法に従って DNA の抽出を行った。抽出した DNA は魚類を対象としたユニバーサルプライマー-MiFish を用いて増幅し、次世代シーケンサー (MiSeq, Illumina) により分析した。得られた DNA 配列を既知のデータベースと比較することによって、網羅的な魚類相解析を行った。そして、eDNA 分析により検出された魚類の分類群と、魚類採集による長期モニタリング調査で得られたデータの比較を行い、両手法による出現種の組成と豊度について調べた。

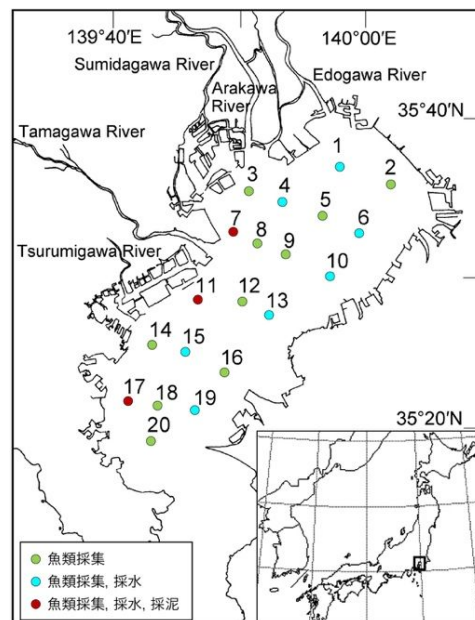


図 1 本研究における東京湾の調査地点

4. 研究成果

東京湾において夏季と秋季に調査を実施したところ、海水の eDNA 分析では夏季に約 30 分類群、秋季に約 90 分類群がそれぞれ検出された。一方、小型底曳網による採集調査では 34 年間で計 171 種の魚類が出現し、その種組成と個体数は年や季節によって大きく変化した。両者の分類群の重複率は、夏季は約 90%、秋季は約 60% で、eDNA 分析で検出された分類群のうち、夏季には約 30 分類群、秋季は約 50 分類群が採集調査により得られた。海水の eDNA 分析 による検出分類群をみると、砂泥域に生息するヒラメ *Bastard halibut* やシログチ *Pennahia argentata* などの底生性魚類のほか、カタクチイワシ *Engraulis japonicus* やコノシロ *Konosirus punctatus*、サツパ *Sardinella zunasi* などの表層性魚類、ハダカイワシ科やキンメダイ科などの中深層性魚類、ハゼ科やメバル科などの岩礁性の魚種など、広範な分類群が検出された。このなかには、希少種、外来種、過去に東京湾で採集された記録のない南方系の魚種も含まれており、eDNA 分析を適用することによって、こうした生息種の存在を効率的に把握できることが明らかとなった。一方、本研究で使用したユニバーサルプライマーでは、小型底曳網で多獲されたアカエイ *Dasyatis akajei* やツバクロエイ *Gymnura japonica* などの軟骨魚類に対する eDNA 分析の検出力は低く、東京湾に生息する魚類をすべて検出することはできなかった。検出された eDNA の分類群ごとのリード数と採集個体数・重量の間には、有意な相関は認められなかった。

海底表層泥の eDNA 分析の結果、海水試料と同様に、広範な分類群の eDNA を検出することができ、なかでも表層遊泳性魚類の eDNA が最も多く検出された。海底堆積コアの eDNA 分析結果によると、海底表層から少なくとも約 40 cm の堆積層まで魚類の eDNA が検出された。堆積層によって eDNA の検出数およびリード数にばらつきがあり、分析結果に関して精査が必要であるものの、東京湾における海底泥の堆積速度を考慮すると、貧酸素海域である東京湾の海底コアの eDNA が長期間保存される可能性が示唆された。

東京湾で実施した本研究では、小型底曳網漁船による魚類の採集調査と、海水・海底堆積泥の eDNA 分析により得られたデータを対照することにより、両者の違いを浮き彫りにすることができた。また、本海域で eDNA 分析を適用することにより、希少種や外来種の存在についても効率的に把握できたことから、海洋生態系の保全管理に有用な分析手法と考えられる。しかし、瞬時的に得られた海水や長期間堆積した海底コアの eDNA が、実際の東京湾における生息魚類の分布や豊度をどの程度正確に反映しているかについては、今後詳細に調べていくことが必要である。また、eDNA の検出精度および限界については、種や生活史段階ごとの行動生態や生理などの生物学的特性、海洋物理・化学環境など、さまざまな要因も考慮しなければならないため、まだ多くの課題が残る。さらに、遺伝子データベースの補強、ユニバーサルプライマーの改良、eDNA 動態の解明といった分析技術の進展により、魚類相の変遷過程と資源変動の歴史を推定するための新しい手法としての確立が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小林龍史, 児玉圭太, 堀口敏宏, 佐土哲也, 宮正樹, 山川卓, 黒木真理
2. 発表標題 東京湾における環境DNAメタバーコーディング法と漁獲調査による魚類相推定との比較
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水田颯生, 黒木真理, 佐土哲也, 宮正樹, 山川卓
2. 発表標題 都市型河川における外来種モニタリングへのeDNAメタバーコーディング手法の応用
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 児玉圭太, 黒木真理, 山川 卓, 清水 誠, 堀口敏宏
2. 発表標題 東京湾における底棲魚介類群集と環境因子の長期変動 (1977 ~ 2018年)
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水田颯生, 黒木真理, 山川卓
2. 発表標題 環境DNA分析を利用した多摩川水系におけるウナギ分布調査
3. 学会等名 環境DNA学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内 綾, 渡邊 俊, 山田祥朗, 岡村明浩, 堀江則行, 三河直美, 黒木真理, 沖野龍文, 三輪哲也, Michael J. Miller, 小島隆人, 塚本勝巳
2. 発表標題 環境DNAで探るニホンウナギ産卵生態の謎
3. 学会等名 環境DNA学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水田颯生, 黒木真理, 山川 卓
2. 発表標題 多摩川水系におけるニホンウナギの資源生態：環境 DNA による分布推定と形態
3. 学会等名 東アジア鰻学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kuroki, M.
2. 発表標題 Field surveys, research, and outreach activities for public awareness of the conservation of diadromous fishes
3. 学会等名 10th Indo-Pacific Fish Conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----