様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４ 年　６ 月 ２０ 日現在

機関番号：１６３０１
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2019～2021
課題番号：１９Ｈ０２２７６

研究課題名（和文）定量メタバーコーディングによる迅速で正確な種多様性評価：群集と環境DNAへの適用

研究課題名（英文）Quantitative Meta-barcoding for Rapid and Accurate Assessment of Species Diversity: Application to Community and eDNA samples

研究代表者
渡辺　幸三（Watanabe, Kozo）

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・教授

研究者番号：８０６３４４３５

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　13,300,000円

研究成果の概要（和文）：次世代シーケンシングを活用したDNAメタバーコーディングにより，河川底生動物の種多様性を正確かつ迅速に評価するための手法を検討した。DNAメタバーコーディングにより、種ごとの個体数や湿重量を相対的に評価できることを確認した。「河川水が伏流する砂州上流端の河床には多様な種の環境DNAが濃縮される」という仮説を検証した結果、砂州上流端、下流端、その中間地点の河床間隙水中の種多様性に有意な違いがないことが明らかになった。またこれら３地点では検出される種が大きく異なることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義
安価・迅速・正確な生態系モニタリングを実現させるために必要なDNAメタバーコーディング法の提案に繋がる重要な発見をいくつか実現した。DNAメタバーコーディングに必要なDNAデータベースの拡充にも大きく貢献した。河川水から抽出した環境DNAと採取した群集から抽出したDNAの違いや類似性を明確にすることで、今後のDNAメタバーコーディングを活用した生態系モニタリングのあるべき方向性を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：We explored a method to accurately and rapidly assess the species diversity of riverine benthic fauna by DNA metabarcoding utilizing next-generation sequencing, and confirmed that DNA metabarcoding can be used to assess the relative abundance and wet weight of each species. We tested the hypothesis that environmental DNA of a variety of species is enriched in the riverbed at the upstream end of a gravel bar where river water is submerged, and found no significant differences in species diversity in the porewater at the upstream end of the gravel bar, the downstream end, and the intermediate sites. The species detected at these three sites also differed significantly.

研究分野：応用生態工学

キーワード：河川　生物多様性　メタバーコーディング　底生動物

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

今日，河川生態系保全への社会的要請を受けて，河川水辺の国勢調査等の生物モニタリングが行われている。指標生物の一つである底生動物（カゲロウ，トビケラ等）の多くは幼虫であり，成虫に比べて形態学的に種が定義されていない分類群が多い。したがって，種ではなく，属や科レベルで粗く同定される分類群が多く残されており，真の種多様性が評価されていない（図１左）。また，従来の顕微鏡による形態学的な種同定は，作業時間の長さ（=人件費の増大）や誤同定等の問題も抱える。

この問題を解決する代替手段として，多くの種の DNA 配列が登録された DNA データベースに，解析対象個体の DNA 配列を照会して種名を同定する DNA バーコーディングが期待される。次世代シークエンシング解析（例，MiSeq＝約 100 万個の 600 塩基長の配列を 2 日で解読）と組み合わせると，全種網羅的な「メタ」バーコーディングが可能になる。群集標本から雑多な種の DNA（群集 DNA）を抽出し，PCR で全個体共通の DNA マーカー（約 100～600 塩基長）を増幅する。この時使う PCR プライマーに調査地点ごとのタグ配列（5～7 塩基）を加えると，各配列の帰属地点を認識できるため，多地点の群集 DNA をプールして一度に次世代解析できる。河川では魚類を中心に研究や業務事例が増えつつあるが，底生動物のメタバーコーディングの事例は世界的に少ない。

現在のメタバーコーディングには３つの技術的課題がある。１つ目の課題は，種同定の成否が DNA データベースの充実度に強く依存することである。魚類に比べて種数が圧倒的に多い底生動物は，DNA データベースに未登録の種も多いため，種を同定できない場合が多い。２つ目の課題は，各種の個体数の定量評価が困難な点である。次世代シーケンシング前に行う全個体共通 DNA マーカーの PCR 増幅により，個体数が少ない種の DNA も増幅されるため，解読配列数から個体数を推定しにくくなる。３つめの課題は，河川内の異なる生息場（例：瀬，淵，ワンド）に棲み分ける多様な種を網羅的に採取するのが困難な点である。さらに，貴重種・絶滅危惧種も調査する場合，採取に伴う殺傷や生息地攪乱も問題となる。生物の代わりに，河川水中に溶存する「環境 DNA」の活用が期待されるが，水中で希薄な底生動物等の小型種の DNA の検出は困難である。

２．研究の目的

次世代シーケンシングを活用した DNA メタバーコーディングにより，河川生物の種多様性を正確かつ迅速に評価する新規的技術を開発する。研究目的は以下３つである。

1. DNA メタバーコーディングの正確性を向上させるため，DNA データベース上の登録種数や DNA マーカー数を迅速に増やす次世代シーケンシングに基づく手法を開発する。
2. 従来は困難とされていた種ごとの個体数や湿重量の定量評価を可能にする「定量 DNA メタバーコーディング法」を開発する。
3. 「河川水が伏流する砂州上流端の河床には多様な種の環境 DNA が濃縮される」という仮説を検証し，砂州フィルタリング機能を活用した環境 DNA の高効率回収技術を開発する。

３．研究の方法

研究項目１　DNA データベースの拡充

申請者らが保管する 200 個体の昆虫標本を使って，DNA バーコーディングに良く用いられるマーカーの配列を解読して DNA データベースを拡充した。そして，全標本の全マーカーの PCR 産物を混合し，次世代シーケンサーで解読し，DNA データベースに登録した。全参画研究者は種同定済の水生昆虫標本（成虫・幼虫）を多く保有しているが，種数が不十分な分類群については新たに採取した。

研究項目２ 定量 DNA メタバーコーディング法の開発

まず，PCR を複数段階の PCR サイクル数（例：15・20・25・30 回）で行う。この際，各サイクル数の認識コード配列（6 塩基）をプライマーに付加して，解読される各 DNA 配列のサイクル数を認識する。そして，配列型ごとに深度の増殖曲線式を推定する。本手法の検証のため，配列既知の複数種の DNA を段階的濃度で混合した人工 DNA ミックスを準備し，その配列型の相対頻度を推定して再現性を確かめる。推定精度向上のため，マーカーごとに， PCR 条件（温度・試薬）や増幅曲線モデルの最適化も行う。

研究項目３ 砂州を活用した効率的な環境 DNA 回収技術の開発

源流～河口の複数の砂州を選び，各砂州の上・下流端で河床材料と河川水を採取する。採取した河床材料と表層水からそれぞれ環境 DNA を抽出して濃度定量する。比較のため，同じ場所で底生動物も採取して群集 DNA を抽出する。そして，環境 DNA（河床，表層水）と群集 DNA のメタバーコーディング解析を行い，砂州上流端河床から多様な種が検出されるかを検証する。各砂州の上下流端では，物理環境（流速等），水質，河床環境（河床粒径等）を調査する。また，砂州地形を GPS 測量し，NaCl トレーサーで砂州内の伏流・湧水量を推定する。

研究項目４　迅速・正確な種多様性の評価

四万十川と仁淀川で事例研究を行う。流域の源流～河口の 20 地点で，底生動物と環境 DNA（河床材料）を採取する。窒素・リン，水温，餌資源（粒状有機物，藻類），流速等の底生動物の生息に関係する環境項目も調査する。底生動物は，4 時間×２名/地点の十分な労力をかけてキックネット採取し，群集 DNA を抽出する。河床の環境 DNA は，項目３で明らかにされる最適環境条件の砂州上流端から採取する。

群集 DNA および環境 DNA の定量メタバーコーディングから推定される各種の相対個体数から，各地点の種多様性（α多様性）を表す種数とシンプソン指数，地点間の群集構造の違い（β多様性）を表す Bray-Curtis 非類似度指数をそれぞれ評価する。最後に，α，β多様性を上記で得た環境変数で説明する機械学習モデルを作成する。

４．研究成果

研究項目１　DNA データベースの拡充

申請者らが保管する 200 個体の昆虫標本を使って，DNA バーコーディングに良く用いられるマーカーの配列を解読した。生物試料とその塩基配列データ（18S rRNA、ヒストン H3、ミトコンドリア COI）を整理した。現時点までに収集した試料については、研究分担者の加藤が設立したウエブサイト「Japanese aquatic macroinvertebrate reference（http://www.b.s.osakafu-u.ac.jp/~mkato/J-amir_home.htm）」に公開した。昆虫標本から未記載種（新種）が双翅目から多く見つかったため，日本国内の複数個所で新たに水生昆虫のサンプリングを行い、種の形態学的な記載と共に DNA 塩基配列情報を取得して DNA データベースへの登録も行った。

研究項目２ 定量 DNA メタバーコーディング法の開発

リアルタイム PCR の原理を応用して， 深度の増殖曲線（PCR サイクル数と深度の関係）を定式化することで，鋳型 DNA 中の各配列型の初期頻度（∝相対個体数・相対重量）を推定した。まず，サンガーシークエンシングで COI 配列を解読した 4 種 20 個体（ハプロタイプ）を段階的濃度（0.01，0.05,0.10 ng/μL）で混合した人工群集サンプルを準備した。これら人工群集サンプルを対象に、12 段階の PCR サイクル数（20，24，28,・・・，56，60，64 ）でそれぞれミトコンドリア COI 領域を PCR 増幅した。この際，各サイクル数の認識コード配列（6 塩基）をプライマーに付加して，解読される各 DNA 配列のサイクル数を認識した。これらの PCR 産物を Miseq でアンプリコン解析を行い、メタバーコーディング解析を行った結果，低い濃度で混合したハプロタイプは PCR サイクル数を高めても検出されないことがわかった。また，高い PCR サイクルでは４種とも検出されたことに加えて，濃度を高めに混合した 14 ハプロタイプも正確に検出できることがわかった。最後に、Operationa Taxonomic Unit（OTU）ごとに深度の増殖曲線式を推定して，初期鋳型 DNA 中の各配列型の初期頻度を推定した結果，OTU によっては高い精度で推定できたが，そうではないものもあった。

研究項目３ 砂州を活用した効率的な環境 DNA 回収技術の開発

天竜川中流域に分布する３つの砂州を選び，各砂州の上流端（伏流地点），下流端（湧水地点），砂州中央部の３地点において河床間隙水と河床材料を３サンプルずつ採取した。環境 DNA のフィルタリング効果に対する河川流量の影響を見るために，調査流程の上流からのダム放流量が高い状態と低い状態で同様のサンプリングを行った。間隙水中に大型無脊椎動物がほとんど採取できなかったため，細菌を対象生物として，メタバーコーディング解析を行った。そして，間隙水を濾紙に越した

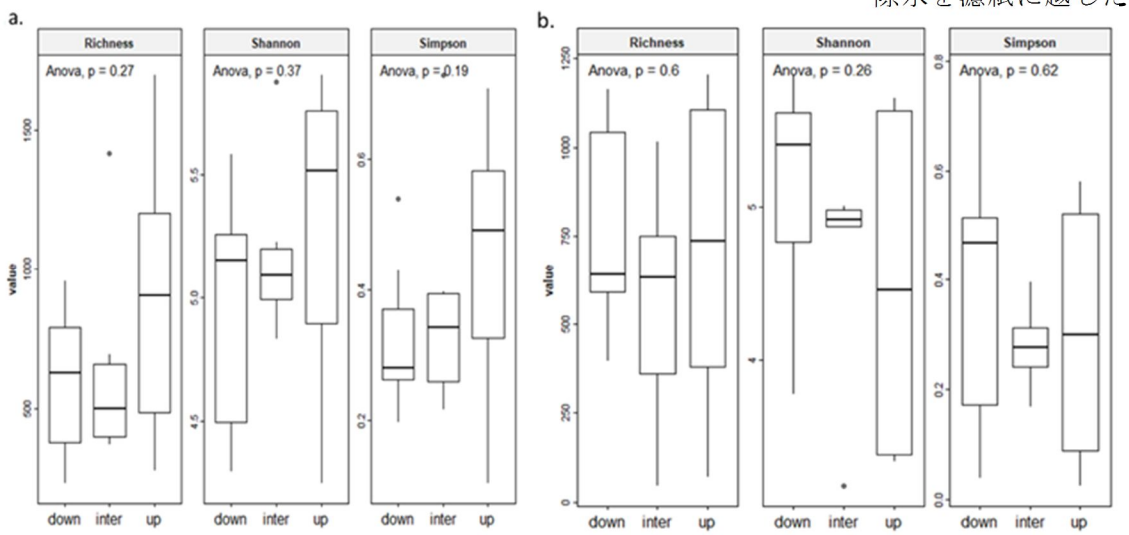

図１　砂州上流端（down），砂州中央部(inter)、砂州下流端（up）で検出された Amplicon sequence variants (ASVs)の数。左（a）と右（b）はダム放流量が低い状態と高い状態の結果。

試料から抽出した環境 DNA を対象に 16S rRNA 領域を対象とする細菌群集の DNA メタバーコーディング解析を行った。その結果、砂州上流端、下流端、その中間地点で大きくことなる種が検出されることがわかった。また、砂州の上流端で採取される環境 DNA から最も多様な種が検出されるという研究当初の予想に反して、上流端，下流端，砂州中央部の種多様性には有意な差がなかった。

項目４　迅速・正確な種多様性の評価

事例研究として高知県の四万十川と仁淀川の種多様性を評価した（図２）。河川水（環境 DNA）と底生動物群集（群集 DNA）を採取して，COI 領域を対象にメタバーコーディング解析を行った。概ね両者から同じ分類群が検出されたが，環境 DNA の方がより幅広い種が検出された。また環境 DNA の DNA メタバーコーディング解析結果で国際 DNA データベースと相同性が示された配列数は 767,839 配列中 43,525 配列であったが，422 分類群と多くの分類群が検出された．（1）底生動物の DNA メタバーコーディング解析により検出された 165 分類群と（2）環境 DNA の DNA メタバーコーディング解析により検出された 422 分類群及び，（3）形態同定により検出された 80 分類群の各階級（目，科，属，種）には，分類群の重複が多く見られた。

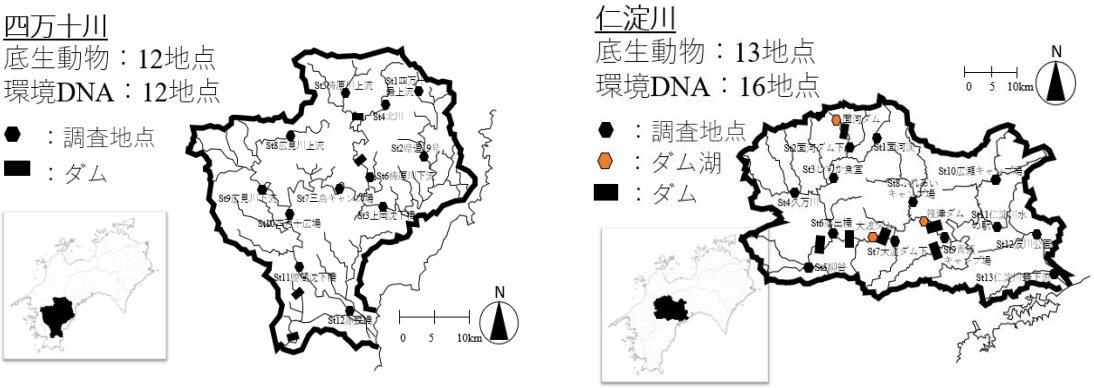

図２　高知県の四万十川と仁淀川の調査地点

環境 DNA の DNA メタバーコーディング解析は国際 DNA データベースのさらなる充実化によって，より網羅的な群集構造解明を可能とすることが示唆された．また，形態同定結果と DNA メタバーコーディング解析結果を比較すると DNA メタバーコーディング解析の方が下位階級まで同定する能力が高いことが分かった．一検体ずつ顕微鏡で同定を行うため労力を要し，なおかつ誤同定や科までの粗い同定にとどまることが多い形態同定と比較すると，費やす労力を抑えたうえで複雑な分類キーを有する水生昆虫なども種レベルの下位階級まで同定することができる．さらに，底生動物の DNA 配列数と個体数・乾燥重量のそれぞれの相関関係を比較すると下位階級の分類群で DNA 配列数と個体数より，DNA 配列数と乾燥重量との間により有意な正の相関が見られた．地点間の分類群数の違いは地点間の平均流速と平均水深によって主に説明されることが明らかになった。

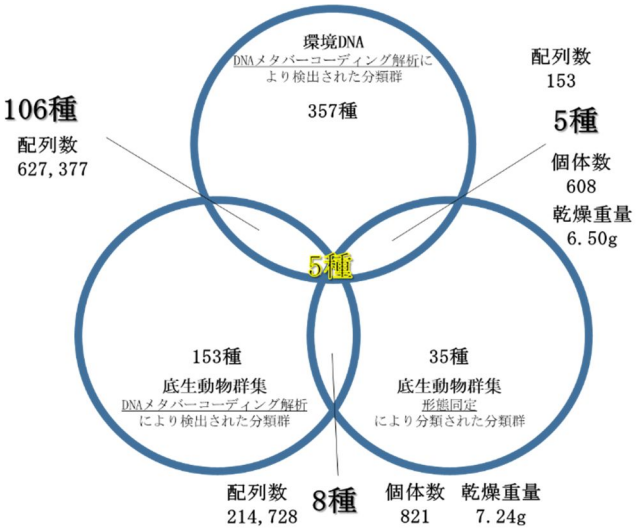

図３　環境 DNA と底生動物群集のメタバーコーディング解析でそれぞれ検出された種と底生動物群集の形態同定で検出された種の重複関係

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計16件（うち査読付論文　12件／うち国際共著　10件／うちオープンアクセス　12件）

１．著者名 Serrana Joeselle M.、Li Bin、Sumi Tetsuya、Takemon Yasuhiro、Watanabe Kozo	４．巻 66
２．論文標題 Profiling the microbial community structure and functional diversity of a dam‐regulated river undergoing gravel bar restoration	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Freshwater Biology	６．最初と最後の頁 2170～2184
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/fwb.13824	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Kolcscar Levente-P?ter、Paramonov Nikolai、Imada Yume、Kato Daichi、Gamboa Maribet、Shinoka Dai、Kato Makoto、Watanabe Kozo	４．巻 1083
２．論文標題 ?Notes on the taxonomic status and distribution of some Cylindrotomidae (Diptera, Tipuloidea), with emphasis on Japanese species	５．発行年 2022年
３．雑誌名 ZooKeys	６．最初と最後の頁 13～88
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3897/zookeys.1083.75624	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Serrana Joeselle M.、Li Bin、Sumi Tetsuya、Takemon Yasuhiro、Watanabe Kozo	４．巻 135
２．論文標題 Implications of taxonomic and numerical resolution on DNA metabarcoding-based inference of benthic macroinvertebrate responses to river restoration	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Ecological Indicators	６．最初と最後の頁 108508～108508
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ecolind.2021.108508	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Chiu, M-C, K. Nukazawa, T. M. Carvajal, V. H. Resh, B. Li, and K. Watanabe	４．巻 43 (12)
２．論文標題 Simulation Modeling Reveals the Evolutionary Role of Landscape Shape and Species Dispersal on Genetic Variation within a Metapopulation	５．発行年 2020年
３．雑誌名 Ecography	６．最初と最後の頁 1891-1901
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ecog.05118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Chiu, M-C, B. Li, K. Nukazawa, V. H. Resh, T. M. Carvajal, and K. Watanabe	4．巻 26 (12)
2．論文標題 Branching Networks Can Have Opposing Influences on Genetic Variation in Riverine Metapopulations	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Diversity and Distributions	6．最初と最後の頁 1813-1824
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ddi.13160	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Kolcsar, L-P, D. T. Nakamura, Kato, and K. Watanabe	4．巻 9
2．論文標題 Detailed Description and Illustration of Larva, Pupa, and Imago of Holorusia mikado (Westwood, 1876) (Diptera: Tipulidae) from Japan	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Biodiversity Data Journal	6．最初と最後の頁 e58009
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3897/BDJ.9.e58009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

1．著者名 Kolcsar, L. P., D. Kato, M. Gamboa, and K. Watanabe	4．巻 1000
2．論文標題 Revision of Japanese species of Nipponomyia Alexander, 1924 (Diptera, Pediciidae)	5．発行年 2020年
3．雑誌名 ZooKeys	6．最初と最後の頁 71-105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3897/zookeys.1000.55021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Kato, D., K. Watanabe, and L-P Kolcs?r	4．巻 999
2．論文標題 Synopsis of the genus Ulomorpha Osten Sacken, 1869 (Diptera, Limoniidae) in Japan	5．発行年 2020年
3．雑誌名 ZooKeys	6．最初と最後の頁 147-163
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3897/zookeys.999.52831	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Malison, R. L., B. K. Ellis, A. G. DelVecchia, H. N. Jacobson, B. K. Hand, G. Luikart, H. A. Woods, M. Gamboa, K. Watanabe, and J. A. Stanford	4．巻 101 (10)
2．論文標題 Remarkable Anoxia Tolerance by Stoneflies from a Floodplain Aquifer	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Ecology	6．最初と最後の頁 e03127
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ecy.3127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Li, B., S. Yaegashi, T. M. Carvajal, M. Gamboa and K. Watanabe	4．巻 10 (13)
2．論文標題 Detection of Adaptive Divergence in Populations of the Stream Mayfly Ephemera strigata with Machine Learning	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Ecology and Evolution	6．最初と最後の頁 6677-6687
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ece3.6398	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Mo, R-R., M Gamboa, K. Watanabe, G-Q Wang, W-H Li, D Yang, D Muranyi	4．巻 15(3)
2．論文標題 A Remarkable New Genus and Species of Nemourinae (Plecoptera, Nemouridae) from Sichuan, China, with Systematic Notes on the Related Genera	5．発行年 2020年
3．雑誌名 PLoS ONE	6．最初と最後の頁 e0229120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0229120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Muranyi, D., M. Gamboa, and K. Watanabe	4．巻 4718 (1)
2．論文標題 A New Species of Protonemura Kempny, 1898 (Plecoptera: Nemouridae) from the Ishizuchi Range, Shikoku, Japan	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Zootaxa	6．最初と最後の頁 57?66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11646/zootaxa.4718.1.4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1．著者名 Takahashi, S., Y. Takemon, T. Omura, and K. Watanabe	4．巻 n.a.
2．論文標題 Spatially Varying Trophic Effects of Reservoir-Derived Plankton on Stream Macroinvertebrates Among Heterogeneous Habitats Within Reaches	5．発行年 2019年
3．雑誌名 bioRxiv	6．最初と最後の頁 n.a.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijerph17051795	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

1．著者名 Serrana, J. M., N. Ishitani, T. M. Carvajal, B. J. M. Almarinez, A. T. Barrion, D. M. Amalin and K. Watanabe	4．巻 10 (11)
2．論文標題 Unraveling the Genetic Structure of the Coconut Scale Insect Pest (Aspidiotus rigidus Reyne) Outbreak Populations in the Philippines	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Insects	6．最初と最後の頁 374
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/insects10110374	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1．著者名 Takahashi Shinji、Takemon Yasuhiro、Omura Tatsuo、Watanabe Kozo	4．巻 849
2．論文標題 Spatially varying trophic effects of reservoir-derived plankton on stream macroinvertebrates among heterogeneous habitats within reaches	5．発行年 2022年
3．雑誌名 Hydrobiologia	6．最初と最後の頁 2503～2520
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10750-022-04866-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

1．著者名 Serrana, J. M., Y. Miyake, M. Gamboa and K. Watanabe	4．巻 101
2．論文標題 Comparison of DNA Metabarcoding and Morphological Identification for Stream Macroinvertebrate Biodiversity Assessment and Monitoring	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Ecological Indicators	6．最初と最後の頁 963-972
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ecolind.2019.02.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕　計23件（うち招待講演　4件／うち国際学会　18件）

1．発表者名 Joeselle M. Serrana and Kozo Watanabe
2．発表標題 Haplotype-level DNA metabarcoding from freshwater macroinvertebrate community samples
3．学会等名 1st DNAQUA International Conference: Biotic Indices & Metrics - New trends in bioassessment of aquatic ecosystems: from organisms to DNA-based metrics（国際学会）
4．発表年 2021年

1．発表者名 Kozo Watanabe
2．発表標題 Molecular Genetic Approaches to the Assessment of Dam Impact on Stream Macroinvertebrates and Dengue Virus Surveillance of Vector Mosquitoes
3．学会等名 47th Philippine Society of Biochemistry and Molecular Biology (PSBMB) Annual Convention（招待講演）（国際学会）
4．発表年 2020年

1．発表者名 Kolcsar L.P., Kato D. Watanabe K.
2．発表標題 Taxonomic Revision of Japanese Snow Crane Flies (Chionea, limoniidae): A First Step to Understand the Effect of Climate Change on Winter Active Insect
3．学会等名 5th International Conference on Climate Change 2021（国際学会）
4．発表年 2021年

1．発表者名 Nukazawa K., Chiu M-C., Kazama S., Watanabe K.
2．発表標題 Contrasting Adaptive Genetic Consequences of Stream Insects under Changing Climate
3．学会等名 5th International Conference on Climate Change 2021 (ICCC 2021)（国際学会）
4．発表年 2021年

１．発表者名 Chiu M. C, Watanabe K
２．発表標題 Elevational Patterns of Genetic Diversity in Riverine Populations in Japan
３．学会等名 5th International Conference on Climate Change 2021 (ICCC 2021)（国際学会）
４．発表年 2021年

１．発表者名 Kolcsar L.-P, Kato D., Watanabe K.
２．発表標題 Taxonomic Revision of Japanese Snow Crane Flies (Chionea, limoniidae): A First Step to Understand the Effect of Climate Change on Winter Active Insects
３．学会等名 5th International Conference on Climate Change 2021 (ICCC 2021)（国際学会）
４．発表年 2021年

１．発表者名 Joeselle M. Serrana and Kozo Watanabe
２．発表標題 Sediment-associated microbial community profiling: sample pre-processing through sequential membrane filtration for 16s rDNA amplicon sequencing
３．学会等名 Joint Meeting of the 3rd Annual Meeting of The eDNA Society and the 36th Annual Meeting of the Society of Population Ecology (Online)（国際学会）
４．発表年 2020年

１．発表者名 Joeselle M. Serrana, Kingsly Chuo Beng, Jusytna Wolinska, Kozo Watanabe and Michael T. Monaghan
２．発表標題 Recurrent seasonal dynamics of the planktonic eukaryotic communities in the polymictic eutrophic Lake M?ggelsee (Germany).
３．学会等名 Water and Environment Technology Conference 2020 Online (WET2020-Online)（国際学会）
４．発表年 2020年

１．発表者名 Arnelyn Doloiras-Larano,Maribet Gamboa, Shinji Takahashi, Joeselle Serrana Yasuhiro Tekemon, Paul R. Johnston, Michael T. Monaghan, and Kozo Watanabe
２．発表標題 Microbial community diversity across hyporheic zoes of gravel bars: taxonomic and fucntio nal metrics
３．学会等名 Water and Environment Technology Conference 2020 Online (WET2020-Online)（国際学会）
４．発表年 2020年

１．発表者名 稲井公二，脇村圭，渡辺幸三，加藤幹男
２．発表標題 高見川(奈良県)で採取した水生昆虫の次世代シーケンサーによる種判別
３．学会等名 陸水学会近畿支部会第32回研究発表
４．発表年 2021年

１．発表者名 Kozo Watanabe
２．発表標題 Molecular Approaches to the Study of Freshwater Biodiversity: Genomic Adaptation and DNA Metabarcoding.
３．学会等名 International Workshop of Water Quality Monitoring（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Ming-Chih Chiu, Kozo Watanabe
２．発表標題 Landscape shape predicts enclosed genetic variation within the metapopulation of a species with varied dispersal
３．学会等名 International Workshop of Water Quality Monitoring（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Joeselle Serrana, Bin Li, Tetsuya Sumi, Yasuhiro Takemon, Kozo Watanabe
２．発表標題 Sediment Microbial Diversity and Community Composition of Restored Gravel Bars in the Trinity River, California
３．学会等名 Philippine Society for Microbiology 48th Annual Convention（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Maribet Gamboa, Joeselle Serrana, Michael Monaghan, Yasuhiro Takemon, Kozo Watanabe
２．発表標題 Spatial and Phylogenetic Structure of DNA-species of Alpine Stoneflies Community Assemblages across Seven Habitats
３．学会等名 Water and Environment Technology Conference 2019 (WET2019)（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Arnelyn Doloiras-Larano, Gotoh Yusuke, Maribet Gamboa and Kozo Watanabe
２．発表標題 Genome-wide Transcriptome Analysis of stream stonefly along a climatic gradient in Japana
３．学会等名 Water and Environment Technology Conference 2019(WET(2019)（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Joeselle Serrana, Yo Miyake, Maribet Gamboa, Kozo Watanabe
２．発表標題 Comparison of DNA metabarcoding and morphological identification for stream macroinvertebrate biodiversity assessment and monitoring
３．学会等名 Pest Management Council of the Philippines 51st Anniversary and Annual Scientific Conference（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Maribet Gamboa, Maria Claret Tsuchiya, Shunsuke Yamano, Thaddeus Carvajal, Hisato Iwata, Kozo Watanabe
２．発表標題 Protein quantitative traits loci (pQTL) expression of the stonefly Nemoura ovocercia (Plecoptera) along nationwide region of Japan
３．学会等名 Evolution 2019（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Ming-Chih Chiu, Bin Li, Kei Nukazawa, Thaddeus Carvajal, Kozo Watanabe
２．発表標題 Species dispersal mediates opposing influences of a branching network on genetic variation in a metapopulation
３．学会等名 2019 Annual Meeting of the Society for Freshwater Science（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 Nukazawa K., Akahoshi K., Suzuki Y.
２．発表標題 Dynamics of stream environmental DNA focusing on transport, bacteria and particle size
３．学会等名 Asia Oceania Geosciences Society (AOGS) 16th Annual Meeting（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 八重樫咲子，細川大樹，渡辺幸三
２．発表標題 環境DNAバーコーディング解析を用いた河川水生昆虫の種多様性の解明：高知県四万十川を例として
３．学会等名 応用生態工学会第23回大会
４．発表年 2019年

１．発表者名 石谷直渡，八重樫咲子，Serrana，J.M.，Fernando，S.I.，渡辺幸三
２．発表標題 四万十川と仁淀川の環境DNA及び底生動物群集のメタバーコーディング解析
３．学会等名 応用生態工学会第23回大会
４．発表年 2019年

１．発表者名 石谷直渡，Serrana，J.M.，Carvajal，T.M.，Almarinez，B.J.M.，Barrion，A.T.，Amalin，D.M.，渡辺幸三
２．発表標題 フィリピンのココヤシ寄生虫と寄生バチの2種間に生じる遺伝学的相互作用の解明
３．学会等名 2019年度土木学会四国支部第25回技術研究発表会
４．発表年 2019年

１．発表者名 Maribet Gamboa，Michael Monaghan，竹門康弘，渡辺幸三
２．発表標題 7つのハビタットにおけるカワゲラのDNA種の空間構造および系統発生構造の推定
３．学会等名 第２１回カワゲラ懇談会・第444回水生昆虫談話会報告
４．発表年 2019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
研究分担者	加藤　幹男 (Kato Mikio) (30204499)	大阪府立大学・高等教育推進機構・教授 (24403)	

６．研究組織（つづき）

	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
研究分担者	竹門　康弘 (Takemon Yasuhiro) (50222104)	京都大学・防災研究所・准教授 (14301)	

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関