

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K06187

研究課題名（和文）外来珪藻ミズタクチビルケイソウの環境DNAによる早期検出法の確立

研究課題名（英文）Establishment of an early detection method by the environmental DNA of the alien diatom *Cymbella janischii* in Japan

研究代表者

鷓木 陽子（加藤陽子）（Kato-Unoki, Yoko）

九州大学・工学研究院・学術研究員

研究者番号：10380560

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：外来種ミズタクチビルケイソウ（*Cymbella janischii*）を環境DNAから特異的に検出する分析系を開発し、特許（特願2023-170652）を出願した。本検出法は、顕微鏡観察よりも優れ、石に付着する珪藻からだけでなく、河川水からも高感度に検出が可能であり、実際の存在量とおよそ相関することを確認している。

最終年度には、国際学会2件の発表を行い、また、日本水産学会秋季大会では、研究会「河川の異変 - 外来種ミズタクチビルケイソウの問題と最新知見 -」を企画・開催し、最前線の研究知見を紹介するとともに、今後の求められる対策と研究展開についての議論を深めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

河川内で本種の群生を目視で確認できる時には、既に大量に増殖している状態である。本検出法は侵入初期の早期発見とモニタリングに特に有効であり、河川利用者（漁協）や管理側での利活用に貢献することが期待される。さらに、今後河川水辺の国勢調査で環境DNA解析が本格的に取り入れられる場合には、国土全体での監視も可能になるものと期待される。

また、在不在の情報から、本種の生態、繁茂する河川の特性の解析などへの研究展開も可能になるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：We developed specific detection assays for an exotic diatom species, *Cymbella janischii*, from environmental DNA in Japan and applied it to a patent. These detection assays are capable of detecting *Cymbella janischii* from the benthic diatom on the stone as well as from river water with high sensitivity, and has been confirmed to correlate approximately with the actual amount of this species in rivers.

In the final year of the project, we made presentations at two international conferences and organized and held a workshop, "Riverine Anomalies - Problems and Latest Findings of an Alien Species, *Cymbella janischii*," at the autumn meeting of the Japanese Society of Fisheries Science to introduce front-line research findings and deepened discussions on future required measures and research development.

研究分野：環境DNA、水圏生命科学、生態学

キーワード：外来種対策 ミズタクチビルケイソウ 環境DNA 特異的検出 特許

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ミズワタケチビルケイソウ (*Cymbella janischii*) は、近年日本に侵入した外来珪藻である。大量発生すると川底の石を覆い尽くすことから景観を損なうだけでなく、アユの漁場被害など生態系への影響が懸念されている。拡散を防止するには視覚的検出が困難な初期侵入時でも検出可能な系を確立して、分布河川を把握するとともに、持ち出さない・持ち込まない事が重要である。検出法としては高感度な環境 DNA 検査が有効と考えられるが、国内本種の遺伝子配列さえまだ調べられていない。そこで本研究では、国内本種の遺伝子配列を決定し、早期検出法を確立することを目的とした。

2. 研究の目的

ミズワタケチビルケイソウは、近年日本に侵入した外来珪藻であり、急速にその分布を拡大している。大量発生すると川底の石を覆い尽くすことから、景観を損なうだけでなく生態系への影響が懸念されており、アユの漁場被害との関連性も既に報告されている。本種の対策をする上で、1) 環境 DNA により、視覚的検出が困難な初期侵入時でも検出可能な系を確立して、分布河川の把握と拡散を防止し、さらに、2) 生態・生理学的特性を解明し、駆除や対策方法を確立する事が必要である。そこで本研究では、上記(1) について国内本種の 遺伝子配列を決定し、環境 DNA による早期検出法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 地理的に異なる国内 6 箇所 (福島、群馬、東京、山梨、静岡、大分) の遺伝子 (5 遺伝子座、計 6,526 塩基対) を解析して、日本に侵入したミズワタケチビルケイソウの遺伝子配列を確立した。また、不足する配列情報を補うために、次世代シーケンスによって葉緑体の全長配列も取得した。

(2) 得られた配列を基に、本種を特異的に検出できる PCR プライマーとプローブを設計し、在・推定不在の計 12 河川の環境 DNA から本種を検出できることを確認した。

4. 研究成果

上記方法 1 により、日本に侵入した本種の遺伝子配列は、解析したサンプルは全て同一であり、原産国の配列と極めて類似していることが明らかとなった。この結果から、国内の本種は近年原産国から侵入し、急速に拡散したと推察された (図 1)。この成果については、論文:

“Genetic evidence for the invasion of *Cymbella janischii* (A. Schmidt) De Toni, 1891 in Japan”, *BioInvasions Records* (DOI: 10.3391/bir.2022.11.2.14) で報告をした。

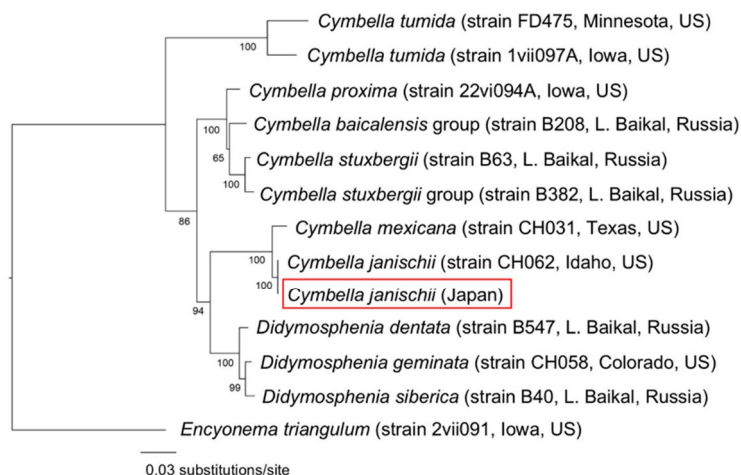


図 1 (Kato-Unoki ら, 2022. Figure 2 より)

Figure 2. Maximum likelihood (ML) tree based on five genes (28S, 18S, *rbcL*, *psbA*, and *psaB*) of *Cymbella janischii* in Japan and its country of origin (Idaho, US), and of related species. Numbers on branches indicate ML bootstrap values. Strain number and origin are shown in parentheses.

次に、方法 1 により得られた配列を基に本種を環境 DNA から特異的に検出するジェノタイプング (分析系) を複数開発し、これについて特許 (特願 2022 - 158624 , 特願 2023-170652) を出願した。

在・推定不在の計 12 河川で検出精度を確認したところ、本検出法は、顕微鏡観察よりも優れ、石に付着する珪藻からだけでなく、河川水からも高感度に検出が可能であり、実際の存在量とお

よそ相関することを確認した(図2)。検出法の開発と付着珪藻での成果については論文: “Development of specific detection assays from environmental DNA of invasive diatom *Cymbella janischii* in Japan”, *Limnology* (DOI: 10.1007/s10201-024-00751-y)に報告した。

Fig. 3 Abundance of *C. janischii* detected by microscopic observations and qPCR. **a** Frequency of *C. janischii* occurrence (%) in benthic samples confirmed by microscopic observation. ND shows no detection. **b** Amount of *C. janischii* DNA in environmental DNA (copies/ng) extracted from benthic samples. CM is the Control-CM as a negative control. Dotted line indicates limit of quantification

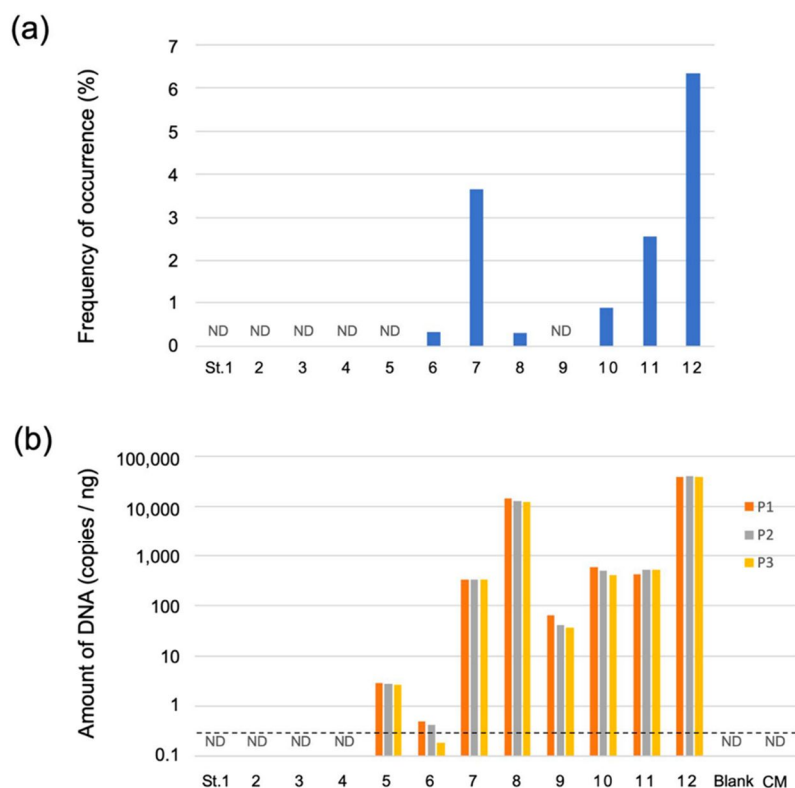


図2 (Kato-Unoki ら、2024. Fig. 3 より)

最終年度には、国際学会2件の発表を行い、また、日本水産学会秋季大会にて、研究会「河川の異変 - 外来種ミズタケチビルケイソウの問題と最新知見 -」を企画・開催し、最前線の研究知見を国内外に紹介するとともに、今後の求められる対策と研究展開についての議論を深めた。なお、研究会には、研究機関以外に、釣り人、漁協、水産行政系、環境コンサルタント・アセス会社、メディア、一般企業、アウトドアメーカーなど計129名が参加し、本種の問題への関心の深さを知ることができた。

総括) 河川内で本種の群生を目視で確認できる時には既に大量に増殖している状態であることから、本検出法は侵入初期の早期発見とモニタリングに有効であり、河川利用者(漁協)や管理側での利活用に貢献することが期待される。さらに在不在の情報から、今後は本種の生態、繁茂する河川の特性の解析へ研究を発展させることが可能であり、本種の管理・対策、ひいては侵入外来種に強い河川への再生につながることを期待している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kato-Unoki Yoko, Kurihara Akira, Kuge Toshihiro, Shimasaki Yohei, Suzawa Yuzuru, Mayama Shigeki	4. 巻 11
2. 論文標題 Genetic evidence for the invasion of <i>Cymbella janischii</i> (A. Schmidt) De Toni, 1891 in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BioInvasions Records	6. 最初と最後の頁 409 ~ 415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3391/bir.2022.11.2.14	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 Nagisa Mayama, Shigeki Mayama	4. 巻 36
2. 論文標題 A simple method for making transverse cleavages of diatom frustules for scanning electron microscopy and its application	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diatom Research	6. 最初と最後の頁 305-311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/0269249x.2021.1986137	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 久下敏宏・山下耕憲・新井肇・栗原暁・鶴木(加藤)陽子	4. 巻 25
2. 論文標題 群馬県におけるミズワタクチビルケイソウの分布	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 群馬県水産試験場研究報告	6. 最初と最後の頁 1-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 洲澤謙・鶴木(加藤)陽子	4. 巻 35
2. 論文標題 外来種ミズワタクチビルケイソウの出現の現状と環境DNAによる早期検出の試み	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diatom	6. 最初と最後の頁 95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 真山茂樹	4. 巻 35
2. 論文標題 珪藻-明日に架ける橋	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diatom	6. 最初と最後の頁 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kato-Unoki Yoko, Mayama Shigeki, Kurihara Akira, Minamoto Toshifumi	4. 巻 25
2. 論文標題 Development of specific detection assays from environmental DNA of invasive diatom <i>Cymbella janischii</i> in Japan	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Limnology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10201-024-00751-y	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 -

1. 著者名 鷓木陽子	4. 巻 39
2. 論文標題 研究会「河川の異変 -外来種ミズタクチピルケイソウの問題と最新知見」の開催報告	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Diatom	6. 最初と最後の頁 56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 鷓木陽子	4. 巻 90
2. 論文標題 懇話会ニュース 日本水産学会水産環境保全委員会: 特異的検出法の開発とモニタリングから得た知見	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nippon Suisan Gakkaishi	6. 最初と最後の頁 156-159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 真山茂樹	4. 巻 90
2. 論文標題 懇話会ニュース 日本水産学会水産環境保全委員会: はじめに	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nippon Suisan Gakkaishi	6. 最初と最後の頁 156-157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 鶴木(加藤)陽子, 真山茂樹, 栗原 暁, 清野聡子, 源 利文
2. 発表標題 環境水からの外来種ミズワタクチビルケイソウの特異的検出
3. 学会等名 環境DNA学会「あなたが主役のワークショップ」
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鶴木(加藤)陽子(九大院農)・真山茂樹(東京学芸大教)・栗原 暁(九大院農)・清野聡子(九大院工)・源 利文(神戸大院発達)
2. 発表標題 外来種ミズワタクチビルケイソウ検出法の開発
3. 学会等名 令和4年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鶴木(加藤)陽子
2. 発表標題 外来種ミズワタクチビルケイソウの出現の現状と環境DNAによる早期検出の試み
3. 学会等名 日本珪藻学会公開シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoko Kato-Unoki, Tamie Suzawa, Akira Kurihara, Yuta Takahashi, Toshifumi Minamoto, Yoshitsugu Masuda, Jun-ichi Tsuboi, Satoquo Seino, Shigeki Mayama
2. 発表標題 The nuisance invasive species <i>Cymbella janischii</i> in Japan: knowledge from studies and monitoring
3. 学会等名 The 26th International Diatom Symposium (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 3.Yoko Kato-Unoki, Tamie Suzawa, Tran Thu Trang, Yoshitsugu Masuda, Jun-ichi Tsuboi, Satoquo Seino
2. 発表標題 Distribution analysis of the invasive diatom <i>Cymbella janischii</i> using environmental DNA from benthic diatoms in river systems
3. 学会等名 The eDNA Society International Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鶴木陽子
2. 発表標題 特異的検出法の開発とモニタリングから得た知見
3. 学会等名 2023年度日本水産学会秋季大会水産環境保全委員会研究会「河川の異変 -外来種ミズタクチビルケイソウの問題と最新知見」
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 真山茂樹
2. 発表標題 はじめに
3. 学会等名 2023年度日本水産学会秋季大会水産環境保全委員会研究会「河川の異変 -外来種ミズタクチビルケイソウの問題と最新知見」
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 ミズワタクチビルケイソウの特異的検出	発明者 鷗木陽子	権利者 九州大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-158624	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ミズワタクチビルケイソウの特異的検出	発明者 鷗木陽子	権利者 九州大学
産業財産権の種類、番号 特許、2023-170652	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

ミズワタクチビルケイソウが外来侵入種であることを証明 https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/770/ Researchgate https://www.researchgate.net/profile/Yoko-Kato-Unoki/research Researchmap https://researchmap.jp/Unoki45/?lang=japanese
--

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	真山 茂樹 (Mayama Shigeki) (40199914)	東京学芸大学・教育学部・名誉教授 (12604)	
研究分担者	栗原 暁 (Kurihara Akira) (00399817)	九州大学・農学研究院・助教 (17102)	

	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
研究協力者	久下 敏宏 (Kuge Toshihiro)	久下水産技術士事務所	

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
研究協力者	洲澤 譲 (Suzawa Yuzuru)	(有) 河川生物研究所	
研究協力者	洲澤 多美枝 (Suzawa Tamie)	(有) 河川生物研究所	

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