

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K14899

研究課題名（和文）環境DNAによる海産魚類の分布推定技術の確立と季節変化のモニタリング

研究課題名（英文）Development of environmental DNA technology for estimating the distribution of marine fishes and monitoring its seasonal changes

研究代表者

村上 弘章（Murakami, Hiroaki）

東北大学・農学研究科・助教

研究者番号：60880721

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：舞鶴湾に400 m間隔に設置された100地点それぞれの表層・中層・底層からの環境DNAサンプルを用いて、マアジとカタクチイワシのミトコンドリアの短鎖、長鎖、核領域（ITS1）の3つのマーカーそれぞれに関して、リアルタイム定量PCRを行った。マアジの短鎖eDNA濃度は、西湾では表層、東湾では底層が高く、カタクチイワシでは、全湾において表層が多かった。これらの特徴的な鉛直分布は、魚群探知機で推定される両種のそれとよく一致した。また、東湾のみのデータと比較すると魚群探知機と正の相関を示した。さらに、eDNAを検出するマーカーの違いによって、分布や濃度の違いが全く異なることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水産資源の持続的な利用のためには、その資源量や分布を正確に把握することが不可欠である。環境DNAは、従来の手法に比べ低労力で、環境にやさしい手法である。

本研究では、マアジとカタクチイワシという水産重要種の湾内の鉛直分布を本手法で推定できることを明らかにし、また水平方向の分布も市場のノイズや魚の生態を考慮した上で行うことの重要性を示した。今後、本手法を持ちいた水産資源の詳細な分布の解明やその資源量の推定において、その有効性と課題点を検証することができた。

研究成果の概要（英文）：We quantified environmental DNA (eDNA) concentration of jack mackerel and Japanese anchovy in 100 points placed at 400 m intervals in Maizuru Bay. The sampling layers were surface, middle, and bottom, and the eDNA markers were short-DNA, long-DNA in mitochondria DNA, and nuclear DNA (ITS1).

The eDNA concentration of short-DNA of jack mackerel was high in the surface layer in the west Bay and the bottom layer in the East Bay and was high in the surface layer in all bays for Japanese anchovy. These characteristic vertical distributions matched well with those of both species estimated by the echo sounder. In addition, there was a positive correlation between the echo intensity and eDNA in the east bay. Furthermore, the difference in the distribution and concentration of eDNA is shown on the markers for eDNA.

研究分野：環境DNA

キーワード：環境DNA マアジ カタクチイワシ 魚類生態学 魚類多様性 水産資源 分布推定 リアルタイム定量PCR

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

環境 DNA は生物から環境中に放出された DNA の総称である。近年、環境 DNA は生態調査に利用されつつあるが、海洋での応用例は少なく、その精度は十分ではない。その原因として、海洋独特の複雑な流れに起因する分散に加えて、魚市場や家庭の排水等に含まれる高濃度の DNA がノイズになることが挙げられる。そのため、複数種の DNA マーカーを対象とした解析が必須である。

### 2. 研究の目的

通常、環境 DNA の検出はミトコンドリア DNA の 100 塩基対前後の短い領域を対象にしているが、本研究では、同時に複数の DNA 領域を検出することで、舞鶴湾のマアジとカタクチイワシの分布推定の精度を高め、それらが水温や塩分といった要因にどのように影響されるかを検証する。また、舞鶴湾全域の多魚種の環境 DNA 濃度の分布を季節的に調べることで、魚種別の水平・鉛直分布の変化と湾内への加入時期を明らかにする。以上により、環境 DNA を海産魚の分布、生息場の移動の指標として実用するための基盤を構築する。

### 3. 研究の方法

本研究課題に取り組む前に、舞鶴湾に 400 m 間隔に設置された 100 定点それぞれの表層・中層・底層からの環境 DNA (eDNA) 解析用のサンプリングを行った。調査では、多項目水質計を用いた水温、塩分等の環境項目の計測と、計量魚群探知機での魚種の反射強度も測定した。

上記の環境 DNA サンプルを用いて、マアジとカタクチイワシのミトコンドリアの短鎖、長鎖、核領域 (ITS1) の 3 つのマーカーそれぞれに関して、リアルタイム定量 PCR を行った。

### 4. 研究成果

まず、水温の水塊構造と地形的特徴から、舞鶴湾は西湾と東湾に分けられることが判明した。そのサンプルを用いて、マアジとカタクチイワシという水産重要種で舞鶴湾に優占する両種のミトコンドリアの短鎖、長鎖、核領域 (ITS1) の 3 つのマーカーそれぞれに関して、種特異的プライマーと TaqMan プローブ法を用いたリアルタイム定量 PCR を行った。

その結果、マアジの短鎖 eDNA 濃度は、西湾では表層、東湾では底層が高く、カタクチイワシでは、全湾において表層が多かった。これらの特徴的な鉛直分布は、魚群探知機で推定される両種のそれとよく一致した (図 1)。さらに、市場からの排水由来と考えられる両種の eDNA の大量放出のノイズが影響する西湾を除いた東湾のみのデータとを比較すると魚群探知機と正の相関を示した。一方で、カタクチイワシでは全湾において相関を示さなかった。

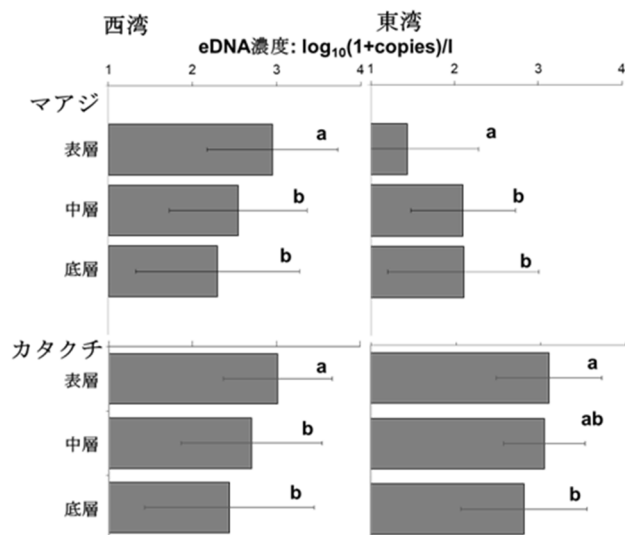


図 1. 舞鶴湾の西湾と東湾におけるマアジとカタクチイワシの水  
深別の eDNA 濃度 ( $p < 0.05$ , Tukey's HSD test)。

マアジの水平方向で eDNA 濃度と魚探が相関した理由は、6月の時期は、魚群探知機で検出した稚魚サイズが湾内に優占する一方、カタクチイワシは、多回産卵のため魚群探知機で検出することができない、生まれて間もない仔魚も湾内に優占したためと考えられる。

次に、両種の長鎖 eDNA 濃度を調べた結果、短鎖よりも eDNA 濃度は低く検出され、また、カタクチイワシでは東湾では、底層の方が高い傾向が示された。核 DNA 濃度は、平均して短鎖の 100 倍近く高いことが判明した。このことから、eDNA を検出する際の対象の DNA マーカーの違いによって、分布や濃度の違いが全く異なることが示された。

本研究では、マアジとカタクチイワシという水産重要種の湾内の鉛直分布を本手法で推定できることを明らかにし、また水平方向の分布も市場のノイズや魚の生態を考慮した上で行うことの重要性を示した。今後、本手法を用いた水産資源の詳細な分布の解明やその資源量の推定において、その有効性と課題点を検証することができた。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Murakami Hiroaki, Masuda Reiji, Yamamoto Satoshi, Minamoto Toshifumi, Yamashita Yoh	4. 巻 88
2. 論文標題 Environmental DNA emission by two carangid fishes in single and mixed-species tanks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 55 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12562-021-01565-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 Sasano Sachia, Murakami Hiroaki, Suzuki Keita W., Minamoto Toshifumi, Yamashita Yoh, Masuda Reiji	4. 巻 88
2. 論文標題 Seasonal changes in the distribution of black sea bream <i>Acanthopagrus schlegelii</i> estimated by environmental DNA	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 91 ~ 107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12562-021-01572-z	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村上弘章, 笹野 祥愛, 益田 玲爾, 笠井 亮秀, 山下 洋
2. 発表標題 環境DNA濃度で読み解く 京都府 由良川のスズキ <i>Lateolabrax japonicus</i> の分布と季節回遊
3. 学会等名 環境DNA学会第4回大会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------