

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14482

研究課題名（和文）環境DNA分析とリモートセンシング技術を用いた希少種カブトガニの個体群推定

研究課題名（英文）Population estimation of an endangered horseshoe crab using environmental DNA analysis and remote sensing technique

研究代表者

小山 彰彦（Koyama, Akihiko）

熊本大学・大学院先端科学研究部（工）・特別研究員（SPD・PD・RPD）

研究者番号：50814662

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本課題では、日本で最も絶滅の危機に瀕している生物の1種であるカブトガニを対象に、空撮画像のリモートセンシングによる幼体の生息適地面積の推定、および環境DNA分析による成体の産卵状況の推定を試みた。小型ドローンを用いて干潟の空撮を行うことで、本種幼体の生息適地面積を推定することができた。また、産卵場の採水試料のDNA分析を行うことで、本種の産卵の有無、あるいは産卵した個体数を環境DNA濃度から推定でき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

カブトガニは幼体の成育場、および産卵場ともに人為的な変化が顕著であり、それらの保全と再生が求められている。本成果は、従来の調査手法よりも低コストかつ非侵襲的に該当の環境を評価できる点で、将来的にはアセスメント調査方法の改善が期待できる。また、空撮画像を用いた生息適地面積の推定技術は、減少傾向にある干潟性の水産有用種にも応用できる点で、資源保全学や水産学、生態学など複数領域への学術的貢献が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In the present study, I attempted to estimate the suitable habitat area of juvenile horseshoe crabs, one of the most endangered species in Japan, by remote sensing technology of aerial photographs, and to estimate the spawning condition of the adults by environmental DNA analysis. By taking aerial photographs of the tidal flats using a small drone, the suitable habitat areas for the juvenile were able to be estimated. Furthermore, environmental DNA analysis of water samples from spawning grounds of the species suggested the possibility of estimating the presence/absence of spawning events of the species or the number of spawning pairs.

研究分野：生物資源保全学，水産学，応用生態学

キーワード：干潟 砂浜 カブトガニ 汽水域 保全 絶滅危惧種

1. 研究開始当初の背景

本研究では、絶滅危惧種であるカブトガニ *Tachypleus tridentatus* (Leach 1819) を対象とする。カブトガニは「生きている化石」として知られる汽水性鋏角類の 1 種である。本種は進化生態学的観点から学術的に有名であるだけでなく、海外産を含めたカブトガニ類は商業利用や水質検査や食品衛生管理など多面的に利用されている。よって、我々人類の生活基盤としても非常に有益な生物である。一方、本種は生息地の破壊や上述した商業利用によって世界的に個体数が減少している。日本の場合、自然環境の悪化に伴い、1990 年代前半までは数 10 万の個体数が生息していたが、現在では 1 万以下までに縮小しており (環境省, 2014)、本種の個体群の回復は喫緊の課題である。

こうした背景の中、カブトガニの保全を目的とした研究が積極的に日本で実施されているにも関わらず、本種の個体群は回復していない。この原因として、本種の産卵場と幼体の成育場が大きく乖離する点が挙げられる。本種は浅海の陸地に隣接する砂浜で産卵を行い、生まれた幼体は泥質干潟に移動し、9-10 年程度で亜成体へと成長する (図 1)。つまり、本種の個体群の回復には、産卵場 (砂浜) と成育場 (泥干潟) それぞれの状態を適切に評価し、再生すべき環境を地域ごとに特定する必要がある。

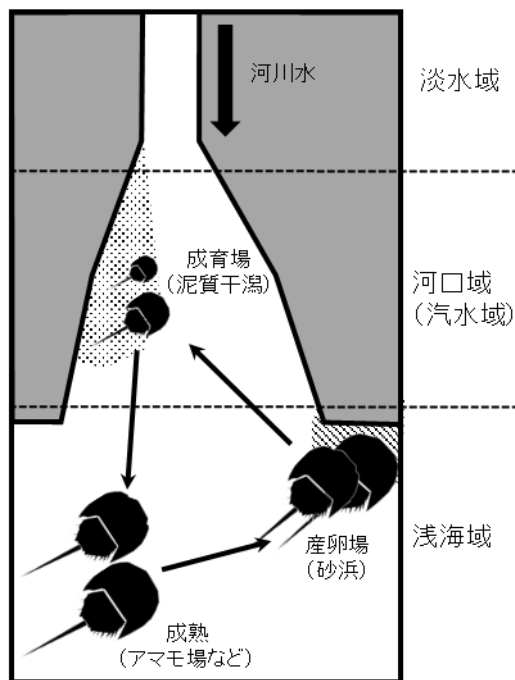


図 1. 対象種的生活環のイメージ。

2. 研究の目的

上述した背景を踏まえて、近年技術開発が進むリモートセンシング技術と環境 DNA を利用し、成育場と産卵場における本種の保全・再生手法の確立を目指した研究を展開する。成育場の研究では、小型ドローンで空撮を行い、リモートセンシングによって干潟の地形を測量した。その地形データに基づきカブトガニ幼体の生息適地面積の推定を試みた。一方、産卵場の研究では、複数の産卵場において本種の産卵行動の観察と採水試料の集積を並行して行い、環境 DNA 分析を行うことで産卵の評価を試みた。

3. 研究の方法

(1) 成育場の研究

成育場の研究については、福岡県福津市の津屋崎干潟 (約 19.5 ha)、および福岡県福岡市の今津干潟 (約 7.9 ha) で実施した。2018 年と 2019 年の主に夏季において、本種幼体の分布調査を行った。現地を踏査し、本種の幼体が目視で確認された場所の位置情報 (在) を記録した (図 2)。合わせて、幼体が確認されなかった (不在) の位置情報も取得した。さらに、小型ドローンを用いて各対象地を空撮した。空撮画像から 1 セル 20 cm の解像度で干潟の地形モデル (Digital surface model: DSM) を構築した。構築した DSM から傾斜を算出した。津屋崎干潟と今津干潟では潮差 (満潮と干潮の水位差) が異なり、幼体の生息する地盤高に相違がみられたため、各地の満潮位の標高を 1、干潮位の標高を 0 とした標準化を行い、DSM を補正した。



図 2. 観察された幼体 (矢印)。

集積した幼体の分布情報、および環境情報を用いて、幼体の生息適地モデルの構築を試みた。まず、津屋崎干潟で集積した分布情報 (在; n=50, 不在; n=161) を応答変数、標準化標高、および傾斜を説明変数とした一般化線形モデルを構築した。構築したモデルの判別精度を今津干潟で集積した幼体の分布情報 (在; n=59, 不在; n=39) を使用して検証した。モデルの精度を検証したうえで、各対象地における本種幼体の生息適地面積を推定した。

(2) 産卵場の研究

産卵場の研究については、主に福岡県の曾根干潟で実施した。2018 年から 2020 年の本種の産卵期とその前後に、本種の産卵場の複数個所で産卵状況を目視によって評価した。本種は満潮時に砂浜で産卵するが、曾根干潟は満潮時の水位が高く、産卵する成体のつがい (雌雄ペア) を

目視で観察することが困難であったため、主に雌個体が産卵の際に砂浜を掘り返すことで発生する「産卵泡」を観察することで、各調査地で産卵の有無と雌雄のペア数を評価した（図3）。目視観察の後、各調査地において表層水を1 L採取し、実験室にて環境DNA分析を実施した。2018年は予備的な調査を主に実施したため、2019年と2020年に集積したデータを解析に使用した。また、2018年から2019年には津屋崎においても産卵の目視調査を行い、産卵が確認された際には採水を実施した。



図3. 観察された雌雄ペア(写真上部)と産卵泡(下部)。

4. 研究成果

(1) 成育場の研究

津屋崎干潟で集積した分布情報と環境情報を用いて生息適地モデルを構築した結果、内部データでは特異度はやや低かったものの、生息適地モデルは利用可能な判別精度を示した(感度: 0.860, 特異度: 0.627)。津屋崎干潟のデータで構築

した生息適地モデルを、外部データ(今津干潟で集積した分布情報、および環境情報)に当てはめてその精度を検証した結果、こちらについても特異度が低かったものの、利用可能な判別精度を示した(感度: 0.811, 特異度: 0.590)。これらの結果から、空撮画像に基づき数値化した環境情報(干潟の標高、および傾斜)を用いて、カブトガニ幼体の分布を推定できることが示唆された。

カブトガニ幼体の標準化標高と傾斜への生息適性を図4に示す。まず、標準化標高については、0.3程度の値の際に、幼体の生息適性がピークになることが示された。標準化標高が0.5の地盤高は平均潮位と概ね一致することから、幼体は平均潮位から干潮位の間で特に生息適性が高いことを意味する。一方、傾斜については6°程度が幼体の生息適性がピークになることが示された。今回使用したデータ(解像度20 cm)では、標高差が4 cm程度あった場合に6°程度の傾斜を示すことから、幼体は干潟上に数センチ程度の微細な凹凸がある場所で生息適性が高いことを意味する。本種の幼体は干潮時にタイドプール(潮溜り)で採餌することが明らかとなっている(Kwan et al., 2020)。つまり、今回構築したモデルは幼体の生態を反映しており、幼体が採餌利用するタイドプールが形成される場所で高い生息適性を示すことが示唆された(図4の点線下部)。

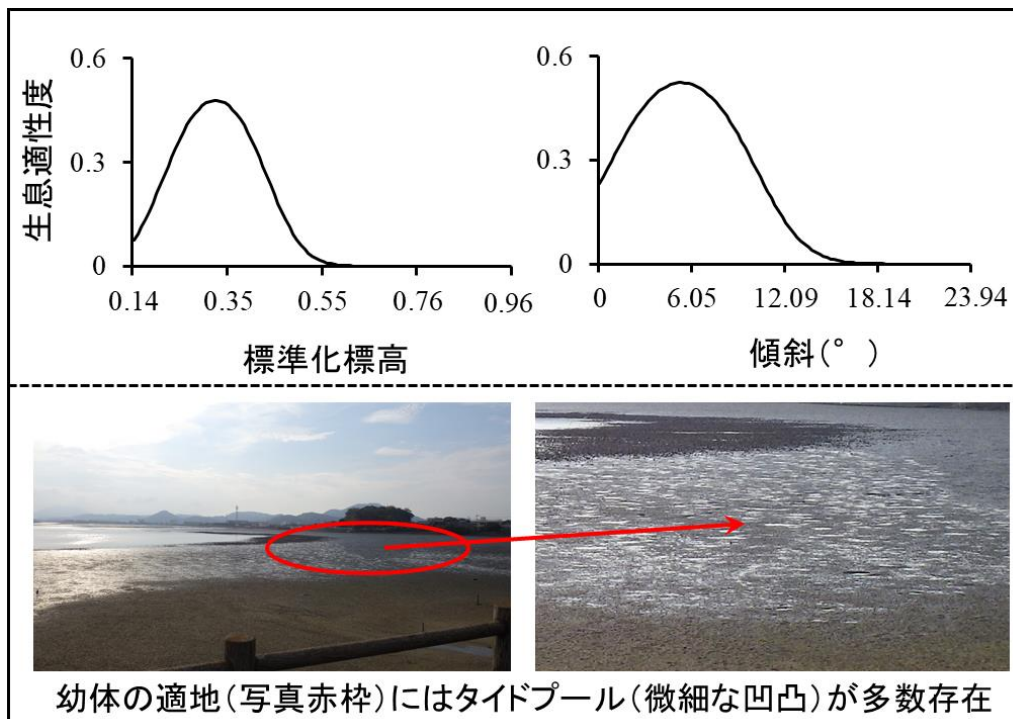


図4. 環境変数(標準化標高と傾斜)に対するカブトガニ幼体の生息適性の応答(図中点線より上部)と高い生息適性を示した景観のイメージ(下部)。

津屋崎干潟、および今津干潟の調査範囲に生息適地モデルを当てはめた結果、津屋崎干潟では対象とした19.5 haのうち8.8 ha(45%)が生息適地であることが示された。一方、今津干潟では7.9 haのうち5.2 ha(66%)が生息適地であることが示された。本研究のように、幼体の生息適地を推定した事例はわずかにあるものの、いずれも現地の物理化学環境(底質、塩分、および溶存酸素など)の詳細な調査に基づいている。今回の調査手法は空撮画像から得られる環境情報のみで生息適地を推定することができた。これは、調査地域において台風や海岸の改修などの

干潟の地形が変化するインパクトが生じた際に、現地調査で空撮画像の取得のみ行えば生息適地の増減を推定できることを意味する。よって、今回の調査手法は従来の幼体の調査方法よりも短時間かつ低頻度で実施できる点で、調査の低コスト化が期待できる。また、干潟を踏査する人員と時間、および水質測定や底質採集などの現地作業を減らすことで、本種やその生息地を踏み荒らすリスクの低減が期待できる。なお、本成果の一部はオープンアクセスの国際誌に掲載済みである。

(2) 産卵場の研究

2019年と2020年に実施した曾根干潟での調査によって、計16例の産卵（雌雄ペアあるいは産卵泡）が観察された。このうち、15例の採水試料から本種のDNAが検出された。一方、産卵が観察されなかった44例のうち、13例の採水試料でDNAが検出された。産卵が確認された地点の環境DNA濃度は、産卵が確認されなかった地点よりも有意に高かった（図5）。さらに、産卵場1ヶ所あたりで観察された産卵つがいの数と環境DNA濃度は有意な正の相関を示した（ $P < 0.01$ ）。また、津屋崎においても、本種の産卵が確認できた場所では高濃度のDNAが検出された。これらの結果から、環境DNAを分析によって、本種の産卵状況を評価できる可能性が示唆された。本種は体外受精による繁殖を行うため、抱卵や放精に起因して水中のDNA濃度が上昇すると考えられる。

従来、本種の産卵を評価する手法としては、産卵場を掘り返して卵を直接計数する方法や、雌雄ペアや産卵泡を目視観察する方法があるが、前者の方法では産卵場をかく乱するリスクがあり、後者の方法では産卵泡の判別に専門的な技術が求められた。環境DNAを主軸とした希少種の調査は、野外での作業が採水のみであることから非専門家でも実施可能である点、人的コストや時間的コストが削減できる点、それらのコスト削減により広域的な調査を展開しやすい点、希少種の生息地を侵襲しにくい点などのメリットが挙げられている（Minamoto et al., 2021）。つまり、今後採水量や採水方法などの技術を一般化できれば、従来のカブトガニの産卵評価手法の欠点を補うことができる。なお、本成果の一部はオープンアクセスの国際誌にて現在審査中である。

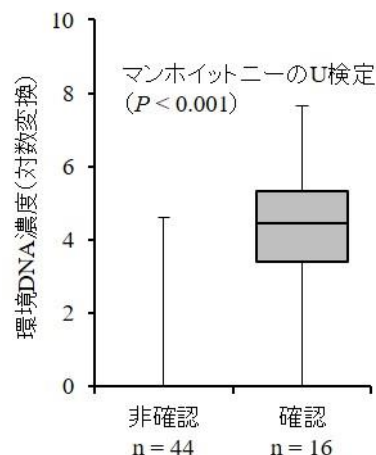


図5. 産卵が確認されなかった地点（非確認）と確認された地点（確認）における環境DNA濃度。本図ではDNAが検出されなかった地点の濃度は0として扱った。

(3) まとめ

本研究では、カブトガニ幼体の生息する干潟を空撮することで、幼体の生息適地面積を推定することができた。また、環境DNA濃度から、産卵場ごとの本種の産卵状況を評価できる可能性が示唆された。従来の調査にこれらの技術を組み合わせることで、補完的に本種の個体群を推定できる。本研究では、幼体の在・不在情報を使用した、個体数や生息密度などの量的な情報をモデル化することで、対象地における本種幼体のより詳細な生息状況を把握できると期待される。また、環境DNA濃度から産卵に寄与した成体の数を推定できる可能性が示唆された。ひいては、DNA濃度から各産卵場の相対的な重要度を評価することで、優先して保全すべき砂浜を選定できるかもしれない。本研究で実施した成育場と産卵場いずれの調査方法も従来の調査と比べて低コストで実施でき、かつ調査地を荒らすリスクを下げることができる。よって、将来的にはアセスメント調査で本手法が適応されることを期待したい。

〈引用文献〉

- ① 環境省. レッドデータブック 2014—日本の絶滅のおそれのある野生生物—7 その他無脊椎動物（クモ形類・甲殻類等）, 株式会社ぎょうせい, 2014
- ② Kwan KY, Wong WT, Lam PY, Chan HK, Lo HS, Cheung SG. Effects of rubble zones from oyster cultivation on habitat utilization and foraging behaviour of the endangered tri-spine horseshoe crab: An implication for intertidal oyster cultivation practices. *Journal of Environmental Management*, 271, 2020, 110925
- ③ Minamoto T, Miya M, Sado T, Seino S, Doi H, Kondoh M, Nakamura K, Takahara T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Iwasaki W, Kasai A, Masuda R, Uchii K. An illustrated manual for environmental DNA research: Water sampling guidelines and experimental protocols. *Environmental DNA*, 3, 2021, 8–13

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koyama Akihiko, Hirata Taiga, Kawahara Yuki, Iyooka Hiroki, Kubozono Haruka, Onikura Norio, Itaya Shinji, Minagawa Tomoko	4. 巻 15
2. 論文標題 Habitat suitability maps for juvenile tri-spine horseshoe crabs in Japanese intertidal zones: A model approach using unmanned aerial vehicles and the Structure from Motion technique	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0244494
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0244494	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小山彰彦・伊豫岡宏樹・平田大雅・川原優紀・久保園 遥・板谷晋嗣・秀野真理・鬼倉徳雄・皆川朋子
2. 発表標題 UAV写真測量技術を用いた干潟生物の生息適地面積の推定
3. 学会等名 2019年日本ベントス学会・日本プランクトン学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山彰彦・平田大雅・伊豫岡宏樹・久保園 遥・若林瑞希・鬼倉徳雄・皆川朋子
2. 発表標題 津屋崎入江におけるカプトガニの生息適地面積の推定
3. 学会等名 平成31年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山彰彦・平田大雅・川原優紀・伊豫岡宏樹・久保園 遥・板谷晋嗣・鬼倉徳雄・皆川朋子
2. 発表標題 カプトガニ幼体の生息適地となる干潟の推定～福岡県の生息地を対象として～
3. 学会等名 応用生態工学会福岡 2020九州地区事例・研究発表会
4. 発表年 2020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
---------	---------