

(続紙 1)

| | | | |
|--|-------------------------------|----|-------|
| 京都大学 | 博士 (農 学) | 氏名 | 村上 弘章 |
| 論文題目 | 海産魚類の生態調査に資する環境DNA技術の開発に関する研究 | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>環境DNA (eDNA)とは、生物から水中や土壌などの環境中に放出されたDNAの総称である。近年、これらを検出することで生物の在不在を判定し、その濃度から資源量を推定する試みがなされている。eDNA手法は淡水域において確立されつつあるが、海域での応用の可能性は未知であった。eDNAは生物から放出されてから検出されるまでの間に、分散や分解といった非生物・生物的要因や、対象生物種に特異な要因が複雑に影響するため、その検出濃度は一定ではない。そのことがeDNA調査の結果の解釈において大きな障壁になっており、これらを明らかにすることは、本技術を海産魚類の生態調査に応用するうえで必須である。特に、海域におけるeDNAの分散や分解といった挙動はほとんどわかっていない。本論文では、他魚種の混在がeDNAの検出に与える影響や、海域におけるeDNAの動態を明らかにした。また、魚類の生態と照らし合わせることで、海域を含めた水圏生物の生態調査への本手法の応用の可能性を検討した。</p> <p>第1章では、本研究の背景と目的について述べ、第2章では、ろ過方法の違いによるeDNAの収量の違いを検討し、加圧によるろ過よりも陰圧によるろ過の方が収量が高いことが示された。</p> <p>第3章では、他魚種の混在がeDNAの検出に与える影響を検討した。eDNAの放出量は、生物の種類に依存することが知られている。しかし、海産魚類のeDNA放出量に関する知見はほとんどない。また、野外では複数種が生息場を共有しており、その相互作用がeDNAの検出に与える影響の有無は、本技術を野外で応用するうえで重要である。本研究では、水槽内でアジ科2魚種の放出する体重当たりeDNA濃度および両種の混合飼育の影響を調べた。その結果、形態が類似する近縁種では放出量に差はなく、混合飼育の影響も無視できることが示された。</p> <p>第4章では、海域におけるeDNAの分散と分解を精査した。自然界におけるeDNAの挙動を理解するうえで重要な課題の一つは、放出された後、どのように分散し、分解されるかを理解することである。実験水域には生息しないシマアジを舞鶴湾内のいけすに収容し、いけす近傍およびいけすから北西と北東の両方向に、10、30、100、300、600および1000 mの7定点を設定し、いけす設置後および除去後からそれぞれ48時間後まで採水を実施し、eDNAの分散範囲や検出が可能な時間について検討した。その結果、全陽性サンプルのうち79 %は放出源から30 m以内に集中することが明らかとなった。また、いけすの除去後1時間まではeDNAの検出が可能であることを見出した。よって、eDNAの放出源からの分散範囲は狭く、短時間で分解されることが示唆された。</p> | | | |

第5章では、マアジのeDNAの日周変化と周年変化を調べた。第4章で使用したeDNA試料の一部を利用してマアジのeDNA濃度の日周変化を調べたところ、朝および夕方が高いeDNA濃度が検出された。検出量の多い時刻は、一般に魚の摂餌が活性化する時間帯と重なった。また、eDNA検出量は季節的に変化した。潜水目視観察の結果とは一致しないこともあり、産卵行動などの要因が影響していることが考えられた。このように、魚の分布、摂餌、運動量の変化、再生産など多くの要因が野外のeDNAの検出量に影響を与える可能性が示された。

第6章では、舞鶴湾におけるマアジとカタクチイワシのeDNAの分布を調べた。舞鶴湾に400 m間隔の網羅的な100定点を設け、各地点の表層、中層、底層から採水するとともに、CTDにより環境データを取得した。調査海域の海底から海面までの水温範囲は19.7-27.9 °Cで、海面から5 m付近に躍層が認められた。マアジのeDNA濃度は、西湾で相対的に高く、かつ西湾では表層、東湾では底層で高かった。一方、カタクチイワシのeDNAは、全域において表層から多く検出された。これらのeDNAの分布は、魚群探知機で調べた両種の分布の傾向と一致した。さらに、マアジのeDNA濃度と魚探反射強度との関係を分析した結果、鉛直方向に5 m、水平方向に100 mの範囲で集約した反射強度と最も強い正の相関を示した。

第7章では、スズキ卵・仔稚魚の発育にともなう成育場の移動とeDNAの関係を明らかにするために、丹後海と舞鶴湾におけるスズキ卵・仔稚魚の在・不在とeDNAの検出・非検出、および生物量とeDNA濃度との関係を分析した。その結果、スズキ卵・仔魚の生物量とeDNA濃度に相関は認められなかった。一方、舞鶴湾沿岸において地曳網で稚魚が採集された地点では、高い確率でeDNAが検出された。さらに、沿岸で採集されたスズキ稚魚の生物量と調査回次ごとのeDNA濃度の推移は同調した。

第8章では総合考察として、eDNA手法の水産分野への応用について具体的に展望した。eDNA手法では、他の調査手法と比較すると、フィールドでのサンプリングが簡便であり、このため比較的短時間に広範囲の調査を行うことが可能である。本研究の水槽実験により、他魚種の存在はeDNAの検出濃度に大きな影響を与えないと考えられた。また、夏季の内湾域では、eDNAの分散範囲は30 m程度であり、1時間以内の生物情報を主に反映したことから、本手法は調査地点の調査直前における生物情報を得るうえで有効と言える。さらに、魚種の遊泳層や選好水温の違いといった生態や行動に依存した濃度分布を示すことが示された。よって、eDNA手法は、湾規模での生物の分布調査、特定のハビタットへの加入や四季を通じた分布・移動のモニタリングに有効と考えられた。

注)論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

環境DNAによりマクロ生物の分布や生態を解明しようとする研究は、最近10年間で著しく発展した分野であるが、その多くは淡水産の両生類や魚類を対象としてきた。水圏における環境DNA濃度には、生物から放出されて検出されるまでの間の分散、分解や対象生物の生態など多様な要因が複雑に影響すると考えられる。本研究は、環境DNA研究を海域で展開するうえで必要となる基礎的知見を、水槽実験とフィールド調査により集積し、海産魚類生態調査への環境DNA技術の応用について検討したものである。評価すべき点は以下の通りである。

1. 最適な海水の処理方法を検討するとともに、アジ科のマアジとシマアジを用いた水槽実験により、両魚種間で環境DNA放出量に差がないこと、また放出された異魚種の環境DNAの間に干渉作用がないことを確認した。
2. シマアジを収容したいけすを舞鶴湾内の表層に設置し、環境DNAの分散を調べた。夏季の静穏な内湾では、環境DNAの分散範囲は水平方向には放出源から30 m以内、鉛直方向には水温・塩分躍層までであり、比較的狭い範囲に留まることを明らかにした。
3. 野外においてマアジの環境DNA濃度の日周変化を調べ、摂餌活性の高い朝と夕方に多量の環境DNAが検出されることを示した。
4. 舞鶴湾全域100定点で調べたマアジとカタクチイワシの環境DNA濃度の水平・鉛直分布は、併せて行った魚群探知機を用いた両種の分布量調査結果と傾向が一致しており、本手法の魚類分布量調査への応用の可能性を示した。
5. 沖合、沿岸および河川におけるスズキの環境DNA濃度の推移は、本種稚魚の沿岸加入から河川遡上に至る回遊過程と対応することがわかった。

以上のように、本論文は環境DNAを用いた海産魚類の生態研究に必要な基礎的知見を提供し、当該技術の実用化の可能性を提示しており、水産学、海洋生態学、魚類学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和元年8月1日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）