

学位論文要約

応用生物科学専攻

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

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存在を判定し、また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数であった。eDNAが生物から放出されてから検出されるまでの間、分解や運搬といった非生物的要因や、生物の種類や個体数などの生物的要因が複雑に影響するため、その検出濃度は変動する。そのことがeDNAの結果解釈に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上で必須である。特に、海域におけるeDNAの分散や分布といった挙動はほとんどわかっていない。

第1章では、eDNAに関する基礎的情報とその先行研究を概説した。また、eDNA技術の海域での研究例の知見の少なさを明記し、本技術の海域における研究の新規性と重要性について述べた。

第2章では、ろ過手法によるeDNAの収量の違いを検討した。現在、eDNA分析の際の環境水のろ過には、アスピレーターまたはシリンジによる手法が多く用いられている。より収量の多い手法を選択するために、野外で同時に採取した試料を2つの方法でろ過し、

eDNAの収量を比較した。その結果、シリンジよりもアスピレーターによるろ過の方がeDNAの収量が多い傾向がみられた。シリンジによるろ過では不均一な加圧のため、eDNAが破壊される可能性が示唆された。

第3章では、魚種間のeDNAの放出量を比較し、他魚種の存在がeDNAの検出量に影響を与えるかを調べた。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、海産魚類に着目した同様の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上で重要である。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、また他魚種の混在はeDNAの放出に影響しないことが示された。

第4章では、海域における環境DNAの分散と分解過程を調べた。eDNAの挙動を理解する上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。そこで、当地には生息しないシマアジを舞鶴湾内のいけすに収容し、生簀から北西と北東の両方向に、1、10、30、100、300、600および1000mとなる定点を設定し、生簀設置・除去後の20分、1、2、3、4、8、24および48時間後に各定点の表層から採水した。各定点で検出されるeDNAの範囲を調べたところ、検出された総eDNA濃度の98%、または全試行数のうち79%は、放出源から30m以内に集中し、またいけすの除去後1時間までは検出可能であることを見出した。よって、eDNA分析の結果は長期間・広範囲ではなく、直近の生物情報を強く反映することが示唆された。

第5章では、マアジの環境DNAの日周変化と周年変化を調べた。野外では、同一地点におけるeDNA濃度は変動することが予想される。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。その結果、いけす設置 4 時間後である 13:00 の eDNA 濃度は有意に低く、朝および夕方に高い 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。よって、魚の摂餌や運動量の変化が野外の eDNA の検出量に影響を与える可能性が示唆された。

第 6 章では、舞鶴湾におけるマアジとカタクチイワシの環境 DNA の水平・鉛直分布を調べた。海域において魚種の違いによる eDNA の分布の差異を詳細に検討した例はない。本研究では、閉鎖性の強い舞鶴湾におけるマアジとカタクチイワシの eDNA の水平・鉛直分布を調べた。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。調査海域の水温は 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 の鉛直分布は、魚群探知機における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相関を調べた結果、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 ($p < 0.05$, $\rho = 0.46$, スピアマンの順位相関)。

最後に第 7 章では、スズキ仔稚魚の成長過程における成育場の移動と環境 DNA の関係を調べた。eDNA を用いた在不在の判定や生態調査において、海産稚魚にこの技術を適用した事例は乏しい。本研究では、丹後海と舞鶴湾におけるスズキ仔稚魚の在不在と eDNA の検出・非検出の関係、生物量と検出される環境 DNA 濃度との対応を調べた。また、eDNA 濃度の推移を追うことで、孵化後に成育場を変える本種の移動を捉えることが可能かを調べた。その結果、スズキ仔稚魚の生物量と eDNA 濃度に相関は認められなかった。一方、舞鶴

湾沿岸の地曳網で稚魚の採集された地点では、DNA が検出される傾向があった。さらに、3月から6月にかけて沿岸で採集されたスズキの生物量と eDNA 濃度の推移は同調した。

第8章では、本研究全体を通じた考察を行った。本研究で明らかになった海域での eDNA の挙動から、eDNA は直近の生物の生態情報を良く反映することがわかった。また、eDNA は魚種の特徴をとらえる分布を示すことが明らかになった。今後、適切なサンプリング方法を用いることにより、eDNA 技術は海産魚の生態の解明や水産学の発展に十分に寄与できると考えられた。