

課題番号: S II-7

プロジェクト名

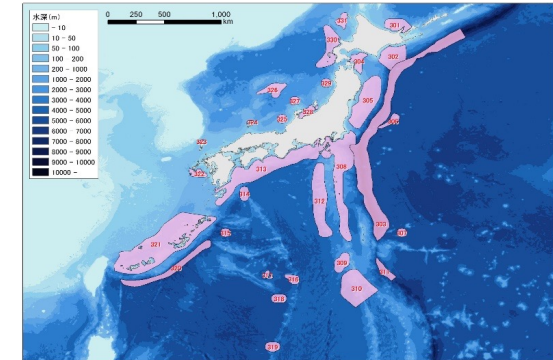
## 新たな海洋保護区（沖合海底自然環境保全地域）管理のための深海を対象とした生物 多様性モニタリング技術開発

---

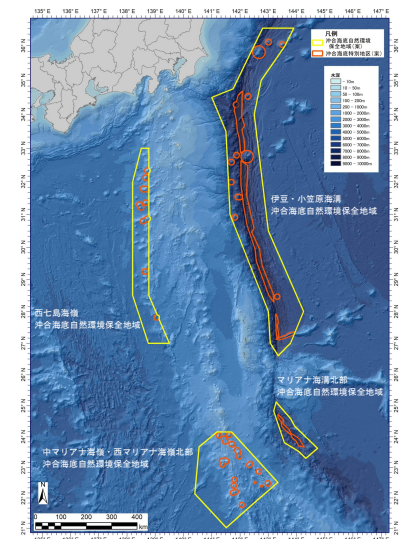
プロジェクトリーダー	藤倉 克則（国立研究開発法人海洋研究開発機構 JAMSTEC）
プロジェクト代表機関	国立研究開発法人海洋研究開発機構 JAMSTEC
体系的番号	JPMEERF20S20700
研究実施期間	令和2年度～令和4年度
研究体制	テーマ1: 国立研究開発法人海洋研究開発機構・国立研究開発法人国立環境研究所・東京大学 テーマ2: 千葉県立中央博物館・神戸大学・国立研究開発法人国立環境研究所・沖縄美ら島財 団・京都大学 テーマ3: 東京大学・熊本大学

# 1. はじめに（研究背景等）

- 海洋生態系の保全は地球規模の課題で、生物多様性条約やSDGsの目標で2020年までに沿岸域及び海域の10%を保全。
- 日本の海洋保護区は沿岸域で8.3%が指定されているが沖合域は不十分。
- 沖合域の海洋保護区を設定するために、1.唯一性又は希少性、2.種の生活史における重要性、3.絶滅危惧種又は減少しつつある種の生育・生息地、4.脆弱性、感受性又は低回復性、5.生物学的生産性、6.生物学的多様性、7.自然性、8.典型性・代表性の8項目を抽出基準とし「**生物多様性の観点から重要度の高い海域**」（重要海域）を公表。
- 中央環境審議会の答申を踏まえ改正自然環境保全法が成立。
- 「重要海域」を基礎とし、海山、熱水噴出域や湧水域、海溝を海洋保護区に含める方針を踏まえ、2020年に①伊豆・小笠原海溝、②中マリアナ海嶺・西マリアナ海嶺北部、③西七島海嶺、④マリアナ海溝北部が沖合海底自然環境保全地域（深海海洋保護区）を指定。
- 深海生態系は漁業・資源開発、ゴミなどによって変動するため、設定した海洋保護区に保全効果があるかを評価する継続的なモニタリングが必要。海洋保護区設定後の管理が重要。



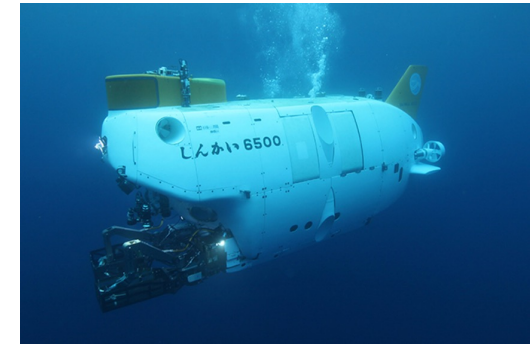
沖合海底域の「生物多様性の観点から重要度の高い海域」（重要海域）：ピンク色



沖合海底自然環境保全地域（深海海洋保護区）：黄色枠線内

# 1. はじめに（研究背景等）

- 深海域の調査は、専用機器（大型調査船、無人探査機、有人潜水調査船、大型ウインチなど）と高額な経費が必要で調査の機会は限定的。
- 大がかりな調査機器と高額経費は、深海域の沖合海底自然環境保全地域の継続的な深海生態系モニタリングに制約となる。
- 分子生物学的手法や画像解析手法が生態系研究に用いられ、これらを応用することで深海域のモニタリングを効率的に行える可能性がある。
- 沖合海底自然環境保全地域の継続的なモニタリングには、このような手法を取り入れながら「重要海域」抽出基準や「指定書および保全計画書」を指標に、海洋保護区として保全効果が発揮できているか評価できる。
- 微小生物は環境変動への応答が早いという特徴を有し、魚類や大型無脊椎動物は希少性・固有性・脆弱性を評価するのに適している。広範囲の生物群について評価することが求められる。
- 効率的な手法で行えるかを評価するためには、実海域で調査する必要がある。熱水噴出域の鉱物資源開発は水深2000 m以浅であること、底引きトロールの最大水深は約1500 mであることなどから、水深2000 mで深海生態系モニタリング手法を構築する必要がある。

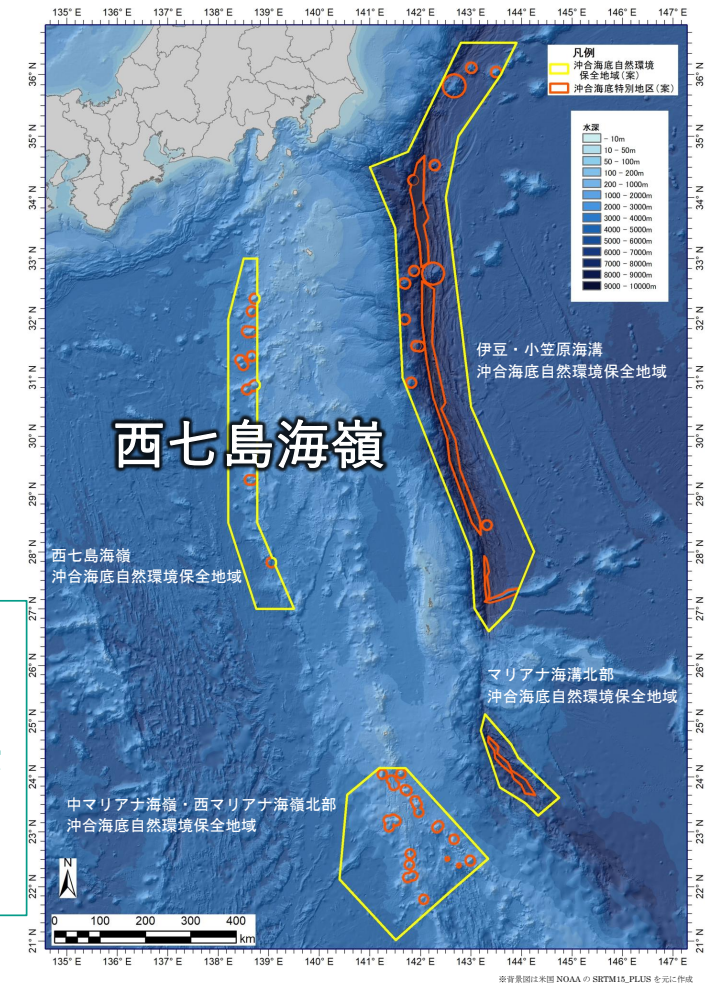


有人潜水調査船「しんかい6500」の建造費は100億超える



## 2. 研究目的

- 沖合海底自然環境保全地域において、継続的かつ多地点でのモニタリングを実現するために、生物多様性や生態系の調査観測の分野で近年取り技術開発がめざましい分子生物学的手法や画像解析手法を取り込んだ**簡便な深海生態系モニタリング法を構築**する。
- 開発する低コストかつ簡便なモニタリング技術を、海洋保護区の実効的管理の第一歩とし、今後の継続的な深海モニタリングへの土台にする。
- 西七島海嶺沖合海底自然環境保全地域をフィールド海域とする。



低コストかつ簡便な  
深海生態系モニタリング手法  
を構築

### 3. 研究目標 全体目標

- 深海生態系を対象に低コストで簡便なモニタリング法を構築し、深海底の海洋保護区（沖合海底自然環境保全地域）指定の基礎となる重要海域の抽出基準を踏まえて生物情報等を取得できるようにすること。
- 沖合深海底を対象としていることに鑑み、重要海域の抽出基準のうち、主に唯一性・希少性、絶滅危惧種の生育・生息地、脆弱性・感受性又は低回復性、生物学的生産性、生物学的多様性に関する生物情報等をモニタリング項目とする。

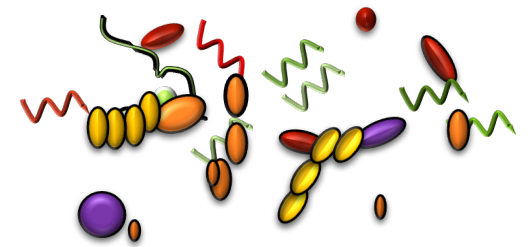
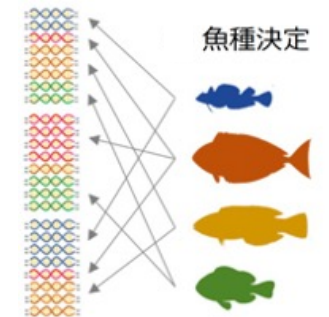
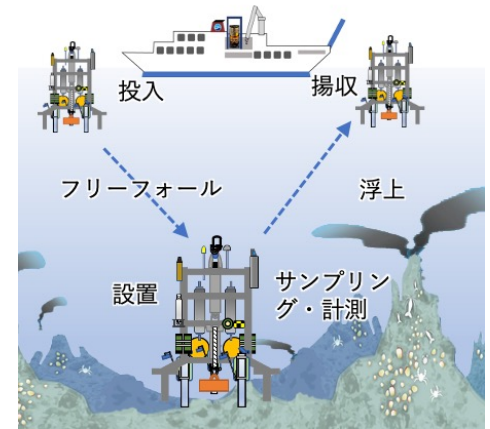
生物多様性の観点から重要度の高い海域（重要海域）抽出基準

重要海域抽出基準	定義
唯一性、又は希少性	唯一性、希少性又は固有性を持つ種、個体群、又は生物群集、独特な地形学的又は海洋学的特徴を持つ場所
絶滅危惧種又は減少しつつある種の生育・生息地	絶滅危惧種及び減少しつつある種の生育・生息地など
脆弱性、感受性又は低回復性	センシティブな生育・生息地や種が、高い割合で見られる場所。また回復に時間がかかる場所
生物学的生産性	高い生物学的生産性を持つ種、個体群、又は生物群集を含む場所
生物学的多様性	高い種の多様性、又は高い遺伝的多様性を含む場所
種の生活史における重要性	個体群の存続・生息/生育のために必要な場所
自然性	人間活動による攪乱又は劣化がない、又は低レベルである結果として、高い自然性が保たれている場所
典型性・代表性	我が国の代表的な生態系や生物群集などの特徴を典型的に示している場所

- 沖合海底自然環境保全地域「指定書および保全計画書」の記載事項が維持されているかを評価する情報を取得できるようにすること。

### 3. 研究目標 個別目標

- ROVなどの映像から大型生物の分類群同定と個体数測定を簡便にできる画像解析法を開発し、重要海域の抽出基準を踏まえた映像によるモニタリング法を構築する。映像からは判別できない堆積物中の小型底生生物組成をサンプルの画像から解析できる方法を開発し、重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング法を構築する。さらに、深海用調査機器が充実した大型研究船を用いなくても、環境データや環境DNA・メタゲノムの解析などに用いるサンプルを取得できるようにする。
- 環境DNAを用いたメタバーコーディング法（同時並列多種検出法）を深海性の脊椎動物（魚類等）と無脊椎動物（刺胞動物・甲殻類・環形動物・棘皮動物・軟体動物等）で構築する。実験手法の構築と並行して、種判定に用いるリファレンスデータを充実させることで、重要海域の抽出基準を踏まえた採水により簡便にできるモニタリング法を構築する。
- メタゲノム解析技術（環境微生物群集に由来する全ゲノム混合物からの遺伝子解析技術）を用いて、沖合海底域の海水、堆積物中の微生物群集の変動を把握する手法を構築する。特に、原核生物、および小型底生生物を対象として、重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング法を構築する。





## 4. 研究開発内容

### テーマ・サブテーマ

新たな海洋保護区（沖合海底自然環境保全地域）管理のための深海を対象とした生物多様性モニタリング技術開発（課題代表：JAMSTEC）

テーマ1：深海生物相の画像解析によるモニタリング法及びサンプリング法の開発（リーダー：JAMSTEC）

サブテーマ1：深海生物相の画像解析をはじめとする深海生態系の多角的モニタリング法の提案  
（○JAMSTEC・東京大学）

サブテーマ2：深海堆積物中生物相の画像解析によるモニタリング法の開発（○国立環境研究所・JAMSTEC）

テーマ2：深海大型生物相の環境DNAによるモニタリング法の開発（リーダー：千葉県立中央博物館）

サブテーマ1：脊椎動物における調査方法の開発と実践、ならびに基盤データの整備  
（○千葉県立中央博物館・国立環境研究所・沖縄美ら島財団）

サブテーマ2：無脊椎動物における調査方法の開発と実践、ならびに基盤データの整備  
（○神戸大学・○千葉県立中央博物館・京都大学）

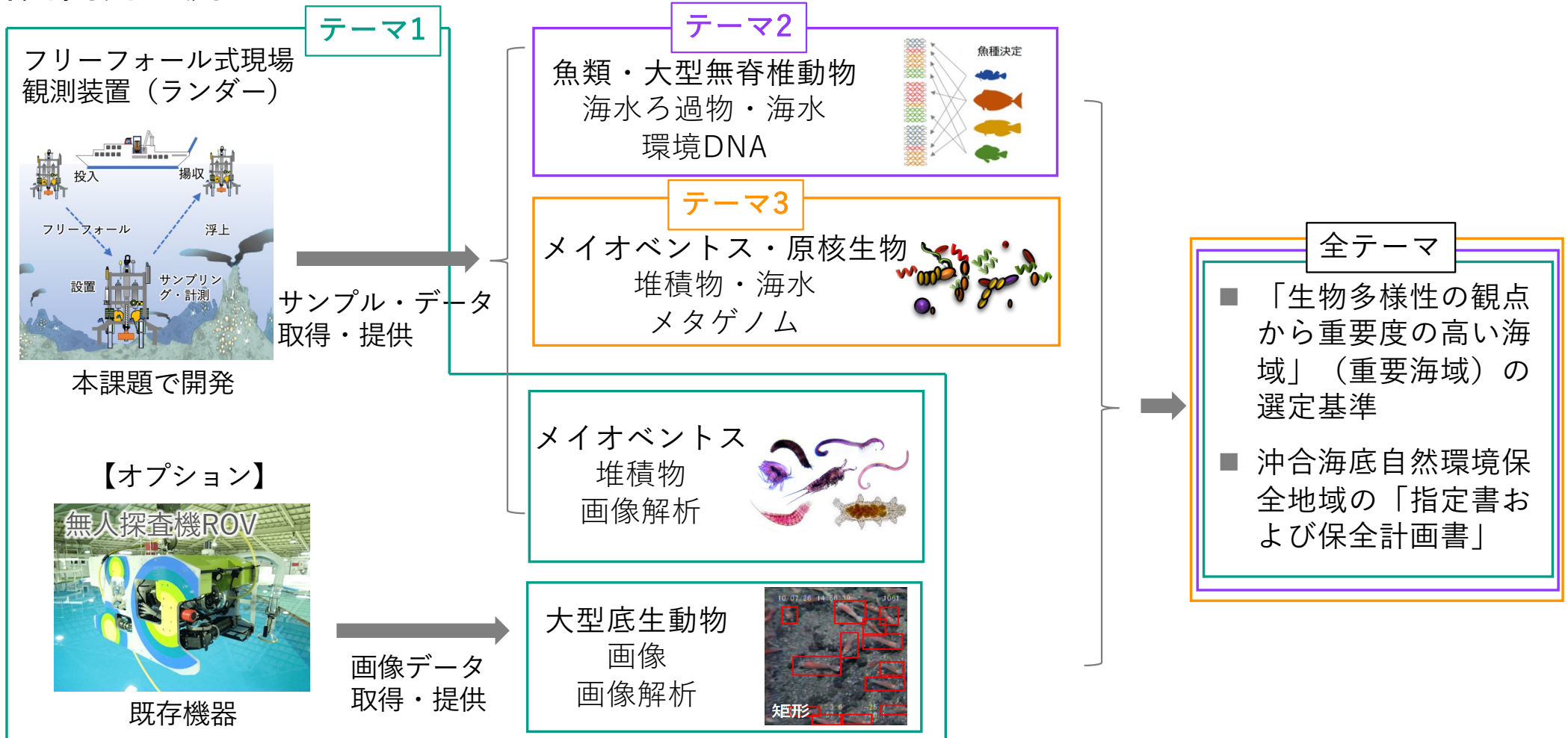
テーマ3：深海微小生物相のメタゲノム解析によるモニタリング法の開発（リーダー：東京大学）

サブテーマ1：深海原核生物のメタゲノム解析によるモニタリング法の開発（○東京大学）

サブテーマ2：深海小型底生生物のメタゲノム解析によるモニタリング法の開発（○東京大学・熊本大学）

# 4. 研究開発内容

## 研究開発の流れ





# 4. 研究開発内容

## テーマ・サブテーマ間連携

### テーマ1：深海生物相の画像解析によるモニタリング法及びサンプリング法の開発

サブテーマ1：深海生物相の画像解析をはじめとする深海生態系の多角的モニタリング法の提案：サンプル・データ取得方法開発、大型生物画像解析

画像解析手法検討

サブテーマ2：深海堆積物中生物相の画像解析によるモニタリング法の開発：メイオベントス画像解析

サンプル・データ提供

サンプリング手法の改良

DNA情報の検証

DNA情報の検証

サブテーマ1：脊椎動物における調査方法の開発と実践、ならびに基盤データの整備：魚類環境DNA

サブテーマ2：無脊椎動物における調査方法の開発と実践、ならびに基盤データの整備：無脊椎動物環境DNA

サブテーマ1：深海原核生物のメタゲノム解析によるモニタリング法の開発

サブテーマ2：深海小型底生生物のメタゲノム解析によるモニタリング法の開発：メイオベントスメタゲノム

サンプル共有など

テーマ2：深海大型生物相の環境DNAによるモニタリング法の開発

テーマ3：深海微小生物相のメタゲノム解析によるモニタリング法の開発

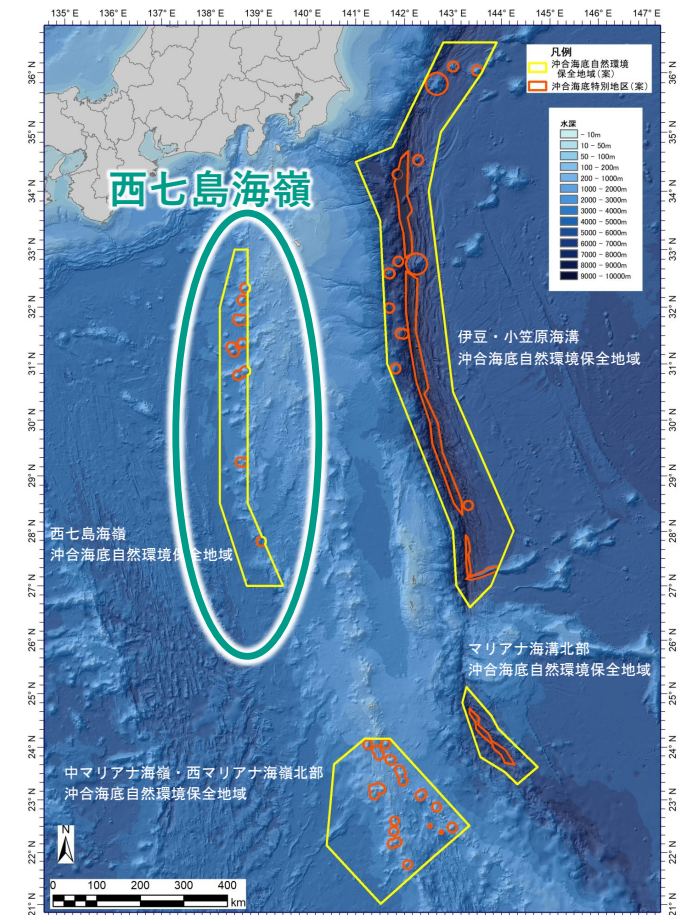
## 4. 研究開発内容

### フィールド海域

- 沖合海底自然環境保全地域から選定
- 想定される攪乱は漁業、資源開発、熱水噴出の活動停止
  - 日本で計画されている熱水鉱床開発は水深2000 m以浅
  - 底引きトロールの最大水深は約1500 m
- 調査船が行きやすい場所
- **西七島海嶺の水深2000 m以浅**

### 効率的なフィールド調査

- 環境省の沖合海底自然環境保全地域モニタリング調査と連携
  - 燃料代の効率化などによりフィールド調査の機会増加
  - 西七島海嶺以外の情報も収集
  - 本課題以外の研究者の知見活用



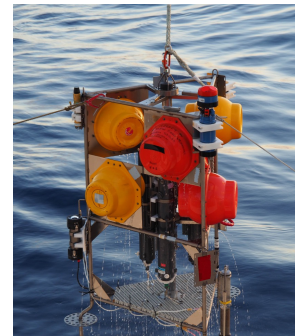
深海底の海洋保護区（沖合海底自然環境保全地域）

## 5. 研究成果：5-1. 成果の概要

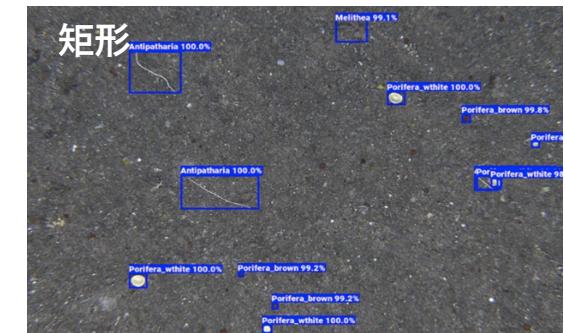
テーマ1：深海生物相の画像解析によるモニタリング法及びサンプリング法の開発

### サブテーマ1：深海生物相の画像解析をはじめとする深海生態系の多角的モニタリング法の提案

- フリーフォール観測装置（ランダー）によるサンプル・環境データ取得方法開発（他のテーマ・サブテーマから必要なサンプル量など議論）
- 画像解析法による大型底生動物の分類群同定と個体数測定法開発（サブテーマ2と連携し最適解析モデルの選定）
- フィールド調査
- 課題全体とりまとめ



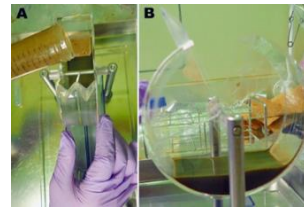
フリーフォール観測装置  
(ランダー) 開発



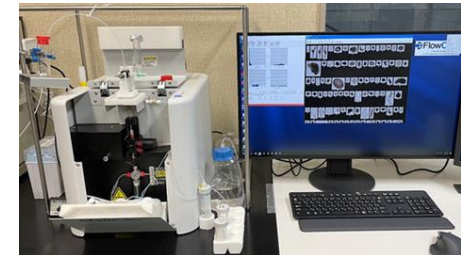
分類群の自動抽出・個体数の自動計数

### サブテーマ2：深海堆積物中生物相の画像解析によるモニタリング法の開発

- 堆積物中メイオベントスの効率的分画技術（前段階処理）確立
- イメージングフローサイトメトリ FlowCAM によるメイオベントス画像取得・教師画像データ整備
- 機械学習による画像解析に基づく自動計数・分類システム構築（サブテーマ1と連携し最適解析モデルの選定）



メイオベントスの効率的分画技術確立



FlowCAMによる教師画像データ整備

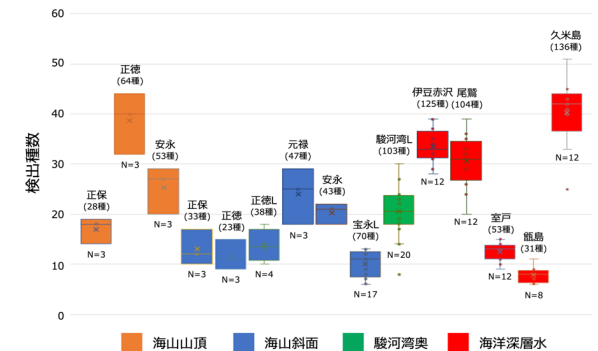


画像解析

## 5. 研究成果：5-1. 成果の概要

### サブテーマ1：脊椎動物における調査方法の開発と実践、ならびに基盤データの整備

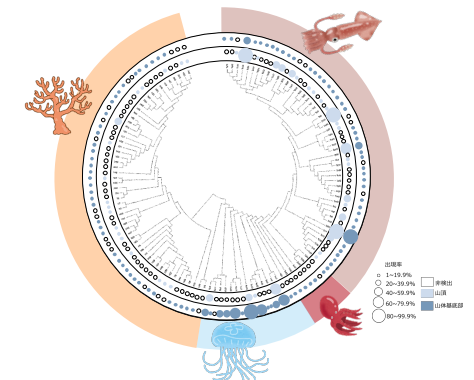
- 深海性魚類魚類を対象とした実験手法の効率化
  - 新規DNAポリメラーゼにより実験効率が格段に向上
- リファレンス配列の充実と解析パイプラインの構築
  - 日本産深海魚1302種のうち854種のデータを取得
- 海洋深層水を用いた深海性魚類の検出（テーマ1への必要サンプル量情報提供）
- 実海域サンプルを用いた魚類群集解析
  - 沖合海底自然環境保全地域の海山山頂から115種、海山斜面から146種の深海性魚類を検出）



沖合海底自然環境保全地域と海洋深層水から検出された深海性魚類の種数

### サブテーマ2：無脊椎動物における調査方法の開発と実践、ならびに基盤データの整備

- 無脊椎動物を対象とした環境DNA分析用のプライマーの設計
  - 刺胞動物、棘皮動物、軟体動物と軟甲甲殻類のPCRプライマーを開発・検証
- 深海サンプルを対象とした環境DNA保存法の最適化
  - Buffer ATLの添加法の採用
- 深層水を用いた無脊椎動物の環境DNAメタバーコーディング（テーマ1への必要サンプル量情報提供）
- 実海域サンプルを用いた無脊椎動物解析
  - 沖合海底自然環境保全地域から191種の無脊椎動物の環境DNAを検出
- リファレンス配列の整備
  - 1235種のリファレンス配列を新たに取得



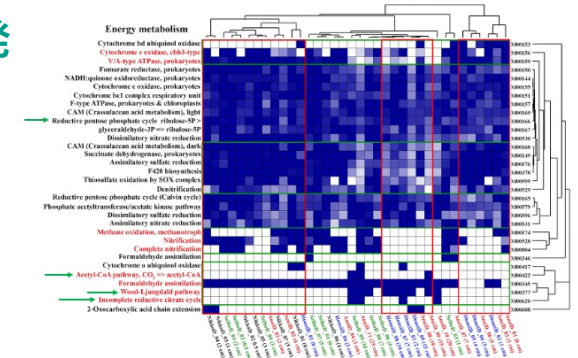
沖合海底自然環境保全地域から環境DNAメタバーコーディング法で検出した無脊椎動物分類群の出現率



## 5. 研究成果：5-1. 成果の概要

### サブテーマ1：深海原核生物のメタゲノム解析によるモニタリング法の開発

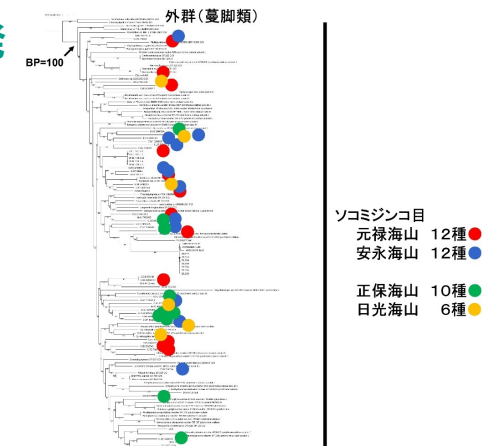
- 深海原核生物ベースラインデータの取得（テーマ1への必要サンプル量情報提供、サブテーマ2と連携調査）
  - 沖合海底自然環境保全地域と他海域の $\alpha$ 多様性把握
- 深海原核生物リファレンスデータ取得技術の確立と取得
  - 完成度の高い個別種ゲノムMAGを構築可能な手法の確立と89個のMAG取得
- 深海における特徴的な機能遺伝子の選別と解析手法の構築
  - CO<sub>2</sub>固定経路のアバンダンスから化学合成原核生物の相対的な量を評価
- 重要海域選定基準に関わる原核生物の情報
  - 原核生物の唯一性又は希少性、生物生産性（化学合成）、生物多様性の情報取得



メタゲノム解析による沖合海底自然環境保全地域の原核生物群集のエネルギー合成機能の多様性

### サブテーマ2：深海小型底生生物のメタゲノム解析によるモニタリング法の開発

- メイオベントスDNA抽出方法の確立
  - 100%エタノール固定サンプルの利用
- モデル動物群の分子系統解析
  - 小型甲殻類（カイアシ類など）を選定
- 深海底堆積物の採集と環境DNA・メタゲノム解析手法の確立（テーマ1への必要サンプル量情報提供、サブテーマ2と手法共有）
  - アルコール固定したサンプルへのBlood & Tissue kit適用
- 重要海域選定基準に関わるメイオベントスの情報
  - 主にソコミジンコ類の種組成と個体数を取得し、唯一性又は希少性、生物多様性（種組成と個体数）の情報取得

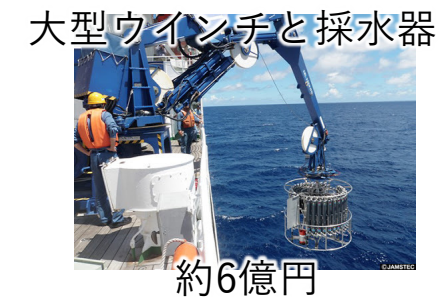
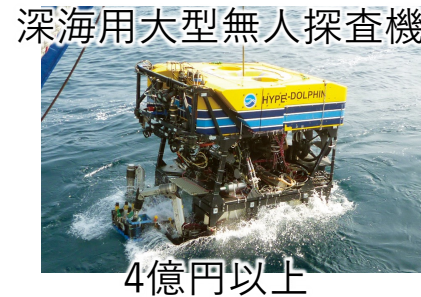


DNAバーコードによる沖合海底自然環境保全地域の4海山のソコミジンコ類の系統解析結果

## 5. 研究成果：5-1. 成果の概要

### 経費比較

ランダー製作費 vs 既存深海調査プラットフォーム



ランダーを用いた沖合海底自然環境保全地域の調査航海経費

組織名	見積もり金額	備考
A 社	68,750,000円	調査船664 t 使用
B 社	78,639,000円	傭船1292 t使用
JAMSTEC	152,558,530円	自社調査船「かいめい」5747 t 使用

ランダーは小型、軽量、回収設置に特殊な装置不要なため  
大型調査船は不要

見積もり条件

- 沖合海底自然環境保全地域（海洋保護区）の立冬海山（最も遠距離にある地点）において海底設置型フリーフォール式ランダーでデータ・サンプルを取得
- ランダー観測は3回（設置回収で2日、計6日）
- 艀装、艀装解除、回航日程含む
- 分子生物学実験経験者が少なくとも2名、その他観測機器のオペレーションに経験者少なくとも2名を乗船させる
- ランダー、切り離し装置、陸上での分析は見積もりには含めない

## 5. 研究成果：5-1. 成果の概要

「重要海域」の抽出基準や「指定書及び保全計画書」のモニタリング項目情報の取得

		重要海域の抽出基準				指定書及び保全計画書			
		唯一性、希少性	絶滅危惧種種の生育・生息地	脆弱性、感受性、低回復性	生物学的生産性	生物学的多様性	分類群	熱水噴出域・湧水域	微生物多様性
テーマ1	サブテーマ1：大型生物画像解析	○独特な海洋学的特徴		○		○分類群組成・個体数	○		
	サブテーマ2：メイオベントス画像解析	○				○分類群組成・個体数			○
テーマ2	サブテーマ1：脊椎動物（魚類）環境DNA	○	○レッドリスト掲載種	○		○分類群組成	○	○	
	サブテーマ2：無脊椎動物環境DNA	○	○レッドリスト掲載種	○		○分類群組成	○	○	
テーマ3	サブテーマ1：原核生物メタゲノム	○			○化学合成原核生物	○分類群組成・個体数			○
	サブテーマ2：メイオベントスメタゲノム	○				○分類群組成・個体数			○

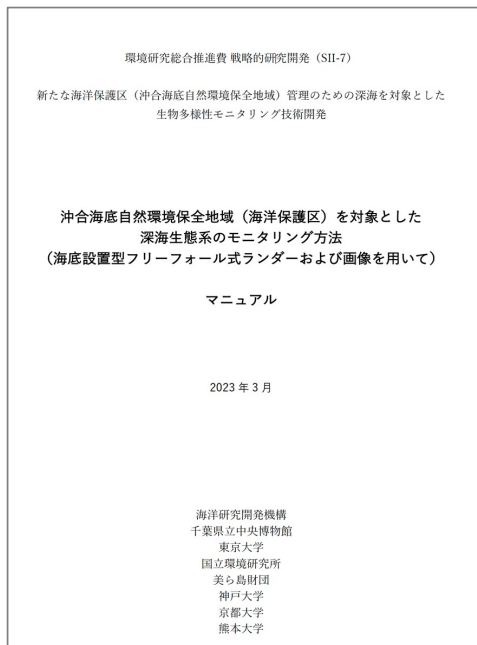
例)

- 沖合海底自然環境保全地域の沖合海底特別地区（熱水噴出域など）で、活動が停止や資源開発による海底攪乱が生じた場合、
  - 化学合成原核生物で「生物学的生産性」を評価
  - メイオベントスで「唯一性、又は希少性」、「生物学的多様性」を評価
- 漁業活動による攪乱が生じた場合、
  - 魚類や大型無脊椎動物などの「絶滅危惧種種の生育・生息地」、「脆弱性、感受性又は低回復性」を評価

## 5. 研究成果：5-1. 成果の概要

### 詳細なマニュアルの作成・公開

- 環境省等で深海生態系モニタリングを実施するためのマニュアル整備
- 約150ページ
- 環境省・環境再生保全機構 ERCAに提出予定
- JAMSTECほかWebページで公開



[https://www.jamstec.go.jp/bioenv/j/mpa-monitoring-method/pdf/monitoring\\_manual.pdf](https://www.jamstec.go.jp/bioenv/j/mpa-monitoring-method/pdf/monitoring_manual.pdf)

### 目次

1. 本マニュアル作成者
2. 背景と目的
3. 深海生態系モニタリング方法の概要
4. 海底設置型 フリーフォールランダーシステム
  - 4.1. ランダーシステム全体構成と観測概要
  - 4.2. ランダー搭載機器
  - 4.3. ランダー観測
5. 大型の魚類・無脊椎動物の分析
  - 5.1. 無人探査機ROVによる画像の取得と分析
  - 5.2. 環境DNA用ニスキ採水器による採水および前処理
  - 5.3. 魚類の環境DNAメタバーコーディング法（DNA抽出から種決定まで）
  - 5.4. 無脊椎動物の環境DNAメタバーコーディング法（DNA抽出から種決定まで）
6. メイオセントスの分析
  - 6.1. フローカムによる画像解析
  - 6.2. メタゲノムによる分析
7. 原核生物の分析（メタゲノム）
  - 7.1. 堆積物試料採取と船上での前処理
  - 7.2. 16SrRNA遺伝子アンプリコン解析による多様性と群集構造の把握
  - 7.3. ショットガンメタゲノム解析による原核生物叢と機能ポテンシャルの把握
  - 7.4. ショットガンメタゲノム解析による個別原核生物種の存在量の把握
  - 7.5. 原核生物数の把握
8. おわりに



## 5. 研究成果：5-2. 環境政策等への貢献

### <行政等が活用することが見込まれる成果>

#### A. 沖合海底自然環境保全地域（深海底の海洋保護区）の管理

##### 【深海における生態系モニタリングの効率化】

フリーフォール式現場観測装置（ランダー）を主体とした簡便で低コストな深海生態系のモニタリング手法は、高頻度な深海調査の機会を増加させ、深海域の生物多様性や生態系に関する科学的データの取得を促進に活用されることが期待できる。

##### 【沖合海底自然環境保全地域指定条件や生物多様性の観点から重要度の高い海域（重要海域）選定条件の点検】

沖合海底自然環境保全地域の健全性を確認するため、環境DNA、メタゲノム、画像から得られる生物多様性データと、ランダーで計測する環境データは「指定書」にある条件の点検に活用できる。

##### 【沖合海底自然環境保全地域保全計画の推進】

沖合海底自然環境保全地域の「計画書」には、「調査研究等の推進」と「10年ごとの点検」が提示されている。簡便で低コストな深海生態系のモニタリング手法を用い、高頻度で科学的データを取得しながら保全計画の効率的な実行に貢献する。

#### B. 30by30に向けた科学情報の集積（新たな保全海域設定のための科学情報の集積）

30by30目標を踏まえ深海底を含む沖合海域で海洋保護区もしくはOECMが設定される可能性が高く、効率的な深海生態系のモニタリング手法は、新たな保全海域設定のための科学的データの集積に活用できる。

#### C. 環境DNA解析手法の国際展開

UNESCOが2023年から進める「海洋世界遺産20海域の魚類相調査プロジェクト」では、本課題で用いた魚類群集モニタリング手法が標準法として採用される見込みとなった。

### <行政等が既に活用した成果>

- ・西七島海嶺沖合海底自然環境保全地域のフィールド調査は、環境省の受託調査航海「沖合海底自然環境保全地域モニタリング」と連携して実施した。本課題で得られた情報の一部は、環境省による西七島海嶺の沖合海底自然環境保全地域の管理に用いられた。
- ・環境省が二次的自然環境における調査に幅広く利用し、「環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き」を作成して公開している。
- ・国交省の河川水辺の国勢調査のテーマ調査にMiFish法が導入済みで、R8年度からは本調査に導入を予定としている。
- ・水産庁の各研究所でMiFish法の試行テストが行われ、人工魚礁の効果検証や東京湾における魚類群集調査に本手法が用いられ、直接的手法（目視観察やネット採集）では不明だった魚類群集の時空間動態が明らかとなった。
- ・MiFish法は民間にも波及しており、河川魚類群集の時空間変動を明らかにしたり、環境RNAを利用したMiFish法を開発することによって誤検出の確率を低下させたりなどの大きな成果を上げている。

## 5. 研究成果：5-3. 研究目標の達成状況

### プロジェクト全体：「目標を上回る成果をあげた」

#### 【目標どおりの成果】

- フリーフォール式現場観測装置（ランダー）を開発し、環境DNA、メタゲノム、画像解析の分析に用いるサンプルと、環境データを取得できる深海生態系モニタリング法を構築できた。従来より、小型・軽量化、低コスト化、オペレーションの簡便化ができた。
- 画像解析によりメイオベントスと大型底生動物の分類群判別と個体数を効率的に取得可とした。
- ランダーで得られたサンプル・データから、環境DNA、メタゲノム、画像解析で重要海域の抽出基準および「指定書および保全計画書」を評価する情報を取得可とした。

#### 【目標を上回る成果】

- 本課題で開発した手法の詳細なマニュアルを公表した。
- 深海生態系の最上位捕食者「ヨコヅナイワシ」を保全地域で確認し、本種がモニタリング指標種となることを見出した。
- 他のプロジェクトと連携しフィールド調査の機会を予算規模以上に増やし成果を増加させた。

### テーマ1：「目標を上回る成果をあげた」

#### 【目標どおりの成果】

- 脆弱で低回復な海綿動物と冷水性サンゴ類といった大型底生動物の分類群判別と個体数、被度を画像解析で効率的に取得可とした。
- 画像解析の深層学習のいくつかのモデルをサブテーマ2と検討し効果的なモデルを採用することができた。
- ランダーを開発し、環境DNA、メタゲノム、画像解析の分析に用いるサンプルと、環境データを他のテーマやサブテーマに提供した。
- 実海域で調査航海や会合などを実行し、各サブテーマの生物多様性モニタリング手法の構築を推進した。
- 深海堆積物からメイオベントスを簡便かつ高い回収率で分画、回収するための新たなサンプル処理技術を開発できた。FlowCAM画像の取得から、主要なメイオベントスの自動分類・計測に必要な基盤技術の開発できた。
- ランダーや画像解析が、深海の生物多様性モニタリング手法の1つとして有効であることを示した。

#### 【目標を上回る成果】

- 本課題で開発した手法の詳細なマニュアルを公表した。
- テーマ2と共同で、深海生態系の最上位捕食者「ヨコヅナイワシ」を保全地域で確認し、本種がモニタリング指標種となることを見出した。
- テーマ2などと共同で、8新種を発見した。
- 他の研究プロジェクトと連携しフィールド調査の機会を予算規模以上に増加でき成果創出を増加させた。

## 5. 研究成果：5-3. 研究目標の達成状況

### テーマ2：「目標どおりの成果をあげた」

#### 【目標どおりの成果】

- 目標分類群の遺伝子断片を増幅する既存のPCRプライマーを至適化するとともに、既存のものがいない場合は新規PCRプライマーを開発し、環境DNAから各種深海生物の検出可とした。
- 標本と紐づけたDNAのシーケンス情報を取得しリファレンス配列を充実させた。魚類では少なくとも科レベル、無脊椎動物では少なくとも目レベルの帰属を検出可とした。
- 次世代シーケンサーの大量データを解析するパイプラインを開発し公開した。リファレンス配列が不完全な場合も算出される系統樹から高次分類群への割り当てを可とした。
- 全国各地の海洋深層水（計1,100 L）をろ過することで至適実験手法の探索を可とし、各分類群で環境DNAメタバーコーディング法を確立できた。得られた群集データを時空間分析し深海生物の時空間動態の一端が明らかした。
- 沖合海底自然環境保全地域の海山と駿河湾から得たサンプルの環境DNAメタバーコーディングを行い、ヨコヅナイワシの新たな分布域や（テーマ1参照）、ダイオウイカを多くの地点で検出した。これら食物網の上位に位置する大型生物の検出も含め、本手法により唯一性・希少性、絶滅危惧種の生育・生息地、脆弱性・感受性又は低回復性、生物学的多様性といった重要海域の抽出基準項目を検出可とした。
- 環境DNAメタバーコーディングの実験手法をマニュアル化し、使用者が再現性の高い調査結果を得られるようにした。

### テーマ3：「目標どおりの成果をあげた」

#### 【目標どおりの成果】

- 原核生物や小型底生生物を対象として、海洋保護区に指定された海山周辺の堆積物サンプルのメタゲノム解析を可能とし、保護区指定の基礎となる重要海域の抽出基準を踏まえた多様性評価指標（多様性、唯一性、希少性、生産性）を取得する技術を確立した。
- 海山堆積物の原核生物から高品質のDNAを高効率で抽出するためのプロトコル、得られた塩基配列から機能遺伝子を解析するためのプロトコルを作成し、実サンプルを用いた機能的な比較ができた。機能遺伝子の解析から生産性を評価する方法を考案できた。
- 深海メイオベントス群集で優占するソコミジンコ類を例に、整備したデータベースを用いて、従来の形態分類と同等の多様性データ（種組成と各種の個体数）を得た。同じ方法で他の分類群についても解析することが可能であることから、沖合海底域の小型底生生物群集の多様性を評価し、重要海域の抽出基準を踏まえてモニタリングすることを可とした。

## 6. 研究成果の発表状況

### ■ 査読付き論文 21件

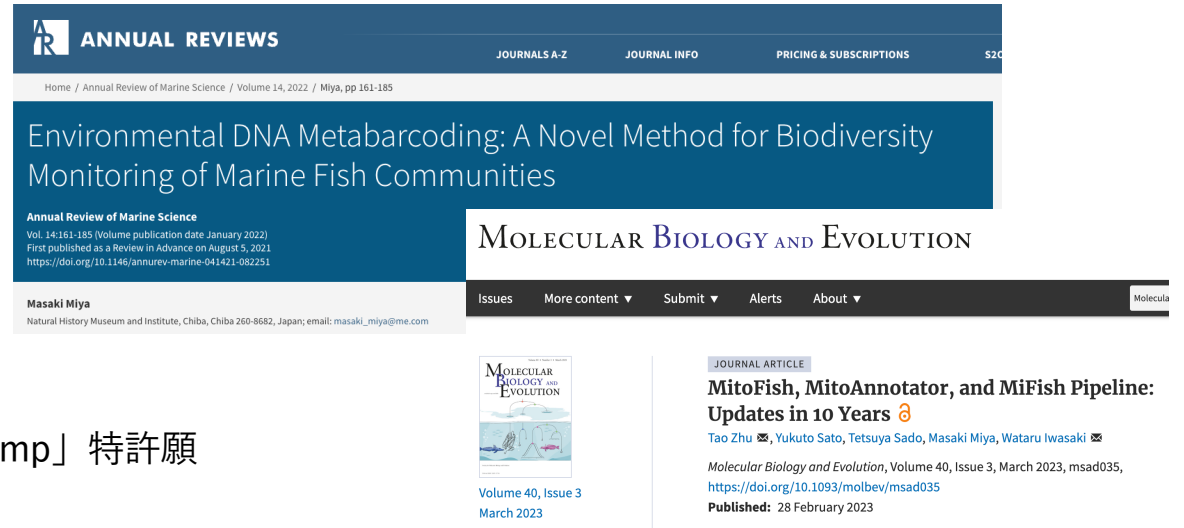
- Annual Review of Marine Science (IF: 16.561)
- Molecular Biology and Evolution (IF: 8.800)
- Frontiers in Marine Science (IF:5.247)
- DNA Research (IF: 4.477)
- Deep-Sea Research I (IF:3.101)
- PeerJ (IF:3.061) など

### ■ 知的財産権 1件

- 藤原義弘ほか「自律型大量濾過システムMASS Pump」特許願 22P007、令和5年3月20日

### ■ その他発表件数

- 査読付き論文に準ずる成果発表 0件
- その他誌上発表（査読なし） 3件
- 口頭発表（学会等） 21件
- 「国民との科学・技術対話」 52件
- マスコミ等への公表・報道等 40件
- 本研究費の研究成果による受賞 0件
- その他の成果発表 6件



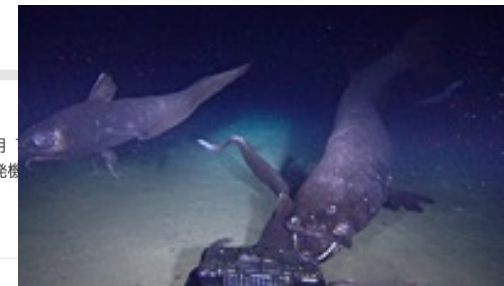
The screenshot shows the journal's homepage for the Annual Review of Marine Science. The main article featured is "Environmental DNA Metabarcoding: A Novel Method for Biodiversity Monitoring of Marine Fish Communities". Below this, there is a section for "MOLECULAR BIOLOGY AND EVOLUTION" with a featured article: "MitoFish, MitoAnnotator, and MiFish Pipeline: Updates in 10 Years" by Tao Zhu, Yukuto Sato, Tetsuya Sado, Masaki Miya, and Wataru Iwasaki. The article is published in Molecular Biology and Evolution, Volume 40, Issue 3, March 2023.

### プレスリリース



2022年 7月  
 国立研究開発法人海洋研究開発機構

ヨコヅナイワシが2000 m以深に棲息する  
 世界最大の深海性硬骨魚類であることを明らかに



#### 1. 発表のポイント

- ◆ ヨコヅナイワシの全長は250 cm以上に達し、水深2000 m以深に棲息する深海固有種として世界最大の硬骨魚類であることを発見。
- ◆ ヨコヅナイワシの分布が駿河湾よりはるか南方の海山にまで広がっていることを確認。
- ◆ 環境DNA解析とベイトカメラ調査を組み合わせることで、これまで研究が困難であったトップ・プレデターなど大型の希少種の研究を効率的に推進可能であり、今後の沖合海底自然環境保全地域（沖合海洋保護区）モニタリングにも有効。