

【4-1602】環境 DNA を用いた陸水生態系種構成と遺伝的多様性の包括的解明手法の確立と実践 (2016~2018 125,083 千円)

研究代表者 土居 秀幸 (兵庫県立大学)

1. 研究実施体制

- (1) 湖沼・ため池における環境 DNA による生物多様性推定手法・指標の開発 (兵庫県立大学)
- (2) 環境 DNA による生物多様性調査の高効率化を目指した調査・分析手法の検討 (龍谷大学)
- (3) 環境 DNA メタバーコーディングのためのユニバーサルプライマーとリファレンスデータの充実 (千葉県立中央博物館)
- (4) 環境 DNA メタバーコーディングデータからの多様性指標・群集解析パイプラインの開発 (東北大学)
- (5) 六甲山周辺地域をモデルとした環境 DNA による水域生物相モニタリング手法の確立 (神戸大学)
- (6) 汽水流域における環境 DNA による底生動物相モニタリング手法の確立 (島根大学)
- (7) 環境 DNA を用いた北海道陸水域における固有種・外来種の包括的分布評価と有効集団サイズ推定手法の確立 (北海道大学)
- (8) 核 DNA マーカーを用いた個体群の遺伝的構造の解析 (大阪大谷大学)

2. 研究開発目的

本研究プロジェクトでは、国内の環境DNA研究者を結集し、これらの先駆的な研究をより発展させ、環境DNA解析に基づく生物分布や生物多様性の詳細かつ広域的な推定方法を開発する。更に、魚類に限らず水草や昆虫、甲殻類など、水圏生態系の主要な構成生物を包括的に解析する手法や、種内変異などの遺伝的多様性を評価する手法を開発する。最終的な目標は、1リットルの水を採水するだけで、ある水域の種組成や遺伝的多様性を明らかにする革新的な解析技術を確立することである。この技術の実践により、生物多様性の評価をより低コストでより広範に行うことができるようになる。

本研究の最終目標は、この研究で得られた成果を公開し、環境DNAを用いたメタバーコーディングによる生物種組成の把握、種内遺伝的多様性を含む生物多様性の推定を包括的に行うシステムを提案することである。

そのために、湖沼、河川、汽水域などの陸水域生態系に生息する魚類、昆虫、水草といった多様な生物種の分布や動態を、1リットルの水を汲むだけで把握する革新的技術を開発する。この環境DNA技術により、外来種・希少種を含めた生物群集の簡便かつ迅速な生物分布モニタリングが可能となる。

さらに、ミトコンドリアDNAマーカーや核DNAマーカーを用いて、遺伝的多様性に基づく各種・各集団の絶滅リスクといった「健康状態」を明らかにする手法を開発する。これらの目的を達成するために以下の3つの大きなテーマを設定した。

- 1) 陸水生態系種構成の解明手法の確立と実践
- 2) 環境DNAメタバーコーディング手法の開発
- 3) 遺伝的多様性の解明手法の開発

これらのテーマについて、日本の環境DNA研究グループを結集して組織を形成し、各サブテーマがそれぞれの目標に向けて研究を進めるとともに、サブテーマ同士で、流動的に共同研究を行う。

3. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

本研究開発により得られた成果の重要な科学的意義として、大きく以下の3点が挙げられる。まず、サブテーマ1、2、4、5、6、7などで様々な水域環境において、MiFishプライマーによる環境DNAメタバーコーディング解析を試みて、多くの部分で種リストの作成に成功した。いくつかの問題点としては、PCRによる増幅が難しいことがあること、網羅できない種があることなどが挙げられ、次年度以降の開発により解決する予定である。次に、サブテーマ3、4、5などを中心に、日本各地から魚類や、哺乳類、鳥類、動物プランクトン、水生昆虫類を中心とした陸水生物の採集とDNA配列の決定を行い、それらの標本からリファレンスとなるDNA塩基配列を取得した。それらのデータを今後のメタバーコーディングに生かすことが可能である。そして、サブテーマ7、8では、核DNA上の多型マーカーへの環境DNA手法の適用法の検討を行い、コイにおいては、実験室や野外の湖沼・河川において、上手く検出できることが明らかとなってきた。今後はこれを超並列シークエンスによる解析にも応用していく予定である。

本研究プロジェクトでは、様々な環境DNA技術が個別に開発されてきたようにもみえる。しかし、これらの多種多様な分類群のDNAを増幅するユニバーサルプライマーによる環境DNAメタバーコーディング解析とその関連技術は、本研究で目指した1リットルの水から生態系を丸ごと診断することを達成できる技術になっていると考えられる。つまり下図に示すように、遺伝的多様性から個別の生物種の把握、生物群集の把握までができる総合的な環境DNA技術の構築ができたと考えられる。また、世界に先駆けて、これほど多様なユニバーサルプライマーによる環境DNAメタバーコーディング解析技術とその調査法や野外適応を進めていることは国際的にも大変高く評価されており、代表者を含めてヨーロッパやアメリカとの共同研究や環境DNA技術に関連する会議への招聘からもうかがえる。

これらの科学的な意義については国内においても高く評価されており、多くの報道や市民向けの講座依頼などがなされている。また2018年5月には、一般社団法人環境DNA

学会が設立され、9月には東京にて第1回大会が行われた、この設立には、代表者、分担者7名が発起人となって立ち上げ、理事や、専務理事、副会長となって大きく貢献している。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

環境省では「絶滅危惧種分布重要地域抽出のための環境 DNA 分析技術を用いた淡水魚類調査手法の標準化・一般化に関する検討会」を開いている。この検討会の委員として、代表者（土居）と分担者（源）が参画している。環境省の事務局と実験マニュアルやリファレンスデータベースに関して情報交換を行っており、本サブテーマの成果が既に活用されている。

2018 年度神戸市生物多様性の保全に関する条例にかかる希少種生息調査（ヒダサンショウウオ）に環境 DNA 分析が用いられた。

環境省、林野庁、北海道および学識経験者などの構成員からなる知床世界自然遺産地域科学委員会・河川工作物アドバイザー会議において、オショロコマ長期モニタリング調査結果の一部として本研究成果の一つである知床半島内の河川環境 DNA 調査の結果が示され、今後知床半島のオショロコマモニタリングにこの技術を活用していくことが承認された。（オショロコマ長期モニタリング調査結果資料にこの解析結果の一部が採用されている）。

国土交通省では「環境 DNA の河川事業への適用を目指した共同研究に着手 -水をすくって川の生き物を特定-」とする報道発表を平成 30 年 4 月 24 日に行い、土木研究所と民間会社が共同研究（平成 30～32 年）を行うことを発表した。国交省ならびに民間会社とは、実験マニュアルやリファレンスデータベースに関して情報交換を行っており、本サブテーマの成果が既に活用されている。

<行政が活用することが見込まれる成果>

環境省では上記の絶滅危惧種を対象にした調査に加え、様々な場所での今後の生物モニタリングに環境 DNA の活用を考えているため、本研究成果の活用が欠かせない。上記の検討会についてもあと 3 年間引き続き検討されるということで、本研究成果の活用が大いに期待される。

国土交通省では上記の技術開発を「河川水辺の国勢調査」に取り込むことを目指されておりすでに代表者や分担者との議論が進んでいる、本研究成果の活用は必須となる。

水産庁では平成 31 年度水産予算概算要求の資料で「スマート水産業推進事業」を掲げており、その中で環境 DNA 解析の技術を取り入れ、資源変動要因や環境変化の解析を行うとともに、解析データを蓄積し、資源評価に活用するためのデータベースを構築すると明記している。したがって、本研究成果が鯨や水鳥に加えて十脚甲殻類の資源評

価に使われる可能性が高い。

4. 委員の指摘及び提言概要

環境 DNA を用いた陸水汽水の生物多様性研究の手法開発に貢献した。時間的にも経済的にもロスを省けるスクリーニング調査法として有用であり、各地の環境行政に活かせる。サブテーマ7の成果は、行政ニーズによく応えている。またサブテーマ3の成果は、本研究の目的達成の基礎となる重要な成果である。サブテーマ4は、形態分類の困難な動物プランクトンについて、将来性のある成果が得られている。Mt COIに限らない環境 DNA 技術の開発に挑んだサブテーマ8については、今後の進展を期待する。今後は定量化技法の開発や、実際の生息分布との一致率（精度）に関する研究が求められる。海外の事例を参照することが十分に行われていない。総花的なテーマ展開で、効率的な予算執行には疑問がある。

5. 評点

総合評点：A