

第64回日本水環境学会セミナー

「水環境における環境DNAを用いた生物モニタリング」

開催日： 2019年1月25日（金）

会 場： 自動車会館

開催趣旨：

湖沼や河川などで採取した水の中に浮遊する環境DNAの分析技術の発展により、生物のモニタリング方法が大きく変わり始めています。環境省の「生物多様性総合評価報告書」では、陸域における生物多様性が1950年代後半から大きく損なわれていることが報告されています。生物多様性を効率的に保全するためには、河川管理者は環境を適切に監視することが重要となってきます。どのようにアプローチすれば、環境DNA技術が、このような環境監視に有用な技術となりうるのか。本セミナーでは、環境DNAを用いた生物モニタリングから、種特異的な環境DNA検出によるマクロ生物の生態調査、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、魚類環境DNAメタバーコーディング法による多様性評価まで、各分野の専門家をお招きし、最新情報および今後の展望についてご講演いただきました。

講演タイトル（講師／所属（当時））と概要

○ ビッグデータで進化する川づくりと環境 DNA

（中村 圭吾／国立研究開発法人土木研究所 水環境研究グループ）

新技術の登場で河川管理は大きく進化しようとしている。UAV や航空機グリーンレーザなどにより、河川測量は3次元化され、これまでよりも精度高く、はるかに多くの空間データが使えるようになってきた。3次元データを活用した河川CIM（Construction Information Modeling/Management）や水理計算や環境評価もできるようになってきた。その一方で、生物については河川水辺の調査が定期的に行われているが、調査地点が少ないうえに、直轄河川以外ではほぼ調査データがないのが現状である。

環境DNA技術は、そのような状況の中、簡易に、かつ低コストで生物調査ができる可能性のある手法として、河川管理者の注目が集まっている。実際に、秋田県では貴重種の生息場所のスクリーニングに環境DNA調査が活用され成果を得ている。科学的な検討が必ずしも十分でない中、試行的な活用が全国の現場ですでに始まっている。今後さらなるコストの低減も期待できると考えており、これまでデータの少なかった中小河川のデータ充実も可能であろう。結果のデータベースについても期待される場所である。

しかしながら、河川のなかの環境DNAの挙動は、不明な点が多く、結果は得られるものの、その結果の意味するところの解釈が難しい。流下方向にどこまで流れるのか、分解速度は、季節的な変化は、誤同定のリスクはどの程度なのかなど、整理すべき基本的な知見も数多く残っている。その一方で、特定の種に関する在不在情報の判断は確度が高く、貴重種の保全等には現状でも十分有効であるし、実際に成果も出ている。

生物ビッグデータと空間ビッグデータが合わさることによって、河川生物の生態や重要な生息場所が明らかとなり、環境面での河川管理のレベルが飛躍的に向上することが期待されている。そのためにも、環境DNA技術の進展を図るとともに、その適用範囲を明らかにし、賢く活用するための知恵の結集が急がれる。

○ 種特異的な環境 DNA 検出による希少種や外来種の分布状況調査

(源 利文／神戸大学大学院人間発達環境学研究科)

川や湖で水を一杯すくってこれば、そこにどんな生物が住んでいるのかがわかるという環境 DNA 分析がマクロ生物（微生物ではない生物のこと）に適用されるようになってから約 10 年が経った。この間にマクロ生物の環境 DNA 分析はめざましく発展を遂げ、生物分布の調査に利用することが可能になってきた。本講演では、環境 DNA 分析の基礎を簡単に概説した後に、種特異的な環境 DNA の検出によって希少種や外来種の分布を把握することに成功した事例を中心に紹介する。希少種の発見事例では、兵庫県のカワバタモロコや岐阜県のカスミサンショウウオの新規生息地の発見、秋田県のゼニタナゴの繁殖地の発見の事例について紹介する。これらの事例では環境 DNA 分析を適用することで、レッドリストに掲載されるような希少種の生息地を比較的短期間に発見することに成功しており、環境 DNA 分析のパワーを感じることができるだろう。外来種の侵入状況の把握については、ブルーギルやニジマスなどの外来種がどこに生息しているかを調査した事例を紹介する。いずれも目視などの従来型の調査では見逃していた個体群の存在を示唆する結果を得ており、外来種の侵入範囲の正確な把握に役立つことが期待される。また、希少種と近縁の外来種の関係にあるオオサンショウウオとチュウゴクオオサンショウウオの同時検出も環境 DNA 分析の優れた点を利用した事例である。さらに、外来種の防除効果を検証することへの応用可能性についても紹介する。最後に、単純な在不在の検出だけでなく、生物の状態や行動を把握するツールとしての発展性に関して述べ、種特異的な環境 DNA 分析の将来像について議論したい。

○ 魚類環境 DNA メタバーコーディング法による多様性評価：技術開発と応用

(宮 正樹／千葉県立中央博物館)

ある水域の魚類群集の組成を明らかにするには、潜水観察をしたり漁具を使って魚を採捕したりなど、多大な労力と費用がかかるうえに長期間の調査が必要となる。さらに、日本産の魚類だけでも 4,000 種以上いるため、魚種の同定を行うためには高度に専門的な知識と経験が必要となる。「どこにどんな魚がいるのか？」というシンプルな問いに答えるのは容易なことではない。

Miya *et al.* (2015) が開発したメタバーコーディング法（多種同時並列検出法）は、これまで魚類群集研究の足かせとなってきたこれらの障害を乗り越える画期的なものである。とくに、魚の体表の粘液や糞などととも水中に放出された DNA（環境 DNA）を利用することで、バケツ一杯の水をくむだけで生息する魚種の概要を知ることができるようになったのは大きな成果である。

環境 DNA を用いたメタバーコーディングは、①採水；②フィルターを用いた水のろ過；③フィルター上からの DNA 抽出；④ユニバーサルプライマー MiFish による超可変領域（ミトコンドリアの 12S rRNA 遺伝子の断片約 170 bp）の増幅とシークエンスプライマーの付加（1st PCR）；⑤1st PCR 産物に対するアダプターとインデクス配列の付加（2nd PCR）；⑥次世代シークエンス MiSeq による超並列シークエンシング；⑦出力されたデータの一次処理とその解析からなる。

最近、フィルターがプラスチック製のカートリッジに封入されたステリベクスという製品を用いたろ過・抽出法が Miya *et al.* (2016) によって開発された。この手法を用いることにより、環境 DNA で大きな問題となるコンタミのリスクが大幅に軽減され、なおかつ DNA の収量も多くなったことは特筆される。また、シリンジをつかって手動でろ過することにより、電気がつかえないフィールドでも

ろ過できるようになった。

本講演では、環境 DNA メタバーコーディングの技術的側面について概説するとともに、この技術を応用して京都府の舞鶴湾で行った調査 (Yamamoto *et al.* 2017)、ステリベクスを用いた現場ろ過法を用いて 2017 年夏に実施した全国一斉魚類調査、さらには同様の方法を用いて房総半島南端に設けた 11 測点で実施中の多地点・高頻度調査の予備的解析結果について発表する。

引用文献

- Miya, M. et al. (2015) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, **2**: 150088.
- Miya, M., T. Minamoto, H. Yamanaka, S. Oka, K. Sato, S. Yamamoto, T. Sado and H. Doi (2016) Use of a filter cartridge for filtration of water samples and extraction of environmental DNA. *Journal of Visualized Experiments*, **117**: e54741.
- Yamamoto, S., R. Masuda, Y. Sato, T. Sado, H. Araki, M. Kondoh, T. Minamoto and M. Miya (2017) Environmental DNA metabarcoding reveals local fish communities in a species-rich coastal sea. *Scientific Reports*, **6**: 40368.

○ 環境 DNA を用いた河川生物モニタリング

(赤松 良久／山口大学大学院創成科学研究科)

近年、急速に発展している環境 DNA 技術は海域・湖沼・河川等の様々な水域における生物調査に活用されつつある。本講演では特に河川内での魚類量や魚類相のモニタリングへの環境 DNA の活用について検討した研究事例を紹介する。

まず、カワムツを対象とした水路実験およびアユを対象とした現地調査によって、環境 DNA 濃度と魚類の現存量に明確な相関があることを明らかにした。しかし、環境 DNA 濃度から魚類の絶対量を把握するにはいくつかの課題もあり、そのうちの採水した水が反映する範囲が不明確であるという課題の解決のために、河川における環境 DNA 含有物質の動態の把握について検討した。また、国土交通省の実施している河川水辺の国勢調査に合わせて、魚類のメタバーコーディング解析を実施し、止水・流水に関わらずにタバーコーディングによる魚類相の把握は有効であるが、底生潜掘魚のモニタリングへの適用にはさらなる検討が必要であることが明らかとなった。

次に、島根県高津川および山口県佐波川において、環境 DNA 濃度の変化からアユの遡上・降下・産卵動態を把握できることを明らかにした。また、アユの好適産卵場の把握への有効性を高知県奈半利川の人工産卵場等や高津川の産卵場において検証した。さらに、東京都多摩川を対象として、流域内のアユの分布の特徴を明らかにした。

これらのモニタリング事例に加えて、環境 DNA 調査に有効な採水ドローンの開発に関する研究も紹介する。

○ 大規模生態系データは何をもたらすか：環境 DNA 観測の将来

(近藤 倫生／東北大学大学院生命科学研究科)

近年、水や土壌といった環境試料から抽出される生物由来 DNA (環境 DNA) を利用した生態系調査技術が大きく発展した。環境 DNA を利用した生態系調査の最大の特徴はその迅速性と省力性にある (Miya

et al. 2015, Yamamoto et al. 2016)。そして環境 DNA 技術の真の意義は、これにより観測の大規模化への道を拓いたことにある（近藤 2018）。

生態系の動態は多数の生物・非生物要素間の非線形な相互作用によって駆動されている。生態系の理解の成否は、この複雑性を捉えるための(1)大規模生態系データの獲得および(2)大規模データから生態系情報を取り出すための高度なモデリング手法の確立にかかっている。環境 DNA 技術を利用すれば極めて高頻度での生態系調査が可能になる（Ushio et al. 2018）のみならず、これまでは実施が困難であった数百地点での同一手法での生態系調査（CREST 未発表 [代表 近藤]）が実現できることがわかってきた。また、大規模生態系データを扱うための高度なモデリングの発展とともに、生物量推定（Yamamoto et al. 2017, Fukaya et al. 2018）や短期の動態予測も射程に入ってくるだろう。環境 DNA 技術が進展すれば、全国の多地点において、産官学のみならず市民も参加する形での大規模生態系観測が実現するだろう。また、この大規模観測から得られたデータが広く共有され、これに基づいて生物多様性評価や生態系異常検知、保護区選定や対策効果評価が実施される高度生態系情報社会が実現すると思われる。その実現を促進するためには、採水・濾過～DNA 分析～データ解析と多岐にわたる環境 DNA 観測の科学的基盤を固めること、環境 DNA 観測実施とインフラ整備、環境 DNA 観測手法の標準化と共有・改善、さらには環境 DNA 観測データの共有システム構築と管理方策の策定が必要となっていくであろう。

2018 年 4 月には、環境 DNA 技術に関わる研究をリードしてきた科学者を中心に、環境 DNA 学会が設立された。本学会は、環境 DNA 技術の発展と、環境 DNA 技術を活用した自然調和型社会の実現を目指す有志の交流の場として機能する。学会では、これまでの技術蓄積を利用して環境 DNA 調査の標準プロトコルが策定され、行政による生態系観測にも利用されつつある。今後、様々な分野の研究者、行政、企業、市民と連携し、人間の幸福に資する大規模生態系観測のシステムづくりを進めていきたいと考えている。