

【4RF-1302】環境 DNA 技術を用いた生物分布モニタリング手法の確立( H25 ~ H27; 累計予算額 35,156 千円)

土居 秀幸 (兵庫県立大学)

## 1. 研究実施体制

- (1) 定量 PCR による環境 DNA 手法の開発 (広島大学)
- (2) 核 DNA、シーケンスによる環境 DNA 手法の確立 (神戸大学)
- (3) 生物移動分散研究への環境 DNA の適用 (学校法人龍谷大学)
- (4) 外来種・希少種調査への環境 DNA の適用 (兵庫県立大学)

## 2. 研究開発目的

生物種の保護・管理をする上で最も基本的かつ重要な情報は、生物の生息分布や個体数、生物量である。分布や個体数推定には、様々な手法や分布予測モデルが提案されてきており、近年になってもその議論が終息することはない。これらの従来の研究では、生物の生息場所や生息量を知るためには、採集を行う、網を仕掛けるなど、多大な労力と時間をかけて調査を行う必要があった。これらの調査方法は、信頼性が低いことや調査対象を広げられないなどの問題点が挙げられていた。よって、生物の分布や生物量などを迅速かつ広域で推定できる新たな手法を開発する必要がある。その問題を解決する手法として本研究では、環境 DNA による生物分布モニタリング手法を提案する。本研究では、ミトコンドリア DNA および核 DNA による定量 PCR と DNA シーケンスにより環境 DNA による生物分布や生物量の推定方法を開発する。開発した環境 DNA 技術について、河川、湖沼、ため池などの淡水域において適用し、希少種、外来種などの生物分布範囲、移動分散の範囲の抽出、さらに野外での生物量の定量を目指す。また、野外での調査を通じて、どのような環境要因が環境 DNA の定量に影響するかについても明らかにする。本研究の最終的な目的は、生態系の管理者や技術者が、簡便に生物分布のモニタリングに利用できる、環境 DNA 技術を確立することである。

## 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、以下の4点が挙げられる。

- 1) 生物分布調査への環境 DNA 手法の適用：本研究で示された、外来種の生物分布や希少種の新規分布域について環境 DNA を用いて探索する手法は、概念としては提唱されていたものの、実際にそれに成功した事例はこれまでほとんど報告されておらず、科学的に重要な成果である。さらに、環境 DNA サンプルから、同属の近縁種の DNA を区別して検出する手法や、マルチプレックス PCR を用いた多種 DNA の同時検出系もこれまでに報告がなく、環境 DNA 分析を実用化する上で重要な成果である。特に矢作川でのアユの移動分散調査では、毎月一回の調査と付随する分析をほぼ2名の調査者で実施でき、非常に省力化できることが示唆された。生物の移動分散調査は多くの研究で非常に基礎的かつ労力のかかるパートである。対象種の DNA を現場から採取するという環境 DNA 分析は、労力が小さく、かつ、明確な科学的根拠をもった結果が得られる手法である。実際の野外調査での実行性を示した本研究は実務的調査研究への橋渡しとして意義が大きい。

- 2) 環境 DNA からの生物量推定: これまでに実験生態系を用いた高原らや他の研究で明らかになった、環境 DNA と魚のバイオマスや個体数の関係について、比較的面積が大きく、自然環境に近いため池全体でもある程度定量できること、さらには河川などの流水系でも推計できる可能性が示された。
- 3) 環境 DNA による遺伝型の判別: 同種内外来種などの種内の遺伝子型間の違いを環境 DNA から判別し、その割合を定量できる可能性が示された。
- 4) 核 DNA による環境 DNA 手法の開発: 本研究で見出された魚類の核 DNA を環境サンプルから検出することが可能であることや、核 rDNA の ITS1 領域のコピー数がミトコンドリアの CytB 領域のコピー数よりも 100 倍以上多いことはこれまでに知られていなかった事実である。この結果は、環境 DNA 分析の感度向上やバイオマス推定精度の向上に役立つと考えられる。

## (2) 環境政策への貢献

これら本研究開発により得られた環境 DNA 技術については、すでに様々な省庁や自治体、環境コンサルタント会社から問い合わせを受けており、すでにいくつかとは共同で研究や実地での応用を開始している。また、本研究開発のゴールであった日本語によるマニュアル化については日本生態学会雑誌の特集号にて環境 DNA 手法に関する詳細な総説が出版される（受理済）。

### < 行政が既に活用した成果 >

本研究によるため池や河川での環境 DNA 検出技術を応用した調査が、環境省中国四国地方環境事務所の「平成 27 年度希少淡水魚生息域における外来魚等防除のための環境 DNA 分析技術開発業務」に用いられ、外来魚および希少淡水魚種の環境 DNA 検出結果が報告された。さらに、河川やダム湖の生物群集の把握のために、すでに国土交通省の外郭団体であるダム水源地整備センターにおいて、同環境 DNA 技術を利用した評価方法の検討のために、同センター設置の氾濫原研究会において検討のための調査・実験を依頼されている。

### < 行政が活用することが見込まれる成果 >

環境 DNA 分析は現場での作業が水をくむだけであるというその省力化された特性があり、今後は水産資源の管理（放流効果の検証等）や外来種の侵入検知、希少種の探索等に有効活用が期待できる。DNA という物証を持って結果を出せるため、これらの課題にかかわる行政判断が求められる場面で活用されることが期待できる。さらに、環境省レッドリストにおいて絶滅危惧類（VU）に指定されているオオサンショウウオや、特定外来生物であるブルーギル、オオクチバス、コクチバスなどの DNA 検出技術は、対象種の検出やバイオマス推定等に利用可能であり、希少種の保護事業や、外来種の駆除活動などに直接利用可能である。また、技術の応用によって他の生物種にも利用可能であるため、環境調査等の事業に応用されることが見込まれる。さらに判別が難しい同種内外来種などの遺伝型が異なる種や集団についても適用可能であり、新たな生物分布調査方法として非常に有効であると見込まれる。

## 4. 委員の指摘及び提言概要

環境 DNA の高感度かつ定量的な測定法の実用化を進め、全ての系でモニタリングに成功した。更に、新しい検出系としてマルチプレックス PCR による多種 DNA の同時検出に成功すると共に、核 DNA による検出系が従来のもとのミトコンドリア検出系よりも遙かに高い検出能力を持つことを発見したことも大きな成果である。少なくとも生物の在・不在に関して生物の分布調査に用いることができるレベルに達した実用的な段階にあることが示され、行政的にも大きな貢献となった。しかし生物量の推定に関しては、手法の確立には至らなかった。

## 5 . 評点

総合評点：A