



岡山大学記者クラブ

筑波研究学園都市記者会

文部科学記者会

科学記者会

農政クラブ

農林記者会

農業技術クラブ

御中

令和 4 年 12 月 21 日

岡 山 大 学

農 研 機 構

## 国内希少野生動植物種スイゲンゼニタナゴの新しい調査手法を開発！ ～水をくむだけの環境 DNA 分析で絶滅危惧種の保全を目指す～

### ◆発表のポイント

- ・淡水魚のスイゲンゼニタナゴは、種の保存法で国内希少野生動植物種に指定されており、早急な保全策が必要とされています。国内希少野生動植物種に指定されている魚類はわずかに 10 種のみです。
- ・河川や農業水路の環境水中には、生息している生物から糞や粘液などが排出されますが、それらの中にはその生物に由来する環境 DNA が含まれています。本研究では、環境 DNA 分析によってスイゲンゼニタナゴの生息の有無を推定できる新たな調査手法の開発に初めて成功しました。
- ・環境 DNA 分析における調査は採水のみで済みますので、たも網などの漁具を用いる従来の魚類調査法に比べ、スイゲンゼニタナゴの分布調査を魚にダメージを与えることなく短時間で効率的に進めることが可能となりました。
- ・今回開発された手法で調査を実施することで、スイゲンゼニタナゴの生息状況を効率的にモニタリングできるとともに、スイゲンゼニタナゴの新たな生息地の発見にもつながることが期待されます。

岡山大学大学院環境生命科学研究科博士前期課程大学院生（当時）の大槻華乃子さん（応用生態工学）（現・株式会社カイハツ）、同学術研究院環境生命科学学域（工）の中田和義教授（保全生態学）、同学術研究院自然科学学域（牛窓臨海実験所）の濱田麻友子准教授（進化・ゲノム生物学）と坂本竜哉教授（総合水圏生物学）、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構本部の小出水規行セグメント IV 理事室長（農村生態工学）の共同研究グループは、種の保存法で国内希少野生動植物種に指定されているスイゲンゼニタナゴの環境 DNA 検出法の開発に成功しました。

本研究の成果は、2022 年 11 月 23 日に国際学術誌「*Landscape and Ecological Engineering*」の電子版・特集号「Environmental DNA as a Practical Tool for Aquatic Conservation and Restoration」に掲載されました。

環境 DNA 分析では、従来の魚類調査法に比べ、少ない労力で効率的に魚類の分布を評価することができ、魚を傷つけることもありません。本研究成果は、スイゲンゼニタナゴの最新の生息状況を簡便ながらも高い精度で評価することを可能にするとともに、新たな生息地の発見につながることも期待され、スイゲンゼニタナゴの保全に大きく貢献することが期待されます。



## ◆大槻さんからのひとこと

岡山にも生息している希少種の保全に携われてとても貴重な経験ができたと感じております。研究対象種のスイゲンゼニタナゴを初めて見たときは、とっても美しい魚だと感動しました。学部4年で研究をはじめた当初は、ピペットマンの使い方すら分からず、大変苦労しました……。右も左も分からない状態から研究をはじめましたが、先生方の手厚いご指導をいただき、このような形で結果を示すことができとても嬉しく思っています。



大槻さん

## ◆中田教授からのひとこと

魚・ザリガニ・昆虫など、さまざまな生き物をひたすら捕まえ続ける少年時代を過ごした私にとって、水をくむだけで棲んでいる生き物の種がわかるようになるとは、夢にも思っていませんでした（実際に生き物を捕まえる方が楽しいのですが！）。スイゲンゼニタナゴは、各地で地域絶滅し、極めて危機的な状況です。今回開発した手法により、スイゲンゼニタナゴの保全対策が効率的に進み、本種が普通に見られる日がやってくることを願っています。



中田教授

## ◆濱田准教授からのひとこと

これまで主に海の生き物の研究をしてきたこともあり、実は川の生き物である淡水魚は全く眼中になかった（すいません！）のですが、今回の共同研究を通じて岡山の淡水魚の豊かさや可愛さ、それが危機的な状況にあることを知ることができました。環境DNA分析ではターゲットのDNA配列さえわかれば生物種を問わず調べることができます。配列データベースも充実してきた今、この方法を様々な生物・分野に活用していきたいと思っています。



濱田准教授

## ■発表内容

## ＜現状＞

スイゲンゼニタナゴ (*Rhodeus atremius suigensis*) (図1) は、岡山県南部と広島県芦田川水系（福山市）の河川や水路で見られる淡水魚です。かつては兵庫県の千種川水系でも確認されていましたが、現在までに絶滅したと考えられており、岡山県や福山市でも各地で激減し、地域絶滅も起きています。

これらのことから、スイゲンゼニタナゴは環境省レッドリストで「ごく近い将来における野生での絶滅の危険性が極めて高い」絶滅危惧 IA 類とされているとともに、種の保存法では国内希少野生動植物種に指定されています。国内希少野生動植物種に指定されている魚類は10種のみですが、平成30年までは本種を含め僅か4種に限られていました。このように、スイゲンゼニタナゴは極

めて絶滅リスクの高い淡水魚と言えます。このため、スイゲンゼニタナゴの最新の生息状況を常に把握し、有効な保全策を講じていくことが強く求められています。



図1 スイゲンゼニタナゴのオス（左上）とメス（左下）。タナゴ類は二枚貝の体内に卵を産むというユニークな繁殖生態を有する（右）。オスは繁殖期になると美しい婚姻色を呈する。

<研究成果の内容>

本研究ではまず、スイゲンゼニタナゴの DNA のみを種特異的に増幅させることが可能なプライマーとプローブ<sup>1)</sup>を作製しました。このプライマー・プローブを用いたリアルタイム PCR 法<sup>1)</sup>で、スイゲンゼニタナゴの DNA は増幅される一方、近縁なタナゴ類の DNA は増幅されないことを確認しました。

次に、スイゲンゼニタナゴ 1 個体または 5 個体を、3・30・60 分間水槽で遊泳させる室内実験を実施しました。遊泳時間終了後に各水槽で採水し、その後にリアルタイム PCR 法を用いて環境 DNA を定量しました（図 2）。

その結果、1 個体・5 個体を用いた実験ともにスイゲンゼニタナゴの DNA を検出することに成功し、5 個体を遊泳させた水槽からより多くの DNA が検出されました。また、5 個体を用いた実験では、遊泳時間 3 分に比べ 30 分では約 5 倍の DNA 量が検出され、本手法の定量性が示されました（図 3）。

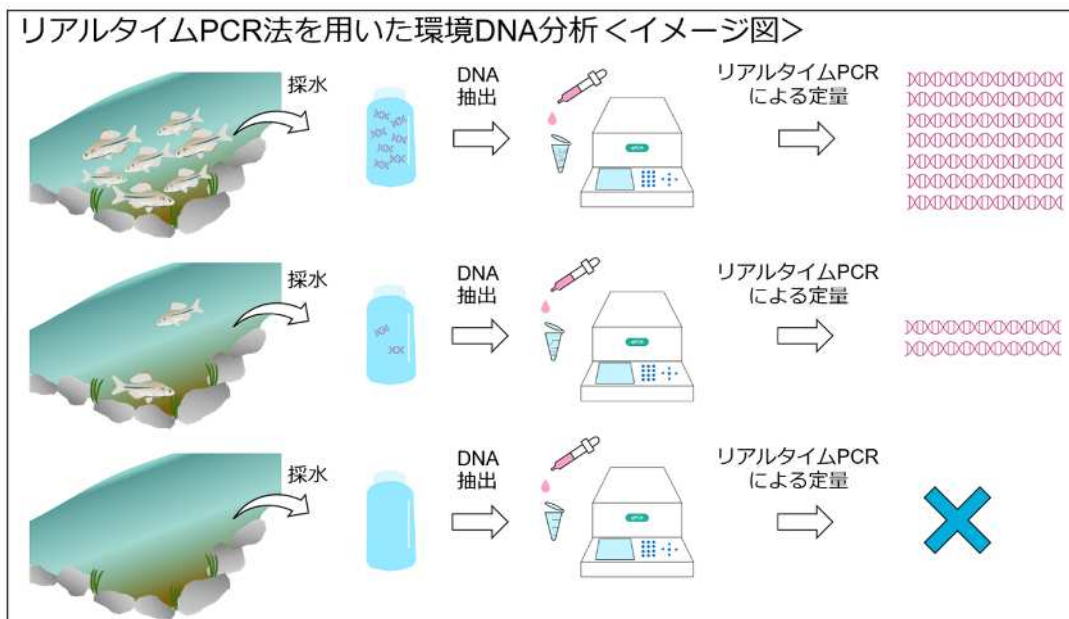


図 2. リアルタイム PCR 法を用いた環境 DNA 分析によるスイゲンゼニタナゴの DNA 検出の概念図。スイゲンゼニタナゴの生息個体数が多いほど環境 DNA 量は多くなるため、個体数が多い・



少ないを定量的に評価することができる。一方で、スイゲンゼニタナゴが生息していなければ環境水中にはその DNA が含まれないため、環境 DNA は検出されない。

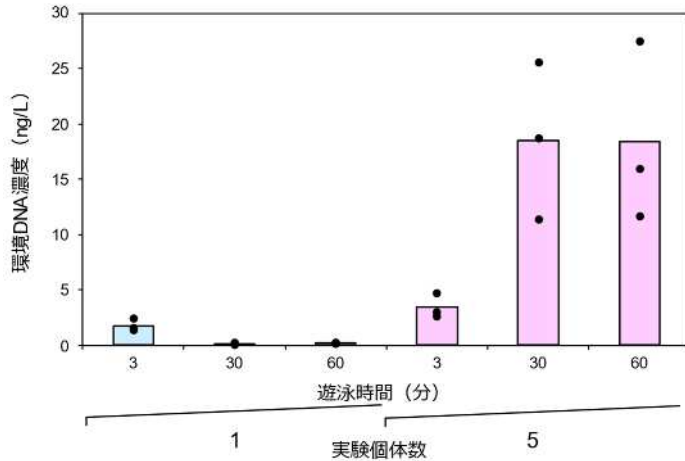


図3 リアルタイム PCR で検出された遊泳時間別のスイゲンゼニタナゴの環境 DNA 濃度.

本研究ではさらに、フィールド調査における環境 DNA 分析の有用性を検証しました。この調査では、スイゲンゼニタナゴが実際に生息している水路に 48 カ所の調査地点を設け、環境 DNA 分析のための採水後に、各調査地点に魚類を採捕するための漁具を仕掛けました。そして、スイゲンゼニタナゴの捕獲地点から下流方向への距離と環境 DNA 濃度の関係について解析しました。

その結果、計 21 個体のスイゲンゼニタナゴが捕獲され（ライン 2 右岸で 20 個体、ライン 2 中央で 1 個体）、両地点から数百メートル下流まで環境 DNA が検出され、下流に行くほどその濃度は有意に減少する傾向が認められました（図 4）。したがって、本研究で開発したスイゲンゼニタナゴの環境 DNA 検出法は、野外における本種の分布の推定において有効と考えられました。

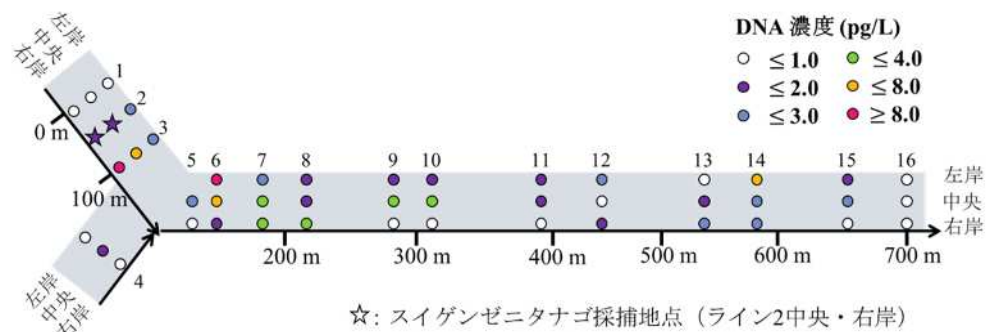


図4 スイゲンゼニタナゴの採捕地点（★）と各調査地点の環境 DNA 濃度.

### <社会的な意義>

今回の私たちの研究成果は、スイゲンゼニタナゴの最新の分布状況について、簡便ながらも高精度に把握することを可能としました。環境 DNA 分析のためのフィールド調査は、採水のみで済みますので（図 5）、従来の魚類調査に比べコスト・労力・調査時間ともに大幅に低減させることが可能。うえ、国内希少野生動植物種に指定されるほど極めて絶滅危惧度が高い本種の魚体に傷付ける

こともなくなりました。

本手法は、スイゲンゼニタナゴの保全現場におけるモニタリングで活用されることに加えて、これまで知られていなかった新生息地の発見を可能にすることも期待されます。したがって、極めて絶滅リスクの高いスイゲンゼニタナゴの保全において、本研究成果は非常に重要になると考えられます。



図5 河川でスイゲンゼニタナゴの環境 DNA 分析のための採水調査を行う大槻さんの様子

### ■論文情報等

論文名： Quantitative PCR method to detect an extremely endangered bitterling fish (*Rhodeus atremius suigensis*) using environmental DNA

邦題名「国内希少野生動植物種スイゲンゼニタナゴの環境 DNA 検出法の開発」

掲載誌： *Landscape and Ecological Engineering*

著者： Kanoko Otsuki<sup>#</sup>、Mayuko Hamada<sup>#</sup>、Noriyuki Koizumi、Tatsuya Sakamoto、Kazuyoshi Nakata\*（<sup>#</sup>共同筆頭著者、\*責任著者）

DOI： <https://doi.org/10.1007/s11355-022-00531-9>

発表論文はこちらからご確認できます。

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11355-022-00531-9>

### ■研究資金

本研究は、神戸市立須磨海浜水族園「2019 年度スマスイ自然環境保全助成」と国土交通省中国地方整備局「岡山大学との包括協定による委託研究（2018 年度）」の支援を受けて実施しました。

### ■補足・用語説明

1) プライマー・プローブ、リアルタイム PCR 法

DNA の複製/増幅には、鋳型 DNA の複製開始点にプライマーと呼ばれる短い核酸 (DNA、RNA) が相補的に結合する必要がある。DNA を人工的に増幅させる PCR 法の際には、ターゲットとなる DNA 配列の両端にユニークな配列を持つプライマーを設計することで、目的の DNA 領域を特異的



に増幅することができる。

また、PCR法の1つであるリアルタイムPCR法では、増幅産物を蛍光シグナルで標識し、増加量をリアルタイムで測定することで、増幅率から元のDNAを正確に定量することができる。その際、ターゲット配列に特異的な配列を持つ蛍光プローブを用いることでさらに特異性を高めることができる。

<お問い合わせ>

岡山大学学術研究院環境生命科学学域（工）

教授 中田 和義

（電話番号）086-251-8872 （FAX番号）086-251-8872