

### 3. 研究内容

#### 1) 研究目的

環境 DNA 技術は生物の生息状況を知る画期的な方法として近年、めざましい進歩を遂げているが、生物の定量的評価を行う際に必要な供給源についての知見はまだ十分ではない。例えば環境 DNA 濃度と現存量との間に有意な相関関係が報告される一方で、産卵時に高濃度の環境 DNA が検出される例も指摘され、環境 DNA 濃度は産卵量あるいは個体数を反映するのか未だ議論の途上であり、定量的評価に必要な供給源に関する知見の蓄積が急務となっている。

一方、堆積物には様々な生物の環境 DNA が保存されていることが知られ、堆積試料の環境 DNA から過去数百年の長期にわたる生物相復元も明らかにされつつある。動物プランクトンのミジンコ *Daphnia* は堆積試料中に産卵数・個体数を反映する休眠卵・遺骸(尾爪)が残存し、複数の生物特性に関する長期変化を同時に復元できる稀有な生物である。そこで本研究は、琵琶湖に生息するミジンコ 2 種 *Daphnia pulicaria*, *Daphnia galeata* を対象に過去 100 年分に相当する湖底堆積物に残るミジンコ由来の環境 DNA をリアルタイム PCR 法で解析した。さらに堆積物中の環境 DNA 濃度とミジンコの個体数・産卵量を反映する遺骸・休眠卵数を比較することで環境 DNA の供給源について検証した。

#### 2) 研究内容と研究成果

これまでに 2017 年と 2019 年に琵琶湖北湖で採取した堆積物コア試料を用いて、堆積試料に残る環境 DNA を用いて動物プランクトン、ミジンコ類の定量的な復元の解析を進めてきた。2017 年 8 月に琵琶湖安曇川沖の水深約 70m で採取された堆積物コア試料 LB2 コアの環境 DNA 解析を実施した。堆積試料の DNA は Qiagen の Power Soil Kit を用いて Sakata et al (2020) の改良版の方法で抽出を行った。琵琶湖に生息するミジンコ 2 種のプライマーを使って、Real-Time PCR system (Thermo Fisher Scientific Inc. 社製) の定量 PCR を行った。

分析の結果、対象としたミジンコ 2 種ともに環境 DNA 濃度は個体数を反映する遺骸とは一致せず、休眠卵量の変動とよく一致していることが判明した(図 1)。本結果は、堆積物に残るミジンコの環境 DNA の供給源が主に産卵時に放出されている可能性があること、さらに堆積物中の環境 DNA を分析することで、動物プランクトンの産卵量に関する長期動態を明らかにできる可能性を示している。

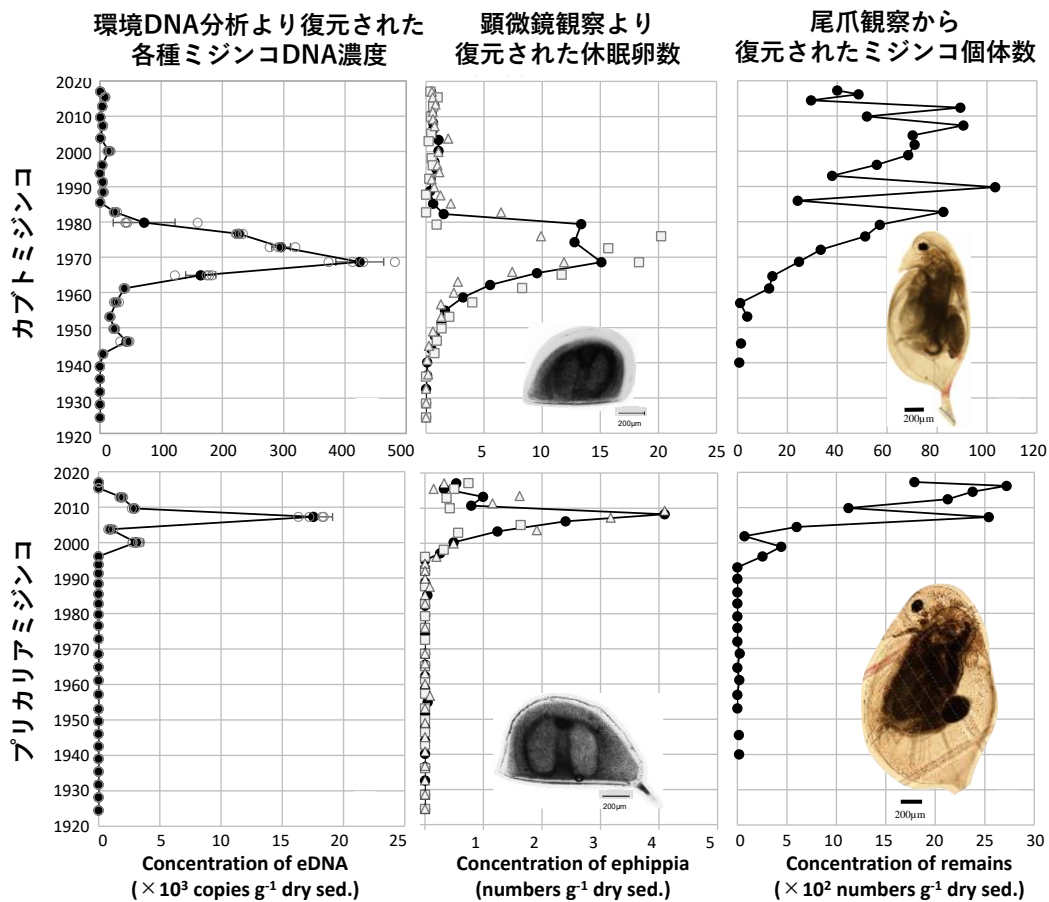


図1. 琵琶湖に生息するミジンコ2種の過去100年にわたる環境DNA濃度・休眠卵数・個体数の動態 (Tsugeki et al., *Scientific Reports*, 2022)

### 3) 成果発表

1) Narumi Tsugeki, Kai Nakane, Hideyuki Doi, Natsuki Ochi, Michinobu Kuwae (2022) Reconstruction of 100-year dynamics in *Daphnia* spawning activity revealed by sedimentary DNA. *Scientific Reports* 12(1) 2022 年 2 月

2) 中根快, 土居秀幸, 越智梨月, 加三千宣, 槻木玲美 (2021) 堆積物 DNA により復元された動物プランクトンの過去 100 年にわたる産卵量の変動 環境 DNA 学会 第 4 回 ポスター発表 最優秀賞

### 4) 今後の問題点

水産資源の餌として最も重要な動物プランクトン、カイアシ類は温暖化や気候変動による水温・餌の植物プランクトン等の変化を通じて、大きな影響を受けることが指摘されている。安定した水産資源を確保するためには、餌資源であるカイアシ類の長期動態解明が不可欠である。これまでの

解析から、堆積物 DNA の定量 PCR 法の解析により、動物プランクトンの産卵量に係る長期データの復元が可能になる可能性が見えてきた。しかしながらカイアシ類を対象にした堆積物 DNA を用いた定量的評価はまだ十分に検討されていない。

一方、分担者の Capo 研究員と共同で進めている堆積物 DNA を用いた真核生物のユニバーサルプライマーを用いた 18S rRNA メタバーコーディング解析では、繊毛虫類など多様な動物プランクトンの変遷に関する復元も試みられている。しかしながら、異なる遺伝子解析技術で得られた動物プランクトンの長期動態を統合的にいかに評価していくのか、その十分な検討はまだなされていない。今後は複数の遺伝子解析技術から得られた結果をどのように統合的に解析し、カイアシ類の長期動態を明らかにしていくのかについても喫緊の課題として検討していく必要があるだろう。