

日本—インドネシア・フィリピン 国際共同研究「環境（海洋科学と気候変動）」 2023 年度 年次報告書	
研究課題名（和文）	環境 DNA メタバーコーディングを用いたインド太平洋マングローブ域の動物多様性の気候変動下における脆弱性評価
研究課題名（英文）	Application of eDNA metabarcoding in faunal biodiversity assessment of Indo-Pacific mangroves vulnerable to climate change
日本側研究代表者氏名	梶田 忠
所属・役職	琉球大学熱帯生物圏研究センター・教授
研究期間	2022 年 4 月 1 日 ～ 2025 年 3 月 31 日

## 1. 日本側の研究実施体制

氏名	所属機関・部局・役職	役割
梶田 忠	琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授	研究総括・進捗管理・現地調査・メタバーコーディング解析
仲岡 雅裕	北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・教授	種多様性解析・現地調査
磯和 幸延	琉球大学・熱帯生物圏研究センター・特命助教	現地調査・メタバーコーディング解析
佐藤 行人	琉球大学・医学部・准教授	現地調査・メタバーコーディング解析
佐藤（鶴井） 香織	琉球大学・農学部・准教授	現地調査・メタバーコーディング解析
関岡 寛知	北海道大学・大学院環境科学院・大学院生	種分布モデルによる解析、種多様性評価
CHU, Cecilia	琉球大学・熱帯生物圏研究センター・ポスドク研究員	メタバーコーディング実験
PANANGANAN, Bernadeth Grace	琉球大学・熱帯生物圏研究センター・大学院生（鹿児島大学連合農学研究科）	メタバーコーディング実験・解析

今井 秀行	琉球大学・理学部・教授	現地調査・甲殻類の分類・バーコーディング解析
安富祖 考太郎	琉球大学・理工学研究科・大学院生	現地調査・頭足類の分類・バーコーディング解析

## 2. 日本側研究チームの研究目標及び計画概要

2 年目（2023 年度）は海外の 3 つのワークパッケージ（WP1, 2, 4）に協力しつつ、国内の 3 つのワークパッケージ（WP3 日本国内現地調査、WP5 日本におけるメタバーコーディング解析、WP6 種多様性評価）の内容を 1 年目の成果に基づいて整理し、研究を確実に実施することを目標とした。

WP3 では日本国内のマングローブ河川とその周辺地域において、継続的サンプリングの実施を計画した。

WP5 では、国内外から得た環境水サンプルから環境 DNA を抽出し、メタバーコーディング解析を継続実施することを計画した。

WP6 では種多様性評価のためのツールの開発と解析の実施を計画した。

日本側の実施体制は上記の通りで、2023 年度内に日本側チームメンバーを更新した。実施体制中の外国人留学生（大学院生）は、e-ASIA 枠国費留学生でフィリピンから採用されたものであり、2023 年度から研究実施メンバーとして参加した。また、ポスドク研究員が他機関に異動したため、新たにポスドク研究員 1 名を新規採用してメンバーに加えた。

## 3. 日本側研究チームの実施概要

### ワークパッケージ No. 3：日本国内現地調査：

沖縄県西表島のマングローブ河川とその周辺地域において、環境 DNA メタバーコーディングのための現地調査を昨年度に引き続き実施した。2018 年以降に継続して定点観測をしている河口付近の観測地点では月に一度の頻度でサンプリングを継続実施した。また、西表島内の複数のマングローブ河川においては年 2 回ずつのサンプリングを実施した。さらに、西表島の比較的大きい 2 つの河川においても、定点観測を開始した。得られたサンプルの一部は、以下 2 つのワークパッケージでの解析に用いた。

### ワークパッケージ No. 5：日本におけるメタバーコーディング解析：

インドネシアのチームが現地調査で得たサンプルの DNA 抽出を行った。環境 DNA の抽出方法も再検討し、マングローブ環境のサンプルの処理に適した手法を採用した。また、大量のサンプルを処理するために、自動分注機を導入して実験解析を行えるようにした。また、メタバーコーディング解析に必要な PCR の諸条件にもさらなる検討を加え、インドネシアとフィリピンから得られたサンプルについて、安定してデータが得られるように条件を整えた。今年度はフィリピンからのサンプルの一部についても本ワークパッケージで解析を行ったが、既存のパイプラインを用いた DNA メタバーコーディング解析で、250 程度の魚類 OTU (Operational Taxonomic Unit: 操作的分類単位) が識別できた。ただ、リファレンスデータベースに登録されている配列と高い類似度を持つものは半数程度であり、インドネシアのケースと同様に、DNA バーコーディングによるリファレンスデータのさらなる充実が必要なることが示された。同様の解析を西表島のマングローブ河川から得られたデータについて行っているが、ある河川では、得られた 150 程度の OTU のうち 8 割程度がリファレンスデータベースに登録されている配列と高い類似度を示した。

## ワークパッケージ No. 6：種多様性評価

インドネシア、フィリピン、及び西表島のサンプルを用いて得られたメタバーコーディング解析では、系統樹を用いてアノテーションを実施する解析パイプラインと判別基準を整理した。また、得られた配列データとアノテーションデータ、及び根拠となる文献やデータベースの情報をチーム間で共有し、日本、インドネシアとフィリピンのチームで、共通の方法でアノテーションを行えるようになった。西表島の河口域から得られたデータについては、検出された種の経時変化を比較したところ、台風の襲来によって魚類群集が変動する可能性が示唆された。今後はインドネシアやフィリピンから得られたデータを用いた広域的な解析を行い、種分布と環境要因の相関関係についてさらに解析を進める。