

論文審査の結果の要旨

氏名：竹内 綾

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題目：環境 DNA によるウナギ産卵イベントの探索に関する研究

審査委員：(主査) 教授 小島 隆人

(副査) 教授 森 司

教授 鈴木 美和

准教授 糸井 史朗

ウナギ属魚類全 19 種亜種は、海に産卵場を持つ降河回遊魚である。本属魚類のうち、ニホンウナギは、産卵場決定への証拠となる受精卵と親魚が採集されている唯一の種であり、西マリアナ海嶺南端部の海山域、水深 200~250 m の層で産卵することが明らかとなっている。しかし、これは産卵が起こる可能性のある海域を示したに過ぎず、実際の産卵行動は未だ発見されていない。本研究は、環境 DNA 法を用いてニホンウナギの産卵地点を見つけることを目的として行われたものである。

第 1 章の緒言に続く第 2 章では、水試料からウナギを検出するための環境 DNA 法を検討した。まず、ウナギ属魚類全種を一挙に検出可能な MiEel プライマーを開発した。MiEel プライマーと次世代シーケンサーを用いて、ウナギ属魚類全種各 1 個体の組織に由来する抽出 DNA 溶液を混合した試験用サンプル 6 個、ウナギ飼育水槽の水試料 2 個、人工池の水試料 1 個、東京都と静岡県天然河川の水試料 5 個の計 14 試料を分析したところ、ウナギ属魚類全種を正しく識別して検出可能であった。また、外洋の希薄な環境 DNA を想定して、ニホンウナギを特異的に検出する環境 DNA 法を検討したところ、定量リアルタイム PCR 分析とクローニング法により、増幅した環境 DNA の正確な種同定が可能となった。

第 3 章では、野外にて得られる環境 DNA 検出の解釈に必要な基礎情報を蓄積するため、環境 DNA の放出と分解に関する室内実験を行った。その結果、尾数が増える、発育段階が進む、産卵行動が生じることにより、環境 DNA 放出量が急増することが分かった。また、環境 DNA は 1 日で急激に分解され、高水温中で分解が早いことが明らかとなった。これらの結果から、外洋にて親ウナギの産卵行動が起きた場合、当日か翌日であれば、高濃度の環境 DNA を検出できるものと予測した。

第 4 章では、2015 年と 2017 年の産卵場調査航海において、環境 DNA 法を用いてニホンウナギの産卵地点を探索した。2015 年の航海では、北緯 13°00′、東経 142°00′ を中心に計 9 測点を設けて、全測点の水深 0~1000 m の計 12 層の水深から海水 2 L をそれぞれ採水した。これらを分析した結果、2 測点の水深 250 m と 400 m からニホンウナギの環境 DNA を初めて検出した。2017 年の航海では北緯 13°05′、東経 142°00′ の周辺に計 5 測点を設け、5 測点の水深 0~1000 m の計 8 層の水深から海水 10 L をそれぞれ採水した。これらの海水試料を船上にて分析したところ、新月 6 日前に 2 測点の水深 600 m と水深 400 m から、0.99 と 14.52 copies/reaction の微量な環境 DNA を検出した。さらに、ニホンウナギの産卵ピークである新月 3 日前、1 測点の水深 400 m から平均 55.35 copies/reaction と相対的に高濃度の環境 DNA を検出した。これらの結果から、新月 3 日前の夜に高濃度の環境 DNA が検出された地点の近傍で、ニホンウナギの産卵行動が生じたものと推測した。

以上より、本論文では、環境 DNA 法が外洋においてウナギ産卵イベントの探索に有用であることを示唆した。特に、発育段階の変化や産卵前後における環境 DNA 放出量の違いが初の報告となった点、ウナギの産卵が生じたと思われる地点を特定できた点を高く評価した。また、学位論文全体を通して、環境 DNA および

ウナギ産卵生態に関する原著論文が数多く引用され、本学位論文で得られた結果と対比して客観的な理解と考察がなされていることを審査員一同は確認した。本学位論文ではニホンウナギを対象に研究を進めていたが、ウナギ属魚類を種レベルで検出できる MiEel プライマーの開発により、本属魚類の産卵生態調査への環境 DNA 法の展開が期待される。さらに、本法は他魚種の生態調査の応用にも繋がり、生態学や保全生物学に重要な情報を提供するものと考えられた。したがって、本学位論文は学術上、応用上、水産学に貢献するところが大きく、博士（生物資源科学）の学位を授与されるに値するものと認められた。

以 上

令和2年2月21日