

## 環境 DNA を用いた山形県加茂沿岸域の底生生物相の解明



実施担当者 山形県立加茂水産高等学校  
教諭 田代 拓

### 1 はじめに

近年、魚類の生息状況の調査や日周性の解明、両生類希少種の保全等に環境 DNA の活用が顕著である。水産分野では海洋生物の多様性の評価や資源量推定、漁礁への蛸集効果等様々な分野で活用が進められている。従来の生態学的調査の基本は計数・計量および目視観察であったのに対し、当該技術の登場により分子生物学的なアプローチが可能になった。環境中の DNA 動態にはまだまだ不確定な事象が多く、DNA 量が正しく実際の生物量を示しているかについては研究が進められている途中である。海洋環境や水産資源について学ぶ専門高校（水産・海洋系高等学校）において DNA および環境 DNA を用いた調査方法について知見を深めることには意義がある。教科「水産」で取り扱う「バイオテクノロジー」は一般的に育種のための染色体操作や生殖細胞の保存・移植等の分野が多い。近年では DNA マーカーを用いた耐病性・高温度耐性を有する品種の育種やゲノム編集による肉厚なマダイの作出など遺伝子レベルの学習内容も増加してきている。本実践では生態系の基盤となる底生生物（節足動物・環形動物・軟体動物・十脚甲殻類）の環境 DNA 分析を通して無脊椎動物相を把握させる。また既存の文献や目視調査（生息する生物の目録作成）と照らし合わせ底生生物の分析結果の妥当性について検討する。文献調査や観察記録を整理し、フィールドワークやサンプリングで材料を収集し、分子生物学的で検証をするプロセスを通して科学的な物事の見方を養うとともに、地域の生態系・生物多様性について理解を促すことを目標とする。

### 2 山形県鶴岡市沿岸における後鰓類（ウミウシ類）目録の作成

山形県は本州東北地方日本海側に位置し、全長約 134.6 km の海岸線延長を有する。庄内浜と呼ばれる沿岸域は海岸線延長が短いにも関わらず、年間を通して 130 種類以上の魚種が獲れる少量多種を特徴とする。「どの時期にどの場所で何がどのように生息しているか」といった情報は環境の変化を記録し、そしてその変遷を取り扱う上で貴重な情報である。近年の環境変化を受け、生態系を構成する種の多様性は刻々と移り変わっているが、貝類（腹足綱）のなかでも水産的価値を欠く後鰓類の記録は特筆して少ない。本県においては山形県水産研究所が作成した日本海産魚類目録<sup>1)</sup>は存在するが、後鰓類に限った目録は見当たらない。海産無脊椎動物については、山形県海産無脊椎動物<sup>2)</sup>が庄内浜における刺胞動物、貝類、甲殻類などを網羅的に記録しており当時の山形県における生息状況を知ることができる。この中に記録されている後鰓類（本研究では多くの図鑑等の記録に従い心臓の後ろに鰓がある腹足綱の動物を後鰓類とした）は 45 種であった。スキューバダイビングの民間普及が 1970 年～1980 年程度であることを加味すると、当時の沿岸域におけるスキューバダイビングや徒手採捕等で確認できる種数としては妥当であると考えられる。

調査方法は山形県鶴岡市のダイビングショップ（アーバンスポーツ）の協力のもと、2020 年から 2024 年までの 5 年間のダイビングログの中に出現する後鰓類とその時期をすべてカウントした。また、2025 年は実際に潜水した際に観察した後鰓類や授業中に採集されたものをもとに、3 月から 12 月の後鰓類の出現記録を表に整理した。種の同定にはダイビングショップが調査・公表している Web 図鑑<sup>3)</sup>（山形県・庄内海中図鑑 ver. 4）と日本のウミウシ第二版<sup>4)</sup>を用いて行った。調査地点は加茂レインボービーチ、加茂水族館東海岸、鶴岡市四島の水深 10m 前後であり、スクーバダイビングにて潜水目視により観察された種を記録している。

山形県鶴岡市沿岸で観察された後鰓類等は 2026 年 3 月 15 日時点で 178 種、同調査地点において過去 5 年間に記録された種は 113 種であった。2025 年には新たにヤツミノウミウシ・マダラウミウシ・アマクサウミコチョウが観察された。当該 3 種は北限が山形県以南であり、水温上昇に伴い分布域北上の可能性はある。アオウミウシは 3 月から 12 月まで通して出現した一方で、ネコジタウミウシやミノウミウシ亜目の特定の種は 4 月から 6 月と限られた時期にしか見られず、種によって調査地点に出現する時期がある程度決まっていることが明らかになった。また、夏場である 7 月が 49 種と最も観察された種が多いことが明らかになった。山形県沿岸は対馬暖流の影響もあり水温が上がりやすいが、岩礁島である四島は沿岸域と比べ夏場でも水温が上がりにくい。南方に生息する種と北方に生息する種が同時に出現した結果、7 月～9 月に多くの種が記録されたと推測される。

アオウミウシ(*Hypseodoris festiva*)は調査期間を通して出現しており山形県での生活環を推定した。アオウミウシは日本各地で観察可能なウミウシである(図 1)。体地色は青、外套膜周縁部は黄色、正中線上に縦線が入り、両側に黄色の斑紋が入る。二次鰓は白色で側面にオレンジ色の線が入る。北限は北海道積丹半島、南限は鹿児島県屋久島でトカラ列島以南は生息が確認できない。

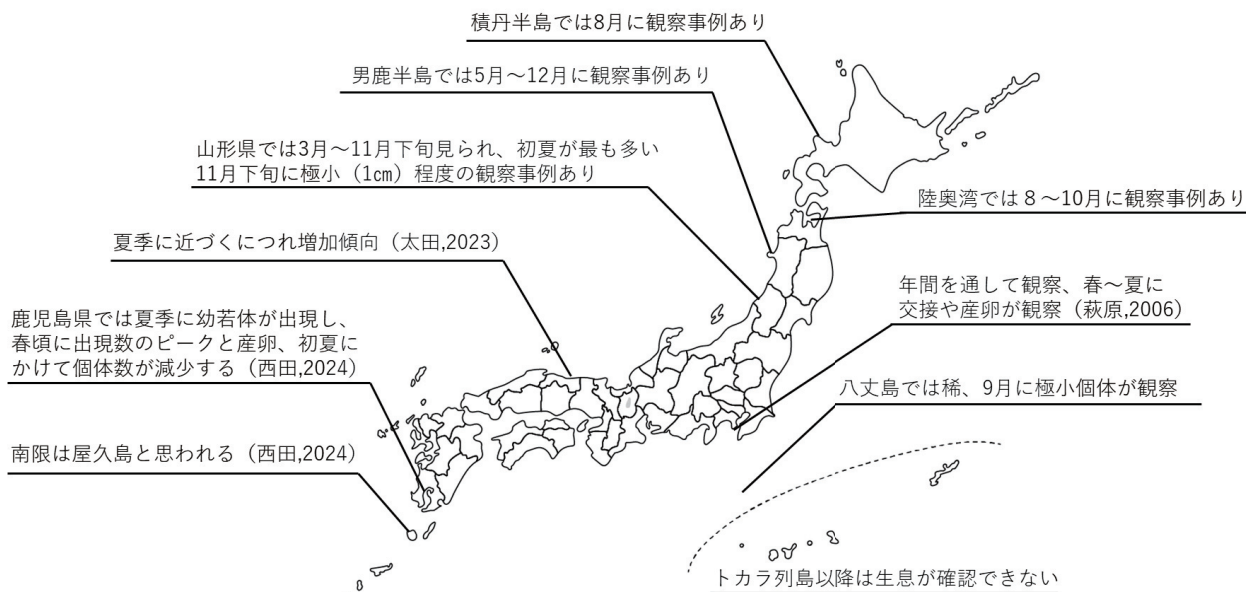


図 1. 日本国内におけるアオウミウシの出現時期と概要

実験室内における水温 22℃での飼育実験<sup>5)</sup>では産卵後約 6 日で孵化が観察されるが 20℃では 2 倍の時間を必要とし、18℃では孵化がみられない。孵化後約 80 日で体長 1 cm 程度に成長し、160 日程度で交接・産卵を行う成体へと成長する。山形県では夏季の産卵、11 月の極小個体の観察の時系列が飼育下事例と一致した。翌年 3 月には成体が観察されることから 9 月以降に親世代の個体は減少し、子世代の浮遊幼生期が 9～10 月、1 cm 程度の後期幼体期が 11～12 月、その後成長し親世代になるという生活環を推定した(表 1)。

表 1. 予想される山形県におけるアオウミウシの生活環

時期	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
親世代	成長		成体段階				交接・産卵		一産卵後の成体は徐々に減少			
子世代									浮遊幼生期・変態		1cm程度の後期幼体期	
観察記録	×	×	○	○	○	○	○	○	○	○	△	×

今回、庄内海中図鑑に記録されている総種数（178 種）に対し、過去 5 年間で観察された種は 113 種と 4 割程度の種が観察できていない。年度・時期による潜水回数の違いなどもあるが、山形県沿岸の後鰓類相が変化してきている可能性がある。今後は新たに出現した種・観察できなくなった種を明らかにするとともに、海水温変化の影響等の物理環境についても学習活動として取り入れる。全国的に見ても後鰓類の目録は少なく、出現場所や時期を伴った目録の作成は生態を明らかにする上で有用である。今後も継続して調査を行いながら生態系の保全に資する教育実践を行う。

### 3 環境 DNA で検出された山形県加茂沿岸域の海産無脊椎動物

魚類では採捕・市場調査・潜水調査等による記録に対する環境 DNA 分析の精度について研究が進んでいる。本校でも山形県加茂地域で検出される魚種と時期・季節性について環境 DNA 分析と潜水目視調査を行った。しかし、東北日本海側（佐渡以北、山形県・秋田県）では水産有用種以外の海産無脊椎動物の生息状況に関する知見が極めて少なく、節足動物・環形動物・軟体動物・十脚甲殻類の環境 DNA 分析事例はない。本実践では沿岸域の表層水・底層水からどの程度の海産無脊椎動物が検出できるかを確認し、その妥当性を近隣の生息情報や過去の潜水調査記録と照らし合わせた。

調査地点は山形県鶴岡市加茂水族館東海岸とした。本海域はダイビングスポットであり 4 月から 10 月後半までの目視調査事例が蓄積されている。平均水深は 8m~10m で四季を通して様々な生物が観察される。底質は 1~3m までは岩礁帯と藻場、4~5m が転石、5m 以深が砂泥質となっている。令和 7 年 8 月 22 日に潜水による海中の 3 地点（st.1/st.2/st.3）の採水を実施した（図 2）。各地点では表層水と底層水それぞれをポリビンに 1L 採水し、ローラーポンプと Sterivex-GP 0.22 μm でろ過し、核酸保存液 2ml を添加した。4 時間冷蔵したのち冷凍庫へ移動、翌日（株）生物技研へ発送した。底生動物（節足動物、環形動物、貝（二枚貝・巻貝）、十脚甲殻類）対象とした分析を依頼し、BLASTN による検索結果（相同率 97%以上）を表に整理し、生息状況と照合した。

海産無脊椎動物の検出傾向としては節足動物門より 6 種、軟体動物門より 16 種、環形動物門 1 種が検出されたが特定の種はリード数が少なく、信頼性が低い。サンカクフジツボやナンオウフジツボに代表されるフジツボ類の DNA が多く増幅されているため、その他の生物の検出が阻害された可能性がある。今回、表層で多く検出されたナンオウフジツボ

（*Perforatus perforatus*）は主にイギリス南西部~西アフリカ、地中海原産で、船体付着やバラスト水により国内への移入が推定される外来種である。2012 年秋田県男鹿半島戸賀湾のイワガキ養殖に使われたブイに付着していたのが発見、以降東北地方への分布拡大が懸念されている。環境 DNA は生貝と死貝の区別ができず、DNA を放出している物体であれば検出する。ブイ等に付着している死骸を検出している可能性もあるため、追加で漂着ゴミや浮遊性ゴミの調査を行い、付着性生物のキャリアーとしての機能について検討する。また、ナンオウフジツボは水面のみで検出されたため、岩礁やテトラポッド等に生息しているか調査を実施したい。

二枚貝綱では 6 種が検出され、中でもカワヒバリガイ（*Limnoperna fortunei*）・ヒバリガイモドキ（*Brachidontes mutabilis*）等のヒバリガイの仲間が相同率 100%で検出された。淡水性ヒバリガイは特定外来種に指定され、関東地方、東海地方、近畿地方の 12 都府県で見つっているが東北地方では事例がない。前日の 8 月 21 日に 3mm の降水、前々日の 20 日に 7mm の降水があり、近隣河川から DNA 断片が流入している可能性もあるが詳細はカワヒバリガイに特異的なプライマーを用いた追加調査が必要である。また、同様の課題としてホンビノスガイ（*Mercenaria mercenaria*）が検出された。ホンビノスガイは東京湾奥や千葉港、大阪港では生息が確認されているが、東北地方での生息は確認できない。カガミガイ属の一種やマルスダレガイ科の一種が持つ似た塩基配列を検出しているのか、本当にホンビノスガイを検出しているのか、詳細な調査に期待したい。巻貝に関しては特異的なプライマーを用いて追加調査を行った。令和 8 年 2 月 5 日に船舶を用い図 2 の表層 3 か所においてポリビンに 1L 採水し、オスバン 1ml を加え（株）生物技研へ発送した。

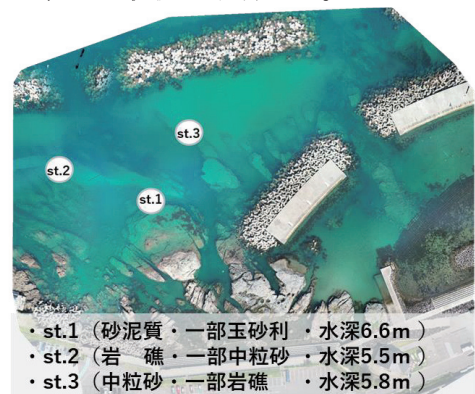


図 2. 調査地点概要

結果としては 18 個の ASV が該当したが、分布域外や和名不明種が多かった。ニシキウズガイ科の一種、リュウテン属の一種等が該当し、後鰓類としてはアメフラシ属の一種、ナギサノツユ属の一種の極めて少数が該当した。原因としては山形県沿岸が厳冬期ということもあり、環境中に存在する DNA 量が少なかった可能性が高い。1stPCR を 35 サイクル実施しているが、検出できる DNA 濃度がなかった。同様の調査を生物の活性が高い時期に行ったり、表層水ではなく底層の生物に近い場所で採水を行ったりすることで調査方法の改善を目指す。

最後に、水深 1m～5m 程度でも表層水と底層水では環境 DNA の鉛直的な分布（DNA のリード数の分布）に差があることが分かった。潮間帯上部に生息する種（イワフジツボ）は表層のみで検出され、潮間帯下部に生息する種（サンカクフジツボ）では底層のリード数が表層の 3～4 倍程度も多く検出された。未定量ではあるが、DNA 増幅における傾向としてフジツボのすみわけを DNA 分布が反映している可能性が示された。ただし、エゾバイ等の底生巻貝の DNA 分布が表層に寄ることやフナクイムシなどの流木を住処にする生物の DNA 分布が水底に寄ることなどの疑問も残るため、定量結果がバイオマスと生息域を正しく反映しているかを確認することを次年度の課題とする。

#### 4 まとめ「環境 DNA 分析を取り入れた生物多様性の教材開発」

本校では過去 3 年間、環境 DNA 分析を取り入れた授業実践や課題研究、課外活動を行ってきた。特に授業では理科・生物基礎の生物の多様性と共通性、遺伝子と DNA の単元で原理を取り上げた。また、第 4 章の生物の多様性と生態系の単元ではより詳細な調査の事例を紹介した。一般的な教科書の多様性に関する事例は陸域生態系のものが多い。本校のような水産科の場合は水域の生態系で置き換える必要性を感じた。教科水産・海洋環境の中でも生態系の保全や生物調査の方法について取り扱う。環境 DNA で得られる情報やその手法は理科と水産科の教科横断的な授業事例として評価を得ることができた。



図 3. ろ過作業の様子

徒手採捕・フィールドワークはもちろん重要だが、地域の生物相を把握するには時間がかかることや種の同定には専門家の目が必要なことなどの課題がある。環境 DNA の教材としての評価としては、圧倒的な短時間で、地域の生物多様性の一部を、高校生段階の生徒でも体験を通してながら理解することを促せる点が優れていることから、さらに教材としての活用を模索してゆく。

#### 成果発表

- 1) 令和 7 年度日本水産学会秋季大会 高校生発表会
- 2) 令和 7 年度山形県探究学習課題研究発表会
- 3) 公益財団法人中谷財団 2025 年度科学教育振興助成 成果発表会
- 4) 令和 8 年度日本水産学会春季大会 高校生発表会

#### 謝 辞

本研究を実施するにあたり、分析費用のご支援を頂きました公益財団法人中谷財団および科学教育振興助成をご担当頂いている皆様に深甚なる謝意を表します。また、ご助言を頂き、環境 DNA 分析を行って頂きました株式会社生物技研の皆様に感謝申し上げます。

#### 参考文献

- 1) 山形県水産研究所日本海産魚類目録（最終閲覧日 2026-02-15）  
<https://www.pref.yamagata.jp/147010/sangyo/nourinsuisangyou/suisan/suisanshikenjou/gvoruimokuroku.html>
- 2) 鈴木庄一郎. 山形県海産無脊椎動物. たまきび会, 1979.
- 3) みんなで作る山形県・庄内海中図鑑 Ver. 4.（最終閲覧日 2026-03-01）<https://yamagata-divenature.jp/>
- 4) 中野理枝. 日本のウミウシ第二版（ネイチャーガイド）. 文一総合出版, 2019.
- 5) Makiko Hayashi & Hiroaki Nakano. Staging of post-settlement growth in the nudibranch *Hypseldoris festiva*. *Scientific Reports*, 2024. 14:16157, doi:10.1038/s41598-024-66322-4.