原著論文

海域におけるタチウオ環境DNAの検出

木村祐貴*·辻村浩隆*

Detection of eDNA of Cutlassfish *Trichiurus japonicus* in the sea area

Yuki KIMURA and Hirotaka TSUJIMURA

We evaluated an environmental DNA (eDNA) of the cutlassfish *Trichiurus japonicus* using real-time PCR. In this study, we confirmed that the eDNA of the cutlassfish *T. japonicus* that can be detected through the analysis of the environmental water in a water tank *T. japonicus*. Based on the approach, in the present study, eDNA surveys were conducted fishing surveys and water sampling in Osaka Bay between September 2019 and July 2020. Simultaneously, *T. japonicus* specimens were collected via fishing surveys conducted at the same locations as the eDNA surveys. *T. japonicus* were successfully captured in all four fishing surveys. Notably, the three eDNA surveys produced positive results when large numbers of *T. japonicus* were captured by fishing. Subsequently, water was sampled for eDNA analysis at 25 locations across Osaka Bay between February 2020 and February 2022. Among the 13 surveys conducted during this period, eDNA was detected on three occasions at three survey points, all located near the *T. japonicus* fishing points. In October and December 2021, eDNA was detected at nine survey points, suggesting that *T. japonicus* might have been distributed across a wide area of Osaka Bay.

キーワード: eDNA, リアルタイム PCR, *Trichiurus japonicus*, 大阪湾 2024年2月20日受付 2025年2月27日受理

近年、水産資源の持続的管理が世界的な課題として挙げられている(市野川ら 2022)。しかしながら、従来の資源生態学的方法では多数の漁獲対象種類の資源状態を把握するためには多くの時間・労力を要するため、より効率的な研究手法が求められている。その一つの解決策として環境 DNA 法を用いたモニタリング手法が注目を集めている(笠井 2020)。環境 DNA(environmental DNA,以下 eDNA)とは、土壌や水に含まれる生物由来の DNA の総称であり、eDNA を分析することで特定の生物の存在やバイオマス推定を試みる研究例が増加している(山中ら 2016)。水域における eDNA 分析の場合、現場調査では採水を行うのみという簡便さゆえに、従来行われてきた生物サンプルを扱うモニタリングよりも金銭的・人的コストが抑えられるとの報告がある(Sigsgaard

et al. 2015)。淡水域では先進的に手法が活用されてきた一方で、海域においては未だ実用例が乏しい現状にある(笠井 2020)。本研究を実施した大阪湾においてはeDNAを活用した研究例はいくつか知られている。上村ら(2019)は、大阪湾奥部海域の魚類多様性を明らかにするために生物採集調査とeDNAメタバーコーディングを行い、eDNA分析では生物採集調査よりも多くの魚種が検出された一方で、大阪湾奥部に出現するとは考えにくい魚種も検出されたことを報告している。また、特定の魚種に着目した研究として、辻村(2019)は、関西国際空港周辺海域においてキジハタ Epinephelus akaara の採集尾数と環境水中のeDNA 濃度との関係について検証し、採集尾数が多い海域ではeDNA 濃度が濃い傾向を見出している。本研究では水産重要種であり、キジハタよ

〒 599-0311 大阪府泉南郡岬町多奈川谷川 2926-1

Marine Fisheries Research Center, Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture, 2926-1, Tanagawa-Tanigawa, Misaki, Sennan, Osaka 599-0311, Japan

E-mail: KimuraY@o-suishi.in.arena.ne.jp

^{*} 地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所水産技術センター

りも沖合に生息するタチウオ Trichiurus japonicus を対象 として、飼育水槽と海域においてタチウオ由来のeDNA の検出を試みた。

材料と方法

プライマー・プローブ PCR産物の検出には、検出 特異性が非常に高いとされているTagmanプローブ を用いたリアルタイム PCR法(高原ら 2016) を用い た。プライマー・プローブセットには、浜口(私信) によって、ミトコンドリアDNAのCO-1領域を対 象としタチウオに特異的になるよう設計されたも のを用いた。配列情報は以下の通り。Forward (5' -TGGCAGGAATCTCTTCCATCTTG -3'), Reverse (5' -GGGAGGGAAAGAAGTAGGAGGA -3'), Probe (5' -ACAACCATTCTAAACATGAAACCTGCGGCC -3')。 な お、大阪湾で出現するタチウオ属魚類はタチウオのほ かにテンジクタチ Trichiurus sp.2が知られているが、テ ンジクタチは2022年に大阪湾での出現が初めて報告さ れた魚種であり (木村・松井 2022), 大阪湾内の生息数 は極めて少ないと推測される。また、オキナワオオタ チTrichiurus sp.1やその他タチウオ科魚類もこれまでに 大阪湾からの報告がないことや(中坊・土居内 2013), アメリカ国立生物工学情報センター (National Center for Biotechnology Information)が提供するBasic Local Alignment Search Toolによって本研究で使用したプライ マーが他のタチウオ科魚類には反応しないことを確認し ており、本研究で検出されたeDNAはタチウオであると 判断した。

飼育水槽調査 確実にタチウオが存在する環境水を採 取するため、2021年12月1日に和歌山県立自然博物館 において、タチウオ飼育水槽から海水を1L採取した。 比較のために、タチウオが収容されていない水槽と濾 過海水ホースからもそれぞれ海水を 1L採水した。タチ ウオ飼育水槽は水量約12 m3で、博物館地先の水深約 5mから取水して砂濾過と紫外線殺菌を施した海水を使 用している。水槽には採水日の20日前に収容されたタ チウオ5個体が飼育されており、その平均肛門前長は およそ 250mm であった。タチウオが収容されていない 水槽(水量約628 m³) にはタチウオ飼育水槽と同様の 処理がされた海水が注水されており、マアジ Trachurus japonicus やイサキ Parapristipoma trilineatum など約 40 魚 種が収容されていた。水槽からの採水には理研式バン ドーン採水器 (A型, 宮本理研工業) を使用し, 表層近 くで行った。また、飼育水槽に入る直前の海水におけ るタチウオeDNAの有無を明らかにするため、砂濾過、 紫外線殺菌後の海水が出水するホース(濾過海水)か ら直接採水を行った。

漁場調査 天然海域においてタチウオの生息状況とタ チウオeDNAの検出状況を調べるため、2019年9月、11 月、2020年3月、7月に大阪湾内で採水および釣獲調査 を行った。2019年9月、2020年7月は神戸市沖(St. 1; 水深 62m), 2019年 11 月は友ヶ島沖(St. 2;水深 71m), 2020年3月は洲本市沖(St. 3;81m)で調査を行った (図1)。採水にはニスキン採水器 (GO-1010型, General Oceanics) を使用し、タチウオがよく釣獲される海底付 近かつ着底による海底泥の舞い上がりを防ぐため海底か ら 5mの水深で 1L採水した。釣獲調査にはタチウオテン ヤと呼ばれるタチウオ用の仕掛け(オーナーばり.ジャッ カル、ハヤブサ、メジャークラフト)を使用し、餌には 冷凍マイワシ Sardinops melanostictus を使用した。各調査 回とも採水を行った後に釣獲調査を開始し、調査時間は 5時間とした。調査員の人数は、9月調査7名、11月調 査9名,3月調査3名,7月調査7名で実施し,調査回ご との総釣獲尾数を人数で除した値を1人あたりの釣獲尾 数 (CPUE; 個体/人) とした。

大阪湾全域調査 2020年2月から2022年2月にかけての2,4,6,8,10,12月に,大阪府立環境農林水産総合研究所が所有する「調査船おおさか」を用いて大阪湾内に設定した25定点において採水調査を行った(図1,全13調査回)。水深は13-69mであった。採水には,水深23m以浅の定点(St.1,9,10-20,25)では理研式バンドーン採水器(A型,宮本理研工業)を使用し,水深の浅さを考慮して可能な限り海底に近い海水を採取するために海底から1mの水深で1L採水した。その他の定点では漁場調査と同様にニスキン採水器(GO-1010型,General Oceanics)を使用し,海底から5mの水深で1L採水した。

採水作業 各採水調査ともに採水器, 採水ボトルを使用 前に次亜塩素酸ナトリウムで洗浄し, 現場で2度共洗い

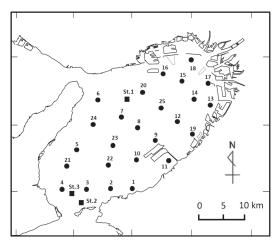


図 1. 大阪湾における採水およびタチウオ釣獲調査定点 丸印(●) は採水のみ実施した定点,四角印(■) は採 水および釣獲調査を実施した定点を示す

をしてから採水を行った。また、採水作業によるコンタミネーションの有無を確認するため、採水器を介して精製水(丸石製薬)をボトルに注水しフィールドブランクとして使用した。採水したサンプルには10%塩化ベルザルコニウムを1mL添加してよく撹拌した後、クーラーボックスで保冷して持ち運び、濾過を行うまでは冷蔵庫で5°C以下で保存した。

濾過および DNA 抽出 水サンプルの濾過と抽出作業は環境 DNA 学会(2020)ならびに Minamoto et al. (2021)に従った。採水から 24時間以内にカートリッジ式フィルター(ステリベクス SVHV010RS,Merck Millipore)を用いて 1L濾過を行った。フィルターからの抽出には DNeasy Blood and Tissue kit(Qiagen)を使用した。抽出した DNA 溶液は-20℃で冷凍保存した。

リアルタイムPCRによるeDNA分析 eDNAの分析 にはリアルタイムPCR (Thermal Cycler Dice® Real Time System III, タカラバイオ) を用いた。試薬の 調整は環境DNA学会(2020) ならびにMinamoto et al. (2021) に従い、1ウェルあたりの試薬量はTaqMan™ Environmental Master Mix 2.0 (Thermo Fisher Scientific) を 10.0µL, UNG酵素 (AmpErase™ Uracil N-Glycosylase, Thermo Fisher Scientific) を 0.1 μL, 最終濃度がプライ マー900nM, プローブ125nMになるよう調整したMix を 1.0μL, 各サンプルを 4μLとし、最終容量が 20.0μLと なるように超純水を添加した。反応ごとにeDNAサンプ ル, ポジティブコントロール, フィールドブランク, プ ラスミドによってクローニングされたタチウオの人工合 成遺伝子をセットし、各3反復PCRを行った。ポジティ ブコントロールには2019年1月に大阪湾内で漁獲され たタチウオの筋肉を一部切り出し、DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen) を用いて、キットのマニュアルに従っ て抽出した溶液を使用した。定量化のため人工合成遺伝 子(7592, 75922, 759224copies/µL)の希釈系列から作 成した検量線 $(R^2 = 0.796)$ を使用した。人工合成遺伝 子はNational Center for Biotechnology Information (2024)の データベース (GenBank) から、タチウオのミトコンド リアDNAのCO1領域 (MT762638) のうち 346bpの塩基 配列を使用した。配列は以下の通り(GAGGCAGGGCCC GGAACTGGTTGAACGGTCTATCCCCCACTAGCTGGGA ATCTAGCACACGCAGGCGCATCAGTTGACTTAACCATT TTTTCCCTCCACTTGGCAGGAATCTCTTCCATCTTGGG CGCCATTAACTTTATTACAACCATTCTAAACATGAAAC CTGCGGCCATCACCCAGTTTCAAACCCCTCTGTTCGT CTGATCTGTTCTAATTACAGCTGTCCTCCTACTTCTTT CCCTCCCAGTTCTTGCAGCTGGAATTACAATACTCCTA ACTGACCGAAATCTTAACACTACCTTCTTTGACCCCG CAGGAGGAGACCCAATCCTGTACCAACACT)。在· 不在の判断は環境 DNA 学会(2020) に従い、3 反復のう

ち1反復でも増幅が確認されたものを在と判断した。反応条件は50°Cで2分,95°Cで10分の初期ステップの後,95°Cで15秒,60°Cで1分からなるサイクルを60回繰り返した。1サンプルにつき複数の反応が得られた場合,コピー数は得られた反応数の平均値を用いた。

結 果

飼育水槽 タチウオ飼育水槽の環境水からは3反復すべてでタチウオeDNAが検出され、その平均濃度は172000copies/μLであった(図2)。一方で飼育水槽に流入する前の濾過水とタチウオが収容されていない大水槽からは全く検出されなかった。

漁場調査 海域における釣獲調査では全調査回でタチウオが釣獲された。CPUEは 2019年 9月が 6.3 個体/人, 11月が 2.1 個体/人, 2020年 3月が 3.0 個体/人, 7月が 0.7 個体/人であった。タチウオeDNAは 9, 11, 3月調査では 3 反復すべてで検出され、それぞれの平均濃度は 9月が 2120copies/ μ L, 11月が 3919copies/ μ L, 3月が 2589copies/ μ Lであった。7月調査では全く検出されなかった(図 3)。CPUEと eDNA 濃度に相関関係は認められなかった(r=0.0886, p>0.05)。

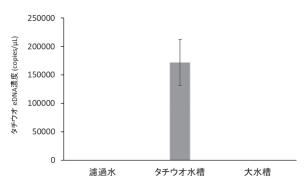


図 2. 飼育環境下におけるタチウオ eDNA 平均濃度 タチウオ飼育水槽に流入する前の濾過水,タチウオ飼育水槽, タチウオが収容されていない大水槽から採水した エラーバーは標準偏差

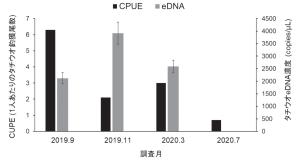


図 3. 釣獲調査における 1 人あたりのタチウオ釣獲尾数 (CPUE) とタチウオ eDNA 平均濃度 エラーバーは標準偏差

大阪湾全域調査 全13調査回のうちSt. 4, St. 15およびSt. 24では3調査回でタチウオeDNAが検出され最多となった。 St.4では2020年8月 (1反応;10330copies/µL), 2021年2月 (1反 応; 6424copies/uL), 10月 (1反 応; 1460copies/uL), St. 15では2021年10月(1反応;9176copies/µL),12月(1反 応; 2952copies/µL), 2022年2月(1反応; 10800copies/µL), St. 24では2020年10月(2反応;7192copies/uL), 2021 年 2 月 (1 反応; 4600copies/μL), 2021 年 10 月 (1 反応; 1671copies/μL) であった (表 1)。一方で全調査回のう ち一度もタチウオeDNAが検出されなかったのはSt. 1.6. 10, 11, 19であった。調査月ごとのタチウオeDNA濃度 は、2020年12月が最も高く(15010copies/µL;1定点)、 2020年2月,4月,6月,2021年4月,6月は検出されな かった。少なくとも1定点で反応がみられた2020年8月, 10月, 12月, 2021年2月, 8月, 10月, 12月, 2022年2 月の地点別のタチウオeDNAの検出状況をみると、2020 年は8月に淡路島東沖で高濃度のeDNAが検出され、10 月に淡路島東沖と神戸市沖の各1定点,12月に関空島北 沖の1定点,2021年2月には湾南部と湾中央部の4定点 で検出された。2021年は8月に淡路島東沖の1定点で検 出された後、10月は湾の中央部を中心とする9定点、12

月はより沿岸域と湾南部の9定点で検出されたが、2022 年2月は沿岸部の2定点と湾南部の3定点からの検出に 留まった(図4)。

考察

本研究では、高原ら(2016)が示したTaqmanプローブを用いたリアルタイムPCR法によって、タチウオeDNAを飼育水槽および海域の環境水から検出することに成功した。

タチウオeDNAの確認 Roussel et al. (2015)は、eDNA を用いて特定の生物のモニタリング手法の有効性を示すためには、実際に採集調査を行うとともに、天然に近い環境でのeDNAの検出状況を把握することが必要不可欠であると述べている。本研究では、まずタチウオ飼育水槽に流入する前の濾過水、タチウオ飼育水槽の環境水、タチウオ飼育水槽の環境水、タチウオ飼育水槽からのみタチウオeDNAを検出することに成功した。その後、海域において採水調査と釣獲調査を実施した結果、全ての調査回でタチウ

13

調査月/定点 2 3 10 11 12 2020.2 2020.4 2020.6 2020.8 10330* 8026* 2020.10 2020.12 15010* 2783* 6424* 8032** 2021.2 20214

表 1. 月別定点別のタチウオ eDNA 平均濃度

2021													
2021.6													
2021.8													
2021.10				1460*			10062***	8114*					
2021.12			2792*		2775*			7486***				1021*	3509
2022.2			55*										
		1.7	1.6		10	10	20					2.5	-
調査月/定点	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
2020.2													
2020.4													
2020.6													
2020.8													
2020.10			3150*								3596**		
2020.12													
2021.2											4600*		
2021.4													
2021.6													
2021.8								7789**					
2021.10		9176*	2525***	768*			2360**			1934*	1671*		
2021.12	6206**	2952*							1854*			3901*	
2022.2		10800*			6758*								

単位は copies/μL

^{*}は3反復のうちの陽性反応数を示す

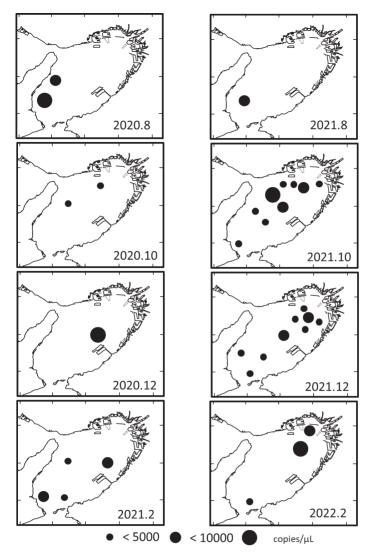


図 4. 大阪湾全域調査における月別地点別のタチウオ eDNA 平均濃度の分布図

オが釣獲され、うち3調査回ではタチウオeDNAが検出された。

月別定点別のeDNA濃度 大阪湾全域調査でタチウオeDNAの検出回数が最も多かった定点のうち、St. 4とSt. 24はタチウオ遊漁船の漁場近傍であり(木村 2024),eDNAが検出されたのもタチウオ遊漁シーズン内の8月から2月(木村 2024)であった。同様に検出回数が最も多かったSt. 15は、中型まき網漁業でタチウオが多獲されることがある海域であり、同定点でeDNAが検出された2021年12月にも定点周辺でタチウオが漁獲されていたことが中型まき網漁業の操業日誌に記録されており、多い日には1ヶ統あたり7.5トンの漁獲があった(大阪府立環境農林水産総合研究所未発表)。つまり、調査定点周辺に密集していたタチウオのeDNAが検出された可能性が考えられる。2020年8月から2020年12月と2021年8月から2021年12月までにタチウオeDNAが検出された延べ定点数は、2020年が5定点、2021年は

19定点であった。大阪府内のタチウオ漁獲量は 2020年が 73トンに対して 2021年は 263トンとなっており、これは記録がある 2007年以降最多の漁獲量であった 2019年の 198トンをさらに大きく上回るものであった(阪地 2023)。タチウオ eDNA の検出結果とタチウオ漁獲量に相関関係がある可能性があるものの、より長期的なデータに基づく検証が必要である。

水産分野へのeDNA法の活用 eDNA 濃度と個体数の関係性について言及した研究例は飼育環境下や淡水域におけるコイ Cyprinus carpio (Takahara et al. 2012) や、海域におけるマアジ(Yamamoto et al. 2016, Fukaya et al. 2021) やキジハタ(辻村 2019)を対象とした研究例がある。本研究で実施した釣獲調査では、CPUEが最も低かった2020年7月はタチウオeDNAが検出されなかった。大阪湾におけるタチウオ遊漁の漁期は、例年タチウオの大規模な魚群が形成される8月以降に開始されることが明らかになっているほか(木村 2024)、2020年夏季の

大阪府内の小型底びき網漁業によるタチウオ漁獲量は極めて僅かであった(大阪府立環境農林水産総合研究所, 2021)。つまり、2020年7月にタチウオeDNAが検出されなかったのは、大阪湾内あるいは調査定点周辺のタチウオ個体数密度が低かったことに起因すると推察される。ただし、本研究ではタチウオeDNA濃度とCPUEの間に相関は認められず、その検証のためにはまず、個体数密度をコントロールした水槽実験でタチウオeDNA濃度と個体数密度の関係性の有無を確認する必要がある。

笠井(2020)は、海域におけるeDNAに基づくバイオ マス推定の研究例が乏しい理由として、淡水域に比べて 海域は水の流れがはるかに複雑であることを指摘してい る。正確なバイオマス推定のためには、調査海域の流動 モデルやシミュレーションを組み合わせるなどの手法改 良が必要であるが、これらの解析には多大な労力と時間 が必要である。本研究においても、eDNAに基づくタチ ウオのバイオマス推定には解決すべき課題がみられた。 その一方で、Tagmanプローブを用いたリアルタイム PCR法では簡易的ながら対象種の在不在の確認が可能で あり、本研究の結果から、タチウオでも有用な手法であ ることが確認された。検出特異性の高いリアルタイム PCR法の活用例としては、漁期前の漁獲対象種の資源状 況を即時的に把握し,漁業者等に共有することが想定さ れる。たとえば、瀬戸内海東部海域ではイカナゴ Ammodytes japonicus の漁期決定には、漁期前に複数回の 採集調査を行い、その採集結果を勘案して漁期を決定す る方法がとられている(高橋ら2022)。こうしたモニタ リング調査では、調査船での大がかりなサンプル採集と 室内でのソーティング作業に金銭的、時間的および人的 コストを多く費やす必要があったが、eDNA分析によっ て代用できれば低コストで同様のデータを取得できる可 能性もある。このように目的に応じて分析手法を選択し ていくことで水産分野でのeDNAの重要性は増していく と考えられる。

謝辞

本研究を行うにあたり、福井県立大学海洋生物資源学部の浜口昌巳氏にはタチウオに特異的なプライマー・プローブに関する情報をご提供いただいた。摂南大学農学部(旧所属:和歌山県立自然博物館)の國島大河氏には飼育水槽での採水に際して便宜を図っていただくとともに水槽の構造や水槽に収容している魚類について情報を提供いただいた。青森県産業技術センター水産総合研究所の中山 凌氏には分析作業にご尽力を賜った。岡田浦漁業協同組合の後舎 弘氏、ならびに堀 耕友氏、横松宏幸氏、山本義彦氏をはじめとする大阪府立環境農林水産総合研究所の職員の方々には釣獲調査にご尽力を賜った。ここに感謝の意を表する。本研究の一部はJSPS科研費(19K15906)によって実施された。

引用文献

- Fukaya K, Murakami H, Yoon S, Minami K, Osada Y, Yamamoto S, Masuda R, Kasai A, Miyashita K, Minamoto T, Kondoh M (2021) Estimating fish population abundance by integrating quantitative data on environmental DNA and hydrodynamic modeling. *Mol. Ecol.*, 30, 3057–3067.
- 市野川桃子・西嶋翔太・向草世香・黒田啓行・大下誠二 (2022) 改正漁業法下での様々な代替漁獲管理規則の検討:マイワシ2系群を例に、日水誌,88,239-255.
- 上村了美·大谷壮介·岩見和樹·上月康則·田辺尚暉·山中亮一 (2019) 大阪湾奥における魚類多様性検出のための環境 DNA調査. 土 木学会論文集B2 (海岸工学), **75**, I_1171-I_1176.
- 環境 DNA 学会(2020)環境 DNA 調査・実験マニュアル Ver. 2.2. https://ednasociety.org/wp-content/uploads/2022/06/eDNA_manual_ver2_2.pdf, 2023年4月10日.
- 笠井亮秀 (2020) 環境 DNA を用いた生物多様性の評価と水産資源 推定の可能性. JATAFF ジャーナル, **8**, 34-39.
- 木村祐貴・松井彰子 (2022) 大阪湾初記録のタチウオ科魚類テンジ クタチ. Ichthy, Nat. Hist. Fish Jpn., 17, 16–19.
- 木村祐貴 (2024) 大阪湾におけるタチウオ遊漁船の漁獲実態. 黒潮 の資源海洋研究, 25, 101-106.
- Minamoto T, Miya M, Sado T, Seino S, Doi H, Kondoh M, Nakamura K, Takahara T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Iwasaki W, Kasai A, Masuda R, Uchii K (2021). An illustrated manual for environmental DNA research: water sampling guidelines and experimental protocols. *Environmental DNA*, 3, 8–13.
- 中坊徹次・土居内龍 (2013) タチウオ科. 「日本産魚類検索 全種の同定 第 3 版」(中坊 徹 次編), 東海大学出版会, 秦野, pp.1644-1647, 2221-2224.
- National Center for Biotechnology Information (2024) Basic Local Alignment Search Tool, https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi, 2024 年 6月 25日.
- 大阪府立環境農林水産総合研究所(2021)2020年漁況通報年報, https://www.knsk-osaka.jp/suisan/gijutsu/tsuho/index.html, 2024年 7月16日.
- Roussel JM, Paillisson JM, Tréguier A, Petit E (2015) The downside of eDNA as a survey tool in water bodies. *J. Appl. Ecol.*, **52**, 823–826.
- 阪地英男 (2023) 我が国周辺におけるタチウオの海域別漁獲動向. 黒潮の資源海洋研究, **24**, 121–128.
- Sigsgaard EE, Carl H, Møller PR, Thomsen PF (2015) Monitoring the near-extinct European weather loach in Denmark based on environmental DNA from water samples. *Biol. Conserv.*, **183**, 46–52.
- Takahara T, Minamoto T, Yamanaka H, Doi H, Kawabata Z (2012) Estimation of fish biomass using environmental DNA. *PLOS ONE*, **7**, e35868.
- 高原輝彦・山中裕樹・源 利文・土居秀幸・内井喜美子 (2016) 環境 DNA 分析の手法開発の現状~淡水域の研究事例を中心にして~. 日本生態学会誌, 66, 583-599.

- 高橋正知・河野悌昌・西嶋翔太・安田十也・渡邊千夏子・渡井幹雄・ 井元順一・木下順二 (2022) 令和 4 (2022) 年度イカナゴ瀬戸 内海東部系群の資源評価. 我が国周辺水域の漁業資源評価. 水 産庁・水産研究・教育機構, http://abchan.fra.go.jp/, 2024年4月 20日.
- 辻村浩隆 (2019) 環境 DNA を活用した関空島周辺の藻場魚類 (キジハタ等) の分布調査法の確立. 一般社団法人関西空港調査会 2018年度調査研究助成事業報告書. pp.1-11.
- Yamamoto S, Minami K, Fukaya K, Takahashi K, Sawada H, Murakami H, Tsuji S, Hashizume H, Kubonaga S, Horiuchi T, Hongo M, Nishida J, Okugawa Y, Fujiwara A, Fukuda M, Hidaka S, Suzuki KW, Miya M, Araki H, Yamanaka H, Maruyama A, Miyashita K, Masuda R, Minamoto T, Kondoh M (2016) Environmental DNA as a 'Snapshot' of Fish Distribution: A Case Study of Japanese Jack Mackerel in Maizuru Bay, Sea of Japan. *PLOS ONE*, 11, e0149786.
- 山中裕樹・源 利文・高原輝彦・内井喜美子・土居秀幸 (2016) 環境 DNA 分析の野外調査への展開. 日本生態学会誌, **66**, 601-611.