

# 環境DNAの研究経過報告

依田憲彦<sup>1</sup> 北川哲郎<sup>2</sup> 村岡敬子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>関東技術事務所 環境技術課 (〒270-2218千葉県松戸市五香西6-12-1)

<sup>2</sup>土木研究所 水環境研究グループ河川生態チーム (〒305-8516茨城県つくば市南原1-6)

河川水辺の国勢調査では、河川環境を維持管理していく上での基礎データ収集のため、主に全国の一級水系の直轄管理区間やダム等で生物の生息状況や河川の利用状況を把握している。河川水辺の国勢調査では魚類調査を5年に一度の頻度で実施しているが、①調査時における時間的、労力的コスト、②調査時の環境条件への依存性、等の課題がある。この課題に対し環境DNAの技術で河川水辺の国勢調査の調査データを補完可能か検討するための研究途中結果について記述する。

キーワード 環境DNA、河川水辺の国勢調査

## 1. 環境DNAとは

魚の環境DNAは、河川水中に放出された糞や粘液、組織片等に由来する。汲み取った河川水を分析することで、その場所の周辺に生息する魚の種類（希少種・外来種）の把握が期待できる「環境DNA」調査がある。（図-1参照）

## 2. 河川水辺の国勢調査とは

河川水辺の国勢調査（以下、「水国」という。）は、

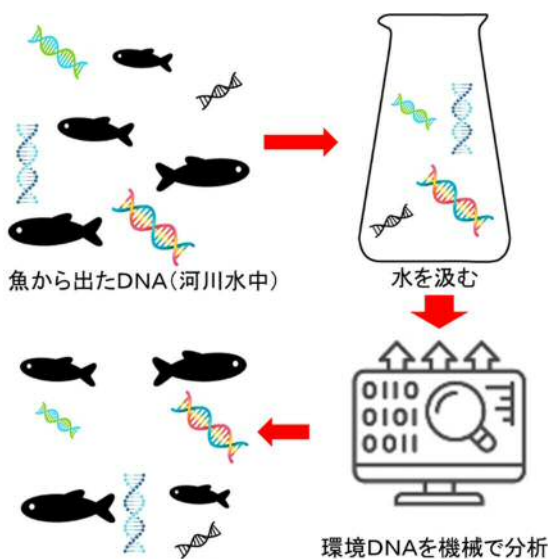


図-1 環境DNA

主に全国109の一級水系の直轄管理区間やダム等を対象に河川環境の観点から生物の生息状況や河川の利用状況に関する基礎情報を収集・整理し、河川環境を維持管理していく上での基礎データ収集として実施される調査である。（図-2参照）

水国の魚類調査は5年に一度の頻度で実施されている。

## 3. 河川水辺の国勢調査における課題

(1) 調査における時間的、労力的コスト

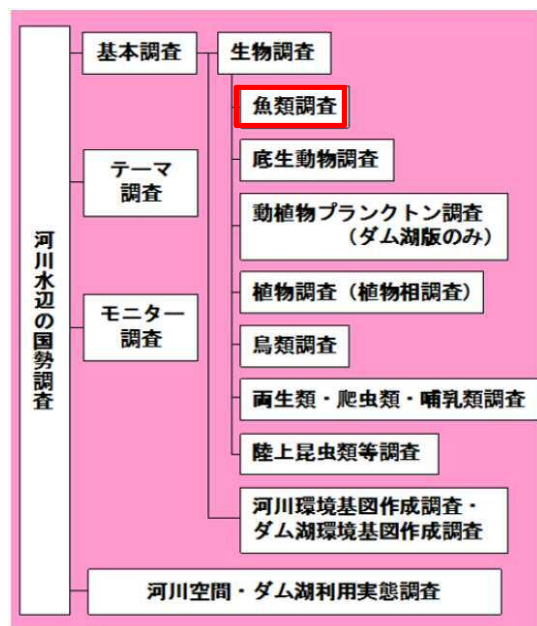


図-2 水国の構成

水国における課題の一つは、調査における時間的、労力的なコストである。河川生態を空間的に連続して把握する調査は困難であり、調査結果は空間的に連続したデータとならない。

また、魚類が移動しながら利用する環境を選択しているなかで、水国の調査回数が5年に一度と限られ、同じ調査年であっても年2回の調査（春調査、秋調査）では利用空間との関係を十分に捉えることができない種もいる。

## (2) 調査時の環境条件への依存性

もう一つの課題として、調査時の調査条件への依存性がある。これは調査時の天候や気温等のほか、魚類調査における調査員の知識や技量により結果が変化（誤同定、採捕量など）すること等による。また、熟練調査員の不足や生産年齢人口の減少による将来的な調査員自体の不足も考えられる。

さらに、魚類採捕に伴う希少種等への調査圧が懸念される。これは、水国の前回調査において確認された種があった場合、「必ず採捕しなくては」との考えが調査員にかかることで生じる可能性がある。

## 4. 環境DNA調査による河川水辺の国勢調査の補完

水国と環境DNA調査それぞれに調査手法の特性としての長所と短所があるが、環境DNAの技術により水国魚類調査の補完を期待できる。

### (1) 水国（直接採捕による調査）の長所、短所

#### a) 水国魚類調査の長所

- ・採捕した魚類を直接確認し同定することが可能
- ・採捕地点を明確に確認可能

#### b) 水国魚類調査の短所

- ・採捕時の労力が大きい
- ・個体数が少ない、深い場所にいる魚種は捉えにくい
- ・捉えた種の同定は調査者の技量による
- ・大量のホルマリン固定サンプルを保管する必要

### (2) 環境DNA調査の長所、短所及び不確実な点

#### a) 環境DNA調査の長所

- ・個体数が少ない場合にも生息確認が期待できる
- ・水質調査など他の調査時にあわせて採水可能
- ・DNAの状態コンパクトに保存可能
- ・保存したDNAを必要時に再分析可能

#### b) 環境DNA調査の短所

- ・調査分析用具の取扱に注意が必要
- ・種判別レベルはデータベースに左右される
- ・交雑個体（雑種）の存在は検知できない

#### c) 環境DNA調査の不確実な点

- ・河道内における魚類組織片の動態は未解明
- ・採取したDNAは、どの範囲の生物情報を反映しているのか不明
- ・個々の河川の特徴や流況、調査目的に応じた調査計画の立案方法が不明
- ・業務発注時に、どのような指示であれば信頼性のある成果が得られるのか未確定（標準仕様書、歩掛）

## 5. 土木研究所との連携

環境DNA調査が水国調査結果を補完できるものであるのかを確認するため、土木研究所と連携した。

2019年度は久慈川水系、利根川水系、鶴見川水系、富士川水系において水国の魚類調査実施予定となっていたことから、土木研究所と調整し環境DNA調査対象水系を利根川水系の各河川事務所管内水国調査地点（利根川上流河川事務所、利根川下流事務所、江戸川河川事務所）とした。

- ・利根川上流河川事務所管内採水地点（春季・秋季調査）  
利根大堰下流（本川の早瀬、平瀬）、利根大堰上流（本川の湛水域）（図-3、4参照）
  - ・利根川下流河川事務所管内採水地点（秋季調査）  
水郷大橋下流（本川、池）
  - ・江戸川河川事務所管内採水地点（秋季調査）  
利根運河
- なお、連携内容は次の分担とした。

### (1) 関東技術事務所（以下を土木研究所へ提供）

- 各河川事務所水国調査地点のうち、基本的に1箇所（利根川上流については近傍であったため2箇所）採水  
なお、採水・運搬方法は以下のとおり。
  - ・胴長、救命胴衣着用
  - ・採水ビン2L（未使用若しくは使用済みでもDNAリセットしたもの）で採水



図-3 採水状況  
利根大堰下流（早瀬）（秋季調査）



図-4 採水位置 利根大堰下流 (早瀬, 平瀬)

※採水時はDNAの混入を防ぐため手袋着用

※採水時写真撮影, 採水状況記録

- ・採水後, 殺菌消毒剤を添加 (1Lに対して1ml添加)
- ・採水ピンをクーラーボックス (氷を入れ冷やす) に保存
- ・土木研究所へ当日中に運搬し手渡し

b) 各河川事務所水国魚類調査地点の魚類組織片回収

c) 各河川事務所採水地点における魚類採捕結果とりまとめ

## (2) 土木研究所

a) 関東技術事務所採水の河川水を環境DNA分析

b) 魚類組織片のDNA調査 (環境DNAを利用した調査の内在誤差確認)

## (3) 関東技術事務所と土木研究所の共同

a) 関東技術事務所のc) と土木研究所のa) との突き合わせ比較

## 6. 魚類採捕結果と環境DNA調査結果付き合わせ

2020年3月末までに環境DNA調査結果を得られたのは, 利根川上流河川事務所管内採水地点のうち秋季調査の利根川大堰下流 (本川の早瀬, 平瀬) の2地点であった。この2地点での突き合わせ結果として, 魚種数は環境DNAのほうが直接採捕より多く確認された。(表-1参照) 環境DNAのみの確認魚種の多くは生息

していてもおかしくない魚種であったことから, 環境DNA調査は, 直接採捕による調査で困難であった「広範囲な水域調査」や「魚類の活性が低く採捕が困難な季節の調査」を補完し網羅的な把握の一助となりうると考えられた。

以下に突き合わせ結果の代表例を示す。

- ・秋季調査において直接採捕できなかったが, 環境DNAのみ確認出来た魚種があった。なお, 春季調査では直接採捕できていたことから, 秋季では生息する場所が変わり採捕が困難となったと考えられる。(コイ(型不明), ドジョウ等)
- ・直接採捕のみで環境DNAが検出されない魚種があった。これは, 環境DNAの遺伝情報データベースに一致しなかった為であるが, 今回の調査で解析対象した遺伝領域では種の特定が困難な分類群であった為とも考えられる。(ギンブナ, ニゴイ)
- ・更に直接採捕の際の魚種同定で判別が困難な魚種であった可能性も考えられる。(カマツカ等)
- ・直接採捕されないが環境DNAが検出された魚種があった。これは, 上流域での生息が考えられる。(タモロコ等, 利根大堰上流で直接採捕された魚種であり, 環境DNAが堰下流に流下したことから, 環境DNAが検出された可能性がある)
- ・環境DNAにおいて, 生息自体があり得ない魚種の検出もあった。これは, 河川外に由来すると考えられる。(サンマ等)



表-1 魚類採捕結果と環境DNA調査結果突き合わせ

●：採捕でも確認，○：eDNAのみ

	直接採捕		環境DNA			備考
	○	○	○	○	-	
	リード数 (結合配列)	-	178,839	178,196	-	
	利根大堰下流 (秋季調査)		利根大堰下流 (秋季調査)			
	平瀬	早瀬	平瀬	早瀬	平瀬+早瀬	
コイ (型不明)			○	○	○	春季には採捕確認
ゲンゴロウブナ		3	○		●	
ギンブナ		1	採捕のみ			
フナ属の一種			○	○	○	ギンブナに相当の可能性
タイリクバラタナゴ		4	採捕のみ			
オイカワ	37	28	●	●	●	
アブラハヤ		1	○	●	●	
ウグイ		1	○	●	●	
マルタ				○	○	秋季に残留個体はないとされているが飼育・食品とも考えづらい。温水域にいるのかもしれない
タモロコ			○	○	○	利根上4では採捕確認
カマツカ		2	採捕のみ			
スナゴカマツカ			○	○	○	直接採捕ではカマツカと判断されたか
ニゴイ	3		採捕のみ			
ニゴイ属の一種			○	○	○	ニゴイに相当の可能性
スゴモロコ類		10	○	●	●	
コイ科の一種			○	○	○	
ドジョウ			○	○	○	春季には採捕確認
ヒガシシマドジョウ		5	採捕のみ			
ナマズ			○	○	○	いてもおかしくはない
チャネルキャットフィッシュ				○	○	春季には採捕確認
アユ			○	○	○	春季には採捕確認
サケ属の一種			○	○	○	サケかニジマスと思われるが断定困難。河川外由来の可能性あり
イワナ属の一種			○	○	○	河川外に由来する可能性
サンマ			○		○	河川外に由来する可能性
コクチバス			○		○	春季には採捕確認
カジカ			○		○	不明
クロダハゼ		16	採捕のみ			
ヨシノボリ属の一種			○	○	○	クロダハゼかトウヨシノボリ類に相当の可能性
ジュズカケハゼ		18	○		●	
魚類数	2	11	21	18	23	

## 7. まとめ

環境DNA調査は、水を汲み分析することで河川に生息する魚種や分布を調査可能とするものである。この技術の信頼性が向上することにより、水国の課題を補完することに期待できる。

今後は、土木研究所と引き続き連携し、水国の魚類調

査を実施している各事務所において、河川水を採取するだけで環境DNA分析が可能となるよう「環境DNA調査の採水マニュアル」の作成を目指す。将来的には、関東技術事務所において、各事務所取得した環境DNAデータを保管し、過去に遡って分析可能となるようデータバンクとしての機能を得られるよう長期保管技術の取得を目指したい。