



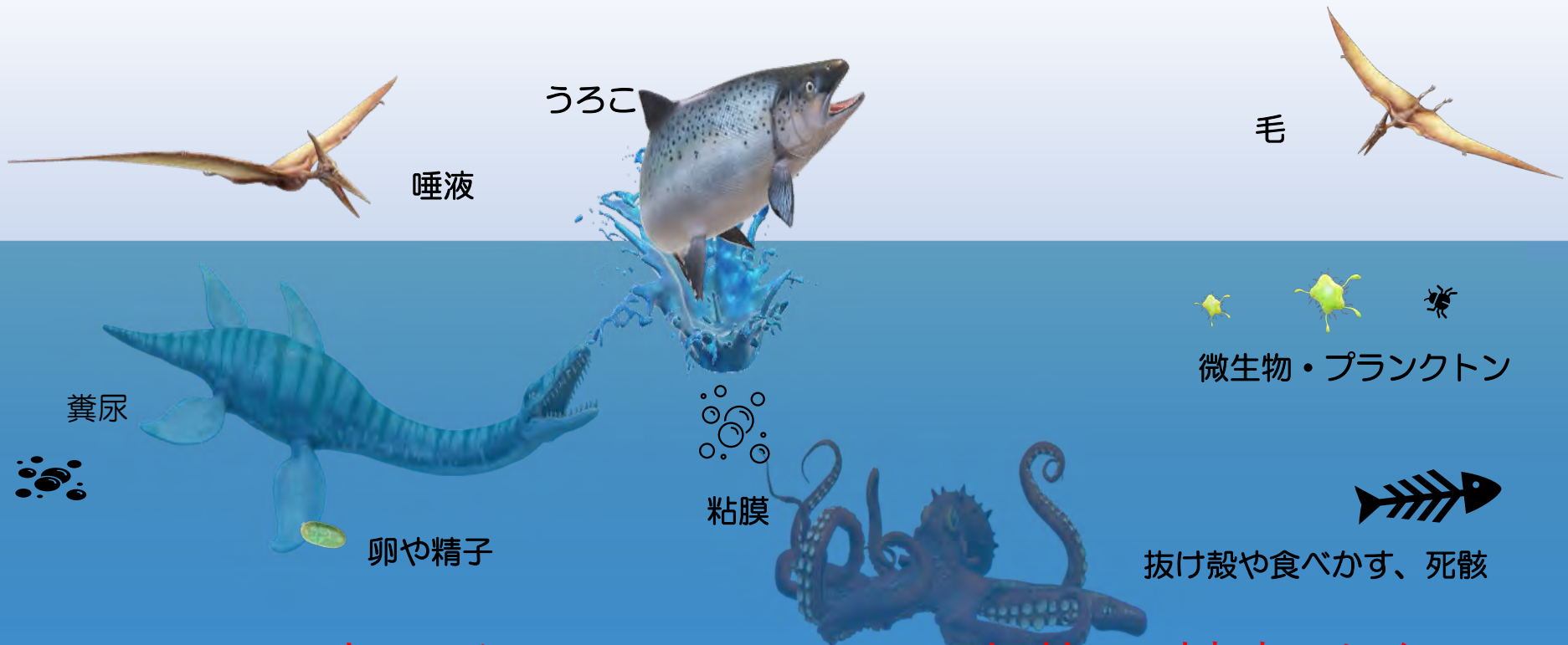
河川事業における 環境DNAの活用

水環境研究グループ 河川生態チーム
総括主任研究員 村岡敬子

環境DNAとは…..

生物を取り巻く空間（環境中）から得られる、
そこに生息する生物由来のDNA

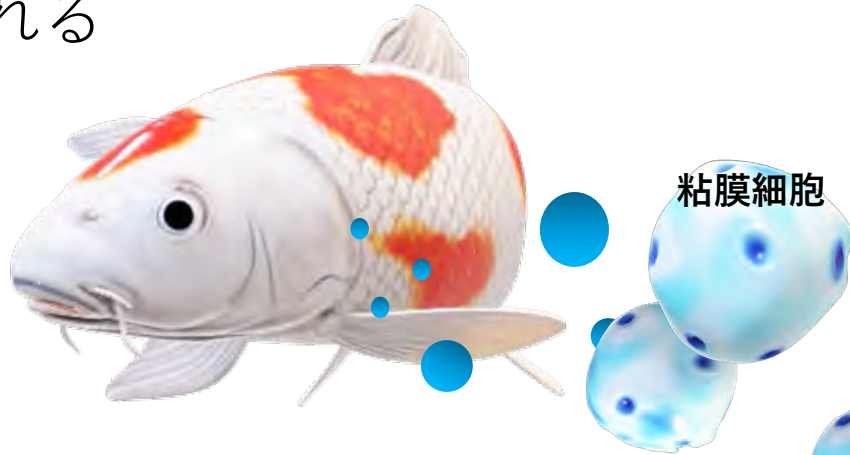
環境DNAまたは英語の略称でeDNA (environmental DNA) とは、土壌や水などのさまざまな環境中から採取される、**そこに生息する生物由来のDNA**のことである[環境DNA学会]



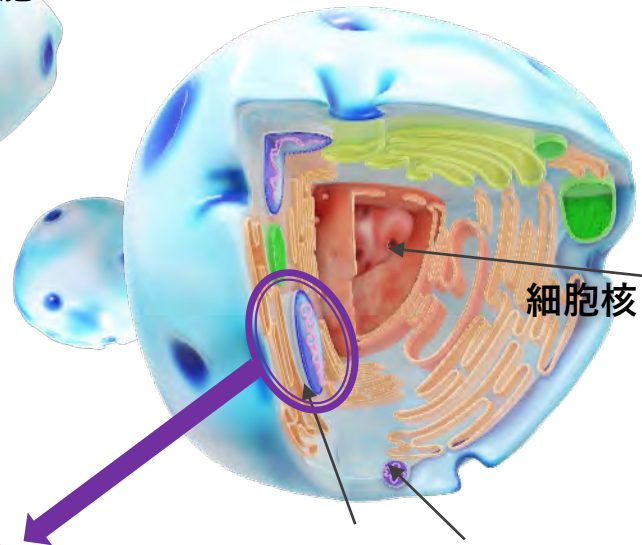
1~2ℓの水から、そこにいる生物の情報を得る！

小さい組織片からDNA？

細胞がひとつあれば、分析に十分な量のミトコンドリアDNAが得られる



魚が呼吸や排泄をする際に、魚の粘膜細胞も水中に放出される。剥がれ落ちた鱗（うろこ）や卵・精子などもまた細胞で構成されており、水中に放出される



ひとつの細胞中に数百個ある



ミトコンドリアDNA
ひとつのミトコンドリアに5,6個ある

粘膜細胞の中には、魚の筋肉や血液等の細胞と同様のDNA情報が存在する。ミトコンドリアDNAは、ひとつの細胞から1000個以上得ることができる。

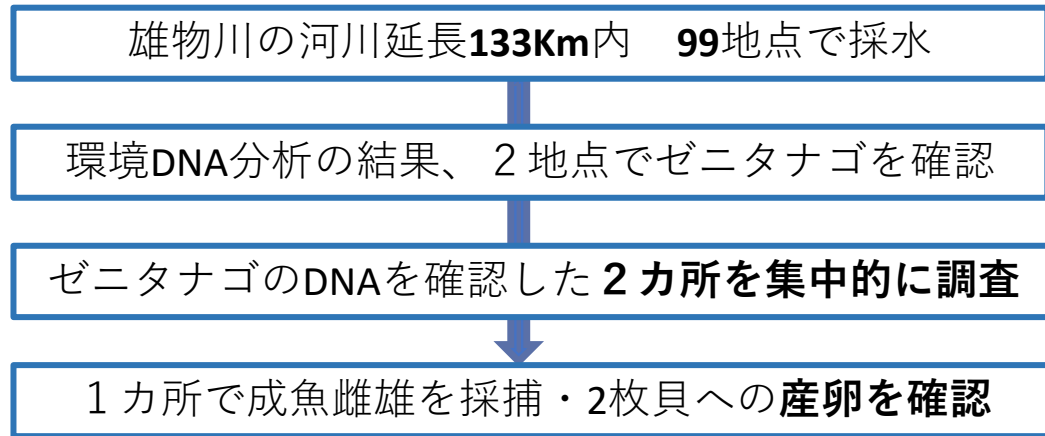
例えば、こんな場面で環境DNA

雄物川におけるゼニタナゴ生息地の探索

ゼニタナゴ(*Acheilognathus typus*(Bleeker,1863))環境省, 秋田県:絶滅危惧IA類)



採水の状況



環境DNAは、

直接魚を捕まえない

魚を傷つけない・生息地をかく乱しない

現地作業は採水だけ

多地点調査が可能

検出感度が高い

個体数が少なくても検出可能

既往の調査手法を組み合わせ、効果的・効率的に希少種の生息を確認

環境DNAで得られる生物情報

目標種に特化した解析
(種特異解析) しゅとくいかいせき

河川事業における活用場面
(例)



生物の存在情報

組織片量の情報
相対比 or 定量



地点 A

地点 B

地点 C



希少種の探索

外来生物の侵入状況確認

産卵場や産卵時期の探索

地域個体群の分布域調査

希少種保全策の効果検証



魚類・爬虫類などの単位で解析
(種網羅解析) しゅもうらかいせき

生物リスト

生物の存在情報

地点 A

地点 C

- ・コイキング
or ギャラドス
- ・テッポウオ
- ・ドジョッチ
- ・ハギギシリ
- ・ギバニア
- ・シーランス

- ・コイキング
or ギャラドス
- ・ドジョッチ
- ・ハギギシリ
- ・ママンボウ

生物相調査

外来生物等の侵入状況確認
(想定外のものも可能)

事業前後の生物相比較

食性調査

.....

調査の効率化・高度化に期待！

環境DNAを

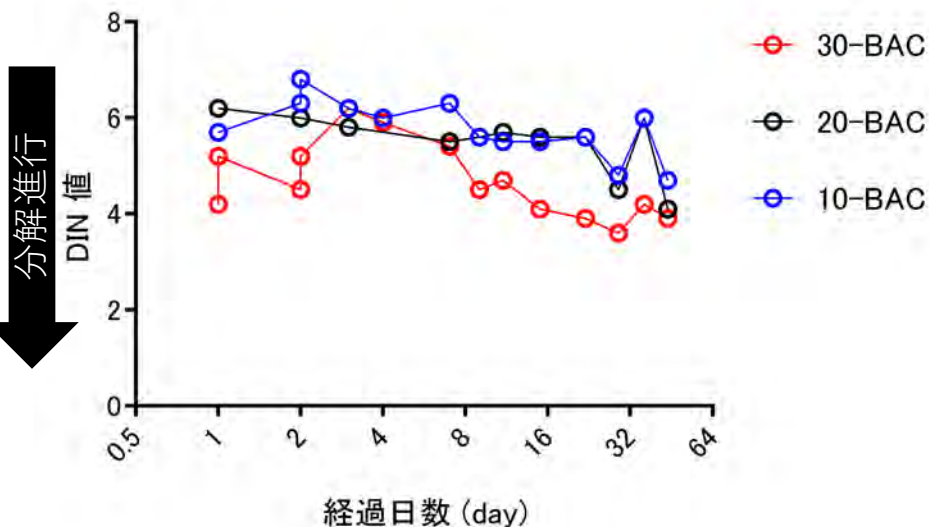
河川事業における調査技術にするための取り組み

例えば、サンプリングのその後で

環境DNA調査・実験マニュアル

DNAの保存薬（BAC）の添加により常温下でも数日程度はDNAが保存されるが、できるだけ低温での管理が望ましい。実験室に持ち帰ったサンプルはできるだけ早期に（48時間以内を推奨）ろ過を行う。

実験室の常温は20-25°C程度だが...



BAC添加サンプルの保管温度とDNAの分解

河川事業への導入を考えると

BACを投入した場合も、サンプルの保冷に努める必要あり

分析会社へのヒアリング等を実施

宅配の所要日数やサンプル集中を鑑みると

48時間以内のろ過は難しい

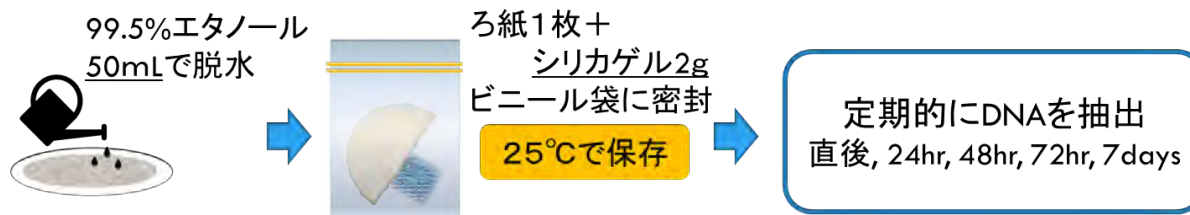
保冷をしたうえで、5日以内にろ過

現地でろ過をすることも推奨する

現地濾過をする際の負担低減

簡便に現地濾過する方法はあるものの、保冷が必要
保冷のための機材（保冷材やクーラーボックスの）の負担を減らしたい

サンプルを常温で保存・運搬できる簡便な方法を試行錯誤



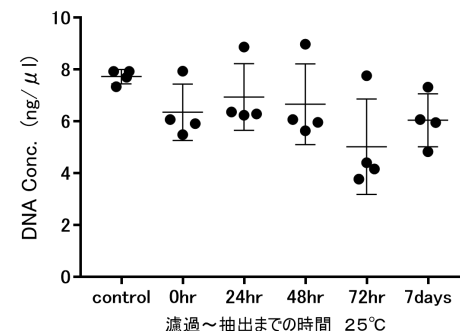
グラスファイバーろ紙：
EtOH 50mlによる脱水処理 25°C 7日間

用意するのは、エタノールとシリカゲル！ 分析会社あてに、
封筒に入れてポスト投函(妄想)！

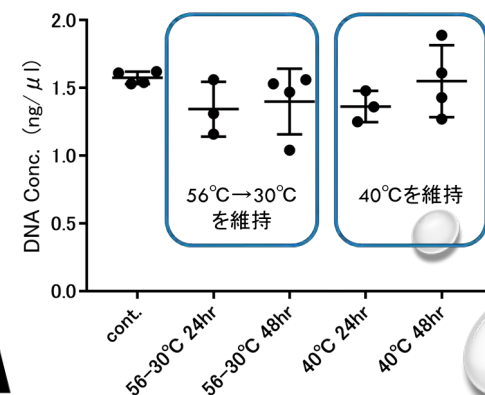
カートリッジフィルター
Buffer ATL + Pro. K を添加後

- ① 56°C 40min → 30°C以下 2日間OK (平時)
- ② 40°C以上を持続← 2日間 (酷暑時)

用意するのは、DNA抽出時に使用する試薬の一部＋
使い捨てカイロ！ 実験室の手間も低減！



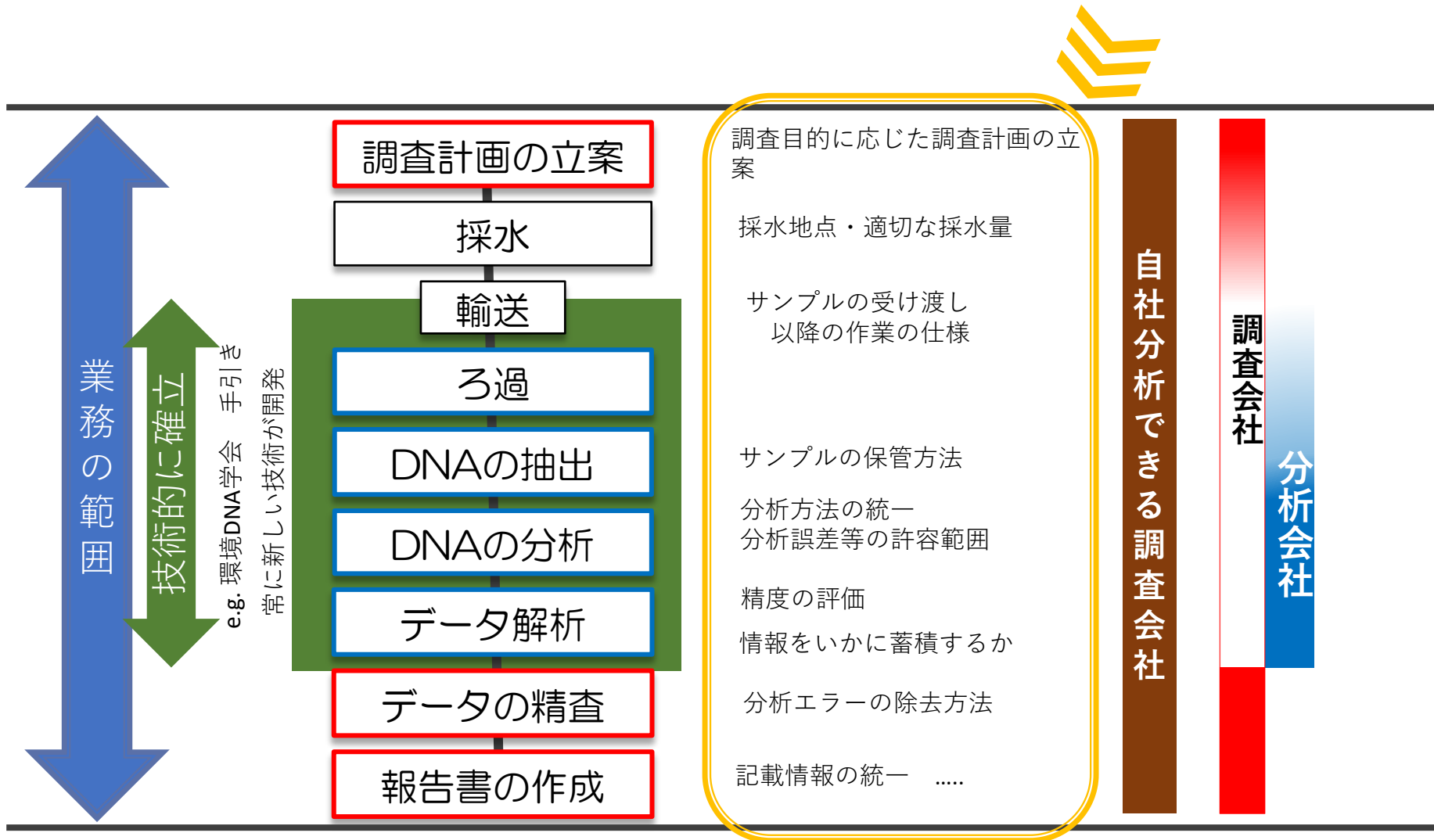
脱水処理したろ紙のDNA濃度の変化



ATLとPro.K注入後のDNA濃度の変化

環境DNAを河川事業に展開するための課題

- ① 調査の継続性：これまで積み重ねてきたデータ（例えば水国調査）との関連など
- ② 持続性：実施者や体制が異なっても、同様のデータが得られる統一事項



① 調査の継続性：これまで積み重ねてきたデータ（例えば水国調査）との関連など

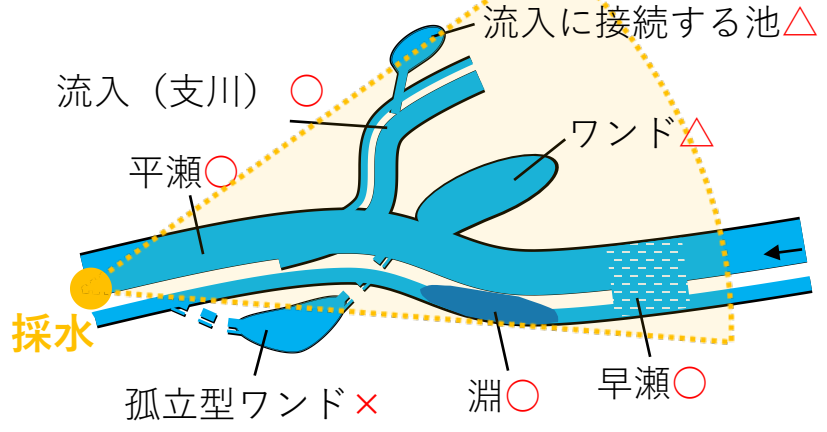
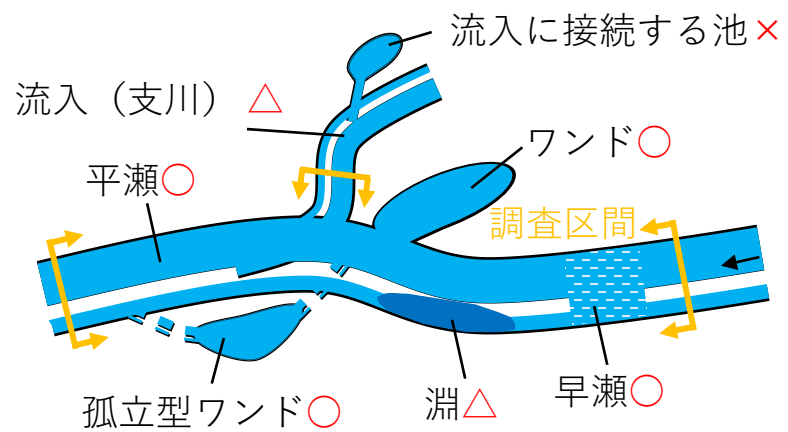
直接採捕を伴う既往調査

魚を直接採捕し、形態的特徴（外観）から種を決めていく（同定）



環境DNAを使った調査

水中の魚の組織片から得られるDNA情報とDNAデータベースを突き合わせて、種リストを得る



○：生物の確認・検出が可能， △：状況により課題あり， ×：生物情報の取得は困難・不可能

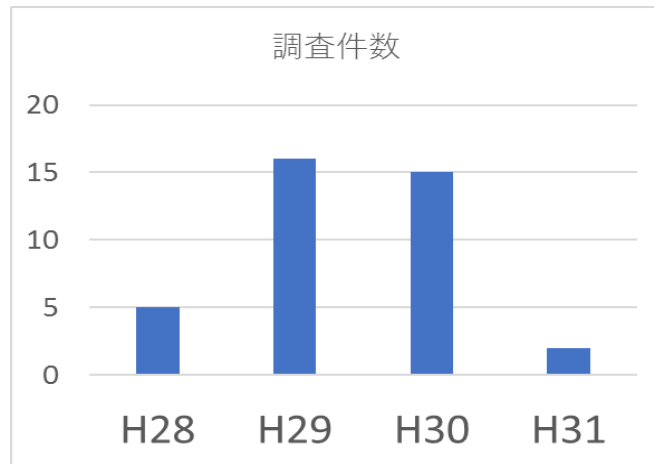
河川水辺の国勢調査と環境DNA

H28以降に、河川水辺の国勢調査（魚類調査）において、環境DNAによる魚類相調査を実施した事例を収集

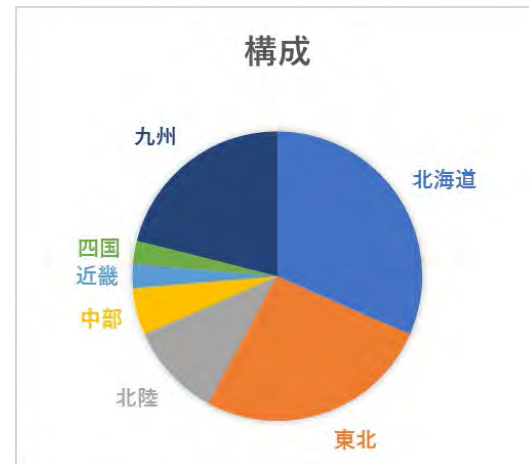


河川水辺の国勢調査 テーマ調査 令和元年度

- H28～H31年度(途中)までの期間に少なくとも **21河川+ 20ダム** で実施



調査件数は、H29以降に急増



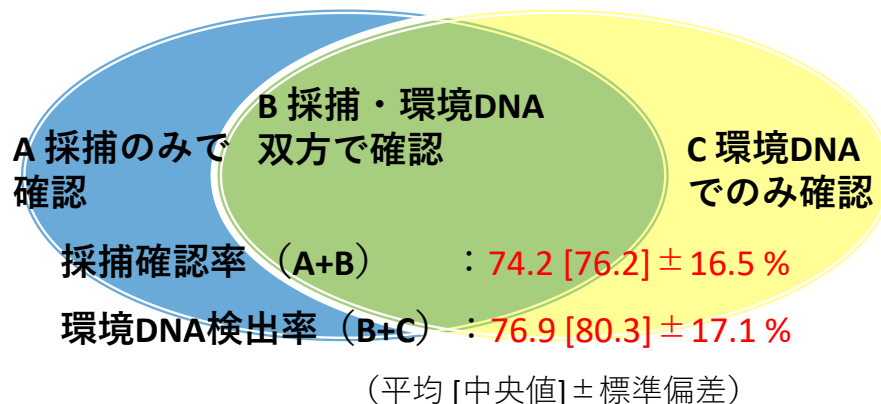
全国の地整で実施

河川水辺の国勢調査テーマ調査として令和元年に実施

河川水辺の国勢調査と環境DNA

環境DNA調査を行った全調査地区の88.2%で採捕調査結果とeDNA分析結果の間に正の相関があった

全国から平成28～31（途中）年度の期間の水国調査（魚類）の総件数の約3割にあたる、21水系43河川と20ダムの情報を元に、分析を実施しました。水国調査における直接採捕の結果と同地区の河川水から環境DNA分析により得られた魚種リストを比較すると、調査対象とした76地区の88.2%にあたる67地区で、双方のリストの間に強い関係があることが確認されました



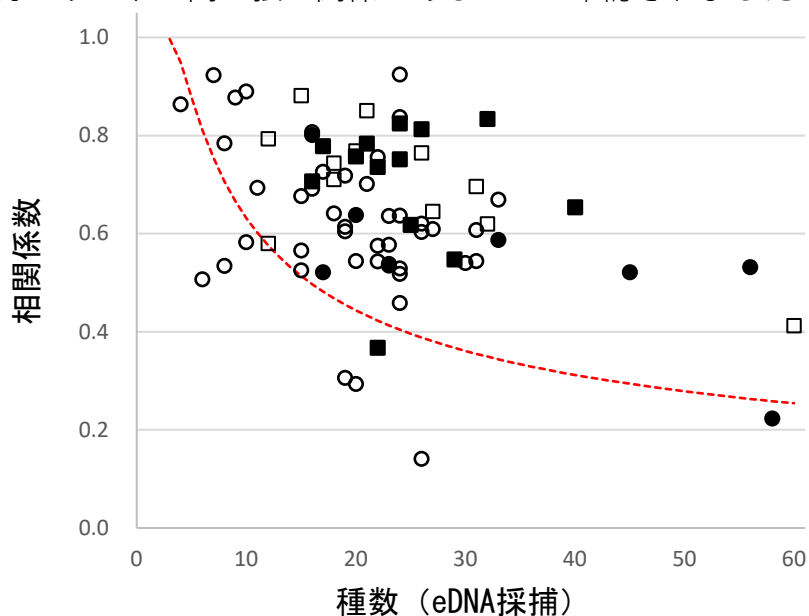
検出率の低い魚種に見られた傾向

そもそもの確認例数が少ない

小型の底生魚類

海洋・汽水性、回遊性魚類

タナゴ亜科魚類



各地区におけるメタバーコーディング解析と直接採捕結果の相関
(○：1検体/1季, ●：複数検体/1季,
□：1検体/2季合算, ■：複数検体/2季合算)

* 北川哲郎・村岡敬子・山田拓也・中村圭吾（2020）河川水辺の国勢調査（魚類）における環境DNAメタバーコーディング解析の試行事例分析，河川技術論文集，26: 319–324.

河川水辺の国勢調査への「環境DNA」導入の可能性に関する 水国テーマ調査の開始 令和元年 開始

令和元年：既存資料収集・分析⇒水国調査結果と相関があった地点88.2%

令和2年度水国テーマ調査：

全地方整備局の協力を得ながら500地点以上サンプルを収集・分析中

・環境DNA調査の最適化を目指した水国データと環境DNAデータの情報比較

対象河川：R2年度に河川水辺の国勢調査（魚類）予定河川から選定

神通川（北陸）、矢作川・雲出川（中部）

・ダム湖内の湖水流動を踏まえた調査地点の選定方法

対象河川：R2年度に河川水辺の国勢調査（魚類）予定ダムから選定

滝沢ダム（水機構）、二瀬ダム・荒川遊水地（関東）

・河川水辺の国勢調査地点と水質調査地点における環境DNA情報の比較

全国の10河川6ダムを対象に実施中

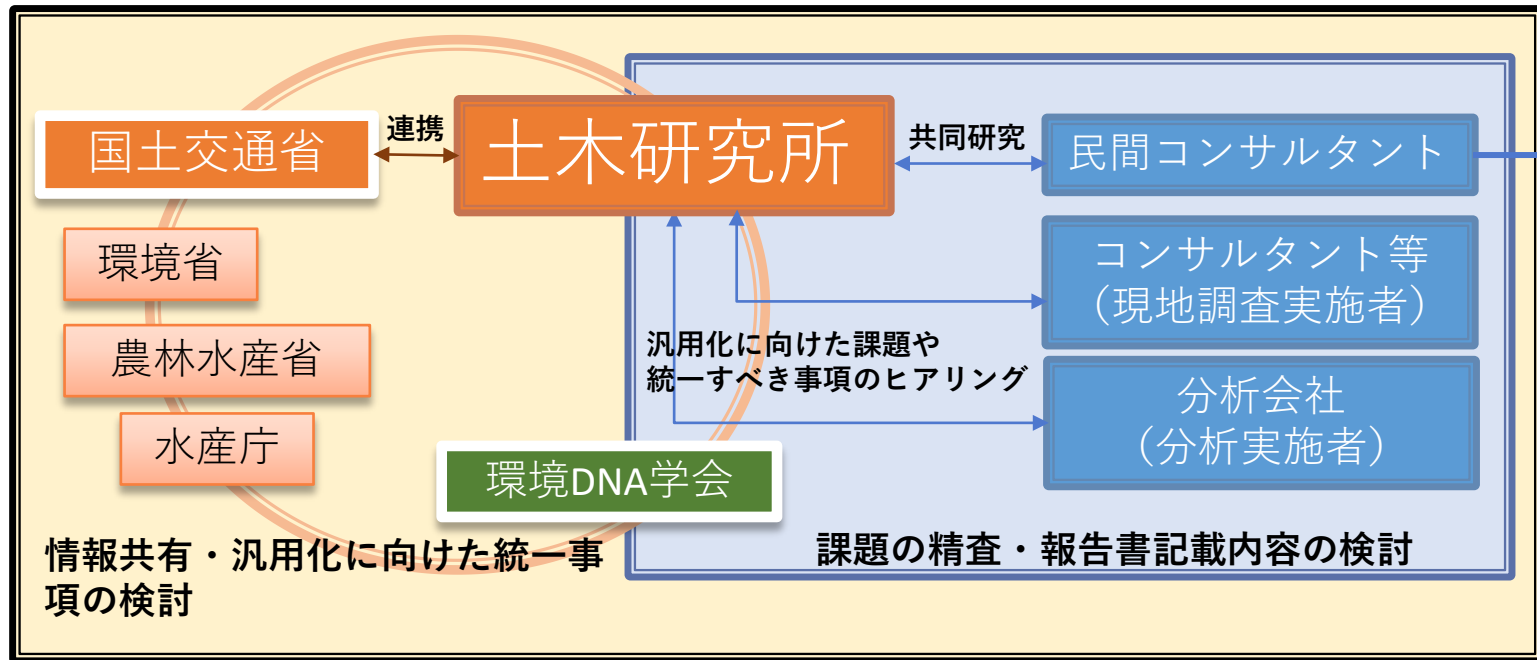
・サンプルの取り扱い方法・保存方法に関する検証

上記調査で収集したサンプルを使い検討

地点選定の最適化

② 持続性：実施者や体制が異なっても、同様のデータが得られる統一事項

-河川事業への環境DNAの展開を目指した- 土木研究所における環境DNA取り組み体制



河川・湖沼における環境DNA活用技術に関する共同研究

汽水域及び河川下流域における環境DNA適正サンプリング手法の検討 (株)エコー

止水域における環境DNA活用のための基礎研究の事例 応用地質(株)

河口部におけるアユ仔稚魚の動態解明にむけて (株)建設技術研究所

環境DNA分析における採水量の最適化及び流域の魚類相評価能力の検討 パシフィックコンサルタンツ(株)

詳細は、土木研究所河川生態チームHP掲載の中間報告書をご覧ください

環境DNA情報 報告書記載様式について

環境DNAを使ったサンプリング～分析に至る情報を記載する様式案を作成
目的

- ①次回以降の分析において同様の分析条件の設定を可能とする（再現性・継続性）
- ②疑わしきデータがあった場合の検証情報
- ③他機関等が実施したデータも含め将来的な大規模データベースを構築する際の共通情報
（環境省・農林水産省・水産庁、コンサルタント・分析会社と意見交換を行いながら作成）

様式一覧		Ver.1.1
様式名	様式番号	
基礎情報	様式-1	
採水地点情報	様式-2	
地点写真	様式-3	
ろ過情報・DNAの抽出	様式-4	
網羅解析分析条件	様式-5 [※]	
プライマー情報(記載論文有)	様式-6-1 [※]	
プライマー情報(記載論文無)	様式-6-2 [※]	
インデックス配列情報	様式-7 [※]	
ライブラリーの濃度・電気泳動結果	様式-8 [※]	
解析方法（代表配列の決定方法、種の判定基準等）	様式-9 [※]	
その他		
様式-2に記入する情報を現地で記載するための現地野帳	参考	現地野帳
報告書記載様式内の専門用語の説明	参考	用語説明

[※]様式5以降は、種網羅解析を対象としています。

採水地点情報						様式-2
水系名:						
河川・ダム名:						
項目	単位	A1	A2	R1	備考	
採水日時	-	3/3/9:00	3/3/11:00	3/3/14:00	午前午後がわかるように時刻を記入する	
採水地点座標データ	-	○○●●	○○●●	○○●●	目標値:	
採水水深	m	1m	不明	0.7m	わかる範囲で記入	
採水水深	m	0.3m	0.3m	0.3m	水深を水面から1m	
採水器材	採水時に使うもの	網り採水機	バケツ	網り採水機	洗浄方法:	
採水容器	採水時に使うもの	網上	-	網り採水機		
採水器具の再利用	-	無	あり	無	洗浄方法:○写真撮影 10分	
採水機	L	2L	1L	1L		
試薬の添加	-	あり	無	無	試薬名:100mBAC	
試薬の添加量	ml	1	0	1		
採水	温度	℃	25	28	22	採水時に採取容器から温度計を投入しやすくする 気温は、サンプルの分割に異なる
深度	深さ	cm	1	20	15	
透明度	mm	-	-	-	あれば記録	
流速(平均)	m/s	0.1	0.1	1.2	採水地点の高さを記録	
野水位(ダム)	EL,m	-	-	-		
状態	-	-	-	-	やや濁っている	
水温	℃	18	20	18		
SS(浮遊物質)	mg/L	●●	●●	●●		
pH	-	-	-	-	現場の状況に応じ記録	
EC(電気伝導率)	mS/m	-	-	-	現場の状況に応じ記録	
DO(溶解酸素)	mg/L	-	-	-	現場の状況に応じ記録	
種分	%	-	-	-	現場の状況に応じ記録	
採水後の保管	℃	氷冷→ クール保→ 15℃冷蔵	氷冷→ クール保→ 15℃冷蔵	?	保管状況もしくは温度を記録	

それぞれの様式には、記入例と必要に応じて注意点が記されています

様式は作業内容ごとに9つの様式に分かれています

環境DNA情報 報告書記載様式 案 Ver 1.1
<https://www.pwri.go.jp/team/rrt/topic200310.html>

土木研究所河川生態チームのHPに掲載
 幅広く意見を募集中（全地整周知済）

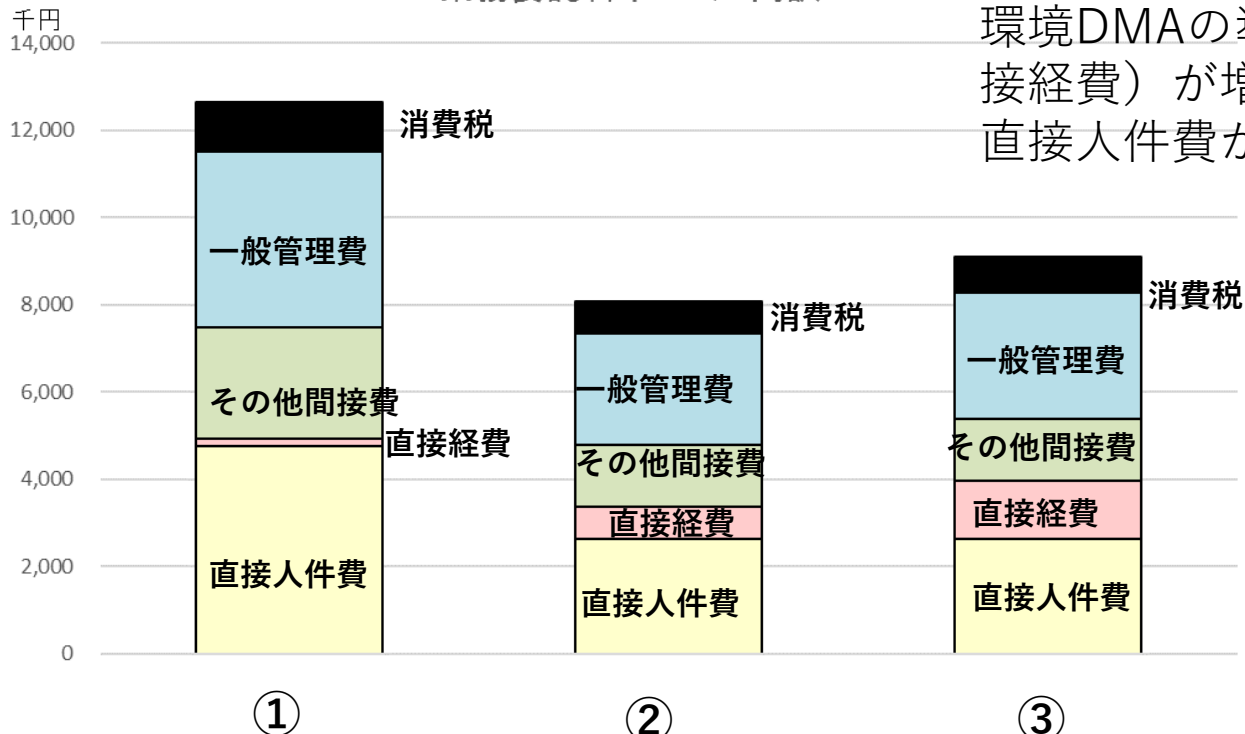
環境DNAはコスト削減につながるか？

環境DNAの分析数にもよりますが、水国調査（魚類）との比較では、これまでの採捕調査よりも安くなる見込みです

試算例 調査地点10地点の水国調査

①	採捕調査（既往調査）		¥12,485,000	
②	環境DNA 調査	1 地点あたり 1 サンプル	¥7,920,000	(① × 0.63)
③	環境DNA 調査	1 地点あたり 2 サンプル	¥8,943,000	(① × 0.72)

業務委託料イメージ 内訳



環境DNAは調査の効率化・高度化につながるか？

どんな技術も使い方次第。特性を活かせ！

将来的な水質調査との併用は可能か？

⇒実施中。サンプリングは問題なくできています。

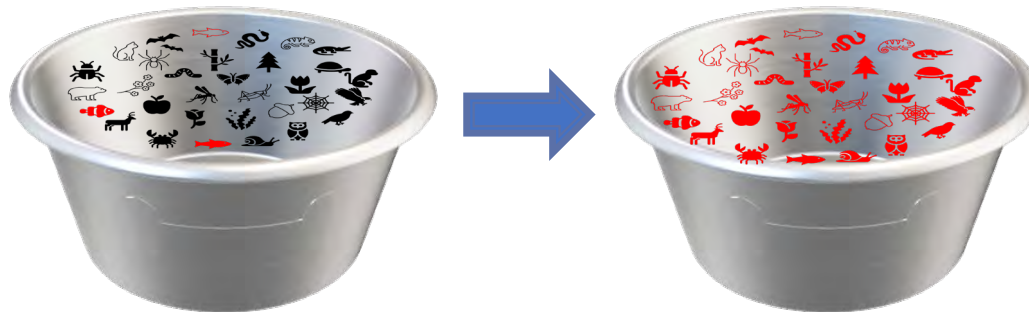


サンプル数を増やして保管。あとで分析！

多くの地点、異なる季節やイベントの際にサンプリングをし、サンプルを保管。順次、あるいは何か課題が見つかった時点でサンプルを分析することが可能です。より簡単にサンプルが保存できるよう、土木研究所において試行錯誤中です。

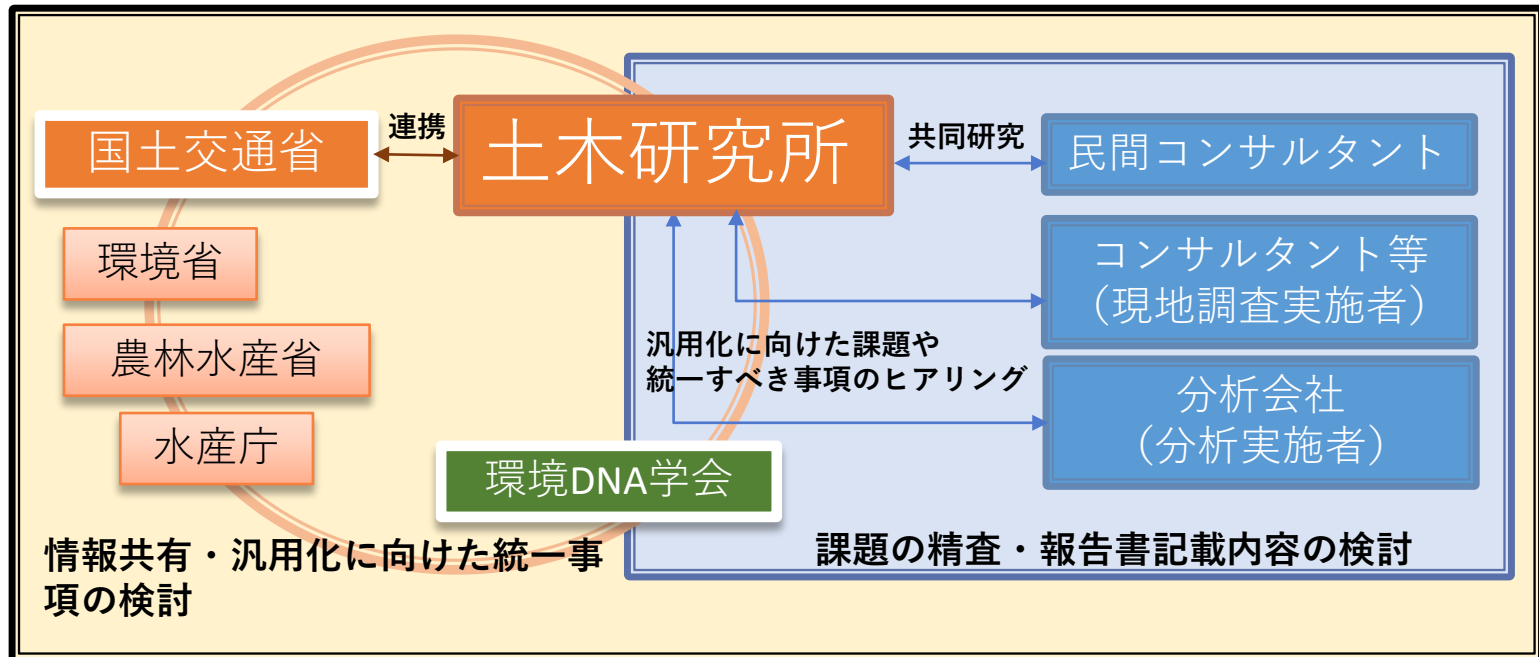
環境DNAの技術自体が、どんどん高度化しています

魚だけでなく、哺乳類、鳥類、二枚貝、底生動物、植物、節足動物などいろいろな生物の分析が可能となりつつあります。将来的には、様々な生物群類の情報を一括して得られることが予想されます。



増え続ける情報の中で、必要なものは何かを見極めることも大切です

-河川事業への環境DNAの展開を目指した- 土木研究所における環境DNA取り組み体制



分析技術だけでなく、データ解析技術も研究開発が進んでいます。生データ等を保管しておけば、先々の再解析で、より精度の高い結果や新しい情報を引き出すことも可能です。現在、環境DNA学会や関係省庁の中で、データの相互利用や今後のデータベースのあり方などについて議論が進められています。

まとめ

河川管理の現場でも、環境DNAの活用が始まっています

調査の効率化・高度化に期待

環境DNA調査技術とするための土木研究所の取り組み

情報の継続性に向けた取り組み

- ・ 既往調査手法と環境DNAで得られる情報の相互比較
- ・ 直轄河川における調査計画立案方法 など

調査の持続性に向けた取り組み

- ・ 現場の態勢を踏まえた作業の統一ルール
- ・ サンプル等の取り扱い技術の開発（簡素化に向けて）

情報の蓄積に向けた取り組み

- ・ 報告書やデータベースの統一事項の検討（環境DNA学会や他省庁とも共同）