

# 環境DNA技術の活用に向けて 現場でできること

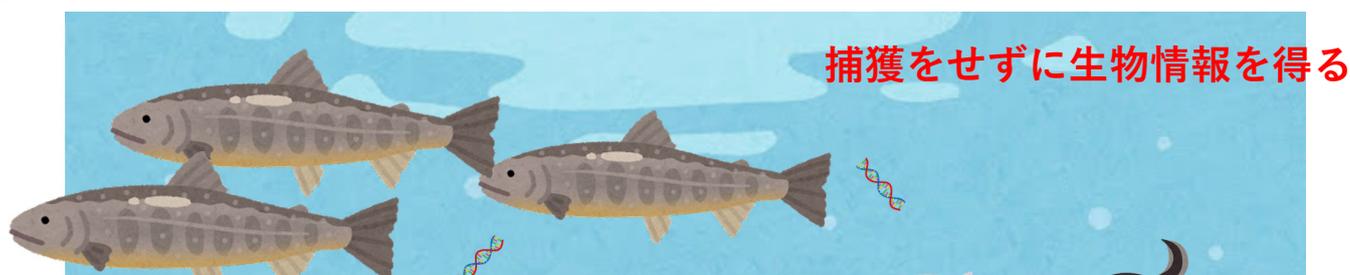
国立研究開発法人 土木研究所

流域水環境研究グループ 流域生態チーム

特任研究員 村岡敬子

## 環境DNA たったバケツ一杯の水から生物情報！

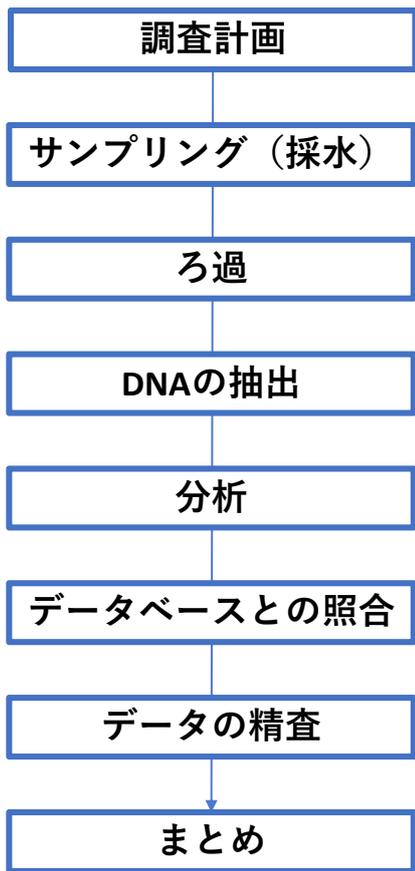
2



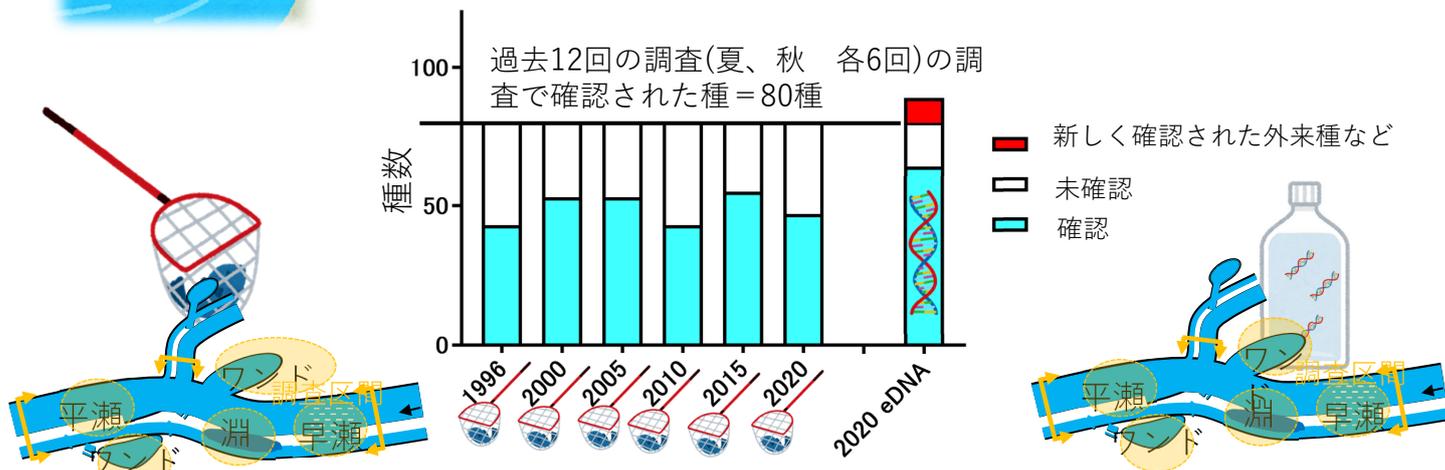
**R 8 年度 河川水辺の国勢調査への  
試験的導入に向けた検討が行われている**



# 環境DNA たったバケツ一杯の水から生物情報！



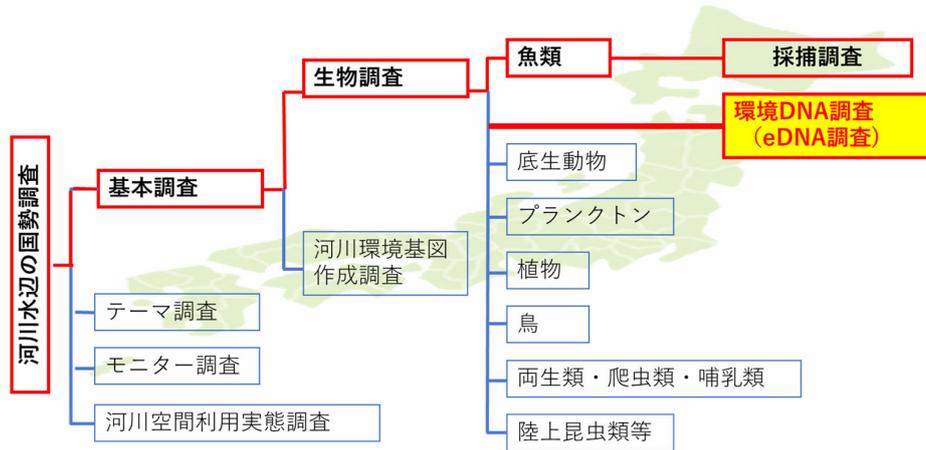
## 河川水辺の国勢調査と環境DNA



神通川水国調査地区5地区で確認された種数

捕獲調査は夏・秋2回の合算、環境DNAは秋季のみ。いずれも環境区分ごとに調査を実施

# 水国調査 環境DNA調査の議論が進んでいる



## 環境DNAの特徴を活かした導入 例え

河川では  
・水系を俯瞰する生物情報

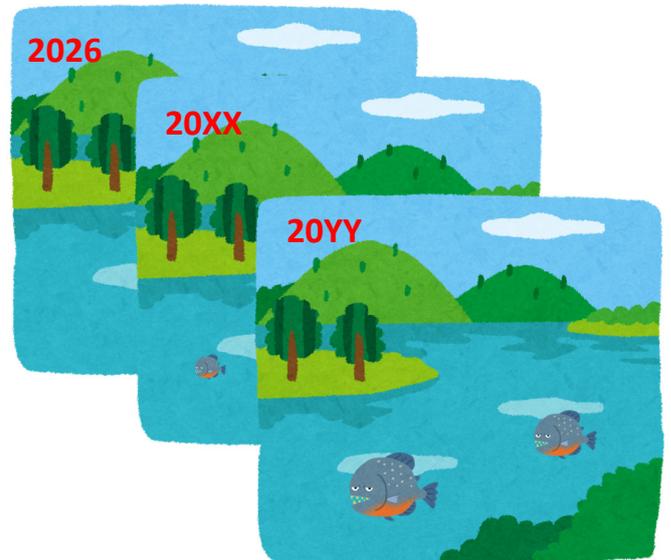
粗くても、面的な生物情報  
>> 多地点調査



魚種別の分布予測マップ

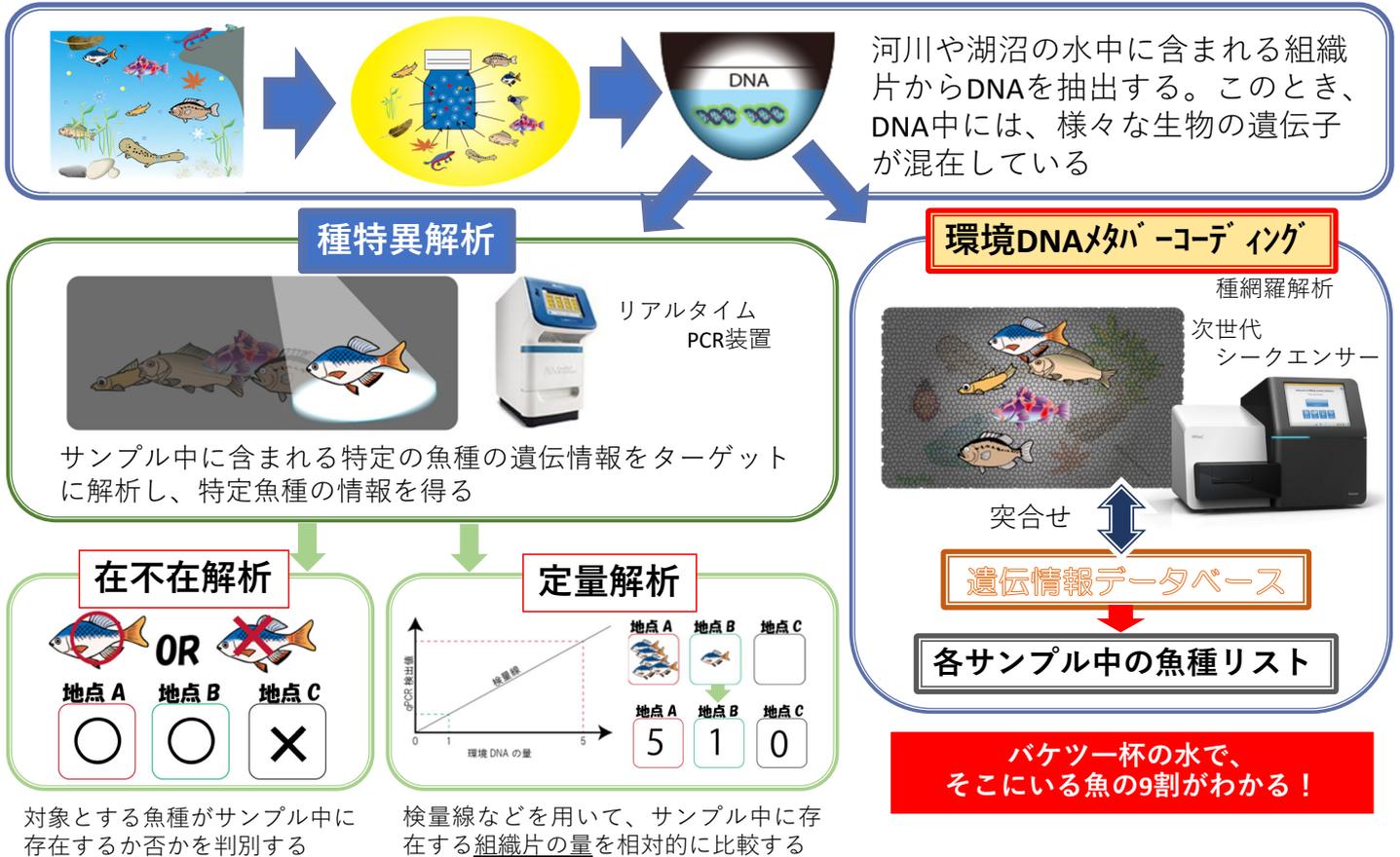
ダムでは  
・生物相の変化を早期に発見

「ダム湖」の魚類相  
>> 高頻度な調査



外来種の早期発見早期駆除

# 環境DNAの活用に向けて現場でできること



- ・ 現地で環境DNAを含有する物質を捕捉する
- ・ 環境DNA情報を必要な生物情報に変換する

## どのくらいの範囲の生物情報を反映？

### 推定される環境DNA含有物質の有効検出範囲

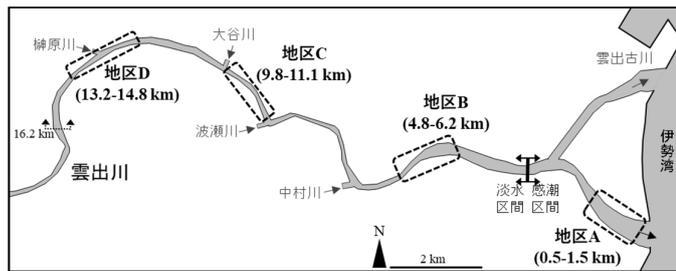
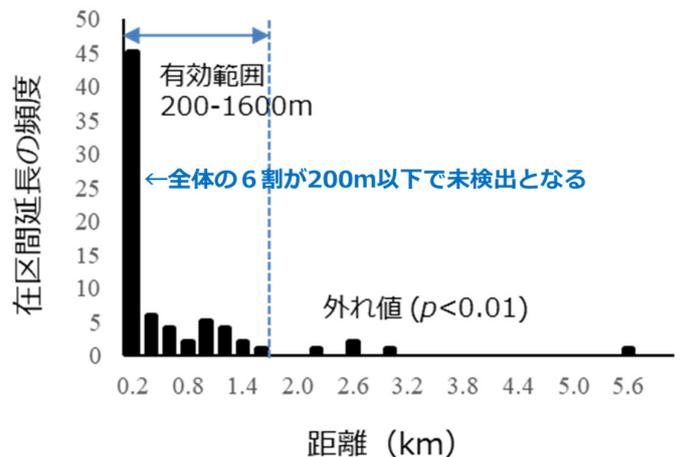


表 採捕地区の魚類リストに対して高い正の相関を示したeDNA魚類リストの検出地点

調査地区	調査区間	勾配 (セグメント,河川型)	相関値 最大*
地区A (感潮区間)	0.5 ~1.5 km	- (2-2, Bc型)	1.8 km (-0.3 km)*
地区B	4.8 ~6.2 km	1 / 1,300 (2-1, Bc型)	4.0 km (0.8 km)
地区C	9.8 ~11.1 km	1 / 1,000 (2-1, Bc-Bb型)	8.6 km (1.2 km)
地区D	13.2 ~14.8 km	1 / 500 (2-1, Bb型)	10.4 km (2.8 km)

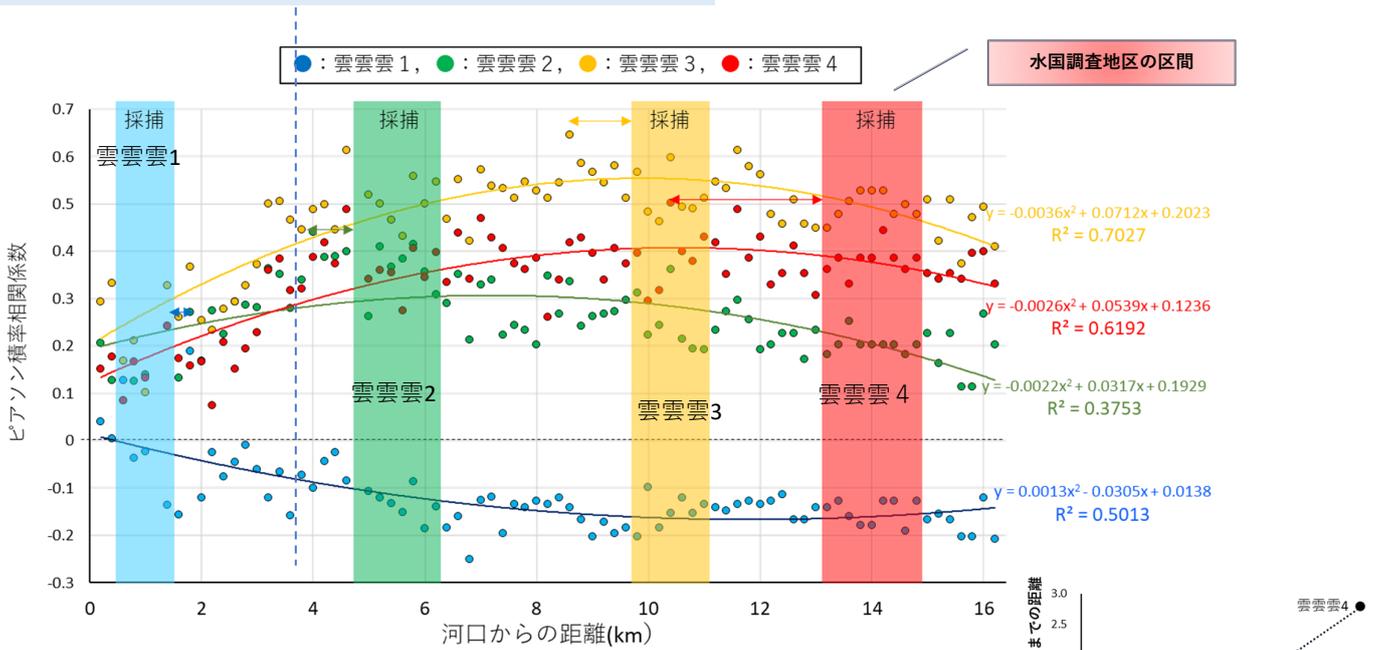
※: 相関係数が最大に達するリストが得られた採水地点  
\*: (調査地区末端からの距離)



環境DNA含有物質の有効検出範囲

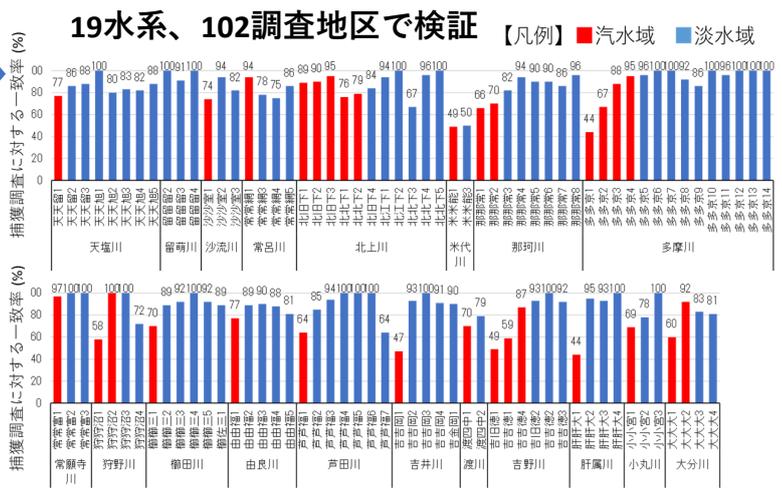
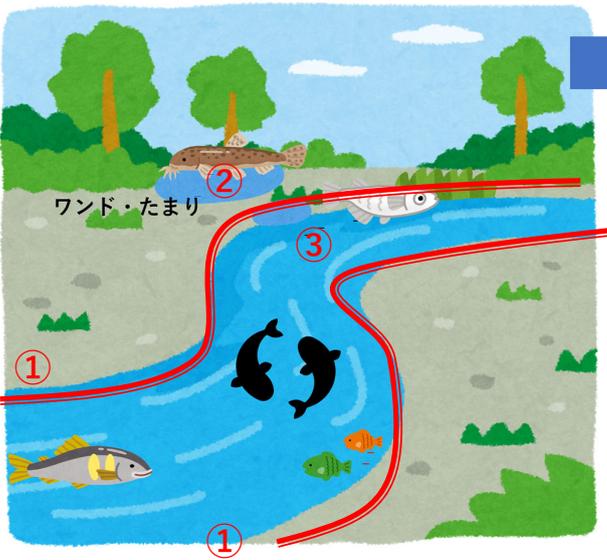
- 魚類相とeDNA検出リストの相関係数は**0.8~2.3 km程度下流の地点**で最大
- 最大相関値を示した下流地点までの距離は**各地区の勾配と強い正相関**
- 感潮区間では**潮汐による海水の流入の影響**を受ける

### 流れの影響を受ける環境DNA



片岸で200m間隔の環境DNA調査により検出された各地点の魚類相と、河川水辺の国勢調査の4調査地区の採捕による魚類相の相関を200mそれぞれプロット。プロットの色は、対比している調査地区を表す。環境DNA調査で採捕調査で得られた魚類リストの相関が高くなる地点は、水国の調査区間外となった。さらに、最も相関が高い地区と調査地区との距離は、勾配と線形相関を示した。環境DNA含有物質の流下速度や混合拡散状況などが関連していると思われる。

### 水国調査地区の魚類相を捉えるための採水地点



- ① 水国調査地区の最下流端両岸
- ② ワンドやクリークなど
- ③ 計4~5地点程度となるように、適宜追加

同時期同地区の捕獲調査\*に対する一致率  
淡水域 平均92%、汽水域 平均77%

※捕獲調査では、一昼夜網をしかけている  
環境DNA調査は引き潮時に実施  
潮汐の影響を受ける汽水域では、  
採水のタイミングも考慮する必要がある

地区の魚類相を捉えるための採水地点

- 汽水域の採水では**上げ潮**時に種数が増える傾向
- 下げ潮、干潮、満潮、上げ潮の4潮汐で採水しても種数が飽和する傾向はみられず
- **2潮汐**の採水が種数の増加勾配が最も大きく費用対効果が高いと考えられる

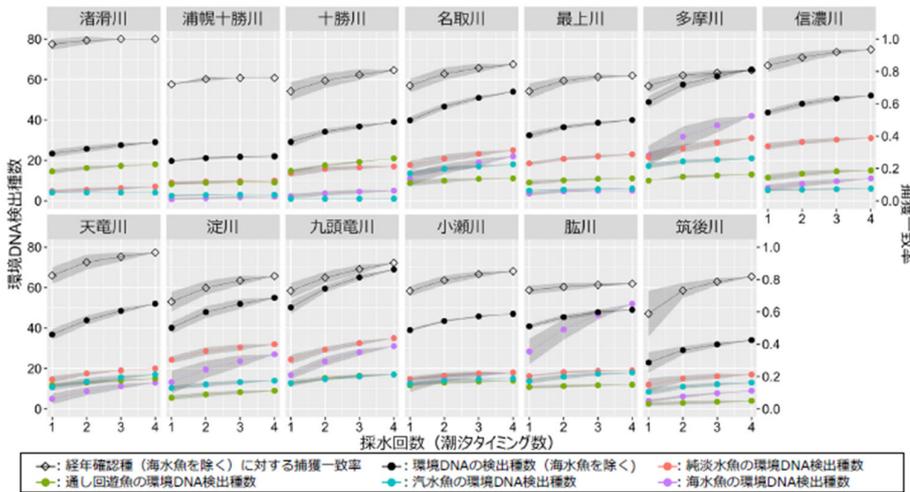


図-3 環境DNA検出種数及び捕獲一致率の累積曲線。値は各河川4採水箇所合計を示す。灰色は95%信頼区間を示す。

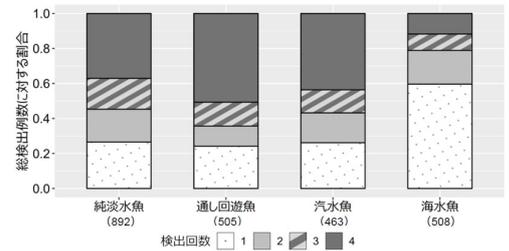


図-2 環境DNA確認種の生活型別の検出回数。括弧内は全採水箇所における各生活型の総検出例数を示す。

- 海水魚は検出の偶然性が高く海水魚を網羅的に確認するには多くの努力量が必要であると考えられる

## ダムにおける環境DNAの挙動

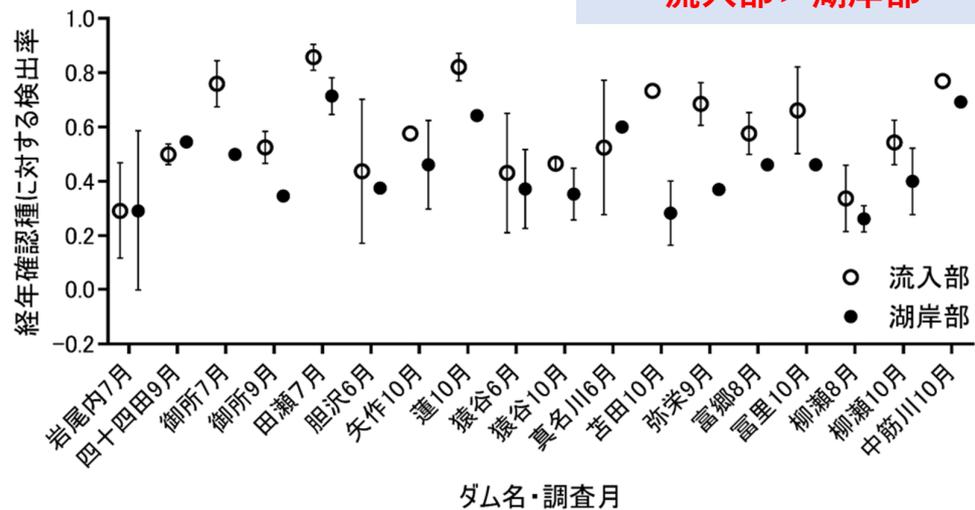
## 在を捉える採水地点

### 流入部



- 元地形に沿った**連続な浅場**
- 流入河川から流下する**豊富な餌資源**
- 湖心に比べ水の動きがある

水国捕獲調査では  
捕獲個体数、種数ともに  
**流入部 > 湖岸部**



流入部と湖岸部における環境DNAによる経年捕獲確認種検出率

1サンプルの経年確認種に対する  
環境DNAによる検出率

○**流入部** > ●**湖岸部**

### 湖岸部

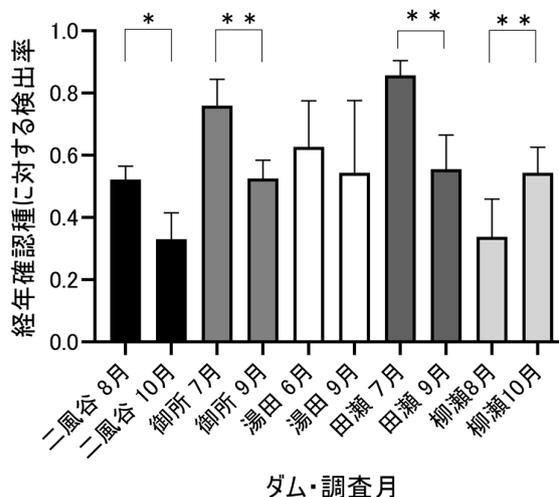


- 局所的な**ハビタット**
- 流れが緩やかで**組織片等が拡散しにくい**

流入部を採水地点に加えることで効率的に湖内の魚類相を捉えることができる



- ・ 魚類相の季節変動は小さい
- ・ 水深方向に温度変化があり 魚類の分布に関与
- ・ 湖内の流れ場は多様



調査月の違いと経年確認種の検出率

ダム湖では地域性や魚類相を鑑みながら採水地点・時期を考える必要がある

## 想定される環境DNA調査の実施体制

環境調査受注者

約2か月後.....



2箇月待って、結果がとどいたらまさか！

「不可解なデータ」

ノイズ？ コンタミ？

「白紙結果」

「種数が少ない」



季節はすでに過ぎ去り...

再調査ができない...

業務の工期末は目前で..

再分析の時間もない...

## 擬陽性（ぎようせい 不在を検出）

### 擬陽性の原因と対策

#### 周辺施設からの流れ込み

河川沿い設備からの汚水の流入  
飼育水槽、魚市場、水産加工施設、  
下水や汚水、キャンプ場

肥料や飼料

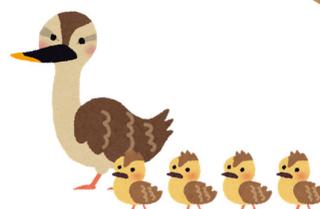
>>周辺設備を確認、リスクの少ない場所で採水



#### 偶発的な混入

動物や鳥の糞、ゴミ...

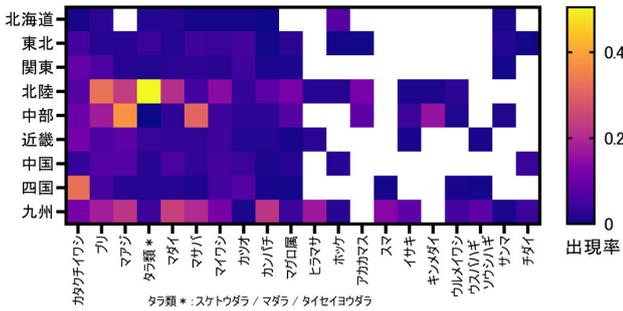
>>別の時期に調査



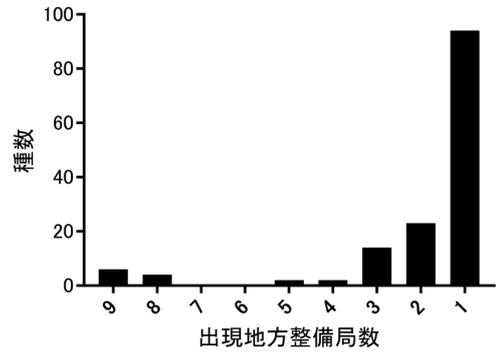
# 擬陽性（ぎょうせい 不在を検出）

## ノイズの要因探索

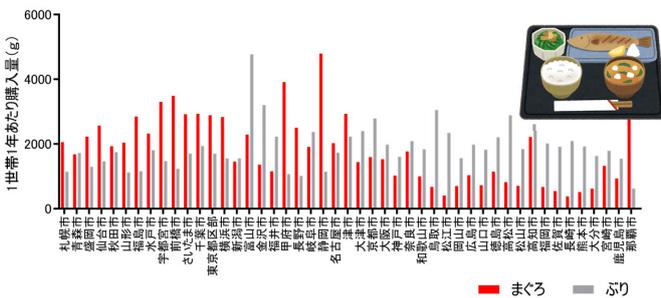
## 河川の水からマグロ・ブリ・カツオ！！



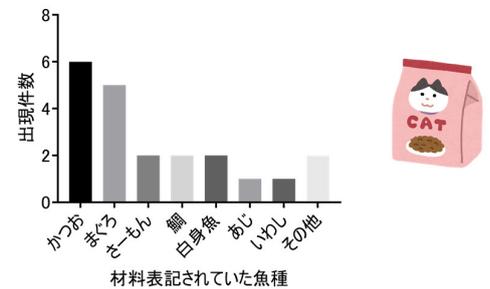
淡水域における海産魚の出現頻度



淡水域で海産魚が出現する頻度と出現整備局数



マグロ・ぶりの1世帯当たりの購入量 県別比較

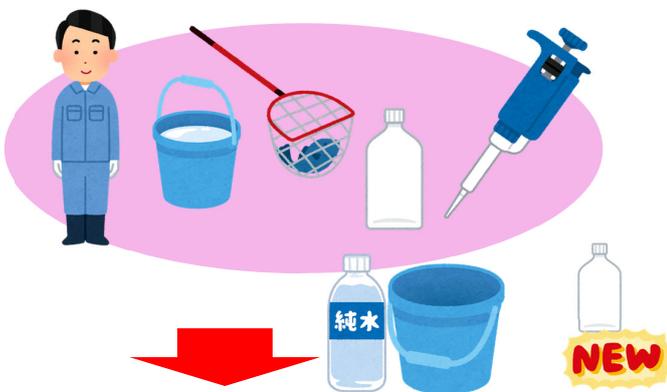


キャットフード（ドライ）の材料

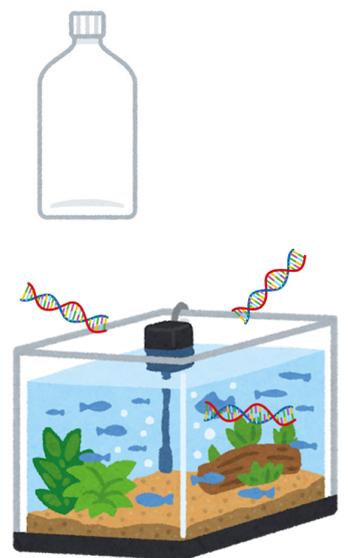
# 擬陽性（ぎょうせい 不在を検出）

## 擬陽性の原因と対策

### 調査・分析作業時に混入



納品時の採水瓶  
汚染防止のために、きれいな部屋でキャップを閉める



- ・ 調査用具の洗浄の徹底（水に触れる可能性がある部分は必須）
- ・ 採水瓶は新しいものを使用する（再利用しない）
- ・ 手袋を地点ごとに交換、使い捨ての徹底



フィールドブランク：現地で使用する機材・用具を用いて、現場で純水を採水便に移し、他のサンプルと同様に分析する

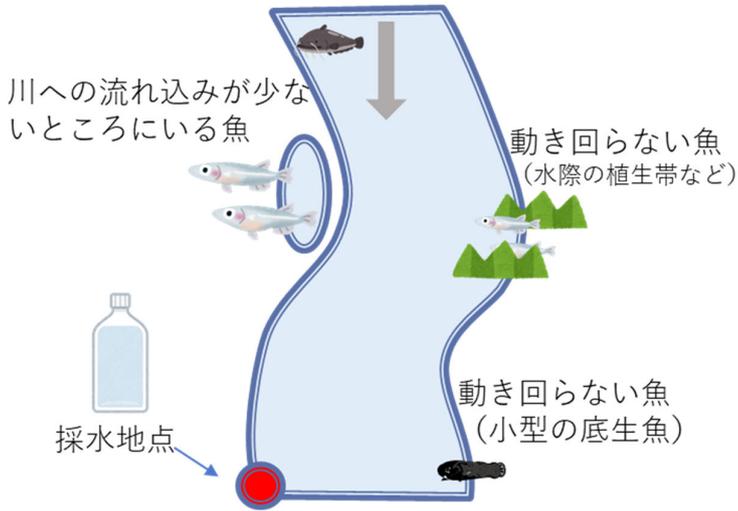
# 偽陰性（ぎいんせい 在を不検出）

## 要因1 サンプル中に環境DNAが含まれていない

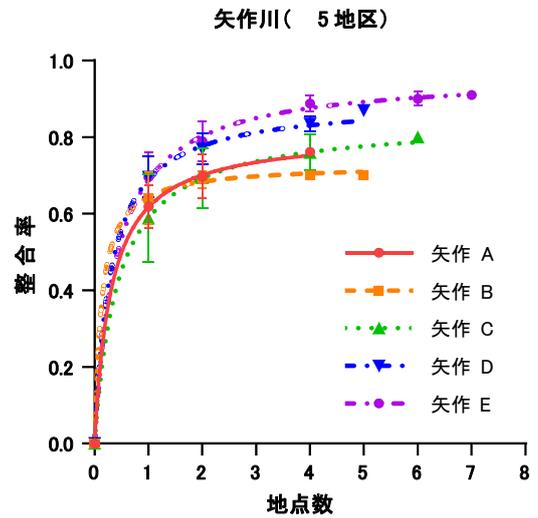
水国調査地区の下流端 片岸1地点で採水

同時期の捕獲調査に対する一致率=76.2%

いつもいるわけではない種

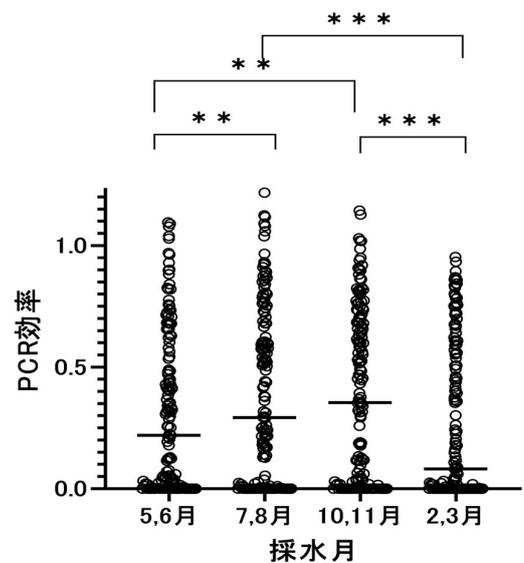
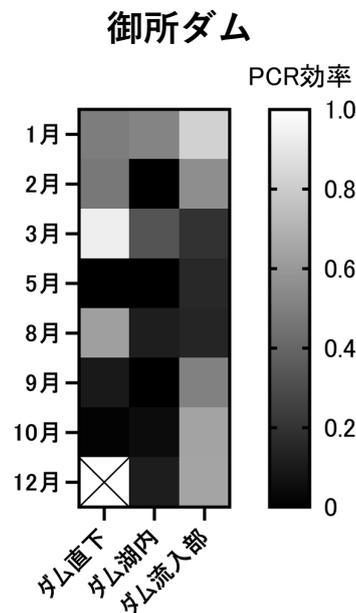
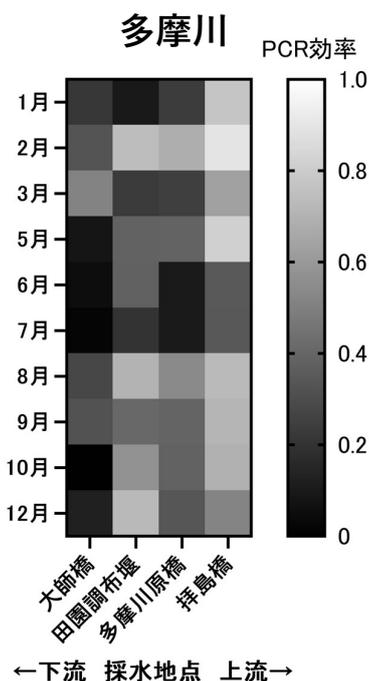


採捕で確認できたが、環境DNAで検出されなかった種の特徴



# 偽陰性（在を不検出）

## 要因2 分析阻害物質の影響を受けている



九頭竜川水系におけるPCR効率の季節変化

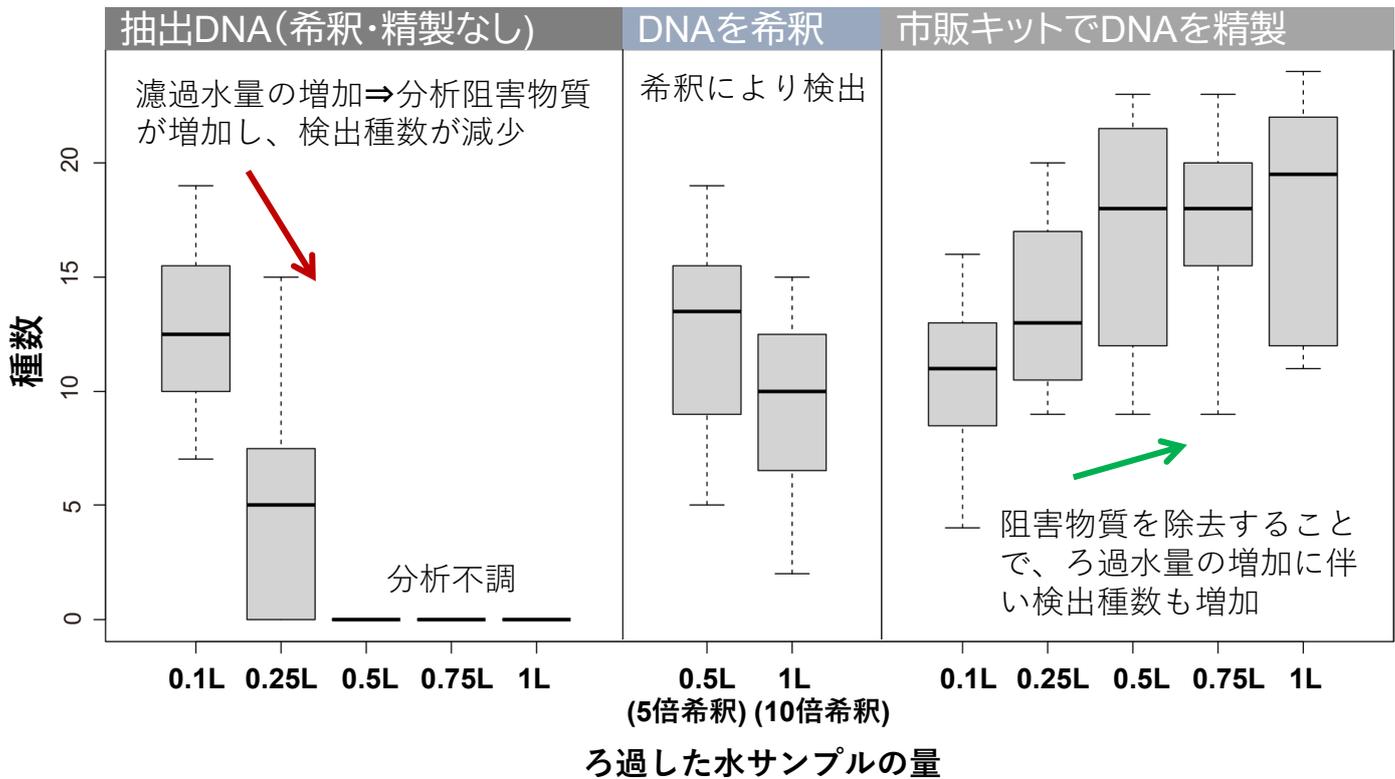
支川合流部の147地点で採水

地域や季節、出水イベントなどさまざまな要因が関与

## 偽陰性（在を不検出）

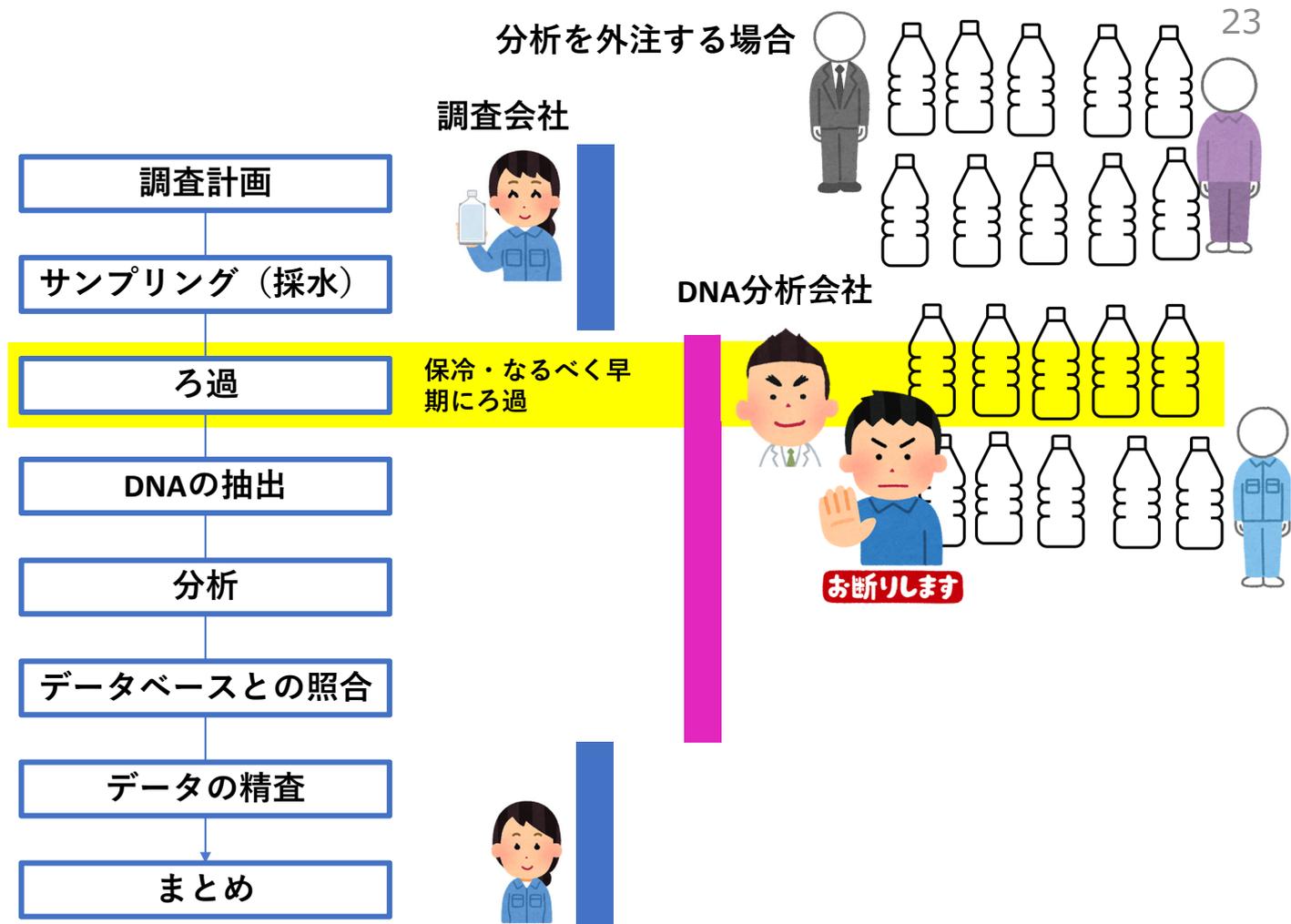
### 要因2 分析阻害物質の影響を受けている

ろ過水量およびDNAの処理による、検出種数の変化（宍道湖 n=60）



## “水を汲むだけ”ではなかった環境DNA調査





## ろ過を調査会社で実施するメリット

24

### メリット 1 品質の安定したサンプルを分析に供することができる

サンプリング後、時間を空けずにろ過ができる

- >>ろ紙は冷凍保存が可能。分析会社へのサンプルの集中を防ぐことができる。
- >>水国調査以外の新しい分析系への展開も（環境RNA、定量MiFish...）

### メリット 2 経費や負担を抑えることができる。

1サンプルあたり4000円～必要なろ過経費が不要

輸送費を抑えることができる。

- >>水の場合、1Lサンプル12本程度単位で輸送費がかかる（冷蔵）  
ろ過済みサンプルは、コンパクトにまとめて送ることができる（冷凍）

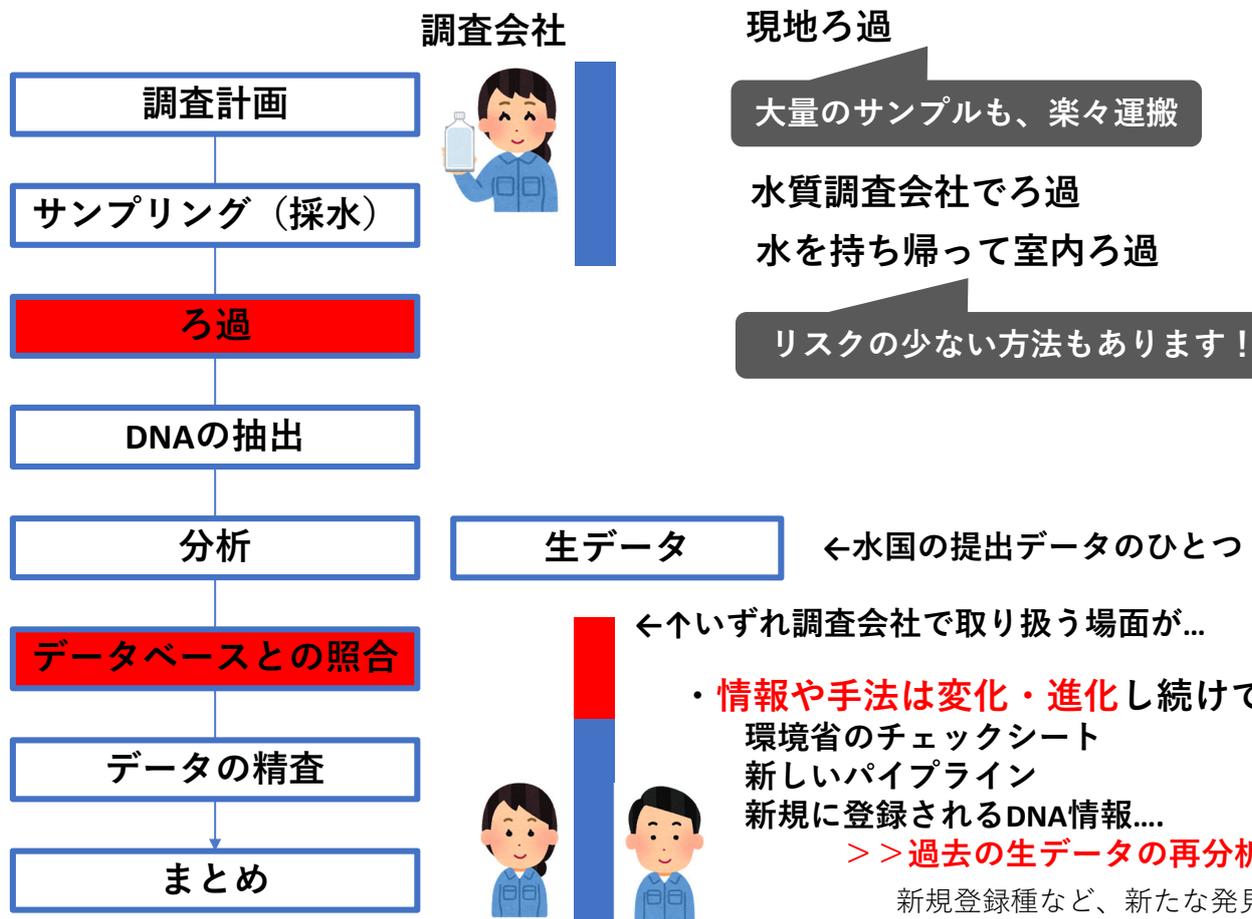
現地ろ過により、現地での水サンプルの運搬の負担を軽減可能

### メリット 3 予備サンプルを活用した、フレキシブルな調査

分析に供しないサンプルを一時的に保存し、必要に応じて追加分析が可能となる

- >>地点や時間的に細かい予備サンプルを取得  
分析結果や現象を踏まえながら、分析サンプルを追加可能

新しい技術をいち早くとりいれるために一連の作業の流れを知って利用をおすすめしたい。環境DNA調査技術は進化し続けます！



## 研究分野では、どんどん新しい使い方が

新しい分析・解析技術が開発され、応用研究も広がっている  
環境DNAサンプルの新鮮さが重要な分析系もある

- ・堆積物コアサンプル中のDNAを分析し、近過去魚類群集情報
- ・環境DNAを使って、魚の産卵時期や産卵場所を推定
- ・同じサンプルから、魚、底生動物など複数の生物群情報
- ・環境RNAを組み合わせた、プランクトンの挙動調査
- ・環境DNAを使って同一種の遺伝的多様性を評価
- ・近い将来、環境DNAで生物の年齢を捉えることができる！？

## まとめ



- ・ 河川水辺の国勢調査への環境DNA実装は R 8 から。  
目的に応じた調査地点の選定を！
- ・ より良いデータを得るためには、  
現地の状況を踏まえたサンプリング計画が重要
- ・ 阻害物質の除去により、質の高いデータが得られる！
- ・ 研究分野でも、次々と新しい技術が生まれています！
- ・ 分析の過程を知って使えば、もっと広がる！

**環境DNAは、走らせながら進化している技術です。  
使いながら共に成長していきましょう！**