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

バケツの水で生物情報がわかる!

河川や湖沼の水の中には、そこに連続する環境中にいた様々な生物の組織片が含まれている。これら生物の組織片からDNを取り出し、必要な生物情報を得る。



環境DNAを使った魚類調査の流れ

現地での作業は水をくむだけ!

サンプリング 水を1~2L

環境調査の現場の課題

(調査技能者の不足、予算不足...) 解決への期待大



ろ過・DNAの抽出

種網羅解析

様々な生物の情報をグループ単位で取得 MiFish解析 = 魚類全般を対象

- 動物 •哺乳類
- •節足動物)
- ●鳥類
- ●二枚貝.....

「水国調査 |

データベースとの突き合わせ データの精査

種特異解析

ある種に特化した調査







地点B







希少種の探索、産卵場の探索など

地点 A 生物リスト 生物の在不在情報

地点 C



河川水辺の国勢調査

生物相調査

環境DNA(種網羅解析)と既往の調査方法の特徴比較

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

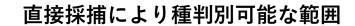
直接採捕を伴う既往調査

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)



対象とする範囲や情報 の質が異なる





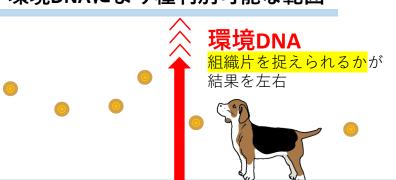
DNAデータベース

未記載種(判別不可)

記載種(判別可)



環境DNAにより種判別可能な範囲



直接採捕

<mark>採捕技能や同定技能</mark>が 結果を左右

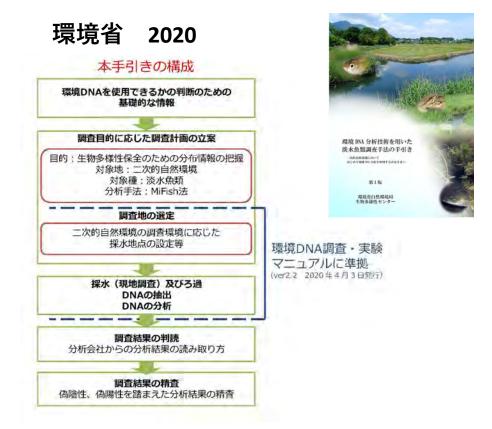


刊行済みの環境DNA調査マニュアル

環境DNA調査・実験マニュアル 環境DNA学会 2019



環境DNA分析手法の普及と標準化を目指して作成された。現地調査~実験室内における分析に関する注意事項や作業の流れが紹介されている。



「環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き」

環境省自然環境局 生物多様性センター 2020.6に発行 主に二次的自然環境に生息する淡水魚類を対象とした、地方 行政機 関や保全団体向けの手引き

国土交通省が実施する環境調査に導入する際、現場の実情、実施体制、既往の 調査との関係を踏まえながら、標準化を行う必要がある

環境DNAを実務展開するために必要なこと

目的に沿った調査計画

- ・対象とする事象や河川規模に応じた調査計画(採水位置など)
- ・目的や実施体制に応じた手法の選択

信頼できる調査結果

再現性と客観性の担保

受注者によらず、同じ結果が得られる

- ・調査者や分析機器等が変わっても、経年的なデータを比較できること
- ・得られた生データから、客観的にエラーを取り除き精査する技術

経年的な情報の蓄積・比較ができる

・報告書の様式を統一、データベースの構築

<u>業務管理ができる</u>

理解できる結果報告

- ・環境DNAに関する専門的な知識を有しない者でもわかりやすい表記
- ・環境DNAの理解を深める情報発信

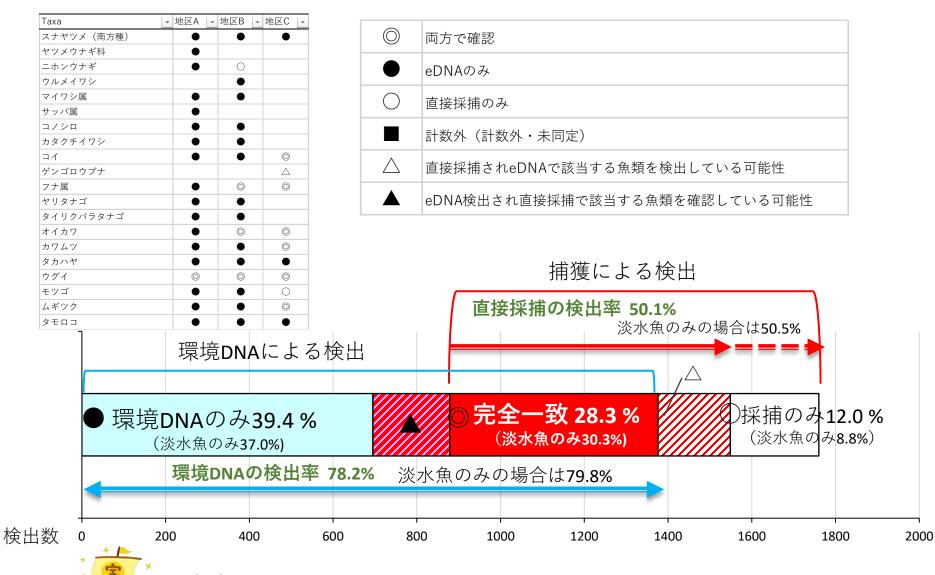
河川水辺の国勢調査への環境DNAの導入の際には 相互の情報の関係を知り、調査方法の最適化を図る必要がある

水国調査地区の1地点採水による検出結果の整合性

お宝率=●/(▲/2+◎+△/2+○)



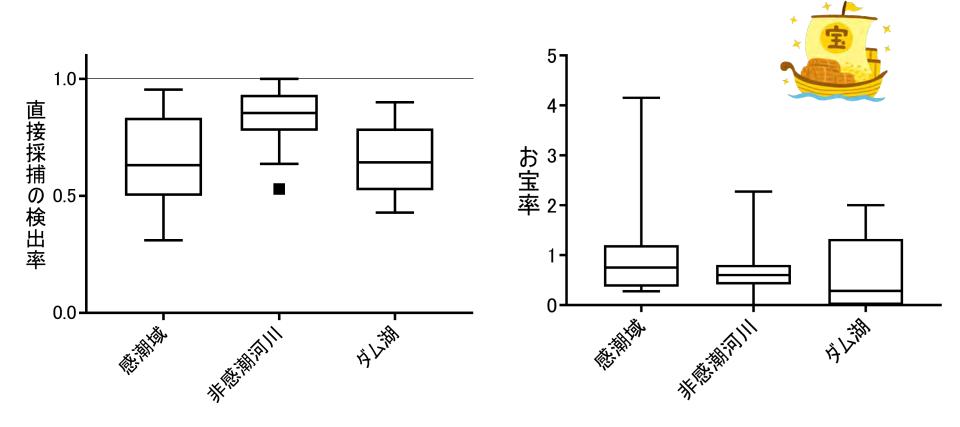
8水系(5河川+3ダム)55/60地区(うち感潮:12地区)で得られた、258検出数(Taxa)の結果と水国調査結果を比較



採水地点の特性による違い



対象:6河川3ダムの河川水辺の国勢調査79地点で採水。水国の直接採捕結果と各1地点1Lの環境 DNA分析結果を比較 (各地方整備局の協力による)



直接採捕の検出率と採水地点の特性

お宝率と採水地点の特性

比感潮域河川では、1地区1サンプルでも高い整合性を持つ

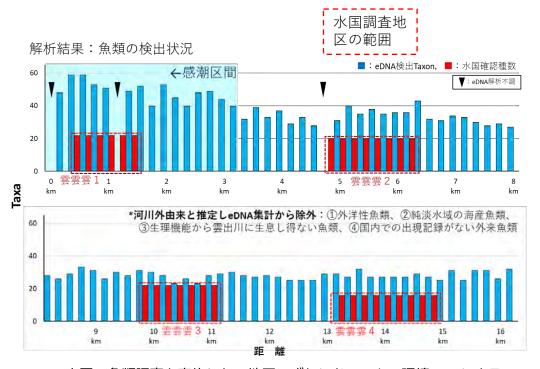
環境DNA含有物質の動態と有効検出範囲



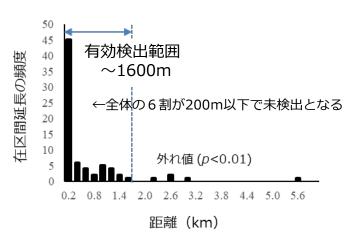
河道内における環境DNAがどのように流下しているのか

対象範囲:雲出川の0~16.2 kの区間の流路右岸側にて200m間隔で採水

(三重河川国道事務所の協力による)



水国で魚類調査を実施した4地区いずれにおいても、環境DNAによる 検出数が直接採捕の種数を超過



環境DNA含有物質の有効検出範囲

有効検出範囲は、供給源における環境DNA含有物質の濃度によって変化するものの、雲津川の場合、有効検出範囲は0-1600mであるとともに、多くは200m程度で未検出となった。これは既往の知見と概ね一致する。

水国の区間:概ね1k m

調査区間より上流の、広い範囲影響を大きく受けるわけではなさそう

河川水辺の国勢調査 採水標準地点の設定



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

タナゴ亜科魚類

小型の底生魚類

海洋・汽水性、回遊性魚類

調査における配慮事項

種特異解析の併用も検討

ワンド・たまり・湧水も調査

両岸に調査地点を設定

潮の干満の影響や偶来種の影響、順流で採水



- 調査区間の最下流端の左右岸
- 本川との水のつながりが 小さい地点⇒ワンド・たまり、湧水など
- ◎ 瀬・淵など代表的な地点

計 5地点を目安

R3水国テーマ調査を通じ全国の水国サイトで検証と最適化(23河川30ダム)

- ・地方整備局各事務所・受注者と個別に打ち合わせ。導入時の課題や疑問点を抽出・精査
- ・水質調査地点における保管情報も得る



魚類移動環境の評価

平成3年度 魚ののぼりやすい川づくり推進モデル事業開始

全国、様々なタイプの河川をモデル河川に指定

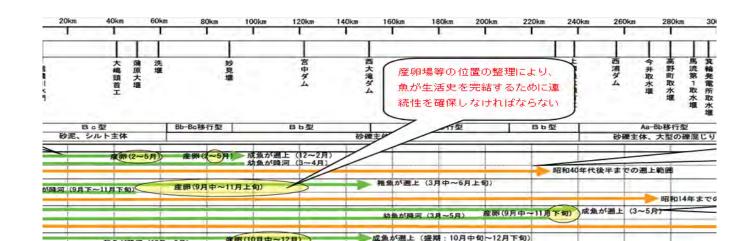
河川横断施設の改築、魚道の改築・新設流況改善、生息環境の改善

各モデル河川の技術レポート作成

平成17年3月 魚がのぼりやすい川づくりの手引き 国土交通省河川局



モデル事業対象河川 平成3~16年度



魚類移動環境の評価

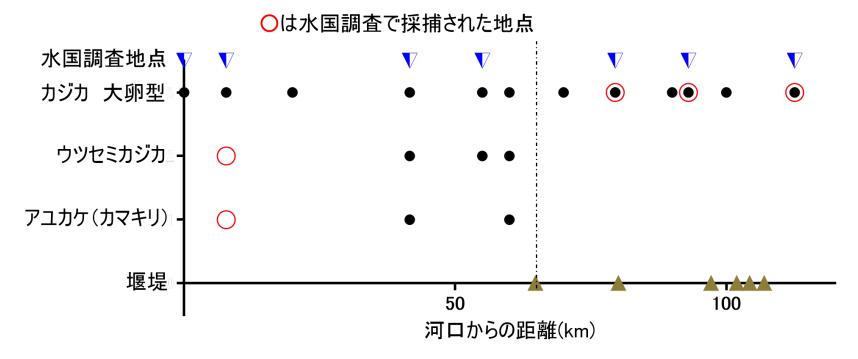
種網羅解析から

採水地点:某直轄河川における河川水辺の国勢調査調査地区 1サンプル

定期水質調査の調査地点(抜粋地点) 各1サンプル

分析:MiFish領域の種網羅解析

ウツセミカジカ(回遊性)、アユカケ(回遊性)、カジカ大卵型(純淡水)



環境DNA検出地点と堰堤の関係

定期水質調査などを利用し、調査地点を増やすことで、確度の高い情報に

魚ののぼりやすい川づくりのモニタリングが可能

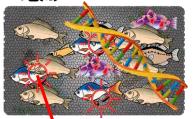
対象種を絞りこんだ調査

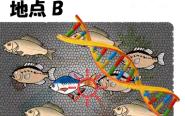
環境DNA種特異解析

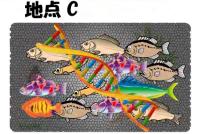


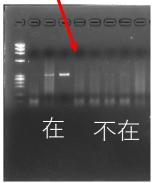
特定の種に特化した分析方法 (ほかの種の遺伝子には反応しない)

地点 A









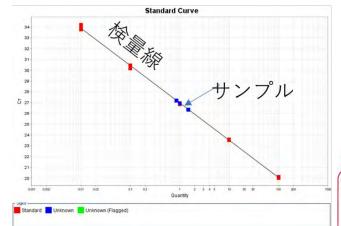


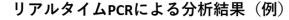






種特異解析 定量PCR 環境DNA







リアルタイムPCR装置(例)

地点 A







地点 C



こんな場面で種特異解析

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

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

雄物川の河川延長133Km内 99地点で採水

環境DNA分析の結果、2地点でゼニタナゴを確認

ゼニタナゴのDNAを確認した 2 カ所を集中的に調査

1カ所で成魚雌雄を採捕・2枚貝への産卵を確認

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

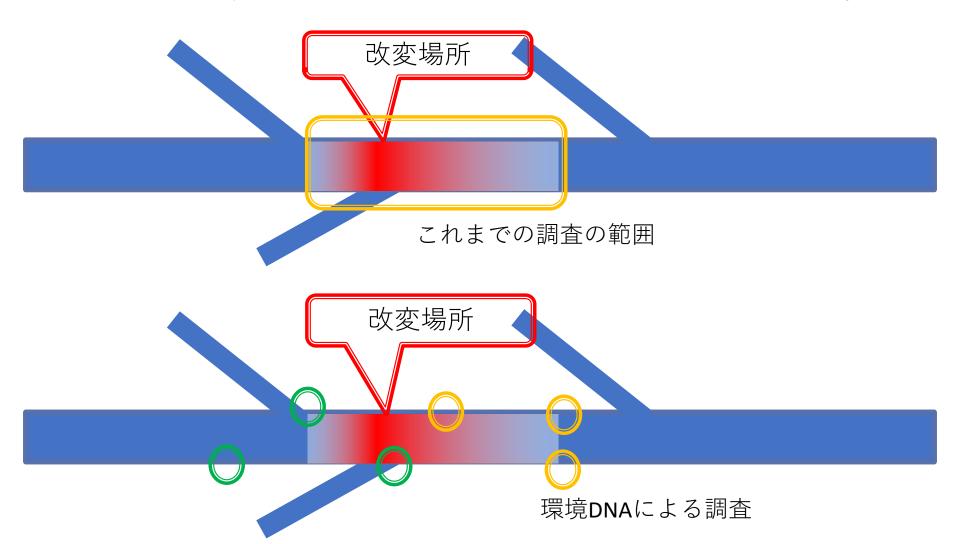
多地点調査が可能

検出感度が高い

個体数が少なくても検出可能

参考資料:土木学会第72回年次学術講演会(平成29年9月)希少生物調査における環境DNA手法の有効性の再確認 -環境DNAを用いたゼニタナゴ新規 繁殖地の発見- パシフィックコンサルタンツ㈱・神戸大学

- 無類以外の生物群への環境DNA導入の可能性 (複数の生物群の同時調査)
- サンプルの取り扱いや分析方法の最適化(調査の高度化・最適化に向けた検討)



サンプルを保存し、必要に応じて分析。事後に調査対象を広げたり、過去に遡って生物情報を得る

おわりに

環境DNA情報の相互利用を目指して...

環境DNA調査による「ある地点の水に含まれていた生物情報」は、調査母体や目的が異なる情報を串刺しにして比較できる可能性を有しています。将来的な情報の相互利用を目指し、手法の統一にむけた議論を関係者らと進めています

