

環境DNA学会の調査・実験マニュアルが改訂されました

1. はじめに

河川や湖沼の水など、環境中に浮遊している生物のDNAを分析し、生物情報を得る環境DNA調査技術は、既に河川管理の様々な場面で使われるようになりました。令和8年度からは、河川水辺の国勢調査への試験的導入が検討されており、調査手法の標準化に向けた全国調査や議論が進められてきました。そのような中、一般社団法人環境DNA学会が8月9日に「環境DNA調査・実験マニュアルVer.3.0（以降「学会マニュアル」という。）」を学会のHP上に公開しました¹⁾ (<http://ednasociety.org>)。今回の学会マニュアルの改訂は、2020年4月のVol.2.2に次ぐ約2年ぶり3回目の改訂となります。調査計画～分析・データ解析までを取り扱っているこの学会マニュアルは、国土交通省等が河川管理の現場で環境DNA調査を行う際に参考とされる基準でもあり、筆者も環境DNA標準化委員会の一員として土木研究所の研究成果を交えながら編集に携わってきました。

学会マニュアルの改訂にあたっては、事前に環境DNA学会の会員や賛助会員の企業の方に追加・修正箇所に関する要望のアンケート調査を行いました。実務の現場で環境DNAを使っているコンサルタント会社の方からも多くの意見が寄せられており、これを踏まえながら見直しを進めたことで実務者目線での改訂につながったと思います。本記事では、マニュアルの改訂内容の中から、河川管理の現場への実装の場面に関係するポイントを抜き出して紹介します。詳細は、学会マニュアルを参考にして下さい。

2. 改定のポイント

今回の学会マニュアルの改訂では、マニュアル全体を対象に、これまでの学会マニュアルの記載内容を踏襲しつつ、現時点で得られた新しい知見や実態に基づいた修正が行われました。そのなか

ら、河川における環境DNA調査に関係の深い「調査地点の選定」、「現場で使用する物」に関わる点と、今回の改定で新規に追加された「データ解析」に関わる事項を紹介します。

2.1 調査地点の選定

河川や湖沼を中心に、調査地点の選定に関する記述が大幅に更新されました。これには、国土交通省らが進めてきた、河川水辺の国勢調査への環境DNA導入に向けた全国調査で得られた知見や、現場の声も反映されています。以下に、実際にサンプリング現場で生じた出来事がきっかけとなったコラム（図-1）について紹介します。

このコラムのきっかけとなった出来事とは、「直轄河川の下流域で橋上から採水器を用いた採水を行っていたところ、海上保安庁より作業に対して必要な許可申請を行っていないため、違法行為と指摘された。」というものでした。対象法令である港則法は、港内における船舶交通の安全等を図ることを目的としており、対象となる港およびその区域が法令中に定められています。例えば茨城県那珂湊における港則法の区域は、「那珂湊港南防波堤灯台（北緯三六度二〇分一五秒東経一四〇度三六分九秒）から一四二度四七〇メートルの地点から〇度に引いた線、同地点から二七〇度に引いた線及び陸岸により囲まれた海面並びに那珂川湊大橋及び涸沼川涸沼橋各下流の河川水面」とされており、ここに示す河川水面は一級水系那珂川の国の直轄管理区間と重なっています。そこで、こうした水域における留意点や事前に必要な手続きについて海上保安庁に照会し、海上保安庁の全面的なサポートの下、完成したのがこのコラムです。

河川では、港則法に定められる範囲以外の水域においても、レジャーボートや水上バイクも含めた水面利用がなされています。そこで、調査地点の選定にあたっての全体的な注意事項として、他者との衝突回避、釣り人や水辺利用者への配慮が

重要であることが、学会マニュアルの本文中にも追記されました。

2.2 現地調査にあたって用意するもの

環境DNAは、サンプル中に含まれる目に見えないわずかなDNAを分析するため、サンプリングに当たってはサンプル中に対象以外のDNAが混入しないよう留意する必要があります。そのため、現地調査時に使用するものは、使い捨てあるいは塩素による除染を徹底し、サンプルの汚染リスクを防ぐ必要があります。さらに、現地での汚染の有無を点検するために、現地で使う器具を用いながら、純水を採水瓶に移し替えるフィールドブランクを用意します。今回の改訂では、現地調査にあたって現場でも入手がしやすいものとなるように見直しが行われました。例えば、採水時に着用する「実験用ゴム手袋」は「使い捨て手袋」に、フィールドブランクのために準備する「純水」は「市販の精製水や蒸留水など、PCR等の検査でDNA残留が認められない品質の水のことを指す」と定義されました。

また、水サンプルの保存を目的とした塩化ベンザルコニウム溶液の使用に対して特許使用料が必要になる場合があることが明示されるとともに、水サンプルを冷蔵・冷凍で保存・輸送する方法があることが併記されました。

2.3 メタバーコーディングデータ解析

今回の改定では、MiFish法のように、次世代シーケンス分析で取得した環境DNAの生データから、生物リストを得るためのメタバーコーディング解析の項が新たに追加されました。メタバーコーディング解析では、分析データに含まれる不要な配列の除去や、分析時のエラーを補正するデータ処理を行い、データベースに登録されている配列との照合を行います。生物リストを得るために必要なこの工程は、複数のソフトウェアを組み合わせて実行されるためパイプラインと呼ばれ、それぞれ使用するコンピュータ環境や操作性、アルゴリズムなどが違う複数の種類があります²⁾。学会マニュアルでは、MiFishパイプラインの使用手順と、用語解説や具体的な操作画面を示した説明がなされています。また、環境DNAのデータを魚類以外の生物種にも結び付けることができ

るClaidentの概要を示すとともに、学会マニュアルの書面上で紹介しきれない部分は付録として紹介しています。

コラム2 河川下流域・海域における調査前に：港上では、港内における船舶交通の安全等を図ることを目的とした港則法や東京湾等の船舶の交通量が多い海域における船舶交通の安全を図ることを目的とした海上交通安全法等により交通ルールが定められており、採水や採泥の作業を行う際には、許可を受ける必要がある場合がある。港則法では、法第二条で定める港の港内又は港の境界付近で工事又は作業をしようとする者は、海上保安庁（港長又は海上保安部長等）の許可を受けなければならないことが定められており、許可にあたっては船舶交通の安全のための措置を講じる必要がある。海上交通安全法では、航路又はその周辺の海域において工事又は作業をする場合は海上保安庁の許可を受けなければならないと定められており、許可等にあつては、港則法と同様に船舶交通の安全のための措置を講じる必要がある。これらの工事又は作業について、法の対象となる区域では、船舶を用いた採水だけでなく、橋梁や河岸からの採水作業なども対象となる場合があることから、調査計画時に調査地点や作業内容がこれら法令の対象となるか確認し、必要な場合は申請等を行う。なお、港則法及び海上交通安全法の適用区域内における作業であっても、場所や内容によっては、許可や届出までを要しない場合もあることから、事前に作業をしようとする場所にある海上保安部署に相談するとよい。

図-1 コラム 河川下流域・海域における調査前に

3. まとめ

今回のマニュアル改定により、環境DNAを取り扱う上での情報がさらに充実されました。一方、河川管理の現場で環境DNAを利用する場面では、実施体制などの関係上、学会マニュアルへの準拠が難しい場合も想定されます。土木研究所では、実務へのスムーズな導入に向けた検討を引き続き進めてまいります。

参考文献

- 1) 環境DNA調査・実験マニュアル Ver. 3.0 (2024年8月9日発行)、一般社団法人環境DNA学会
- 2) 環境DNA分析技術を用いた調査手法の手引き（淡水魚類・両生類）第1版、2024年5月、環境省