

環境 DNA を活用した  
環境情報の高度化に関する共同研究  
概要集

eDNA

国立研究開発法人 土木研究所



# ご挨拶

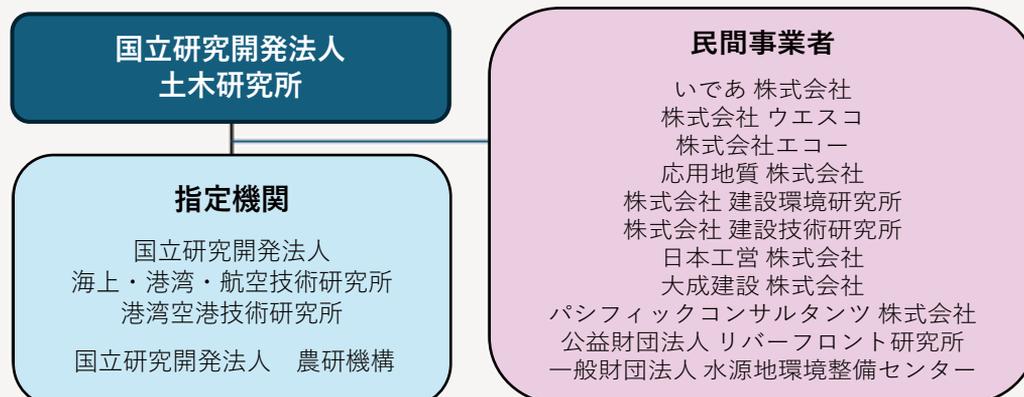
国立研究開発法人 土木研究所  
流域水環境研究グループ長  
中村圭吾



このたび、「環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究」の成果を、分かりやすく紹介するパンフレットを取りまとめました。本研究では、令和8年度から環境DNA技術を河川水辺の国勢調査における魚類調査へ実装するにあたり、さまざまな技術的課題の検討に加え、その先を見据えた調査手法の高度化にも取り組んでまいりました。官民の幅広い研究機関による連携のもと、より正確な魚類調査の実現に資する成果が得られるとともに、多分類群一斉分析法の開発など、革新的な技術も生まれております。本パンフレットでは、これらの成果のエッセンスをコンパクトにまとめております。少しでも皆様のお役に立てれば幸いです。最後に、共同研究者および関係各位のご尽力に、心より感謝申し上げます。

## 実施体制

本共同研究は、土木研究所、指定機関 2機関 及び 土木研究所の実施した公募によって参画した民間事業者 11社によって実施された。なお、指定機関は、国立研究開発法人土木研究所共同研究規程に基づく手続きにより、本共同研究の相手方として承認され、本共同研究の実施について承諾を受けた国立研究開発法人海上・港湾・航空技術研究所 港湾空港技術研究所及び、国立研究開発法人農研機構である。



## 実施体制および本共同研究への参加機関

## 研究項目 1

# 環境DNAの水国調査等への実装に向けた技術体系の構築

## 本研究項目の背景

水や土壌に含まれる生物の組織片からDNAを抽出し、生物情報を得る環境DNA技術は、遺伝子分析技術の高度化に伴い急速に拡大しつつある。国土交通省においても、河川水辺の国勢調査(以下、水国調査)への実装に向けた取り組みを進めているところである。本技術の水国調査実装に当たっては、実務の現場の実情を踏まえながら技術の標準化を進める必要があり、河川管理の現場で調査を担う民間事業者と土木研究所らが連携しながら課題を精査し、技術体系を構築していくことを目指した。

### <調査計画～サンプリング>

- 河川における効率的な環境DNA採水条件の検討 パシフィックコンサルタンツ(株)
- 環境DNA導入時のとりまとめにおける実務的な対応 (株)ウエスコ
- パッシブサンプリング法による環境DNA調査(魚類)の試行結果 日本工営(株)  
(公財)リバーフロント研究所

### <種リストの作成～とりまとめ>

- 下水処理水に起因する擬陽性の実河川における検証調査 いであ(株)
- MiFish法における環境DNA種判別方法の検討 (株)建設環境研究所

### <ダム>

- ダム湖における環境DNA導入方法に関する基礎研究 (株)建設技術研究所
- 環境DNAを活用した環境情報の高度化-水国実装に向けた技術体系の構築- (ダム湖版) (一財)水源地環境センター



# 環境 DNA 導入時のとりまとめにおける 実務的な対応

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

本研究では、水国調査における魚類の採捕と環境DNA分析結果を比較し、環境DNA分析の導入に際して実務的な課題を整理した。具体的な懸念事項として、採捕と環境DNAによる検出種の不一致、従来の調査データとの連続性確保などが挙げられる。懸念事項に対する課題については、対応策を検討した。

## ■ 研究内容

### 1. 対象の範囲

岡山県の一級水系高梁川及び吉井川の主に淡水域を対象とした。対象地点は、高梁川水系6地点、吉井川水系12地点で、調査地点は上流～下流域(セグメントM~2-2)まで広範囲を含んでいる。

### 2. 調査方法

採捕調査の方法は、両水系とも概ね同じ(投網、タモ網、刺網、はえなわ など)である。環境DNAの検体数は、河川域で4~5検体(図1)、ダム周辺で1~2検体、解析方法は網羅的解析(メタバーコーディング)とした。

## ■ 得られた成果

### 1. 環境DNA分析と従来調査データとの整合

環境DNA分析による魚類の確認種数は、高梁川・吉井川水系とも、採捕調査と同程度またはそれを上回る結果となった(図2)。また、採捕調査で確認された優占種(オイカワ、カワムツ、ニゴイ類、カワヨシノボリなど)は、環境DNA分析においても概ね検出された。環境DNAによる確認種の情報をもとに、既往調査結果、河川環境の変化などを考慮することで、対象地点の魚類相は推定できると考えられる。また、量的評価は難しいものの、魚類相と河川環境との関わりについての考察や評価は可能であると考えられる。

環境DNA分析の検体数について、4検体で確認できる種数がほぼ上限に達すると考えられた(図2)。上流域では、2検体で精度が確保できる可能性が示唆された。

### 2. 環境 DNA 分析による確認種の特徴と課題

環境DNA分析によってのみチャブなどの外来種が初めて確認され、外来種の早期発見への活用も期待される。

一方、環境DNA分析での確認精度が低い魚類として、ワンドなど緩流域の底生魚が複数含まれていた(表1)。河川環境を指標する重要種については、タモ網での採捕も行い、相補的な調査で効率的に魚類相を把握する必要があると考えられる。環境DNA2検体(下流端両岸)とタモ網採捕を組み合わせることで、環境DNA4検体で確認される90%以上の魚種を検出できるため、調査コスト削減と魚類情報

の補完を両立できると推測された。

## ■ まとめ

環境DNA分析による調査地点の魚類相の推定は、既往の水国調査結果や河川環境の変遷などの情報をもとに可能であり、従来の調査データとの整合も図れると考えられた。課題として、環境DNAによる確認精度が不安定な緩流域における重要種の検出が挙げられる。対応策として、環境DNA採水時にタモ網による採捕を併用し、調査コスト・精度を両立する方法が考えられた。

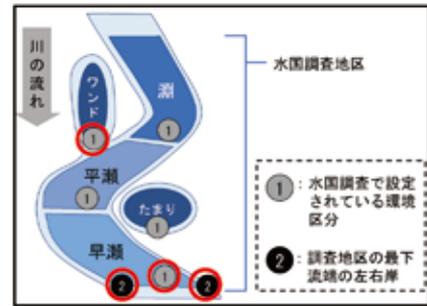


図1 環境 DNA 分析検体の採水位置

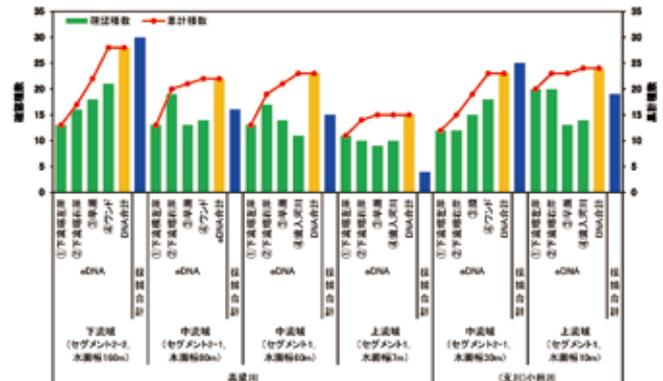


図2 環境 DNA 分析と採捕結果の比較(高梁川水系)

表1 環境 DNA 分析での確認精度が低い魚類

確認状況	No.	種名	高梁川水系	吉井川水系	重要種の判定基準 岡山県 環境省 R1.2020 R1.2025
採捕でのみ確認された種	1	スナヤツメ類	●	●	VU VU
	2	ヌマムツ	●		
	3	フナフキ		●	EN VU
	4	サンヨウコガタスジシマドジョウ		●	CR CR+EN
採捕での確認地点が多い種	1	ゼゼラ	●		VU NT
	2	モツゴ	●		
	3	ナガレカマツカ	●		
	4	オオシマドジョウ		●	DD
	5	ミナミメダカ	●	●	VU NT
	6	ブルーギル	●		
	7	ドンコ	●		

## 株式会社 ウエスコ

■研究担当者 島根支社技術部環境計画課 佐貫、篠原

■問合せ先 〒690-0047 島根県松江市嫁島町16-1  
TEL: 0852-25-1269 FAX: 0852-25-1248  
✉ s-sanuki@wesco.co.jp(佐貫)

■キーワード: (1)メタバーコーディング解析  
(2)魚類相比較  
(3)重要種  
(4)調査コスト

# パッシブサンプリング法による 環境DNA調査(魚類)の試行結果

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

河川等における魚類を対象とした環境DNAのサンプリングは水1Lを採水する方法が主流で、採水した際の瞬間値を取得することとなる。そのため採水時間以外に活動が活発化する種(例えば夜行性種)や、環境の時間変化が大きい感潮域では検出率が低下する等の課題がある。

これら課題の解決策として、環境DNAを吸着する捕集材を環境中に設置し、一定期間後に回収するパッシブサンプリング法(以下、PS法)が提案され始めている。

PS法は、時間積算的な生物情報を簡易的・省力的に取得することが期待されている。本研究では、PS法を用いることで環境DNAの検出率向上につながる可能性について検証した。

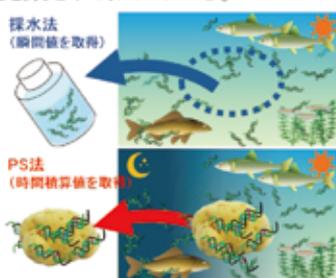


図1 採水法とPS法の違い

## ■ 研究内容

異なる河川環境のA.砂礫河川(庄川)とB.泥河川(白川・緑川)において、採水法及びPS法で環境DNA調査を行った。抽出精製したサンプルは、MiFishプライマーを用いメタバーコーディング解析を行った。また、同年に実施された水国調査を借用、採捕結果も合わせて整理した。



図2 PSツール

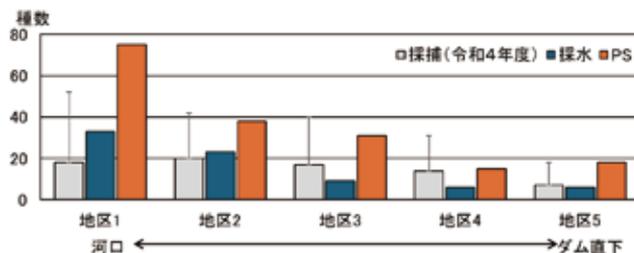
## ■ 得られた成果

### A. 砂礫河川(庄川)での事例

河口からダム直下の全地区で、PS法の確認種数が採捕、採水法いずれの結果も上回った(図3)。採捕に対する検出率は、PS法では地区4でやや低く57%であったが、他地区は88~100%であった。採水法の41~56%と比較して非常に良好な結果が得られた。また、採水法では検出されなかったニホンウナギ、ナマズ等の夜行性魚種も、PS法では検出された(図4)。

### B. 泥河川(白川・緑川)での事例

大きな潮汐変動を伴う白川・緑川の河口域でも採捕、採水と比べてPS法で最も多くの種を確認した(図5)。ただし潮汐の状況により、確認種数に大きな差が出た。要因としては、上げ潮の濁りで捕集材が目詰まりを起こしていることが考えられた。そこで、捕集材に目詰まりした沈着物のDNA分析を行ったところ、海綿から種数があまり確認できなかったサンプルで特に多くの種を確認することができた。



注:採捕のエラーバーは水国6回の合計

図3 地区別の確認種数(庄川)

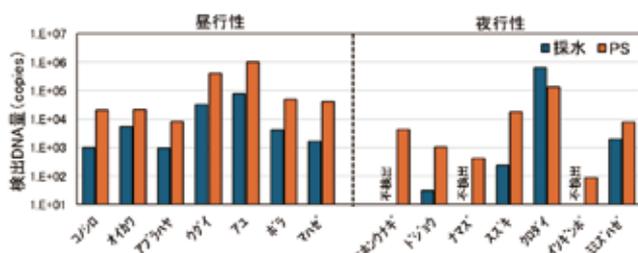


図4 昼行性・夜行性別の検出DNA量の比較(庄川)

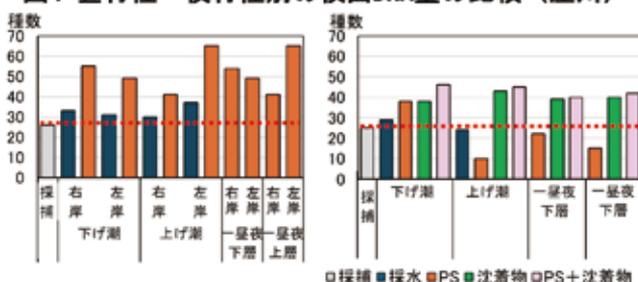


図5 潮汐の状況別の確認種数(左:緑川,右:白川)

## ■ まとめ

PS法は、①夜行性の魚種や重要種等の出現頻度が少ない種の生息状況を精査したい場合や、②感潮域のような時間変化が大きい環境で調査する場合において、有効な手法であることが分かった。また、濁りによる目詰まりが問題となるような場合には、捕集材の沈着物も分析することで良好な結果が得られることが分かった。

現地状況や目標とする種を勘案してPS法を採用することにより、多様で現地の実態に即した種の情報が得られると考えられる。

## ■ 協力者

赤松良久・中尾遼平(山口大学)、乾隆帝(福岡工業大学)、富山河川国道事務所、熊本河川国道事務所

(公財)リバーフロント研究所<sup>1)</sup>  
日本工営株式会社<sup>2)</sup>

■研究担当者 1) 自然環境グループ 都築、内藤(太)  
2) 環境部ほか 加藤、前原、今村、五十嵐、郡司

■問合せ先 日本工営株式会社 基盤技術事業本部 環境部  
〒102-8539 東京都千代田区麹町 5-4  
TEL: 03-3238-8383 FAX: 03-3221-6972 ✉ nk-eDNA@n-koei.co.jp

■キーワード: (1)環境DNA  
(2)魚類  
(3)パッシブサンプリング法  
(4)感潮域

■関連論文: DOI: 10.1101/2025.06.05.658201

# 下水処理水に起因する偽陽性の実河川における検証調査

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

環境DNA調査では、人為排水由来のDNAが採水試料に混入することによって、「実際には調査地点に生息していない種」が試料から検出されてしまうことが知られている(これを偽陽性という)。

一級河川に流入する人為排水には、一般家庭からの生活排水、食品工場等の商業施設排水、養殖場からの飼育排水等があるが、河川流量に占める比率が最も大きいものは下水処理場からの排水(処理水)と考えられる。日本国内の下水処理場では、処理水は最終的に塩素や紫外線等による消毒がなされた後に河川に放流される。それらの消毒処理によって処理水中の環境DNA(ここでは、細菌や原生動物以外のマクロ生物由来のものを対象とする)がどの程度残存しているのか、また放流先の河川中での拡散範囲はどのくらいなのかといった実態については、あまりよく知られていない。

そこで、水国調査への環境DNA分析の本格実装に際して、処理水を直轄河川に放流している複数の下水処理場を対象に、処理水及び放流先の河川水を採水・分析し、処理水由来の環境DNAに起因する偽陽性の実態を調査した。

## ■ 研究内容

1. 処理水中の環境DNAの残存状況調査  
 福岡・愛知・静岡の計9カ所の下水処理場を対象に、計3回(6,9,12月)、河川放流直後の処理水にどの程度の環境DNAが残存しているのかという実態把握を行った。
2. 処理水をマーカーとした環境DNAの拡散範囲調査  
 国土交通省が直轄管理する河川3か所(遠賀川・庄内川・菊川)において、夏季及び冬季に、放流された処理水由来の環境DNAが下流側にどの程度まで拡散しているのかを検証した。

## ■ 得られた成果

1. 処理水中の環境DNAの残存状況調査  
 処理水には、図1に示した通り、塩素処理された後も検出可能なレベルで排水由来の環境DNAが残存しており、一級河川で環境DNA調査を行う際に偽陽性の原因となることが明らかとなった。
2. 処理水をマーカーとした環境DNAの拡散範囲調査  
 調査結果の一例として、図2に菊川での冬季の検出状況を示した。菊川では、冬季は最下流の1500m地点でも排

水由来の環境DNAが検出されたが、夏季は高水温下でDNA分解が進んだ影響により拡散距離は250m程度であった。一級河川に放出された処理水由来の環境DNAの拡散距離は、河川3か所の結果から1000~1500m程度と推定された。偽陽性の影響を最小限にするために、環境DNA調査の地点を選定する際は、下水処理水等の人為排水の流入箇所周辺を避けた方がよいと考えられる。

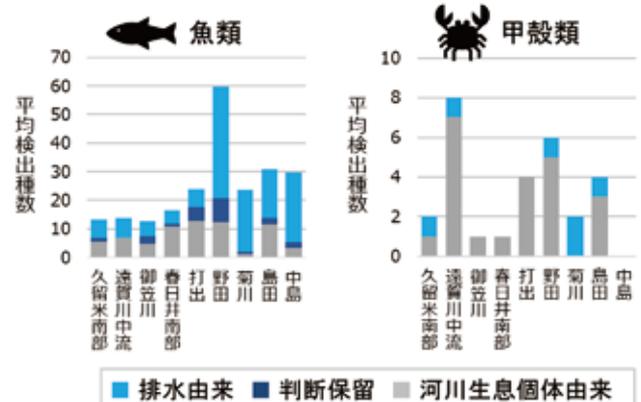


図1 由来別の処理水から検出された種数

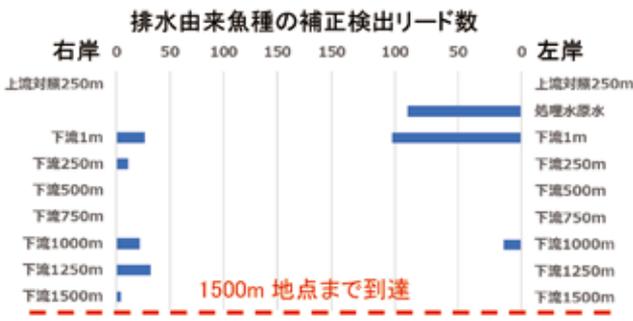
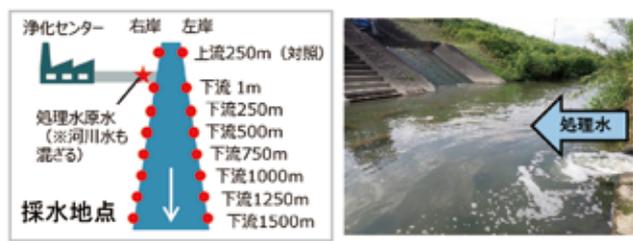


図2 環境DNA拡散範囲調査の概要 (菊川・冬)

## いであ株式会社

■ 研究担当者 環境創造研究所 遺伝子解析室 中村、白子  
 ■ 問合せ先 〒421-0212 静岡県焼津市利右衛門 1334-5  
 TEL: 054-622-9551 FAX: 054-622-9570  
 ✉ masatosi@ideacon.co.jp (中村)

■ キーワード: (1) 下水処理水  
 (2) 偽陽性  
 (3) 拡散距離

# MiFish 法における環境 DNA 種判別方法の検討

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

水国調査は定期的・継続的・統一的な河川に関する基礎情報の収集整備を目的とした世界でも数少ない調査である。

水国調査への環境DNA分析の導入にあたっては、水国調査の目的に沿うように環境DNAメタバーコーディングの採水、分析、データ解析の各工程における課題整理と対応が必要となる。本研究ではその中でもデータ解析における課題と対応を整理し、業者・作業員による影響がなく、統一された結果(種リスト)が作成できる手法を検討した。

## ■ 研究内容

環境DNAメタバーコーディングにおけるデータ解析における種名確定作業は塩基配列の相同性検索の結果等を元に種同定を実施する。しかし、近縁種間の識別の判断やリファレンス配列の誤登録などによって、調査者間の種同定結果にばらつきが生じる場合がある。本研究では、一定の同定精度を確保しながら、調査結果の判読と分析結果の精査の具体的な工程に着目し、①種名確定作業のフロー、②MiFish種名リストの素案を検討した。

## ■ 得られた成果

「種名確定作業のフロー(図1)」及びフローに必要な「MiFish種名リストの素案(表1)」を作成した。作業フローについて、分岐①として「種名が確定できる種」or「注意を要する種」、分岐②として「種特定」or「高次分類群止め」と分けることで同一の魚種リストを作成可能であると考えられる。また、低一致率配列への対応や、リストにない種への対応などもフローに組み込んだ。

## ■ まとめ

水国の定期的・継続的・統一的な調査であることをふまえ、環境DNAメタバーコーディングにおいて誰が作業しても、同じ結果(種リスト)が作成できる手法を検討した。検討した作業フローは「MiFish種名リスト」の精度が環境DNA種同定精度につながるため、具体的な種名やカテゴリ分けの妥当性について、可能な限り多くの魚種を網羅した上で、専門家のチェックを受ける必要がある。

表1 水国調査のためのMiFish種名リストの素案

No	科	属	eDNA種名	注釈あり	注釈	分岐①	分岐②
194	ハゼ科	ミズハゼ属	ミズハゼ属	※	※ミズハゼ属、ミズハゼ/ミナミミズハゼ/イドミズハゼ/イノミズハゼを除くミズハゼ属		高次分類群止め
195	ハゼ科	ミズハゼ属	イドミズハゼ				種特定
196	ハゼ科	ミズハゼ属	ミズハゼ属	※	※ミズハゼ属、ミズハゼ/ミナミミズハゼ/イドミズハゼ/イノミズハゼを除くミズハゼ属		高次分類群止め
201	ハゼ科	チワラス科属	コガネチワラス				種特定
202	ハゼ科	トビハゼ属	トビハゼ属	※	※トビハゼ属、トビハゼ/ミナミトビハゼ		高次分類群止め
203	ハゼ科	マハゼ属	マハゼ			注意を要する	種特定
204	ハゼ科	マハゼ属	アシシロハゼ			注意を要する	種特定

### トップヒットの魚種からの判断例

- ・イドミズハゼ → イドミズハゼで確定
- ・ミナミトビハゼ → トビハゼ属で確定
- ・アシシロハゼ → 注意を要する種なので、チェックが必要(マハゼとアシシロハゼが誤登録の可能性)

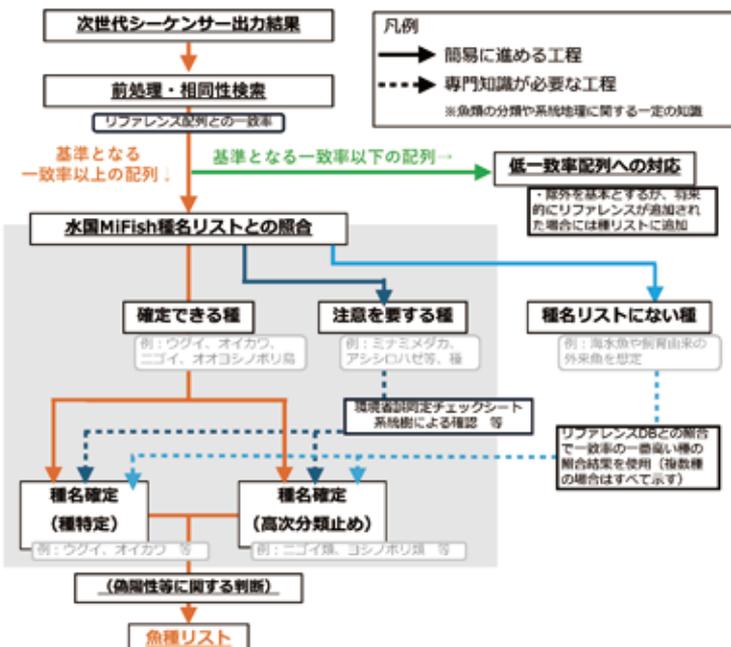


図1 水国マニュアルでの記載を想定した種同定フロー

## 株式会社 建設環境研究所

■研究担当者 環境部 藤澤、釣  
環境技術部 宮脇

■問合せ先 〒170-0013 東京都豊島区東池袋 2-23-2  
TEL: 03-3988-4345 FAX: 03-3988-2053  
✉ miyawaki@kensetsukankyo.co.jp (宮脇) tsuri@kensetsukankyo.co.jp (釣)

■キーワード: (1)環境 DNA  
(2)メタバーコーディング  
(3)MiFish 法  
(4)分子種同定

# ダム湖における環境 DNA 導入方法に関する基礎研究

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

ダム湖では水深の大きな湖心をはじめ、採捕調査に大きな労力を伴うため、魚類相把握の効率化に環境 DNA 技術は大きく貢献すると考えられる。水国調査のテーマ調査等を通じ、ダム湖では採捕よりも環境 DNA による魚類の検出種数が多くなる傾向が示された一方で、環境 DNA による魚類の検出率は河川に比べ有意に低いことや、ダム毎の流動特性により魚類の検出結果に違いが生じること、検出種数と水深との関係が季節によって変化する可能性などが報告されており、今後の事例の追加や検証等が必要である。

そこで、ダム湖水国調査に環境 DNA 技術の導入を図るため、①ダム湖内での環境 DNA 分析に関する適切な採水量の検討、②採捕調査と環境 DNA 分析の比較分析を行った。

## ■ 研究内容

長野県に位置する天竜川水系三峰川の美和ダムを対象とし、水国調査の調査地点である 4 箇所（湖心部 2 箇所、湖岸部 1 箇所、流入部 1 箇所）のうち 1 箇所では表層・中層（表層から 5m）・底層（表層から 9m）の 3 層、その他の 3 箇所では表層の 1 層で採水を行った。採水量は、各層ごとに 1L、2L、3L の計 3 サンプルとした。採水したサンプルをもとに定量メタバーコーディングにより環境 DNA を分析し、採捕調査と環境 DNA による魚種の検出数、及び採水量や採水層による魚類の検出種数を比較した。

## ■ 得られた成果

1. 採水地点・採水量による検出結果の違い  
コピー数は、流入部（表層）が多く、次に湖岸部（表層）が多くなった。4 地点において、採水容量とコピー数は比例関係が見られた。
2. 採水層による検出結果の違い  
採水層ごとの環境 DNA 分析結果は、底層で底生魚のコピー数が多くなるなどの明確な出現差異は見られなかった。また、どの採水容量においても表層でコピー数が多くなった。
3. 採水量と採捕結果の比較  
確認種数のみで比較すると、一部を除いて採捕結果より環境 DNA 分析による検出種数が多く、採水量に比例して確認種数も多くなる傾向がみられた。

## 4. 採水量と採捕結果の種数比較

採捕による確認種数は、採水量 1L の検出種数と同程度であった。

## ■ まとめ

長野県美和ダムの 4 箇所で、採水層・採水量の条件を複数設定し採水を行い、採水による環境 DNA 分析（定量メタバーコーディング）結果と採捕結果から魚類の検出種数やコピー数を比較した。

その結果、全ての調査地点で採水量と環境 DNA のコピー数に比例関係がみられ、環境 DNA 分析で検出された魚種は、採捕調査による魚種を包含していた。また、確認種数は一部を除いて採捕結果より環境 DNA 分析による検出種数が多く、採水量に比例して確認種数も多くなる傾向がみられた。なお、採捕による確認種数は、採水量 1L での検出種数と同程度であった。

以上より、水深が比較的小さく、回転率が高いダムで、採水による環境 DNA 分析で採捕と同程度の確認種数を検出することを目的とした場合、採水量は 1L かつ表層の採水でよいと考えられた。

表 1 環境 DNA 分析と採捕の確認種数

調査方法	湖心部①			湖心部②	湖岸部	流入部
	表層	中層5m	底層9m			
環境 DNA ※1	1L	6種 (4種)	3種 (1種)	7種 (4種)	1種 (1種)	8種 (8種)
	2L	6種 (4種)	5種 (3種)	5種 (4種)	1種 (1種)	11種 (8種)
	3L	8種 (4種)	7種 (3種)	7種 (4種)	2種 (1種)	11種 (7種)
採捕 ※2	4種 (0種)			1種 (0種)	4種 (1種)	9種 (1種)

※1 括弧内の種数は、各環境 DNA サンプルで確認された種のうち、採捕でも確認された種数を示す。  
※2 括弧内の種数は、採捕で確認された種のうち、環境 DNA で確認されなかった種数を示す。

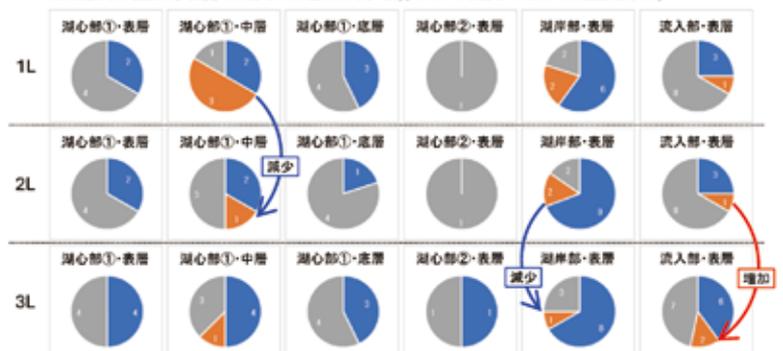


図 1 採水量と採捕結果の種数比較

●環境DNA分析でのみ確認された種  
●採捕でのみ確認された種  
■両方で確認された種

## 株式会社 建設技術研究所

■研究担当者 東京本社 環境部 大須賀、堀、堀田

■問合せ先 〒330-0071 埼玉県さいたま市浦和区  
上木崎 1-14-6CTIさいたまビル  
TEL: 048-835-3609 FAX: 048-8835-3611  
✉ hk-hori@ctie.co.jp(堀)

■キーワード: (1)ダム  
(2)採水量  
(3)採水層  
(4)採捕結果との比較

# 環境 DNA を活用した環境情報の高度化 -水国実装に向けた技術体系の構築- (ダム湖版)

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

河川に比べて流れの緩やかな湖沼では、環境DNA含有物質の拡散範囲も狭くなると考えられる。特にダム湖では、小型の魚が利用しやすい湖岸帯の植生帯が不連続に分布し、さらに三次元的に流動する湖内の流れの影響も受けると考えられる。そこで、本研究ではダム湖内流動と環境DNA含有物質の挙動について現地調査を通じて捉えることを試みた。

## ■ 研究内容

本研究では、中筋川ダム、富郷ダム、早明浦ダムにおいて実施した環境DNA調査の結果を用い、湖内においては湖内流動や流入河川の影響を、下流河川においてはダム放流水の影響の有無を検討した。本調査においては、3ダム共に流入河川に海水魚をトレーサーとして投入するとともに、湖心・湖岸に設定した複数の地点上の複数の水深で採水を行うことで、流入水の三次元的な挙動を捉えることを試みている。尚、検討にあたっては、R3の国土交通省からの受託業務成果の提供を受け実施している。

## ■ 得られた成果

### 1. ダム湖内特有の課題検討

#### (1) 水深別に見た検出傾向

ダム湖表層が最も確認種数が多く、中層下層と水深が深くなるにつれて種数が減少傾向にあった。

#### (2) 水温躍層と検出傾向の関係

水温躍層より下層においても環境DNAの結果では魚類が確認された。しかし水質調査の結果では、DO濃度が低く魚類の生存は難しいことが考えられ、魚類の生息状況を示した結果ではないと考えられた。

#### (3) 岸際・沖合での検出傾向

ダム湖内の横断方向の調査結果の比較では、岸際と

沖合では岸際の方が、環境DNAによる確認種数が多い傾向が見られた。この傾向は、ダム湖の流程方向の複数地点においても同様であった。

#### (4) 流入水の湖内における流動

海水魚の出現状況から、上流から流入した水は流下しながら水深の深い方向に沈み込んでいる様子が確認された。本調査は夏期に実施しており、水温の低い上流河川の水は水温の高いダム湖表層の水よりも下層に潜り込む湖内流動を反映したものと考えられる。

## 2. 流入・下流河川特有の課題検討

### (1) 環境DNA含有物質の流下範囲

ダム下流河川において、ダム湖内からの環境DNA物質のダムからの流下を示唆する調査結果が得られた。

### (2) ダムからの放流の影響

下流河川の流下範囲については明瞭な傾向が見られず、今後の課題と考えられる。

## ■ まとめ

本調査の結果、表層水の地点間比較では湖岸のほうが湖心よりも多くの種を検出し、水深方向では表層水において、表層よりも下層の水深に対して多くの種を検出した。さらに、ダム湖内における環境DNA含有物質の拡散様式は、ダム湖水の流動特性と同様の傾向を示すこと明らかとなった。ダム湖内の流動は、ダム湖の諸元や季節、取水等の影響を受けると考えられ、ダム湖ごとの特徴を踏まえた調査地点の選定が重要と考えられた。

## 一般財団法人 水源地環境センター

■研究担当者 研究第3部 大杉奉功

■問合せ先 〒102-0083 東京都千代田区麹町 麹町NKビル  
TEL: 03-3263-9945 FAX: 03-3263-9922 ✉ t-osugi@wec.or.jp (大杉)

■キーワード: (1)河川水辺の国勢調査  
(2)ダム湖  
(3)メタバーコーディング解析  
(4)採水地点  
(5)採水層  
(6)流動特性

## 研究項目2 環境DNAの活用による環境調査の高度化

### 本研究項目の背景

環境DNAは、生物調査の高度化につながる技術として期待も高いが、そのために解決すべき課題は多岐にわたっている。また、面的な生物情報という特徴を有している環境DNA技術は、流域単位の河道管理に資することが期待される。そこで、現場で実務を担う民間事業者と国研土木研究所、農地の研究を進める国研農研機構、沿岸域の研究を進める国研港湾空港技術研究所が連携し、研究を進めた。

#### <対象生物群の拡充>

- 環境DNAによる陸域の生物相把握の可能性検討 (株)建設技術研究所
- 大気中からの環境DNA採取の試み 応用地質(株)
- 多分類群一斉分析法の開発と  
水国調査全項目の環境DNA適用に向けた試行調査 いであ(株)

#### <実地の課題解決>

- 環境DNAを用いた特定外来生物カワヒバリガイの  
分布調査と環境DNA濃度の評価 (株)エコー
- 環境DNA分析を用いたユスリカの把握 (株)ウエスコ
- 両生類の生息状況の把握に向けた取り組み 大成建設(株)

#### <新たな活用方法>

- 環境DNAデータを用いた流域における魚類のポテンシャルマップ作成 (株)建設技術研究所

# 環境 DNA による陸域の生物相把握の可能性検討

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

環境 DNA による生物相の把握は、水生生物で知見が蓄積されている一方、陸域については事例数が少ない。そこで、陸棲または半水棲の生物相を効率的に把握する方法を確立するための知見を蓄積することを目的として、農地環境におけるサンプルの取得及び環境 DNA 分析(哺乳・両生・昆虫類)を行い、陸域の環境 DNA の効率的な採集方法及び採集素材の検討を行った。なお、サンプルの取得にあたっては、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(以下、「農研機構」)に協力・助言を得て実施した。

## ■ 研究内容

栃木県上三川町の農耕地を対象に、3 区分の環境(農道脇の低茎草地、畔の低茎草地、水路のコンクリート面)でペイントローラーによるサンプル収集、1 区分の環境(農道脇の高茎草地)で塩ビ管によるサンプル収集を各 2 回(夏季、秋季)実施し、環境 DNA 分析を行った。環境 DNA 分析のプライマーは、哺乳類の MiMammal-U(Ushio et al.2017)、両生類の Amph\_16S (Sakata et al.2022)、昆虫類の MtInsects-16S (Takenaka et al.2023)とした。

夏季調査では採集素材として綿を使用した。秋季調査では採集素材として綿及び粘着テープを使用したほか、昆虫類について比較のため昆虫網を用いて採取し、昆虫網の残滓を対象に環境 DNA 分析を実施した。環境 DNA 分析結果をもとに、環境区分、採集素材での検出数の比較を行った。

## ■ 得られた成果

### 1. 環境 DNA 分析結果

哺乳類は、6 目 11 科 20 種が検出された。農地等に特徴的なネズミ類、タヌキ、キツネ、ハクビシンのほか、ペット由来と考えられるイヌ、ネコが多くの採集箇所検出された。また、コウモリ類も検出できた。

両生類は 1 目 4 科 7 種が検出された。検出種は、全て水田で繁殖するカエル類であった。

昆虫類は 15 目 82 科 149 種が検出された。水田や湿地に特徴的なカゲロウ類やシオカラトンボ等のトンボ類、農業害虫のウンカ類、ヨコバイ類、草地に特徴的なバッタ類、地表徘徊性のオサムシ類、ゴミムシ類等が検出された。

### 2. 採集箇所、採集素材別の検出種数比較

採集箇所別ではコンクリートの検出数が全体的に多く、素材としては、綿の方が粘着テープより検出数が多かった。

### 3. 実際の採集結果との比較(昆虫類)

昆虫類について、環境DNAの分析結果(149種)、既往の農研機構によるセンサス調査結果(99種)、秋季採取時に実施した昆虫網による採捕結果(42種)を比較した。確認種数は、環境DNAの検出数が採集と比べて多かった。全ての調査方法の延べ確認種数の合計は293種であり、そのうち全ての手法で確認された種はアワダチソウゲンバイの1種であった。また、環境DNA分析で検出された149種のうち、既往の農研機構によるセンサス調査及び秋季採集時の昆虫網による確認で実際に採集履歴のある種は5種であった。

## ■ まとめ

簡易な材料(ペイントローラー、塩ビ管)による採集で、陸棲生物の DNA が検出された。調査箇所別では、低茎草地(農道脇、畔)、高茎草地(農道脇)と比較してコンクリート面(水路等)での検出数が多く、コンクリートでは DNA が残りやすい、もしくは採集素材との接地面が大きく、採集できる DNA が多い可能性が考えられた。採集素材としては、綿と粘着テープを用いたが、綿の方が粘着テープよりも適していた。哺乳類では農地環境に特徴的な種やペット由来の種が確認された。両生類では水田性のカエル類が確認され、本地域に特徴的な種が検出されたほか、環境区分ごとに異なる種が検出されたことから、上陸後の生息場を把握できる可能性が考えられた。昆虫類では、実際の採集に比べ多くの種が検出されたほか、季節傾向(目ごとの検出数の増減)が把握できた。また、複数のプライマーを組み合わせることで網羅的な把握が可能であると考えられる。

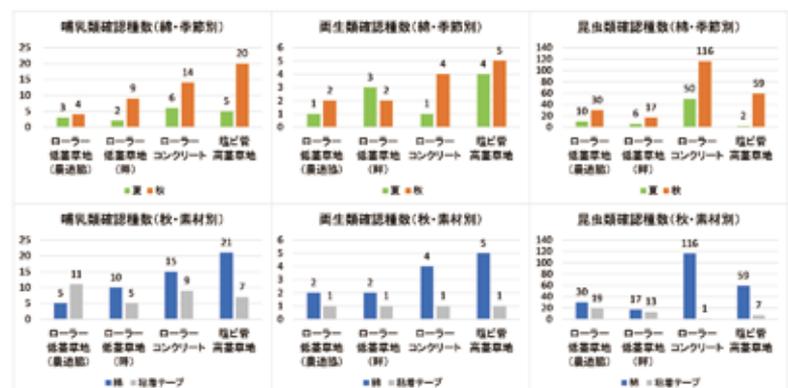


図1 採集箇所、採集素材別の検出種数比較

## 株式会社 建設技術研究所

■研究担当者 東京本社 環境部 大須賀、堀、野中

■問合せ先 〒330-0071 埼玉県さいたま市浦和区  
上木崎 1-14-6CTIさいたまビル  
TEL: 048-835-3609 FAX: 048-8835-3611  
✉ hk-hori@ctie.co.jp(堀)

■キーワード: (1)陸棲生物の検出  
(2)採集方法  
(3)採集素材  
(4)農地環境

# 大気中からの環境DNA採集の試み

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

環境DNAは水・土・大気中に存在し、水・土のサンプリング技術は確立されつつある一方、大気からのサンプリング技術は確立されていない状況である。大気中の環境DNAサンプリング技術の確立は、水・土での検出が不十分だった陸生動物(哺乳類、鳥類、昆虫類等)や植物の種の検出精度の向上に寄与することが期待される。この技術の確立は、建設事業における調査やモニタリングの高度化・効率化、具体的には種の確認精度向上や調査コストの縮減に寄与する可能性が考えられる。

本研究では、静電気フィルターを用いて大気中からの環境DNA採集に取り組んだ。

## ■ 研究内容

### 1. 採集システム(採集機器)の検討

電動エアポンプの種類、バッテリー等の性能も確認し、野外調査で簡易に運用可能で、定量的な調査が可能なサンプリングシステムを検討した。

### 2. 採集試験(種検出)

製作したシステムを用いて、動物(哺乳類・鳥類・昆虫類)、植物、真菌類の環境DNAの採集試験を実施し、大気中から環境DNAの採集の可能性を検討した。調査地は福島県田村郡三春町にある自社敷地の緑地で、静電気フィルターは0.3~0.5 μmの50%~95%を吸着可能な複数タイプのフィルターを使用して、数日に分けて、延べ9時間~24時間にわたり大気を吸引し、DNAを抽出してメタバーコーディング解析を行った。

## ■ 得られた成果

### 1. 簡易な採集システムの作成

既製品を活用した野外使用を想定したシステムについて、空気の吸引能力40~50L/min、連続稼働約10時間であれば、10万円以内で作成可能であることが判明した。一方で、気体流量の正確な測定、静電気フィルターからのDNA抽出などの作業で、留意や工夫が必要なことも明らかとなった。

### 2. 種検出の結果

環境DNAの検出種数は、真菌類>植物>動物の順で、特に動物の検出種数は極めて少ない結果となった。一方

で、測定地点辺でDNAが多く存在(浮遊)していると想定されたヒト(測定者)、ノネコ(地点周辺を頻繁に往来)の環境DNAは毎回のよう検出された。

## ■ まとめ

大気中からの環境DNAの採集について、真菌類や植物では活用が期待できると考えられる。動物の環境DNAの採集については、大気中に浮遊する環境DNA量が少ないために、特に広範囲を対象とした種検出には課題があり、気体の吸引量、静電気フィルターの種類などについての更なる検討が必要と考えられる。一方で今回の試行で、既製品の静電気フィルター、電動エアポンプ等を活用すれば、大気中の環境DNAを採集する安価な機器は製作可能ことが判明した。大気中からの環境DNAの効率的な採集方法に関する研究が進み、野外調査で今後活用されていくことを期待する。



図1 採集試験の様子

表1 DNA採集結果の例

測定時期	8月	8月	9月	11月	11月	
フィルター	0.3μm/95%	0.5 μm/50%	0.5 μm/50%	0.5 μm/50%	0.5 μm/50%	
吸引量	43,200L	43,200L	28,800L	43,200L	43,200L	
プライマー	M/Mammal M/bird M/insects-16S COI ※全サンプルを4つのプライマーで分析していない。	1種	1種	7種	2種	4種
Plant	4種	6種	10種	0種	9種	
ITS	62種 (128検体)	166種 (337検体)	220種 (418検体)	-	-	

## 応用地質 株式会社

■ 研究担当者 地球環境事業部  
応用生態工学研究所沖津、稲川

■ 問合せ先 地球環境事業部/サービス開発部  
〒305-0841 茨城県つくば市御幸が丘 43 番地  
TEL: 029-851-6542 FAX: 029-851-6964  
✉ 1900-110@oyonet.oyo.co.jp

■キーワード: (1)環境DNA(eDNA)  
(2)大気サンプリング技術  
(3)静電気フィルター  
(4)簡易採集システム

# 多分類群一斉分析法の開発と 水国調査全項目の環境DNA適用に向けた試行調査

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

網羅的解析を用いた環境DNA調査において、1つの採水試料から複数の分類群を包括的に検出しようとした場合、1分類群ごと個別に分析を行うことになる。しかし、そのやり方では1試料当たりの分析コストが膨大になってしまうという課題がある。複数の分類群を1回の分析でまとめて分析できれば、調査の効率化と分析コストの削減につながり、実用化が先行する魚類以外の分類群でも網羅的解析の適用が進むと期待される。

そこで、マルチプレックスPCR法を網羅的解析に応用し、複数の分類群をまとめて1回の分析で同時に検出する手法の開発を試みた。さらに、水国調査における生物調査の全13項目を対象として試行的な環境DNA調査を実施し、過年度の調査結果との比較を行うことで、その現場適用性を分類群別に検証した。

## ■ 研究内容

### 1. 多分類群一斉分析法の開発

既報もしくは独自に設計したユニバーサルプライマーを用いたマルチプレックスPCRを行い、それぞれの1stPCR産物に対して網羅的解析を行うことで、各セットで検出対象とした複数の分類群をまとめて一斉に検出した。

### 2. 水国調査全項目の試行調査

国土交通省が直轄管理する河川3か所(天竜川・鈴鹿川・矢部川)及びダム湖3か所(新豊根ダム・矢作ダム・鶴田ダム)において現地採水を実施し、水国調査の調査対象である全13分類群について多分類群一斉分析法による環境DNA調査を実施した。

## ■ 得られた成果

### 1. 多分類群一斉分析法

表1に示した通り、全13分類群のプライマーを①～④の組み合わせセットに分けて1stPCRを行うことで、複数の分類群をまとめて1回の分析で同時に検出することが可能であった。同一試料を1分類群ごと個別に分析した結果と比較したところ、脊椎動物5分類群(魚類・両生類・爬虫類・哺乳類・鳥類)は、個別分析とほぼ同等に種が検出できたが、生息種数が多い無脊椎動物8分類群は一斉分析では検出されない種が増えた(データは割愛)。

### 2. 水国調査全項目の試行調査

調査結果の一例として、図1に鈴鹿川での検出状況を示した。過年度の水国調査と今回の環境DNA調査の結果を

比較すると、脊椎動物5分類群では両方で検出される種の割合が比較的高かったものの、それ以外の無脊椎動物では従来調査よりも検出精度が低かった。環境DNA調査で検出されなかった種の多くは、国際塩基配列データベースに参照配列が登録されていない種であり、配列情報の整備が進めば、水生無脊椎動物に対しても環境DNA調査の現場適用性が改善されることが期待された。

表1 多分類群一斉分析法に用いたプライマー

No.	対象分類群	プライマー名(略称)	プライマーの出典	組合せセット
1	魚類	MiFish	Miya <i>et al.</i> (2015)	①
2	哺乳類	MiMammal	Ushio <i>et al.</i> (2017)	
3	鳥類	MiBird	Ushio <i>et al.</i> (2018)	
4	昆虫類	MtInsect-16S	Takenaka <i>et al.</i> (2023)	②
5	甲殻類	MiDeca	Komai <i>et al.</i> (2019)	
6	爬虫類	Reptile16S	This Study	
7	両生類	Amph16S	Sakata <i>et al.</i> (2022)	③
8	貝類	Mollusca28S	Nakamura <i>et al.</i> (unpublished)	
9	植物	ITS2-p3/u4	Cheng <i>et al.</i> (2016)	
10	環形動物	Annelida28S	This Study	④
11	植物プランクトン(原核)	341F/518R	Klindworth <i>et al.</i> (2013)	
12	植物プランクトン(真核)	1380F/1510R	Amaral-Zettler <i>et al.</i> (2009)	
13	動物プランクトン	1389F/1510R	Amaral-Zettler <i>et al.</i> (2009)	

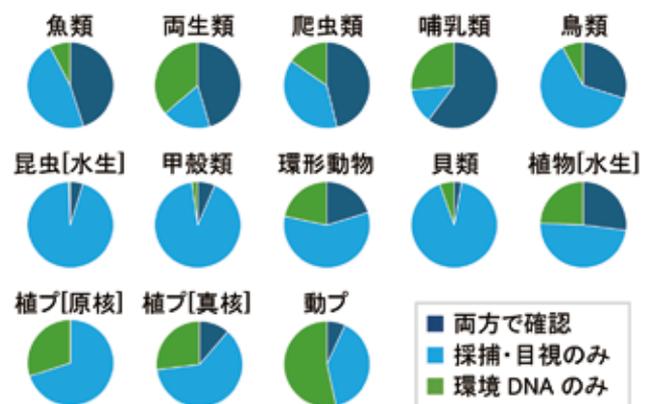


図1 分類群別・調査法別の種の検出率 (鈴鹿川)

## いであ株式会社

■ 研究担当者 環境創造研究所 遺伝子解析室 中村、白子

■ 問合せ先 〒421-0212 静岡県焼津市利右衛門 1334-5  
TEL: 054-622-9551 FAX:054-622-9570  
✉ masatosi@ideacon.co.jp (中村)

■ キーワード: (1)網羅的解析  
(2)ユニバーサルプライマー設計  
(3)複数分類群の一斉分析  
(4)水国調査全項目への適用

# 環境 DNA を用いた特定外来生物カワヒバリガイの 分布調査と環境 DNA 濃度の評価

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

カワヒバリガイは東アジア～東南アジア原産の二枚貝で、導水管などに大量に付着し、通水障害など水管理上の懸案となっている。霞ヶ浦近辺では2010年代に急速に拡大し、農業用水路網などを通じて他水系に拡散している。これらの拡散を早期に発見する手法として環境DNAの活用が期待されている。本研究は以下2点を目的とし研究を実施した。

- ・ 環境DNA調査により、カワヒバリガイ生息有無を効率的に把握できるかを検証する。
- ・ 環境DNA濃度によりカワヒバリガイの生息量を推定したり、分布偏在水域における侵入抑制原因の推定に活用できるかを検証する。

## ■ 研究内容

1. 霞ヶ浦接続水域での環境DNA・浮遊幼生・親貝調査
  - ・ 霞ヶ浦及び接続水域24地点において、農研機構の開発したプライマーを使用し、カワヒバリガイの定量PCR調査・浮遊幼生調査・親貝個体数調査を実施した。
  - ・ 地点ごとにカワヒバリガイの生息・繁殖状況と環境DNA濃度の関係を検証した。
2. カワヒバリガイ未侵入水域での環境DNA・親貝調査
  - ・ 同一水系にも関わらず、既往調査でカワヒバリガイの侵入が見られない霞ヶ浦高浜入及び恋瀬川にて、カワヒバリガイの定量PCR調査・親貝の個体数調査を実施した。
  - ・ 環境DNA濃度と親貝の調査結果を比較し、同水域にカワヒバリガイが侵入しにくい原因を考察した。

## ■ 得られた成果

1. 霞ヶ浦接続水域での環境DNA・浮遊幼生・親貝調査
  - ・ 親貝の個体数と環境DNA濃度に相関はみられなかったが、幼生(繁殖)の有無にかかわらず、環境DNAは親貝調査よりも高い感度でカワヒバリガイを検出した(図-1)。
  - ・ カワヒバリガイの侵入有無の判定において、環境DNA調査は有用であることを確認した。
2. カワヒバリガイ未侵入水域での環境DNA・親貝調査
  - ・ 高浜入では侵入11年経過後も引き続き個体密度が低いことが環境DNAにより確認できた(図-2)。
  - ・ 高浜入は地形と湖流の影響から、カワヒバリガイの侵入が抑制されている可能性がある。
  - ・ 親貝の密度と環境DNA濃度の相関は弱かった。その原因として湖流による移動・拡散が考えられる。
  - ・ 霞ヶ浦用水放流先で高浜入に流出する恋瀬川ではカワヒバリガイの環境DNAは検出されなかった。

- ・ 水路網の経路上における浮遊幼生の着底に必要な停滞水域の有無が影響している可能性がある。

## ■ まとめ

環境 DNA 調査は外来生物カワヒバリガイを早期に検出する手法として優れていることが確認できた。流況調整河川や農業用水路などの水管理に活用することにより、被害の抑制や管理の効率化が期待できる。

一方、霞ヶ浦のような水面積が大きい水域では、湖流などによる移流・拡散により、環境 DNA 濃度で生息量を推定するにはまだ解決すべき課題が残されている。

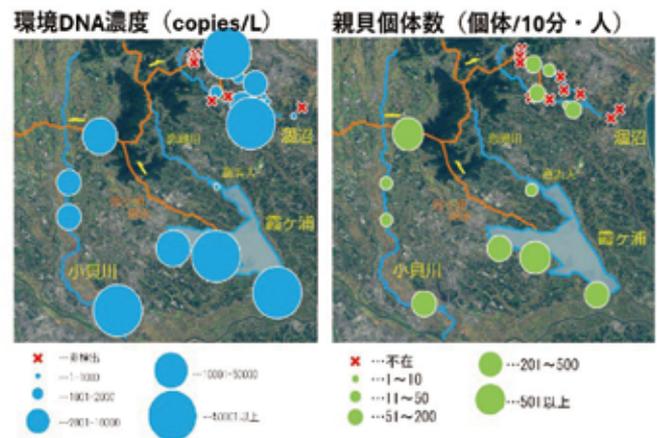


図1 霞ヶ浦及び接続水域におけるカワヒバリガイ環境 DNA 濃度と親貝確認個体数の分布

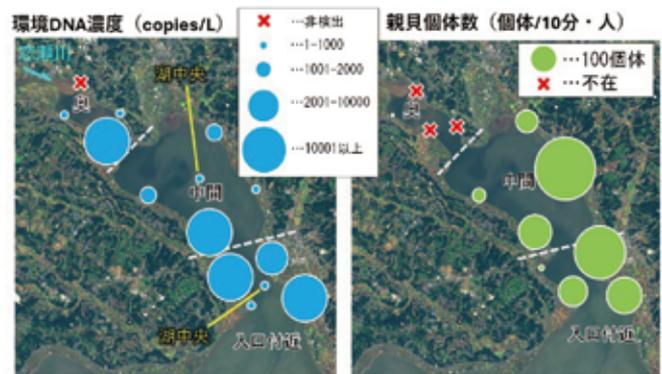


図2 霞ヶ浦高浜入におけるカワヒバリガイの環境 DNA 濃度と親貝確認個体数の分布

## 株式会社 エコー

■研究担当者 環境系事業部 河川・環境部  
平田、滝澤、井上(綾)、宇根

■問合せ先 〒110-0014 東京都台東区北上野 2-6-4  
TEL: 03-5828-2187 ⑤ hirata@ecoh.co.jp (平田)

■キーワード: (1)定量PCR調査  
(2)生息量推定  
(3)e-DNAの移流・拡散  
(4)河川・水管理への適用

■共同研究者: 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 伊藤健二

# 環境 DNA 分析を用いたユスリカの把握

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

ユスリカは、水環境の生物指標であり、不快被害(洗濯物への付着、飲食物への混入、野外活動時の妨げ等)の要因となる。また、ユスリカは、幼虫の時点では種の同定が困難であることや、同定・計数に係るコストが河川環境の保全効果(底質環境の改善等)を検証する上で課題となる。

本研究では、ユスリカ幼虫を対象に、環境DNA分析、検鏡による同定結果と群集DNA分析の結果を比較し、DNA分析の有効性と課題を整理した。

## ■ 研究内容

芦田川河口堰(広島県福山市)により形成されている湛水域の2地点を対象に、1. 採水と環境DNA分析、2. ユスリカ幼虫の定量採集と検鏡による同定・計数、検鏡後の同じサンプルを対象として群集DNA分析を行った。

## ■ 得られた成果

### 1. 採水と環境DNA分析

ユスリカ科のDNA配列と相同性を示した配列は3種であった。後述する定量採集では、13種のユスリカが確認されており、環境DNA分析ではユスリカの確認種数は非常に少ない結果となった。

### 2. 検鏡と群集DNA分析

#### 2.1 確認種(表)

検鏡では確認されなかった種が、群集DNA分析によって複数検出された。これは、ごく微量のDNA断片に対してもDNA分析が反応するため、検鏡では見落とされがちな種も検出できる可能性を示唆している。

一方、検鏡による同定種のうち、群集DNAで検出されなかった種が複数確認された。要因として個体数が少なく十分なDNAが得られなかった事や地域個体群のDNAが特徴的であり、配列が検出できなかった可能性が考えられる。

#### 2.2 個体数と配列数(図)

検鏡による確認個体数が多いと群集DNA分析により得られた配列数も多い傾向が確認された。ただし、オオユスリカは検鏡で1個体の確認だが、配列数は多く確認された。これは、オオユスリカの幼虫は大型であり、現存量が多いことが要因と考えられる。定量採集により得られたユスリカ幼虫を対象に、群集DNA分析を行うことにより、ユスリカの現存量を把握できる可能性が示唆された。

## ■ まとめ

採水サンプルの環境DNA分析では、検出できた種が少なくユスリカ幼虫の把握には不十分であった。

定量採集のサンプルを対象とした群集DNA分析は、種の同定の効率化や現存量の把握に有効であることが示唆された。

群集DNA分析を用いた種の同定の効率化における課題は、検鏡では確認された種が群集DNA分析により検出されないことが挙げられる。

現存量の把握における課題は、現存量(個体数)と配列数の関連性がユスリカ幼虫の大きさ(種や成長段階等)により異なることが挙げられる。今後、分析数を増やすことによる精度の向上が期待される。

表1 検鏡とDNA分析の確認種比較

No.	検鏡による同定種			群集DNA分析による同定種		
	和名	学名	個体数	和名	学名	配列数
1	カユスリカ属	<i>Procladius</i> sp.	9	ウスイロカユスリカ	<i>Procladius cheurus</i>	277
2	トゲヤマユスリカ属	<i>Minodamesa</i> sp.	1	シブクオオヤマユスリカ	<i>Minodamesa latipalpis</i>	129
3	アカムシユスリカ	<i>Phaedonectes akasui</i>	67	アカムシユスリカ	<i>Phaedonectes akasui</i>	1770
4	クロユスリカ	<i>Benthalea olivacea</i>	271	クロユスリカ	<i>Benthalea olivacea</i>	32412
5	オオユスリカ	<i>Chironomus plumosus</i>	1	オオユスリカ	<i>Chironomus plumosus</i>	9919
6	ユスリカ属	<i>Chironomus</i> sp.	1	イシガキユスリカ	<i>Chironomus ishigaki</i>	127
7	エダツヒユスリカ属	<i>Closterotarsus</i> sp.	101	エダツヒユスリカ	<i>Closterotarsus canaliculatus</i>	8294
8	カマガタユスリカ属	<i>Cryptotendipes</i> sp.	1			
9	オオヒメユスリカ属	<i>Lepidostomatium</i> sp.	1			
10	コガタユスリカ属	<i>Microchironomus</i> sp.	29	ヒメコガタユスリカ	<i>Microchironomus luteus</i>	379
11	ハモンユスリカ属	<i>Polyphemus</i> sp.	1	ハモンユスリカ	<i>Polyphemus maculatus</i>	4
12	ムナツヒユスリカ属	<i>Stempellina</i> sp.	13			
13	アシマダユスリカ属	<i>Stictochironomus</i> sp.	99			
14	ヒゲユスリカ属	<i>Tanytarsus</i> sp.	258	オオヒゲユスリカ	<i>Tanytarsus takahashi</i>	675
15				ウチヒゲユスリカ	<i>Tanytarsus uchihi</i>	26
				コヒゲユスリカ	<i>Tanytarsus kamohi</i>	2160
	個体数	639	357	991	配列数	44073
	種数	9	9	13	種数	7

調査実施日: 2023年1月5日 採取面積: 0.0675m<sup>2</sup> ● DNAのみ確認、■ 検鏡のみ確認

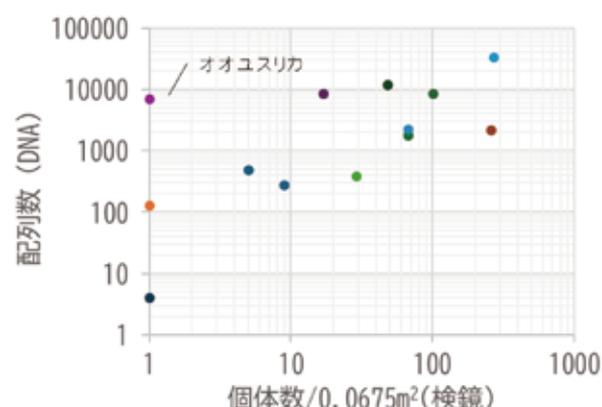


図1 個体数と配列数の関連性

## 株式会社 ウエスコ

■ 研究担当者 防災・環境事業部 藤原  
 ■ 問合せ先 〒700-0033 岡山市北区島田本町 2-5-35  
 TEL: 086-254-2445 FAX: 086-254-2736  
 ✉ masaki.fujiwara@wesco.co.jp(藤原)

■ キーワード: (1)ユスリカ  
 (2) 定量評価  
 (3) 効率化  
 (4) 現存量把握



# 両生類の生息状況の把握に向けた取り組み

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

両生類の生息状況調査の高度化を目指し、環境DNA分析による高頻度調査を検討した。高頻度調査とは、生息状況を連続的に把握する方法で、自然再生や卵塊の移設後の経過観察や、生息環境の異変等への対応に活用することが期待できる。

両生類の調査における環境DNA分析の課題として、環境DNAの検出傾向や分解傾向を把握し、両生類の現地調査での効率的な試料採取方法や分析手法を確立することが挙げられ、水槽実験と現地調査を実施した。

## ■ 研究内容

### 1. 水槽実験

環境DNAの水中での分解状況を把握するため、水槽実験を実施しました。水槽内を蒸留水で満たし、アカガエル類の幼生、ヤマアカガエルの成体を投入し、24時間後まで水槽内から水試料を採取した。また、環境DNAの分解傾向を確認するため、生体を取り出した直後の水試料を分取し、現地水と混合させた場合と蒸留水と混合させた場合の2条件を24時間経過後に比較した。

### 2. 現地調査

ため池内の採水地点における生物種別の環境DNAの検出傾向を把握するため、5m間隔で区切ったため池において、採水による環境DNAの分析と専門調査員による目視・捕獲調査を実施し、生物種ごとに環境DNAの検出結果と目視・捕獲調査を比較した。

## ■ 得られた成果

### 1. 水槽実験

水槽内の蒸留水に生体を投入後、10分後から順次試料を採取したところ、48時間後まで継続して環境DNAを検出した。生体を水槽から取り出した後、蒸留水と混合させた条件では数日経過後も環境DNAを検出したが、現地水と混合させた条件では、環境DNAが短時間で検出されにくくなることが明らかになった(図1)。

### 2. 現地調査

5m間隔に区切ったため池内の各採水地点で採取した試料では、生息数が多い生物種(アカハライモリ、ニホンア

カガエル等)は概ねどの地点においても環境DNAを検出できた(図2)。一方、生息数が少ない生物種(ニホンアマガエル、トウキョウダルマガエル)については、検出の有無のばらつきが大きく、目視・捕獲調査の位置と採水位置の相関性も得られなかった。生息数が少ない種を調査対象とする場合には、採水地点を複数設置するなどの対応が必要になると考えられる。

## ■ まとめ

本研究の結果より、環境DNAは実環境で現地の微生物等により速やかに分解されていると推察された。現地調査を計画する際には、対象とする種の生息環境や生活史、分解状況等を考慮して採水方法を選定することが重要となる。今後も両生類の生息調査における環境DNA活用に向けて、模擬的な環境下や現地調査での環境DNA分析結果を積み重ねていく予定である。

謝辞 本調査にご協力いただいた知勝院及び(一社)久保川イーハープ自然生研究所の皆様へ謝意を表します。

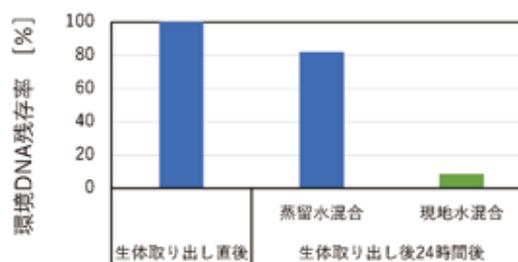


図1 環境DNAの分解性確認

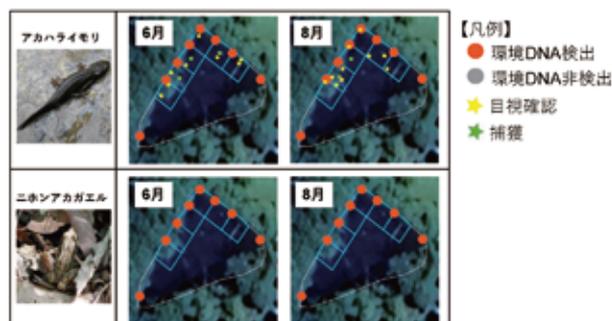


図2 現地調査結果

# 大成建設 株式会社

■研究担当者 技術センター 赤塚、高山、高畑  
 クリーンエネルギー・環境事業推進本部 大井、渡邊、内池

■キーワード: (1)両生類  
 (2)生息調査  
 (3)分解傾向  
 (4)採水地点選定

■問合せ先 〒245-0051 神奈川県横浜市戸塚区 名瀬町344の1  
 TEL: 045-814-7221 FAX: 045-814-7261  
 ✉ aktmik00@pub.taisei.co.jp(赤塚)

# 環境 DNA データを用いた流域における魚類のポテンシャルマップ作成

環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 R 4-6

## ■ 概要

「ポテンシャルマップ」とは、生物の潜在的な生息の可能性を示す地図である。このポテンシャルマップは、対象とする種の生息位置と環境条件に関する情報に基づいて作成される。

ポテンシャルマップを作成する際、生物の生息位置の情報は多い方がより精度の高いマップとなる。しかし、従来の調査方法ではコストがかかるため、生息位置の情報を多く集めることは難しく、流域などで精度の高いポテンシャルマップを作成することは困難であった。

ところが、環境DNA分析を用いれば、従来の調査方法より低コストのため、より多くの地点での魚類の生息情報を収集することができる。そして、この多地点のデータを使えば、従来つくれなかった精度のポテンシャルマップを作成することが可能となる。

## ■ 研究内容

筑後川流域を調査対象として、流域内の88箇所環境DNA分析のための水をサンプリングを行った。ユニバーサルプライマーMiFishを使用して環境DNA分析を行い、各地点で生息する魚類の種リストを作成し、種魚類の生息情報を整理した。

さらに環境情報として、流域内の河川を200m間隔で区切り、それぞれの区間に標高、河床勾配、植生のタイプなどの情報を与えた。

これらのデータを用いて、種毎に生息ポテンシャルを推定するモデル（一般化線形モデルおよびMaxentによるモデル）を作成し、流域内での生息ポテンシャル（生息確率）を算出し、地図化した。

## ■ 得られた成果

環境DNA分析により、全88地点で75種類の魚類が確認された。

この75種類についてそれぞれポテンシャルマップを作成した。図1および図2はその一例で、環境DNAで確認された種である「ドジョウ」の確認位置とこの情報と環境情報を元に推定したポテンシャルマップである。

さらに、75種の生息ポテンシャルから、生息種数を推定し、これを地図化した(図3)。

## ■ まとめ

流域での魚類のポテンシャルマップがあれば、生態系ネットワークの現状把握、評価、目標設定、改善箇所の選定などに活用することが可能である。ポテンシャルマップは河川環境の量的評価において有用なツールとなることが期待される。

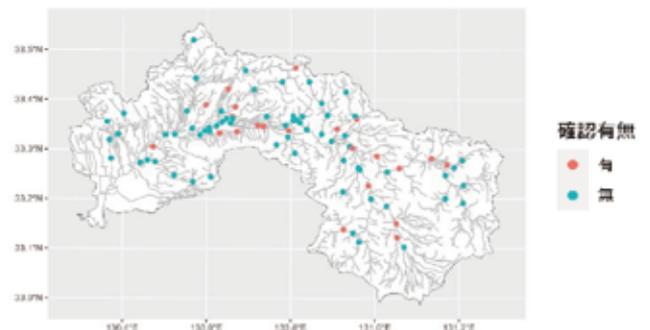


図1 環境DNAによる確認位置：ドジョウ

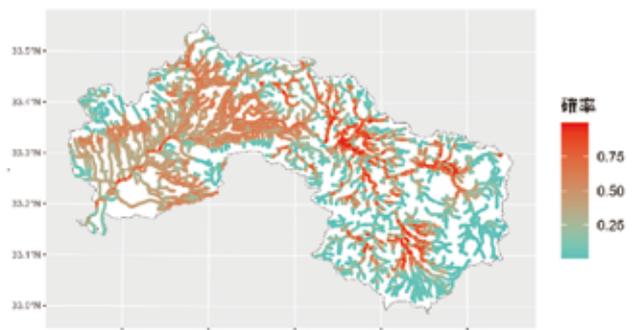


図2 流域におけるポテンシャルマップ：ドジョウ

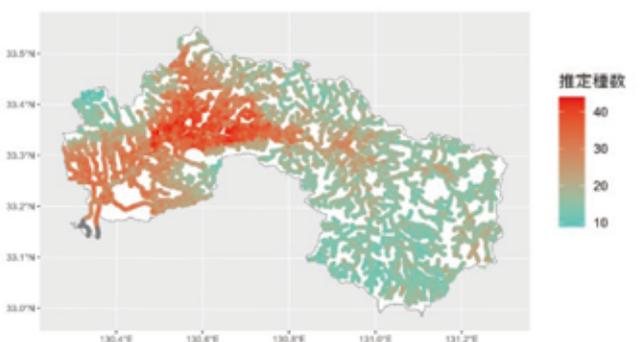


図3 流域における推定種数

## 株式会社 建設環境研究所

■研究担当者 環境技術部 宮脇  
環境部 江口

■問合せ先 〒170-0013 東京都豊島区東池袋 2-23-2  
TEL: 03-3988-4345 FAX: 03-3988-2053  
✉ miyawaki@kensetsukankyo.co.jp (宮脇)

■キーワード: (1)環境 DNA  
(2)魚類  
(3)流域のポテンシャルマップ  
(4)生物多様性

■共同研究者: 赤松良久(山口大学)、  
乾隆帝(福岡工業大学)、  
鬼倉徳雄(九州大学)



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  
〒305-8516 茨城県つくば市南原 1 番地 6



国立研究開発法人 海上・港湾・航空技術研究所  
港湾空港技術研究所  
〒239-0826 神奈川県横須賀市長瀬 3 丁目 1 番 1 号



国立研究開発法人 農研機構  
農業環境研究部門  
〒305-8604 茨城県つくば市観音台 3 - 1 - 3

本冊子の電子データは、国研 土木研究所 流域水環境研究グループ  
流域生態チームのHPからダウンロード可能です。  
流域生態チームのHPでは、本共同研究の報告書もご覧いただけます。



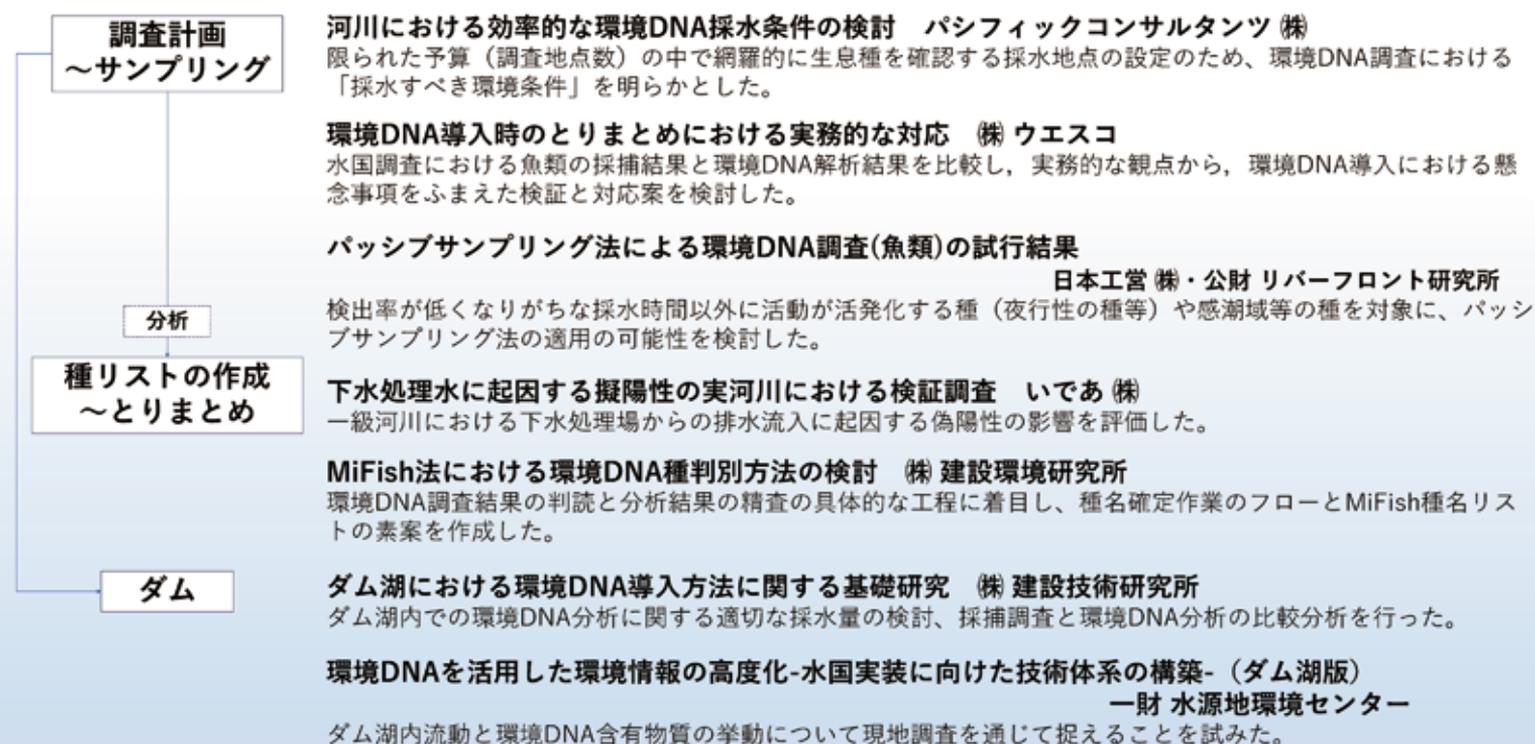
<https://www.pwri.go.jp/team/rrt>

本冊子に掲載の図版および文章について、転載、複製、改変等は禁止させていただきます。  
Reproduction is prohibited. © 2025 Public Works Reserch Institute

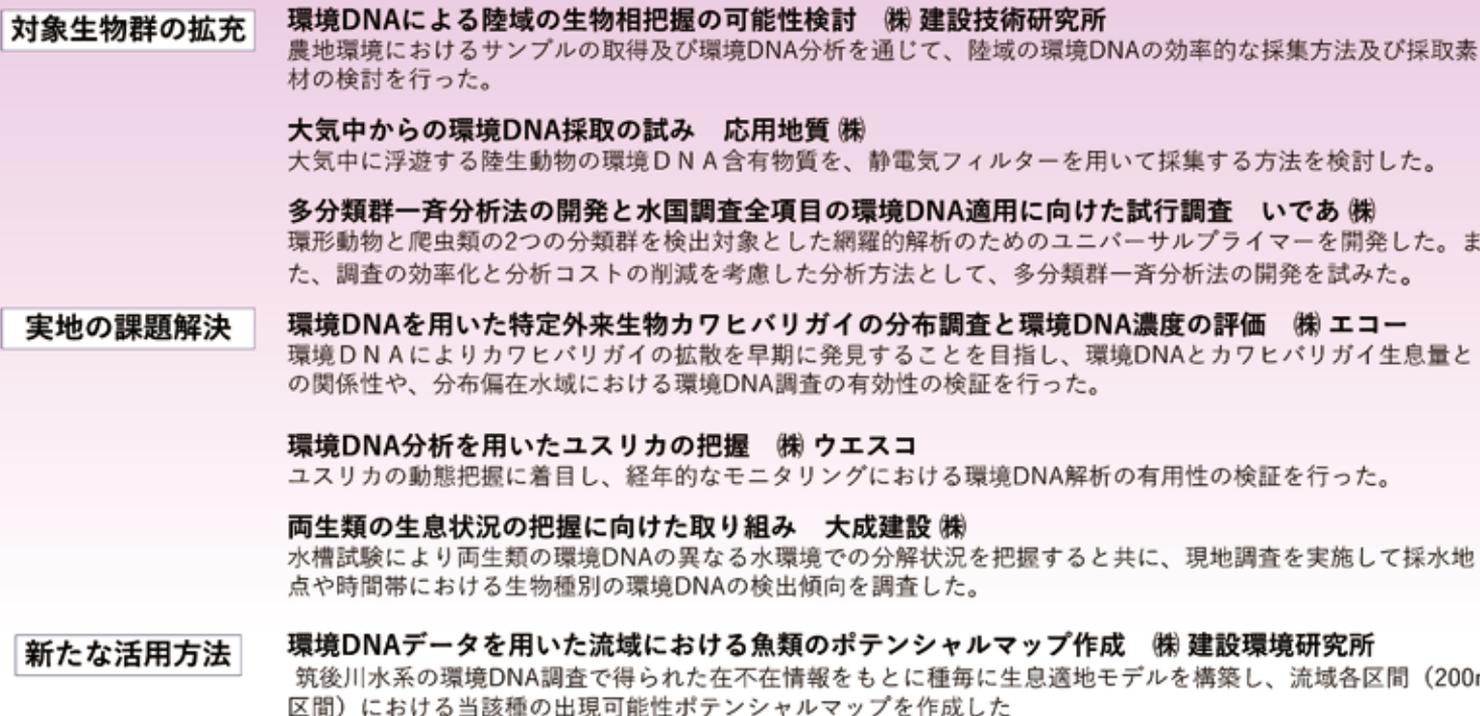
# 環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究 令和4～6年度

水や土壌に含まれる生物の組織片からDNAをとりだし生物情報を得る環境DNA技術は、遺伝子分析技術の高度化に伴い急速に拡大しつつある。国土交通省においても河川水辺の国勢調査への環境DNA実装に向けた検討が進む中、実務の現場の実情を踏まえた技術の標準化が必要である。また、調査技術の高度化に向けた検討を進めたことで、河川水辺の国勢調査以外の様々な場面への環境DNAの展開が期待される。特に、面的な生物情報という特徴を有している環境DNA技術は、流域単位の河道管理に資することが期待される。そこで本共同研究では、土木研究所と共同研究に参画した11社、指定機関として農地の研究を進める国研農研機構、沿岸域の研究を進める国研海上・港湾・航空技術研究所 港湾空港技術研究所が連携し、研究を進めた。

## 研究項目1 環境DNAの水国実装に向けた技術体系の構築



## 研究項目2 環境DNAの活用による環境調査の高度化



これらの研究は土木研究所の共同研究として、上記企業と国研土木研究所、国研農研機構、国研海上・港湾・航空技術研究所 港湾空港技術研究所が連携して実施したものです。