



環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究

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

MiFish法における環境DNA種判別方法の検討

株式会社 建設環境研究所



建設環境研究所

KenKan Consultants Co.,Ltd.

- ✓ 河川水辺の国勢調査の高度化・コスト縮減のために、環境DNAの導入が検討されている。
- ✓ 環境DNAの水国への導入にあたり、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のための調査という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を挙げ、対応を検討する必要がある
- ✓ データ解析における種名確定作業は塩基配列の相動性検索の結果等を元に種同定を行う。
- ✓ 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り調査者間の種同定結果にばらつきが生じる可能性がある。
- ✓ 本研究の目的は、一定の精度を確保しながら、誰が作業をしても、同じ種リストが作成できる手法を検討することである。

- ✓ 本研究では、他マニュアルを参照に、水国調査に環境DNAを導入する際に必要となる事項を検討した。
- ✓ 環境DNA学会『環境DNA調査・実験マニュアル』では、採水、分析の具体的な使用機器や詳細な手順が記されている。
- ✓ 環境省『環境DNA分析技術を用いた調査手法の手引き』では、環境DNAの基礎的な情報、調査計画の立案から、採水、分析、調査結果の判読、分析結果の精査等、環境DNA調査の一連の流れが記されている。
- ✓ H28水国マニュアル（魚類調査編）と同様の流れで環境DNAによる種同定を行う場合は、「河川水辺の国勢調査のための生物リスト」の環境DNA版が必要とってくる。
- ✓ 上記の事例を踏まえて、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作成することとした。

研究の背景と課題



1. 背景

全国109水系・経年的な調査



- ✓ 水国調査：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のための調査
- ✓ 調査の高度化・コスト縮減のために、環境DNAの導入が進められている

2. 課題

- ✓ 種名確定作業は調査者により結果にばらつきが出る可能性

要因

- ・ 近縁種間の識別の判断
- ・ 誤登録配列による誤同定など、



●環境DNA学会『環境DNA調査・実験マニュアル』

→採水、分析の具体的な使用機器や詳細な手順

●環境省『環境DNA分析技術を用いた調査手法の手引き』

→環境DNAの基礎的な情報、調査計画の立案から、採水、分析、調査結果の判読、分析結果の精査等、環境DNA調査の一連の流れ



環境DNA分析技術を用いた調査手法の手引き より

3. 目的

一定の精度を確保しながら、
誰が作業をしても、同じ種リスト
が作成できる手法の検討



4. 方法

本研究では、他マニュアルを参照に、水国調査としての判読や精査の具体的な工程に着目し、以下の2点を作成する。

①種名確定作業のフロー

②MiFish種名リストの素案

環境DNAでも
同じものが必要

4.3 同定

同定にあたっては、国土交通省水管理・国土保全局水情報国土データ管理センターの河川環境データベース(河川水辺の国勢調査)ホームページで公開されている「河川水辺の国勢調査のための生物リスト」に挙げられている「準拠文献」、「調査同定上の留意点」を活用する。種名の表記及び並び順については、「河川水辺の国勢調査のための生物リスト」に従う。なお、「河川水辺の国勢調査のための生物リスト」は、毎年の調査結果を踏まえ更新を行っているため、活用には最新版を確認する。

H28水国マニュアル（魚類調査編）より

水国マニュアルでの記載を想定した種同定フロー(案)

誰が作業をしても、**同じ魚種リスト**を作成できる

【種名リスト作成のポイント1】

高次分類群止めと魚種の名付け方。採捕と合わせて経年リストをつくりやすく、見やすい種名であることを重視

【種名リスト作成のポイント2】

識別可能性のカテゴリー分けを加味したMiFish種名リストの作成。特に、注意を要する種を、**必要以上に分けないことで、注意を要する種を減らして**、全体を効率化、精度を向上

次世代シーケンサー出力結果

凡例

→ 簡易に進める工程

... 専門知識が必要な工程

※魚類の分類や系統地理に関する一定の知識

前処理・相溶性検索

リファレンス配列との一致率

基準となる
一致率以上の配列↓

基準となる一致率以下の配列→

低一致率配列への対応

・除外を基本とするが、将来的にリファレンスが追加された場合には種リストに追加

水国MiFish種名リストとの照合

確定できる種

例：ウグイ、オイカワ、ニゴイ、オオヨシノボリ島

注意を要する種

例：ミナミメダカ、アシシロハゼ等、種

種名リストにない種

例：海水魚や飼育由来の外來魚を想定

環境省誤同定チェックシート
系統樹による確認 等

リファレンスDBとの照合で一致率の一番高い種の照合結果を使用（複数種の場合はすべて示す）

種名確定
(種特定)

例：ウグイ、オイカワ 等

種名確定
(高次分類止め)

例：ニゴイ類、ヨシノボリ類 等

(偽陽性等に関する判断)

魚種リスト

【ポイント1】 高次分類群止めとある種魚種の名付け方。

採捕と合わせて経年リストをつくりやすく、見やすい種名であることを重視

『**河川水辺の国勢調査のためのMiFish種名リスト（仮称）**』を作成する必要がある。

作成の方針案

- ① 魚類水国リストと整合のある種名とする
- ② 採捕調査との比較の際の利便性を重視
- ③ 比較的不慣れな作業者でも精度が高く分類できること

例：ニゴイ属の場合

名付け方	例	メリット	デメリット
A. すべて属止めとする	ニゴイ属	・ 捕獲との整合が容易 ・ 魚類の専門的な知識が少なくても分類が可能	・ 一部の情報が欠落する。この場合、コウライニゴイ/ニゴイ、ズナガニゴイは分けることができる
B. 該当する識別不能な全種を列挙	コウライニゴイ/ニゴイ	・ 情報が欠落することがない	・ 種名が長くなる ・ 捕獲との整合が困難
C. 該当する種をまとめたグループ名をつける	ニゴイ類	・ 種名がシンプルになる ・ 種によっては捕獲と整合する種名となる	・ 内包する情報が種名から読み取れない

→視認性を考慮し**C.** を種名として記載するが、情報の欠落を回避するために**B.** を注釈として記載する

例：ニゴイ類※

※注、ニゴイ類：ニゴイ/コウライニゴイ

【ポイント2】 識別可能性のカテゴリー分けを加味したMiFish種名リストの作成。
注意を要する種を必要以上に分けないことで、注意を要する種を減らして、全体を効率化、精度を向上

【例】

種名確定
(種特定)

- ・ウグイ
- ・カワムツ
- ・タカハヤ

注意を要する
(種特定)

- ・キタノメダカ
- ・ジュウサンウグイ、マルタ
- ・カマツカ
- ・マハゼ、アシシロハゼ

種名確定
(高次分類止め)

- ・フナ類※
- ・ニゴイ類※
- ・アメマス類※

↓
効率化のための種名の工夫

- ・~~ツチフキ~~
- ・~~モツゴ※~~
- ・~~マイワシ※~~
- 等

種内系統を判別しない

- ・~~コイ (野生型)~~
- ・~~コイ (飼育型)~~
- ・~~ツチフキ (在来型)~~
- ・~~ツチフキ (大陸型)~~
- 等

意図的に上位分類群で止める

- ・~~コイ (型不明) ※~~

- ・~~モツゴ/モツゴ属の一種[海外]~~
- ・~~マイワシ/カリフォルニアマイワシ[海外]~~
- 等

国内で生息が未確認の種は除外

ここが増えれば、採捕の種名と並列で扱いやすく、経年比較をする際の取り回しが良くなる

ここが減れば、注意を要する種が減り効率化につながる

河川水辺の国勢調査のためのMiFish種名リスト（仮称）：ハゼ科の一部

No	目	科	属	eDNA種名	注釈あり	注釈	分岐②	分岐①	備考
194	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属	※	※ミミズハゼ属:ミミズハゼ/ミナミミミズハゼ/イドミミズハゼ	高次分類群止め		◎高度な情報。系統樹から、ユウスイミミズハゼ等が分けられる可能性がある
195	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	イドミミズハゼ			種特定		
196	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ類	※	※ミミズハゼ類:ミミズハゼ/ミナミミミズハゼ	高次分類群止め		
197	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	イソミミズハゼ			種特定		
198	スズキ目	ハゼ科	ヒモハゼ属	ヒモハゼ			種特定		
199	スズキ目	ハゼ科	シロウオ属	シロウオ			種特定		
200	スズキ目	ハゼ科	チワラスボ属	チワラスボ			種特定		
201	スズキ目	ハゼ科	チワラスボ属	コガネチワラスボ			種特定		
202	スズキ目	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	スズキ目	ハゼ科	マハゼ属	マハゼ			種特定	注意を要する	●DBの問題で確認が必要な可能性あり。マハゼとアシシロハゼは誤って登録されていることがある。系統樹の作成か、アクセッション番号から「環境省誤同定チェックシート」による確認が必要
204	スズキ目	ハゼ科	マハゼ属	アシシロハゼ			種特定	注意を要する	●DBの問題で確認が必要な可能性あり。マハゼとアシシロハゼは誤って登録されていることがある。系統樹の作成か、アクセッション番号から「環境省誤同定チェックシート」による確認が必要
205	スズキ目	ハゼ科	ボウズハゼ属	ボウズハゼ			種特定		
206	スズキ目	ハゼ科	アベハゼ属	アベハゼ			種特定		
207	スズキ目	ハゼ科	チチブ属	アカオビシマハゼ			種特定	注意を要する	●DBの問題で確認が必要な可能性あり。アカオビシマハゼとシモフリシマハゼは誤って登録されていることがある。系統樹の作成か、アクセッション番号から「環境省誤同定チェックシート」による確認が必要
208	スズキ目	ハゼ科	チチブ属	シモフリシマハゼ			種特定	注意を要する	●DBの問題で確認が必要な可能性あり。アカオビシマハゼとシモフリシマハゼは誤って登録されていることがある。系統樹の作成か、アクセッション番号から「環境省誤同定チェックシート」による確認が必要
209	スズキ目	ハゼ科	チチブ属	チチブ類	※	※チチブ類:チチブ/ヌマチチブ/ナガノゴリ	高次分類群止め		

トップヒットの魚種からの判断例

※赤枠箇所の種名で判断

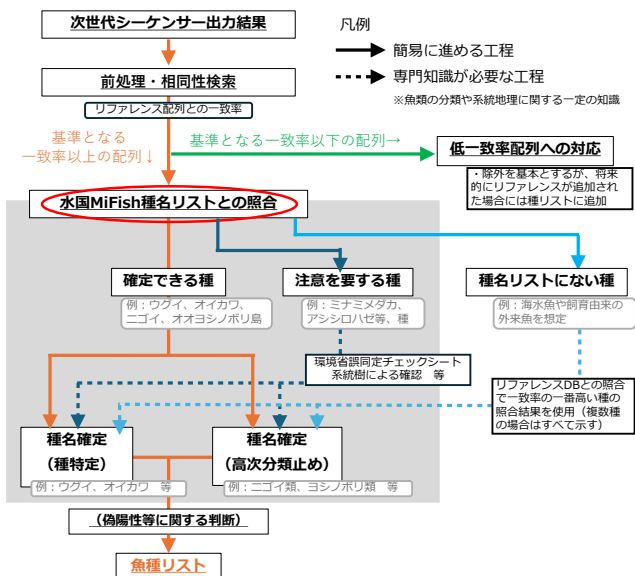
- ・シロウオ →シロウオで確定
- ・ミナミトビハゼ →トビハゼ属で確定
- ・アカオビシマハゼ →注意を要する種なので、チェックが必要

研究結果のまとめ



- ✓ 水国マニュアルでの記載を想定した種同定フロー（案）および、「河川水辺の国勢調査のためのMiFish種名リスト（仮称）」を作成した。
- ✓ 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」、で分けることで、同一の魚種リストを出せると考えられる。
- ✓ 低一致率への対応、種名リストにない種への対応等、フローを適応する上で想定される事項と対処方法について検討して、フローに組み込んだ。
- ✓ 今後の課題として、種名リストの具体的な種名の妥当性や、スクリーニングを行う事項についての検討が必要と考えられる。

水国マニュアルでの記載を想定した種同定フロー(案)



河川水辺の国勢調査のためのMiFish種名リスト（仮称）：

ハゼ科の一部

No	目	科	属	eDNA属名	注釈あり	注釈	分岐②	分岐①	備考
194	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属	※	※ミミズハゼ属、ミミズハゼ/ミナミミミズハゼ/イダミミズハ	高次分類群止め		◎高度な情報。系統樹から、ユウスイミミズハゼ等が分けられる可能性がある
195	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属	※	※ミミズハゼ属、ミミズハゼ/ミナミミミズハゼ	種特定		
196	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属	※	※ミミズハゼ属、ミミズハゼ/ミナミミミズハゼ	高次分類群止め		
197	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属			種特定		
198	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属			種特定		
199	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属			種特定		
200	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属			種特定		
201	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属			種特定		
202	スズキ目	ハゼ科	ミミズハゼ属	ミミズハゼ属	※	※ミミズハゼ属、ミミズハゼ/ミナミミミズハゼ	高次分類群止め		
203	スズキ目	ハゼ科	マハゼ属	マハゼ			種特定	注意を要する	◎DBの問題で確認が必要な可能性あり。マハゼとアシシロハゼは混って登録されていることがある。系統樹の作成か、アクセッション番号から「環境省調定チェックシート」による確認が必要
204	スズキ目	ハゼ科	マハゼ属	アシシロハゼ			種特定	注意を要する	◎DBの問題で確認が必要な可能性あり。マハゼとアシシロハゼは混って登録されていることがある。系統樹の作成か、アクセッション番号から「環境省調定チェックシート」による確認が必要
205	スズキ目	ハゼ科	ボウズハゼ属	ボウズハゼ			種特定		
206	スズキ目	ハゼ科	アベハゼ属	アベハゼ			種特定		
207	スズキ目	ハゼ科	チチブ属	アカオビシマハゼ			種特定	注意を要する	◎DBの問題で確認が必要な可能性あり。アカオビシマハゼとシモフリシマハゼは混って登録されていることがある。系統樹の作成か、アクセッション番号から「環境省調定チェックシート」による確認が必要
208	スズキ目	ハゼ科	チチブ属	シモフリシマハゼ			種特定	注意を要する	◎DBの問題で確認が必要な可能性あり。アカオビシマハゼとシモフリシマハゼは混って登録されていることがある。系統樹の作成か、アクセッション番号から「環境省調定チェックシート」による確認が必要
209	スズキ目	ハゼ科	チチブ属	チチブ属	※	※チチブ属、チチブ/スマチチブ(ナガゴ)	高次分類群止め		

1. 環境省: MiFish 法に係る誤同定チェックシート,
(https://www.biodic.go.jp/edna/reports/mifish_anphi_tebiki1.pdf) , 2024.
2. 環境省: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,
(https://www.biodic.go.jp/edna/reports/mifish_anphi_tebiki1.pdf) , 2024.
3. 一般社団法人環境DNA学会: 環境 DNA 調査・実験マニュアルVer. 3.0（2024 年 8 月 9 日発行), (<https://ednasociety.org/manual/>) , 2024.