



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2 環境DNAの活用による環境調査の高度化

環境DNAによる陸域の生物相把握の可能性検討

株式会社 建設技術研究所

- ✓ 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、本研究では、陸棲または半水棲の生物相の効率的な把握方法確立するための知見を蓄積することを目的として、農地環境においてサンプルを採取し、環境DNA分析を行った。
- ✓ 本研究にあたっては、農地環境におけるサンプルの取得及び環境DNA分析を通じて、陸域の環境DNAの効率的な採集方法及び採取素材の検討を行った。
- ✓ なお、サンプルの取得にあたっては、農研機構にご協力・ご助言をいただきながら実施した。

研究内容の概要



- ✓ 栃木県上三川町の農耕地を対象として、4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、農道脇の高茎草地）を対象として、ペイントローラー及び塩ビ管を使用したサンプル収集を2回（夏季、秋季）実施した。
- ✓ 秋季調査では、採集素材として粘着テープと綿を使用したほか、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。



対象箇所の環境



採集（ペイントローラー）



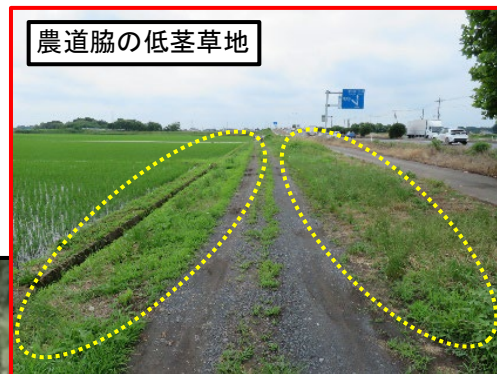
採集（塩ビ管）

対象の範囲

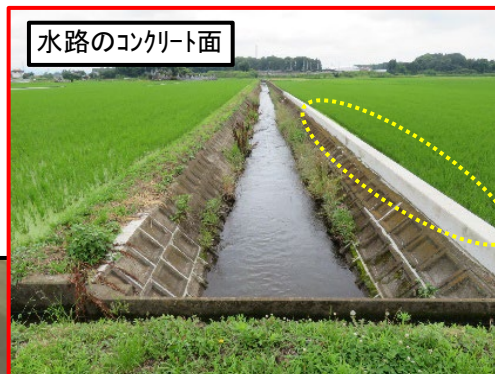


環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究

研究項目2 環境DNAの活用による環境調査の高度化



農道脇の低茎草地



水路のコンクリート面



畔の低茎草地



農道脇の高茎草地

回収機器

ペイントローラー

ガーゼを巻いた塩ビ管

農研機構にフィールドを
ご提供いただきました。

- ・対象地：栃木県上三川町
- ・採集日：2023年9月1日
2023年11月24日

・サンプリング

環境区分：4環境区分（農道脇の低茎草地、畔の低茎草地、水路のコンクリート面、農道脇の高茎草地）

採取素材：ペイントローラー（綿、粘着テープ※）

塩ビ管（綿、粘着テープ※）

※秋季のみ実施

ローラー採取距離：100m×1往復×ローラー幅15cm

⇒30m²

・分析対象分類群：哺乳類、両生類、昆虫類

分類群	ユニバーサルプライマー	出典
哺乳類	MiMammal-U	Ushio et al.2017
両生類	Amph_16S	Sakata et al.2022
昆虫類	MtInsects-16S	Takenaka et al.2023

回収機器	素材	回収環境
ペイントローラー	綿 粘着テープ (秋季のみ)	低茎草地（農道脇、畔）、 水路等のコンクリート面
ガーゼを巻いた塩 ビ管（夏季のみ）	綿	高茎草地



ペイントローラー



塩ビ管

分析の結果



哺乳類

- 夏季、秋季の調査で6目11科20種の哺乳類が検出された。
- 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で見出された。また、コウモリ類も見出された。

No	目	科	種	夏				秋								夏	秋		
				ローラー			塩ビ管 高茎草地	ローラー						塩ビ管					
				低茎草地 (農道脇)	低茎草地 (畔)	コンク リート		低茎草地(農道脇)		低茎草地(畔)		コンクリート		高茎草地					
								綿	粘着 テープ	綿	粘着 テープ	綿	粘着 テープ	綿	粘着 テープ				
1	モグラ(食虫)	トガリネズミ	ジネズミ												135		●	●	
2	コウモリ(翼手)	ヒナコウモリ	ユビナガコウモリ									19			105			●	
3	ウサギ	ウサギ	ノウサギ												35			●	
4	ネズミ(齧歯)	ネズミ	ハタネズミ					145	178			227	118		2,304			●	
5			アカネズミ				57			253	67		543	78		●	●		
6			ヒメネズミ										12				●		
7			カヤネズミ										19				●		
8			ハツカネズミ				3,557	1,815	6,135	4,233	10,395	1,003	19,815	3,435			●	●	
—			ドブネズミ	2,010				235	117		14			136			●	●	
9			クマネズミ属の一種								57	111		163				●	
10			ネコ(食肉)	クマ	ツキノワグマ											41			●
11	アライグマ	アライグマ						26			10	143		541			●		
12	イヌ	タヌキ			77,501	3,167		11,977	4,196	43,077	4,172	16,107	3,745	32,776	3,123		●	●	
13		キツネ					250		42	582				31			●	●	
14		イヌ		4,315	1,788	7,626	24,902	483	6,927	324	10,168	429	741	725	252		●	●	
15	イタチ	テン									866			22				●	
16		ニホンイタチ				2,192			47			17			52		●	●	
17		アナグマ								68		22			30			●	
18	ジャコウネコ	ハクビシン		3,633		5,926	1,952				111		318		320	96		●	●
19	ネコ	ノネコ				2,379	386	2,712	531	4,255	3,452	6,038	40,094		8,443	830		●	●
20	ウシ(偶蹄)	シカ	シカ属の一種									1,192						●	
	6目	11科	20種	3種	2種	5種	4種	4種	10種	9種	5種	13種	8種	19種	6種	9種	20種		

表中の数字はリード数を示す。

分析の結果



両生類

- 夏季、秋季の調査で1目4科7種の両生類が検出された。
- 検出種はすべて、水田で繁殖するカエル類であった。

No	目	科	種	夏						秋						夏	秋
				ローラー			塩ビ管 高茎草地	ローラー				塩ビ管					
				低茎草地 (農道脇)	低茎草地 (畔)	コンクリート		低茎草地(農道脇)		低茎草地(畔)		コンクリート		高茎草地			
				綿	綿	綿		綿	粘着 テープ	綿	粘着 テープ	綿	粘着 テープ	綿	粘着 テープ		
1	無尾	アマガエル	ニホンアマガエル		19	16	225	14		524	17	561	17,608	1,727	4	●	●
2		アカガエル	ニホンアカガエル					16	41			126		91			●
3			ヤマアカガエル											81			●
4			トウキョウダルマガエル	254	1,214		71					111		83		●	●
5			ツチガエル									23					●
6		ヌマガエル	ヌマガエル属の一種		81		153			48				18		●	●
7		アオガエル	シュレーゲルアオガエル				19									●	
	1目	4科	7種	1種	3種	1種	4種	2種	1種	2種	1種	4種	1種	5種	1種	4種	6種

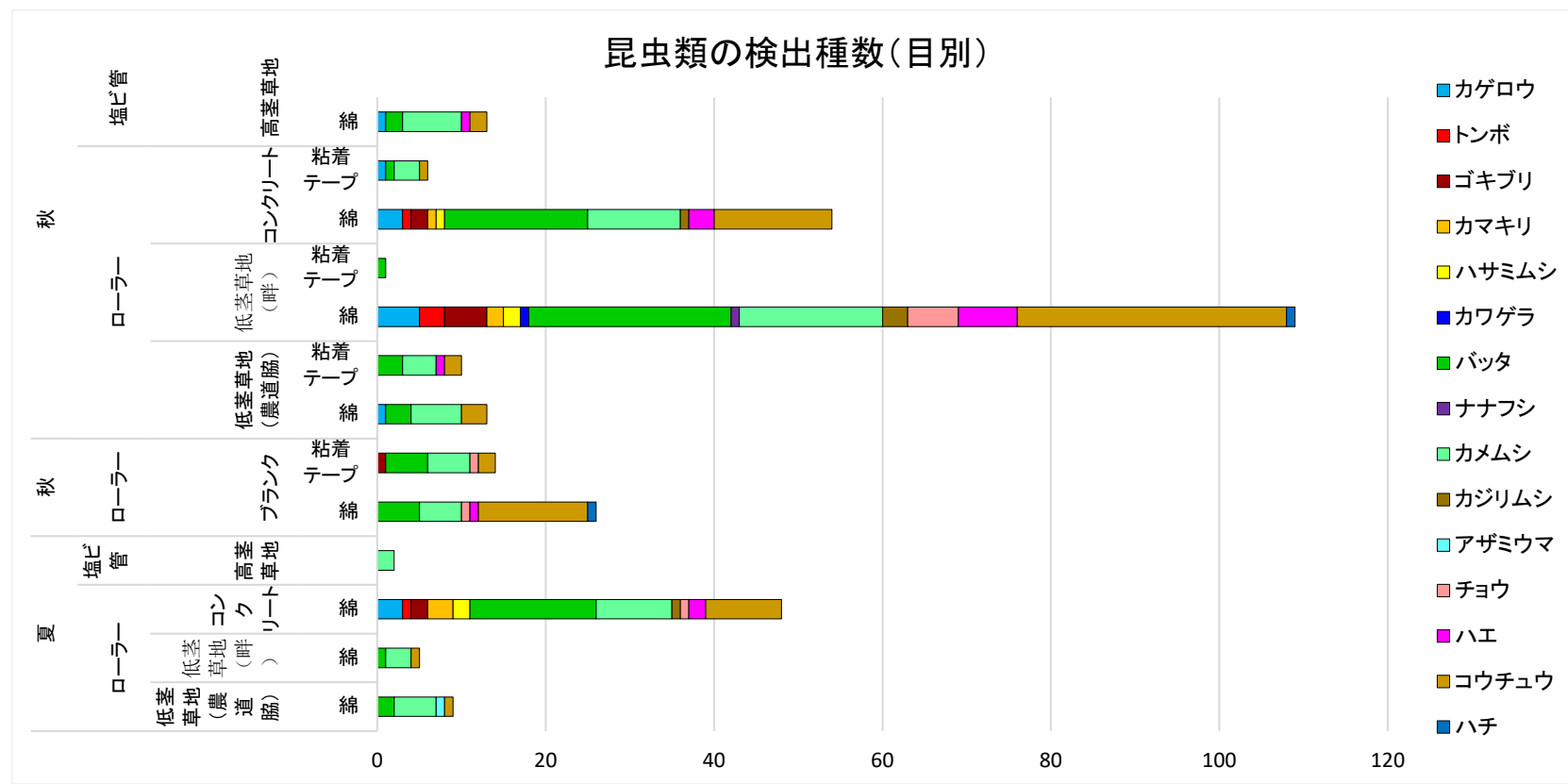
表中の数字はリード数を示す。

分析の結果



昆虫類

- 夏季、秋季の調査で**15目82科149種**の昆虫類が検出された。
- 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。
- 農業害虫（ウンカ類、ヨコバイ類）は夏が7種、秋は4種と夏の検出数が多かった。オサムシ科コウチュウ類は夏は2種、秋は6種と新成虫発生時期である秋の検出数が多かった。



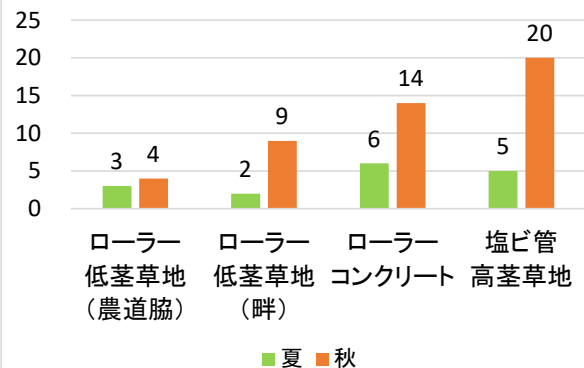
分析の結果



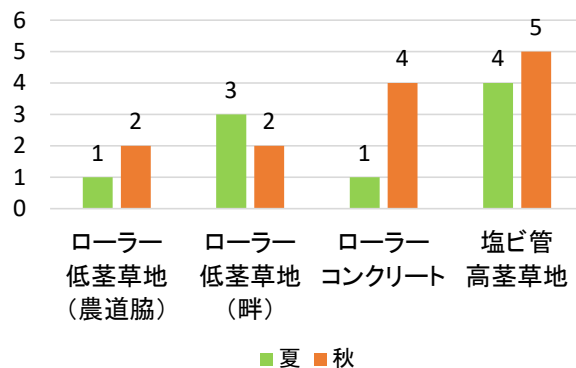
採集箇所、採集素材別の検出種数比較

- ペイントローラー、塩ビ管を用いた採集により、夏季・秋季調査で陸棲生物のDNAが検出された。
- 採集箇所別ではコンクリートの検出数が全体的に多かった。
- 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。

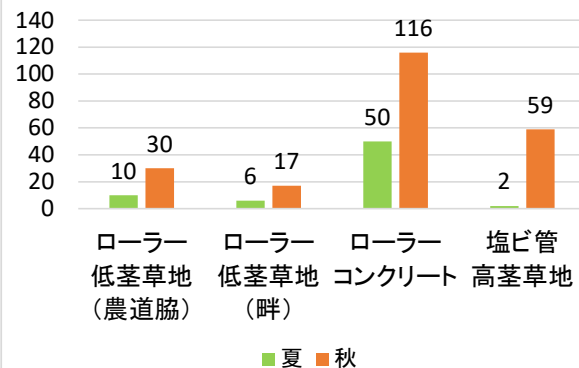
哺乳類確認種数(綿・季節別)



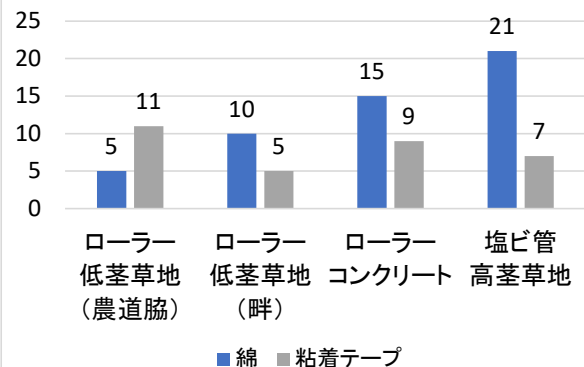
両生類確認種数(綿・季節別)



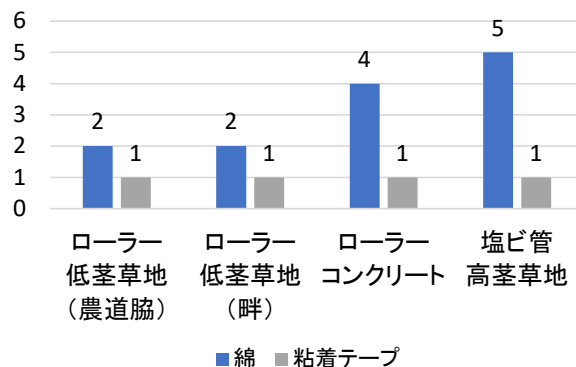
昆虫類確認種数(綿・季節別)



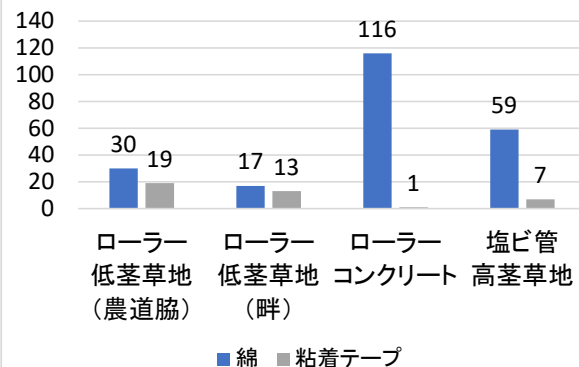
哺乳類確認種数(秋・素材別)



両生類確認種数(秋・素材別)



昆虫類確認種数(秋・素材別)



実際の採集結果との比較（昆虫類）

- 環境DNAによる分析（149種）、既往の農研機構によるセンサス調査による確認種数（99種）、秋季採取時の昆虫網（42種）による確認種を比較した。
- 確認種数は、環境DNAが採集と比べて多かった。
- 3種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。
- 環境DNAで検出された149種のうち、実際に採集履歴のある種は5種であった。

確認種数

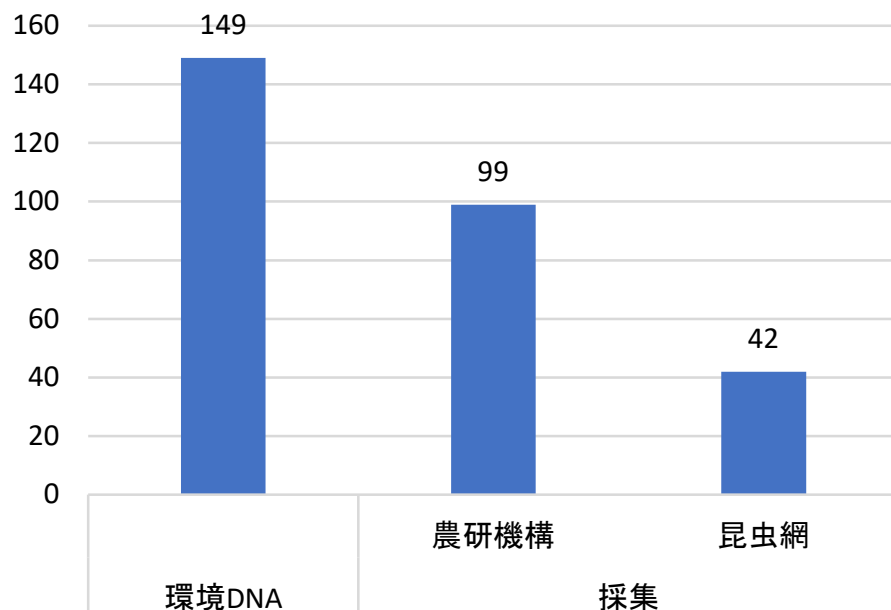


表 複数手法で確認された種

確認種	環境DNA検出	採集	
		農研機構	昆虫網
アワダチソウゲンバイ	●	●	●
オオヨコバイ	●		●
ハネナガイナゴ	●	●	
ヒメトビウンカ	●	●	
ヒメナガカメムシ		●	●
メダカナガカメムシ	●		●

■ : 環境DNAによる検出種

- ペイントローラー、塩ビ管を用いた採集により、夏季・秋季調査で陸棲生物（哺乳類、両生類、昆虫類）の**DNA**が検出できた。
- 昆虫類では、水田や草地に特徴的な種が検出されたほか、時期的な傾向が把握できた。農業害虫（ウンカ類、ヨコバイ類）は夏が**7種**、秋は**4種**と夏の検出数が多かった。オサムシ科コウチュウ類は夏は**2種**、秋は**6種**と新成虫発生時期である秋の検出数が多かった。
- また、昆虫類では、実際の採集結果（農研機構のセンサス調査及び当日実施した昆虫網による採集）で検出された種の**DNA**も一部検出されており、本手法で実際に生息する種が確認された。また、本手法による検出種数は、採集による確認種数を上回っていた。
- 採集手法で採集履歴のある種のうち、環境**DNA**で検出された種は**5種**にとどまっていることから、採集手法を環境**DNA**分析で代替するのではなく、採集手法と本手法による環境**DNA**分析を組み合わせることで調査することにより、より多くの種を検出できると考えられる。

- ✓ 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）での検出数が多い結果となったことから、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、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。
- ✓ 両生類では、場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、複数のプライマーを組み合わせることで網羅的に把握可能な可能性が考えられた。
- ✓ 今後は、更に知見を蓄積することで検証を続けることが望ましい。

1. Yoneya, K., Ushio, M. & Miki, T. :Non-destructive collection and metabarcoding of arthropod environmental DNA remained on a terrestrial plant. Sci Rep 13, 7125, 2023
2. 三木健：野外植物上の動物群集に対する非破壊eDNA回収方法,
<https://sites.google.com/view/ecology-method-portal/experiments/eDNA-on-plant>