

環境 DNA 調査の実用化に関する検討について

環境科学センター

○ 目的

河川・湖沼等の水を採取し、分析することによって、従来の生物の捕獲による調査よりも簡便に生物の生息状況を知ることができる環境 DNA 調査(環境 DNA の原理や特徴については別紙参照)について、河川の流域における動植物等調査(以下、「専門家調査」という。)の代替・補完や県民調査への導入を実現するため、引き続き技術開発に取り組む。

また、環境 DNA 調査手法が日進月歩である現状を踏まえ、最新の知見を踏まえた調査手法開発にも取り組む。

○ これまでの取組

<平成 30 年度実施>

- ・ 試行的な調査として相模川水系の一部の調査地点についてサンショウウオ類調査と同時に環境 DNA 調査を実施し、採捕調査と結果を比較した。

<令和元年度実施中>

- ・ 相模川水系、酒匂川水系における生物採捕調査(サンショウウオ類及び魚類)と同時(相模川水系は昨年度採水済み)に環境 DNA 調査を実施することにより、採捕調査との結果の比較を行う。
- ・ カワネズミについては、溪流環境に生息する希少種であり、サンショウウオ類調査地点における環境 DNA の存在について、試行的に調査を実施する。
- ・ サンショウウオ類については、採水時刻や採水季節による検出率の変化の把握、放出された環境 DNA の河川での到達距離等に関する調査を実施することにより最適なサンプリング条件を決定する。
- ・ 底生動物については過去の研究等で発表された、いくつかのユニバーサルプライマー(DNA の特定部位を増幅するための起点となるもの)を用いて多くの生物種を把握するための調査を試行的に実施し、適切に DNA を増幅し、種を同定できるようにする。

○ 現在実施中の生物調査

<専門家調査>

- ・ 相模川水系及び酒匂川水系の各 40 地点において、動植物調査(底生動物やサンショウウオ類を含む両生類、魚類等/夏季・冬季の年 2 回)、水質調査

(BOD、窒素・リン等／毎月1回)、河床材料(川幅・河床構成材料の粒径等)を5年ごとに調査(相模川水系が平成20年度、酒匂川水系が平成21年度に1回目の調査を開始)。

<県民調査>

- ・ 県民調査は参加者に水源事業の普及啓発を行うこと及び専門家調査を空間的・時間的に補完するための調査を実施することを目的としており、毎年度ボランティアの調査員を募集し、調査を実施している。
- ・ 調査内容は主に水質との関連が深い底生動物を主体として両生類、魚類、鳥類等について捕獲または目視による調査を実施している。

○ 課題

<専門家調査のサンショウウオ類調査について>

- ・ サンショウウオ類については、森林の荒廃が生息に悪影響を与えている可能性が指摘されており、森林整備の効果を評価するためには長期的に継続して調査を実施するために省力かつ低廉に調査ができる体制を整備する必要がある。
- ・ サンショウウオ類は県のレッドデータブックに記載されている希少種であるが、調査にあたっては礫を裏返したり、河床を足でかき回したりする必要があり、少なからず生息域の攪乱を引き起こしてしまう。
- ・ サンショウウオ類は河川の源流域の礫下や淵等に生息しているが、調査に従事する調査者の技量によっては生息していたとしても捕獲できない可能性がある。これについては実際に平成30年度の相模川でのサンショウウオ類調査結果をサンショウウオ類調査の専門家に確認してもらったところ、想定されている生息域で捕獲されていないところがあるのではないかと指摘を受けている。

<県民調査について>

- ・ 現状の捕獲による生物調査では、専門家調査を補完できる有用なデータ(以下「補完データ」という。)を得るにはある程度の調査経験が必要なことがわかってきており、経験の少ない新規の調査員でも補完データを得るための調査方法が提供できていない。

<環境DNA調査について>

- ・ 種網羅的な調査手法(一度に多くの種の存在を調べる環境DNAの調査手法の一つ)については淡水魚類についてはほぼ確立されているものの、水生昆虫を主体とした底生動物についてはDNAのデータベース整備率が低く、対象とするDNAの領域もスタンダードとされているものはなく、調査手法が確立されていない。一方で、県民調査では従来から水質と関連の深い分類群

である底生動物を主な調査対象としてきており、環境 DNA 調査を県民調査に導入するにあたっては、底生動物を種網羅的に調査する手法を確立することが必要となる。

○ 環境 DNA 調査実用化の必要性について

- ・ 専門家調査でのサンショウウオ類の調査については上記に記載の通りいくつかの課題を抱えており、環境 DNA 調査を導入することによりそれらの課題を解決できる可能性がある。
- ・ 県民調査については、現状の捕獲による調査では、経験年数の長い調査員に頼る形になってしまっており、補完データがまだまだ少ない状態にある。底生動物の調査手法を確立し、すでに確立されている魚類も含めた環境 DNA 調査に多くの調査員に実施してもらえれば、補完データを大量に増やすことが期待され、将来的には専門家調査の一部代替につなげていける可能性もある。
- ・ また、課題には挙げていないが、環境 DNA は初めて報告されたのが、10 年ほど前と比較的新しく、その技術についても日進月歩であることから、本県で環境 DNA 調査を実用化するにあたっては最新の知見を踏まえた効果的な調査手法についても検討する必要がある。
- ・ なお、環境 DNA 技術の実用化については第 3 期の 5 か年計画時には入っていなかったが、その理由としては大型の水生生物の環境 DNA の存在が初めて報告されたのが約 10 年前と比較的新しく、日本で環境 DNA 技術を本格的に生物調査に導入され始めたのがここ数年のことであり、第 3 期の計画策定時には盛り込むことができなかったものである
- ・ ただ、環境 DNA を用いた生物調査の有用性は近年高く評価されており、すでに環境省では希少種調査等への活用に向けて検討が行われているところであり、本県でも実用化ができれば専門家調査の費用低減や県民調査の精度向上・補完データ数の増加が期待できることから今回提案を行った。

○ 令和 2 年度実施内容案

以上のことから、令和 2 年度について次のような取り組みを実施する。

- ・ センター内でのサンショウウオ類の環境 DNA 調査体制の整備
サンショウウオ類の環境 DNA 調査については当センター内で分析できる体制を整備し、令和 3 年度以降次のような調査を検討する。
 - 丹沢山地での広域的なスクリーニング調査による専門家調査地点の絞り込み
 - 水源林整備箇所と連動した重点的な調査の実施

- 底生動物の種網羅的な環境 DNA 調査導入のためのデータベース整備及び分類群別ユニバーサルプライマーの開発

底生動物の種網羅的な調査手法について、令和元年度に対象とする DNA バーコード領域を決定するための試行調査を実施しているところである。そのため、令和 2 年度は当該領域について、現在のデータベースには記載されておらず、県の過去の専門家調査で確認された種(トビケラ目、カワゲラ目、カゲロウ目を中心に約 70 種程度)及び専門家によるデータベースの見直しにより再度配列を決定したほうが良いと判断された種を対象として、概ね 100 種程度について DNA 配列を決定する。それらのデータベースを用いて河川試料での底生動物の検出率を検証するとともに、分類群別(例えばトビケラ目のみ)に特化したユニバーサルプライマーの開発も視野にいれ、取り組んでいく。

データベースづくり及び河川試料での検証、ユニバーサルプライマー開発への挑戦については、令和 2 年度ではほぼ完了する予定としており、令和 3 年度については令和 2 年度に DNA 抽出用の生体を確保できなかった種について配列決定をするなどの補完的な作業と県民調査への試行的な導入を行う予定である。

- 環境 DNA 技術の最新知見を踏まえた効果的な環境 DNA 調査計画への助言及び調査上の課題の解決手法の提案

環境 DNA の専門家に、過去の採捕調査結果と最新の環境 DNA 技術を踏まえ、水源事業の効果を検証できる総合的な環境 DNA 調査計画への助言や調査上の課題(例えば偽陰性(生息している生物の DNA が採取できなかった時)の問題)の解決手法等の提案を依頼する。

環境 DNA 調査の実用化に向けた今後のスケジュール

年度 対象	第 3 期		第 4 期
	R2	R3	R4
サンショウウオ類	<p>センター内での 分析体制の整備</p> <p>調査計画の策定</p>	<p>丹沢山地の広域的なスクリーニング調査</p> <p>水源林整備箇所と連動した 重点的な調査の実施</p>	
底生動物	<p>底生動物の DNA データ ベースの構築</p> <p>河川試料での底生動物検 出率の検証</p> <p>構築した DNA データベ ースを基にした分類群 別ユニバーサルプライ マーの開発</p>	<p>DNA データベースの補 完作業</p> <p>県民調査への試行的導 入・結果の検証</p>	<p>県民調査への 本格導入</p>
環境 DNA 技術全般	<p>環境 DNA 調査計画へ の助言及び調査上の課 題の解決手法の提案</p>		

環境DNA (eDNA) 動植物の排泄物、組織片などに由来する水中に存在するDNA断片

1リットルの水から、環境DNAを調べることで

環境DNAの**有無**から**生物**の存在を推定

環境DNAの**量**から**生物量**を推定

1リットル



2008年

フランスの研究チームがウシガエルの生体外DNAを検出

2011年

日本でも環境DNAの研究が本格化

2019年現在

水環境に生息する様々な生物について、環境DNAが検出できることが明らかになってきた。

+ 様々な水環境で検出可能

魚類

湖沼

両生類

河川

軟体動物

海

甲殻類

底質

水生植物

又々場

水生昆虫

ほ乳類



✓ **捕獲調査と比べて優れているところ**

- **生息域を攪乱することなく調査が可能**
- **調査者の技量による結果への影響が少ない**
- **水を汲むだけなので安全に調査が可能**
- **河川の状態によっては捕獲調査よりも広い範囲の生息状況をより正確に知ることができる**