

溪流環境の保全に向けた環境調査における環境 DNA 調査の有効性の検証

株式会社建設技術研究所 ○杉浦岳・鈴木昭彦・遠藤慎一・堀田大貴・澤樹征司

1. 背景および目的

環境 DNA 分析を活用した調査事例が増える中、対象とする生物も多様化しつつある。本事例では渓流域における両生類および哺乳類の環境 DNA 調査の有効性を検証するため、山間地を流れる河川の主流路へ流入する沢を主な対象とし、両生類の網羅解析およびカワネズミを対象とした種特異分析を実施した。その結果、小型サンショウウオ類、カエル類、カワネズミが検出された。同時に実施した任意採捕の結果と比較して環境 DNA 調査の実用性を検証したので報告する。

2. 環境 DNA 調査の有効性の検証

静岡県中央部に位置する本調査地域は、山間地にあたり地形が急峻で主流路へ流入する沢は溪流環境となっている。砂防施設は山間部の溪流に設置される場合が多く、砂防事業の計画策定および事業実施にあたっては、自然環境へ配慮するため生物の生息・生育環境の把握のための環境調査が実施される。近年、環境 DNA 調査の技術が進み、さまざまな環境調査に用いられる事例が増えており、調査の効率化が期待される環境 DNA 調査の有効性を検証した。

2.1 環境 DNA 調査の概要

環境 DNA は生物から環境中に放出された遺伝物質の総称で、環境 DNA 調査は水中や土壌中に存在する細胞片等の遺伝情報を読み取り生物の生息を推定するものである。

2.2 現地における環境 DNA 調査および採捕調査の概要

調査対象は、既往の採捕調査で生息が確認されていたが近年確認されていないカワネズミや、ヒガシヒダサンショウウオ等の両生類とした。

カワネズミ調査の概要を表 1 に示す。採捕調査ではカゴ罠を 1 地点あたり 10 箇所 1 晩設置した。環境 DNA 調査は種特異分析とし、調査時期は春に産まれた個体の確認と秋の繁殖期を踏まえ春季～夏季と秋季とした。

表 1 カワネズミの調査概要

区分	採捕調査	環境 DNA 調査
調査方法	カゴ罠による採捕 (10 箇所 / 1 地点、1 晩)	採水、種特異分析
調査時期	夏季、秋季	
調査地点数	主流路へ流入する沢 4 地点	

両生類調査の概要を表 2 に示す。調査方法はタモ網等による採捕とし、環境 DNA 調査は両生類の網羅解析とし

た。調査時期は、多くの両生類の繁殖期にあたる早春季とした。

表 2 両生類の調査概要

区分	採捕調査	環境 DNA 調査
調査方法	タモ網等による採捕	採水、両生類の網羅解析 (プライマー情報 : DOI:10.3897/mbmg.6.76534)
調査時期	早春季	
調査地点	主流路へ流入する沢 6 地点	

2.3 環境 DNA 調査の有効性の検討

カワネズミ調査結果を表 3 に示す。令和 3 年度のカワネズミ調査では、採捕調査で 1 地点 1 個体を、環境 DNA 調査において 3 地点で生息を確認した。環境 DNA 調査では採捕調査で確認できなかった 3 地点で生息を確認した。これらの地点は平成 13 年度および平成 18 年度調査で確認された地点であった。カワネズミは小型で夜行性であるため確認が困難な種であることから、採捕調査と合わせて環境 DNA 調査を実施することで、生息確認の頻度を上げることができると考えられる。

表 3 カワネズミ調査結果

地点	地点1	地点2	地点3	地点4
H13	採捕	1	0	0
H18	採捕	2	0	1
H28	採捕	0	0	0
R3	採捕	0	1	0
	環境DNA	○	—	○

注1) 採捕調査は個体数を示す

注2) 環境DNA ○:検出 —:未検出



図 1 カワネズミの確認状況

両生類調査結果を表 4 に示す。令和 3 年度の両生類調査では、採捕調査で個体が確認されたのはアカイシサンショウウオ、ヤマアカガエル、ツチガエルの 3 種であった。環境 DNA 調査で確認されたのは、ヒガシヒダサンショウウオ、ナガレタゴガエル、ネバタゴガエル、ヤマア

カガエルの4種であった。このうち、ヒガシヒダサンショウウオ、ナガレタゴガエル、ネバタゴガエルは環境DNA調査のみで生息が確認された。

ヒガシヒダサンショウウオとナガレタゴガエルは、過年度調査で確認頻度が少なく、生息数が少ないことから採捕に至らなかった可能性がある。一方で、これら2種は環境DNA調査で検出されており、生息数の少ない場合でも環境DNAでは生息の有無を推定できる可能性が示唆された。

アカイシサンショウウオの生態は不明な点が多く、本調査では環境DNA調査と同時期に林道脇の落ち葉溜まりで個体が確認されており、水域に生息する時期でなかったことから、環境DNAによる検出に至らなかったと考えられる。ヤマアカガエルは過年度調査で確認頻度が比較的高く生息数が多いことが推察され、採捕確認・環境DNA検出に至ったと考えられる。ネバタゴガエルとツチガエルも生息数が多いと推察されるが、冬眠時期にあたり採捕確認もしくは環境DNA検出のみとなった可能性が考えられる。

表4 両生類調査結果

種名	R3調査	
	採捕	環境DNA
アカイシサンショウウオ	○	
ヒガシヒダサンショウウオ		○
ナガレタゴガエル		○
ネバタゴガエル		○
ヤマアカガエル	○	○
ツチガエル	○	
6種	3種	4種



図2 環境DNAで両生類が検出された地点

3. 環境DNAを用いた両生類の調査の事例

環境DNAを用いた両生類の調査事例を表5に示す。魚類については分析手法が整備され、さまざまな調査に使われている。両生類についても環境DNA分析手法の確立が進められており、Sakata et al. (2022) の報告ではオープンデータベースから両生類のDNAを網羅的に増幅できるような分析系を設計し、野外モニタリングにより開発した分析系の有効性を検証している。

表5 環境DNAを用いた両生類の調査事例

分類	事例
生息調査 (農林水産省資料)	<p>目的: 農業農村整備事業の実施にあたり、調査やモニタリングの新しい調査手法として環境DNA分析技術の有用性と課題を検証</p> <p>実証調査期間: 令和元年度～3年度</p> <p>調査箇所: 全国10地区の農業水路等</p> <p>調査結果: 両生類の検出率(採捕調査に占める環境DNA調査の確認種数)の全国平均は、かんがい期で58～75%であり、冬眠時期の検出率が低下した。また環境DNA調査の確認種数は、採捕調査と同程度もしくは多くなっており、環境DNA調査は地域の生物相を網羅的に把握する新たな調査手法として期待できた。</p>
調査手法 (神奈川県資料)	<p>目的: サンショウウオの調査手法の開発</p> <p>調査期間: 令和2年～3年</p> <p>調査箇所: 酒匂川水系</p> <p>調査結果: 環境DNA分析の検出精度向上のため、ろ過水量を1Lから10Lに増やすことは有効であった。ヒダサンショウウオについては成体が河川に存在する時期には検出率が向上した。</p>

4. まとめと今後の課題

生息密度が低く確認が困難な重要種を対象とした調査では、従来の採捕調査と環境DNA調査を併用することで、確認頻度を上げられることが明らかとなった。また、環境DNA調査により調査の効率化を図ることができると考えられる。一方で、採捕調査のみの確認種もあり、対象種の生態的特性に応じてさらなる技術的な改良が必要であることもわかった。

Sakata et al. (2022) で報告されているように両生類を網羅的に把握する分析手法は開発途上にあることから、最新の情報を取得しつつ、分析手法の有効性を確認するとともにデータを蓄積することにより、環境DNA調査の信頼性向上が図られると考えられる。

参考文献

- 1) 静岡県くらし・環境部環境局自然保護課：まもりたい静岡県の野生生物 2019 静岡県レッドデータブック<動物編> (2019)
- 2) Sakata, Masayuki K., Kawata, Mone U., Kurabayashi, Atsushi, Kurita, Takaki, Nakamura, Masatoshi, Shirako, Tomoyasu, Kakehashi, Ryosuke., Kabamoto, Junichi, Miya, Masaki., & Minamoto, Toshifumi (2022) : Development and evaluation of PCR primers for environmental DNA(eDNA) metabarcoding of Amphibia
- 3) 農林水産省：農業水路系における生物多様性保全のための技法と留意事項
https://www.maff.go.jp/nousin/kankyo/kankyo_hozen/attach/pdf/index-24.pdf
- 4) 神奈川県環境科学センター：神奈川県環境科学センター研究報告 No.45 (2022)