

河川水辺の国勢調査への環境DNA導入に向けた取組み

村岡敬子・菅野一輝・篠原隆佑・天羽 淳・中村圭吾

1. はじめに

河川水などに含まれる生物の組織片のDNAから生物情報を得る“環境DNA”を使った調査は、生物を直接捕らえる必要が無いため、これまでの生物調査に対して現地調査の負担を大幅に低減することができる。国土交通省が、全国109水系の河川およびダムを対象に5年に一度行っている河川水辺の国勢調査の魚類調査（以降「水国調査」という。）では、各水系であらかじめ定められた調査地区において定置網・投網・たも網などの漁具を用いた調査（以降「直接採捕」という。）を行っている。これまで直接採捕によって調査を行ってきた水国調査に環境DNAを活用することで、調査の効率化・高度化を図ることが期待される一方で、過去30年間の調査データの積み重ねがある水国調査に環境DNA調査技術を導入するにあたっては、互いの特徴を明らかとしたうえで、導入方法を検討することが必要である。

そこで、国土交通省では、水国調査への環境DNA調査技術の実装を視野に、令和元年度より“水国テーマ調査”を展開しており、この中で土木研究所は研究・開発を分担している。本報文では、これまでの知見を踏まえ、河川では検証段階に入った採水地点に関する事項や具体的な導入方法を検討していく中で得られた事項、および調査の効率化や精度向上に向けた取り組みで得られた情報と報告する。

2. 水国調査のための採水地点の検討

2.1 水国調査地区の特性と環境DNA

環境DNAサンプルは、現地で採水瓶に直接採水されることが多い。その採水瓶の中に、上流に生息する生物の組織片が入るかどうかは現地の流況や生物の行動などに左右される。環境中の組織片の偏りが大きいほど、精度の良い調査結果を得るための採水地点数や採水量は増加し、その規模

はその後の分析費用に跳ね返る。そのため、良好な結果を最小限のサンプル数で得るための検討が重要である。

水国調査地区の下流側の1サンプルが、当該調査地区の直接採捕で確認された魚類相を検出できた割合（以降「検出率」という。）を、汽水域、汽水域を除く河川（以降「河川」という。）、ダム湖で比較したところ、河川の検出率は他の2群に対して有意に高く、ばらつきも小さい結果が得られた(図-1)。一定方向の流れがある河川に比べ、汽水域とダム湖の流れは複雑、あるいは河川に比べて流れが緩やかなため、地点によって組織片の片寄りが生じやすいと推定される。また、水国調査の直接採捕では、定置網や刺し網といった仕掛けを1昼夜設置するため、汽水域の直接採捕による魚類相は潮の干満を反映したものとなっているのに対し、本調査では順流時の1回のみ採水しているため、潮によって変化する魚類相を十分にとることができるできなかったと考えられる。

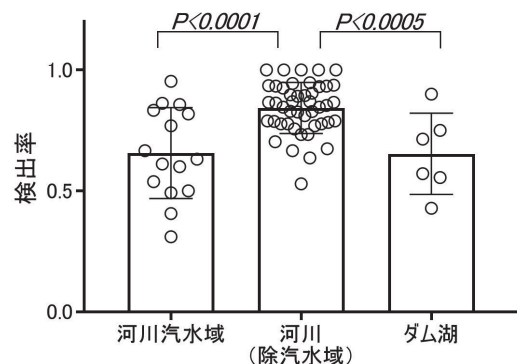


図-1 調査地区の特性と検出率
(令和2年度水国テーマ調査)

2.2 河川における採水地点の基本配置案

河川には、瀬、淵、早瀬が、その周辺には、ワンド、たまり、クリークといった様々な環境区分があり、それぞれの環境を好む魚種も存在する。河川水辺の国勢調査では、これらの環境区分ごとに直接採捕を行うことで魚類リストを得ている。環境DNA調査においてもこれら多様な環境から浮遊、流下してくる組織片を捉えるためのサンプ

リング方法について検討した。

(1) 環境区分と検出傾向

水国調査地区の下流側1地点での環境DNA調査によって得られた魚類リストと、当該地区の直接採捕の結果を比較し、検出できなかった種を整理すると、その特徴として、「水際の植生帯などを利用する種や、小型の底生魚といった河道内を活発に移動しないタイプの魚種」、「ワンドやクリークといった河川との水の連続性が乏しい水域に生息する魚種」が該当した。河川規模の大きい直轄河川では流路が広く1地点の採水では調査地区全体の魚の組織片を捉えられないこと、水量が多く小型魚種の組織片濃度が低くなりやすいこと、さらにワンドなど本川との水の連続性が乏しい水域にいる生物の組織片は河川側での採水では採取しにくいことなどが要因と考えられる。

(2) 地区内の採水地点数

水国調査地区内の必要採水地点数を検討するために、多地点採水調査を実施した雲出川のデータを用いて、地区内の採水地点をランダムに1～16地点抽出し、それぞれの組み合わせによる環境DNA検出率を比較した（図-2）。採水地点数の増加に伴い検出率もまた上昇するが、その勾配は、5地点前後で鈍化する傾向がみられ、その時の検出率は、汽水域を除き90%程度となった。

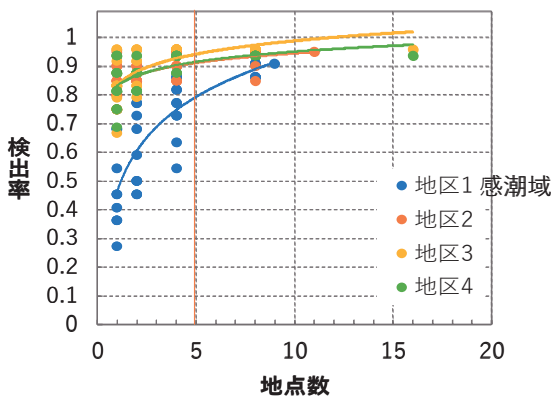


図-2 水国調査地区内の採水地点数と検出率
(令和2年度水国テーマ調査 雲出川)

(3) 採水地点の配置

採水地点の配置との検出率を比較すると、調査地点数が多いほど検出率は高くなる傾向がある中で、“下流兩岸”の採水は採水地点が2地点であるにも関わらず、直接採捕を実施する各環境区分に採水地点を設けた”環境区分(2～6地点/地区)

地区)”と同程度の検出率を示した。(図-3)。さらに、ばらつきも小さい下流兩岸は、効率的に安定した検出結果を得られる採水地点と考えられた。

以上の結果から、河川の環境DNA調査では、効率的でばらつきが小さい調査地点である地区の下流2地点を基本とし、河川側での採水では検出率が低いワンド・たまりやクリークなどがある場合はこれを採水地点に加えること、1地区あたり5地点程度の採水地点を設定することが良いと考えられた。これを採水地点の基本配置案とし、令和3年度に、15水系の水国調査に合わせた水国テーマ調査を通じ検証を行っている。

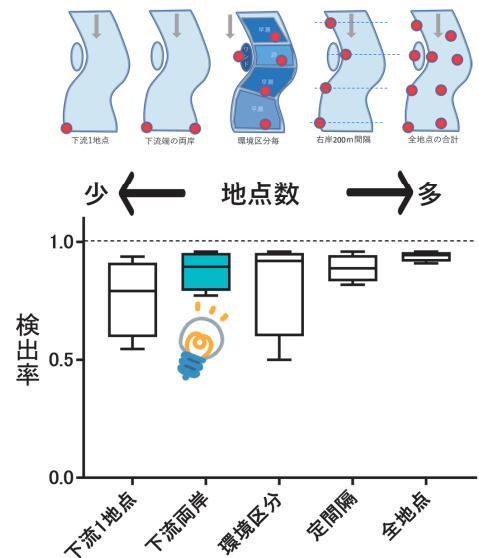


図-3 採水地点の配置と環境DNA検出率
(令和2年度水国テーマ調査 雲出川)

2.3 水面幅と兩岸採水

前述の通り、調査地区下流端の兩岸に設定することで、効率的に調査地区内の魚類相が把握できることが示された。一方で、例えばダムの上流河川のように、水量が少なく水面幅も狭い河川では、片岸の採水で当該地区の魚類相を十分に反映できる可能性があり、採水地点を下流端兩岸から下流端片岸とすることで、分析サンプル数を減らしても同等の結果を得ることが期待できる。左岸と右岸の検出結果の違いには、水面幅だけでなく、流速、乱れ、流路の複雑さ、生息する魚類相など様々な要因が関わると考えられることから、令和3年度に22水系181地区を対象に、採水時の水面幅などの情報も合わせて収集し、整理を進めているところである。

このうち、13河川70地区の分析結果を用いて、

環境DNA調査による魚類の検出状況と水面幅の関係を整理した(図-4)。本稿では、確認種の多い側を主岸、少ない側を副岸として、双方の確認種数の差をみたところ、水面幅約60mから増加する傾向がみられた。また、片岸のみの採水で欠落する種数は、主岸で平均3.4種、副岸で平均7.2種だった。これらの結果から、水面幅60m以上の調査地区では両岸での採水が望ましく、片岸での採水に限られる場合は、種数が多くなることが期待される岸を選択して採水することで、欠落する種数を最小化できることが示された。

一方、片岸採水では60m未満で平均2.5種、60m以上では平均6.3種の情報が欠落している。欠落する種数を最小とし、片岸採水を可能とするための条件については、分析地区数を増やし、水面幅、地区の河床勾配や河川形態などの条件も加味しながら検討を行う予定である。

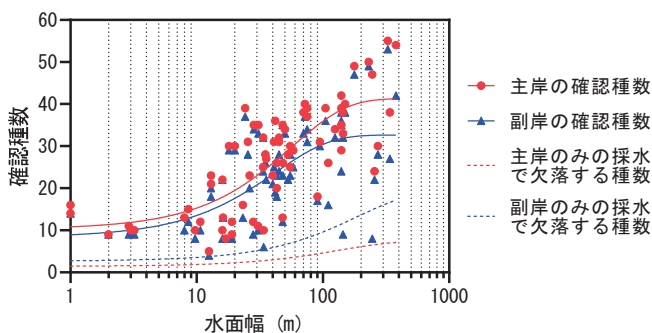


図-4 主岸・副岸別の魚類検出種数と水面幅の関係
(令和3年度水国テーマ調査)

各地区の左右岸のうち、確認種数が多い側を主岸、少ない側を副岸としている

2.4 ダム湖と汽水域の採水地点

(1) ダム湖

ダム湖内の全調査地区における直接採捕確認種に対する検出率は、河川流入部付近の採水地点において湖内の他の地区よりも高かった。また、流入部付近を除くダム湖岸でのみ採捕される種は検出にくい傾向が得られた。ダム湖内は河川に比べて流速が小さいだけでなく、魚が利用しやすい水際植生帯などの環境が局所的に存在していることも多く、組織片が偏在していると考えられる。ダム湖の規模や形状、ハビタット分布なども踏まえながら、個別の最適化の検討が必要である。

(2) 汽水域

汽水域では、利根川における調査によって潮位の変化に応じた採水を行うことが望ましいとの知見が得られている²⁾。また、河川規模は小さいながらも、汽水域では横断方向に組織片が拡散しにくいとの調査結果もあり³⁾、時系列的に変化する汽水域の流況を踏まえた採水地点の検討が必要と考えられる。汽水域の環境や流況は多様であることから、令和4年度のテーマ調査並びに令和4年度から開始する土木研究所の新規研究課題として引き続き検討を行っている。

3. 導入に向けたその他の検討

3.1 具体的な導入方法について

これまでの検討では、環境DNA調査で直接採捕と同様な生物情報を得ることができるかを検証してきた。今後具体的な導入方法を検討する場合には、直接採捕との組み合わせや調査時期の最適化など検討すべき項目は多い。

例えば、本川の環境DNAでは検出にくい水際やワンド・たまりの魚類を、タモ網・サデ網で採取し、調査地区最下流端両岸の環境DNA調査と組み合わせると、同年当該地区の直接採捕確認種に対して85～100%（平均94%）の高い検出率を得る（図-5）。さらに、小型の魚類や稚魚を採取しやすいタモ網、サデ網との併用により、環境DNAでは捉えることが難しい再生産に関わる情報も得ることができる。

このように、導入方法の検討にあたっては、直接採捕、環境DNA調査双方のメリットを活かした最適な導入方法を、データの連続性、経済性双方を考慮しながら検討を進めている。

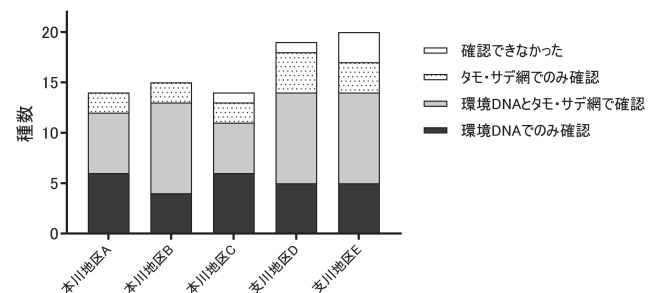


図-5 環境DNAと直接採捕の組み合わせの検討
(令和2年度水国テーマ調査 神通川)

3.2 最適なサンプリング時期

環境DNA調査で検出される種の経月変化の知

見は、調査回数・時期の選定や調査結果の生態的な解釈にあたり重要な情報である。また、水系によっては、代掻き期等で濁りの多い水が河川に流れ込むことで、調査に適さない月があることも想定される。そこで、21水系を対象に、水質調査に合わせて水サンプルの提供を受け、分析を進めている。

このうち、那珂川水系4地点8回の環境DNA調査の結果では、計75種が検出された(図-6)。種構成をみると、毎月安定して検出される魚種もいれば、特定月にしか検出されない魚種もあり、検出頻度に違いがみられた。検出種数は、春季の4、5月、秋季の10、11月が多く、検出頻度が1回もしくは2回の割合も春季、秋季に高かった。また、検出種数は春季から夏季に向けて減少し、8月に最小値を示したのち、秋季に向けて増加した。

生活型別(純淡水魚、汽水・海水魚、回遊魚、不明)、検出頻度別(高:7-8回、中:4-6回、低:1-3回)に集計すると、純淡水魚は検出頻度が中～高い種が多く(37種中28種が検出頻度4回以上)、汽水・海水魚は検出頻度が低い種が多い(18種中12種が検出頻度3回以下)結果となった(表-1)。汽水・海水魚は、常に河川に生息する純淡水魚と比べて、汽水・海水魚は潮汐に合わせた日周移動、遇来的な河川利用等から、環境DNAで組織片を捉えることが難しいと考えられた。また、季節性の回遊魚に着目すると、河川では春にみられるシロウオは4-5月に、秋に遡上・産卵し、春先に稚魚が河川を下るサケは4月と10-11月に検出され、これはそれぞれの魚種の回遊生態と一致した。一方で同じ回遊魚であっても、春先の遡上から秋の産卵まで河川でみられるアユや、複数年河川で生育するニホンウナギは、4-11月の8回すべてで検出された。

これらの結果から、環境DNA調査は純淡水魚について再現性あるデータが取得できるとともに、回遊魚では季節的な変化が評価可能と考えられた。その一方で、汽水・海水魚は、年間を通じた検出種の変動という課題があることが示された。なお、生活型別種数の経月変化をからは、検出種が少ない8月は、回遊魚だけでなく年間を通して出現種が大きく変わらないと考えられる純淡水魚の検出数も少ないことから(図-6)、解析阻害となる水質項目や、高温の環境水中での環境DNA分解促

進等、解析全体にかかる問題が想定される。今回、那珂川の事例で確認された検出種数が春季・秋季に高く、夏季に低くなる現象については、他水系も対象に引き続き事例や知見を集積し、最適な調査時期を設定していく予定である。

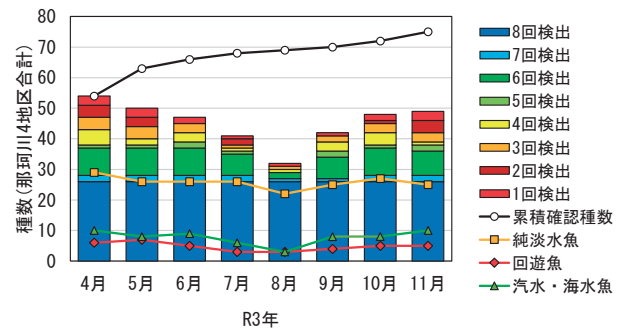


図-6 新規配列・既知配列の経月変化
(令和3年度水国テーマ調査 那珂川)

表-1 生活型別、検出頻度別の検出種数

検出頻度 生活型	低: 1-3回	中: 4-6回	高: 7-8回	計
純淡水魚	9	11	17	37
汽水・海水魚	12	3	3	18
回遊魚	7	1	5	13
不明	2	2	3	7
計	30	17	28	75

(令和3年度水国テーマ調査 那珂川)

3.3 サンプルの取り扱い

環境DNAサンプルには、保存薬として塩化ベンザルコニウム溶液を添加し、48時間以内にろ過をすることが推奨されている⁵⁾。しかし、現地調査者と分析機関が異なることが想定される水国調査の場合、この条件を常に満足させることは難しい。そこで、令和3年度の調査では、サンプルは保冷することを前提とし、採水後5日以内にろ過をすることを目指して検証を行った。また、保冷サンプルによる予備調査では、有意な保存効果を確認できなかった塩化ベンザルコニウム溶液は添加しなかった。さらに、分析会社へのサンプル集中を防ぐため、採水者がろ過を行う仕組みを一部の河川・ダムで検討した。全国各地から2,000サンプル超のサンプルが届き、順次分析を進めているところだが、今のところサンプル劣化に伴う分析不調は確認されていない。一方で、保冷が難しい現場もあることから、現地の実情を踏まえつつ、作業者の負担が小さくなるよう、サンプルの

取り扱いについて引き続き検討を行う予定である。

3.4 魚類精査の効率化に向けた検討

環境DNA調査では、検出された塩基配列を配列データベースと機械的に照合して、暫定の種リストを作成する。ここから精度を確保した種リストとするためには、専門家による個別の塩基配列の精査が必要となる。精査には一定の知識と労力を要するが、同一水系で全く同一の塩基配列が検出された場合、過去の精査結果を参照することができれば効率的である。

前述の那珂川結果（図-6）では、各調査月より前に検出されたことのある塩基配列を既知として、新規配列、既知配列を塩基配列ベースで集計した（図-7）。初回の4月はすべてが新規配列だが、2回目の5月では50%の配列が既知となり、8回目の11月には既知配列が75%を超えた。4月には105個であった新規配列の確認数は、11月は28個まで減少し、魚種精査に要する労力が大幅に減少した。環境DNAを水国調査に導入する際には、塩基配列の照合から精査までの過程を参照できるデータベースを構築することで、結果が出るまでの労力を大きく減らすことが可能となる。

さらに、このデータベースの様式を外部機関とも適切に共有できるように構築することで、他省庁や関係研究機関、大学・市民調査結果などとの調査連携やデータの相互利用が可能となり、流域環境管理や気候変動の評価等に耐えうる生物ビッグデータとなることが期待される。それを踏まえ、土木研究所では令和4年3月より国立研究開発法人 海上・港湾・航空技術研究所、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構3機関と民間コンサルタント会社11社からなる共同研究に取り組んでおり、この中でデータベースについても意見交換を行う予定である。

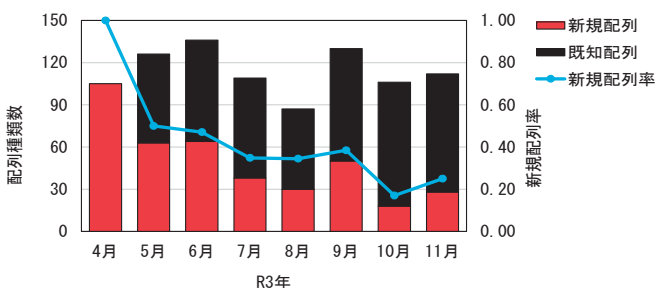


図-7 新規配列・既知配列の経月変化
(令和3年度水国テーマ調査 那珂川)

4. 環境DNAデータが示す可能性

4.1 環境DNAで検出される種について

河川では、環境DNAで検出される種数が、直接採捕で検出される種数を上回ることが多い。周辺の水田・水路や上流・支川の魚を反映することにも一因である。しかし、R2の水国テーマ調査では、環境DNAの元となる組織片の有効流下距離は最大でも1.6kmとの結果が得られており⁴⁾、環境DNA調査による種リストが、はるか上流の生物相を反映するものではないと考えられる。河川においては、多くの魚が連続した水域を移動しながら生活しているため、流程1kmの調査地区の周辺にいたため環境DNAで検出されていた種が、次回の直接採捕で確認されることもあると考えられる。そこで、過去30年間の水国調査で確認された全魚種と環境DNA調査で得られた種リストを比較した（図-8）。

環境DNA調査では種レベルまで特定できないもの（属レベルあるいは複数種が該当する可能性）、直接採捕確認種に該当する種がいるものを合わせると、1回の環境DNA調査によって経年確認種80種に対して82%の検出率を得た。当該年に採捕されなかったものの、調査地区周辺にいた種や、個体数が極めて少なく採捕できなかった種などが環境DNAで検出されたと考えられる。また、これまでの水国調査では確認されていなかったが、生息の可能性があるとされた種の中には、外来種が2種含まれていた。面的な生物情報を反映する環境DNA調査によって水系内への外来種侵入の可能性がいち早く示され、今後の調査における重要な情報として活用できると考えられる。

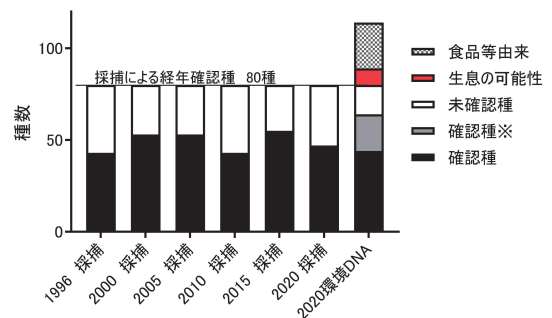


図-8 経年確認種に対する整合性
(令和2年度水国テーマ調査 神通川)

確認種※は、環境DNAでは種まで特定できないが、直接採捕による魚類リストに該当する種を示す

4.2 環境DNA対象領域における種内多様性

同じ種であっても遺伝子の配列には違いがあり、それを使って集団の豊かさや集団間の関わりなどを調べることができる。水国テーマ調査の中でも、同種の中で複数の配列がみつかっており、例えばウグイでは既に307種の配列が確認できている。環境DNAの実装により、水国調査の情報から、種名だけでなく遺伝的多様性の情報が得られ、生息環境の健全性評価に応用できる可能性がある。

5. まとめ

令和元年の水国テーマ調査では、「課題はあるものの、環境DNAを使って水国調査の直接採捕結果と相関のあるデータが取れそうだ」ということが示された。令和2、3年度の水国テーマ調査を通じ、河川では具体的な導入方法の検討に至り、汽水域、ダム湖においても、河川の成果を踏襲しながら取り組むべき方向がみえてきた。土木研究所では先に述べた共同研究の枠組みを利用しながら、水国調査の現場の実情を踏まえた技術の標準化を開始した。そして令和4年度からは、水国導入を想定したマニュアルの骨子の議論が予定されている。

環境DNAという新しい技術を、水国に円滑に導入するため、土木研究所では、流域水環境研究グループ流域生態チーム（令和4年4月1日より名称変更）のHPなども使いながら、環境DNAに関する成果の積極的な情報発信に取り組んでいる。また、現場で使いやすい技術とするためには、実務の現場の実情を踏まえた検討が引き続き重要と

考えている。これからも土研新技術ショーケースなどの場を通じ、事務所や実務担当の方々と意見交換ができればと考えている。

謝 辞

調査の実施に当たっては、全国の地方整備局、河川・ダムの事務所の皆様、水国業務や水質調査の受注者の皆様に多大なる協力を賜りました。ここに深く御礼申し上げますとともに、引き続きご協力を賜りますようお願い申し上げます。

参考文献

- 1) 北川哲郎、村岡敬子、山田拓也、中村圭吾：河川水辺の国勢調査（魚類）における環境 DNAメタバーコーディング解析の試行事例分析、河川技術論文集、第26巻、pp319～324、2021.6
- 2) 平田真二、白尾豪宏、飯田岳、赤松良久、乾隆帝、中村圭吾、村岡敬子：汽水域及び河川下流域における環境DNAの、空間分布把握とサンプリング法の検討、河川技術論文集、第25巻、pp417～422、2019.6
- 3) 北川哲郎、村岡敬子、中村圭吾：河川下流域における回遊型カジカ属の稚魚に由来する環境 DNA 含有物質の拡散、河川技術論文集、第27巻、pp301～304、2021.6
- 4) 北川哲郎、村岡敬子、天野聡、岡本裕司、中村圭吾：河道内で検出された海産魚類を指標とした環境DNA含有物質の有効検出範囲の推定、河川技術論文集、第27巻、pp295～300、2021.6
- 5) 一般社団法人環境DNA学会、環境DNA調査・実験マニュアルVer.2.2、2020.4

村岡敬子



土木研究所流域水環境研究グループ流域生態チーム 総括主任研究員
MURAOKA Keiko

菅野一輝



土木研究所流域水環境研究グループ流域生態チーム 交流研究員、博士（農学）
Dr. KANNO Kazuki

篠原隆佑



土木研究所流域水環境研究グループ流域生態チーム 交流研究員
SHINOHARA Ryusuke

天羽 淳



研究当時 国土交通省水管理・国土保全局河川環境課係長、現 国道交通省北海道開発局帯広開発建設部治水課 上席治水専門官
AMOU Jyun

中村圭吾



研究当時 土木研究所水環境研究グループ河川生態チーム 首席研究員、博士（工学）、現 公益財団法人 リバーフロント研究所 首席研究員
Dr. NAKAMURA Keigo