

7. 新しい調査技術に関する技術情報

7.1 環境 DNA 調査の適用に関する解説

環境 DNA 調査とは、DNA 分析技術を応用して、環境水サンプルに含まれる生物由来の DNA から、そこに生息する生物種を間接的に調べる方法である。環境 DNA 調査の最大の利点は、現場での作業が「採水するだけ」と簡単であることである。

(1) 環境 DNA 調査とは

環境 DNA 調査は、河川や海域の生物調査に適用され始めているが、農業農村環境への適用事例はまだ少ない。そこで、これまでに生態系配慮施設を設置する取組が行われてきた代表的な全国 10 地区を対象に、3 か年に亘って採捕調査と環境 DNA 調査の両方を実施し、その結果から環境 DNA 調査の現場適用性・活用可能性等について検討を行ってきた。本章では、それらの検討結果をふまえ、農業農村環境における生物の生息状況の把握手法として、環境 DNA 調査の具体的な方法や調査を実施する上での留意事項等について解説する。

環境 DNA の学術的な定義にはいくつかあるが、本資料では、河川や湖沼など環境水中に含まれるすべての DNA を環境 DNA と呼ぶこととする。環境 DNA には、大きく分けて、水中の細菌などの微生物や、小型のプランクトンといった顕微鏡サイズの生物等に由来するものと、水中に生息する魚類や両生類等の体表からはがれ落ちた細胞片や粘液、放出された糞に由来するものがある。現場から採水した環境水サンプルには、これらに由来する環境 DNA が含まれているが、調査内容に合わせた分析方法を選択することで、特定の生物群（例えば、魚類や両生類など）だけを選択的に調べるといったことが可能となる。

環境 DNA 調査は、現場での作業内容が非常に簡便である。調査員は、滅菌もしくは消毒済みのボトルを用いて、調査現場の環境水を採水するだけである。環境 DNA 調査の一般的な流れを図 7-1 に示した。



図 7-1 環境 DNA 調査の一般的な流れ

採水作業は、採水マニュアルに則って実施する必要があるが、施設管理者、地域住民、行政機関担当者など誰でも簡単に行うことができる。しかし、現場での採水作業以降の分析作業は、専用の分析機器が必要であり、分析に関する専門知識が求められるため、採水サンプルの分析作業は、一般的には環境 DNA 分析を受託している民間企業や大学等に委託することになる。委託の方法や条件、分析費用やその費用に含まれている項目（例えば、採水容器は分析機関から提供されるのかなど）等は、事前に分析を依頼する予定の機関に問い合わせて確認する。

環境 DNA 調査は調査地に生息するすべての生物種を常に完全に検出できるものではないが、環境 DNA 調査の現場適用性を検証した結果、魚類や両生類については従来の採捕調査を補完する調査方法として適用可能であること、加えて両生類については冬眠の時期を避けるなど適切な調査時期に実施する必要があることが明らかとなっている。なお、環境 DNA が検出された生物種の生息確認は、最終的にはできるだけ採捕調査を実施し、当該種の個体の確認によってその種が生息することを確定させることが望ましい。



採捕調査と環境 DNA 調査の比較（特に費用や労力について）

調査にかかる費用や労力は、調査内容、調査を実施する地点数や回数等で大きく異なるが、一例として、農業水路・小河川における魚類調査を想定し比較した。

※調査概要：農業水路に生息する「魚類」を対象に、上下流方向に 50m の範囲を 1 地点として、計 5 地点を 1 日間で調査することを想定した。

項目	採捕調査	環境 DNA 調査
作業内容	タモ網や投網を使った採捕、現地での種同定	採水（環境水を 1L）、DNA 分析
1 地点当たりの労力	3 名×1.5 時間程度	1 名×10 分程度
調査費用（計 5 地点）	25～30 万円 ※作業内容すべてを民間の調査会社に委託した場合を想定。交通費は除く。	15～20 万円 ※現地の採水は当事者が行い、分析のみを民間の分析会社 ^{注釈 1)} に委託した場合を想定。

注釈 1) 環境 DNA 分析を受託している民間企業や大学等は、「環境 DNA 解析、受託」等のキーワードにより WEB 検索することで、調べることができる。

(2) 現地調査方法

サンプルとなる環境水を採水する容器には、滅菌済みの新品のポリプロピレン製ボトル（容量 1,000 mL）を使用する。採水量は、1 調査地点当たり 1,000 mL とし、採捕調査が予定される調査範囲の最下流の地点で採水する。

採水サンプル中の環境 DNA は、水中に存在する細菌等の影響により、そのままの状態では少しずつ分解されてしまうことが知られている。採水後に直ちに現場でろ過作業を行う場合を除いて、一般的な環境 DNA 調査では、採水したサンプルを宅配便等により分析施設へ搬入した後に、ろ過等の続きの作業を行うことになる。そのため、採水日からろ過作業を行うまで、1~2 日間程度の輸送時間がかかる。そこで、輸送中の環境 DNA の分解が最小限となるように、採水直後には、環境 DNA の分解を抑制する試薬（塩化ベンザルコニウム 10% 溶液）をサンプルに入れる処理を行う必要がある。採水サンプルは、氷パックが入ったクーラーボックス内で冷蔵状態を保った上で、採水当日のうちに冷蔵指定の宅配便により分析施設へ発送することが望ましい。

分析施設へ搬入された採水サンプルは、はじめにフィルターでろ過を行う。使用するフィルターの種類やろ過の詳細な方法等は、一般社団法人環境 DNA 学会が公開している環境 DNA 調査・実験マニュアル（令和 4 年 3 月時点での最新版は Ver. 2.2 である。以下、「環境 DNA 学会マニュアル」という。）に詳しく記載されているので、そちらを参照することを推奨する。同様に、フィルター上に残った固形分から環境 DNA を回収し、分析を行う方法についても、環境 DNA 学会マニュアルで取り扱っているため、そちらの参照を推奨する。



フィルターろ過では、グラスファイバー製フィルター（写真左上）やカートリッジ式フィルターなどを用いて、サンプル中の環境 DNA 源（細胞片など）を捕集する。



ろ過後のフィルターから DNA を回収するには、市販の DNA 抽出キットを用いる。他にも高速遠心分離機やインキュベーター等の機器が必要である。



調査目的により分析方法を選択し、回収した環境 DNA を分析する。網羅的解析の場合は、さらにデータ解析作業が必要になる。

図 7-2 環境 DNA 分析の流れ

コラム

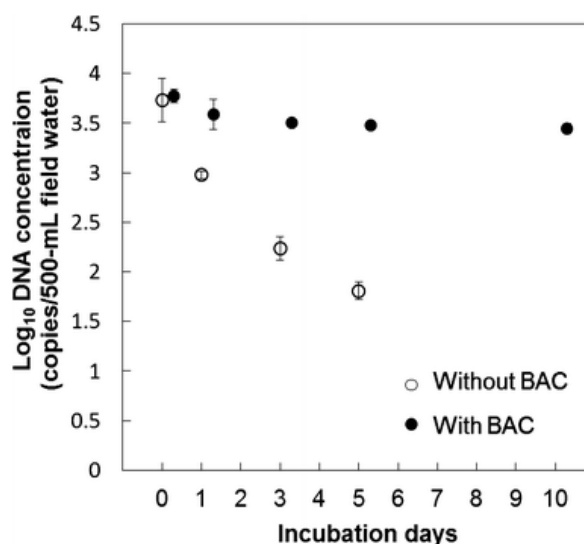
DNA の分解を抑制する試薬『塩化ベンザルコニウム 10%溶液』について

採水したサンプル中の環境 DNA は、そのまま何も処理せずに保存していると、どんどん分解が進み、DNA 濃度が低下することが知られている。また、採水サンプルの冷凍保存についても、凍らせて保存した場合では、環境 DNA の検出レベルが低下するため、好ましくないという報告もある (Takahara *et al.*, 2015)。

そうした中で、龍谷大学の山中裕樹准教授らにより、塩化ベンザルコニウム 10%溶液 (以下、BAC という) を使った環境 DNA サンプルの効果的な保存方法が報告された (Yamanaka *et al.*, 2017)。BAC は、「オスバン液」という商品名で市販もされている殺菌作用のある薬品で、サンプル 1000mL に対して BAC を 1mL 添加することで、環境 DNA の分解を抑制する効果がある。

この論文では、BAC を入れて常温で 8 時間保存した場合、最初の DNA 濃度の 92% が維持されたが、無処理の場合は最初の DNA 濃度の 14% まで濃度が低下した。また、より長期間の保存実験では、常温下で BAC を入れてから 1 日後では 70% が、10 日後では 50% が維持されていたが、無処理では 1 日後では 20% まで減少し、10 日後には検出不可能なレベルにまで減少したとされている。

したがって、採水した直後には、サンプルへ規定量の BAC を必ず添加し、環境 DNA の分解を抑制するとともに、できるだけ採水後早めにサンプルのろ過処理を完了させることが、環境 DNA 調査の精度を管理する上で重要である。



[引用] Yamanaka *et al.* (2017) *Limnology* 18:233–241.

(3) 環境 DNA 分析の方法と適用可能な生物分類群

環境 DNA 分析には、2 種類の方法がある。網羅的解析では生物の種リストが得られ、種特異的解析では特定の種の環境 DNA 濃度や在・不在の情報が得られる。現時点で網羅的解析が適用できる生物分類群は、水生生物では魚類と両生類である。

現在、環境 DNA 分析として実用化が進んでいるものには、大きく分けて 2 つのタイプの分析方法がある。1 つは、分析結果としてサンプルに含まれていた種のリストが得られる「網羅的解析 (DNA メタバーコーディングともいう)」で、もう 1 つは、分析結果としてサンプルに含まれていた特定の種の環境 DNA 濃度や在・不在の情報が得られる「種特異的解析」である。

これら 2 つの分析方法は、調査目的に応じて使い分けることが望ましい。生息する生物種の現況を把握する場合は、生物種リストが得られる網羅的解析を採用することが多い。また、調査対象種が決まっている場合には、調査地点間の相対的な生物量の比較ができる種特異的解析を採用することも可能である。

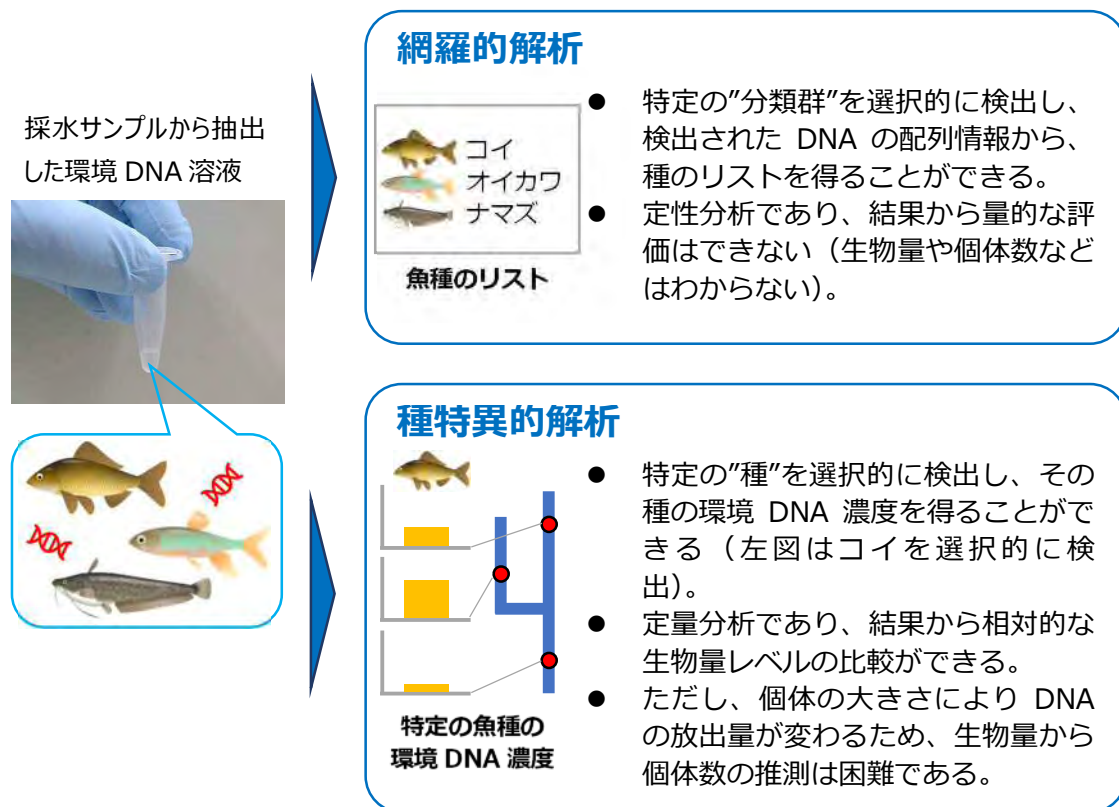


図 7-3 網羅的解析と種特異的解析の違い

現在、網羅的解析が適用できる生物分類群は、水生生物では魚類と両生類である。農業農村環境で調査対象となる十脚目甲殻類（いわゆるエビ・カニ類）、貝類や水生昆虫などの底生動物、水草や湿生植物などの維管束植物については、研究レベルでは環境 DNA 調査の適用が行われているものの、現時点ではまだ多くの課題が残されているため、実用レベルに至っていない。今後の研究の進展により適用可能となることが期待される。

(4) 環境 DNA 調査の利点と課題

環境 DNA 調査の最大の利点は、調査現場での作業が水を汲むだけで完了するという簡便性と迅速性である。一方で、検出感度が非常に高いがゆえに、採水時及び分析時に生じた試料汚染により、誤検出が生じることがある点が課題である。

環境 DNA 調査の最大の利点は、調査現場での作業が水を汲むだけで完了するという簡便性と迅速性である。現地調査では、できるだけ省力的な調査手法が求められることから、環境 DNA 調査はその新しい選択肢として活用が期待される。

一方で、環境 DNA 調査の課題としては、検出感度が非常に高いがゆえに、採水時のわずかな DNA の混入が原因で誤検出が生じる恐れがあることである。また、環境 DNA は、水の流れの影響を受けて下流側へ拡散する性質があるため、水路内で採水したサンプルから取水源である河川にしか生息しない魚種が検出されることがある。したがって、調査地区の農業水利系統（水循環方式、開渠 or 暗渠、取水源等）を考慮し、採水する時期や場所を決める必要がある。以下に環境 DNA 分析の利点と課題をまとめた。

利点

現場での作業は水を汲むだけ

1. 捕獲の必要がないため、生物を傷つけない。
2. 捕獲や観察では見つけにくい生物が確認できる。
3. 調査員は分類同定に関する専門知識が不要である。
4. 調査員の経験や技術により、結果が大きくばらつくことがない。
(現場の環境によっては、一般市民や学生でも調査が可能である)
5. 現場での作業量が少ないため、広域・多地点・高頻度な調査に展開しやすい。

課題

偽陽性・偽陰性を考慮した結果の解釈が必要

1. 偽陽性(※1)の主たる原因になるもの
 - 家庭排水や食品工場、養魚場等の排水等に由来する DNA が存在した場合、実際には採水地点に生息していない種が検出されることがある。
 - 採水時や分析時に外部から DNA が混入し、サンプルが汚染されてしまうと、採水地点に生息していない種を誤検出することがある。
2. 偽陰性(※2)の主たる原因になるもの
 - 生息密度が非常に低い種は、検出できないときがある。
 - 採水地点の流量が多い時期は、DNA が希釈されたり、減衰することで一部の種が検出できないときがある。
3. 環境 DNA は、水の流れの影響を受けて拡散するため、例えば、取水源である河川やため池等にも生息するような種の DNA が、下流側の水路内で採水したサンプルから検出されてしまうことがある。

※1 偽陽性とは、採水した地点にその種が「生息していない」にもかかわらず、何らかの原因によってサンプルからその種の環境 DNA が検出されたことで「生息している (=陽性)」と誤判定されてしまうことを言う。

※2 偽陰性とは、採水した地点にその種が「生息している」にもかかわらず、何らかの原因によってサンプルからその種の環境 DNA が検出されなかったことで「生息していない (=陰性)」と誤判定されてしまうことを言う。

(5) 環境 DNA 調査の流れ

環境 DNA 調査は、巻末資料「環境 DNA 分析用サンプルの採水マニュアル」に従って実施する。

環境 DNA 調査における現場での作業は、以下の流れで行う。なお、採水の詳細な方法については、巻末資料の「環境 DNA 分析用サンプルの採水マニュアル」に記載した。



①準備	● 安全面に十分配慮し、採水する位置を決める。 ● 河川・水路内に立ち入って採水する場合は、胴長やライフジャケットを着用する。 ● バケツ等を使って採水する場合は、器具の消毒を行う。	
②採水	● 最初に使い捨て手袋を着用し、採水容器を用いて表層から採水する。 ● 採水量は 1000mL が標準的である（目的に応じて、採水量を増やしてもよい） ● 容器内にゴミや植物片が入らないように注意する。	
③試薬混合	● 採水後、速やかに DNA の分解を抑制する試薬(※1)を規定量入れる。 ● 容器のふたを閉め、試薬が混ざるように、しっかりと撹拌する。 ● 容器に採水地点番号等の識別表示を行う。	
④発送	● 容器をチャック付きビニール袋へ入れ、クーラーボックスに収容する。 ● クーラーボックスに保冷剤（袋入り氷でも可）を入れて、冷蔵条件で管理する。 ● 採水当日のうちに、サンプルを分析機関へ発送する。	

※1 DNA の分解を抑制する試薬には、塩化ベンザルコニウム 10%溶液（商品名：オスバン液、略称：BAC）を用い、採水量 1000mL 当たり試薬を 1mL 混合する方法が標準的とされる。

(6) 環境 DNA 調査を実施する上での留意事項

農業水利施設において環境 DNA 調査を行う際は、水がどこから来て、どのように流れているのかを知るために、取水源や水路系統のつながり等を事前に把握しておく必要がある。

環境 DNA は、生物個体から環境水中に放出されたあと、水の流れに従って拡散しつつ、同時に分解され、最終的には検出が不可能なレベルまで減少する。環境 DNA は、水温、pH、流速、微生物の存在量など様々な環境要因の影響を受けて拡散・分解していると考えられるため、その検出範囲は一定ではなく、それぞれの調査環境によって異なることに留意する必要がある。

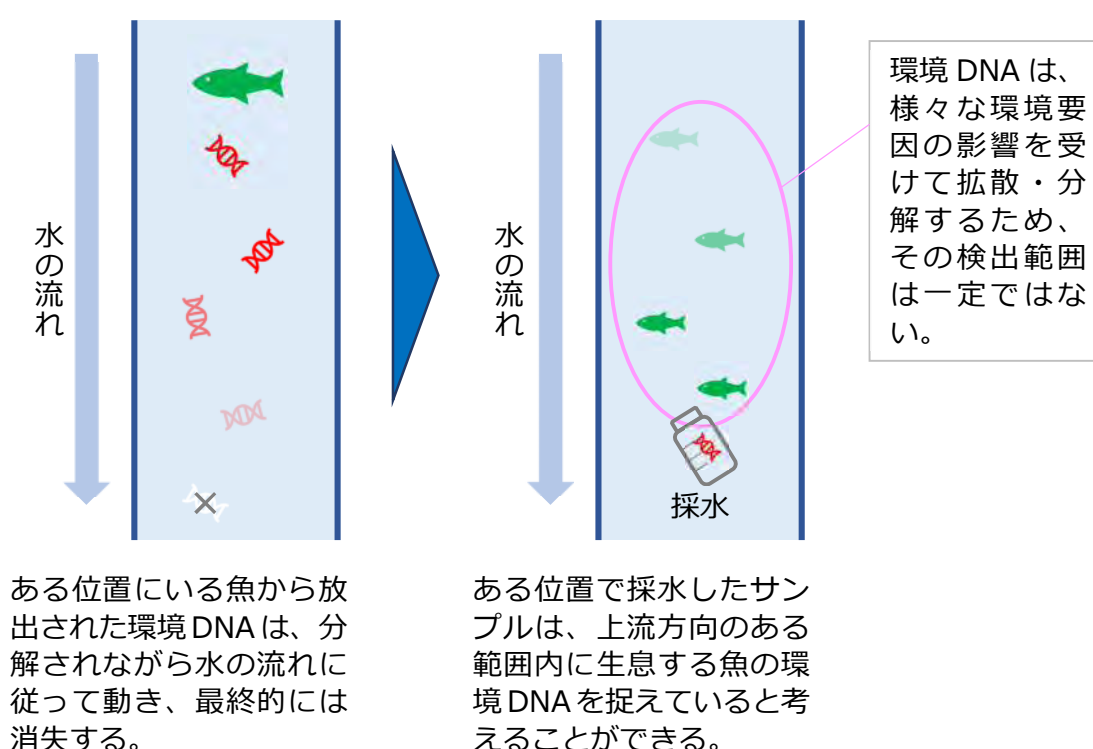


図 7-4 環境 DNA の検出範囲の考え方

例えば、取水源が河川である水路環境において、取水口からの距離が比較的近い位置で採水したサンプルでは、水路内に生息する種だけでなく、河川内に生息する種の環境 DNA も同時に検出されることがある。また、農業水路環境での特有の留意事項として「循環かんがい」があり、下流側の用水をパイプラインにより上流側に揚水して循環利用しているような地域では、下流側にしかない生物が上流側で検出されることがあるということを知っておく必要がある。このように、農業水路環境で環境 DNA 調査を行う際は、水がどこから来て、どのように流れているのかを知るために、取水源や水路系統のつながり等の情報や流速などの物理的な環境条件を事前にしっかりと把握しておくことが望ましい。

コラム

農業水路において環境 DNA が拡散する範囲はどの程度なのか

生物個体から環境水中に放出された環境 DNA は、少しずつ分解されながらも、水の流れてから拡散する。そのため、ある地点で採水したサンプルから検出された種は、採水地点から上流方向に向かって“ある範囲内”の生物の生息状況を反映していると考えられる。しかし、環境 DNA が拡散する範囲に関する研究は、河川を対象とした研究事例はいくつかあるが、農業水路というさらにスケールの小さな環境で行われた研究事例はないことがわかった。

そこで、ある地点から放出された環境 DNA がどの程度下流まで検出できるのかを明らかにする目的で、全国 10 地区の農業水路環境において、「その調査地区には生息しない魚類（実験魚）」をカゴに入れて農業水路内に設置し、その下流側に適当な間隔で配置した地点から採水を行って、実験魚の環境 DNA がカゴからどのくらい離れた地点まで検出されるかという検証実験を実施した。なお、この検証実験は、同一の調査地区において、調査年や調査時期（かんがい期・非かんがい期）を変えて複数回実施した。また、カゴに入れる実験魚は、調査地区ごとに魚種は異なるが、総重量が 1kg 程度になるように揃えた。

その結果、調査地区や調査時期の違いにより、拡散する距離はばらつきがあったものの、平均的にはカゴの設置地点からおおよそ 1～3km くらいの範囲に拡散していたことがわかった。また、流速が早い水路ほど、放出された環境 DNA は遠くまで拡散する傾向があることがわかった。このことから、農業水路において魚類を対象とした環境 DNA 調査を実施したとき、採水地点から検出された種は、上流方向におおよそ 1～3km くらいの範囲に生息していたものを検出されているものと推定される。例えば、もし希少種などの注目される種の環境 DNA が検出された後で、実際にその種が生息していることを確認する目的での採捕調査を計画するのであれば、採水地点の上流に調査範囲を設定すると、より効率的な採捕調査が可能になると考えられる。



検証実験を実施した農業水路の一例
(星印は実験魚の入ったカゴの設置位置)



実験魚の入ったカゴの設置状況
(右上は実験魚のアルビノ型ソウギョ)

(7) 環境 DNA 調査の現場適用性（採捕調査及び文献調査との比較結果）

魚類を対象とした環境 DNA 調査では、採捕調査で確認された魚種の約 90%が環境 DNA 調査でも確認されており、採捕調査とほぼ同程度の調査精度があることがわかった。

令和元年度～令和 3 年度に実施した実証調査では、本資料の 2 章および 3 章で紹介した魚類の採捕調査の他、魚類と両生類を対象に環境 DNA 調査も同時に実施し、「採捕調査」「環境 DNA 調査」「文献調査」の 3 つの調査結果から、環境 DNA 調査の現場適用性等について検討を行った。

全国 10 地区での現地調査では、最初に環境 DNA 調査のための採水を行い、その直後に採捕調査を行って、採捕調査で確認された種が環境 DNA 調査ではどのくらい検出できたのかを比較した。比較の基準として、採水した地点別に「検出率」を算出し、調査した地区ごとにその平均値を求めた。なお、環境 DNA 調査では、種レベルの識別が困難な種（例えば、多くのフナ類やヨシノボリ類など）は、同属の種が環境 DNA 調査で検出されていれば、採捕や文献で確認された種を検出したものとみなした。

$$\text{検出率 (\%)} = \frac{\text{採捕調査で確認された種のうち、環境 DNA 調査でも確認された種の数}}{\text{採捕調査で確認された種の数}} \times 100$$

魚類の検出率の全国平均は、かんがい期及び非かんがい期ともに約 90%であった。すなわち、採捕調査で確認された魚種の約 90%が、1 回の採水作業だけで確認されており、魚類を対象とした環境 DNA 調査は、採捕調査とほぼ同程度の調査精度があることがわかった。一方で、一部の地点では、スナヤツメ類やタウナギなど採捕された魚種が環境 DNA では検出されないことがあった。ギバチでは、分析手法を改善することで、検出精度を向上させることができた。

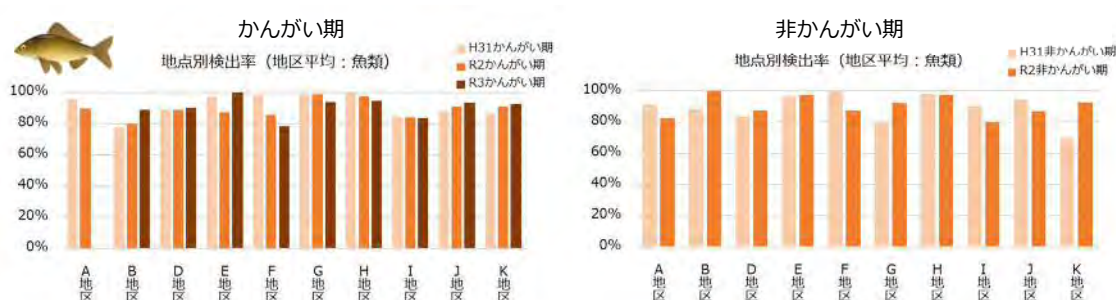


図 7-5 各調査地区における魚類の環境 DNA の地点別検出率（地区内平均）

両生類の検出率の全国平均は、かんがい期で 58～75%、非かんがい期で 29～44%であった。調査地区間でばらつきがあるものの、両生類を対象とした環境 DNA 調査は、魚類ほどではないが、採捕調査に近い調査精度が見込まれる。また、両生類の活動が大きく低下する非かんがい期では、水中で越冬する種（ツチガエル、ウシガエル等）を除いて、多くの種で

環境 DNA が検出されなくなることがわかった。そのため、両生類を対象とした環境 DNA 調査では、地域性等を考慮した上で、冬眠時期の調査は避けることが望ましい。

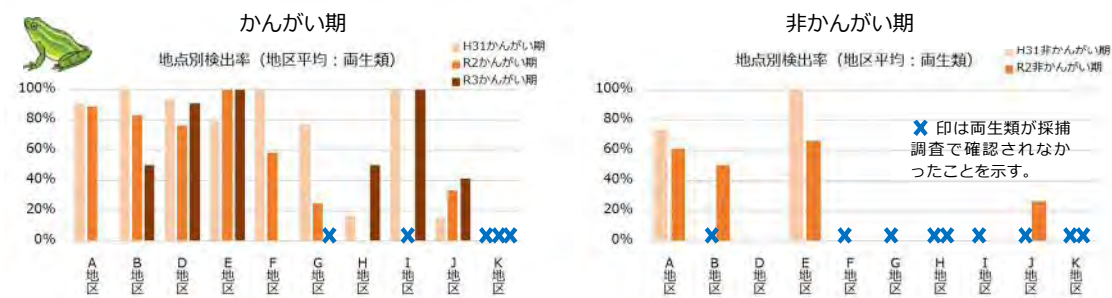


図 7-6 各調査地区における両生類の環境 DNA の地点別検出率（地区内平均）

続いて、採捕調査と環境 DNA 調査では、地域の生物多様性をどの程度網羅的に把握できるかをそれぞれ比較した。比較の基準として、採捕・文献・環境 DNA の各調査で確認された種数を基に、地区別及び調査方法別に「網羅率」を算出した。

$$\text{網羅率[採捕]} (\%) = \frac{\text{採捕調査で確認された種の数}}{\text{採捕・文献の各調査で確認された種の数}} \times 100$$

$$\text{網羅率[環境 DNA]} (\%) = \frac{\text{環境 DNA 調査で確認された種の数}}{\text{採捕・文献・環境 DNA の各調査で確認された種の数}} \times 100$$

魚類及び両生類の網羅率は、ほとんどの地区において採捕調査と同程度、もしくは、環境 DNA 調査の方が高く、地域の生物相を網羅的に調査する調査手法としては、環境 DNA 調査は採捕調査と同程度、もしくは、それ以上の効果が期待できた。

また、魚類では、生息個体数の少ない希少種（例：タナゴ類）や、専用の漁具を用いないと採捕しにくい魚種（例：ニホンウナギ）の生息状況を、捕獲調査よりも効果的に把握することができるという傾向があった。両生類では、採水する場所や時期を考慮することで、産卵場や幼生の生育場等の繁殖状況の把握といった活用も期待できた。

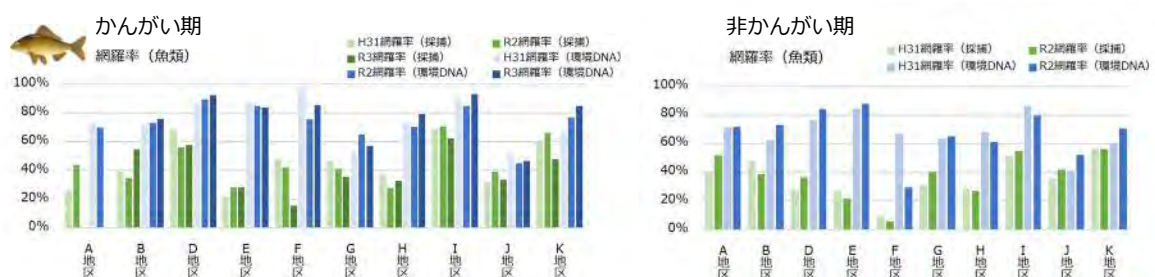


図 7-7 採捕調査と環境 DNA 調査の魚類の網羅率の比較

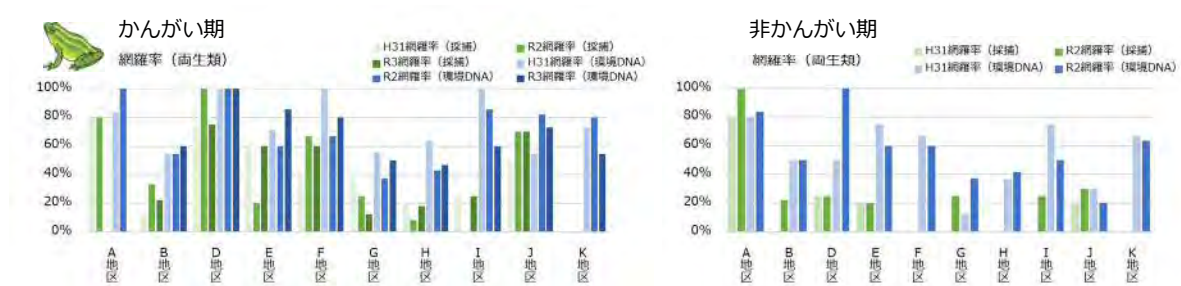


図 7-8 採捕調査と環境 DNA 調査の両生類の網羅率の比較

コラム

環境 DNA 調査による希少種の生息確認事例

環境 DNA 調査では、思わぬ発見がもたらされることがある。ある地区の調査で、採捕調査により多くの地点でドンコ（学名：*Odontobutis obscura*）が確認された。しかし、同時に実施した環境 DNA 調査では、ドンコのほかに、地区内の特定のエリアでのみ、希少種のイシドンコ（学名：*Odontobutis hikimius*）が検出された。イシドンコは、ドンコの地域系統グループの一つとされていたものが、2002 年に新種として記載されたもので、環境省レッドリスト（2020 年版）で絶滅危惧 II 類（VU）に、地区のある県のレッドリストでは絶滅危惧 I A 類（CR）にランクされている絶滅危惧種である。

イシドンコは、ドンコと形態的に非常によく似ており、現場での識別は難しい種の一つである。また、過去にその地区からイシドンコの確認記録もなかったことから、採捕調査ではイシドンコをドンコとして誤同定したものと推測された。その後、再び採捕調査が行われた際に、イシドンコの環境 DNA が検出されたエリアで採捕されたドンコ類を注意深く同定した結果、それまでドンコとして記録されていたものがイシドンコであることが判明した。

このように、環境 DNA 調査では、過去に地区内で確認されたことがなかった希少種を発見できる場合がある。生態系配慮施設の設置目的の一つとして、二次的自然に生息する希少種の保全効果を期待することもあり、こうした希少種の発見精度が向上するという点は、環境 DNA 調査の大きなメリットである。

また、ドンコとイシドンコ以外でも、現場での同定が難しい魚（例えば、コイ科魚類の稚魚など）では、環境 DNA 調査の方が正確に種を識別できるケースもあり、環境 DNA 調査でその種の存在が明らかになることで、その後に行われる採捕調査の精度向上にも寄与することがある。



イシドンコが確認された生態系配慮型水路



イシドンコ

(8) 環境 DNA 調査に関する参考文献

環境 DNA 分析の現場適用性等に関する参考文献の一覧を下表に示した。

表 7-1 (1) 環境 DNA 調査に関する参考文献

No.	著者・発行年・タイトル・雑誌名
1	高原輝彦, 山中裕樹, 源利文, 土居秀幸, 内井喜美子 (2016) 環境 DNA 分析の手法開発の現状～淡水域の研究事例を中心にして～. 日本生態学会誌, 66: 583-599.
2	乾隆帝, 後藤益滋, 河野誉仁, 赤松良久, 掛波優作, 一松晃弘 (2017) 江の川における環境 DNA 分析を用いたアユの定量化と生物量に影響を与える環境要因の検討. 土木学会論文集 B1 (水工学), 73(4): I_1105-I_1110.
3	源利文 (2017) 水系生態系における環境 DNA モニタリング手法開発の現在. 環境技術, 46(12): 624-629.
4	山中裕樹 (2017) 魚類の環境 DNA メタバーコーディングにおける採水方法と検出種数の関係についての検討. 里山学研究センター2017年度年次報告書, 194-198.
5	小出水規行, 成成南, 中田和義, 宮正樹, 佐土哲也, 渡部恵司, 森淳, 竹村武士, 嶺田拓也, 吉永育生, 山岡賢 (2017) 環境 DNA メタバーコーディング法 ‘MiFish’ を用いた農業水路に生息する魚類の予備推定. H29 農業農村工学会大会講演会講演要旨集, 328-329.
6	赤松良久, 乾隆帝, 一松晃弘, 河野誉仁, 土居秀幸 (2017) 環境 DNA を用いた河川内の魚類現存量推定に関する基礎的検討. 土木学会論文集 B1 (水工学), 73(4): I_1111-I_1116.
7	笠井亮秀, 尹錫鎮 (2018) 流動モデルを用いた環境 DNA 濃度分布の再現. 海洋と生物, 40(1): 23-27.
8	乾隆帝, 赤松良久, 後藤益滋, 小室隆, 河野誉仁, 山原康嗣, 浜田大輔, 谷本茂 (2018) 環境 DNA を用いた山口県内 2 級河川におけるオオカナダモの分布状況と生息適地の把握. 河川技術論文集, 24:303-308.
9	宮正樹 (2018) 魚類環境 DNA メタバーコーディング法による多様性評価: 技術開発と応用. 水環境学会誌, 41(4): 132-136.
10	源利文 (2018) 種特異的な環境 DNA 検出によるマクロ生物の生態調査. 水環境学会誌, 41(4): 123-127.
11	今藤夏子, 松崎慎一郎 (2018) 霞ヶ浦における定置網と環境 DNA を用いた魚類調査と種多様性の比較. 水環境学会誌, 41(4): 137-140.
12	山中裕樹 (2018) 海と川との接続性を環境 DNA 分析で診る: 河川横断構造物の影響評価. 海洋と生物, 40(1): 54-59.
13	丹羽英之, 坂田雅之, 源利文, 清野未恵子 (2018) 河川における流程 500m 間隔での環境 DNA 分析と現地採集調査による魚類検出結果の比較. 保全生態学研究, 23(2): 257-264.
14	伊地知稔 (2019) これから環境 DNA による調査・研究を始める方へ. 日本海水学会誌, 73(5): 273-280.
15	宮正樹 (2019) 環境 DNA メタバーコーディング-魚類群集研究の革新的手法: バケツ一杯の水で棲んでいる魚がわかる技術. 化学と生物, 57(4): 242-250.
16	源利文 (2019) 環境 DNA 分析の概要と希少種の検出: 水をくむだけで絶滅危惧種の分布がわかる. 化学と生物, 57(3): 181-186.
17	三佐川剛昌, 鳥谷部寿人, 上月佐葉子 (2019) 後志利別川における環境 DNA を活用した魚類相モニタリング-新技術による調査の効率化・高精度化に向けた取り組み-. 第 63 回(2019 年度)北海道開発技術研究発表会論文.
18	山川央, 宮正樹 (2019) 環境 DNA 分析技術の外来種対策への応用: 印旛沼カミツキガメを例として. 化学と生物, 57(5): 311-316.

表 7-1 (2) 環境 DNA 調査に関する参考文献

No.	著者・発行年・タイトル・雑誌名
19	山中 裕樹, 廣原 嵩也 (2019) 環境 DNA 試料の採取から分析に至るまで 採水, 保存・運搬, ろ過の現状. 化学と生物, 57: 380-387.
20	小関右介 (2019) 河川における魚類相モニタリングを目的とした環境 DNA メタバーコーディング法の評価. 人間生活文化研究, (29): 184-187.
21	土居秀幸 (2019) 環境 DNA 分析技術の進展: 高精度分析・遺伝子多型検出・現場分析. 化学と生物, 57(7): 446-453.
22	菅野一輝, 鹿野雄一, 巖島怜, 佐藤辰郎, 皆川朋子 (2020) 平成 29 年 7 月九州北部豪雨の被災河川における魚類相. 応用生態工学, 23(1): 161-169.
23	内藤太輔, 都築隆禎, 蔭山一人, 宮本健也, 赤松良久, 乾隆帝 (2020) 環境 DNA による魚類の網羅的解析の河川水辺の国勢調査への導入に関する検討. リバーフロント研究所報告, (31): 9-16.
24	平川周作, 中島淳, 松木昌也, 古賀敬興, 秦弘一郎, 柏原学, 古閑豊和, 石間妙子, 宮脇崇, 金子洋平, 志水信弘, 松本源生, 石橋融子 (2020) 環境 DNA メタバーコーディングを用いた河川における魚類調査手法の検討と水質による影響の解析. 環境化学, 30: 125-132.
25	北川哲郎, 村岡敬子, 山田拓也, 中村圭吾 (2020) 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, 26: 319-324.
26	木持謙, 渡邊圭司, 田中仁志, 鈴木健太, 田村和大, 高橋唯, 斎藤弥生, 近藤貴志, 水島康一郎, 太田宗宏, 小出水規行 (2020) 環境 DNA メタバーコーディングを用いた生活排水流入河川の魚類多様性評価. 用水と廃水, 62(2): 135-146.
27	北川 哲郎, 村岡 敬子, 天野 聡, 岡本 祐司, 中村 圭吾 (2021) 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, 27: 295-300.
28	北川哲郎, 村岡敬子, 中村圭吾 (2021) 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, 27: 301-304.

7.2 環境 DNA 調査の適用について

地域の自然環境の状況を把握する方法としては、文献調査や聞き取り調査、現地踏査があるが、新しい選択肢として「環境 DNA 調査」を適用することで、効率的、かつ、労力・費用を抑えた調査が可能である。

生物の生息状況を最も簡易的に確認する調査方法としては、文献調査や聞き取り調査が主体となることが多い。しかし、地域によっては得られる情報が古く、現状の自然環境を反映した情報が得られないことがある。事業対象区域及びその周辺区域の現況を把握するためにも、文献調査や聞き取り調査の結果に応じて、追加的に現地踏査（簡略化した現地調査）を実施することが望ましい。

生物の生息情報を得るための調査手法は、調査対象とする生物分類群によって異なる。例えば、哺乳類では、糞や足跡などの痕跡を探すフィールドサイン法や無人カメラを用いた観察などが、鳥類では事前に設定したルート上を歩いて観察するラインセンサス法などが、比較的簡易的な調査方法として知られている。

一方で、水中に生息する魚類は、観察により種を同定することは難しいため、基本的には、網や専用の仕掛けなどを使って個体を捕まえる採捕法が用いられてきた。採捕による調査は、その場に生息している生物を直接的に確認できるという利点があるが、採捕した際に個体が傷つき、死亡させてしまうリスクがある。特に、希少種の場合は、調査が原因となる生物への負の影響を最小限にするような配慮が必要である。また、多種多様な生態特性を持つ魚種を効率的に採捕したり、正確に種を同定するには、高度な専門技術が必要である上、多大なコストや時間がかかるという欠点もある。

近年、河川や水路などの環境水中に存在する生物由来の DNA を回収して調べる環境 DNA 調査が、新しい生物調査手法として注目されている。環境 DNA 調査は、現場で行う作業が“水を汲むだけ”であるため、事業者や行政担当者など誰にでも簡単に行えて、かつ、生物を傷つけるリスクがない。また、採捕調査だけでは見落とされる可能性のある保全対象生物の生息状況の把握が、効率的に行える可能性がある。

なお、環境 DNA 調査を実施する際には、以下の点については、特に留意して進める必要がある。

- 採水に使用する調査道具（クーラーボックス、長靴、バケツなど）、作業員自身（衣服、眼鏡や頭髮の表面など）、調査に使用する車両（特に荷物を置くスペース）が、DNA で汚染されないように配慮する。例えば、魚類の体表粘液が、微量であってもどこかに付着していると、その DNA が作業中にサンプル内もしくは採水容器の表面に非意図的に混入もしくは付着し、分析時に検出されることがある。
- 採水したサンプル中の環境 DNA は、温度が高いほど早く分解し、分解を抑える試薬（BAC）を入れても、完全に止めることはできない。そのため、採水後のサンプルは、採水直後から分析機関へ搬入するまでの間、必ず保冷剤や袋入り氷などを使って、しっかりと冷やした状態で保管する必要がある。

7.3 環境 DNA 調査の活用例

(1) 活用例 1：広域的な生物の生息確認

地域の生物情報を把握したい場合には、魚類や両生類などの分類群ごとに環境 DNA 調査（網羅的解析）を実施することにより、調査対象区域及びその周辺区域に生息する生物種の情報を得ることが可能である。

環境 DNA 調査における調査地点の設定を行う前に、まずは文献調査や聞き取り調査によって収集された情報を整理し、調査対象区域及びその周辺区域に生息する可能性のある生物種を把握することに努める。また、調査地区周辺の生物相に詳しい専門家がいる場合には、適宜、情報収集及び相談することが望ましい。

その上で、以下の考え方を参考として、調査地点の設定を行う。調査時期は、生物の活動が活発なかんがい期を基本とし、調査頻度は1地点当たり最低1回とする。調査精度をさらに向上させたい場合は、調査地点や調査頻度を増やすことが望ましい。

表 7-2 広域的な生物の生息確認のための調査地点設定の考え方

項目	設定の目的例	設定地点例	具体的な場所
1	事業区域に生息する主要な生物種の把握	文献調査や聞き取り調査から得られた「事業区域に生息する可能性のある生物種（魚類や両生類）」の生息環境となりうる箇所	既設の用排水路、揚水・排水機場周辺等
2	事業区域に侵入する可能性のある生物種の把握	事業区域を流れる農業用水路の水源取水口及び用排水路の排水口となる箇所	河川、ため池等
3	事業区域に生息する可能性のある希少種等の把握	事業区域とネットワークがつながっており、かつ、自然度の高い場所や特有の環境条件を有する箇所	河川、ため池、湧水、ビオトープ等

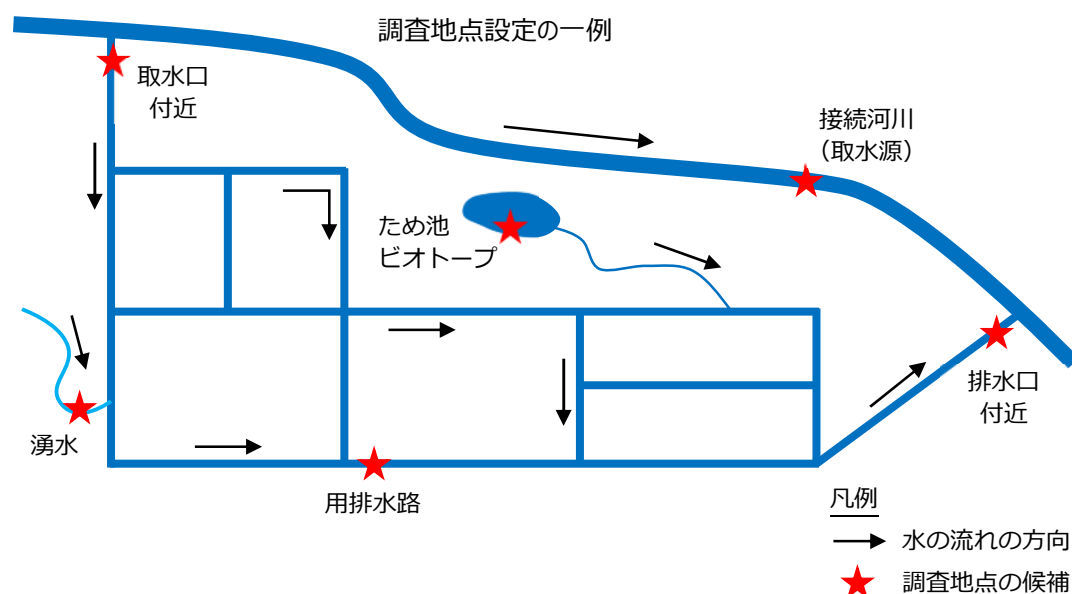


図 7-9 広域的な生物の生息確認のための調査地点設定の一例

(2) 活用例 2：注目すべき種の生息確認

注目すべき種（保全対象生物候補）の生息を確認したい場合は、検出する種を限定した、さらに詳細な環境 DNA 調査（種特異的解析）を実施することにより、重点的に保全すべきエリアや配慮工法、設置箇所の検討につながる情報を得ることが可能である。

注目すべき種（保全対象生物候補）の詳細な調査には、網羅的解析だけでなく、種特異的解析による環境 DNA 調査も有効である。調査対象種を事前に決めてから行う種特異的解析による環境 DNA 調査では、網羅的解析で得られる在・不在データだけでなく、地点間の DNA 濃度を比較することにより、地点間の相対的な生物量の違いを把握することができる。また、網羅的解析は、現時点で適用できる分類群が、魚類や両生類にほぼ限られるのに対し、種特異的解析ではそれ以外の生物（例えば、ホタルやトンボの幼虫等の水生昆虫類やクロモ、バイカモ等の水草類、淡水貝類など）にも適用可能である。

そこで、注目すべき種（保全対象生物候補）として、ここではタナゴ類のアカヒレタビラを対象とした種特異的解析による環境 DNA 調査の計画・実施イメージを示す。この計画・実施例では、事業区域全体をカバーするように 12 地点を設定し、環境 DNA 調査を行っている。種特異的解析の結果から、事業区域におけるアカヒレタビラの分布は、ため池周辺と下流側の水路（赤線で囲ったエリア）に偏っており、分布を限定している要因として、水路内に存在する落差工が影響していることが推測される。したがって、重点的に保全すべきエリアとしては、ため池と区域下流側の水路部であり、配慮工法や設置箇所としては、水路間のネットワークをつなぐための魚道等を落差工が存在する箇所に設置する必要があると評価することができる。また、ため池への外来種侵入防止対策も有効である。

調査タイミングの違いによる生物分布のばらつきの影響を考慮し、調査頻度は 2 回以上が望ましい。また、調査時期は、調査対象とした生物種が水中に存在する時期（例えば、トンボ類の場合は幼虫期）に設定するなどの工夫が必要である。

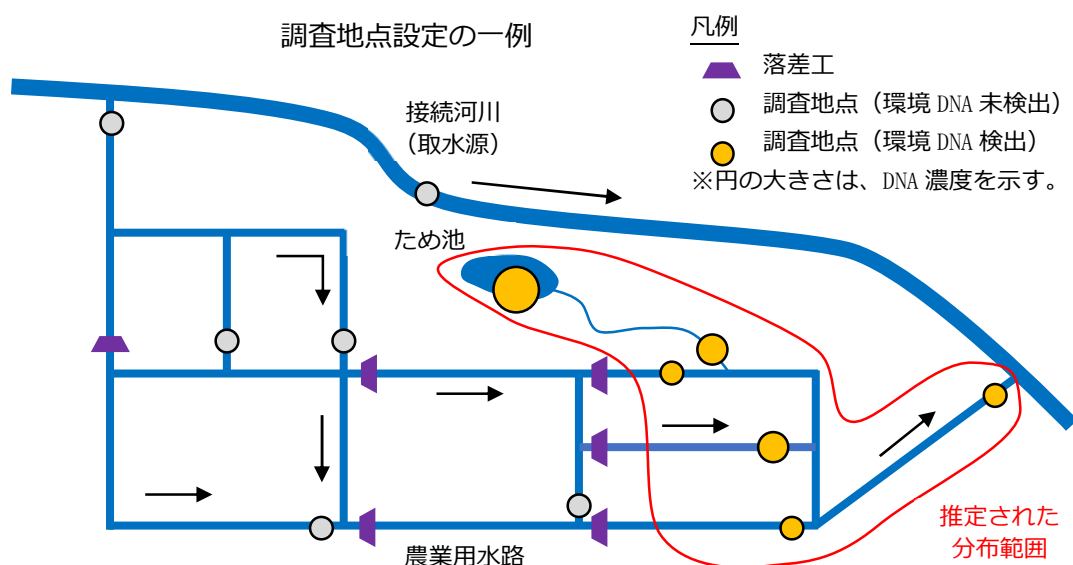


図 7-10 注目すべき種の生息確認のための調査地点設定の一例

(3) 活用例 3：生態系配慮施設等の整備効果の検証

環境 DNA 調査では、生態系配慮施設の設置目的を考慮し、施設のタイプごとに適切な調査地点の配置を行うことで、生態系配慮施設の整備効果をより効果的に把握することができる。

生態系配慮施設は、その目的別に、魚巢ブロックや深み工・ワンド工などのように「生息環境を提供する目的で整備される施設」と、水田魚道・水路魚道のように「移動経路を確保する目的で設置される施設」とに大きく分けられる。環境 DNA 調査では、施設の設置目的を考慮し、適切な調査地点の配置を行うことで、こうした生態系配慮施設の整備効果をより効果的に把握することができる。

例えば、「生息環境を提供する目的で整備される施設」を対象とした調査では、生態系配慮施設の“設置場所自体”に保全対象とした生物種が生息していることを確認することで評価が可能となる。一方で、「移動経路を確保する目的で設置される施設」は、その施設はあくまでもその生物が移動するタイミングでのみ利用するのであって、その設置場所自体に生物が生息するとは限らない。すなわち、「移動経路を確保する目的で設置される施設」を対象とした調査を行おうとする場合は、「生息環境を提供する目的で整備される施設」よりも、さらに広い範囲に対して調査地点を設定する必要がある。

その上で、以下の考え方を参考として、調査地点の設定を行う。また、過去に生物調査（採捕調査や環境 DNA 調査など）が実施されていた場合は、生態系配慮施設が整備される前の状況と比較するために、過去の調査と同じ地点、もしくは、近傍の地点において環境 DNA 調査を実施することが推奨される。

表 7-3 生態系配慮施設等の整備効果の検証のための調査地点設定の考え方

項目	設定の目的	設定地点	配慮施設の例
1	生息環境を提供する目的で整備される施設の現況把握	水路等の流水区域の場合：施設の設置場所（区間）に近く、かつ、設置場所（区間）の下流側の箇所	土水路、ワンド工、蛇かご工、井桁護岸、魚巢ブロック簗などの生態系配慮型水路等
		止水区域の場合：保全対象生物やその他調査対象生物の生息環境条件を有する箇所、かつ、安全に採水が可能な箇所	保全池やビオトープ等
2	移動経路を確保する目的で設置される施設の現況把握	配慮施設によってつながるそれぞれ 2 つの箇所（例えば、水田魚道であれば、水田側と魚道よりも下流の水路側の両方に設定する）	水田魚道や水路魚道等

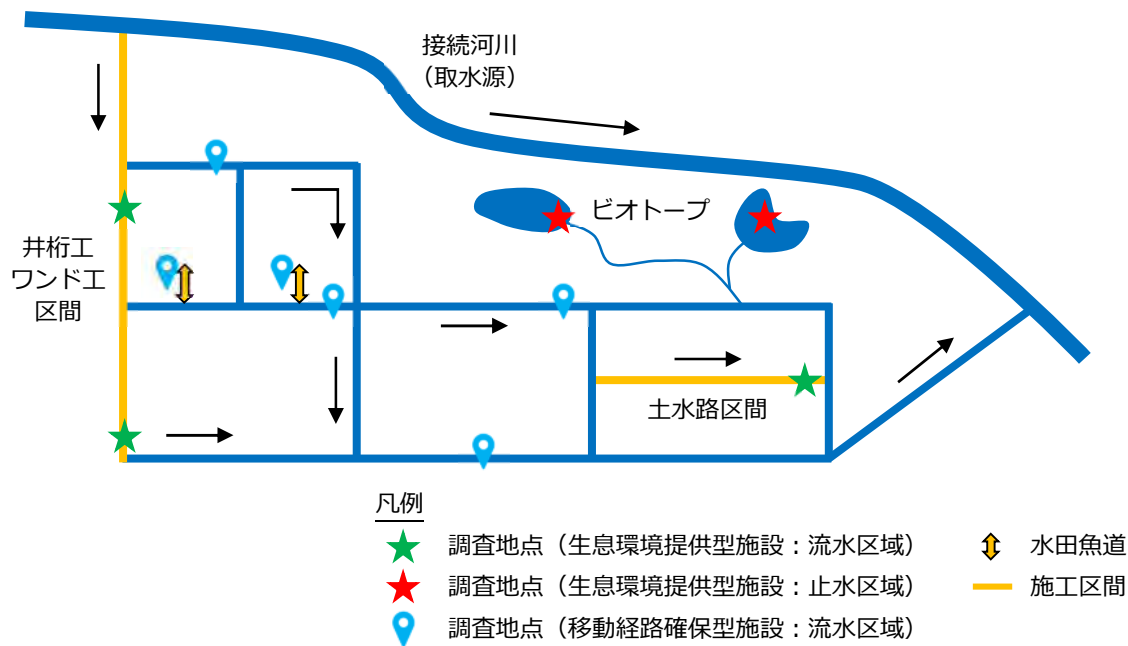


図 7-11 生態系配慮施設等の整備効果の検証のための調査地点設定の一例

なお、調査時期に対する考え方は、生物種が調査対象範囲の水環境を利用している時期に実施する必要がある。一般的には、魚類であれば初夏から秋にかけて、両生類であれば初春から夏にかけての時期が、環境 DNA 調査に適している。特に、保全対象生物を対象とした調査の場合は、その種の生活史や季節移動等を十分に考慮し、可能な限り、繁殖期（卵・稚魚・幼生）と成長期（成魚・成体）の両方の時期に実施されることが望ましい。

調査頻度に対する考え方は、1 地点当たり 1 回以上とする。さらに、希少種や生息密度の低い種等の検出精度を上げたいという場合では、1 地点当たりの調査頻度を増やし、可能であれば、同じ地点でも異なる季節で調査を実施するなどの工夫が望ましい。分析手法は、網羅的解析及び種特異的解析のどちらを適用してもよい。

8. 参考資料・引用資料

- 環境との調和に配慮した事業実施のための調査計画・設計の技術指針（農林水産省農村振興局，平成 27 年 5 月）
https://www.maff.go.jp/j/nousin/keityo/kankyo/kankyou_shishin.html
- 環境との調和に配慮した事業実施のための調和計画・設計の手引き[第 1 編]（食料・農業・農村政策審議会農村振興分科会 農業農村整備部会技術小委員会，平成 14 年 2 月）
- 環境との調和に配慮した事業実施のための調和計画・設計の手引き[第 2 編]（食料・農業・農村政策審議会農村振興分科会 農業農村整備部会技術小委員会，平成 15 年 3 月）
- 環境との調和に配慮した事業実施のための調和計画・設計の手引き[第 3 編]（食料・農業・農村政策審議会農村振興分科会 農業農村整備部会技術小委員会，平成 16 年 5 月）
- 生態系配慮施設の維持管理マニュアル（農林水産省農村振興局，平成 28 年 3 月）
https://www.maff.go.jp/j/nousin/kankyo/kankyo_hozen/attach/pdf/index-16.pdf
- 水域ネットワークの保全対策実施の手引き（農林水産省農村振興局 農村政策部農村環境課，平成 28 年 3 月）
- 水田生態系の保全に視点をのいた整備技術の解説書（農林水産省農村振興局 整備部設計課，平成 23 年 3 月）
https://www.maff.go.jp/j/nousin/keityo/kankyo/suiden_seibi_kaisetu.html
- 魚が棲みやすい農業水路を目指して ～農業水路の魚類調査・評価マニュアル～（国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 農村工学研究部門，平成 30 年 3 月）
https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/pamphlet/tech-pamph/079440.html
- 水田地域における生態系保全のための技術指針 Ver.1.0 (2019.9.30)（令和元年 9 月，滋賀県立大学環境科学部） <https://www.usp.ac.jp/info2/v170/>
- 田園環境整備マスタープラン作成ガイド（農林水産省農村振興局 整備部設計課計画調整室，平成 27 年 4 月）
- 小出水規行，竹村武士，奥島修二，山本勝利，& 蛭原周. (2004). 魚類の生息分布に影響を及ぼす農業排水路の環境要因，河川技術に関する論文集，第 10 巻.
- 矢田谷健一，泉完，東信行，丸居篤 (2015) ドジョウ稚魚の遊泳能力の測定. 農業農村工学会論文集，83(6), II_121-II_126.
- 石川恭子，東淳樹 (2005) 水路の構造からみた水田地帯におけるメダカの生息環境要因. 農村計画学会誌，24(Special_Issue), S19-S24.
- 端憲二，竹村武士，本間新哉，佐藤政良 (2001). 流れにおけるメダカの遊泳行動に関する実験的考察. 農業土木学会誌，69(9), 987-992.
- 竹村武士，小出水規行，奥島修二 (2004). メダカの群泳を可能とする小水路の物理環境を探る--流速，底質を環境因子とした実験. 農業技術，59(7), 316-321.
- 阿部勝一郎，福田信二，平松和昭 (2005). 農業用水路におけるメダカの環境選好性の定量化. 九州大学大学院農学研究院学芸雑誌，60(2), 173-178.

- 環境 DNA 調査・実験マニュアル Ver. 2.2（一般社団法人環境 DNA 学会，2020 年 4 月 3 日発行）
- Sakata, M.K., Maki, N., Sugiyama, H. *et al.* (2017) Identifying a breeding habitat of a critically endangered fish, *Acheilognathus typus*, in a natural river in Japan. The Science of Nature 104, 100. <https://doi.org/10.1007/s00114-017-1521-1>
- Doi, H., Katano, I., Sakata, Y., Souma, R., Kosuge, T., Nagano, M., Ikeda, K., Yano, K., Tojo, K. (2017) Detection of an endangered aquatic heteropteran using environmental DNA in a wetland ecosystem. Royal Society open science, 4(7), 170568. <https://doi.org/10.1098/rsos.170568>
- Fujiwara, A., Matsushashi, S., Doi, H., Yamamoto, S., Minamoto, T. (2016) Use of environmental DNA to survey the distribution of an invasive submerged plant in ponds. Freshwater Science 35 (2), 748-754. <http://doi.org/10.1086/685882>
- 一般社団法人環境 DNA 学会（2021）「環境 DNA—生態系の真の姿を読み解く—」
- レッドリスト作成の手引（絶滅のおそれのある野生生物の選定・評価検討会，令和 2 年 2 月）
- 社団法人農業土木学会（2003）「改訂 5 版農業土木標準用語辞典」

9. 用語集

AIC

赤池の情報量規準 (Akaike information criterion) のこと。日本の数理統計学者である赤池弘次が考案し、モデル選択の標準的な手法として世界的に用いられている。モデルのあてはまり度を表す統計量であり、値が小さいほど当てはまりが良いとされる。

DNA

デオキシリボ核酸 (deoxyribonucleic acid) のこと。DNA は、リボースと呼ばれる糖とリン酸およびアデニン (A)、グアニン (G)、シトシン (C)、チミン (T) という塩基で構成されている。DNA を構成する 4 つの塩基の並び方 (DNA 配列) は種ごとや個体ごとに異なっているため、DNA 分析により塩基の並び方を明らかにすることで、種識別や個体識別を行うことができる。

DNA 濃度

採水したサンプルに含まれている DNA の量のこと。DNA 濃度の違いから、相対的な生物量レベルの比較ができる。ここで比較できる生物量については「生物量 (種特異的分析における)」に詳述。

DNA 配列

DNA は、リボースと呼ばれる糖とリン酸およびアデニン (A)、グアニン (G)、シトシン (C)、チミン (T) という 4 種類の塩基で構成されており、A,G,C,T という 4 つの塩基で表現される。DNA 配列とは、この 4 種類の塩基の並び方のこと。

井桁護岸

河岸、堤防などを水流の洗掘から守るため、木製の横桁・縦桁をかみ合わせ交互に積重ねて井桁状にしたものを設置する根固め工法。(出典：環境との調和に配慮した事業実施のための調査計画・設計の技術指針)

一般化線形モデル (GLM) / 一般化線形混合モデル (GLMM)

一般化線形モデル (GLM) は、残差を任意の分布とした線形モデルで、線形回帰、ポアソン回帰、ロジスティック回帰などが含まれる。データの特性に併せた分布系を仮定した柔軟な解析が可能であり、近年よく生物データの解析に用いられている。一般化線形混合モデル (GLMM) は、上述の一般化線形モデルに、グループ化のためのランダム効果 (例えば、地域名のようなカテゴリ変数) を組み込むことができる、一般化線形モデルの拡張的な手法である。

今回の解析において、一般化線形モデルの解析には `glm` 関数を、一般化線形混合モデル解析には `lme4` パッケージの `glmer.nb` 関数を用いた。モデル構築の際には、解析対象とする各種データの特徴に合った分布系 (多様度指数等の連続値：ガウス分布、個体数：負の二項分布 (対照区に 0 データが多く、過分散の傾向が見られたため)、底質・植生等の割合値：二項分布) を指定した。また、全国のデータを一括して個体数の解析を行う際には、調査地区をランダム効果、調査地区の面積をオフセット項として組み込んだ。また、本検討で有意差を算出する際には、3 群以上を同時に比較したため、「`multcomp`」パッケージの `glht` 関数を用い、Tukey 法による多重比較を実施して有意差の調整を行った。

環境 DNA

環境 DNA の学術的な定義にはいくつかあるが、本資料では、河川や湖沼など環境水中に含まれるすべての DNA を環境 DNA としている。環境 DNA には、大きく分けて、水中の細菌などの微生物や、小型のプランクトンといった顕微鏡サイズの生物等に由来するものと、水中に生息する魚類や両生類等の体表からはがれ落ちた細胞片や粘液、放出された糞に由来するものがある。

環境 DNA 調査

DNA 分析技術を応用して、環境水サンプルに含まれる生物由来の DNA から、そこに生息する生物種を間接的に調べる方法のこと。現場から採水した環境水サンプルには、そこに生息する生物種の環境 DNA が含まれているが、調査内容に合わせた分析方法を選択することで、特定の生物群（例えば、魚類や両生類など）だけを選択的に調べるといったことが可能となる。



環境水

河川や湖沼、海、地下水などの自然環境中に存在している水。

偽陰性

採水した地点にその種が「生息している」にもかかわらず、何らかの原因によってサンプルからその種の環境 DNA が検出されなかったことで「生息していない（＝陰性）」と誤判定されてしまうこと。生息密度が非常に低い種は、検出できないときがある。また、採水地点の流量が多い時期は、DNA が希釈されたり、減衰したりすることで一部の種が検出できないときがある。

希少種

一般的に生息数が少なく、あまり目にすることがない生物種のこと。「絶滅危惧種」よりも広義であり、絶滅危惧種よりも緊急性はないが、生息地が限られていたり、特殊な環境条件を必要としていたり生息地の環境変化に弱い種や個体数が減少している種である。

偽陽性

採水した地点にその種が「生息していない」にもかかわらず、何らかの原因によってサンプルからその種の環境 DNA が検出されたことで「生息している（＝陽性）」と誤判定されてしまうこと。家庭排水や食品工場、養魚場等の排水等に由来する DNA が存在した場合、実際には採水地点に生息していない種が検出されることがある。また、採水時や分析時に外部から DNA が混入し、サンプルが汚染してしまうと、採水地点に生息していない種を誤検出することがある。

魚巢ブロック

水域の生物に生息場・かくれ場を提供するため、護岸ブロックに空隙等を設けたもの。主に二次製品。（出典：環境との調和に配慮した事業実施のための調査計画・設計の技術指針）

決定木分析

決定木分析は、「判別」、「分類」を目的として使われるデータ処理法である。目的変数となるデータを最も適切に分割できる位置を、説明変数との対応を通じて分類していく。最終的に、木の枝が分かれたような図形が得られるため、決定木分析と呼ばれる。

今回の解析においては、実際の調査データから、「水路底に占めるコンクリートの割合」が70%を超える場合に、魚類の多様度指数が適切に分類されると判断された。

蛇かご工

栗石等を蛇かごで包んだ工法で、多孔質な護岸を形成する。捨石や植生により、生物の生息空間を形成する。(出典：環境との調和に配慮した事業実施のための調査計画・設計の技術指針)

シャノン・ウィーバーの多様度指数

シャノン・ウィーバーの多様度指数は、生物の多様性を把握するためによく用いられる多様度指数の一種。種数が多く、それぞれの種類の個体数が均等であるほど大きな値をとることが知られており、生物群集の均等度と多様度を評価するための指数として知られている。一般に、以下の式を用いて算出される。

$$H' = - \sum_{i=1}^S P_i \log_e P_i (0 \leq H')$$

S は種数、Pi は i 番目の種類の個体数が総個体数 N に占める割合を示し、Pi=ni/N となる。

シャノン・ウィーバーの多様度指数の値は種の個体数分布によって大きく変わるが、自然環境では、0.5～3.5 の値をとると言われている。

種特異的解析／網羅的解析

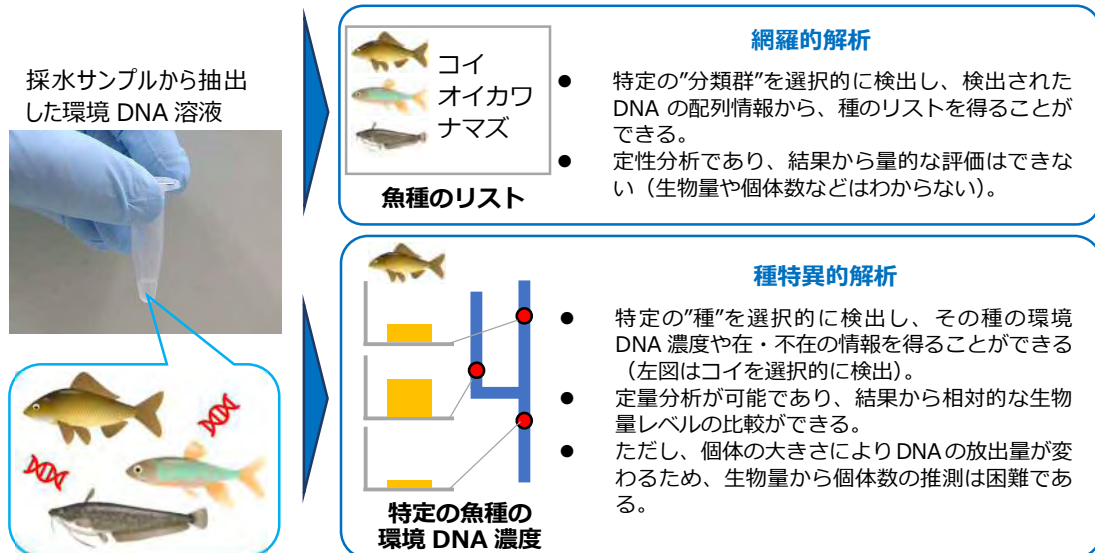
<種特異的解析>

特定の種を対象とし、その種の DNA が採水したサンプル中に含まれるかどうか、もしくはどれくらいの量があるかを測定する手法。どれくらいの量があるかを測定する場合には、結果から相対的な生物量レベルの比較ができる。ただし、個体の大きさ等により DNA の放出量が変わるため、生物量から個体数の推測は困難である。

<網羅的解析>

特定の“分類群”を選択的に検出し、検出された DNA の配列情報から、種のリストを得ることができる手法。対象となる分類群に属する種を網羅的に検出することができるため、調査地区にどのような生物種が生息しているかのモニタリングなどに用いられる。

(出典：環境 DNA—生態系の真の姿を読み解く—を基に作成)



循環かんがい

水田等で利用された農業用水は、排水路を通して河川や湖沼へ排水される。循環かんがいは、取り込んだ農業用水を排水せず、農業排水を農業用水として循環し、再利用する方法。用水が循環しているため、下流にしか生息していない生物の DNA が、循環かんがいによって上流に運ばれる可能性がある。

水田魚道

排水路と水田の間の落差による移動障害を解消し、魚類等の移動経路を確保するための施設。(出典：環境との調和に配慮した事業実施のための調査計画・設計の技術指針)

水路魚道

水路内の落差による移動障害を解消し、魚類等の移動経路を確保するための施設。(出典：環境との調和に配慮した事業実施のための調査計画・設計の技術指針)

生態系配慮施設

農業施設の近代化は、生産性の向上や維持管理能力の軽減といった恩恵をもたらしてきた一方で、人と自然の調和した環境を崩壊させる要因ともなっている。そこで、農村環境における生物多様性の危機を解消するための有効な手段として、生物の生息・生育環境および移動経路の確保を目的とした生態系配慮施設が施工されている。水路に施工されたワンド工や蛇かご工、魚道等の施設、造成された保全池やビオトープ等を総称して生態系配慮施設という。(出典：水田生態系の保全に視点を置いた整備技術の解説書を基に作成)

生物量（種特異的分析における）

個体数や生物量と環境 DNA 濃度の間に正の相関があったとしている研究例が複数見られるが、相関の強さは研究例によって大きく異なっている。これは、流速や水質などの環境要因や生物の生理・生態要因によるものと考えられており、流水環境において個体数や生物量を推定することは困難である。ただし、100 個体なのか、1000 個体なのかといった解像度であれば個体数推定にも利用できる可能性が報告されている。(出典：環境 DNA—生態系の真の姿を読み解く—を基に作成)

絶滅危惧ⅠA類

絶滅危惧ⅠA類 (CR) は、「深刻な絶滅の危機に瀕している種」と定義される。絶滅リスクの点で最上位にあるカテゴリーである。基本概念は、「現在の状態をもたらした圧迫要因が引き続き作用する場合、野生での存続が困難なもの」で、これに加えて「ごく近い将来における野生での絶滅の危険性が極めて高いもの」である。(出典：レッドリスト作成の手引)

絶滅危惧Ⅱ類

絶滅危惧Ⅱ類 (VU) は、「絶滅の危険が増大している種」と定義される。絶滅リスクの点では CR 及び EN の下位にあるカテゴリーであり、基本概念は、「現在の状態をもたらした圧迫要因が引き続き作用する場合、『絶滅危惧ⅠA類 CR』または『絶滅危惧ⅠB類 EN』のランクに移行することが確実と考えられるもの」とされている。(出典：レッドリスト作成の手引)

絶滅危惧種

「絶滅危惧」は、絶滅危惧ⅠA類 (CR)、絶滅危惧ⅠB類 (EN)、絶滅危惧Ⅱ類 (VU) の3つのカテゴリーの総称である。(出典：レッドリスト作成の手引)

定性分析

採水したサンプルにどんな生物種の DNA が含まれているかを分析する方法。サンプル中に含まれる生物種のリストを得ることができるが、それらの量については評価することができない。

定量分析

採水したサンプルに含まれている DNA の量を分析する方法。標的となる特定の種の DNA の量を明らかにすることができるが、サンプル中に含まれる生物種のリストを得ることはできない。

土水路

コンクリート等で護岸を施さない水路。底や岸が土のため、植物が生育し、多様な生物の生息・生育環境が形成される。(出典：水田生態系の保全に視点を置いた整備技術の解説書)

ビオトープ

1つの生物種の生息もしくは生物群集に必要な空間的なまとまり。生物の生息場所を示すハビタットと同義に使われることも多いが、一般に、生息空間をその性状・状態により分類する場合はビオトープを用いる。ビオトープの境界部分には群集構成種が漸次移行していくエコトーンが成立する。コリドーと呼ばれる生物の移動経路で生息地間を結び、ビオトープ・ネットワークという概念で計画的な生物相保全が図られている。また、景観的なまとまりに着目したものにエコトーンがある。(出典：改訂5版農業土木標準用語辞典)

深みエ

水路の底に部分的な深みを設置するための施設。水量が少ない場合でも水路内の水深を確保し、魚類の生息場所や移動経路を保全・創出する。

ブランクサンプル

DNA が含まれていない超純水等をサンプルとして用いたもの。採水時や輸送中のサンプルの汚染の有無を確認するために準備する。なにも検出されないはずのサンプルであるため、何らかの DNA が検出された場合には、サンプルが汚染されていると考えられる。

保全池

代償措置として新たに池を整備したもの。(出典：環境との調和に配慮した事業実施のための調査計画・設計の技術指針)

レッドリスト

絶滅のおそれのある野生生物の種のリストのこと。国際的には国際自然保護連合 (IUCN) が作成しており、国内では、環境省のほか、地方公共団体や NGO などが作成している。環境省では、日本に生息する野生生物について、生物学的な観点から個々の種の絶滅の危険度を評価し、レッドリストとしてまとめている。動物については、哺乳類、鳥類、両生類、爬虫類、汽水・淡水魚類、昆虫類、陸・淡水産貝類、その他無脊椎動物の分類群ごとに、植物については、維管束植物、蘚苔類、藻類、地衣類、菌類の分類群ごとに作成されている。

(出典：環境省 HP、<https://www.env.go.jp/nature/kisho/hozen/redlist/>)

ワンドエ

魚類等の移動の際の休息場や避難場とするため、入り江状の水域を設けたもの。土砂や植生により生物の生息・生育環境も形成される場合がある。(出典：環境との調和に配慮した事業実施のための調査計画・設計の技術指針)