

2024.12.1 Sun.  
公開シンポジウム



つくば国際会議場 Leo Esaki メインホール  
& オンライン

開場 13:30 講演 14:00 ~ 16:30

環境DNA分析で斬る! 侵略的外来種



茨城県でみかける外来種たち

要旨集  
Abstract



Leo Esakiメインホールでのご飲食はお控えください。発表中の写真撮影、録画などは発表者の許可が必要です。発表内容は多くの未公開データを含んでおりますので、発表者の許可なく公表はお控えください。本シンポジウムの参加者にご利用いただける託児室（事前申し込み制）を設置しました。

Please refrain from eating and drinking in Leo Esaki Main Convention Hall. Please refrain from photographing or recording oral presentations without the presenter's permission. Please refrain from making public the contents of presentations outside the conference without the presenter's consent, as they may contain unpublished data. A child-care room (advance registration required) has been set up for the use of participants of this symposium.

The session will be in Japanese, with minimal English-language usage expected. Lectures can be translated into English (or other languages supported) using the translated caption function in the Zoom webinar. Onsite participants also can connect to the Zoom webinar via the venue's Wi-Fi.

14:00-14:10

開会挨拶

-農研機構 農業環境研究部門所長 山本勝利・・・・・・・・・・・・・・・・P.5

14:10-14:40

外来種問題解決の糸口:環境DNA分析が役立つ場面

-国立環境研究所 五箇公一・・・・・・・・・・・・・・・・P.6

14:40-15:05

通水阻害対策における環境DNA分析の活用事例

-農研機構 伊藤健二・・・・・・・・・・・・・・・・P.8

15:05-15:30

貝類メタバーコーディング法の開発と活用事例

-いであ株式会社 中村匡聡・・・・・・・・・・・・・・・・P.9

15:30-15:55

鳥獣害対策における環境DNA分析の活用事例

-農研機構 小坂井千夏・・・・・・・・・・・・・・・・P.10

15:55-16:25

総合討論

-座長：土木研究所 村岡敬子

16:25-16:30

閉会挨拶

-環境DNA学会第7回大会長・農研機構 農村工学研究部門 小出水規行

本シンポジウムは、農研機構と環境DNA学会の共催により、第7回環境DNA学会つくば大会（2024年11月30日～12月4日）と会期を合わせて実施しました。



## 公開シンポジウム「環境DNA分析で斬る！ 侵略的外来種」

令和5年5月、農林水産業における生物多様性に関する課題や施策をまとめた「農林水産省生物多様性戦略」が改定されました。今回の戦略では、自然環境と調和した持続的な農林水産業の発展を図る上で、野生生物による農林水産業への被害の低減、なかでも近年その被害が深刻さを増している外来生物による被害について、早期の対応が重要であると指摘されています。

農研機構では、令和元年から5年度にかけて農林水産省委託プロジェクト研究「農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発」に取り組んできました。その中では、カワヒバリガイやタイワンシジミなど外来二枚貝による農業水利施設の通水障害を防止するための早期検知手法や定着地での駆除技術、ナガエツルノゲイトウやアレチウリなどの外来雑草に対する効率的な防除技術や分布拡大を防止のための管理技術を開発し、その普及に努めてまいりました。

今回、プロジェクト研究の成果のうち、環境DNA分析を活用した侵略的外来種の検知・評価手法に焦点をあて、最新の研究成果や技術開発の進展について関係・関心のみならずと議論するための場として、公開シンポジウム「環境DNA分析で斬る！ 侵略的外来種」を開催させていただきます。環境DNA分析の技術開発は、学術研究と社会実装の両面において、進歩の著しい分野でもあります。そこで本シンポジウムでは、一般社団法人 環境DNA学会と共催し、アカデミアの知見や民間企業のニーズ・経験を反映させることで、研究・開発の担当者と現場での実務を担う方々の連携を推進し、環境DNA分析のさらなる発展と普及を目指すこととしました。

本シンポジウムを通して、環境DNA分析に関心をもつ多くの方々とともに、技術の進展と応用の可能性を検討したいと考えています。

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構  
農業環境研究部門所長  
山本 勝利

## 外来種問題解決の糸口:環境DNA分析が役立つ場面

国立環境研究所 五箇 公一

外来生物の存在は決して新しいものではなく、人間が地球上に誕生して、分布拡大を始めたときより、その歴史が始まったと言っていいでしょう。古い時代には、人間そのものの移動能力や搬送能力には限界があり、外来生物の移動量も限られたものであり、何より、人間の生息域周辺にはまだ豊かな自然と生態系が残されていたので、外来生物による影響も極めて軽微なものだったと考えられます。

しかし人間が化石燃料を手にしたときより、人間自身の移動能力・運搬能力の拡大に加え、自然生態系が急速に破壊・改変されたことで、外来生物の侵入・定着・分布拡大が爆発的に進行する事態となりました。そして増えすぎた外来生物たちは様々な生態影響をもたらし、いまや全世界で生物多様性のみならず人間社会の安心・安全までも脅かす存在となっています。

生物多様性条約においても、国の生物多様性国家戦略においても、外来生物対策は、生物多様性保全上の優先課題の一つと位置付けられています。特に我が国では、2005年から環境省・外来生物法が施行され、本法律で規制対象として指定される「特定外来生物」に対しては、国および自治体が責任主体となって、防除に取り組むことが決められています。国税・地方税を投じて防除を進める以上、効果的・効率的な方法・技術が求められます。

外来生物防除を進める上で、以下の侵入ステージの把握が重要な課題となります。①いかに早期に侵入を発見するか、②いかに正確に分布域を特定するか、そして、③いかに防除の効果を検証するか。すなわち、外来生物の在・不在を的確に捉えることが必要とされます。

特に外来生物（に限らず、いかなる生物も）は、低密度時には、目視やトラップによる捕獲では、その実態を把握することが困難となります。また、菌類やダニ・センチウなどのように微小な生物の場合も、生息の確認は難しくなります。

これら、外来生物の検出という難題の解決において、環境DNA技術の実装が期待されています。本講演では、国立環境研究所における外来生物対策研究の最新情報を交えながら、環境DNAの適用が今後どのように想定されるのか、議論してみたいと思います。

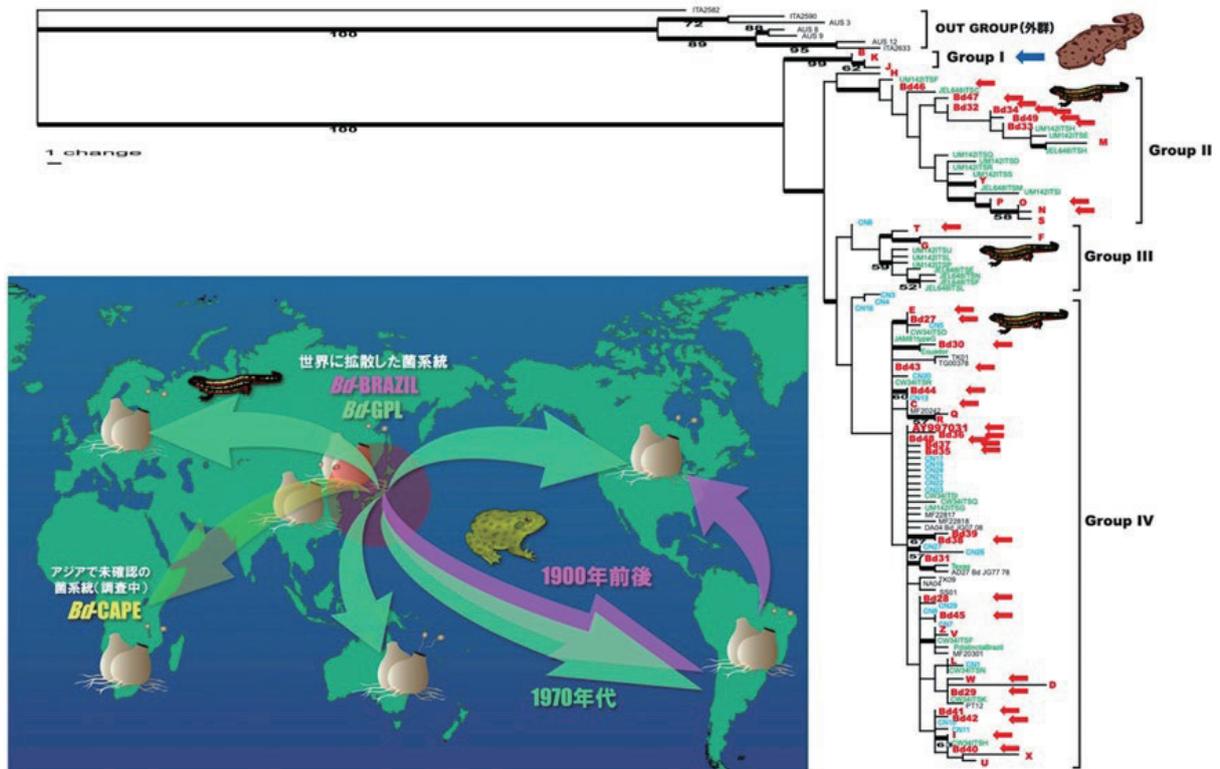


図1. DNA分析による両生類の新興感染症カエルツボカビ菌の世界的分布拡大プロセスの解析

カエルツボカビ菌とは真菌の一種で、両生類にのみ感染して発症する病原菌である。2000年代に入ってから急速に世界でパンデミックを引き起こし、主にラテンアメリカを中心として両生類の野生集団に甚大な被害を与えて、いくつかの種や個体群は絶滅に追い込まれた。2006年に日本国内でも南米産ペット用カエル（ベルツノガエル）の輸入個体から本菌が発見され、本菌の侵入による在来両生類の被害が懸念された。

国立環境研究所で緊急の検査体制を整え、日本全国および海外よりスワブ（綿棒）法によって様々な両生類に寄生する菌を採取し、そのDNA情報から起源（発生源）を追跡した結果、日本固有のオオサンショウウオやシリケンイモリという有尾両生類が起源宿主であることが強く示唆された（Goka et al. 2009, 2010, 2021）。

北米原産のウシガエルが食用として、あるいはまた、シリケンイモリがペットとしてトレードされる過程で日本の菌が持ち出され、世界に拡散したと考えられる。このような目に見えない外来生物の検出においては、DNA分析は極めて有効なツールとなる。

本菌は、水を介して伝搬することから、今後、環境中におけるカエルツボカビ菌DNAを検出する技術を開発することで、本菌の分布拡大状況を迅速に把握し、希少な野生両生類集団に感染が及ぶ前に域外保全など緊急避難措置をとることが可能となる。

## 通水障害対策における環境DNA分析の活用事例

農研機構 農業環境研究部門 伊藤 健二

農業や生活に利用する必要から、日本では古くから貯水池や水路などで水を循環・活用する高度なシステムを発展させてきました。しかし近年、このシステムに侵入した水生外来種による様々な問題が顕在化しつつあります。

特定外来生物カワヒバリガイは中国・朝鮮半島が原産の付着性二枚貝で、国内では近畿・東海・関東地方の広い範囲で生息が確認されています。本種は生態系への影響に加え、通水パイプを詰まらせるなどの問題を引き起こすことが知られており、水利施設での早期発見・早期対策が重要な課題となっています。しかし、低密度のカワヒバリガイを目視で発見することは難しく、対策の障害となっていました。そこで現在、カワヒバリガイの生息を把握する手法の一つとして、環境DNA技術が活用されています。

利根川水系に属する霞ヶ浦には2005年からカワヒバリガイが確認され、霞ヶ浦を水源とする広い範囲で水路を経由した分布拡大が報告されています。利根川水系と隣接する那珂川水系にも2014年、霞ヶ浦を水源とする水路からのカワヒバリガイの侵入が確認されました(図1)。しかし、発見当初の調査範囲はごく狭く、那珂川水系内のカワヒバリガイがどのような状態なのかは不明でした。

そこで、那珂川水系内の貯水池・河川・湖沼を対象にカワヒバリガイの種特異的環境DNA調査を実施したところ(1)調査を行った貯水池のうち、霞ヶ浦の水を利用する貯水池のほとんどからカワヒバリガイ由来のDNAが検出された(2)DNAの検出された貯水池の水抜きを行った結果、カワヒバリガイの生息が確認された(3)河川・湖沼からもカワヒバリガイ由来のDNAが広範囲で検出された、といったことが明らかになりました。これらの結果は、施設を管理する土地改良区や地元の自治体に提供され、落水によるカワヒバリガイの駆除対策などに活用されています。



図1. 霞ヶ浦から拡散するカワヒバリガイ



図2. 土地改良区と共同実施した環境DNA調査

## 貝類メタバーコーディング法の開発と活用事例

いであ株式会社 中村 匡聡

侵略的外来種であるカワヒバリガイは、農業水利施設に侵入・定着することにより通水障害を誘発し、施設の用排水機能が損なわれる事例が報告されています。カワヒバリガイを駆除するための手法（落水操作や薬剤処理など）が開発されつつありますが、駆除手法の有効性を現地試験によって検証する際には、駆除の対象となる外来種以外の生物に対して負の影響を及ぼすことがないように、共存する在来種の組成や現存量についても併せて評価することが望ましいと考えられます。

農林水産省委託プロジェクト研究「農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発」において、水路や貯水池等の農業水利施設に生息する主要な生物のうち、特に貝類を網羅的に分析するための環境DNAメタバーコーディング手法を新たに開発し、早期侵入検知や駆除作業による在来種の生物相への影響を効果的にモニタリングする手法としての環境DNA調査の適用性を検証しました。

本講演では、貝類メタバーコーディング法の概要と、その手法を用いた生物モニタリング実証試験の結果について情報提供します。

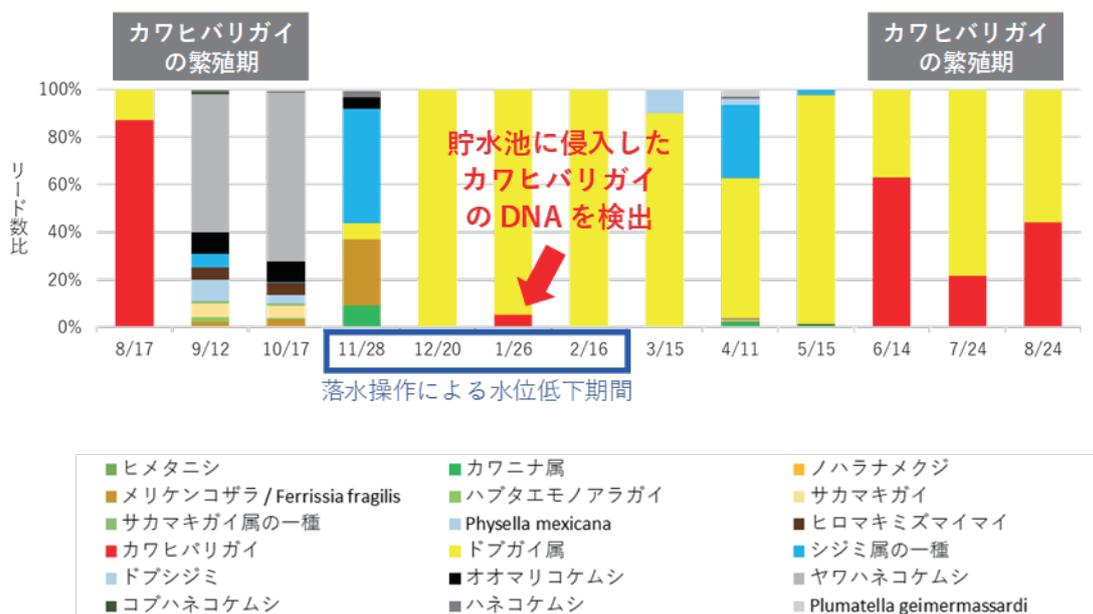


図1. 貝類メタバーコーディングによるカワヒバリガイの早期侵入検出の一例

## 鳥獣害対策における環境DNA分析の活用事例

農研機構 畜産研究部門 小坂井 千夏

鳥獣害対策は、農業生産性の向上のみならず、生物多様性の保全、野生動物と人や家畜、ペットとの共通感染症のリスクの低減、そして深刻な人身被害を出してしまうクマ類等の大型哺乳類の市街地侵入を未然に防ぐことなど、私たちの安心・安全な暮らしを守るために取り組むべき重要な課題です。

全ての鳥獣対策の出発点は、迅速かつ正しく種を見分けることです。特定外来生物に指定されているキョンやアライグマ等、そして大型獣の市街地侵入において早期の対策のために迅速な侵入検知が重要ですし、被害を出している種を正しく判別することで加害種の特性に応じた効果のある対策を速やかに行うことも重要です。しかし、農作物が食べられた痕や農地等に残った動物の痕跡だけでは、どの種が被害をだしたのか判別が難しいことが多々あります。また、クマらしい動物、キョンらしい動物といった目撃情報も多くありますが、これまでは後からその真偽を確かめることは困難でした。

環境DNA分析は、水棲の生物の生息・分布情報や、近年では量的な評価をする方法として急激な発展を遂げてきましたが、上記のようなこれまでは困難だった鳥獣種の迅速検知等にも十分に使える技術だと確信して、この数年、研究に取り組んできました。鳥獣害対策の現場で活用するには、誰もが簡単かつ迅速に分析ができること（さらに言えば「お安く」分析できること）がとても重要です。例えば、農作物が食べられた痕（食痕）から加害した動物のDNAを簡易に検出する方法を開発しています。なお、陸上で生活する鳥獣の対策、調査研究に環境DNA分析を活用していくための基盤として必要な、陸上動物のDNAがどのように環境中に排出されるのか、いつまで残存するのか等についてもほとんど分かっておらず、こうした点の研究にも取り組んでいます。

本発表では、鳥獣害対策において環境DNA分析を活用するための研究の成果をいくつかご紹介した上で、環境DNAを活用することでどのように効果的な防除・対策につなげられるか、今後の展望についてもお話しさせていただきます。



図1. イチゴの残さを食べに来たアライグマ

どんな動物が被害を出しているかを調べる方法として、環境DNA以外には自動撮影カメラを使う方法がある。農作物の収穫残さに自動撮影カメラを設置すると、残さを食べにくる動物が沢山撮影される（1か所に集まる農作物残さは、野生動物にとってエネルギー獲得効率の高い魅力的な餌になってしまう）。自動撮影カメラでの調査が適する場合もあるが、広い農地の中で加害種を確実に撮影できるとは限らない。農作物の食痕等に残った動物由来のDNAを採取すれば、被害を出した種を判別できる。被害が拡大する前に、迅速に分析ができることも重要だ。



### 五箇 公一 GOKA Koichi (国立環境研究所)

専門は保全生態学、農薬科学、ダニ学。外来生物防除、農薬リスク管理、および人獣共通感染症対策など、様々な生態リスク研究を通じて、生物多様性と人間社会の関わり方および持続性について模索している。



### 伊藤 健二 ITO Kenji (農研機構)

専門は底生生物の生態学。外来生物の分布拡大や環境・人間生活への悪影響をどのようにコントロールすればよいのか、という問題に関心を持っています。



### 中村 匡聡 NAKAMURA Masatoshi (いであ株式会社)

環境コンサルタント会社の職員として生物調査や環境アセスメント業務に長年従事。専門は魚類学、保全生態学、DNA分析。現在は環境DNA分析手法に関する技術開発に注力している。



### 小坂井 千夏 KOZAKAI Chinatsu (農研機構)

専門は鳥獣害対策、野生動物の保護管理、哺乳類の生態学。環境DNA分析を鳥獣害対策現場で活用すべく奮闘中。家では3児の母で奮闘中。令和4年度若手農林水産研究者表彰、第16回日本哺乳類学会奨励賞受賞。



### 村岡敬子 MURAOKA Keiko (土木研究所)

専門は土木工学。魚道の研究をきっかけに、土木研究所において魚が関わる研究全般を30年以上担当。現在は、環境DNAを河川管理の現場で活用するための調査技術の標準化に取り組んでいる。

MEMO

農林水産省委託プロジェクト

「農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発  
(2019～2023)」の概要説明・・・・・・・・・・・・・・・・ P.14

特定外来生物カワヒバリガイによる通水阻害問題とその対策  
－農研機構のこれまでの取り組みと今後の課題－

-農研機構 伊藤健二・・・・・・・・・・・・・・・・ P.16

環境DNA分析による農業水路系に生息する生物相の  
網羅的解析手法の開発

-いであ株式会社 中村匡聡・・・・・・・・・・・・・・・・ P.20

鳥獣害対策の基本と迅速判定の重要性

-農研機構 小坂井千夏・・・・・・・・・・・・・・・・ P.24

## 農林水産省委託プロジェクト 「農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発 (2019～2023)」の概要説明

生物多様性の基盤となる農業環境に甚大な影響を及ぼす外来二枚貝（カワヒバリガイなど）や外来雑草（ナガエツルノゲイトウやアレチウリなど）の侵入・定着リスクが急増しています。これらの侵略的外来種による農地侵害や農作物損害を防ぐため、的確なモニタリングに基づく情報を活用して、侵入初期段階に駆除し、被害拡大を効率的かつ効果的に防ぐ管理技術体系を確立しました。

小課題1：カワヒバリガイについては貯水池の落水による密度低減技術を開発し、実証実験により成貝や浮遊幼生の密度減少、分布拡大の抑制効果などが示されました。現在、薬剤を組み合わせ、より効率的な密度低減技術を開発しています。タイワンシジミについては環境DNAを用いた分析・調査により、管路内における分布や堆積位置の特定が可能であること明らかにし、その結果をもとに堆積位置を推定する数理モデルを開発しました。引き続き、効率的かつ効果的な駆除の実現に向け、モデルの精度を高めるための実証試験を行っています。

小課題2：ナガエツルノゲイトウに効果の高い水稲用除草剤を選抜し、イネの収量に影響を及ぼすことがなく、本田内のナガエツルノゲイトウの地上部および地下部の乾物重を1割以下に低減する複数の防除体系を確立しました。また、循環灌漑において分布拡大の核となる茎断片を水田の入水口や水利施設で回収する技術を開発するとともに、流域内における個体群動態モデルを構築し、モデルを用いたシミュレーションにより、防除経費を加味した効率的な駆除時期や回数等の検討を可能にしました。

小課題3：アレチウリに対して効果の高い除草剤を選定し、除草剤との併用により、アレチウリ優占群落からイネ科優占群落へ移行させる防除体系を開発しました。現在、ドローンを活用した分布域の観測により、駆除すべき地域の抽出と駆除効果を可視化する技術開発を継続しています。

小課題4：カワヒバリガイ、タイワンシジミ、ナガエツルノゲイトウ、アレチウリ、スクミリンゴガイ、カダヤシ、ミズヒマワリの7種を対象に、DNAの遺伝情報に基づくモニタリング手法を開発しました。水域に生息・生育する6種については環境DNAを採取し、LAMP法によるオンサイト検知およびメタバーコーディングによる網羅的解析手法を確立しました。

農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発  
これまでの成果の概要

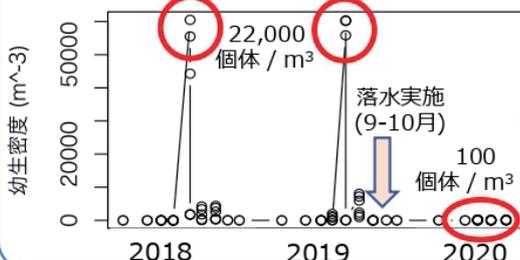


小課題1：農業水利施設網における外来二枚貝の駆除・低密度管理手法の開発

貯水池の落水により翌年以降に流出するカワヒバリガイの幼生量を低減

落水管理等を標準手順書として公表

水酸化カルシウム施用によりカワヒバリガイの密度を低減

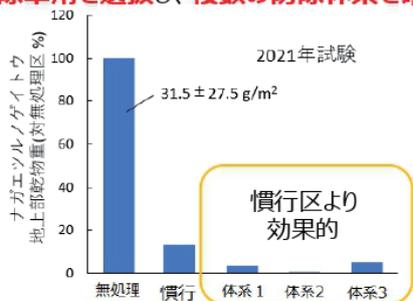


給水槽壁面(水酸化カルシウム施用6日後)

小課題2：循環灌漑地帯における外来水草の駆除・低密度管理手法の開発

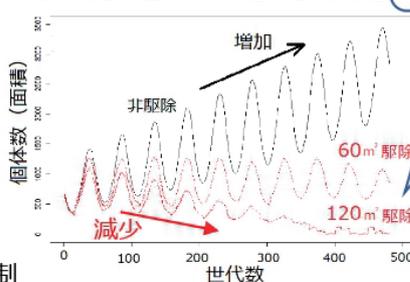
ナガエツルノゲイトウに対する効果の高い除草剤を選抜し、複数の防除体系を確立

個体数の変化を駆除面積別に推定モデルを開発



効率的な低密度管理を実現するための駆除面積の決定に活用可能

桑納川流域では年間120m²以上の駆除で減少し、10年以内に個体数を低密度に抑えられると予測



水利施設等での拡散防止手法を開発



選抜除草剤の体系処理で地上部残草量抑制

小課題3：農耕地およびその周辺における外来植物の駆除・低密度管理手法の開発

アレチウリに対する効果の高い除草剤を選抜し、草刈を組み合わせた複数の防除体系を確立

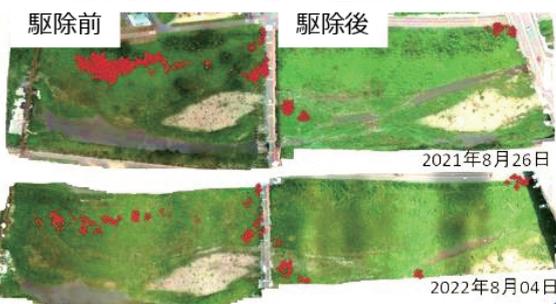
駆除活動の成果～香川県土器川の事例～

非選択性茎葉処理剤を結実前に1回使用

アレチウリを制御・裸地化メシバ(雑草)の草丈も抑制



ドローンで分布把握⇒駆除地点と活動成果を見える化



赤色がアレチウリ

小課題4：環境DNA分析による侵略的外来種の検知とモニタリング手法の開発

6種(カワヒバリガイ、スクミリングガイ、ナガエツルノゲイトウ、タイワンシジミ、カダヤシ、ミズヒマワリ)の種特異的LAMPプライマー対を作成

2022.7.12 灌漑期

● 目視と環境DNA分析結果が一致  
● 環境DNAによる検出できず



「環境DNAの新しい回収方法」特許出願



目視によらない検出技術を開発(ナガエツルノゲイトウ有無と環境DNA分析結果は、ほぼ一致(16地点中13地点の一致))

## 特定外来生物カワヒバリガイによる通水阻害問題とその対策 -農研機構のこれまでの取り組みと今後の課題-

農研機構 農業環境研究部門 伊藤 健二

### ■ はじめに

カワヒバリガイは中国・朝鮮半島原産の附着性二枚貝で、大発生すると水路や配管を閉塞させ、水利用に重大な影響を及ぼすことが知られています(図1)。カワヒバリガイは生活史の初期を殻長0.1mmほどの微小なプランクトン幼生として過ごし、水流とともに移動する性質をもっているため(図2)、分布の拡大を抑制することが極めて困難な生物です。国内では現在もなお、新たな侵入の発見が続いています。

侵略的外来種への対策は早期の侵入検知と駆除対策の実施が望ましいとされています。しかし、侵入初期の密度の低いカワヒバリガイは発見が難しく、対策の遅れが問題となってきました。また、調査や対策のために水路や貯水池などの水利施設の運用を差し止めることも難しく、水利用を管理する現場への負荷の少ない調査手法が求められていました。

これらの問題を克服するために、農研機構では環境DNA分析を含む新たな技術を用いたカワヒバリガイの早期検出手法を開発するとともに、水利施設を管理する土地改良区などと協力して対策を実施しています。ここでは、農研機構がこれまで取り組んできた、カワヒバリガイ対策に関わる研究とその成果について解説します。

### ■ 水利施設(水路や貯水池)を経由して分布を拡大していたカワヒバリガイ

利根川下流域のカワヒバリガイは2005年、霞ヶ浦で初めて発見されました(須能 2006)。農研機構(当時：農業環境技術研究所)は、利根川下流域を中心としたカワヒバリガイの広域モニタリング調査を実施し、カワヒバリガイが急激に分布を拡大していること(伊藤 2007, 伊藤・瀧本 2013, 図3)、



図1. 貯水池で大発生したカワヒバリガイ

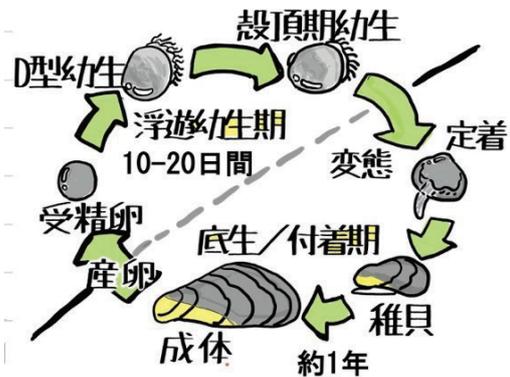


図2. カワヒバリガイの生活史  
浮遊幼生は殻長が0.1mmほどしかなく、その拡散を防ぐことが極めて難しい

図3. 霞ヶ浦におけるカワヒバリガイの分布拡大  
(伊藤・瀧本2013より作図)

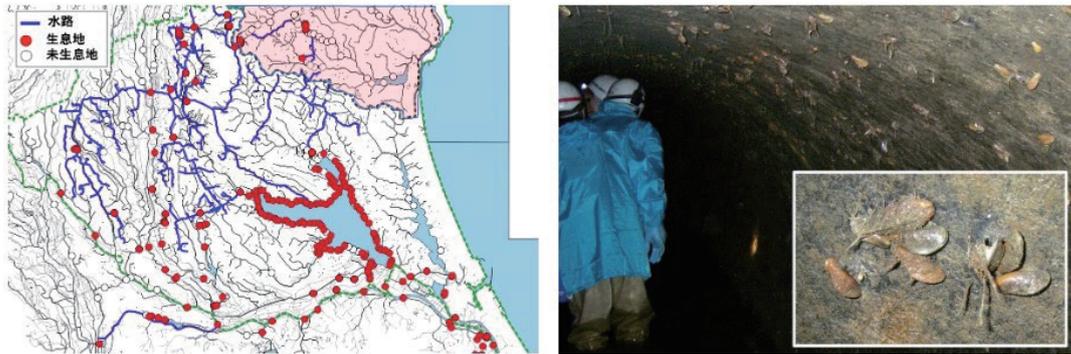


図4. 貯水池左：水路を経由するカワヒバリガイの分布拡大。

左図：霞ヶ浦に生息するカワヒバリガイは水路(□)を通じて分布を広げ、新たに那珂川水系(■)へ侵入した。右図：管水路内壁面に付着するカワヒバリガイ。

利根川下流域の広い範囲に分布を広げていること(伊藤 2008)、そしてその広がり、霞ヶ浦を水源とする水路網の広がりとも一致していることなどを明らかにしました(伊藤 2010, Ito 2015)。そして2014年、カワヒバリガイが農業用水路を経由して、利根川水系に隣接する那珂川水系に新たに侵入したことを突き止めました(伊藤 2016, 図4)。

これらの状況証拠の蓄積により、水利施設はカワヒバリガイによる通水被害の発生する現場であると同時に、カワヒバリガイの分布拡大をもたらす拡大経路であることが明らかになりました(図5)。分布拡大経路の管理は、新たな生息地を作らないために極めて重要です。しかし、当時の調査は主に直接観察や付着トラップを用いた目視調査によって行われていたため、発見効率が悪く新たな侵入の見落としが問題になってきました。

■ 侵入検知：侵入初期に有効な環境DNA

この問題を解消することを目的として、農研機構では環境DNAを用いたカワヒバリガイの高感度検知手法の開発を行いました。カワヒバリガイの種特異的なプライマー・プローブ対を新たに設計すると共に、従来の目視調査・幼生調査との検知効率の比較を行いました。その結果、貯水池の表層水を採集して環境DNA分析を行うことで、目視観察や幼生調査よりも多くの貯水池からカワヒバリガイ由来のDNAを検出することが可能となりました(Ito & Shibaïke 2021, 図6)。

現在、この環境DNA調査手法を用いることで、新たな侵入が確認された那珂川水系内の



図5. 水路・貯水池を経由したカワヒバリガイの分布拡大(概念図)

環境DNA調査の有効性検証

		環境DNA	
		検出	非検出
幼生調査+ 目視観察	確認	5	0
	未確認	4	6

\*農研機構プレスリリース (2021)

図6. 環境DNAと従来の調査手法の比較

環境DNA調査は、従来法(目視観察・幼生調査)よりも多くの貯水池から、カワヒバリガイ由来のDNAを検出した(右下表 Ito and Shibaïke 2021より作図)

貯水池や水路、河川でのカワヒバリガイの状況が明らかになりつつあります。環境DNA調査の一部は施設を管理する土地改良区と共同で実施されています。これらの結果は、水利施設を管理する土地改良区や行政機関の担当者に提供され、新たな対策のための基礎資料として活用されています。

### ■ 対策：非灌漑期に貯水池の二週間落水

施設で発生してしまったカワヒバリガイの対策には様々な手法がありますが、国内の水利施設では一般に、施設の水を抜き、貝を物理的に除去する対策が行われています。農研機構では11月以降、貯水池を2週間以上落水して貝を死滅させる対策を提案しています(図7, 8)。

この手法は営農への影響が少ないうえに対策費用が安く、貯水池内の貝の状態を目視で把握できるなどの利点があります。また、11月から4月までの期間は繁殖期も終わっているため、その年に繁殖した集団をまとめて駆除することができます。カワヒバリガイが発生した水源を利用している地域などは毎年新たに幼生が流入することが想定されるため、対策は毎年継続して実施することが重要です。

農研機構では、これまで開発した検知・駆除技術を体系化し、施設管理組織と連携して活用するための標準手順書(SOP)を作成・公開しています\*。

\*令和4年度 農研機構標準作業手順書「カワヒバリガイ対策を目的とした貯水池の侵入検知及び落水標準作業手順書」

<https://sop.naro.go.jp/> からダウンロード可能

### ■ 今後の課題：環境DNA技術に関連して

環境DNAを用いた検知手法は検出感度が高いものの、目視調査に比べると必要な費用が高額な上、ある程度の技術が必要になります。そのため、現時点では誰でも使える技術とは言いがたいのが実情です。この技術を誰でも使える簡易で安定した技術に改良していくことは、現場での利用を広げるためにも重要なポイントになるでしょう。これは行政機関でも「予算がないから対策できない、調査できない」という問題の解消に貢献できると思われれます。

この報告では、水利施設を経由して移動するカワヒバリガイの問題だけを取り上げましたが、水利施設を経由して移動する水生外来種はカワヒバリガイだけではなくあります。実際、カワヒバリガイの生息する貯水池からは、水源由来の様々な外来種が採集され、それらの生物のDNAも検出されます(図9)。環境DNAを通じて可視化された水利施設に生息する外来種に対してどのような対策を立てていくのか、これは将来に向けた大きな課題といえるでしょう。



図7. 貯水池落水によるカワヒバリガイの駆除



図8. 落水を実施した貯水池の様子  
上：落水前 した：落水中



図9. 霞ヶ浦から取水している貯水池から得られた外来種を含む様々な生物

## ■ 謝辞

本研究を進めるにあたり、多大なご指導とご助言をいただいた共同研究者の皆様(敬称略：芝池博幸、山本哲史、木村妙子、瀧本岳)に深く感謝申し上げます。霞ヶ浦用水土地改良区の横島友和氏をはじめとする職員の方々、水資源機構霞ヶ浦用水管理所職員の方々からは水利施設に関する情報を提供していただくとともに、現地調査などへの協力をいただきました。記して感謝の意を表します。本研究の一部は農林水産省委託プロジェクト研究「農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発」JPJ007966、JSPS科研費 21H02219の補助を受けて行いました。

## 引用文献

- 伊藤健二 (2007) 霞ヶ浦におけるカワヒバリガイ *Limnoperna fortunei* の生息・分布状況. 日本ベントス学会誌 62: 34-38.
- 伊藤健二 (2008) 利根川水系におけるカワヒバリガイ *Limnoperna fortunei* の分布状況. 日本ベントス学会誌 63: 30-34.
- 伊藤健二 (2010) 関東地域における特定外来生物カワヒバリガイの現状と侵入・拡大プロセス. *Sessile Organisms* 27: 17-23.
- 伊藤健二 (2015) Colonization and Spread of *Limnoperna fortunei* in Japan. In: *Limnoperna Fortunei*. (ed Boltovskoy D). Springer International Publishing, pp. 321-332.
- 伊藤健二 (2016) 那珂川水系における特定外来生物カワヒバリガイの侵入状況. 保全生態学研究 21: 67-76.
- Ito K and Shibaike H (2021) Use of environmental DNA to survey the distribution of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* in farm ponds. *Plankton and Benthos Research* 16: 100-108.
- 伊藤健二, 瀧本岳 (2013) メタ個体群モデルを用いた霞ヶ浦におけるカワヒバリガイの分布拡大予測. 日本ベントス学会誌 68: 42-48.
- 須能紀之 (2006) 霞ヶ浦で生息が確認されたカワヒバリガイ *Limnoperna fortunei* (短報). 茨城内水試研報 40: 79.

## 環境DNA分析による農業水路系に生息する生物相の網羅的解析手法の開発

いであ株式会社 中村 匡聡

### 1. 研究目的

近年、河川や湖沼、沿岸域から採水した環境水に含まれるDNA（環境DNA）を分析することで、水生生物の生息状況（在・不在や現存量など）を把握する環境DNA調査の手法が開発され、急速に社会実装が進められています。環境DNA分析では、数百mL～数L程度の水試料を現場から採取し、その中に含まれるDNAの配列情報を分析するだけなので、目視確認や採捕による生物調査と比べて労力や効率の面で多くのメリットがあり、多地点・多数回の調査を実施することが可能になりました。また、生息密度の低い種、あるいは目視確認や採捕が困難な種も比較的容易に検知できるため、早期発見が求められる外来種対策のツールとしても有効であると考えられます。

カワヒバリガイやナガエツルノゲイトウのような侵略的外来種については（いずれも「特定外来生物」に指定されています）、それらが農業水利施設に侵入・定着することで通水障害を誘発し、施設の用排水機能が損なわれる事例が報告されています。農林水産省委託プロジェクト「農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発（2019～2023）」では、これらの侵略的外来種を適切に管理するために有効な様々な手法（落水、薬剤処理など）の開発を行いました。開発された手法の有効性を現地試験で検証する際には、防除対象となる外来種以外の生物に対して負の影響を及ぼさないよう、共存する在来種の組成や現存量についても併せて評価することが望ましいと考えられました。

そこで、本課題「環境DNA分析による農業水路系に生息する生物相の網羅的解析手法の開発」では、水路や貯水池などの農業水利施設に生息する主要な生物、特に貝類について、環境DNAメタバーコーディング手法を開発し、早期侵入検知や駆除作業による在来種の生物相への影響を効果的にモニタリングする手法としての環境DNA調査の適用性を検証することを目的としました。

### 2. 研究成果

#### 2.1. 貝類メタバーコーディング手法の開発

環境DNA分析には、主に2つの手法があります。一つは特定の「種」をターゲットとして、その種の環境DNA濃度を測定する種特異的検出法、もう一つは特定の「高次分類群」をターゲットとして、その高次分類群の環境DNA配列を検出する環境DNAメタバーコーディング（網羅的解析法）です。環境DNAメタバーコーディングでは、分類群特異的にDNAを増幅することが可能なユニバーサルプライマーが必要になります。例えば、魚類相を調べたい場合は、Miyaら(2015)で報告されているMiFish-U/Eプライマーセットを使用することで、試料中の魚類のDNAを特異的に検出することが可能です<sup>1)</sup>。

特定外来生物であるカワヒバリガイを含む貝類相（ここでは腹足綱・二枚貝綱に属する生物とします）を調べようとしたとき、貝類特異的なユニバーサルプライマーが存在しないため、後生動物Metazoan（いわゆる動物界のうち、原生動物を除いたグループ）特異的なユニバーサルプライマーセットを使用することになります。例えば、Lerayら(2013)で報告されているミトコンドリアDNAのCOI領域を対象としたユニバーサルプライマーセット（mlCOIintF / jgHCO2198）<sup>2)</sup>は、水生無脊椎動物相を環境DNAメタバーコーディングで調べる際によく用いられます<sup>3,4)</sup>。

一方で、Lerayら(2013)のプライマーは、Metazoanに属する非常に多様な生物種のDNAを増幅することができるため、メタバーコーディングによる検出感度は、環境DNA抽出試料中の生物種（もしくは高次分類群）ごとのDNA組成比の影響を受けることになります。つまり、調べたい高次分類群が決まっている場合は、その分類群を特異的に増幅できるプライマーを使用する方が、種の検出感度が高まることが期待されます。そこで、貝類特異的な新しいユニバーサルプライマーセットの開発を試みました。

貝類特異的なユニバーサルプライマーの開発にあたっては、まず冠輪動物上門 Lophotrochozoa（軟体動物門や環形動物門などを含む高次分類群）に属する7門23綱から計77種を選び、NCBIからダウンロードした複数の遺伝子領域のDNA配列を対象に、ユニバーサルプライマーの設計に適した条件に該当する領域を探索しました。その結果、核DNAの28SリボソームRNA遺伝子の一部にプライマー設計に適した領域を発見しました。プライマーは、フォワード/リバース双方の配列の3'末端側7塩基以内に、貝類（二枚貝綱・腹足綱）に特異的な塩基置換が2か所以上含まれるように設計しました。さらに、新たに設計したプライマーセットがどの程度貝類特異的にDNA増幅できるかを検証するため、二枚貝綱・腹足綱の2綱を含む主要な動植物13綱に属する78種の生物から抽出したDNAをそれぞれ等濃度で混合したMockサンプルを作成し、新規設計プライマーを用いてメタバーコーディングを行いました。

その結果、新規プライマーで検出された分類群は、貝類（二枚貝綱・腹足綱）以外では、甲殻類、紐形動物、魚類（硬骨魚類・円口類）、両生類のみでした。さらに、貝類（二枚貝綱・腹足綱）以外の分類群の検出リード数の比率は、合わせても3%程度と非常に低頻度であったことから、今回新規に設計したプライマーは、貝類特異的な検出が可能であると結論づけました（図1）。

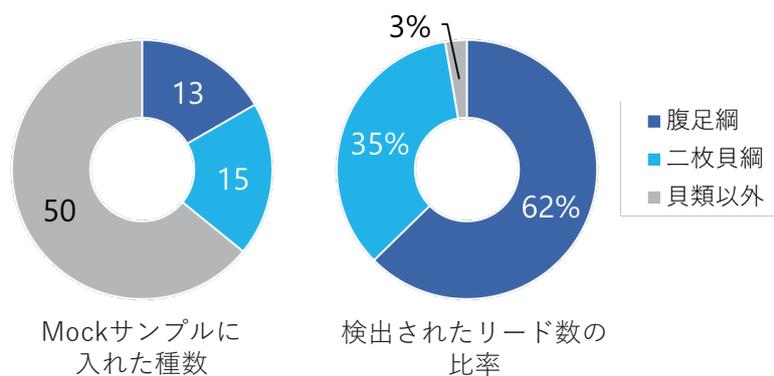


図1. Mockサンプルを用いた貝類特異的な検出力の検証結果

## 2.2. 侵略的外来種の早期侵入検知（実証調査1）

貝類モニタリング手法としての環境DNA調査の適用性を検証するため、霞ヶ浦からの取水の有無、カワヒバリガイ駆除のための落水操作の実施の有無、カワヒバリガイの過去の確認状況（目視調査・種特異的検出法）を考慮し、茨城県笠間市周辺にある13か所の農業用貯水池を選定し、貝類を検出対象とした環境DNAメタバーコーディングを実施しました（図2）。

侵略的外来種の早期侵入検知を目的とした実証調査1では、カワヒバリガイの生息がこれまでに目視調査で確認されていない貯水池5か所において、令和4年8月～令和5年8月の期間中に月1回（計13回）の試料採水を行い、環境DNAメタバーコーディングを実施しました。令和3年度以前までカワヒバリガイが未確認であった貯水池5か所のうち、4か所で目視調査により新たに

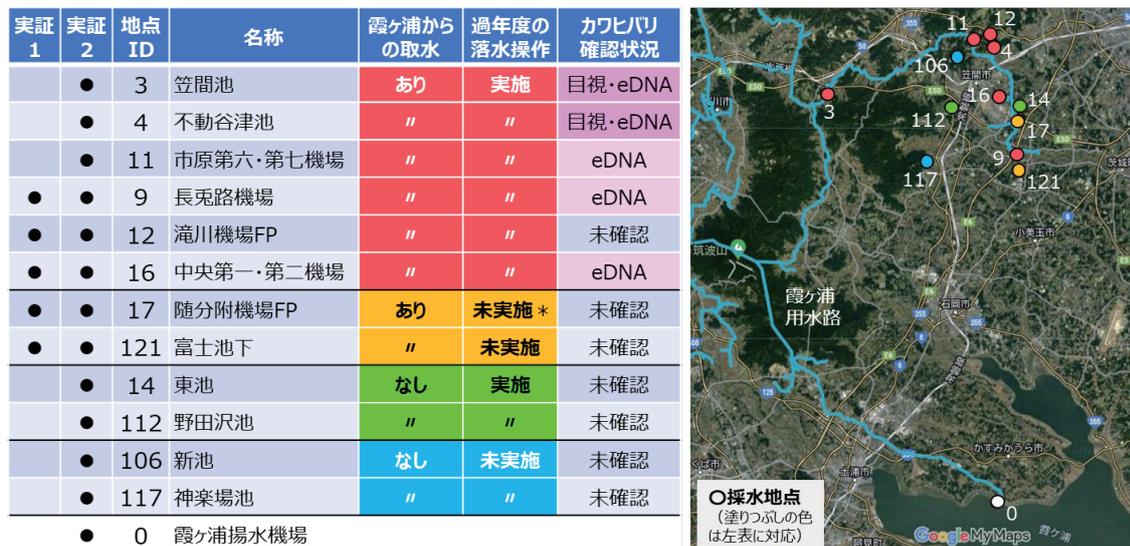


図2. 実証調査1及び2の調査実施地点

確認され、いずれの貯水池からも環境DNAが検出されました。本研究で開発した貝類メタバーコーディング手法の検出感度は、目視確認調査と同等レベルと考えられ、侵略的外来種の早期侵入検知に対して環境DNA調査によるモニタリングが有効であることが示されました（図3）。また、今回の調査地のように、取水源にカワヒバリガイが生息している状況下で貯水池内の侵入検知を行いたい場合は、カワヒバリガイの繁殖期（6～10月）以外の時期、かつ、貯水池の外から流入する環境DNAの影響がない時期（図3の黒矢印）に試料を採水することが望ましいと考えられました。

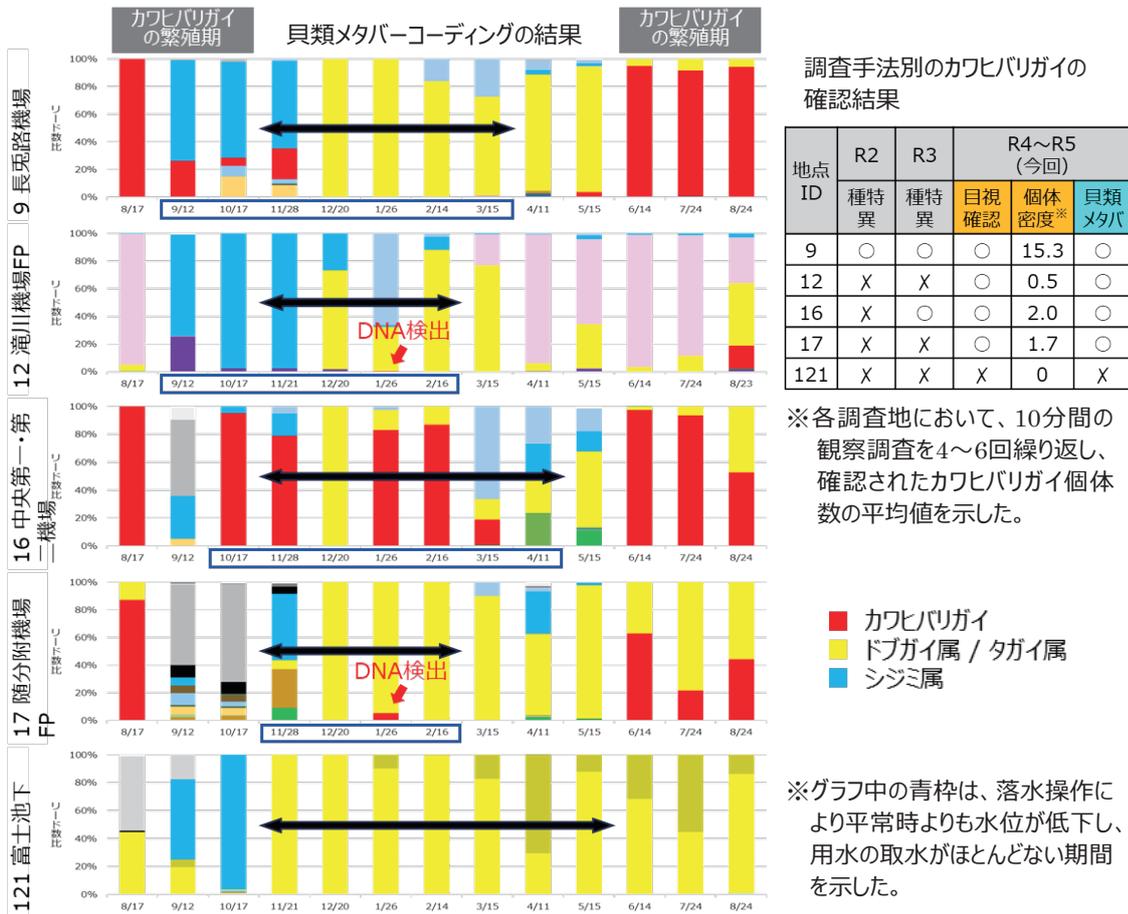


図3. 早期侵入検知を目的とした実証調査1の結果概要

### 2.3. 駆除作業による生物相への影響把握（実証調査2）

カワヒバリガイ駆除のための落水操作が在来種の生物相に与える影響を把握することを目的とした実証調査2では、各季節ごとに1回（計5回）の試料採水を行い、環境DNAメタバーコーディングを実施しました。水位低下中の期間（11月、2月）と水位回復後の期間と比較すると、検出される種数や種組成が顕著に変化するような調査地はありませんでした。したがって、今回の落水操作が生物相（魚類・貝類）に与えた影響は小さいと判断しました（図4）。環境DNAメタバーコーディングは、駆除作業が調査地の在来種の生物相に与える影響をモニタリングする手法としても有効であることが示されました。

### 3. 謝辞

研究を進めるにあたり、多大なご指導とご助言をいただいた共同研究者の皆様（敬称略：農研機構の吉村泰幸、芝池博幸、伊藤健二、山本哲史、竹村武士、渡部恵司、小出水規行、いであ株式会社の白子智康）に深く感謝申し上げます。なお、本研究は、農林水産省委託プロジェクト研究「農業被害をもたらす侵略的外来種の管理技術の開発」JPJ007966の補助を受けて行いました。

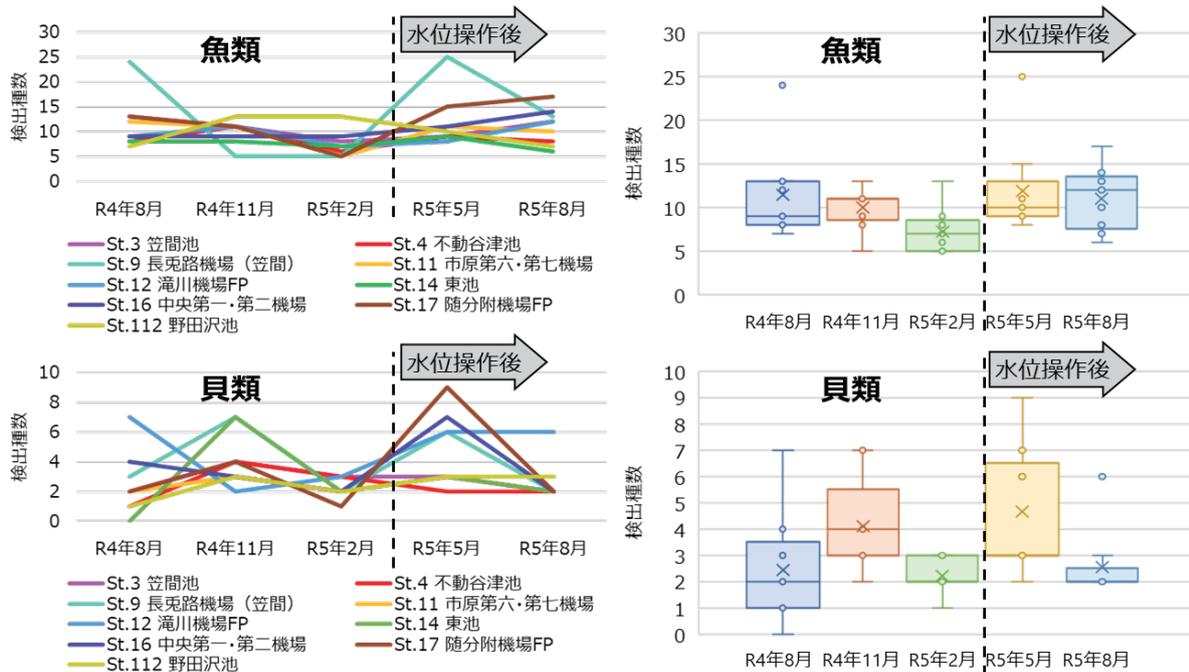


図4. 駆除作業（水位操作）前後の検出種数の比較

#### 引用文献

- 1) Miya, M. et al. (2015) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R. Soc. Open Sci.* 2, 150088.
- 2) Leray, M. et al. (2013) A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Front. Zoo* 10, 34.
- 3) Rossouw, E.I., et al. (2024) Detecting kelp-forest associated metazoan biodiversity with eDNA metabarcoding. *npj Biodiversity* 3, 4.
- 4) Clarke, L.J., et al. (2021) Environmental DNA metabarcoding for monitoring metazoan biodiversity in Antarctic nearshore ecosystems. *PeerJ* 9, e12458.

## 鳥獣害対策の基本と迅速判定の重要性

農研機構 畜産研究部門 小坂井 千夏

### 1. 鳥獣害の背景と問題点

日本は、森林の多い狭い国土に、人間も野生動物（鳥獣）も多く生息しています。地球誕生からの悠久の年月を経て、今日まで大型哺乳類を含めた野生動物が同じ国土にいらしてきたことは、日本の豊かな自然環境を象徴する素晴らしいことです。しかし、現代は、野生動物と人間との間に様々なあつれき（鳥獣害）が生じ、これらをどのように効率的、効果的に軽減させて折り合いをつけていくのかがカギとなっています。

ニホンジカやツキノワグマ、ヒグマなどの大型哺乳類は、かつての乱獲等によって大幅に減少した時代の反省から、種や地域により期間は異なりますが捕獲が規制された時代があまりありません。この施策の効果がでて、現代では多くの在来種が分布や個体数を回復、増加させています。さらに、本シンポジウムのテーマである「特定外来生物」に指定された外来種（哺乳類で代表的なものは、アライグマ、キョン、クリハラリス、ヌートリア等）の分布域も拡大してしまっている種が多くいます。このような状況下で、品種改良を重ね、自然下の植物よりも栄養価が高く、農地という生産性の高い場所で集約的に作られる農作物は、野生動物にとって格好の食物・エサになります。たった1個の果物でも、外来種にも在来種にとってもエネルギー獲得効率の高い良好な食物資源となるのが分かっています（小坂井ら2018、Kozakaiら2019）。日本全国では年間156億円（令和4年度）におよぶ深刻な農業被害が発生しています。

鳥獣害はこうした経済的な影響にとどまりません（図1）。鳥獣害が深刻な地域では地域全体の活力が低下してしまうなど農村振興の課題でもありますし、人間と野生動物との距離が近くなることでダニが媒介する感染症等のリスクが高まるなどの公衆衛生の問題でもあります。さらに近年では、クマ類等の大型哺乳類が市街地にまで侵入し、住宅街で負傷される方が出てしまう事態にもなっています。外来種の分布拡大はこうしたリスクを高めるだけでなく、在来種の捕食等の生物多様性の損失リスクを高める可能性もあります。鳥獣害対策は、日本のどこに住んでいるかを問わず、私たちの安心・安全な暮らしを守るために取り組むべき重要な課題であると考えています。

※なお、農作物を食べるニホンジカは成長が早く、妊娠率が高くなるのが分かっています（Hataら2021）。つまり、高栄養の農作物を食べて動物の個体数が増加すれば、経済的な被害だけでなくその他の鳥獣害のリスクも高まるおそれがあります。

※農研機構の鳥獣害研究についてもっと詳しく知りたい方は、広報誌NARO（2023, Vol.28）をご覧ください。右記のQRコードからスマホ・タブレット版にアクセスできます。

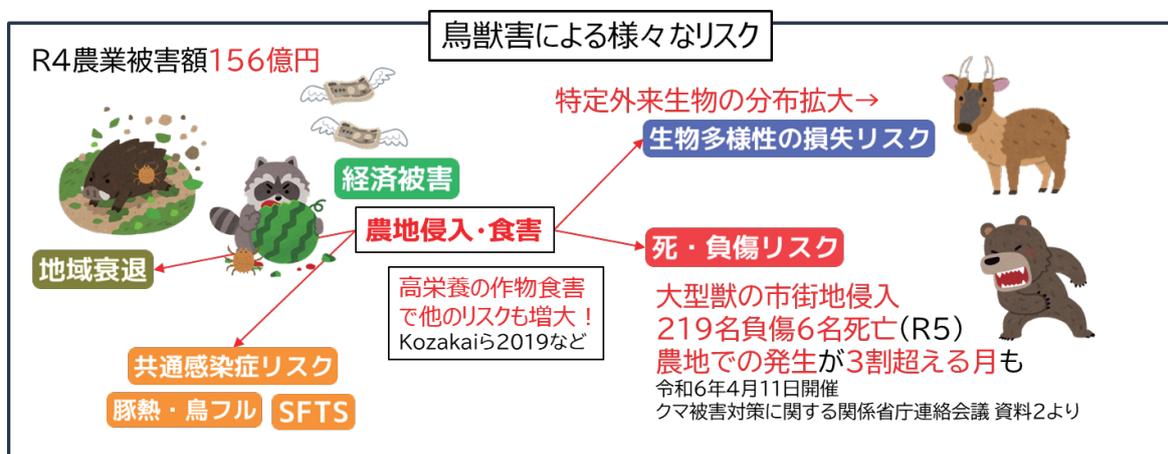


図1. 鳥獣害対策は安心・安全な暮らしのために欠かせない

## 2. 鳥獣害対策の3本柱とその出発点の迅速判定

前述のように農作物は野生動物にとって格好のエサですから、まずは食べさせない、農地に侵入させない対策が重要です（1つ目の柱：被害防除、侵入防止）。また、こうした防除は、収穫時等に発生する作物残さを農地の周辺に放置しないことや、動物が身を隠せたり、通り道になるような藪をなくすこと（2つ目の柱：生息環境の管理、動物が近寄りにくい環境にする）と合わせて行うことで効果的な対策になります。さらに、これらの対策に加えて、3つ目の柱である捕獲を行うことで、地域全体の個体数を抑えたり加害個体を除去することで被害を減らすことも欠かせません。

そして、これらすべての対策の出発点は、被害を出している（出す可能性のある）動物種を正しく、迅速に把握することです。動物種によって効果のある対策が異なりますし、捕獲の際も加害獣を正しく見分けて許可を申請したり、捕獲後の対応をしなければならないからです。しかし、残念ながら一般の方の哺乳類に対する識別能力は高くありませんし（図2）、人間の近くでは夜に活動することが多い哺乳類の姿をみることも自体難しい場合が多いです。農地などに残った痕跡だけで種判別することは専門家でも難しい場合が多くあります。特に外来種は、新たな地域への侵入を阻止する、あるいは侵入初期の時点での対策が非常に重要であり、これにより対策の経済コストを大幅に抑えられることが示されていますが、体の大きな哺乳類であってもその分布や生息情報を正確に把握することは容易ではありません。

ここで、環境DNA分析の出番です。鳥獣害対策の出発点である種判定、侵入検知のための重要なツールになるはずです。陸上動物の環境DNA（動物の体内から環境中に放出されたDNA）は、「水をくむ」だけでなく、「農作物が食べられた痕」、「土壌の表面」、さらには「空気中」や「吸血昆虫の体内」など様々な状態のものから採取できますが、多くの知見が積み上げられてきた水域の生物と比較して、どのように環境中に排出されるのかや検知精度等に関する情報はわずかしかなかった。また、迅速かつ簡便な検知のためには、魚類等に比べて少ない種特異プライマーを充実させることも必要です。こうした基礎研究をしっかりと行い、動物種や被害対策の目的に応じた環境DNAの分析方法を選択できるようにしたいと考えています。

## 3. 環境DNAを用いた効果的な鳥獣対策、野生動物の保護管理への展望

ここまでは、まずは迅速に鳥獣種を判別したり、侵入を検知する観点（どこに）からの環境DNAの活用に焦点を当ててきました。これに加え、陸上動物でも環境DNA分析によって生息密度等の量的（どのくらい）な指標が得られるようになれば、効果的に個体数を減らすにはどこで集中的に捕獲を行うべきか、どの程度個体数が増えているのかなども環境DNA調査で分かるようになる可能性があります。さらに、近年ではエピソードクロックを用いた年齢推定方が開発され、野外で採取した糞や体毛からも年齢推定が可能になりつつあります。哺乳類のメスは出生地に留まる傾向があることから（Kozakaiら2017）、外来種を含む哺乳類の分布管理やの侵入検知では性別による分布の偏りを安いコストで分析やモニタリングできることが重要ですが、これも環境DNAを使って十分に可能な技術でしょう。こうした年齢や性別等の個体や集団の特徴（どんな）も効果的な鳥獣



図2. なんの動物か分かりますか？

害の対策法を考えるための非常に重要な情報です。

前述の通り、陸上動物に関しては、まだまだ基礎的な知見の集積が必要ですが、今後、環境DNA分析を活用し「どこ」に、「どんな」個体や集団が、「どれくらい」いるのかを明らかにすることで、より効果的な鳥獣害対策につながると考えています。

#### 4. 謝辞

環境DNA研究を進めるにあたり、埼玉県農業技術研究センター・小山浩由氏、ミュージアムパーク茨城県自然博物館・後藤優介氏、および元農研機構代替職員・長谷川綾香氏に多大なるご協力をいただきました。一部は、科研費JP20K15641の助成を受けて行いました。

#### 引用文献

Hata A. et al. (2021) Agricultural crop consumption induces precocious maturity in deer by improving physical and reproductive performance. *Ecosphere* 12(4) e03464.

Kozakai C. et al. (2017) Influence of Food Availability on Matrilineal Site Fidelity of Female Asian Black Bears. *Mammal Study* 42(4) 219-230.

小坂井千夏ほか（2018）中型食肉目による廃果採食効率の試算：イチゴ果実の場合.農研機構研究報告中央農業研究センター 4 15-27.

Kozakai C. et al. (2019) Intake rate of captive masked palm civets on large-sized cultivated fruit, Japanese persimmon. 農研機構研究報告中央農業研究センター 6 23-33.

MEMO



おむすび なるりん

