

2023年度河川技術に関するシンポジウム

魚類の環境DNAを用いた江の川土師ダム下流の河川環境健全度評価

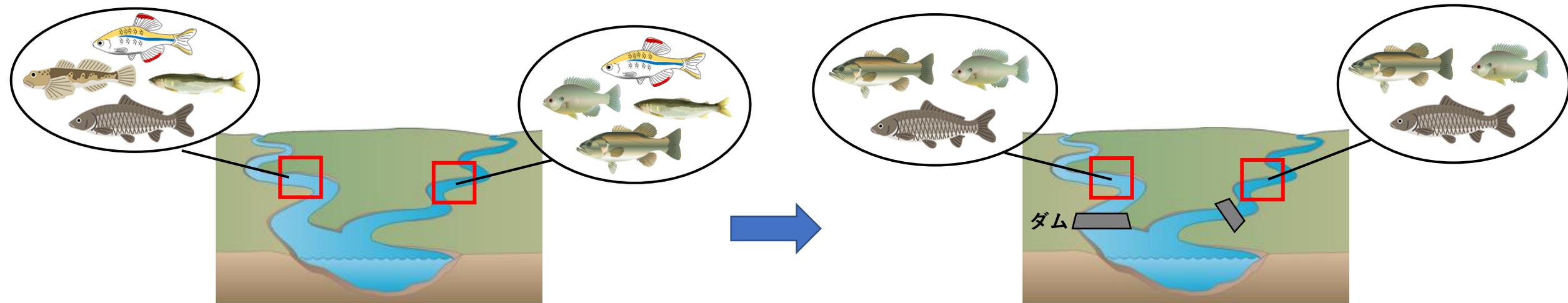
*Evaluation of river biotic integrity in the downstream of the Haji Dam in the Gonokawa River
using fish environmental DNA*

◎宮園誠二, 滝山路人, 花岡拓身, 宮平秀明, 赤松良久, 中尾遼平

山口大学大学院 創成科学研究科

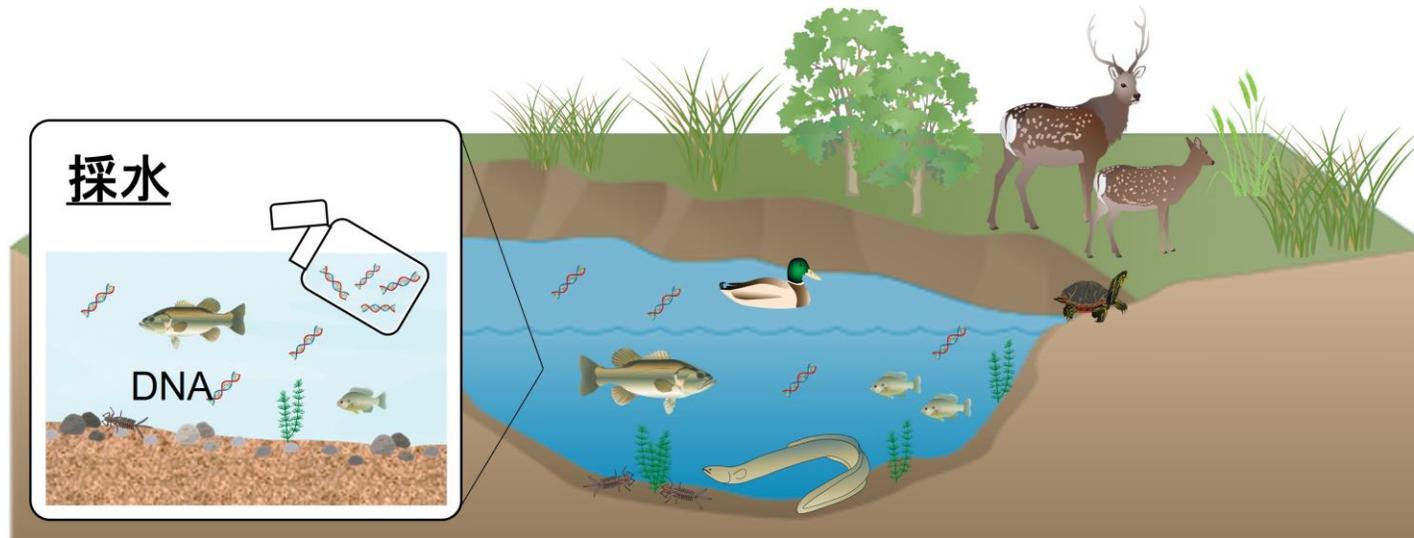
国内外において、在来魚類の減少が多数報告されており、水系全体の**河川環境健全度（様々な生態的特性をもつ魚類が生息可能である河川環境の多様度）**を推定し、流域における魚類の保全を効率的に行うための河川保護区間の優先順位付けを行う必要がある。

- しかし、国内では河川環境健全度の効果的な評価手法が確立されていないのが現状である。
- 水系全体の河川環境健全度評価を行うためには、多大な時間や労力を要する。
- ➡**広域の河川環境健全度を効率的かつ定量的に評価可能なモニタリング手法の開発が求められる。**



環境DNAとは：土壌や水に含まれる生物のDNAの総称

- 環境DNA濃度が高い ⇒ **各種の相対的な生物量が多い**
- 従来の環境DNAメタバーコーディング法：魚種の**在・不在のみ評価**
- 本研究では、**各魚種のDNA濃度を網羅的に定量**できる環境DNA定量メタバーコーディング（qMiFish法, Ushio et al. 2018）を利用して河川環境健全度評価を行う。



※qMiFish法とは、PCR反応液にあらかじめ既知濃度に調整した人工合成DNAを標準試料として添加することで、サンプルごとに検量線を作成し、増幅された魚類のリード数をコピー数に変換することでDNA濃度を推定する分析方法である。

- 環境改変が顕著である一級水系江の川の土師ダム下流区間を対象とした。
- 本区間は上流には土師ダムや床止め工などの河川横断構造物があるため、ダム放流による流況・河床材料の変化や魚類の遡上阻害が問題となっている。

➡区間内の河川環境健全度が空間的に異なる可能性

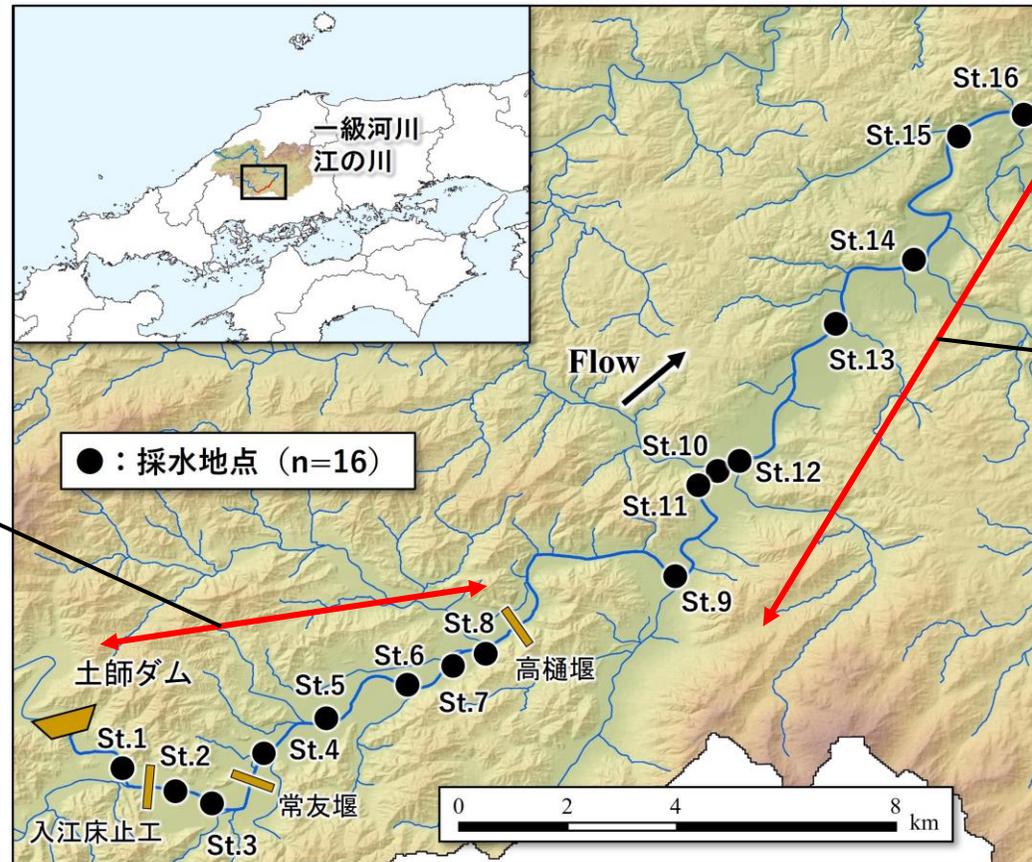
目的：土師ダム下流区間を対象に環境DNA定量メタバーコーディングにより算出した魚類環境DNA濃度を用いて河川環境健全度評価を行う。



調査地点：土師ダム下流区間

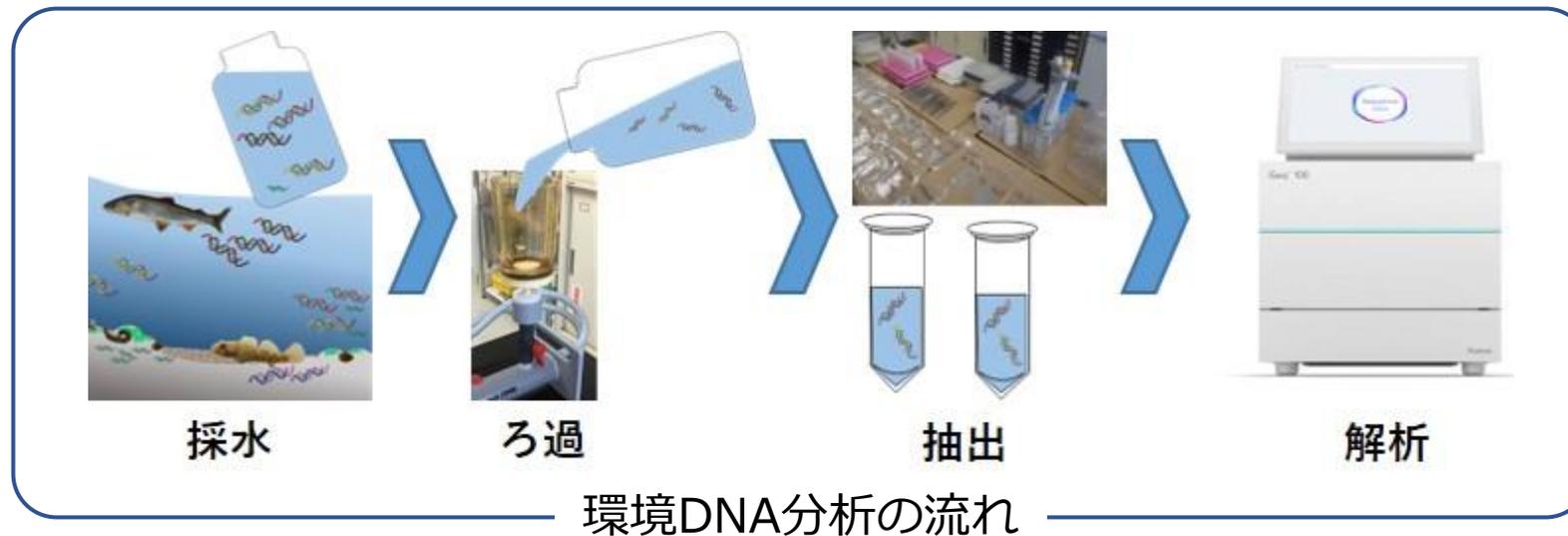
- 調査日：2021年3月25日
- 調査地点：江の川土師ダム下流の本流に計16地点を設定
- 調査項目：環境DNA採水（表層1L）
- 環境改変が進んでいる上流区間と自然度の高い下流区間にグループ分けして解析

上流区間 (St.1-8)
• 土師ダムに近い
• 河川横断構造物あり



下流区間 (St.9-16)
• 河川横断構造物なし

1. 調査地点の表層水1Lを同一日に採水
2. GF/F ガラスフィルター（孔径:0.7 μm ）で水試料をろ過
3. サリベットチューブ及びDNeasy Blood & Tissue Kitを用いて、フィルターからDNAを抽出
4. qMiFish法を用いて、各魚類の環境DNA濃度を算出



※ろ過及びDNA抽出は、環境DNA調査・実験マニュアルver.2.2に従った。

※ qMiFish法には、魚類のユニバーサルプライマーセット（MiFish-UF/UR, Miya et al. 2020 Fisheries Sci. 86:939–970）を用いた。

- NMDS（多変量解析）を用いて**地点間の魚類組成の違い**を把握
- 魚類群集データを11項目（1：遊泳性種，2：底性種，3：流水性種，4：止水性種，5：恒久的水域種，6：氾濫原依存種，7：植生域産卵種，8：泥底産卵種，9：砂礫底産卵種，10：岩裏産卵種，11：二枚貝産卵種）の**生物的指標**に分類し，それぞれの項目について魚類の環境DNA濃度を合算

遊泳種，
流水性種



底生種，
止水性種



恒久的水域種，
植生域産卵種



底生種，
泥底産卵種



流水性種，
砂礫底産卵種



底生種，
岩裏産卵種

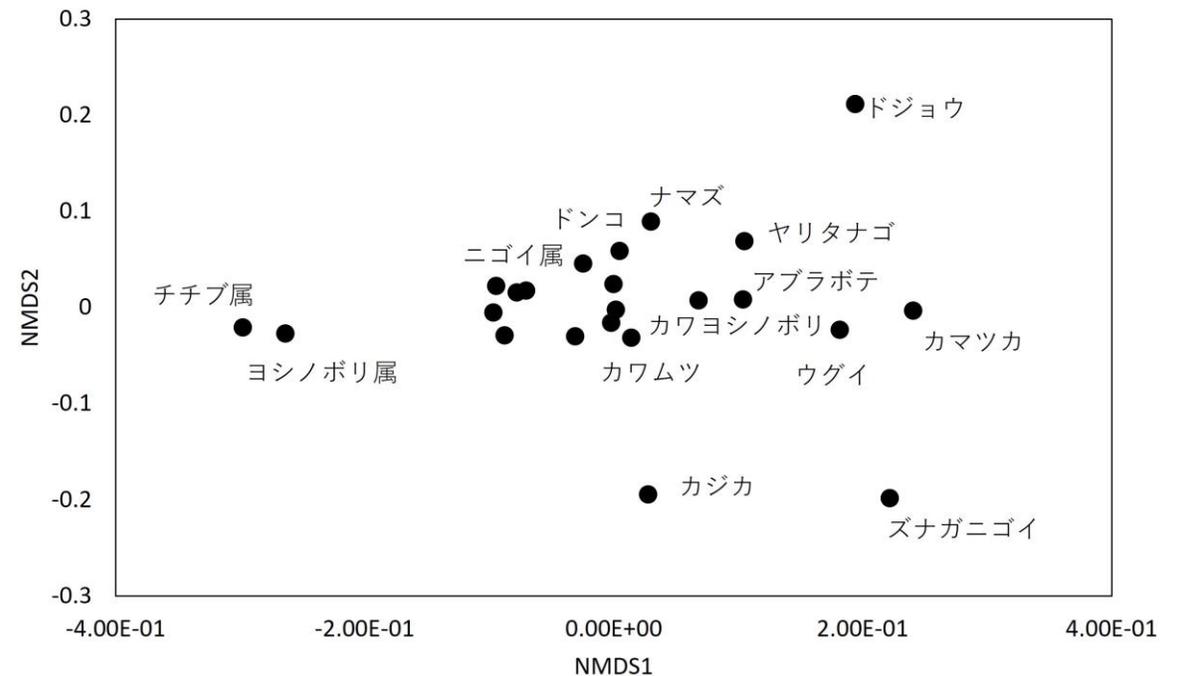
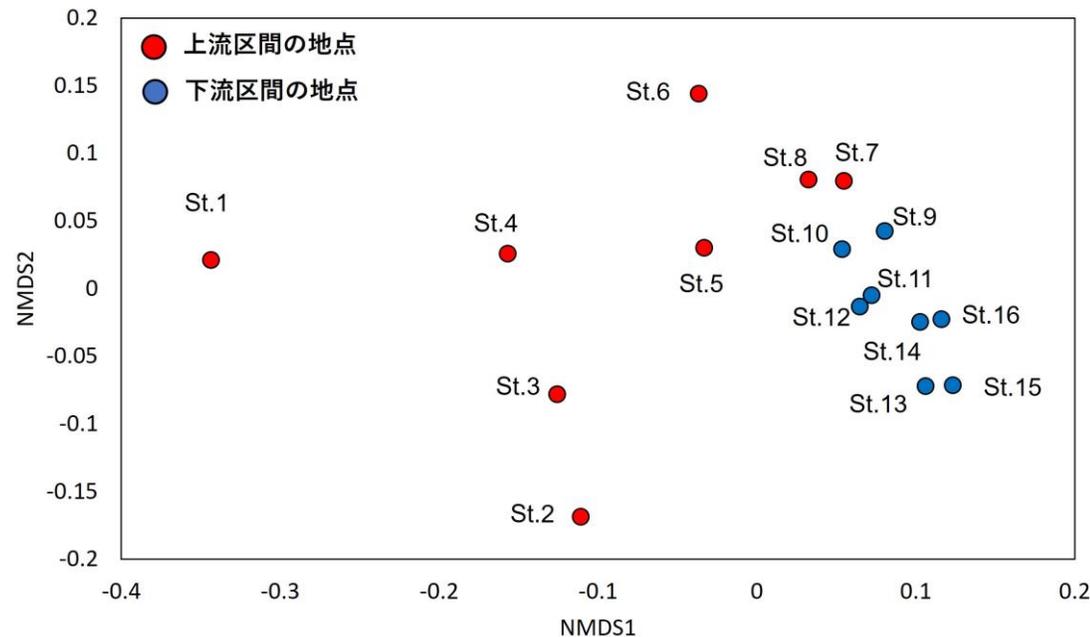


氾濫原依存種，
二枚貝産卵種



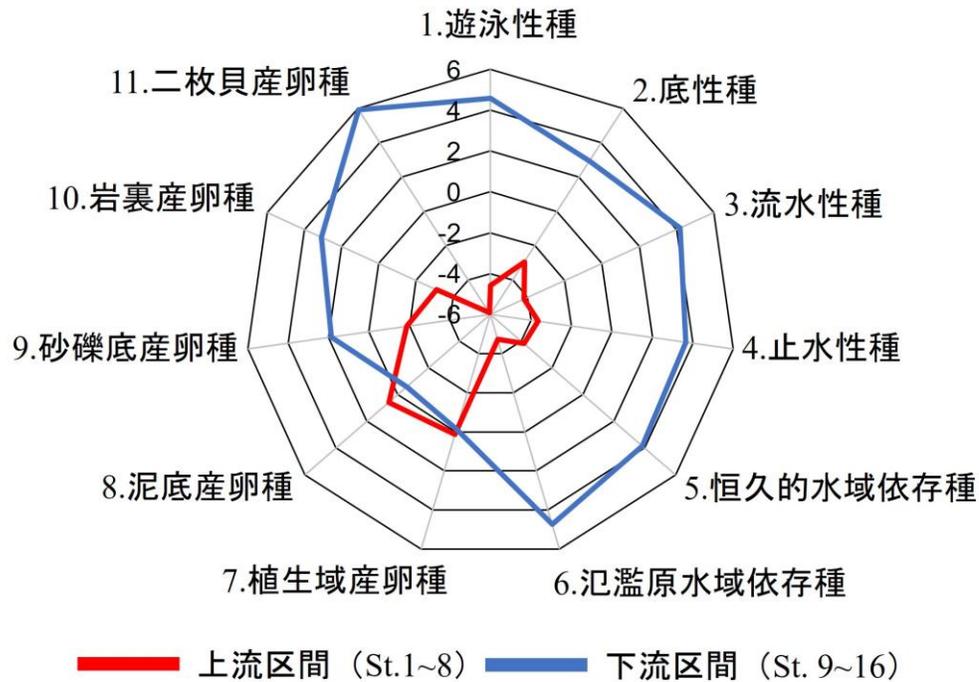
- **レーダーチャートで可視化**することでグループ間（上流区間 vs. 下流区間）の生物的指数の違いを検討
- 各地点において，11項目の標準化した生物的指数を合算することで，**河川環境健全度スコア**を算出

- 対象調査区間において、魚類群集構造が上流区間と下流区間で顕著に異なることが明らかとなった。
- 上流域：チチブ属, ヨシノボリ属, 下流域：カマツカ, ズナガニゴイ



※NMDSプロットにおいて、地点間の距離が近いほど魚類組成が類似していることを意味する

- 11項目中，9項目について上流区間よりも人為的な改変が相対的に少ない下流区間において生物的指数が高く，環境構造が多様な生息場が下流区間に存在する可能性



上流区間と下流区間のレーダーチャートの比較.

上流区間と下流区間の生物的指数の違い.

| 生物的指数 | 上流区間 | 下流区間 | P値 |
|----------|--------|--------|--------------|
| 遊泳性種 | -0.525 | 0.362 | 0.015 |
| 底性種 | -0.221 | 0.193 | 0.328 |
| 流水性種 | -0.430 | 0.397 | 0.083 |
| 止水性種 | -0.398 | 0.106 | 0.161 |
| 恒久的水域依存種 | -0.315 | 0.429 | 0.105 |
| 氾濫原水域依存種 | -0.876 | 0.325 | 0.038 |
| 植生域産卵種 | 0.049 | -0.199 | 0.959 |
| 泥底産卵種 | -0.486 | -0.054 | 0.958 |
| 砂礫底産卵種 | -0.193 | -0.011 | 0.328 |
| 岩裏産卵種 | -0.197 | 0.254 | 0.235 |
| 二枚貝産卵種 | -0.947 | 0.558 | 0.002 |

※太字はWilcoxon検定において有意な違い (P<0.05)を意味する.

- 一級河川江の川の土師ダム下流を対象にして、qMiFish法を用いて対象区間の河川環境健全度評価を行った。
- 環境の改変が著しい上流区間の方が多くの項目について生物的指数が低く、河川環境健全度が相対的に低いことが示された。
- 下流区間においても相対的に河川環境健全度が低い地点があることが明らかとなり、保護・修復すべき河川区間の優先順位付けが可能であることが示された。

**環境DNA定量メタバーコーディングを用いて同一日、多地点観測により
効率的な河川環境健全度評価が可能に**