

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：57601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K04627

研究課題名（和文）水棲生物の生活史に着目した環境DNAによる縦断的連続性と魚道の機能評価

研究課題名（英文）Study on continuity and function of fishway using environmental DNA analysis based on life cycle of fishes

研究代表者

和田 清（WADA, Kiyoshi）

都城工業高等専門学校・その他部局等・校長

研究者番号：50191820

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、魚類などの水棲生物の生活史のボトルネックとなるダムや堰、落差工などの影響を、環境DNAによる生物の縦断的な連続性の観点から、魚道機能の評価、生息場の改善を検討したものである。(1)河川の縦断的な連続性を統合GISにより、魚道施設の修復状況等の時系列的な変化を可視化して、洪水履歴と被災箇所、その被災に至る主要因等を抽出した。(2)GISおよび数値モデルを利用して、流砂を考慮した洪水流解析を実施し、瀬と淵の微地形のみならず河道線形、河道貯留などとの関係性を明らかにした。(3)魚類採捕調査および採水による環境DNAの魚類相推定により、流域の生物多様性を高める生息場の改善策などを検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、水域の落差が生じる上下流間で、魚類採捕および採水により魚類相を推定する環境DNAメタバーコーディングから在来種・外来種・希少種などの生息域の分布を把握し、それらの生物種の情報から生物多様性の評価軸を考察するとともに、生物の生活史を考慮した魚道機能を評価する点が大きな特色である。さらに、横断構造物や流況の洪水履歴を含めた流域基盤データと生物生息情報を一元的にGIS環境で統合化し、また、生息場の評価を含めた健全度診断が可能となる。これらにより、水棲生物の生活史を考慮した移動経路の回復と生息場の復元の観点から、流域再生と魚道機能の持続性を検討することは社会的に意義がある。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to clarify adaptability using environmental DNA analysis to compare the capturing fishes in Nagara River basin including irrigation weirs and fishways. In comparison with the capturing fish, ecosystem services in ensuring sustainable development were discussed. As results, the adaptability using e-DNA in fishway data were 100% in fishways, the fish that existence was not confirmed were estimated. It is suggested that the fishway have good function with supported for migration of fish from other hydraulic reasons. On limiting condition of fish species, the adaptability improve up to 80% or more. Endangered species were also speculated, so their existence was grasped by e-DNA. Therefore, it was clarified that comprehensive analysis using e-DNA is effective for grasping of the change of habitats in watersheds. Applying with comprehensive analysis and species-specific analysis can be used to investigate for conservation basins on ecosystem services.

研究分野：水工学、河川生態工学

キーワード：環境DNA 魚道評価 縦断的な連続性 GIS統合化 生息場の改善

1. 研究開始当初の背景

岐阜県では、産学官民共同のフィッシュウェイサポーター制度による魚道点検活動(通称、魚道カルテ)が進められている。一般に、中小河川や農業水路の魚類保全には「水域の連続性によるネットワーク確保」がポイントとなっている。これは、魚類や甲殻類などが季節や流量等の水理的な環境変化に応じて水域内を移動し、定期的な繁殖期に個体群を維持することに基づいている。したがって、できるだけ水域を連続させるために、ダムや河口堰、落差工には魚道の設置、場合によっては落差工の迂回や水路間を直結するバイパス水路等が設置される。魚道設計に際しては、魚類の遊泳力を体サイズ(全長BL)と関連づけ、算定された突進速度や巡航速度を基本にして、所定の流速が魚道内で連続的に確保されているかどうかとの観点から進められているが、そもそも水産対象種ではない在来魚種の多くについて、遊泳速度や遊泳ポテンシャル自体が定量的に把握されていないのが現状である。さらに、この連続性の無制限の確保は生息魚類にとって弊害を引き起こす可能性もある。例えば、外来種の侵入による在来種の消失、加えて、そもそも独立していた個体群の繁殖交流である。独立個体群の交流はいわば個体群の雑種化に相当し、当該地域における遺伝的多様性を減少させる。一方、ある程度の連続した水域が確保されないと、個体群内での繁殖が進み(近親交配の多発)、遺伝的同一化による個体群消滅の可能性も考えられる。また、水棲生物の生活史を考慮した移動経路の回復と生息場の復元の観点からは、影響緩和策として設置された魚道などについて、大きな労力と時間やコストをかけずに「魚道は機能しているか?」という問いに、その役割を長期間にわたって迅速かつ簡便に評価することが求められている。

2. 研究の目的

本研究は、長良川・揖斐川流域の河川・農業水路網を対象にして、水棲生物(魚類・甲殻類など)の生活史のボトルネックとなるダムや堰、落差工の影響を、環境DNAによる生物の縦断的な連続性の観点から、新たに魚道機能の評価、生息場の改善に繋げることが目的である。

3. 研究の方法

① 流域基盤データと生物生息情報のGIS環境の統合化

本研究では、河川や農業水路網の生態系保全に向けて、ダムや堰、落差により分断化されている本川や支川とのネットワークを横断構造物や流況履歴を含めた流域基盤データと、後述する環境DNA分析結果を含む生物生息情報を一元的にGIS環境で統合化し、また、数値モデルによる生息場の評価を含めた健全度診断を行った。

岐阜県には、県管理の魚道が673箇所あり、毎年、フィッシュウェイサポーター制度による魚道点検が実施されている。4分類と24項目により、総合評価A(良好)・B(経過観察)・C(要対応)に大別されている。図-1は、長良川水系の支川(吉田川)の魚道点検の一例を示したものである。同図から、魚類の縦断的な連続性に関して、魚道機能がどのように確保されているか可視化される。また、図-2は、岐阜県内の農業水路網において、河川との合流地点に落差工の有無を、魚種数と水田の総面積(受益面積)との関係で示したものである。同図から、落差工による河川と農業水路の生態系ネットワークの分断化が魚類群集の種多様性の減少に与える影響は規模が大きい農業水路ほど顕在化し、換言すれば、規模が大きい農業水路ほど、落差による分断化を解消すれば多くの魚種が回復することを示唆している。これらの落差等の横断構造物や流況履歴などを含めた流域基盤データ情報(地形・水理特性)をGISデータにより、マクロ的な観点から縦断的な連続性を可視化して評価した。

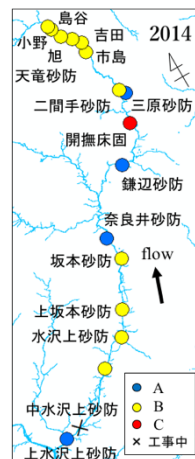


図-1 魚道カルテ
(長良川水系)

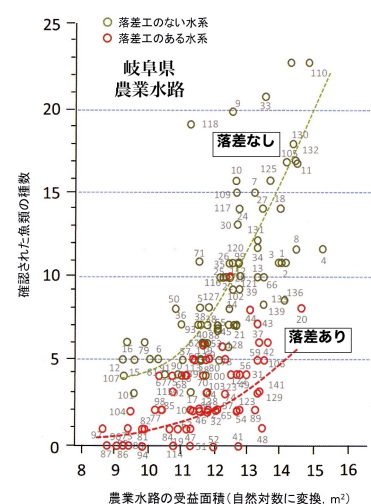


図-2 河川と農業水路
(合流点の落差工の有無)

② 魚道および周辺の微地形を考慮した魚類生息場の健全度評価

魚道機能を低下させる要因は、本体の破損のみならず河道からの土砂や流木の堆積、滯筋の変遷などが複合的に影響し、また、魚道プール内に堆積した土砂量により魚類遡上が阻害されることになる。ミクロ的な観点から、魚道周辺の洪水後の滯筋変化や魚道本体との流水や土砂量の相互作用について、現地調査、構造物・水流・流砂を連成させた数値解析により因果関係を明確にし、土砂流入防止策(簡易床固め・水制など)を提案し実証実験を行った。

マイクロ生息場評価指標 (PHABSIM) で用いられる適性基準の要諦は、対象魚が棲めない水面積 (基準値が0) の抽出であり、流量変化に対してこの生息に不適な部分の水面積がどのように変化するかを評価することである。本研究では、魚類生息場に関する指標について、こうした適性基準を準備して魚類生息場の総合評価に組み込むとするものである。

③ 水域の落差と環境DNAメタバーコーディングによる生物情報の分析

本研究では、水域の落差が生じる上下流間で、採水により魚類相を推定する環境DNAメタバーコーディングから在来種・外来種・希少種などの生息域の分布を把握し、それらの生物種の在／不在情報から生物多様性の評価軸を考察するとともに、生物の生活史を考慮した魚道機能を評価した。

図-3は、長良川水系において、堰や落差工により分断化された本川や支川、農業水路とのネットワークを対象に、マイクロサテライトが解読されている在来魚類 (アユ、ドジョウ類など) の遺伝的特性の結果である。同図から、遺伝的多様性の異なるグルーピングに大別され、多様性が低くなると、生息密度そのものに顕著な差がなくても近親交配が多発し遺伝的多様性が劣化している可能性など指摘された。これらの情報に、環境DNAメタバーコーディングによる上下流の魚類相の推定を加味して魚道機能などを評価した。



図-3 マイクロサテライト DNA (在来魚類の分断化)

④ 特定種および全種を対象にした魚類の生息分布の推定

2019年度からは、農村工学研究所室長 (小出水規行博士) の協力を得て、遡上・降下時期の成長段階が異なる対象魚種を対象にし、洪水頻度等を考慮して効果的なサンプリングの調査計画を実施した。採水はフィルター濾過し、その残渣からDNAを抽出した。環境DNAの分析手法は、一つの対象魚種のDNAを特異的に検出する方法と、特定の分類群のDNAを網羅的に検出する環境DNAメタバーコーディングに大別される。特に、後者は次世代シーケンサーにより分析が必要なこと、分析結果をMiFishにより解析し、公開されているデータベースと照合するなどの専門的な知見が必要なため、研究協力者に依頼するなどを行った。また、このデータベースの蓄積として、岐阜県水産研究所、世界淡水魚園水族館アクア・トぎふにおける対象流域における魚類等の生物情報 (DNA) を収集した。

対象河川は、横断構造物 (魚道や堰など) を含む岐阜県の牧田川、白川、伊自良川、長護寺川の4河川である。牧田川と白川は魚道評価、伊自良川と長護寺川は河川改修の生態系保全機能評価を対象として、その期間は、伊自良川:2012~2020年、長護寺川:2018~2020年である。各河川の魚道調査は改修工事前から2021年度まで継続的に実施されている。環境DNA分析は、2019年~2021年の期間に実施し、調査期間が重なる時期について両者を比較検討した。

⑤ 対象河川の生物調査および環境DNA分析

魚道調査は2019年10月23~24日、牧田川中流部に位置する田村頭首工魚道 (大垣市)、下流部の鴻ノ巣頭首工魚道、白川の白川魚道 (中津川市) の3箇所において、魚類採捕調査と環境DNA分析を実施した。支川と本川の合流部が存在する伊自良川 (岐阜市) は2019年11月30日、長護寺川 (瑞穂市) では12月7日に魚類および水生生物調査を行ない、それ以降2021年まで、定期的に生物調査と同期して採水および環境DNA分析を実施した。

田村頭首工魚道と白川魚道では、岐阜県自然共生工法研究会の魚道モニタリング調査 (2019~2021年) の他に、タモ網、一昼夜トラップ等を用いた簡易的な魚類採捕調査が行われた。調査位置については魚道機能の確認のため魚道上流側、魚道内、魚道下流側の採捕を行なった。伊自良川では1kmの調査対象区間をA~Dの4つに分割し、それぞれの区間でタモ網等を用いて水生生物の採捕、長護寺川についても同様にそれぞれの区間でタモ網等を用いた採捕を実施した。

⑥ メタバーコーディング解析

河川水中に存在している生物由来のDNA断片を採取・分析することにより、生物の存・不在や生物量、個体数、遺伝情報などのデータを得ることができる。環境DNA分析では、採水した1ℓのサンプル水をフィルター濾過し (0.22~0.7μm)、フィルターに残った物質からDNAを抽出する。その後、網羅的な魚種の把握が可能となるメタバーコーディング解析を用いる。この解析方法は、分析結果に対し解析対象領域 (MiFish) をターゲットとしてライブラリー作製 (PCR) を行ないDNAの部分配列を増幅させる。その後次世代シーケンサーを用いてシーケンシング解析による塩基配列を決定した後、データベース配列と比較し、生物種の推定を行なう方法である。なお、データベースと一致した配列名 (種名:学名)、その配列が一致した割合 (相同性:%)、塩基長 (bp) などを参考に、相同性の高い順10位までの内、上位2番目までを魚種として採用した。

本研究では、対象場所の各地点で採水を水深方向に複数分割して行ない、得られたサンプル水に殺菌処理を施して冷蔵し、外部機関に分析を依頼した。その際、より正確なデータを得るために、PCRを標準の4反復から8反復

へ倍増し、DNA コピー数の算定が可能な定量解析についても同時に実施した。なお、採水箇所については、河川横断線を設定して魚類の DNA 断片を補足しやすい比較的緩流域を選定した。

4. 研究成果

(1) 魚道における環境 DNA の適合度

牧田川の田村魚道、白川魚道において、採捕された魚類すべてが環境 DNA 解析によっても確認されており適合度 100%となっている。また、他の期間でも同様の結果が得られたことから、環境 DNA 解析で推定された魚種は、過去の採捕調査データと比較検討することにより、魚類採捕調査を補完し、採捕できず存在の確認ができなかった魚種の生息状況を推定する手法としての環境 DNA の有用性が示唆された。

(2) 河川改修区間における環境 DNA の適合度

伊自良川における区間長は全体で約1km、区間を通して河川環境の変化は比較的単調であるが、C区間において、排水樋門及び掘削護岸工事が行われている。A区間とB区間には転倒型の取水堰が設置されている。灌漑期は取水堰により魚類が遡上しにくい状況であるが、非灌漑期は取水堰は転倒しており、魚類遡上の分断の影響は小さいものと推定される。また、長護寺川の全区間において河岸に植物が繁茂している。中でもC区間では兩岸を植物が覆い、水中には多くの抽水性植生が繁茂しており、ハリヨの生息が過去の水生生物調査によって確認されている。そのため、C～Eの3区間のうち、C区間はさらに4つに細分割し、詳細に調査を行った。なお、C～D区間にかけて左岸の片側護岸工事が行われている。

伊自良川および長護寺川において採捕された遊泳魚と底生魚の個体数の割合、その魚種と個体数などは以下のようである。両結果とも遊泳魚が底生魚よりも多く採捕された(伊自良川:遊泳魚66.1%, 長護寺川:遊泳魚87.6%)。これは、底生魚に比べ遊泳魚が遡上や降下といった縦断的移動を生活史としているため、その場に生息する底生魚に比べ、多くの個体数の採捕に至ったと考えられる。また、希少種が占める割合は、伊自良川で遊泳魚の場合33.3%(優占種:アブラボテ, ヤリタナゴ), 底生魚の場合78.5%(優占種:カワヒガイ, ゼゼラ, ウキゴリ)であり、長護寺川では遊泳魚が56.2%(優占種:ミナミメダカ, アブラボテ), 底生魚が62.5%(優占種:ゼゼラ, ドンコ, トウカイコガタスジシマドジョウ)となっており、調査区間全体で多くの割合を占めている。

希少種は河川環境によって存・不在や個体数が大きく左右される。特に、長護寺川で採捕されたハリヨは生息場の減少や河川環境の悪化により環境省レッドリストに絶滅危惧IA類として分類されている。このようにハリヨを含む希少種が多く確認されたということは、調査箇所が魚類生息場としてかなり良好な環境であるということを示唆している。しかしながら、長護寺川では希少種のみならず外来種(タイリクバラタナゴ, カダヤシ)が採捕されている。これは今回の調査のみではなく、過去同様の調査箇所で行われた水生生物調査(2012～2015年)においても存在が確認されているため、調査箇所に生息し繁殖している。外来種の繁殖は在来種の生態系を脅かすため、別途対策が必要である。

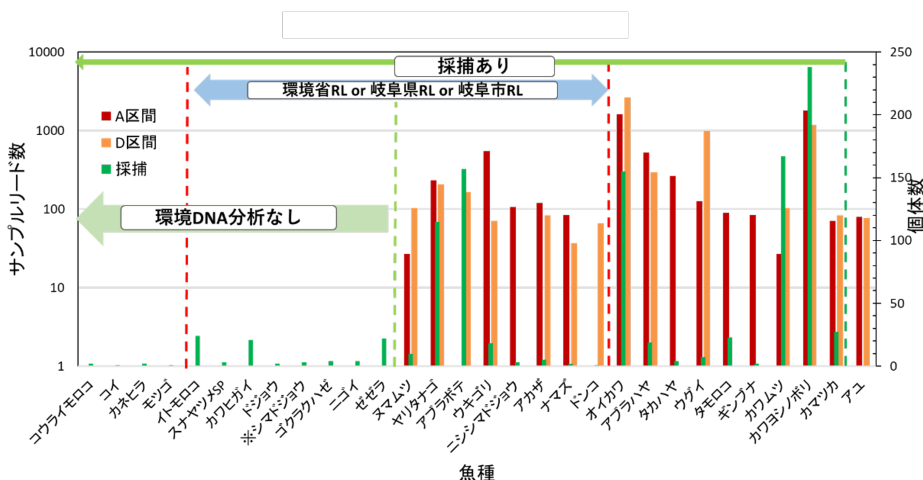


図-4 魚類採捕個体数と環境 DNA 解析(伊自良川, 2019 年調査)

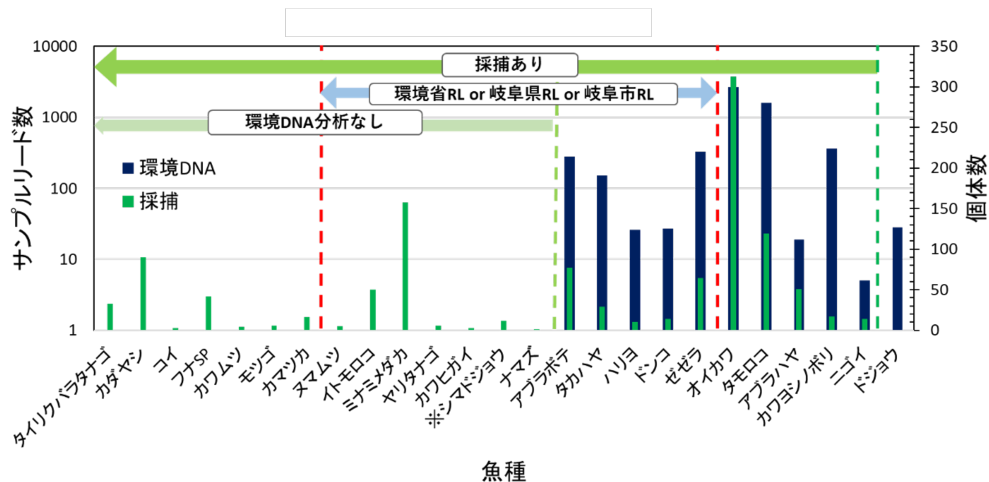


図-5 魚類採捕個体数と環境 DNA 解析(長護寺川, 2019 年調査)

図-4 および図-5 は、伊自良川と長護寺川における環境 DNA 解析結果と採捕された個体数の関係を示したものである。同図には、環境省などのレッドリスト、魚類が採捕されたものの環境 DNA では判定できなかった魚種を图中左側に併記している。

両図から、魚道の適合度結果とは異なり、比較的広い範囲の河川区間を対象とする場合には、魚類採捕による種類数が環境 DNA 分析結果を上回るようになった。詳細には、伊自良川で採捕された個体数が 10 尾未満の魚種は 16 種存在し、これらを除いた適合度は 76.9%である。長護寺川の場合では、10 尾未満の魚種は 7 種存在し、適合度は 58.8%となった。なお、他の期間における適合度は、58~76%程度の範囲内となっている。

一方、100 尾以上採捕された魚種は、伊自良川で 5 種、長護寺川で 3 種であり、長護寺川の 1 種を除き、すべて環境 DNA より推定されている。これらより対象河川に生息する個体数がきわめて少ない魚種の場合、環境 DNA より推定される確率は低くなり、個体数が多い魚種の場合ほど存在が判定されることになる。河川中に多く存在する魚種に対して広域な範囲の生息場の把握に、環境 DNA 解析手法が適応可能であることが示唆された。

(3) 河川改修における魚類生息数の変化

伊自良川の在来種、外来種等の変化は、工事前後を通して、在来種は年間 24~27 種(うち 14~17 種が希少種)で推移している。また、外来種は工事前後を通して、年間 1~4 種で推移しており、河川区間では概ね安定した生態系となっている。前述したように、伊自良川の魚類の希少種は約半数を占めており良好な魚類相であり、河川改修工事による伊自良川の魚類相全体への影響は小さいと考えられる。

一方、小河川の長護寺川における河川改修の場合、たとえば、希少種ハリヨが繁殖、生育する上で必要となる環境条件を考えると以下のようである。

- ・湧水(1 年を通して水温 20°Cを下回る環境)
- ・砂や砂泥質の河床(巣の形成場、餌等)
- ・水生植物、水際植生(巣の形成材料、餌、洪水時の退避場等)
- ・洪水時にも流れが緩やかな水域(流下しにくい環境)
- ・水中の大型生物が少ない(巣が破壊されない環境)

調査時には、ヌートリアの複数個体が確認されており、その定量的なデータは把握していないため詳細な検討はできないが、研究報告などから、以下のように推論される。D 区間において実施された河川改修により、自然河岸水際の土手が減少し、特定外来生物であるヌートリアの生息環境が喪失したため、ヌートリアが上流側の C 区間へ生息地を移した。ヌートリアの個体数が増加した C 区間では、自然河岸の土手部に多数の営巣穴が掘られ、水際植生の減少、自然河岸の崩壊、河川への土砂流出が生じた(ハリヨの餌場、隠れ処、出水時の避難場所等の喪失)。

また、自然河岸の崩壊により滞り幅が拡大した結果、平水時の流速が低下し、河床へのシルト堆積を進行させた。この影響は、ハリヨが巣材に用いる水生植物の減少、湧水噴出量の減少、シルト増加による産卵適地の縮小などが考えられる。このように、ヌートリアの増加に伴い、繁殖期にハリヨの巣が破壊されるリスクが増加していることが推定され、移入動物等の総合的な対策の必要性がある。

【引用文献】

- ① 和田 清・寺町 茂・平田 亨・保坂慎太郎:環境 DNA 解析を用いた河川魚類相の多様性に関する基礎的研究, 土木学会環境システム研究論文集, Vol.50, pp.163-168, 2022.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 和田 清, 寺町 茂, 平田 亨, 保坂慎太郎	4. 巻 50
2. 論文標題 環境DNA解析を用いた河川魚類相の多様性に関する基礎的研究	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 土木学会環境システム研究論文集	6. 最初と最後の頁 163, 168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 和田 清・栗山右伍
2. 発表標題 環境DNAによる河川魚類相の適合度に関する研究
3. 学会等名 土木学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 深川 尊斗・小笠原圭吾・和田 清
2. 発表標題 長良川流域における魚道の縦断的連続性に着目した機能評価
3. 学会等名 土木学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 和田 清・村瀬 拓人・関下 啓誠・増田 治雄
2. 発表標題 ブロックマット工法による堤防裏法面補強の安定性に関する基本設計（土木学会中部支部【技術賞】）
3. 学会等名 土木学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 和田 清・中神陽介
2. 発表標題 ブロックマット工法による越流減勢および洗掘防止効果に関する実験的研究
3. 学会等名 令和元年度土木学会全国大会年次学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和田 清・棚瀬悠希
2. 発表標題 環境DNAによる河川魚類相の推定と適合度に関する研究
3. 学会等名 土木学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 和田 清
2. 発表標題 長良川合流部における洪水氾濫解析と避難困難度に関する研究
3. 学会等名 令和元年度土木学会中部支部年次学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 和田 清, 宮川大和, 関下啓誠, 増田治雄
2. 発表標題 堤防越流による洗掘防止用ブロックマットの実スケール水理実験
3. 学会等名 令和元年度土木学会中部支部年次学術講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------