

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K04750

研究課題名(和文)環境DNAを用いた生態環境多様性指数の河川魚類生息場評価指標としての普遍性の検証

研究課題名(英文) Verification of the universality of eco-environmental diversity index as a river fish habitat evaluation index using environmental DNA

研究代表者

関根 雅彦 (Sekine, Masahiko)

山口大学・大学院創成科学研究科・教授

研究者番号：30163108

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)：大河川でEEDが魚種数と正の相関があることを実証的に示すことが目的である。qMiFish法による環境DNAの河川流下中の濃度変化調査より、環境DNAの河川における減少速度係数として3.55[hr<sup>-1</sup>]が得られた。この値は既知のDNAの分解速度より2桁以上大きく、河川で沈降・吸着・被食などの効果が卓越していることが示唆された。この値は既存の多くの環境DNA流下距離の報告と矛盾しない。この結果を用い、山口県外の大河川で環境DNAとEEDの関係を調査し、流域規模や土地利用が似通った地点間では環境DNAとEEDの間におおむね正の相関が見られ、EEDが山口県外の大河川でも適用できることが支持された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

EEDは既存の多くの河川生息場評価手法とは異なり、魚類についての知識や情報がなくとも流速、水深、底質、植生などの物理環境のみを用いることで、安価に精度よく山口県の小河川の魚種数の多寡を評価できることが実証されている。またEEDを流況シミュレーションと組み合わせて河川改修の魚類への影響を予測するソフトウェアDHABSIMが開発されている。この方法が山口県外河川や大河川でも適用できることが実証されることで、容易に多くの河川改修事業の生息場評価を実施することが可能となり、実効性ある多自然川づくりが実施されるようになると期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose is to empirically show that EED has a positive correlation with the number of fish species in large rivers and out of Yamaguchi Prefecture rivers. The qMiFish method was used to investigate the change in concentration of environmental DNA in the Saba River, etc., and a decrease rate coefficient of environmental DNA in the river was 3.55[hr<sup>-1</sup>]. This value is two orders of magnitude larger than the known DNA degradation rate, suggesting that the sedimentation, adsorption, and erosion effects are prominent in rivers. It was confirmed that this decrease rate coefficient is consistent with many existing reports of environmental DNA flow distance. Based on this result, we investigated the relationship between environmental DNA and EED in large rivers such as the Ishikari River system. It was supported that EED can be applied to large rivers outside Yamaguchi Prefecture.

研究分野：環境工学・衛生工学

キーワード：生態環境多様性指数EED 河川魚類生息場評価 環境DNA

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

申請者は河川魚類生息場の簡易評価指標として、魚種数と正の相関を持つ生態環境多様性指数(EED)を提案し、山口県内の複数の小河川で EED の有効性を実証したり。小河川とは、調査者が直接河川内に立ち込んで 20m 程度の区間の魚類の全量採捕が可能な規模の河川を指す。また流況計算により河川の改変に伴う EED の変化を予測するソフトウェア DHABSIM を開発した。さらに 2019 年、DHABSIM により河川工事後の魚種数変化が正確に予測できることを複数の山口県内の小河川で実証した<sup>2)</sup>。

原理的にこれらの手法は大河川や生息魚種が異なる山口県外の河川でも適用できると申請者は考えているが、明確な理論の裏付けのある指標ではないため実証的に適用性を示していく必要がある。ところが大河川や他府県の河川では物理的・制度的制約のため魚類の全量採捕調査を行うことが容易ではない。

一方、近年採水のみで生物を検出できるとする環境 DNA が注目を集めている。本手法もまた EED と同様実証をつみ重ねる段階であるが、特に日本国内の淡水魚類についてはデータベースも整備され、ほとんどの魚種の在否が 1 本の採水試料から検出できると思われる成果をあげつつある。また、UAV など遠隔操作による河道地形測量手法も急速に進歩してきた。これらの新技術を用いれば、大河川や他地域での調査における前述の制約の多くが取り除かれ、EED の適用性の検証調査が劇的に簡易化されると期待された。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、環境 DNA と遠隔測量技術を援用し、大河川や他の地域の河川に対する EED の適用可能性を検証し、その普遍性を示すことである。本研究の独自性は、複雑・精緻なモデルに向かいがちな昨今の評価手法とは真逆の、簡易でロバストな EED を河川魚類生息場の指標として用い、その普遍性を例証しようとするところにある。本研究の創造性は、EED の普遍性を示すことで、これまで生息場評価手法が適用されてこなかった低予算事業でも生息場評価を実施することを可能とすることで、わが国の河川における生物多様性の向上に寄与しようとするところにある。

### 3. 研究の方法

#### 1) 山口県における環境 DNA、魚種数、EED の相関性の実証 (令和 2 年度)

これまでに申請者が実施してきた EED 研究対象河川 30 区間において環境 DNA を測定し、魚種数の代替指標としての有効性を明らかにする。測定時期については、これまでの EED 研究を実施してきた 9~11 月を基本とするが、2019 年 6 月の 3 河川における魚類採捕調査では、10 月と魚密度は異なっても魚種数は同等となる結果を得ており、この結果の普遍性を検証するために 6 月にも調査を実施したい。環境 DNA と河川生息魚種の在否との関係については既に研究もされているが、まだ例は少なく、信じるに足る指標となるにはさらに実績を積み重ねる必要がある。本研究は、EED 研究過程で申請者自身が実際に魚類採捕調査や地形測量を行い、河川環境を熟知した区間で環境 DNA を改めて測定することで、環境 DNA の信頼性を補強する情報を提供することをも企図している。また必要に応じて魚類採捕調査も改めて実施する。

#### 2) 山口県における大河川での環境 DNA と EED の相関性の実証 (令和 2、3 年度)

大河川においては魚種数を測定せず、環境 DNA と EED の相関の有無を検証する。魚類の環境 DNA の持続範囲は流下方向に 200m 程度とする研究もあり、大河川では採水位置により分布が生じている可能性がある。一方大河川では EED も河岸が大きく、河川中央で小さな値となることが経験されており、環境 DNA の分布と符合する可能性がある。本研究では河岸よりと中央部の表層、底層に分けて採水を行い、環境 DNA と EED の分布を対比する。UAV による採水技術も開発されている。なお、EED 計算のための地形測量にあたっては、UAV および遠隔操作による測深器を使用し、河道内に立ち入ることなく測定を行う。

#### 3) 他地域河川における環境 DNA と EED の相関性の実証 (令和 3、4 年度)

山口県内で経験を積んだ調査手法を県外河川で適用する。生息する魚種の違いには水温および地理的距離が最も影響すると考えられることから、令和 3 年度に河川水辺の国勢調査結果を参考にして北海道、九州南部、関東・東北地方の中小河川と大河川でまず調査を実施し、その結果を見て令和 4 年度に追加調査を実施する。

### 4. 研究成果

#### 1) 山口県における環境 DNA、魚種数、EED の相関性の実証 (令和 2 年度)

既往の EED 研究対象河川 31 区間において環境 DNA を測定した。しかし、多くの河川で EED と環境 DNA の間に正の関係性が見られなかった。この原因として、上流の環境 DNA の影響が推測された。

#### 2) 山口県における大河川での環境 DNA と EED の相関性の実証 (令和 2、3 年度)

令和 2 年度、山口県の佐波川の瀬淵のある区間と単調なトロ区間が上下に連続する 1km 区間

を選定し、瀬淵区間下流端（＝トロ区間上流端）とトロ区間下流端において eDNA を横断方向 3×水深方向 2 の 1 断面あたり 6 点で測定するとともに、遠隔操作ボートおよびグリーンレーザー測量による河床地形データに基づいて EED を計算した。その結果、eDNA カウント数に閾値を設けることで、EED が高い上流部で eDNA による検出魚種数が多く、EED が低い下流部で eDNA による検出魚種数が少なくなる結果が得られた。また横断方向で検出魚種数に違いが見られ、より EED が高い水際部で魚種数も多くなる一方、水深方向では検出魚種数に違いは見られなかったものの、底生魚、遊泳魚などの生態の違いと符合するものではなかった。従って大河川で調査をする場合、水深方向では複数点で採水したものを混合すれば良く、横断方向には必要に応じて別サンプルとしても良いことが推察された。ただし、この結果を学会にて議論したところ、環境 DNA を魚種間や地点間の多寡の比較に用いることの限界を指摘され、査読論文の掲載には至らなかった。

令和 3 年度は前年の反省に立ち、ある程度定量的に魚種間、地点間の比較が可能となる環境 DNA 分析手法である qMiFish 法を採用し、佐波川に様々な区間距離を持つ 10 採水点を設定して環境 DNA を分析した。この結果から環境 DNA を流下過程における減少速度係数  $K=3.55[\text{hr}^{-1}]$  が得られた。この値は既知の DNA の分解速度より 2 桁大きく、河川内では沈降・吸着・被食などの効果が卓越していることが示唆された。また 3) で述べる福井県阿賀川でもほぼ同様の減少速度が得られた。この減少速度係数を用いて既存の種々の環境 DNA の流下距離の推定結果が包括的に説明できることが示され、成果は令和 4 年 1 月に査読論文<sup>3)</sup>として公表した。図 1 は河川内の環境 DNA 濃度と河川流速に応じた流下距離[km]である。

## Result : eDNA flow down distance [km] at $K=3.55$

Residence time [hr]	eDNA concentration [Copies/L]	Velocity [m/s]									
		0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
0.0	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.2	6	0.07	0.14	0.22	0.29	0.36	0.43	0.50	0.58	0.65	0.72
0.4	12	0.14	0.29	0.43	0.58	0.72	0.86	1.01	1.15	1.30	1.44
0.6	25	0.22	0.43	0.65	0.86	1.08	1.30	1.51	1.73	1.94	2.16
0.8	51	0.29	0.58	0.86	1.15	1.44	1.73	2.02	2.30	2.59	2.88
1.0	104	0.36	0.72	1.08	1.44	1.80	2.16	2.52	2.88	3.24	3.60
1.2	212	0.43	0.86	1.30	1.73	2.16	2.59	3.02	3.46	3.89	4.32
1.4	432	0.50	1.01	1.51	2.02	2.52	3.02	3.53	4.03	4.54	5.04
1.6	879	0.58	1.15	1.73	2.30	2.88	3.46	4.03	4.61	5.18	5.76
1.8	1788	0.65	1.30	1.94	2.59	3.24	3.89	4.54	5.18	5.83	6.48
2.0	3636	0.72	1.44	2.16	2.88	3.60	4.32	5.04	5.76	6.48	7.20
2.2	7395	0.79	1.58	2.38	3.17	3.96	4.75	5.54	6.34	7.13	7.92
2.4	15042	0.86	1.73	2.59	3.46	4.32	5.18	6.05	6.91	7.78	8.64
2.6	30596	0.94	1.87	2.81	3.74	4.68	5.62	6.55	7.49	8.42	9.36
2.8	62231	1.01	2.02	3.02	4.03	5.04	6.05	7.06	8.06	9.07	10.1
3.0	126578	1.08	2.16	3.24	4.32	5.40	6.48	7.56	8.64	9.72	10.8
3.2	257458	1.15	2.30	3.46	4.61	5.76	6.91	8.06	9.22	10.4	11.5
3.4	523668	1.22	2.45	3.67	4.90	6.12	7.34	8.57	9.79	11.0	12.2
3.6	1065135	1.30	2.59	3.89	5.18	6.48	7.78	9.07	10.4	11.7	13.0

Our  $K$  value is five times larger than existing field observation and 100 time larger than DNA decomposition researches.

But this table does not contradict with the flow-down distance of eDNA by other researches.

- Detecting small crustacean and clam that inhabit a dam lake located 10 km upstream.
- Sweetfish eDNA reflects the existing population from 400m to 800m upstream.
- Observation data of fish within 6 km upstream showed the closest match to the eDNA analysis results.
- The eDNA analysis at 500m intervals did not match the results of the on-site collection survey.
- Sweetfish eDNA was below 50% at 80m downstream, below 20% at 1000m, and undetected at 2000m.

図 1 河川内の環境 DNA 濃度と河川流速に応じた流下距離[km]

### 3) 他地域河川における環境 DNA と EED の相関性の実証 (令和 3、4 年度)

令和 3 年度には北海道石狩川水系 6 河川と福島県阿賀川において qMiFish 法を用いた環境 DNA 調査を行った。なお、当初計画では遠隔測量法や遠隔採水法を活用するとしていたが、令和 2 年度の佐波川および小河川における遠隔測量法の適用結果が芳しくなかったことや、実配分予算が申請より削減されたことなどから、対象河川は国土交通省のグリーンレーザー測量による点群地形データが得られる場所に限定し、採水は立ち込みまたは有人ボートによった。また令和 4 年度には北海道石狩川水系で追加調査を実施した。令和 3 年度中の解析では大河川の EED と環境 DNA の間に正の関係性は得られなかったが、並行して実施した 2) の研究成果である環境 DNA の減少速度を考慮して令和 4 年度に再解析を行ったところ、正の関係性が得られない地点には EED で考慮できていない流域の土地利用などの違いが存在し、それらの条件が似通った地点では正の関係性が得られることが示された。この結果は令和 4 年 5 月の国際学会にて報告した<sup>4)</sup>。

図 2 は環境 DNA 減少速度を考慮した石狩川の魚種数と EED の関係である。St.1 の流域は都市部が少なくなり、上流の湛水域の影響を受けて EED の割に魚種数が多いが St.2 と St.3 の間では正の関係性を持っている。図 3 は石狩川とその支川の合流部付近の EED ヒストグラムと魚種数、流域の土地利用を示している。EED のヒストグラムにも地点の特徴が表れており、単一の平均 EED 値だけで論じるのは不十分である可能性もあるが、土地利用と流域面積が類似した地点間では EED と魚種数におおむね正の関係性が見られており、山口県外の大河川においても EED と魚種数の間に正の相関がみられることが支持された。

今後は、大河川において河道を改変する工事が行われる前後の EED と環境 DNA の変化を調査することで、より明確に大河川における EED と魚種数の正の相関を実証することができると

考えられる。

$$C_i = Cg_i + C_{i-1} \cdot \exp(-K \cdot t)$$

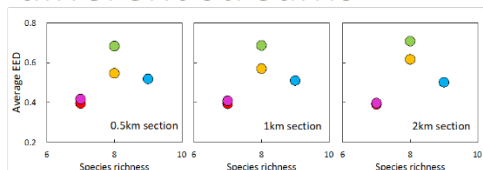
$C_i$  : eDNA concentration [copies/L]  $i$ : sampling point  
 $Cg_i$  : eDNA concentration when  $C_{i-1} = 0$   
 $t$  : residence time[hr]  $K$ : decrease rate [ $hr^{-1}$ ]



図2 環境 DNA 減少速度を考慮した魚種数と EED の関係

Station ID	St1	->	St2	->	St3	
Distance to upper station [km]		3.84		3.12		
Residence time t [hr]		1.1		1.1		
EED (0.5km section)	0.380		0.421		0.396	
EED (1.0km section)	0.331		0.386		0.393	
EED (2.0km section)	0.322		0.341		0.390	
Scientific Name	Japanese name	$C1$	$C1 \cdot \exp(-K \cdot t)$	$C2$	$C2 \cdot \exp(-K \cdot t)$	$C3$
<i>Cyprinus carpio</i>	Koi	0	0	0	0	8
<i>Carassius sp.</i>	Funa sp.	0	0	0	0	15
<i>Tribolodon hakonensis</i>	Ugui	9	0	29	1	0
<i>Tribolodon ezoe</i>	Ezougui	258	5	24	0	7
<i>Hypomesus sp.</i>	Wakasagi sp.	66	1	0	0	0
<i>Plecoglossus altivelis altivelis</i>	Ayu	83	2	149	3	228
<i>Oncorhynchus sp.</i>	Sake sp.	396	8	189	4	16
<i>Salvelinus leucomaenis subsp.</i>	Iwana subsp.	238	5	0	0	0
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	Dozyou	49	1	0	0	0
<i>Noemacheilus barbatulus toni</i>	Fukudozyou	1631	33	308	6	4
<i>Cottus nozawai</i>	Hanakazika	1360	27	331	7	0
<i>Rhinogobius sp.</i>	Yoshinobori sp.	97	2	86	2	21
<i>Tridentiger sp.</i>	Chichibu sp.	13	0	12	0	0
Species richness		11		8		7

Result: Focusing on downstream of different streams



Species richness - EED

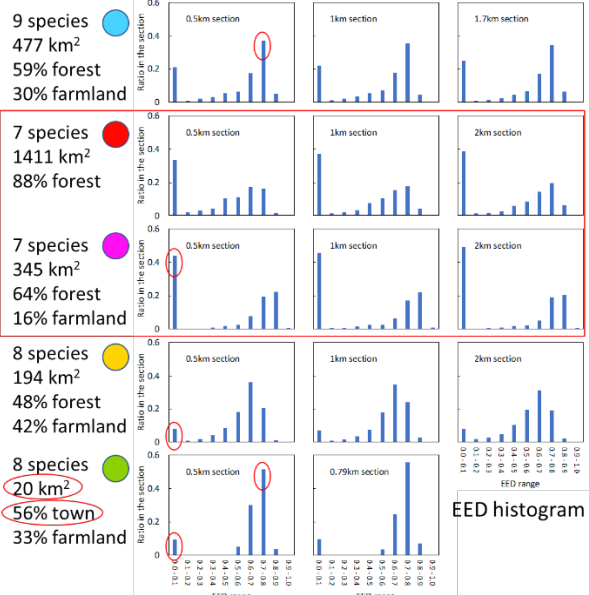


図3 環境 DNA ヒストグラム、土地利用と魚種数の関係

参考資料

- 1) 伊藤浩文, 関根雅彦 ほか: 中小河川における魚類生息場評価のための生態環境多様性指数の提案. 土木学会論文集 G (環境), 72(1), 1-11, 2016.
- 2) 松永晋平, 関根雅彦, 加藤琢己: DHABSIM を用いた島田川における河川浚渫が魚類生息場に与える影響予測評価. 河川技術論文集, 26, 349-354, 2020.
- 3) 関根 雅彦, 加藤 琢己, 中尾 遼平, 赤松 良久: 環境 DNA の河川横断面での分布と流下に伴う減少速度の検討. 土木学会論文集 G (環境), 78(7) III\_401-III\_408, 2022.
- 4) Masahiko SEKINE, Ryohei NAKAO, Yoshihisa AKAMATSU: Applicability assessment of river fish habitat evaluation software DHABSIM to large rivers using environmental DNA. The International Society for ECOLOGICAL MODELLING GLOBAL CONFERENCE 2023, Toronto, Canada, 2023.5.5.

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 関根 雅彦, 加藤 琢己, 中尾 遼平, 赤松 良久	4. 巻 78
2. 論文標題 環境DNAの河川横断面での分布と流下に伴う減少速度の検討	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 土木学会論文集G (環境)	6. 最初と最後の頁 111_401 ~ 111_408
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2208/jscej.78.7_111_401	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 加藤琢己, 関根雅彦, 村上俊弥
2. 発表標題 中小河川で有効性が立証された生態環境多様性指数の大河川への適用可能性の検証
3. 学会等名 土木学会中国史部第73回研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関根雅彦, 加藤琢己, 中尾遼平, 赤松良久
2. 発表標題 環境DNAの河川横断面での分布と流下に伴う減少速度の検討
3. 学会等名 第59回環境工学研究フォーラム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masahiko SEKINE, Ryohei NAKAO, Yoshihisa AKAMATSU
2. 発表標題 Applicability assessment of river fish habitat evaluation software DHABSIM to large rivers using environmental DN
3. 学会等名 The International Society for Ecological Modelling Global Conference 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023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
---------	---------