

河川砂防技術研究開発 【成果概要】

研究代表者	氏名(ふりがな)	所属			役職
	永山 滋也 (ながやま しげや)	岐阜大学 地域環境変動適 応研究センター			特任助教
技術研究 開発テーマ	名称	山地河川における環境DNAを用いた水生生物分布推定手法の最適化に関する研究			
研究経費(単位:万円)	令和1年度	令和2年度	令和3年度	総合計	
端数切り捨て。	248万円	203万円	42万円	493万円	
研究者氏名	(研究代表者以外の研究者の氏名、所属・役職を記入下さい。なお、記入欄が足りない場合は適宜追加下さい。)				
氏名	所属機関・役職(令和3年3月31日現在)				
原田守啓	岐阜大学 流域圏科学研究センター・准教授				
権田豊	新潟大学 農学部・准教授				
研究の目的・目標	(様式地砂-1、地砂-2に記載した研究の目的・目標を簡潔に記入下さい。)				
<p>生物相や生物分布域の推定において近年急速に発展している「環境DNA」技術を用いることにより、潜水観察や採捕調査を行わずに、採水した水を分析するだけで水生生物の有無や分布情報を短時間かつ広域的に取得することが可能となる。</p> <p>これを、流域内の河川数が多く、多数の希少種が存在する砂防事業対象地(山地河川)に活用することは、管内の水生生物分布の網羅的な把握や、魚道その他砂防施設の設置といった事業の効果・影響の検証等を迅速かつ高精度に実施することにつながる。さらに、生物分布に関する事業の中長期的な監視をより簡便に行えるようになる。</p> <p>しかし、勾配が急で流速が大きく、瀬淵構造の繰り返しや支川合流も多い山地河川では、環境DNAの流下速度が大きい一方、伏流等による河床沈着や流量増大に伴う希釈の効果も大きいことが想定される。また、堆砂域や湛水域を伴う砂防堰堤が存在する場合、DNAの流下動態も強く影響されることが想定されるが、研究は進んでいない。</p> <p>そこで、本研究では、山地河川の自然区間や砂防堰堤を含む区間を対象として、流下に伴う環境DNA量の減衰とその要因、ならびに各要因の影響度合いを検討し、効率的に生物分布を把握するためのサンプリング(採水)地点の配置に資する知見を得る。</p>					

研究成果

(具体的にかつ明確に記入下さい。4ページ程度。)

トレーサー-DNA 流下実験(自然区間、コンクリート区間, 砂防堰堤・支川流入区間)

- 河川上流域に生息していないアユを用いて,その生体から放出される DNA をトレーサーと見立て,流下に伴う環境 DNA 濃度の減衰量を検討した。
- 各調査区間の最上流端にアユを設置し,その下流 5 箇所まで採水を行い,実験室に持ち返ってアユ DNA の種特異的解析により DNA を定量した。
- コンクリート区間では DNA 濃度が減衰しにくい一方,自然区間では指数関数的な減衰傾向が見られた(図 1)。コンクリート区間では河床への伏流が生じないため河床沈着による減衰効果を見逃すことができる。それゆえ,両区間の減衰の差異は河床沈着の効果分と考えられる。よって,自然区間では河床沈着の効果が強く働き DNA 量が大きく減衰したと考えられる。推定減衰率は 10m あたり約 2%であった(モデル結果も参照)
- 支川流入箇所より下流では環境 DNA が検出できなかった(図 2 左)。環境 DNA の検出率は環境中の DNA 濃度に左右され,薄まると検出しづらくなる。支川合流によって流量が増大し環境 DNA 濃度が希釈されたことで,合流点より下流で検出できなかったと考えられる。(モデル結果も参照)
- 砂防堰堤下流においても環境 DNA がほぼ検出できなかった(図 2 中・右)。今回対象とした砂防ダムは満砂状態であり,厚い堆砂域を持っていた。堆砂域を通過する河川水が堆積物に伏流する際のフィルタリングによって河床に沈着したものと考えられる。堆砂域における推定減衰率は 10m あたり約 7%であった。(モデル結果も参照)
- 流下 DNA 量が 70%減少に至る距離は,自然区間が 572~793m,水鳥谷の堰堤区間が 165m であり,堰堤堆砂域では DNA 減衰が強まる傾向が見られた(図 3)。
- 酸性河川 (<pH4.5) では,魚類設置点から 10m 下流であっても環境 DNA を検出できなかったため,環境 DNA による生物分布把握は困難と判断された。

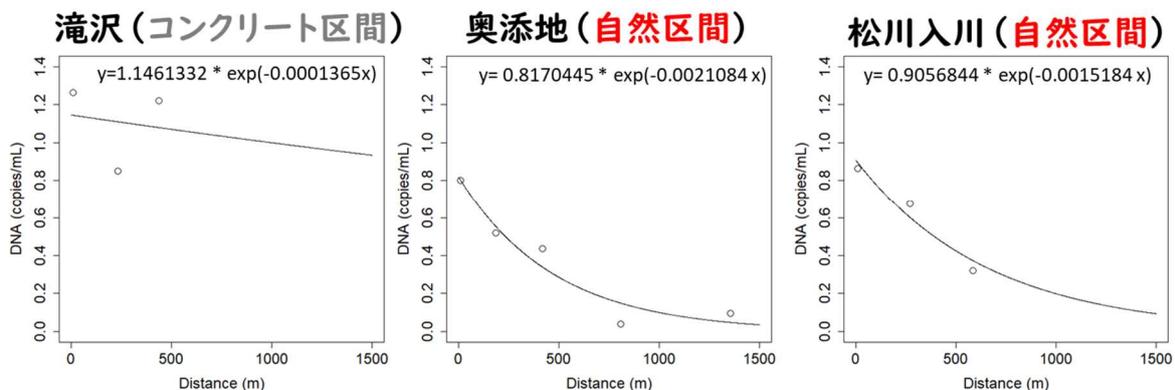


図 1. 実測に基づく環境 DNA 濃度の流下に伴う減衰の様子。プロットは,各採水箇所における環境 DNA 濃度を表す。実線は回帰曲線であり,いずれも指数関数で表される。

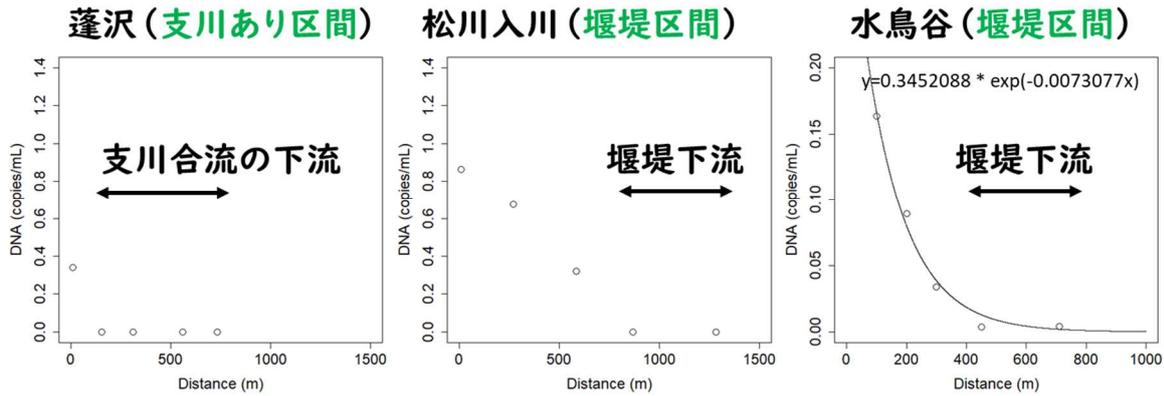


図2. 支川あり区間（左）と堰堤区間（中，右）における環境DNA濃度の実測値．プロットは，各採水箇所における環境DNA濃度を表す．実線は回帰曲線．

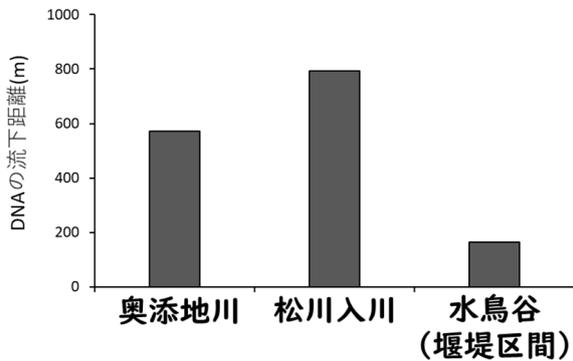


図3. 河川水中の環境DNA量が70%減少に至る流下距離．

一次元モデルに基づくDNA減衰状況の再現

- 流量 (Q) と生分解による減衰効果 (k_1), それ以外の効果 (k_2) を河床沈着と仮定し, 流下時間 t と流下距離 x に応じた環境DNAの減衰を表現する一次元モデルを構築した.

$$C_{i+1} = \frac{\{L_i + (C_i Q_i)\} \times \exp\{-(k_1 t_i) - (k_2 x_i)\}}{Q_{i+1}}$$

C_{i+1} : 区間下流端の濃度	k_1 : 流下時間に依存した減衰速度定数
Q_i : 区間上流端の流量 (取水量は差し引く)	k_2 : 流下距離に依存した減衰速度定数
Q_{i+1} : 区間下流端の流量 (流入量は追加する)	t_i : 区間iの通過に要する流下時間
L_i : 区間内での排出負荷量 (本研究ではゼロ)	x_i : 区間iの流下距離 (10mに固定)

- 本モデルでは, 流下時間 t に影響する流速や, 流量 (Q) の増大は, 実際の数値地形情報から水理・水文学的に導き, 生分解の効果 (k_1) については既往論文による分解速度の式 (水温と時間の関数) を用いる. よって, k_2 の値を動かして, 実測に基づく減衰曲線に重なる (現地調査結果をよく説明する) k_2 値を探索し, それを河床沈着の減衰効果とみなした.

- 実測に基づく減衰曲線と、「生分解のみ」、「河床沈着のみ」、「生分解+河床沈着」の効果を入れたモデル結果を、各調査区間において比較した。その結果、自然区間においては生分解による減衰効果は極めて小さく、河床沈着による減衰効果が支配的であることが分かった(図4)。流下距離に伴う減衰速度定数 $k_2=0.002$ であり、10m 流下あたり 2%の減衰率に相当した。生分解の効果が小さかったのは、山地河川の水温が低いためであると考えられる。
- 蓬沢の支川合流箇所より下流では、環境 DNA 濃度の急減する様子がモデルより確かめられた(図4)。合流点の直上流における環境 DNA 濃度が十分に高ければ、支川合流で多少希釈されたとしても、合流点下流で検出することは可能である。つまり、支川合流箇所より下流での検出可否は、「合流前の濃度」と「支川の流量」に影響される。
- 砂防堰堤のある水鳥谷でも、生分解と支川流入による流量増大の効果のみでは実測の DNA 減衰状況を再現できず、河床沈着効果を加えて初めて再現可能であることが確かめられた(図4)。流下距離に伴う減衰速度定数 $k_2=0.007$ であり、10m 流下あたり 7%の減衰率に相当した。

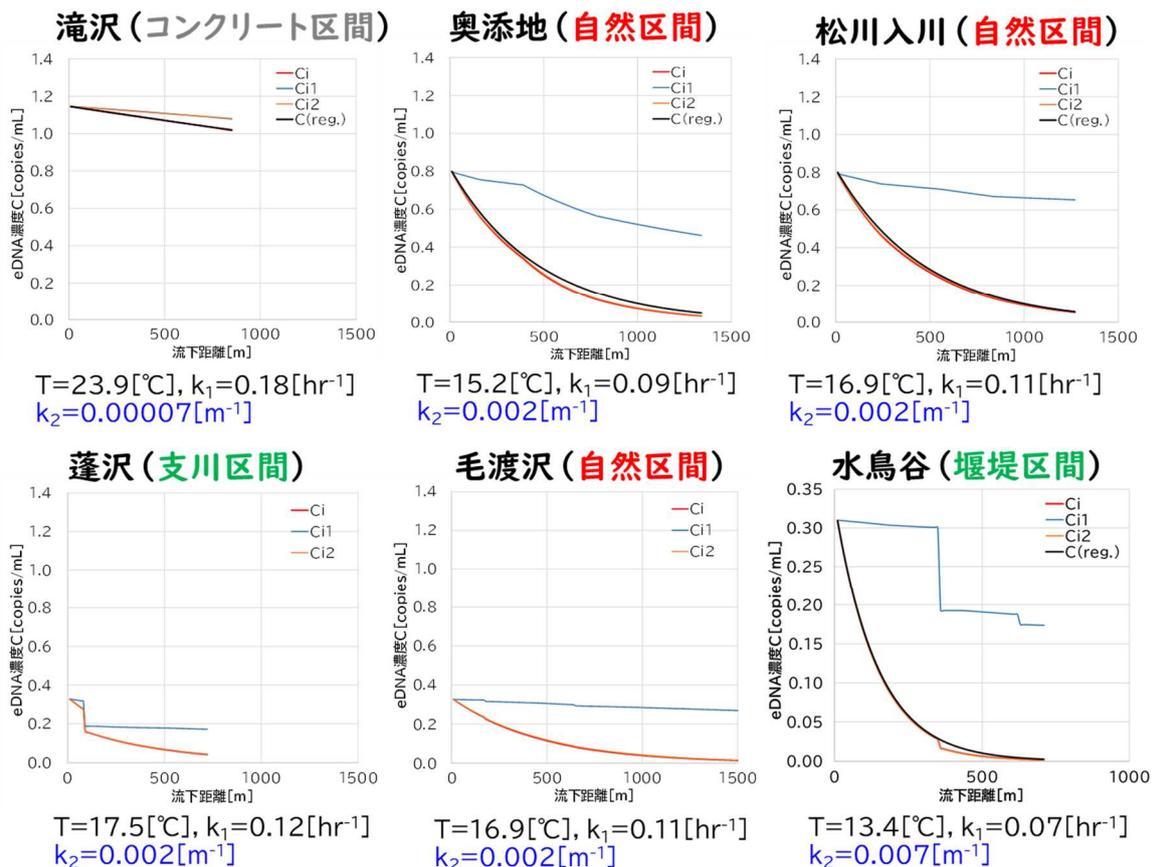


図4. 実測とモデルに基づく環境DNA濃度の流下に伴う減衰の様子。黒線 (C(reg.)) は実測、赤線 (Ci) はフルモデル (生分解 + 河床沈着)、青線 (Ci1) は生分解のみ、橙線 (Ci2) は河床沈着のみ加味したモデルの結果。支川流入があるならすべてに加味されている。

堰堤の効果を組み込んだ一次元モデルの改良

- 以上の結果を踏まえ、堰堤の効果を一次元モデルに組み込んで、DNA 減衰を推定する方法を提示する。
- 考え方としては、河床沈着効果の k_2 値を、自然河道（ステップ・プール）の区間では 0.002 とし、堰堤の堆砂域では 0.007 に切り換える。例えば、対象区間 1000m のうち、途中 300～700m 区間が堰堤による堆砂域の場合、流下距離 300m まで（ $i = 30$ ）と 700m 以降（ $i = 71$ ）は $k_2 = 0.002$ を、流下距離 300～700m（ $31 < i < 70$ ）では $k_2 = 0.007$ を用いる。これにより、堆砂域を通過する区間では、より速い減衰が表現されることになる。

まとめ：環境 DNA の流下動態

- 山地河川では、生分解による流下DNAの減衰効果は限定的であり、その他の要因 - すなわち河床沈着の効果がDNA濃度減衰の支配的要因であった（図5）。
- 堰堤による堆砂域がある場合、その区間ではDNA減衰率が高まった。また、支川が流入する場合、DNA濃度が流量に応じて希釈された（図5）。

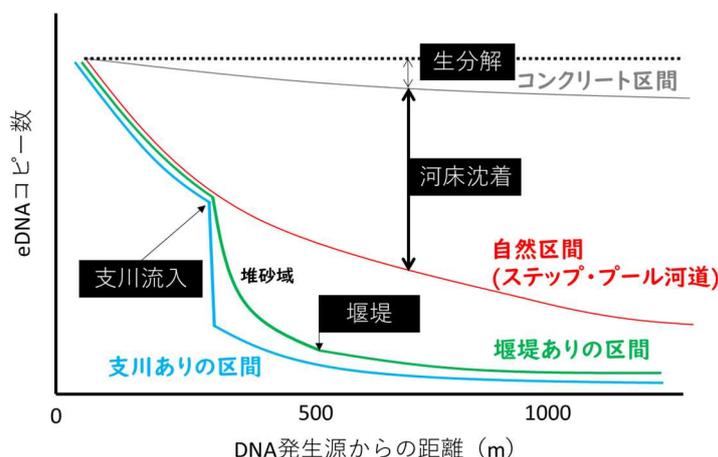


図5. 流下DNA量減衰のイメージ図。

山地河川における環境 DNA 採水計画への示唆

- 本研究およびレビューを踏まえ、山地河川で環境DNAを用いた水生生物分布調査を行う際、以下の留意事項が指摘できる。これらは、湯沢砂防事務所と協働作成した「砂防事業における環境DNAを用いた生物調査マニュアル(案)」に詳細に記述・反映した。
- 河川水質：酸性、アルカリ性河川では環境DNA調査は不適である。
- 採水間隔：600～1000mとすれば、生物の見落としを最小限にできる。ただし、これは1つの目安。実際には目的や投入可能なコストに応じて調整する。
- 支川合流・増水：採水箇所は合流点の上流に置く。すなわち、主要な支川の合流で区切られる各セグメントの下流端で採水する。増水時は採水に不適。
- 堰堤（堆砂・湛水域）：採水箇所は堆砂・湛水域の上流に置く。
- 以上を総合的に勘案し、目的に応じた採水計画を練る。

研究成果の発表状況・予定

(本研究の成果について、論文や学会への投稿等又はその予定があれば記入して下さい。)(以下記入例)

- ・これまでに発表した代表的な論文
- ・著書(教科書、学会抄録、講演要旨は除く)
- ・国際会議、学会等における発表状況
- ・主要雑誌・新聞等への成果発表
- ・学術誌へ投稿中の論文(掲載が決定しているものに限る)
- ・研究開発成果としての事業化、製品化などの普及状況
- ・企業とのタイアップ状況
- ・特許など、知的財産権の取得状況
- ・技術研究開発成果による受賞、表彰等

- 2021年度中に、湯沢砂防事務所と協働で「砂防事業における環境DNAを用いた生物調査マニュアル(案)」を作成した。

【今後の予定】

- 上記マニュアルの各地整・事務所(国交省)への展開。
- 2022年度の環境DNA学会における発表。
- 2022年度の砂防学会における発表。
- 2022年度における学術論文の投稿。

研究成果の社会への情報発信

(ウェブ、マスメディア、公開イベント等による研究成果の情報発信について記入下さい。ウェブについてはURL、新聞掲載は新聞名、掲載日等、公開イベントは実施日、テーマ、参加者数等を記入下さい。)

該当なし

表彰、受賞歴

(単なる成果発表は に記載して下さい。大臣賞、学会等の技術開発賞、優秀賞等を記入下さい。)

該当なし

研究の今後の課題・展望等

(研究目的の進捗状況・達成状況や得られた研究成果を踏まえ、研究の更なる発展や砂防政策の質の向上への貢献等に向けた、研究の今後の課題・展望等を具体的に記入下さい。)

- 環境DNAの動態や挙動に関する課題としては、酸性河川でDNAを検出しづらくなる要因と閾値の探索が必要である。また、堰堤の堆砂域でDNAの減衰率が增大する要因の検討も必要である。
- 山地河川の生物調査における環境DNAの活用に関する課題としては、本研究で得られたステッププール河道や堰堤堆砂域でのDNA減衰率が、より多くの河川でも同程度であるか追加検討が必要である(より頑強な一般性)。また、砂防事業が多く行われる扇状地や沖積錐におけるDNA減衰率も検討できれば、適用範囲が増すであろう。さらに、満砂していない堰堤、特に湛水域を形成する堰堤のDNA減衰に対する影響も課題である。
- これらの検討は、砂防事業対象地のみならず、河川全般におけるDNA減衰の評価精度向上にも寄与し、砂防・河川事業対象地におけるより効果的な環境DNAの活用に資すると考えられる。

研究成果の河川砂防行政への反映

(本研究で得られた研究成果の実務への反映等、砂防政策の質の向上への貢献について具体的かつ明確に記入下さい。)

- 環境DNAを用いて水生生物の分布推定や砂防施設の影響，魚道等の効果を検証する際に，適切なサンプリング（採水）地点の配置を行うための知見を，本研究は提供する．
- 本課題の成果と既存研究のレビューを踏まえ，2021年度，湯沢砂防事務所との協働により「砂防事業における環境DNAを用いた生物調査マニュアル（案）」を作成した．
- 特に，調査（採水）計画時に留意すべき事項をまとめた．これにより，調査準備・実施の効率化，標準化がなされる．さらに，得られる生物分布情報の質の向上，評価の精度向上，将来的な比較検証が可能となる．