

黒部川 環境DNA調査結果報告

■ 調査の目的

現在、連携排砂等により黒部川河道内に生息する水生生物への影響把握は、投網等の人力による採捕調査を主としている。長期的にモニタリングを実施するためには、現地条件や技術の差に寄らない熟練した採捕技術が必要であるため、新技術である環境DNA調査手法による有効性を検証し、環境調査のスマート化を目指すもの。

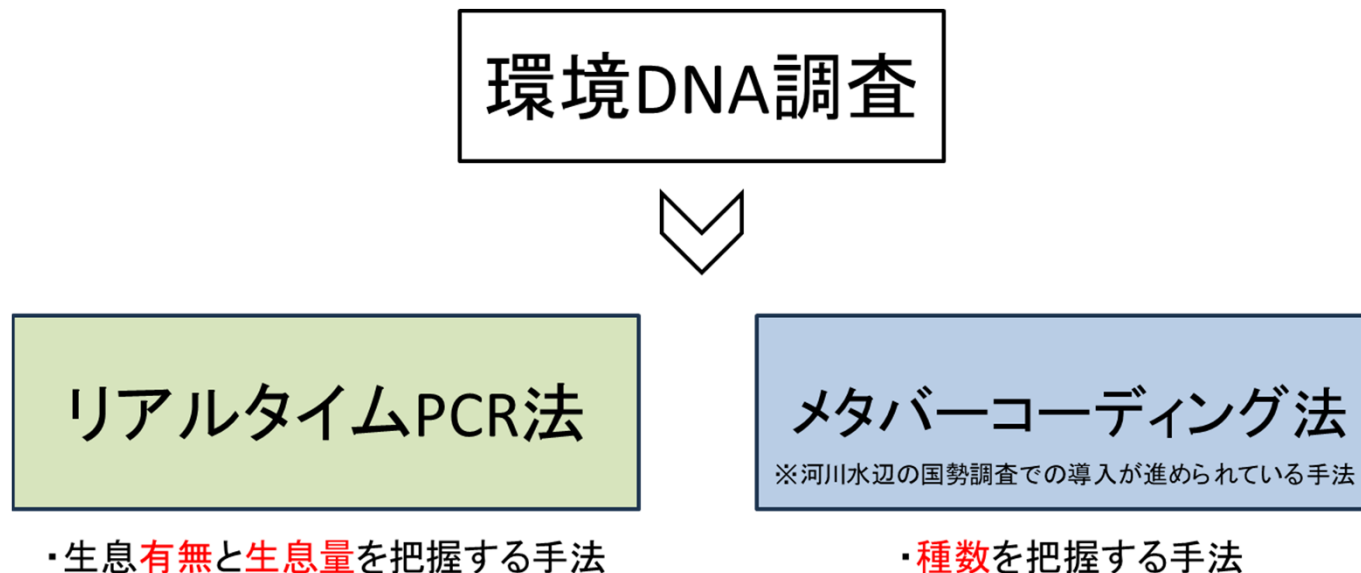
■ 環境DNA調査とは

- ・環境DNAとは、川などの自然環境の中に存在する「生物由来のDNA」を指す。
- ・環境DNAは現地で採取した水から抽出する事が可能であり、採水のみで生息する生物の情報を把握できる。

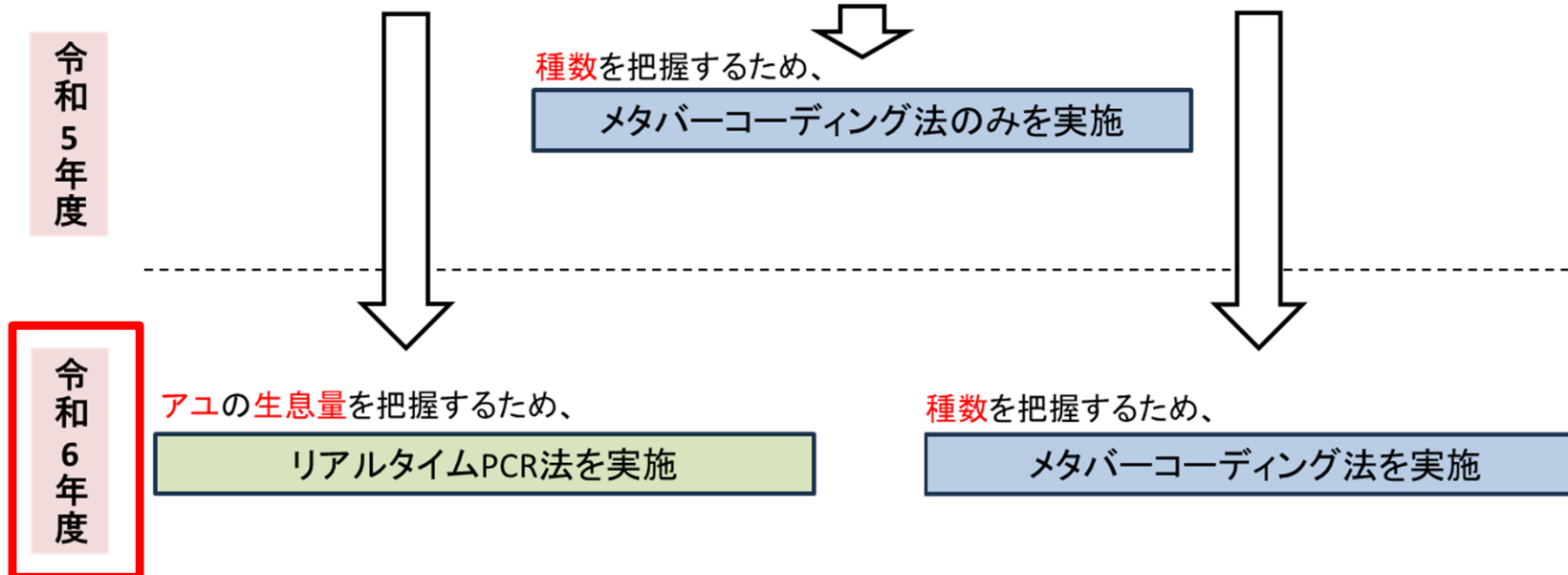


■ 環境DNA調査の種類

把握したい情報によって、2種類の手法に分かれる。

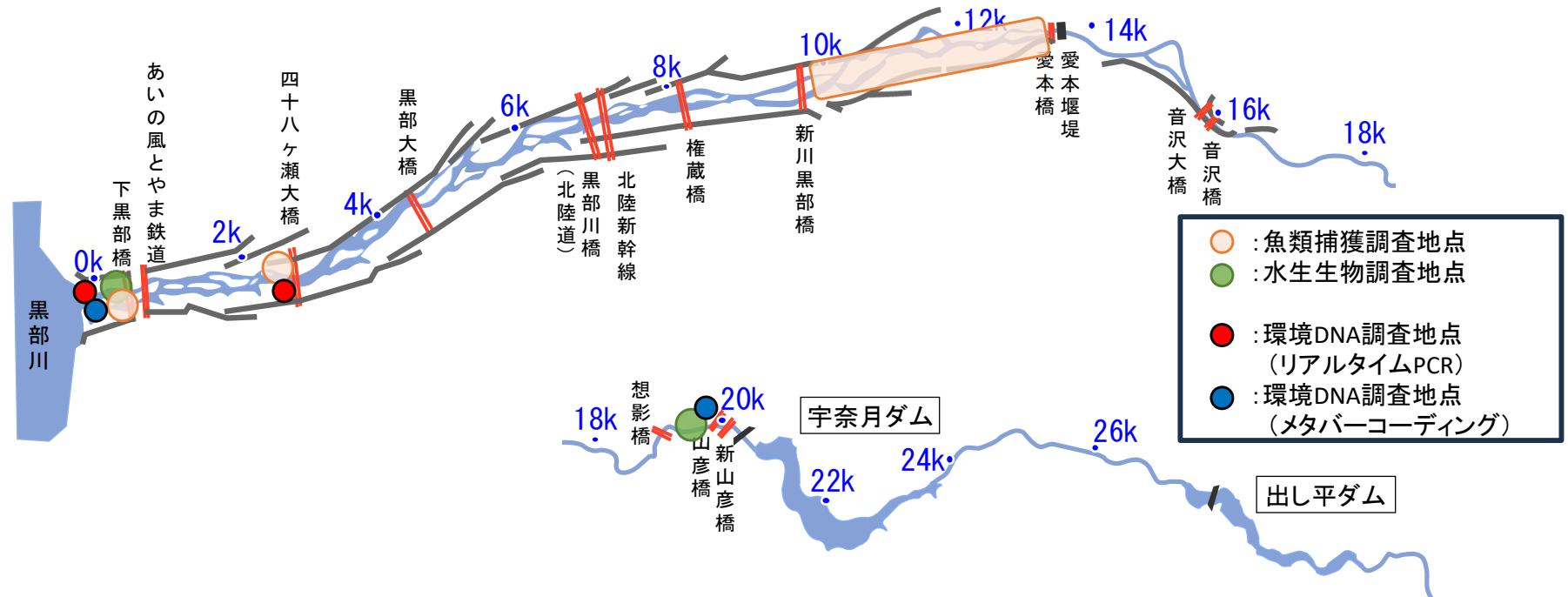


- ・令和5年度に試験的に実施した調査では、種数を把握するメタバーコーディング法のみを実施した。
- ・令和6年度は、連携排砂等による影響を把握するために実施している現行調査内容と整合させるため、リアルタイムPCR法とメタバーコーディング法を同時に実施した。



令和6年度の調査概要

各調査位置図



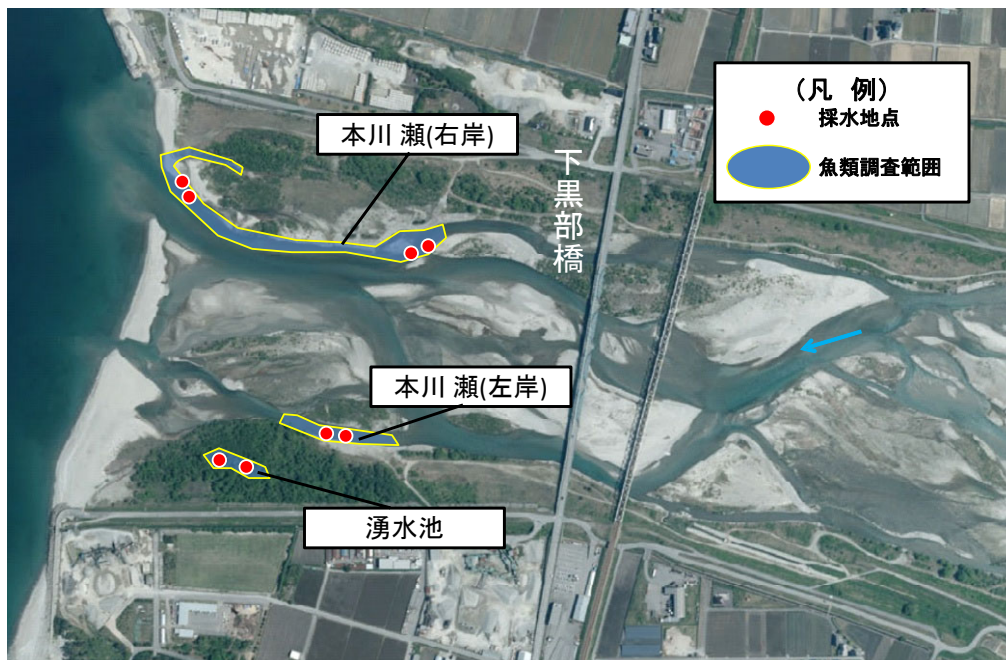
	排砂影響調査		環境DNA調査	
	魚類捕獲調査	水生生物調査	リアルタイムPCR	メタバーコーディング
調査目的	連携排砂期間中の魚類（主にアユ）の生息状況（生息有無とその量）を把握する調査	連携排砂による水生生物への経年的な影響を把握するため種数を調査	魚類捕獲調査のアユを対象とし、採捕個体数と環境DNA量（濃度）の相関を検証する調査	水生生物調査により確認された種数と環境DNAで検出された出現種数を比較検証する調査
方 法	投網	投網、タモ網、サーバーネット	採水	
調査時期	5月～8月（1～3回/月）	5月、9月、11月	魚類捕獲調査と同じ	水生生物調査と同じ
調査地点	下黒部橋 四十八ヶ瀬大橋 新川黒部橋～愛本間	下黒部橋 山彦橋	下黒部橋 四十八ヶ瀬大橋 ※新川黒部橋～愛本間はアユの主たる生息域ではないため除外	下黒部橋 山彦橋

■ メタバーコーディング法の検体数について

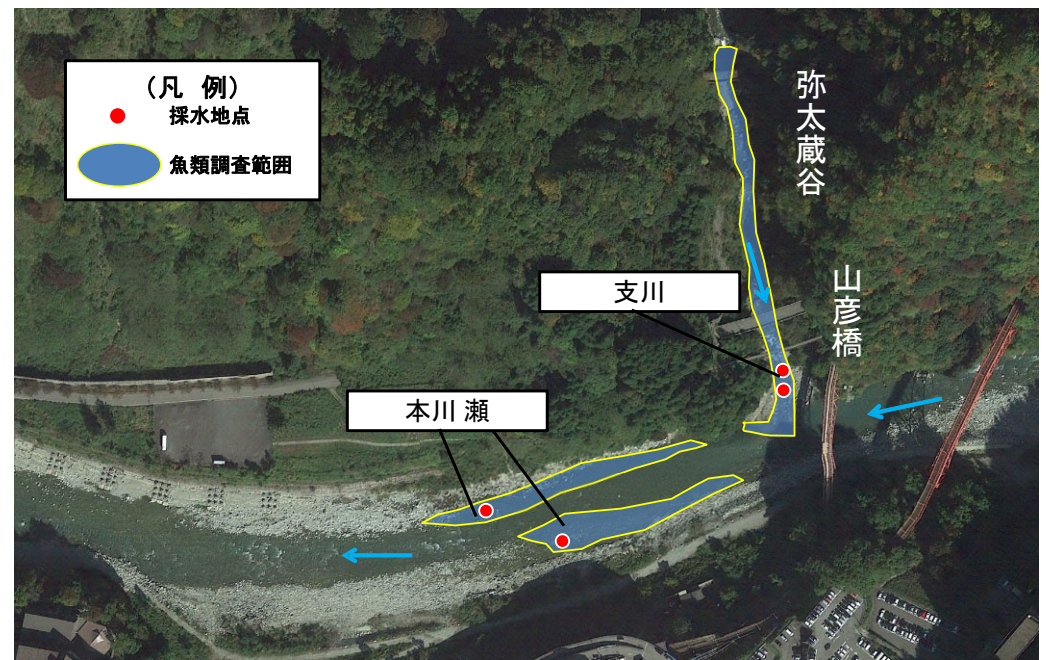
昨年度の調査では、現地で採捕されているにもかかわらずDNAが検出されない魚種が多かったため、本年度の調査では、水生生物調査区域内の採水検体を異なる箇所でも2検体ずつとした。(昨年度は水生生物調査区域内での採水は1検体)

調査地点	採水地点	検体数	採水箇所の狙い
下黒部橋	本川 瀬(左岸)	2検体	左岸側流路の遊泳・底生魚
	本川 瀬(右岸)	4検体(調査範囲が広いため2箇所でも各2検体採水)	右岸側流路の遊泳・底生魚、ボウなどの汽水性魚類
	湧水池	2検体	トミヨなどの湧水性魚類
山彦橋	本川 瀬	左岸1検体、右岸1検体	黒部川本川の遊泳・底生魚
	支川	2検体	支川である弥太蔵谷の遊泳・底生魚

下黒部橋



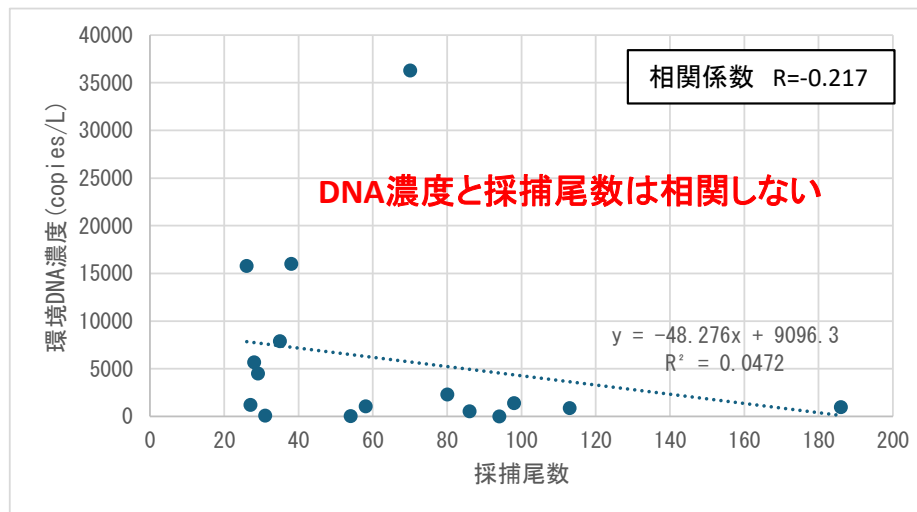
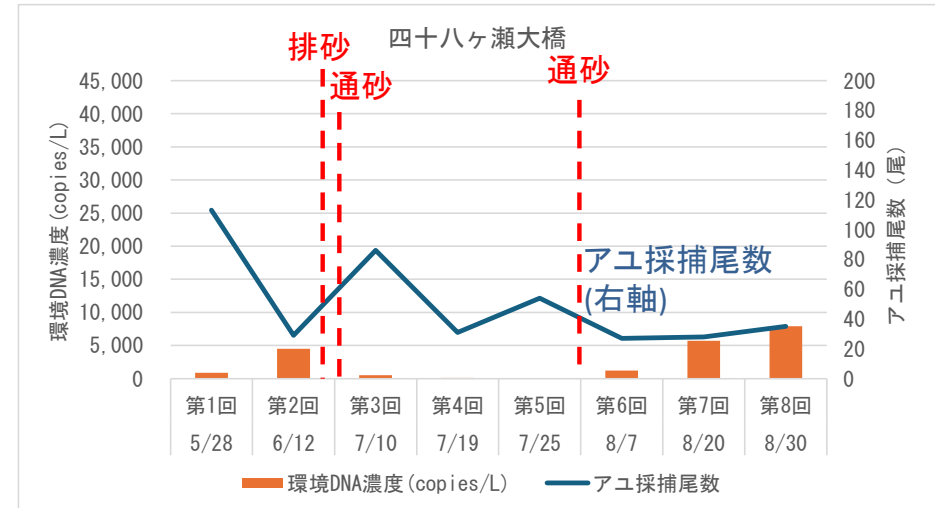
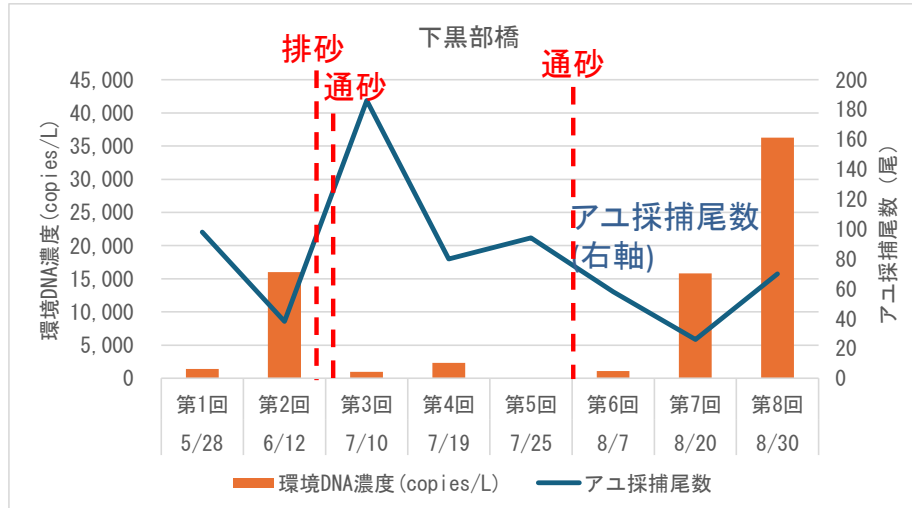
山彦橋



リアルタイムPCR法調査報告1

○はじめに

リアルタイムPCR法は生息量が把握できる手法であるが、結果は環境DNAの“濃度”として表される。※単位copies/L
よって、魚類捕獲調査にて採捕されたアユを対象に、実際の採捕尾数と検出されたアユの環境DNA濃度について
相関の有無を確認した。



○結果

- ・ 採捕尾数と環境DNA濃度を単純比較しても相関はしない
- ・ 採捕尾数と環境DNA濃度になんらかの数値補正をする事で相関関係が現れる可能性を考察

リアルタイムPCR法調査報告2

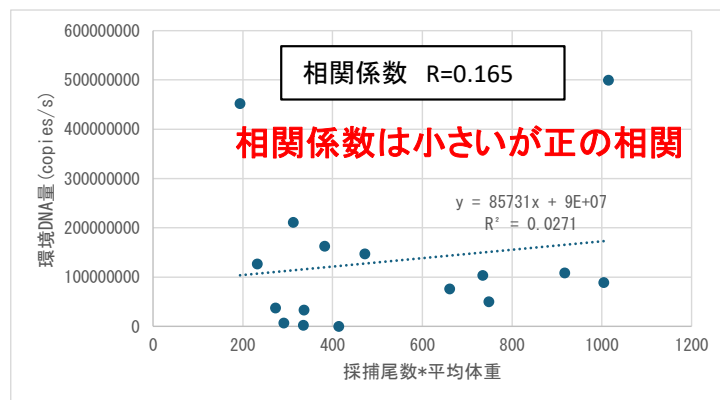
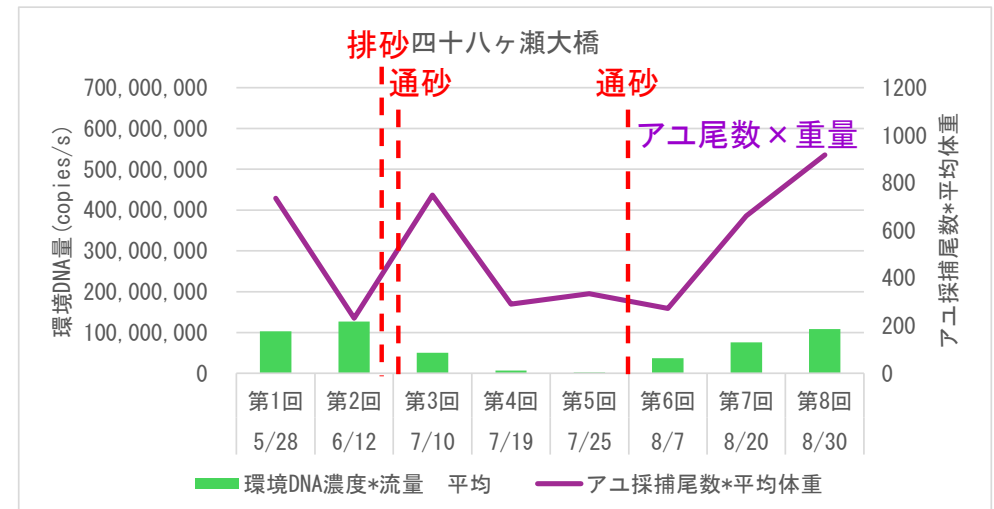
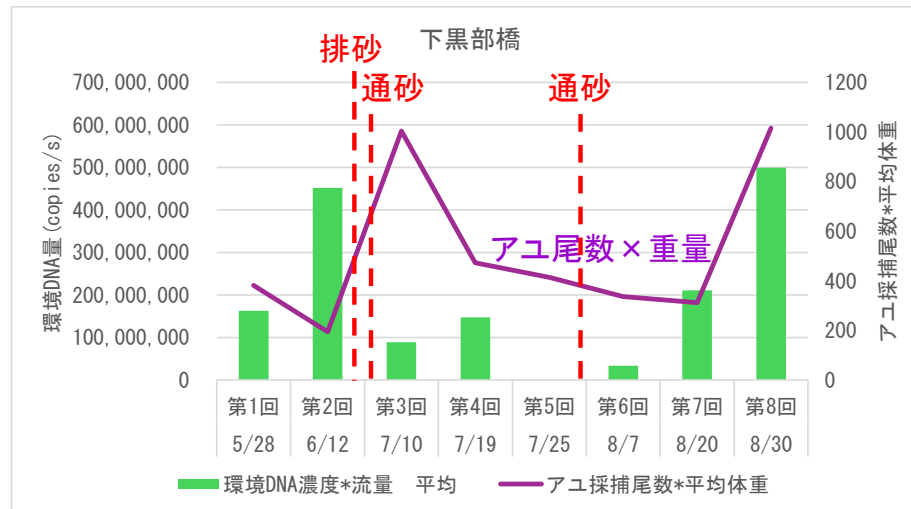
○数値補正について

- ・河川流量は変動することからその影響を受けている可能性を環境DNA濃度に対し数値補正することで再現した。

数値補正した環境DNA濃度(copies/S) : 環境DNA濃度(copies/L) × 採水時の流量(L/S) の平均

- ・環境DNAはアユの魚体サイズにより放出量が異なる可能性を採捕尾数に対し数値補正することで再現した。

数値補正した採捕量 : 採捕尾数 × 各捕獲調査時の平均体重

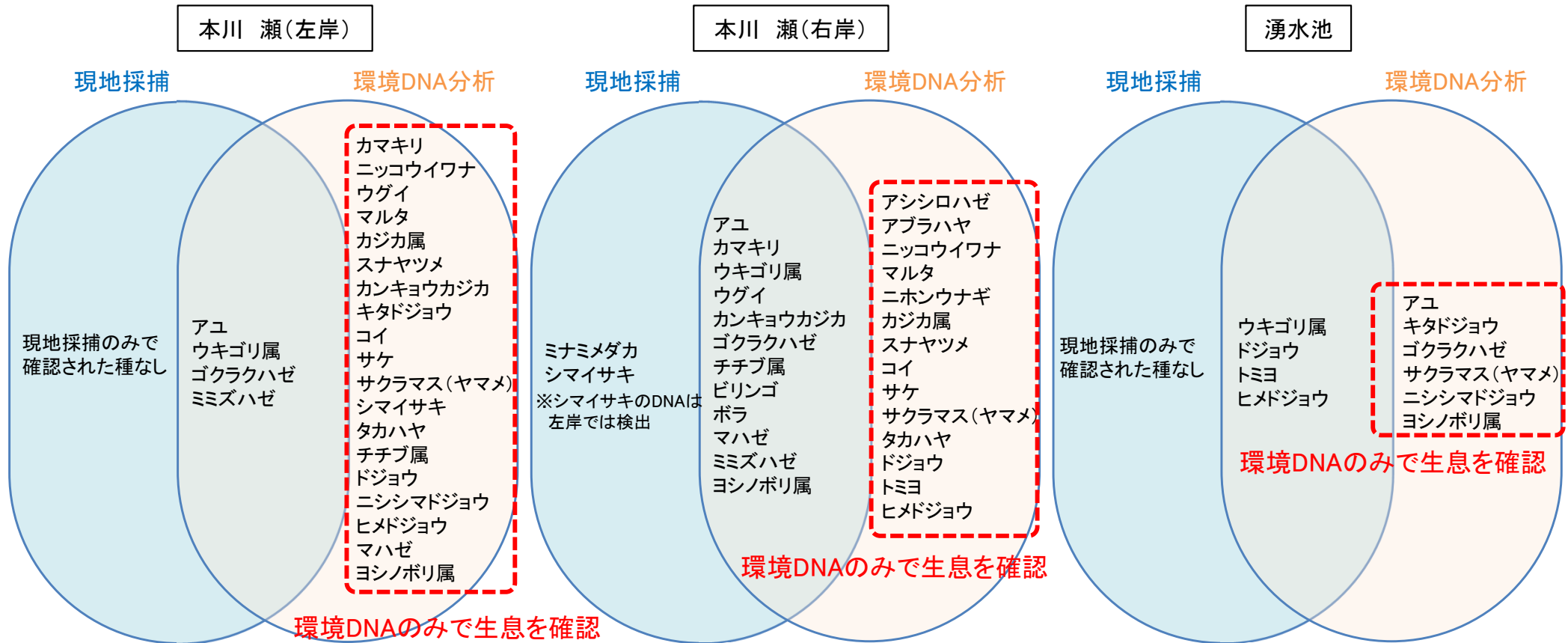


○結果

- ・採捕尾数と環境DNA濃度を単純比較に比べ数値補正することで小さい正の相関が確認されたが、関係性は小さい
- ・第6～8回の調査結果では補正した採捕量とDNA量の増減傾向が概ね一致するケースも確認された

■ メタバーコーディング法調査報告1(下黒部橋)

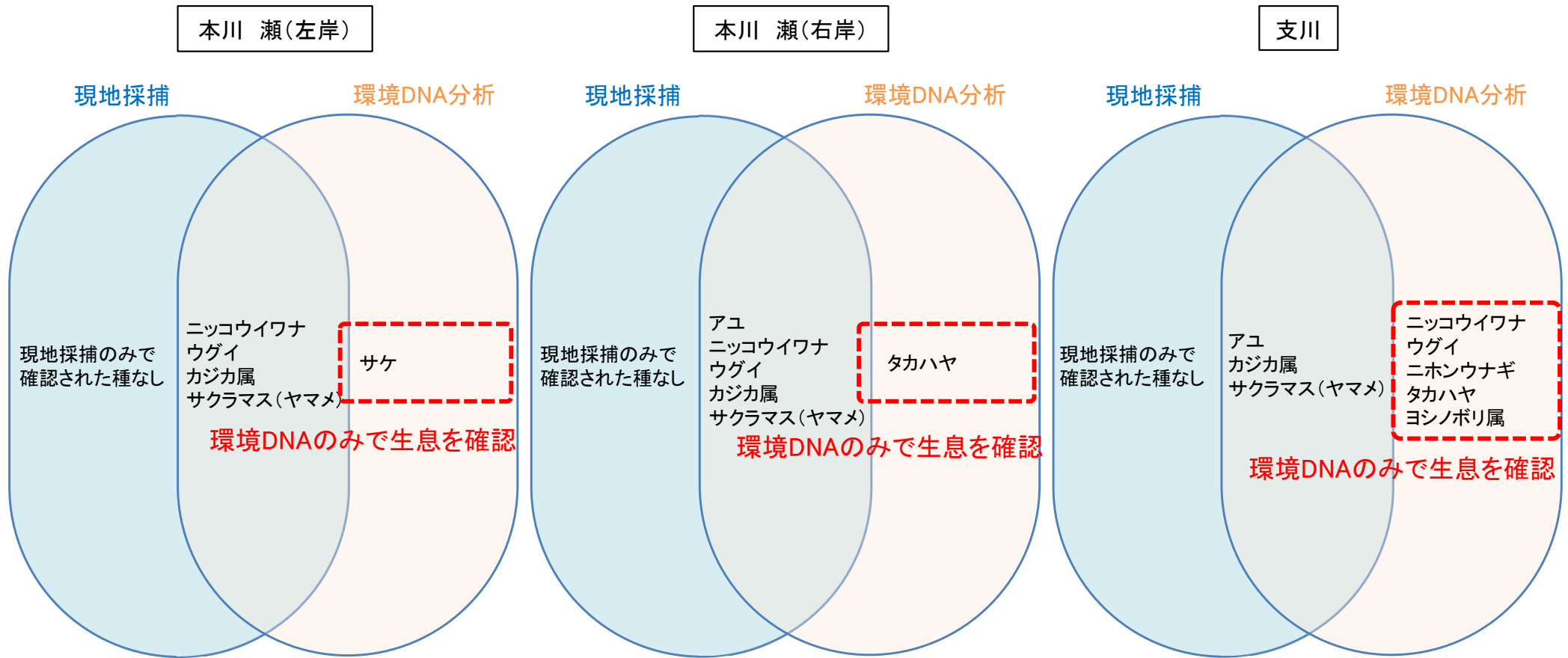
- 採捕で確認された種は17種
- 環境DNAで確認された種は29種
- 採捕で確認された種は概ね環境DNAでも検出
 - ※R5年度の26種に比べて検出数増加
 - ⇒検体数、採水ハビタット追加によると考えられる
- 環境DNAを用いることにより、**形態的に種の同定が難しい種(キタドジョウ、ニシシマドジョウ)の同定ができた。**



環境DNA調査により、採捕よりも多くの種を検出できることを確認した。

■ メタバーコーディング法調査報告2(山彦橋)

- 採捕で確認された種は5種
- 環境DNAで確認された種は9種
- 採捕で確認された種は**いずれも環境DNAでも検出**
 ※R5年度の5種に比べて検出数増加
 ⇒検体数、採水ハビタット追加によると考えられる



環境DNA調査により、採捕よりも多くの種を検出できることを確認した。

■ まとめ

●リアルタイムPCR

- ・採捕尾数と環境DNA濃度は相関せず、単純比較は困難である。
- ・比較方法は確立されておらず、本調査ではアユの成長具合や流量の影響を考慮した分析を行ったものの相関はごく弱かった。
- ・以上より、現時点では魚類捕獲調査において直接採捕に代わる手法として環境DNA調査を用いることは課題があると考えられる。

環境DNA濃度に影響すると考えられるその他の要因

- ・アユの活性
- ・河川水の濁り など

←これらの影響の平準化が必要

●メタバーコーディング調査

- ・水生生物調査と同時に実施したメタバーコーディング分析では、直接採捕よりも多くの種を検出でき、採捕された種は概ねDNAが検出されることを確認した。
- ・一方で、偽陽性と考えられる種や直接採捕よりも同定精度が劣る分類群（一部のハゼ類等）、DNAが検出されなかった種など、技術的な課題が残る。

偽陽性と考えられる種

オイカワ、カワムツ、カマツカ、ムギツク、ボウズハゼ、カワアナゴ
⇒既往の調査において未記録で、検出された調査地点の環境は知られている生息環境とは異なる。

【考えられる偽陽性の要因】

- ・採水または分析工程でのコンタミネーション
- ・私有地内の池などからの排水

本当に生息している可能性を考慮し、採捕調査による再確認を実施することも考えられる。

直接採捕よりも同定精度が劣る分類群

DNA配列	既往の調査結果から推定される候補種
ウキゴリ属	ウキゴリ、スミウキゴリ、シマウキゴリ
ヨシノボリ属	オオヨシノボリ、旧トウヨシノボリ類、シマヨシノボリ、ルリヨシノボリ、シマヨシノボリ
カジカ属	カジカ中卵型、カジカ

形態的には種レベルで同定が可能だが、DNAでは属レベルの同定に留まる。

採捕されたものの、DNAが検出されなかった種

ミナミメダカ

⇒本川との水交換が乏しいワンド内に生息しているためDNAが検出されなかったと考えられる。



調査時に河道の状況等を確認し、適切な採水地点を設定することで改善が可能と考えられる。