



# 環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究

研究項目1 環境DNAの水国実装に向けた技術体系の構築

## ダム湖における環境DNA導入方法に関する 基礎研究

株式会社 建設技術研究所

- ✓ 河川水辺の国勢調査（以下、「水国調査」という。）への環境DNA技術導入の検討は、平成29年度以降、土木研究所を中心に研究が進められ、令和2年度からはテーマ調査として全国調査が開始されている。
- ✓ この間、採水地点の配置や導入方法に関し、一定の知見が蓄積されているものの、水国調査への実装に当たっては更なる知見の蓄積が重要となる。
- ✓ 特に、ダム湖では水深の大きな湖心をはじめ、採捕調査に大きな労力を伴うため、魚類相把握の効率化に環境DNA技術は大きく貢献すると考えられる。前述の水国調査のテーマ調査等を通じ、ダム湖では採捕よりも環境DNAによる魚類の検出種数が多くなる傾向が示された一方で、環境DNAによる魚類の検出率は河川に比べ有意に低いことや、ダム毎の流動特性により魚類の検出結果に違いが生じること、検出種数と水深との関係が季節によって変化する可能性などが報告されており、今後の事例の追加や検証等が必要である。
- ✓ そこで、本研究では、ダム湖での水国調査に環境DNA技術を導入するための基礎資料を得ることを目的として、①ダム湖内での環境DNA分析に関する適切な採水量の検討、②採捕調査と環境DNA分析の比較分析を行った。

- ✓ 長野県に位置する天竜川水系三峰川の美和ダムを対象とし、4箇所では秋季に計1回採水を行った。
- ✓ 採水箇所は、湖心部2箇所、湖岸部1箇所、流入部1箇所とし、湖心部のうち1箇所では表層・中層（表層から5m）・底層（表層から9m）の3層、その他の3箇所では表層の1層で採水を行った。
- ✓ 採水量は、各層ごとに1L、2L、3Lの計3サンプルとした。
- ✓ 採水したサンプルをもとに定量メタバーコーディングにより環境DNAを分析し、採捕調査と環境DNAによる魚種の検出数、及び採水量や採水層による魚類の検出種数を比較した。
- ✓ 本研究により、平均水深が比較的小さく回転率が大きいダムにおいて、採捕と同程度の魚類数を検出することを目的とした場合、採水層は表層、採水量は1Lでよいと考えられた。

# 対象の範囲



環境DNAを活用した環境情報の高度化に関する共同研究

研究項目1 環境DNAの水国実装に向けた技術体系の構築

## 美和ダム

水系名：天竜川水系三峰川

所在地：長野県伊那市高頭町勝間（左岸）

長野県伊那市長谷非持（右岸）

特徴：平均水深が比較的小さく、回転率が高い

美和ダム：国土交通省

（管理開始：昭和34年【60年経過】）

水系名：天竜川水系三峰川

所在地：左岸：長野県伊那市高頭町勝間

右岸：長野県伊那市長谷非持

目的・洪水調節

・灌漑

・発電

型式 重力式コンクリートダム

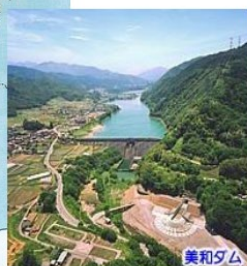
堤高 69.1m(ダム天端標高EL.817.6m)

堤頂長 367.5m

流域面積 311.1km<sup>2</sup>

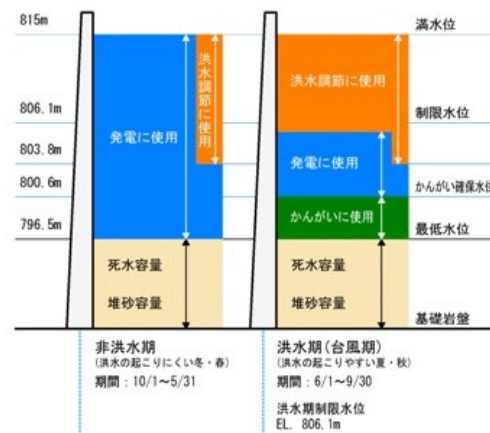
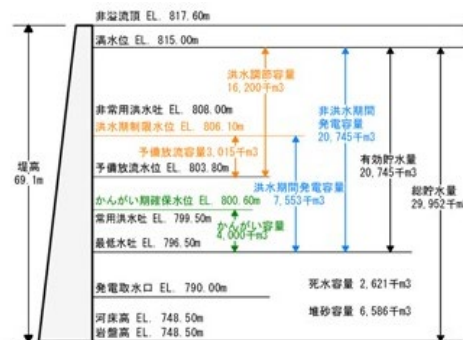
湛水面積 1.79km<sup>2</sup>

総貯水量 29,952千m<sup>3</sup>



美和ダム

| 項目               | 諸元                        |
|------------------|---------------------------|
| 集水面積             | 311.1km <sup>2</sup>      |
| 総貯水容量            | 299,952,000m <sup>3</sup> |
| 満水位 (EL.)        | 815.00m                   |
| 洪水期制限水位 (EL.)    | 806.10m                   |
| 最低水位 (EL.)       | 796.50m                   |
| 回転率 (H21～H30年実績) | 平均14.5回／年                 |
| 型式               | 重力式コンクリート                 |



出典) 令和6年度中部地方ダム等管理フォローアップ委員会 美和ダム定期報告書【概要版】(R6.12)

出典) 国土交通省中部地方整備局天竜川ダム統合管理事務所

- ・調査地点：4地点

- ・採水方法

表層：ポリエチレン手袋を装着し直接採水

底層：ハイロート式採水器で採水

- ・採水時期：R4年10月19～20日

- ・環境DNA分析

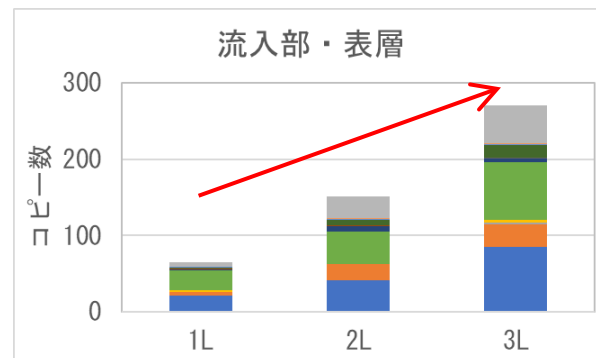
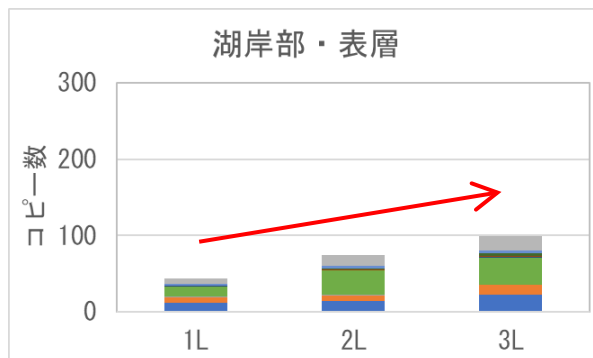
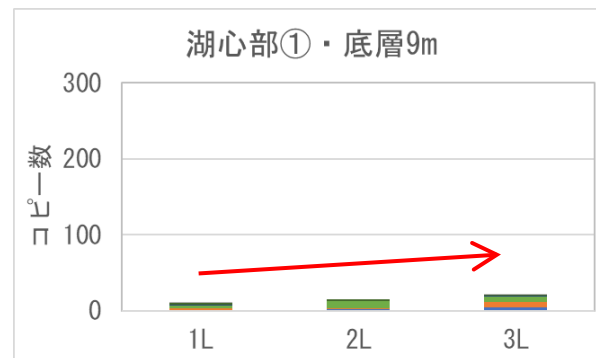
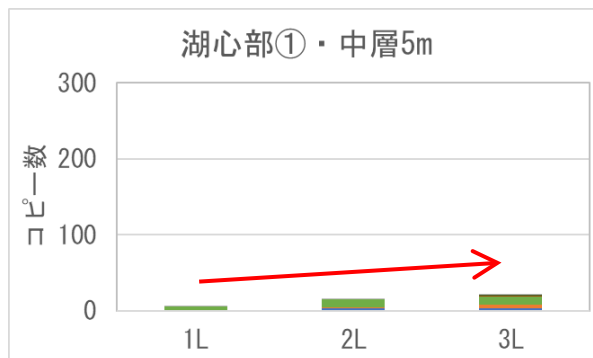
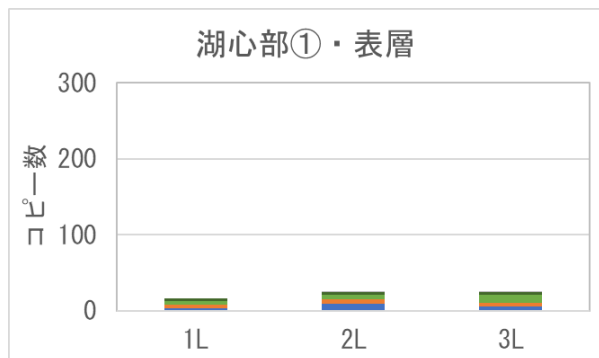
魚類：Miya et al. (2015) で開発された魚類のユニバーサルプライマー (MiFish-U) で増幅し、次世代シーケンサー (MiSeq, Illumina社製) により定量メタバーコーディング解析(Ushio et al., 2018, Tsuji et al., 2022)を行った。



| 調査地点 | 採水位置               | 採水量        | サンプル数   | 採捕手法 (水国)       |
|------|--------------------|------------|---------|-----------------|
| 湖心部① | 表層・中層 (5m)、底層 (9m) | 1L /2L /3L | 3サンプル/層 | 刺網(表層・底層)       |
| 湖心部② | 表層                 | 1L /2L /3L | 3サンプル/層 | 刺網(表層・底層)       |
| 湖岸部  | 表層                 | 1L /2L /3L | 3サンプル/層 | 投網/笊網/かゝ網/はえなわ  |
| 流入部  | 表層                 | 1L /2L /3L | 3サンプル/層 | 刺網(底層)/かゝ網/はえなわ |

## 採水量による検出結果の違い

- コピー数を見ると、流入部・表層が多く、次に湖岸部・表層が多くなった。
- 4地点において、**容量とコピー数は比例関係**にあった。



※各グラフの色は環境DNA分析における検出種ごとの色分けであり、同一の種は同じ色で表現している

## 採水量と採捕結果の比較

- どの容量においても、採捕での確認種は環境DNA分析で検出され、環境DNAで検出されなかった種は1種のみであった。当該1種を含む属群は環境DNA分析で確認されていることから、採水による環境DNA分析は採捕結果を概ね包含したといえる。

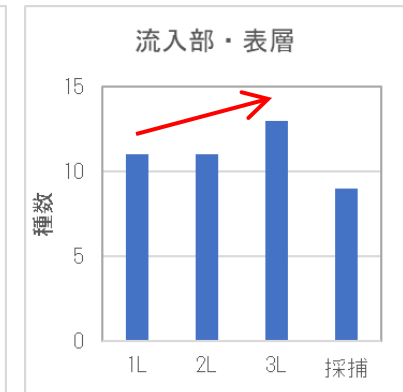
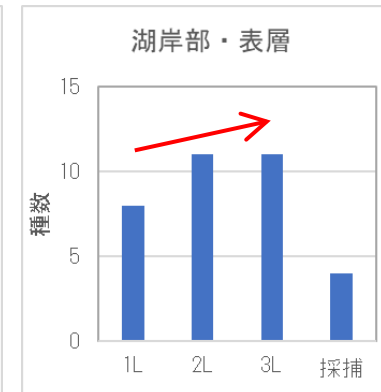
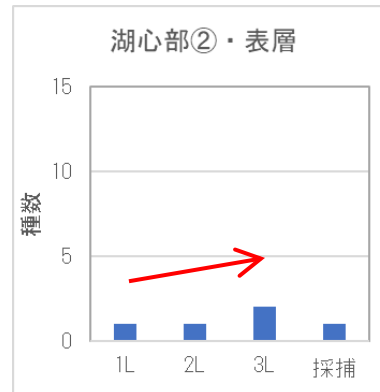
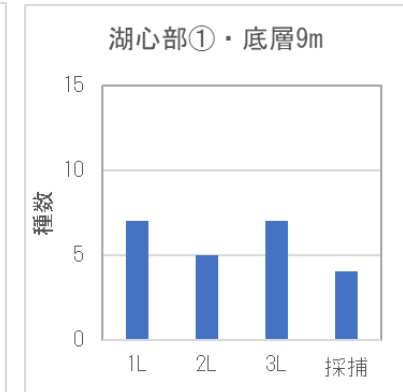
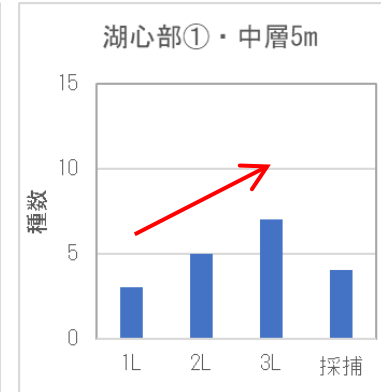
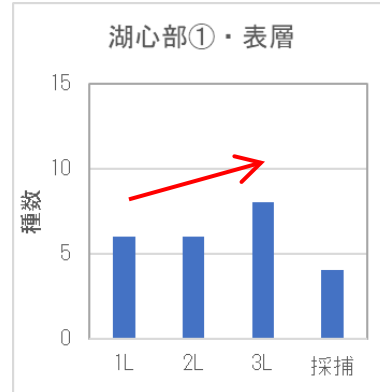
| 調査方法            |    | 湖心部①       |            |            | 湖心部<br>②   | 湖岸部         | 流入部         |
|-----------------|----|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
|                 |    | 表層         | 中層5m       | 底層9m       |            |             |             |
| 環境<br>DNA<br>※1 | 1L | 6種<br>(4種) | 3種<br>(1種) | 7種<br>(4種) | 1種<br>(1種) | 8種<br>(2種)  | 11種<br>(8種) |
|                 | 2L | 6種<br>(4種) | 5種<br>(3種) | 5種<br>(4種) | 1種<br>(1種) | 11種<br>(2種) | 11種<br>(8種) |
|                 | 3L | 8種<br>(4種) | 7種<br>(3種) | 7種<br>(4種) | 2種<br>(1種) | 11種<br>(3種) | 13種<br>(7種) |
| 採捕※2            |    | 4種<br>(0種) |            |            | 1種<br>(0種) | 4種<br>(1種)  | 9種<br>(1種)  |

※1 括弧内の種数は、各環境DNAサンプルで確認された種のうち、採捕でも確認された種数を示す。

※2 括弧内の種数は、採捕で確認された種のうち、環境DNAで確認されなかった種数を示す。

# 採水量と採捕結果の比較

- 確認種数のみで比較した場合、一部を除いて採捕結果より環境DNA分析結果の方が多い。
- 採水量に比例して確認種数も多くなる傾向が見られた。
- より多くの種数を取得する事を基準に容量を選択するならば、  
**採水量は3Lが良い。**



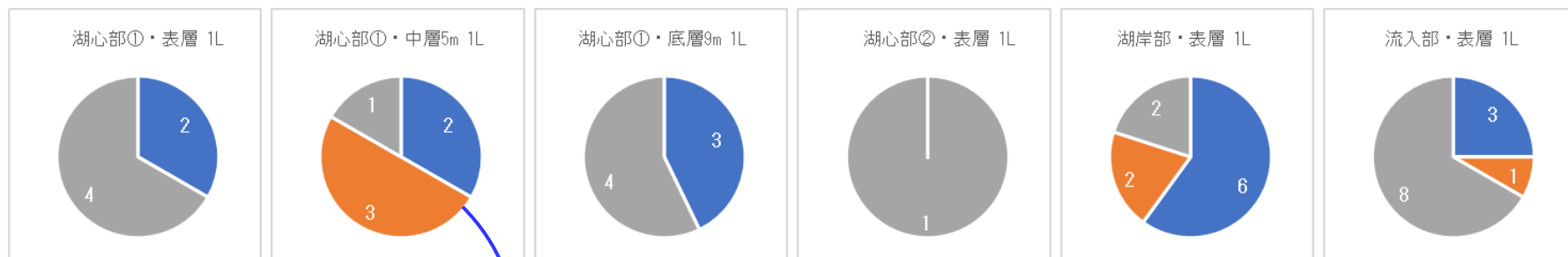
※湖心部①の採捕は層別に行われたものではないが、比較のため同値を重複して表示している。

# 採水量と採捕結果の種数比較

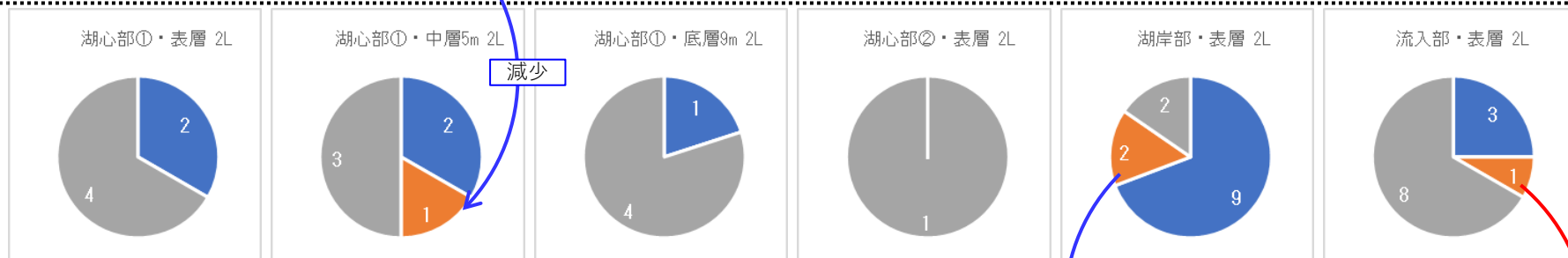
- 採捕と同程度の種数を取得する事を目的とするならば、**採水量は1Lで良い。**

- 環境DNA分析でのみ確認された種
- 採捕でのみ確認された種
- 両方で確認された種

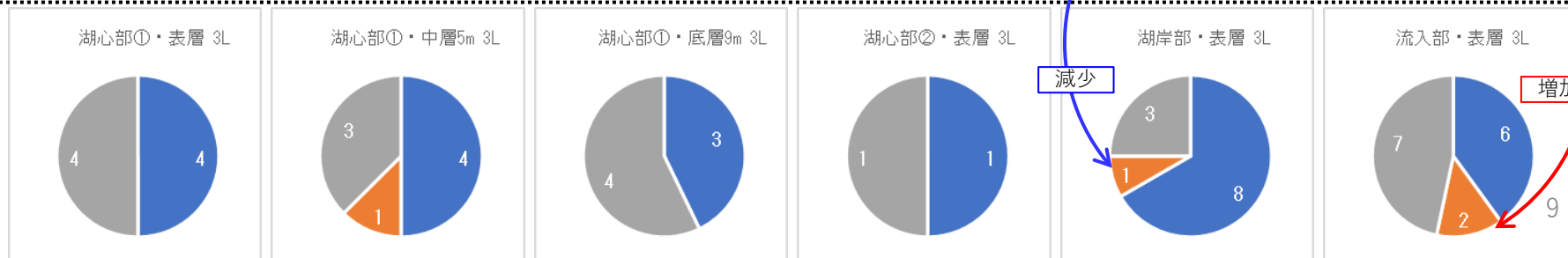
1L



2L



3L



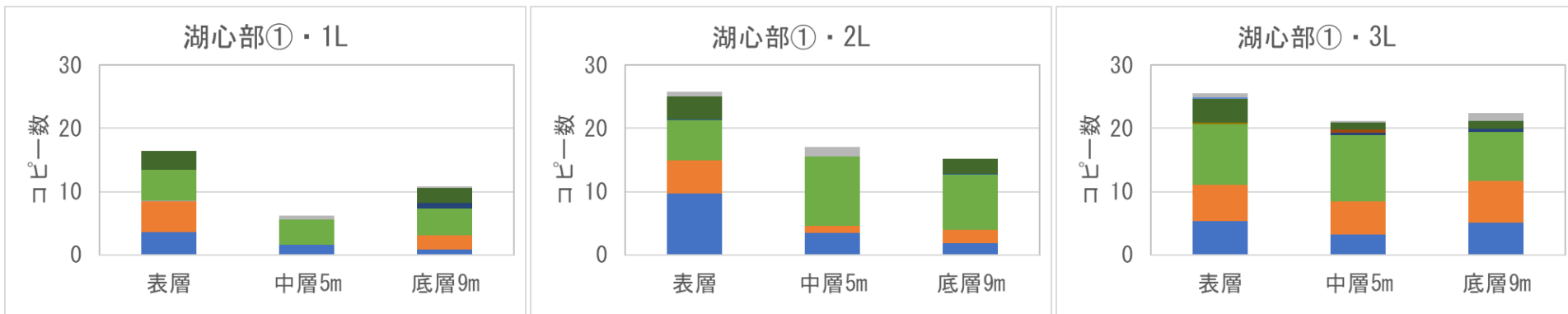
減少

減少

増加

## 採水層による検出結果の違い

- 環境DNA分析（定量メタバーコーディング）結果を採水層別に示す。
- 各魚種の生態区分（底生魚等）の明確な出現差異は見られなかった。
- どの容量においても**表層**でコピー数が多くなった。



※各グラフの色は環境DNA分析における検出種ごとの色分けであり、同一の種は同じ色で表現している

- ✓ 長野県美和ダムの4箇所で、採水層・採水量の条件を複数設定し採水を行い、採水による環境DNA分析（定量メタバーコーディング）結果と採捕結果から魚類の検出種数やコピー数を比較した。
- ✓ 全ての調査地点で採水容量と環境DNAのコピー数に比例関係がみられた。
- ✓ 採水による環境DNA分析で検出された魚種は、採捕調査による魚種を包括していた。
- ✓ 確認種数のみで比較すると、一部を除いて採捕結果より環境DNA分析による検出種数が多く、採水量に比例して確認種数も多くなる傾向がみられた。
- ✓ また、採水量1Lによる検出種数は、採捕と同程度であった。
- ✓ 以上より、水深が比較的小さく、回転率が高いダムで、採水による環境DNA分析で採捕と同程度の確認種数を検出することを目的とした場合、採水量は1Lかつ表層の採水でよいと考えられた。

1. Minamoto, T., Miya, M., Sado, T., Seino, S., Doi, H., Kondoh, M., ... & Uchii, K. (2021). An illustrated manual for environmental DNA research: Water sampling guidelines and experimental protocols. *Environmental DNA*, 3(1), 8-13.
2. Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., ... & Iwasaki, W. (2015). MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society open science*, 2(7), 150088.
3. Yamanaka H, Minamoto T, Matsuura J, Sakurai S, Tsuji S, Motozawa H, Hongo M, Sogo Y, Kakimi N, Teramura I, Sugita M, Baba M, Kondo A (2017) A simple method for preserving environmental DNA in water samples at ambient temperature by addition of cationic surfactant. *Limnology* Vol.18, pp.233-241.
4. Ushio, M., Murakami, H., Masuda, R., Sado, T., Miya, M., Sakurai, S., ... & Kondoh, M. (2017). Quantitative monitoring of multispecies fish environmental DNA using high-throughput sequencing. *BioRxiv*, 113472.