

2018 年度（第 54 回）水工学に関する夏期研修会講義集

水工学シリーズ 18-A-2

環境 DNA を用いた河川生物量推定

山口大学・特命助教

乾 隆帝

土木学会

水工学委員会・海岸工学委員会

2018 年 9 月

環境 DNA を用いた河川生物量推定

Environmental DNA analysis for estimating the resources of river organisms

乾 隆帝

Ryutei Inui

1. はじめに

近年、河川における生態系管理は、希少生物の保全だけでなく、普通種も含めた生態系の調査や把握が必要不可欠となっている。現在、河川における生態系管理においては、主に種多様性に着目した調査データは集積されつつある一方、生物の量に関する情報の蓄積は少ない。その理由として、河川における生物量の把握は陸域と比べて困難であり、特に魚類に関しては網などを用いても正確な現存量を把握できていないという課題があるためである。これに対して、近年、水を採取して、その中のDNA 情報を調べることによって、水域の生物の在／不在やバイオマスを明らかにする環境DNA分析の開発が急速に進んでいる。環境DNA分析では湖沼や河川において生物の生息の有無を高い精度で判別可能であり、DNA定量値からバイオマスの推定も可能である。しかし、採水した水がどの程度の範囲の水塊を代表するものであるかも不明確であり、特にバイオマスの推定に関してはその実用性について実証的な検討が必要とされている。そこで、本講習会では、環境DNAを用いて、河川生物、特に魚類を対象とした、現存量や動態を推定する方法についての研究例を紹介したい。

まず、野外におけるモニタリングとしては、これまでアユ*Plecoglossus altivelis altivelis*を中心に研究を進めてきたため、アユに関する一連の研究を紹介したい。アユは河川における漁業対象として最も重要な種の一つであるが、漁獲量は全国的に減少傾向であり、特に西日本における減少は顕著である。アユは秋に河川下流域で孵化した仔魚が海域に流下し、海域生活を経た後、春に河川に遡上し、秋に産卵して死亡する回遊性の年魚である。よって、減少要因を解明する上で、生活史段階のそれぞれに着目する必要がある。研究の流れとしては、本稿2章で紹介する「アユの生物量と環境DNA濃度の関係」で、環境DNA量でアユの個体数や生物量が説明できるのかを明らかにするための研究から始まり、次に3章で紹介する「高津川と佐波川におけるアユの降下モニタリング」で、環境DNAでアユの秋季の降下動態を追えるのかを明らかにするための研究を行い、次に4章で紹介する「環境DNAを用いたアユの産卵場モニタリングの有効性の検証」で、アユの産卵状況モニタリングとしての環境DNA分析手法の有効性の検証を試みた。さらに、5章で紹介する「多摩川における広域調査」で、中国地方だけでなく他地域にも展開した結果を紹介する。また近年は、野外におけるモニタリングだけではなく、室内実験等によって、流水環境下における生物量と環境DNA量の関係性の詳細な検討を行っており、その一部の成果を6章「流水中における魚類の生物量と環境DNA量の関係性－実験的なアプローチ」で紹介したい。そして最後に、魚類以外での研究例である「環境DNAを用いた外来種の分布状況と生息適地の把握」について、7章で紹介したい。

2. アユの生物量と環境DNA濃度の関係

山口県の瀬戸内海に流入する佐波川においてアユを対象に、環境DNA量で個体数や生物量が説明できるのかを検証するためにおこなった研究を紹介する。調査は、2015年5月28日、7月30日、10月7日の3回おこなった。調査範囲内に瀬が存在する7地点を調査地に設定し、まず瀬の下流において表層水1Lを採水した後に、6地点については、潜水目視によってアユの密度（個体数/m²）と捕食痕（ハミアト）を、最上流の1地点についてはアユの捕食痕のみを調査した。さらに、前年度に佐波川で採集調査をおこなった際に得られていたアユの個体数あたりの重量データ（g/尾）¹⁾を掛け合わせることで、アユの生物量（g/m²）を算出した。

採水した水サンプルは冷暗状態で保管し持ち帰り、当日中に濾過作業を行い、フィルターは冷凍保存した。冷凍保存したサンプルからDNAを抽出後、Yamanaka and Minamoto (2016)²⁾により発表されていたアユに特異的なプライマー・プローブを用いて、リアルタイムPCR法でDNAを定量化した。野外調査や分析手法の詳細についてはDoi et al. (2017)³⁾を参照していただきたい。

環境DNA分析によって得られた各月のアユの環境DNA濃度を図-1に示している。各月ともに、目視でアユの個体が確認できた下流（地点1～3）のほうが環境DNAの濃度が高く、目視ではほとんどアユの個体自体は確認されなかったが、捕食痕が確認されたような地点（4～7）では、低濃度であるが環境DNAが検出されており、捕食痕が確認されなかった地点（7）では環境DNAが検出されないという結果となった。また、10月の下流域の産卵場付近は、特に環境DNA濃度が高いことが明らかになった。さらに、5月、7月、10月それぞれのデータを用いて、アユの密度（個体数/m²）と生物量（g/m²）の関係性をみたところ、密度、生物量ともに、すべての月で強い正の関係性を示していた（図-2）。これらの結果から、アユを対象とした場合、環境DNA分析は、潜水目視調査よりも高精度にアユの生息（在/不在）

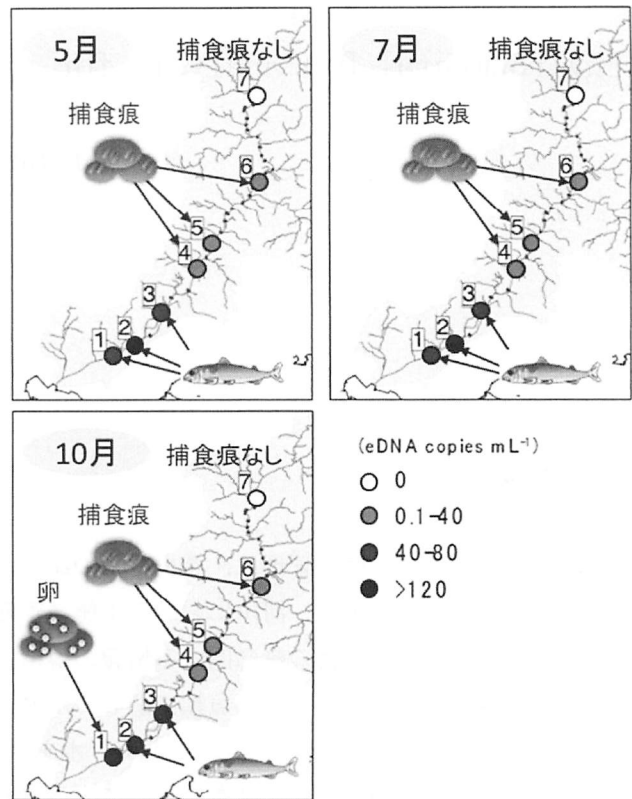


図-1 佐波川における2015年の環境DNA分析の結果 * Doi et al.2017を一部改変

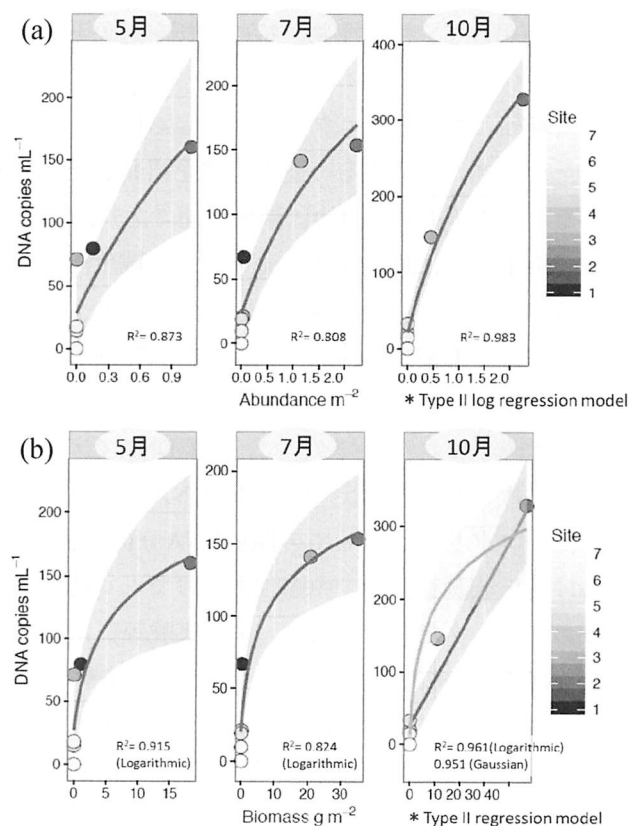


図-2 アユの環境DNA濃度と(a)密度(個体数/m²)および(b)生物量(g/m²)の関係性 * Doi et al.2017を一部改変

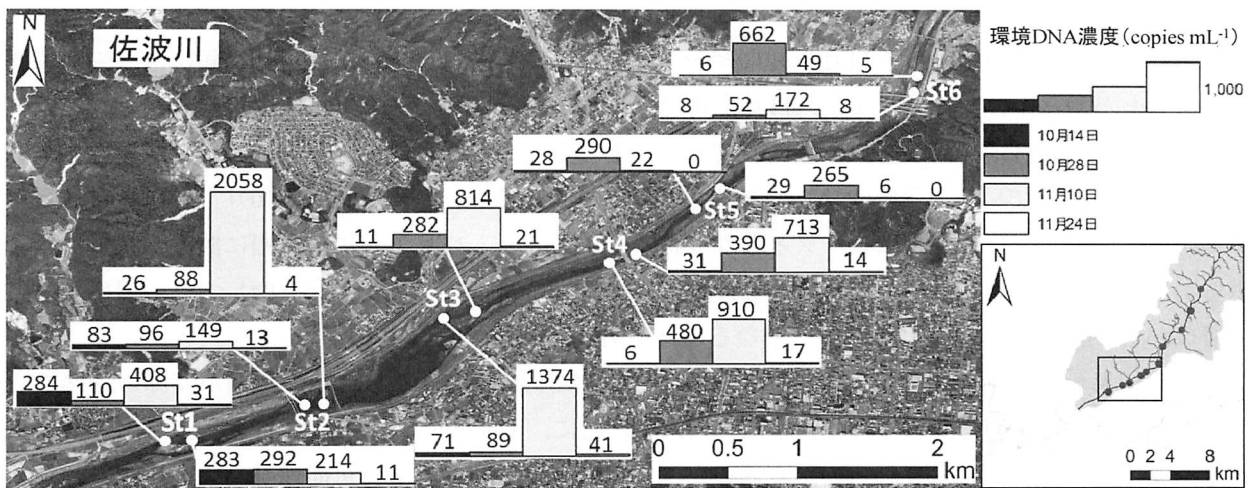


図-3 佐波川下流域における2016年10月および11月の環境DNA濃度 *河野ら (2017) から引用

を判別できるだけでなく、密度や生物量の推定も十分に可能な手法であるということが示された。また、産卵期の産卵場付近で濃度が高くなる可能性が高いことから、アユの産卵にともなう降下や、産卵のモニタリングにも応用可能であることが示唆された。これについては、次章に述べている。

3. 高津川と佐波川におけるアユの降下モニタリング

近年、アユにとって好適な産卵場の減少が資源量減少の要因となっている可能性が示唆されていることや、西日本のいくつかの河川において、仔魚の海域への流下時期と回帰率の関係性が示唆されていることから、西日本の河川においては、産卵～ふ化期における何らかの要因がアユの資源量を減少させていることが多いと考えられる。よって、西日本におけるアユの資源量を回復させるためには、産卵～ふ化期における負の要因を解明し、可能な限りそれらを取り除くことが急務である。本章では、前章で対象にした佐波川と、島根県の日本海に流入する高津川を対象に、環境DNA分析によって、秋季（産卵期）におけるアユの降下動態を追うことが可能かどうかを明らかにすることを目的とした研究を紹介する。

調査および分析手法は、2016年の10月から11月にかけて約2週間に1回の計4回、佐波川では河口から約9km区間内の6つの瀬の上下流の12地点、高津川では河口から約11kmの区間内の6つの瀬の上下流（ただし、最上流のみ1地点）の11地点を対象に表層水1Lの採水をおこない、アユに特異的なプライマー・プローブ²⁾を用いて定量PCRをおこなった。これらの詳細については河野ら(2017)⁴⁾を参照していただきたい。

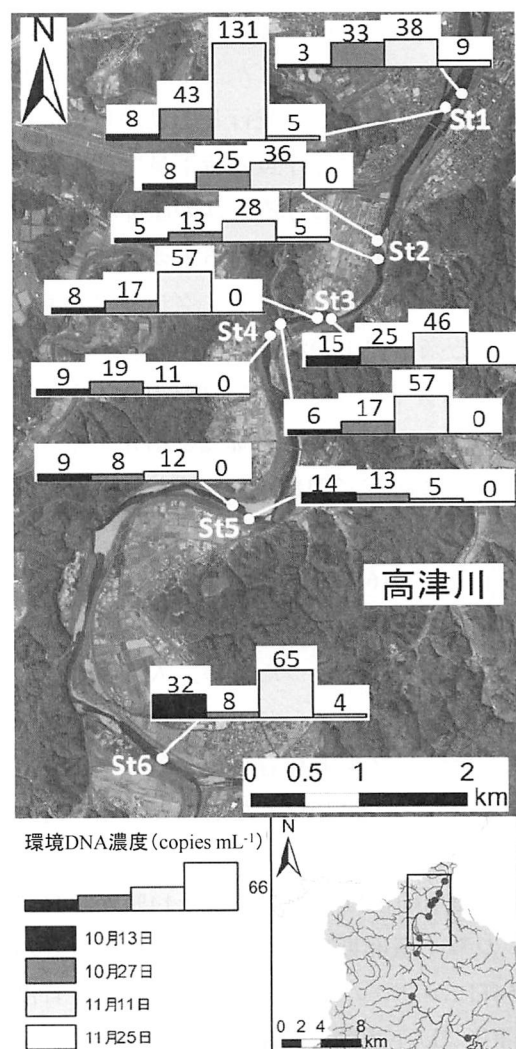


図-4 高津川下流域における2016年10月および11月の環境DNA濃度 *河野ら (2017) から引用

図-3に佐波川における環境DNA濃度を示している。環境DNAの全地点の平均濃度をみると、10月上旬から11月下旬にかけて濃度が増加し、11月上旬にピークとなり（574.2 copies/mL）、11月下旬には大幅に濃度が減少することが明らかになった。また、11月上旬には、河口から4.2kmから6.3kmの区間（St.2～St.4）で高い濃度が検出され、河口から4.2km付近（St.2）でピークとなることが明らかになった。図-4に高津川における環境DNA濃度を示している。環境DNAの全地点の平均濃度をみると、佐波川同様に10月上旬から11月下旬にかけて濃度が増加し、11月上旬にピークとなり（43.8 copies/mL）、11月下旬には大幅に濃度が減少することが明らかになった。また、11月上旬には、河口から1.7kmから4.6kmの区間（St.2～St.4）で高い濃度が検出され、河口から1.9km付近（St.2）でピークとなることが明らかになった。

これらの結果から、両河川ともに、11月上旬をピークに下流域に降下し、この時期が産卵の最盛期である可能性が高いことが明らかになった。また、両河川ともに、下流域の中でも特に高濃度のDNAが検出される地点がみられたことから、これらの地点周辺が、アユの主要産卵場である可能性が高いと予想された。佐波川と高津川においては、2017年以降も引き続き、より詳細な調査をおこなっている。

4. 環境DNAを用いたアユの産卵場モニタリングの有効性の検証

奈半利川は、電源開発が積極的に行われた河川であり、中上流に昭和30年代に3つのダムが建設され、河川水は発電のために高度に利用されている。ダムの貯水池や減水区が流程60kmの大部分を占め、川本来の水量を保っているのは源流部のみとなっている。また、ダムによる濁水の長期化がしばしば発生し、これまで大きな漁業被害を出してきた。そのため、天然アユ資源を保全するための取り組みとして、2003年から人工産卵場の造成を開始し、並行して夏から秋にかけていくつかの漁獲規制を設けた結果、2005年以降、それ以前の2カ年と比較して、仔魚の流下量は数十倍レベルで増加し、遡上量も2009年以降増加・安定傾向に転じた。また、人工産卵場におけるアユの産卵状況の調査の結果、人工産卵場は毎年ほぼ全面での産卵が確認され、人工産卵場が奈半利川における主要産卵場となっていることが明らかとなっていた。本章では、アユの卵の分布についての長期モニタリングデータが蓄積されている奈半利川の利点を活用し、アユの産卵状況モニタリングとしての環境DNA分析手法の有効性の検証を試みた研究を紹介する。詳細については乾ら（2018）⁵⁾を参照していただきたい。

2005年から2016年の人工産卵場と自然産卵場の卵密度を比較すると、卵密度は一貫して人工産卵場で圧倒的に高かったため、人工産卵場の下流で採水したサンプルのDNA濃度が、他地点で採水したサンプルよりも高くなるであろうという想定のもとにおこなったものである。野外調査は、2017年10月から12月にかけて4回おこなった。産卵期前後は日中（およそ14時から16時の間）のみ、産卵期にあたる11月9日と11月24日から25日にかけての2回については、日中と日没約3時間後（以下夜間）に採水をおこなった。アユの産卵は日没前後から活発化することが知られているため、産卵期における産卵場において

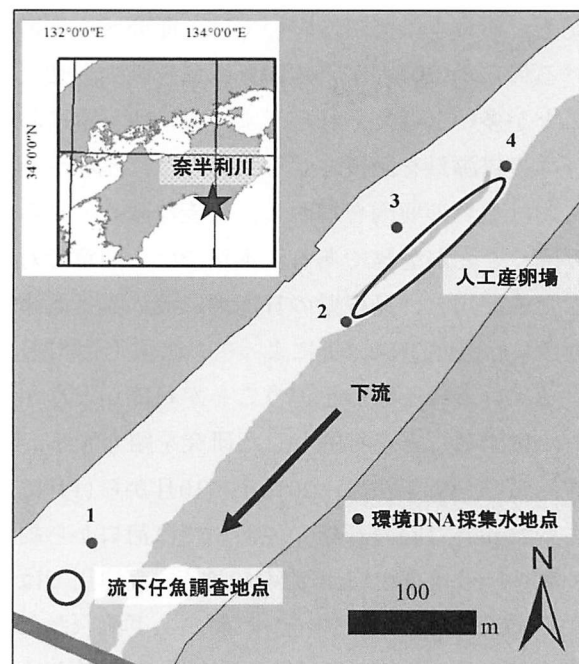


図-5 奈半利川の人工産卵場周辺での調査地点。水色部分は平常時の水面を示している *乾ら（2018）から引用

夜間に得られたサンプルの環境DNA濃度が、日中に比べて高くなることが予想されたためである。調査地点は、人工産卵場の直下と、近傍の本流、下流、上流の対の4箇所を設定し（図-5）、これらの地点において、表層水1Lを採集し、冷却して持ち帰り、濾過後フィルターからDNAを抽出し、アユに特異的なプライマー・プローブ²⁾を用いて、リアルタイムPCR法でDNAを定量化した。

日中のサンプルを用いた環境DNA濃度の時系列比較についての結果を図-6に示している。各調査日における日中の分析結果を示している。各調査回での環境DNAの平均濃度は、10月7日は 1357 ± 622 copies/mL、11月9日は 1837 ± 2622 copies/mL、11月25日は 1546 ± 1210 copies/mL、12月29日は 730 ± 569 copies/mLとなり（平均±標準偏差）、産卵盛期となる11月中盤にかけて増加し、その後減少に転じることが明らかになった。また、全ての調査を通して人工産卵場の直下である地点2の濃度が最も高かった。これらの結果から、日中のデータを比較することで、アユの産卵期や産卵場への蟄集が明らかになることが示された。

日中と夜間の環境DNA濃度の比較についての結果を図-7に示している。11月9日は、 3904 ± 3805 copies/mL（平均±標準偏差）となり、平均値で比較すると日中の約2倍になっていた。11月25日は 17349 ± 34169 copies/mL（平均±標準偏差）となり、平均値で比較すると日中の約11倍になっていた。これらの結果から、産卵期においては、日中よりも夜間のほうが検出されるDNA濃度が高くなることが示された。人工産卵場造成日である11月9日に着目してみると、人工産卵場の直下である地点2の濃度は日中、夜間ともに全地点で最も高いものの、日中に比べて夜間の濃度は1.4倍程度であり、顕著に増加した訳ではなかった。この理由として、奈半利川

におけるアユは、人工産卵場の造成直後直ちに人工産卵場に蟄集することがこれまでの調査で知られており、2017年においても実際に人工産卵場に蟄集していたことも観察されていることから、日中のDNA濃度も高くなったことが予想される。産卵盛期である11月24から25日に着目してみると、人工産卵場の直下である地点2の濃度は、11月9日同様日中、夜間ともに全地点で最も高いだけでなく、夜間の濃度が日中の約25倍（ 68602 copies/mL）に増加した。これらの結果から、アユが夜間に産卵場に蟄集し産卵し、環境DNA分析がそのアユの生態を捉えられている可能性が高いことが示された。これらの結果から、アユの降下・産卵期における環境DNA分析は、日中の分析結果を時系列で比較することによりアユの産卵期や産卵場への蟄集を、日中と夜間の結果を比較することにより、アユの好適産卵場を示すことができる有用なツールであることが明らかになった。

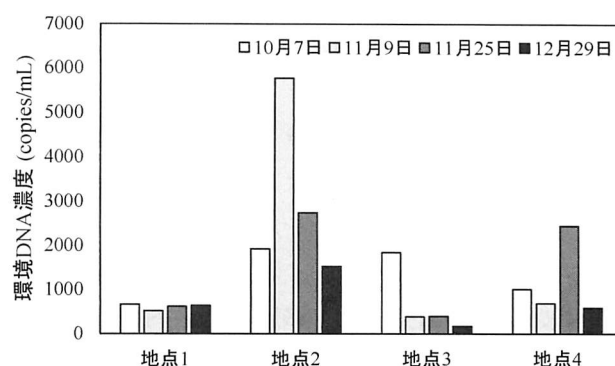


図-6 昼間採水サンプルから得られた環境DNA濃度の時系列変化 * 乾ら（2018）から引用

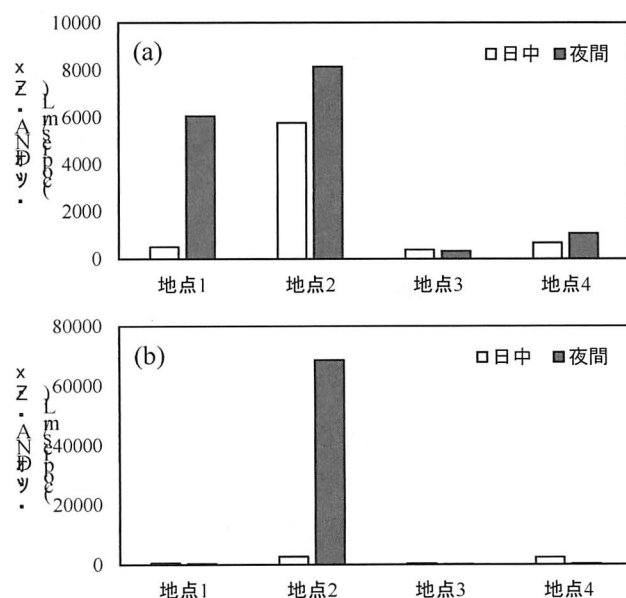


図-7 環境DNA濃度の昼夜間比較. (a)11月9日, (b)11月24から25日 * 乾ら（2018）から引用

5. 多摩川における広域調査

全国的な傾向としてアユの資源量は減少している一方、山梨県に発し東京湾に流入する多摩川では、1990年代以降から増加していることが知られている。著者らは、全国的にアユの資源量を回復させるためには、多摩川でアユが増加した要因を解明することが重要と考え、基礎的知見の収集の一環として、環境DNAを用いたアユのモニタリングをおこなっている。今回は、2017年9月6～8日におこなった広域調査の結果について紹介したい。この調査では、多摩川水系内の広域におけるアユの分布および生物量の把握を目的として、本川では河口から奥多摩湖の上流までに40点、9つの支川に29点の計69点を設定した。採水地点は、瀬の下流を基本とし、調査では、基本的に瀬の下流の表層水1Lを採水し、持ち帰り濾過、濾紙からDNAを抽出した後に、アユに特異的なプライマー・プローブ²⁾を用いて定量PCRをおこなった。方法の詳細は内藤ら（2018）⁹⁾を参照していただきたい。

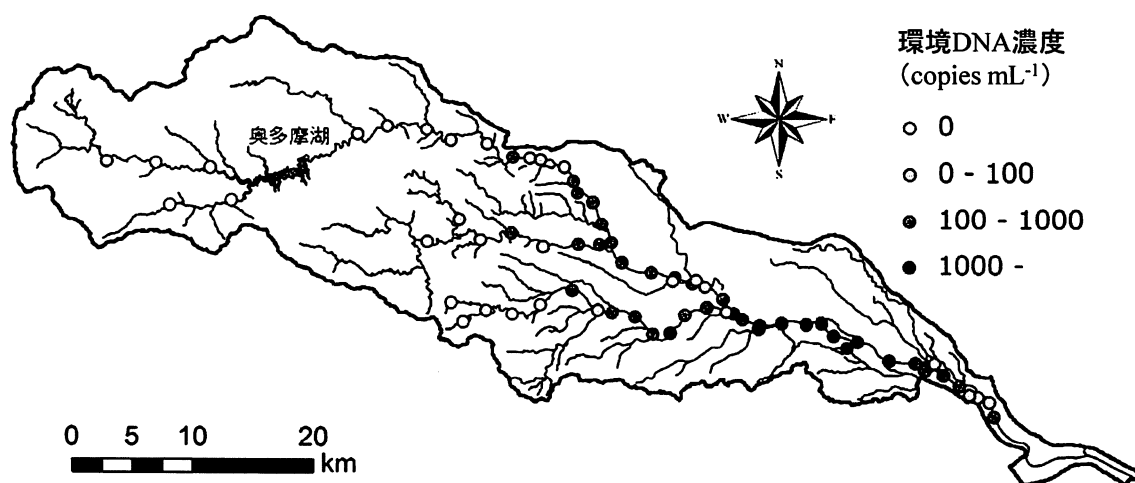


図-8 多摩川流域におけるアユの環境DNA 濃度の分布。*内藤ら（2018）を一部改変

図-8に各地点の環境DNAの濃度を示している。全体的な傾向としては、奥多摩湖より上流は検出されない地点が多かった一方、奥多摩湖より下流では多くの地点で検出され、また下流方向に行くに従い濃度が増加する傾向がみられ、特に多摩川本川の約22～37kmの範囲には高濃度の環境DNAが検出される地点が集中していた。多摩川で検出された環境DNA濃度と佐波川および高津川の環境DNA濃度と比較してみると、多摩川本川40地点の環境DNA濃度の平均値は1409.3 copies/mL、ピーク値は15681.8 copies/mLであったことにに対し、佐波川の7月における環境DNA濃度の平均値は70.9 copies/mL、ピーク値は333 copies/mL、高津川の7月における環境DNA濃度の平均値は32.7 copies/mL、ピーク値は75 copies/mLであった。多摩川で検出された値は、中国地方で比較的にアユが高密度で生息している佐波川と比較した場合においても、平均値で約20倍、ピーク値で約47倍となり、多摩川では極めて高濃度のアユの環境DNAが検出されたことがわかる。実際、現地でアユの友釣りをしていた釣り人にヒアリングをおこなった際も、高濃度で検出されていた地点では好釣果である場合が多かったことから、全国的にみても多くのアユが生息していることは紛れもない事実であろう。今後は、多摩川においてどのような理由でアユが増加したのかの原因を探っていきたいと考えている。

6. 流水中における魚類の生物量と環境DNA量の関係性—実験的なアプローチ—

現在、環境DNA量と生物量の関係についての実験的研究としては、止水環境において環境DNA量と生物量

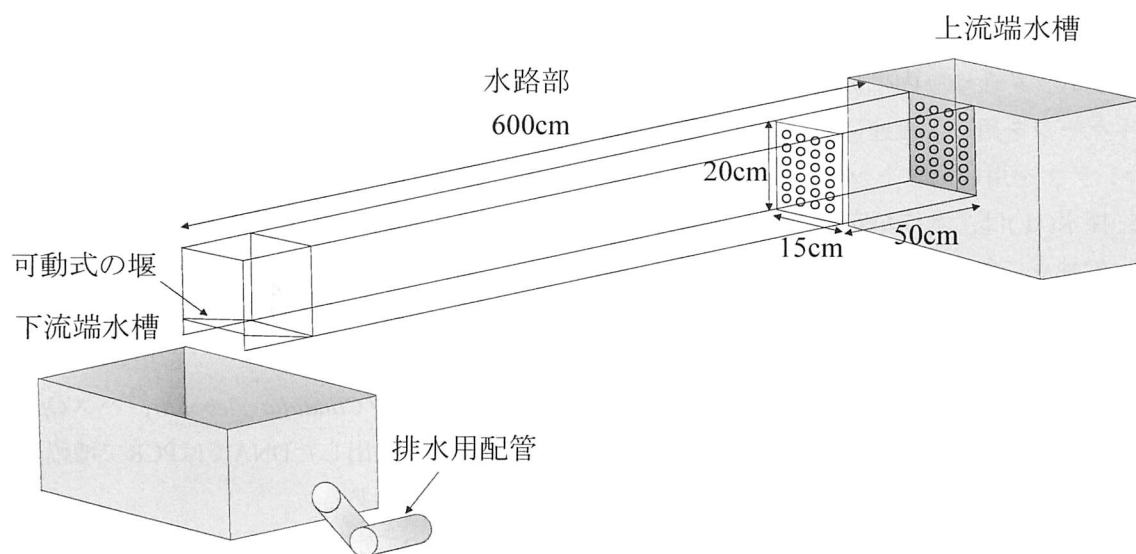


図-9 実験装置 *乾ら（2017）から引用

の関係性を明らかにしたものが中心であり、流水環境における研究例は少ない。よって本研究では、河川に生息する純淡水魚であるカワムツ *Candidia temminckii* を用い、流水水路における実験により、流水環境下における生物量と環境DNA量の関係性を明らかにした研究例を紹介する。詳細については、乾ら（2017）⁷⁾を参照していただきたい。

実験対象魚として選定したカワムツは、西日本各地の河川と湖沼に分布するコイ科の純淡水性魚類である。河川においては中・上流域の流れの緩やかな淵を中心に生息し、岩などが点在する場所や、岸辺の植物が水面に覆いかぶさったような環境を好む。本種は西日本全ての一級河川において生息している普通種であること、また、河川に生息する遊泳性魚類のうち、採集および飼育の点で容易であるため、流水水路での実験対象魚として優れているといった特徴を持っている。

実験装置は、貯水槽、上流水槽、水路部、下流水槽により構成され、実験水は貯水槽→上流水槽→水路→下流水槽の順に流れる仕組みとした。水路は長さ600cm、高さ20cm、水路幅15cm、水路勾配1/1000の亚克力製の直線水路で、水路上端と50cm地点には亚克力製の流水板を取り付け、実験魚の遊泳区間とした。本実験装置は、上流水槽から水路部への流入量が調節可能であり、また、水路下流端の可動式の堰により、水深や流速の調節が可能である（図-9）。なお、下流端水槽に排水用の配管を取り付け、実験で使用した水は常時排水可能な仕組みにした。

今回行った実験は、上流端から3.5m地点での流速を0.2m/s、水深を6.5cmに固定し、可能な限り近いサイズ、重量のカワムツを用いて、個体数を10, 16, 24尾で行った。実験手順としては、まず事前準備として、実験開始の24時間以上前に水路の貯水槽に水道水を貯め、次に、実験開始の約12時間前に、遊泳区間の仕切り内に水深約10cm程度に水を入れたナイロン袋を設置し、

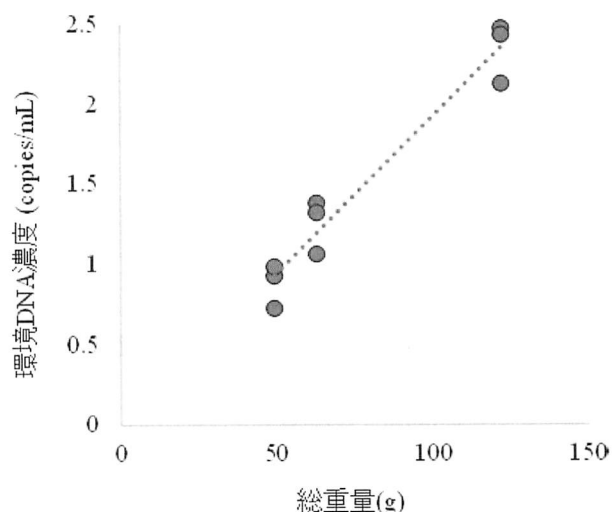


図-10 カワムツの総重量と環境DNA濃度の関係性

*乾ら（2017）から引用

その中に供試魚のカワムツを投入し、エアレーションをおこない、水路環境での事前馴致をおこなった。まず実験水路内に水を流し、水位が安定した後、上流方向に逆流しないように注意し、ナイロン袋内に馴致しているカワムツを仕切り内に放流した。その後、水路内の遊泳区間と、3.5m地点において、水深についてはポイントゲージを用い、流速については電磁流速計（エヌケーエス製、PVM-3）を用いて測定した。流量は50Lのコンテナを用い、ストップウォッチで容量が満たされるまでの時間を計測することにより測定をおこなった。採水(1L)は、水位が安定してから20分後に開始し、上流端水槽（コントロール）および水路上流端から1.5mの地点において、5分間隔で3回、ボトルを用いておこなった。また、各実験に用いたカワムツは、実験終了後、全個体の全長(mm)、体長(mm)、体重(g)を測定した。環境DNA分析は、サンプルを濾過し、フィルターからDNAを抽出後、カワムツに種特異的なプライマーおよび蛍光プローブを用いて定量PCRをおこなった。なお、このプライマー・プローブは、近縁種のヌマムツ *Candidia sieboldii*、ハス *Opsariichthys uncirostris uncirostris* およびオイカワ *Opsariichthys platypus* の筋肉から抽出したDNAではPCRで増幅せず、カワムツの筋肉から抽出したDNAのみ増幅することを確認しているものである。

実験開始から20分後、25分後、30分後に得られた環境DNAについて定量PCRをおこなった結果、10尾の場合は 0.878 ± 0.137 copies/mL、16尾の場合は 1.253 ± 0.168 copies/mL、24尾の場合は 2.341 ± 0.188 copies/mL（平均±標準偏差）となり、平均値に着目すると、個体数が増加するとともに、環境DNA濃度は増加するという結果となった。また、変動係数に着目すると、10尾の場合で0.156、16尾の場合で0.134、24尾の場合で0.081という結果となり、20分後以降は、安定した値を示していることが明らかになった。さらに、環境DNA濃度と供試魚の総重量の関係性について単回帰分析をおこなった結果、決定係数（R²）は0.95と高い値を示した（図-10）。これまで、止水環境下における実験的研究においては、淡水魚類の量が環境DNA量と正の関係性を示す事例が報告されてきたが、本研究結果において、流水環境中で同様の傾向を示したことから、環境DNAは、流水中の魚類の生物量を高精度に反映する指標であることが示されたと言える。現在、本研究手法を発展させ、他魚種を用いた野外実験系での検証も進めている最中であるため、研修会においては可能な限り紹介したい。

7. 環境DNAを用いた外来種の分布状況と生息適地の把握

外来種であるオオカナダモとヌートリアを対象に、環境DNA分析を用いることにより、山口県内広域の2級水系の河川における分布状況を明らかにし、さらにGISおよび分布予測モデルを用いて、山口県内における両種の潜在的な生息地の推定をおこなった研究例を紹介する。詳細は、乾ら（2018）⁹⁾および赤松ら（2018）⁹⁾を参照していただきたい。

オオカナダモ *Egeria densa* は、日本生態学会が選定した「日本の侵略的外来種ワースト100」に含まれている南米原産の外来沈水植物である。本種は、従来は、湖沼や水路を中心に繁茂していたが、近年は、河川の本流でも繁茂している事例が数多く報告されており、これらの河川では、実際に景観悪化や漁業被害が生じている。これらの背景から、河川におけるオオカナダモの侵入や繁茂をモニタリングし、さらには、繁茂に影響を与える要因を解明し、繁茂抑制をおこなうことが必須である。

ヌートリア *Myocastor coypus* は、南米原産のネズミ目の哺乳類である。日本においては、毛皮を採取するためかつては各地で養殖され、後に遺棄された個体が野生化し、繁殖したとされている。特に、西日本の本州・四国では農作物への被害が大きく、水生植物の食害も懸念されていることから、特定外来生物に指定されている。また、水際付近の土手に巣穴を掘るという生態的特性を持つことから、堤防の強度低下や破壊を引き起こすことも懸念されているが、実際にアメリカやイギリスでは堤防に被害をもたらしている事例も報告されている。よって、生態系保全の面からも、河川管理の面からも、可能な限り侵入を防止し、侵入した場合においても可能な限り有効な防除策をとることが重要であるといえる。

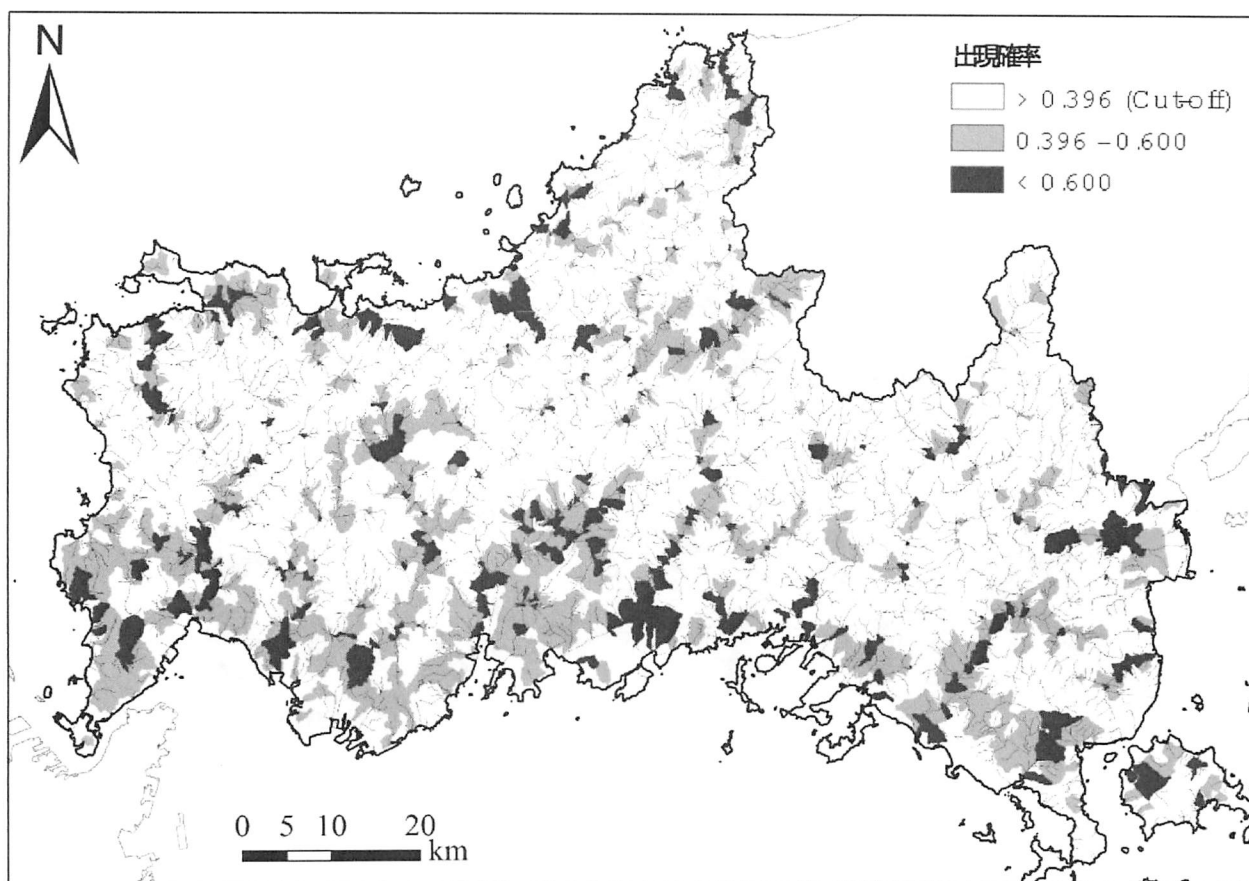


図-11 山口県内におけるオオカナダモの潜在的生息地の地図化 *乾ら（2018）から引用

野外調査は、2017年8月11日、12日、13日、14日、17日、18日、19日に、山口県内の20水系の2級水系の河川を対象とし、87地点で1Lの表層水を採取し、冷却して持ち帰り、濾過後フィルターからDNAを抽出し、オオカナダモ¹⁰⁾およびヌートリア⁹⁾に特異的なプライマー・プローブを用いて、リアルタイムPCR法でDNAを定量化した。

次に、両種の潜在的生息地を予測するために、山口県内全域を対象に、50mメッシュの数値標高モデル (DEM) を用いて小流域を作成し、小流域ごとに、平均標高(m)、平均傾斜角(°)、平均SPI (Stream Power Index)、平均TWI (Topographical Wetness Index) を算出した。これらの環境条件と、両種の分布情報を用いて、Maximum entropy modelling (Maxent) による両種の分布予測をおこない、Maximum training sensitivity plus specificityで示されたCut-off値を基準に、山口県内におけるオオカナダモの潜在的生息地を地図化した。なお、Maxentとは、生物の分布（在）データと、環境データを用いることにより、生物の分布予測ができるモデルである。

オオカナダモを対象とした環境DNAの分析結果、本研究で調査をおこなった全20水系のうち、15水系55地点のサンプルからオオカナダモのDNAが検出された。これらの結果から、山口県においては、既に県内の広域にオオカナダモの分布が拡大していることが見てとれる。水系ごとの環境DNAの平均濃度は、厚東川水系が最も高く(1100copies/mL)、富田川(539copies/mL)、島田川(161copies/mL)と続き、瀬戸内海流入河川においてオオカナダモが比較的高密度で繁茂している可能性が高いことが明らかになった。

ヌートリアを対象とした環境DNAの結果、本研究で調査をおこなった全20水系のうち、14水系32地点のサンプルからヌートリアのDNAが検出された。これらの結果から、山口県においては、既に県内の広域にヌートリアの分布が拡大していることが見てとれる。水系ごとの環境DNAの平均濃度は、大井川水系が最も高く(519copies/L)、富田川(466copies/L)、三隅川(446copies/L)、深川川(379copies/L)と続き、日本海流入河川においてヌートリアが比較的高密度で生息している可能性が高いことが明らかになった。

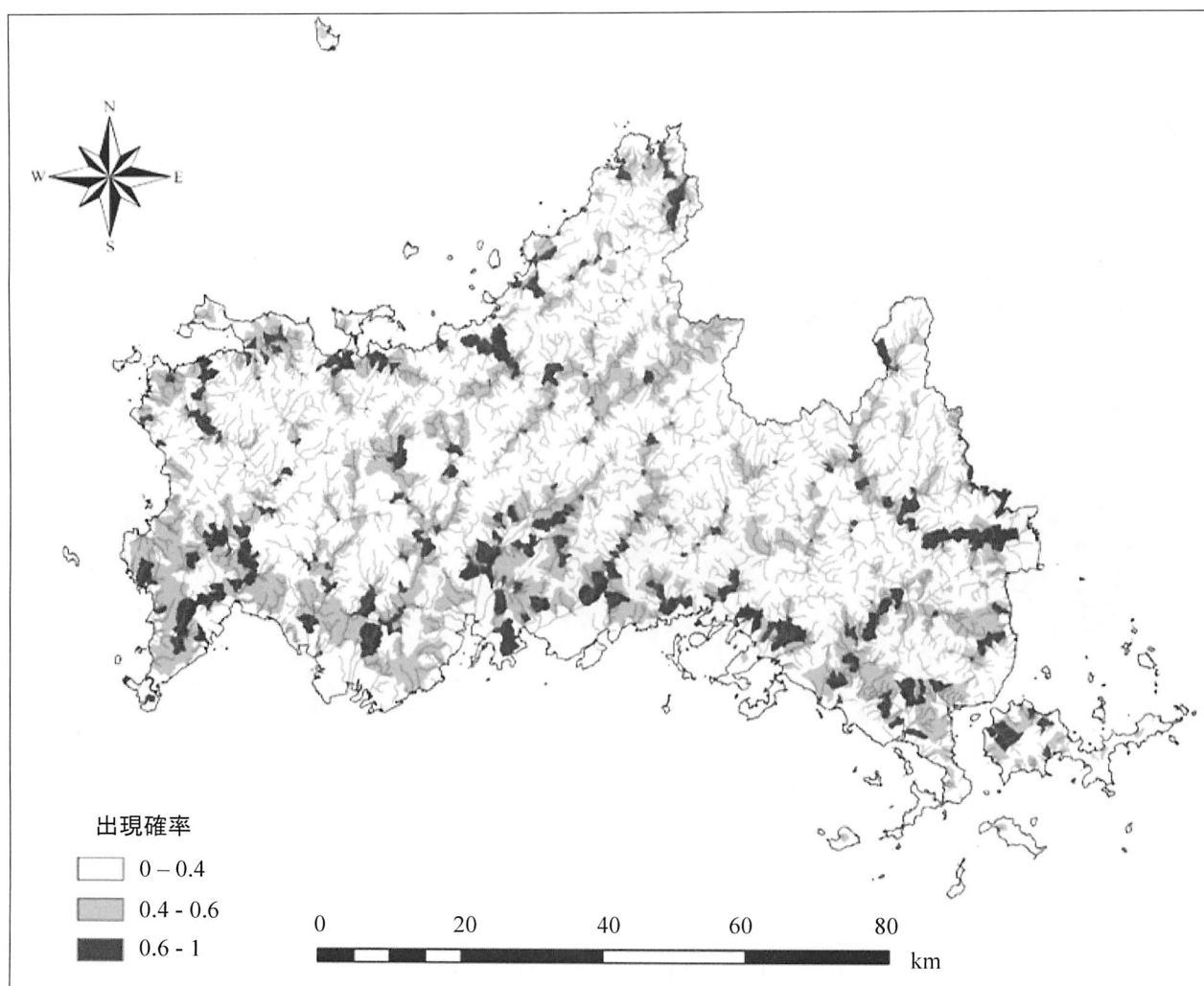


図-12 山口県内におけるヌートリアの潜在的生息地の地図化 *赤松ら（2018）から引用

オオカナダモの分布データを用いたMaxentの結果、AUCが0.825、感度が0.804のモデルが作成された。オオカナダモの出現確率と環境条件の関係性をみると、TWIの寄与率が最も高く（71.3%）、SPI（11.4%）、傾斜角（10.6%）、標高（6.7%）と続いた。最も影響力の大きいTWIの出現確率に対する応答曲線を見ると、TWIが10を超えると出現確率が急増し、14前後でピークを迎えた。次に影響力の大きいSPIについては、7を超えると出現確率が急減した。傾斜角と標高については、負の関係性を示した。これらの結果から、山口県内において、オオカナダモは、TWIがある程度大きく、SPIがある程度小さく、傾斜角が小さく、標高が小さい、つまり下流的な環境条件を持つエリアに侵入・定着する可能性が高いことを示している。図-11に、山口県内におけるオオカナダモの潜在的生息地（出現確率がCut-off値である0.396以上のエリア）を示している。

ヌートリアの分布データを用いたMaxentの結果、AUCが0.798、感度が0.903のモデルが作成された。ヌートリアの出現確率と環境条件の関係性をみると、TWIの寄与率が最も高く（47.3%）、標高（21.9%）、傾斜角（16.2%）、SPI（14.0%）と続いた。最も影響力の大きいTWIの出現確率に対する応答曲線は、TWIが10を超えると出現確率が急増し、12前後でピークを迎えた。次に影響力の大きい標高については、出現確率と明確な負の関係性を示していた。これらの結果から、ヌートリアは、TWIがある程度大きく、標高が小さい、つまり下流的な環境条件を持つエリアに侵入・定着する可能性が高いことを示している。図-12に、山口県内におけるヌートリアの潜在的生息地を示している。

これらの結果から、両種ともに、県内のほとんどの河川の中下流域で浸入・定着の可能性があるが、本研究で確認されなかった河川においても、近い将来浸入・定着のリスクが高いことが示された。

本研究で用いた一連の手法は、外来種の分布状況を短期間で把握できるため、今後の分布拡大や生物量の増加の状況をモニタリングしていくための最適な手法であると言える。特に、本研究の分布予測モデルによって好適生息地と判断されたエリアにおいては、より高頻度のモニタリングをおこない、状況に応じた適切な防除策を考える必要があるだろう。また、本研究で用いた手法は、外来種だけでなく、希少生物の保全にもそのまま利用できる手法であるため、今後は希少生物を対象にした研究をおこなう予定である。

8. おわりに

以上で紹介したように、環境DNAは河川内の生物の分布や現存量、動態を把握するのに極めて有効な手段である。特に、規模が大きい水域における採集や目視には限界があるため、今後は環境DNAによる生物分布や現存量調査の導入が期待される。しかし、河川内で採水された水サンプル中の環境DNA濃度がどの程度の範囲の現存量を反映するかといったことや、水温や阻害物質の影響については未だ十分な検討がなされていない。したがって、現段階では、環境DNA濃度は現存量の絶対指標として用いることは難しく、環境条件が大きく変わらない地点間での相対指標として用いるのが適当であるといえる。

これらの課題を克服するため、演者らは、環境DNAの影響範囲や、環境DNAの起源である糞や粘液の河川内での動態に関する検討を進めている。今後、これらの研究成果によって、環境DNAを用いた生物量の絶対値の推定を目指している。

引用文献

- 1). 乾隆帝, 一松晃弘, 赤松良久, 河野誉仁: 佐波川における魚類量予測モデルの構築, 水工学論文集, Vol.72, No.4, I_987-I_1002, 2016.
- 2). Yamanaka H. & Minamoto T.: The use of environmental DNA of fishes as an efficient method of determining habitat connectivity. Ecological Indicators, Vol.62, pp.147-153, 2016.
- 3). Doi H*, Inui R*, Akamatsu Y., Kanno K., Yamanaka H., Takahara T. and Minamoto T.: Environmental DNA analysis for estimating the abundance and biomass of stream fish, Freshwater Biology, Vol.62, pp.30-39, 2017.
*The both authors equally contributed.
- 4). 河野誉仁, 赤松良久, 後藤益滋, 乾隆帝: 環境DNAを用いたアユの定量化と降下状況モニタリングの試み, 河川技術論文集, 第23巻, pp.669-674, 2017.
- 5). 乾隆帝, 高橋勇夫, 後藤益滋, 赤松良久, 河口洋一: 高知県奈半利川におけるアユ人工産卵場の利用状況モニタリング～潜水目視調査と環境DNA分析の比較を中心に～, 河川技術論文集, 第24巻, pp. 333-338, 2018.
- 6). 内藤太輔, 赤松良久, 乾隆帝, 後藤益滋, 小室 隆, 今村 史子: 環境DNAによる多摩川流域におけるアユの生息状況の把握, 水工学論文集, Vol. 1.74, No.4, I_517-I_522, 2018.
- 7). 乾隆帝, 赤松良久, 高原輝彦, 後藤益滋, 一松晃弘: 流水中におけるカワムツの生物量と環境DNA量の関係性ー水路実験と野外への適用ー, 河川技術論文集, 第23巻, pp.651-656, 2017.
- 8). 乾隆帝, 赤松良久, 後藤益滋, 小室 隆, 河野誉仁, 山原康嗣, 浜田大輔, 谷本 茂: 環境DNAを用いた山口県内2級河川におけるオオカナダモの分布状況と生息適地の把握, 河川技術論文集, 第24巻, pp.303-308,

2018.

- 9). 赤松良久, 後藤益滋, 乾 隆帝, 山中裕樹, 小室 隆, 河野誉仁: 環境 DNA を用いた山口県内2級河川におけるヌートリアの侵入状況と生息適地把握, 応用生態工学, 印刷中, 2018.
- 10). Fujiwara A., Matsuhashi S., Doi H., Yamamoto S., and Minamoto T.: Use of environmental DNA to survey the distribution of an invasive submerged plant in ponds, *Freshwater Science* 35(2), pp. 748–754, 2016.