

環境 DNA を用いた中国地方一級水系におけるオオカナダモの季節的繁茂特性の基礎的検討

山口大学 大学院創成科学研究科

学生会員 ○宮平 秀明

山口大学 大学院創成科学研究科 准教授(特命)

正会員 宮園 誠二

山口大学 大学院創成科学研究科

学生会員 滝山 路人

山口大学 大学院創成科学研究科 教授

正会員 赤松 良久

1. はじめに

オオカナダモ (*Egeria densa*) は、南米原産の外来沈水植物であり、人為的な放流や藻体の一部である切れ藻が栄養生殖することにより、日本国内で分布域を拡大していることが報告されている¹⁾。また、オオカナダモの異常繁茂による水域生態系への悪影響や河川景観の悪化などが懸念されており、オオカナダモが季節を通して繁茂する河川区間を把握し、効率的に繁茂を抑制することが重要となる。そこで本研究では、中国地方の5つの一級水系を対象に、効率的な河川生物モニタリング手法である環境 DNA 分析を用いて、水系スケールにおけるオオカナダモの季節的な繁茂特性について検討した。

2. 調査方法

(1) 対象水系

本研究では、中国地方の一級水系である江の川水系、太田川水系、佐波川水系、高梁川水系及び高津川水系の5つの水系の合計147地点で調査を行った(図-1)。

(2) 使用データ

対象水系の各調査地点(図-1)で環境 DNA 分析のための河川水の採水を行った。サンプル時期は、オオカナダモの衰退期²⁾にあたる2021年10月14日~12月2日と生長期²⁾にあたる2022年5月9日~6月30日である。環境 DNA 採水では、表層水1Lを採水した。採水した水試料には DNA の分解を遅らせる DNA 分解阻害剤(10%塩化ベンザルコニウム)を1mL添加し、クーラーボックスで冷蔵し持ち帰った。さらに、対象水系の合計53地点において水温ロガー(HOBO Water Temp Pro v2: Onset 社)をトロの中で水深が低水時に20~50cm程度で十分に鉛直混合されている箇所を設置し、15分間隔で河川水温の連続モニタリングを行った。

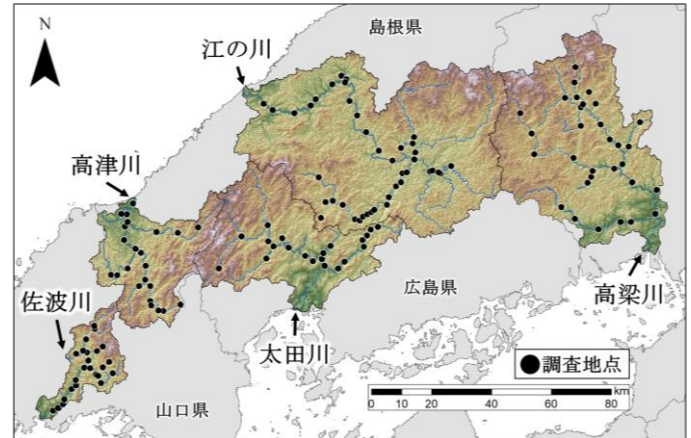


図-1 調査地点

(3) 環境 DNA 分析

本研究では環境 DNA 分析を用いてオオカナダモの環境 DNA 濃度(copies/L)を定量した。分析方法については、環境 DNA 学会が定めている環境 DNA 調査・実験マニュアル(ver2.2)³⁾を参考にした。まず、調査で採水した水試料を研究室へ持ち帰り、ろ紙(GF/F: GEヘルスケア社)を用いて採水から48時間以内をろ過した。続いて、ろ紙からDNAの抽出を行い、DNA抽出溶液100μLを精製した。最後に、StepOnePlus Real-Time PCR system(Thermo Fisher社)を用いてリアルタイム定量PCRを行い、DNA抽出溶液2μLからオオカナダモ環境DNA濃度(copies/L)を定量した。

(4) 環境要因の算出

本研究では、衰退期から生長期にかけてオオカナダモ群落の増加に影響し得る4つの環境要因(採水地点上流約1kmの河床勾配、採水地点上流約1kmの平均TWI(Topographical Wetness Index; 地形湿潤指数)、河川水温が10°Cを下回る時間数、採水地点から河川横断構造物までの距離)を算出した。採水地点約1kmの河床勾配は、採水地点と採水地点から上流1km地点の標高差より算出した。また、TWIは土砂堆積の起こ

キーワード オオカナダモ, 外来種, 環境 DNA

連絡先 〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1 機械・社建棟7階B709 TEL0836-85-9339

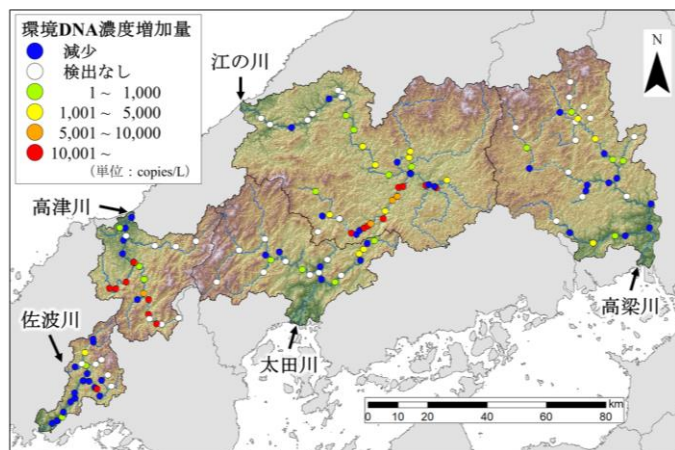


図-2 オオカナダモ環境 DNA 濃度の増減

りやすさを示す指標であり、TWIが高い地形では、オオカナダモが定着しやすいことが予測される。TWIは、以下の式(1)より算出した。

$$TWI = \ln(As/\tan\theta) \quad (1)$$

このとき、 As : 任意の $10\text{m} \times 10\text{m}$ 格子セルに流れ込む累積流量 (セル数), θ : 格子セル傾斜角 ($^\circ$) を示す。また、採水地点上流約 1km の平均 TWI を算出するために、上流約 1km 、幅 1km のポリゴンを作成し、ポリゴン内の TWI の平均値を算出した。採水地点から最も近い河川横断構造物までの距離は、河道に沿って距離を計測し算出した。河川水温が 10°C 以下の時間数は、2021年10月～2022年4月における河川水温のデータから算出した。生長期初期に繁茂しているオオカナダモは、休眠期に枯れることなく残存した藻体が生長したものと推察される⁴⁾。そのため、休眠期の低水温の時間数が長い場合、藻体が残存することなく枯死し、生長期のオオカナダモの繁茂に負の影響を与える可能性が考えられる。各調査地点における河川水温は、調査地点近傍の水温ロガーの観測値をそのまま解析に用いた。さらに、調査地点と水温観測点が離れている場合は、調査地点上流の水温観測点と調査地点下流の水温観測点の観測値から内挿補間した河川水温を算出した。結果として、147地点中67地点で河川水温 10°C 以下の時間数が算出可能であった。

(5) データ解析

まず、衰退期から生長期初期にかけてオオカナダモ環境 DNA 濃度が増加した地点を対象に、各環境要因が環境 DNA 濃度の増加に与える影響を検討するため、調査地点における各環境要因と環境 DNA 濃度増加量

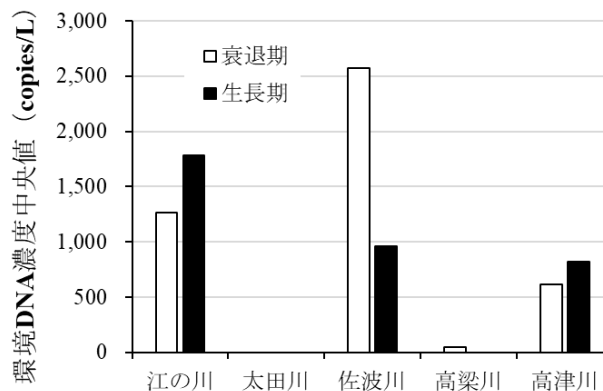


図-3 衰退期及び生長期における各水系のオオカナダモ環境 DNA 濃度中央値

との相関関係を Kendall の順位相関係数 (τ) を用いて解析した。続いて、一般化線形モデル (Generalized Linear Model; GLM) を用いて、環境 DNA 濃度増加量に対する環境要因の相対的な影響を推定した。応答変数を環境 DNA 濃度の増加量、説明変数を各環境要因とし、環境 DNA 濃度の増加に影響を及ぼし得る環境要因について解析した。さらに、各説明変数の応答変数への影響の度合いを偏回帰係数から比較するために値を標準化し単位を揃えた。また、応答変数をオオカナダモ環境 DNA 濃度増加量 (copies/L) としたとき、データが正規分布でなく、分散も大きいことから GLM の確率分布を負の二項分布とした。また、説明変数間に顕著な多重相関性のないこと (Pearson の積率相関係数: $|r| < 0.39$) を確かめた。GLM の解析には、各説明変数のデータ数を揃えるために、データ数を最も少ない説明変数の河川水温 10°C 以下の時間数に合わせた。各モデルは、モデルの予測性の良さを示す赤池情報量規準 (Akaike's Information Criteria; AIC) を用いて評価し、 $\Delta\text{AIC} < 2.0$ のモデルを対象に解析した。

3. 結果と考察

(1) オオカナダモ生長期・衰退期の繁茂状況

図-2 に衰退期から生長期にかけてのオオカナダモ環境 DNA 濃度の増減の空間分布を示し、図-3 に各グループのオオカナダモ環境 DNA 濃度の中央値を示す。結果として、147地点中104地点で環境 DNA が検出され、54地点で増加、50地点で減少していた。また、高津川水系の中上流域と江の川水系の中流域で環境 DNA 濃度が相対的に増加している傾向がみられた。一方で、佐波川水系では環境 DNA 濃度が減少している

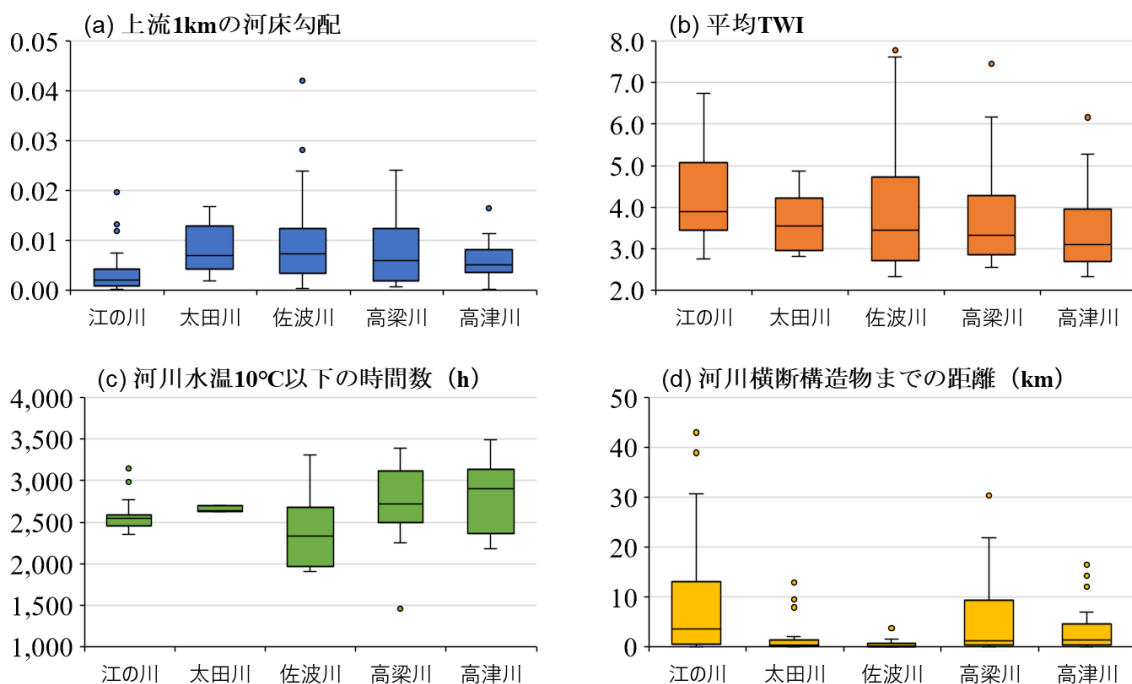


図-4 各水系の環境要因

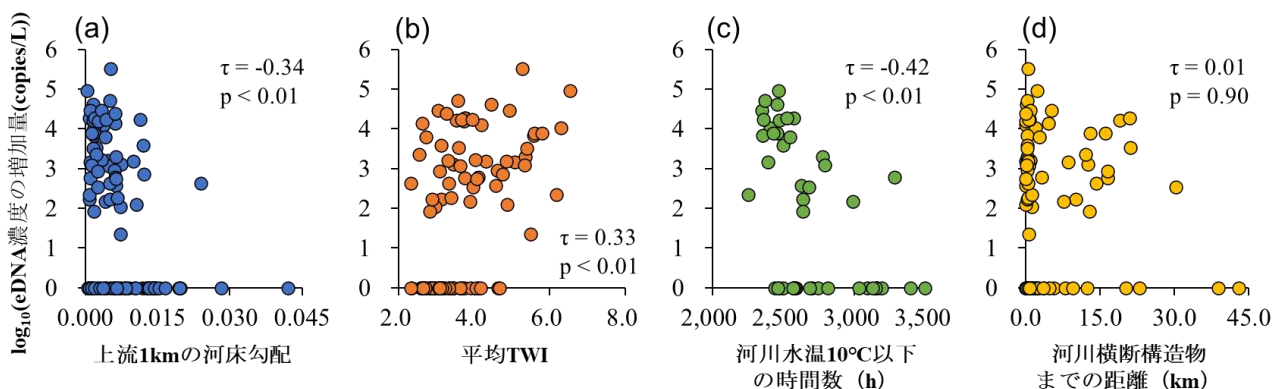


図-5 オオカナダモ環境 DNA 濃度の増加量と環境要因との関係

傾向がみられた。また、太田川水系と高梁川水系では衰退期と生長期ともに環境 DNA 濃度中央値が相対的に低く、季節を通じて環境 DNA 濃度が相対的に低い傾向がみられた。

(2) 環境 DNA 濃度の増加と環境要因との関係

図-4 に各水系における環境要因（水温 10°C以下の時間数、平均 TWI、上流河床勾配、河川横断構造物からの距離）の箱ひげ図を示す。江の川水系において河床勾配が相対的に小さく、平均 TWI が相対的に高い傾向がみられ、他の水系と比較して緩やか河川地形であった（図-4a、図-4b）。また、高梁川水系と高津川水系において水温 10°C以下の時間数が相対的に長く、冬季の河川水温が相対的に低い傾向がみられた（図-4c）。さらに、太田川水系と佐波川水系において河川横断構

造物までの距離が相対的に短いことが示された（図-4d）。図-5 に衰退期から生長期にかけてのオオカナダモの環境 DNA 濃度増加量と環境要因との散布図を示す。結果として、オオカナダモ環境 DNA 濃度増加と採水地点上流約 1 km の河床勾配との間に顕著な負の相関がみられた（図-5a）。河床勾配の緩やかな河川地形では流れも相対的に緩やかとなることが考えられ、オオカナダモが繁茂しやすい環境であることが考えられる。また、環境 DNA 濃度の増加と平均 TWI との間に正の相関がみられたことから、流れが緩やかで土砂堆積の起こりやすい地形でオオカナダモが繁茂しやすいことが推察された（図-5b）。また、環境 DNA 濃度の増加と休眠期の水温 10°C 以下の時間数との関係との間に負の相関がみられ、水温 10°C 以下の時間数が短いほど環境 DNA 濃度の増加が多い傾向がみられた（図-5c）。

表-1 GLM 解析結果

モデル	水温10°C以下の 時間数	河川横断構造物 までの距離	平均TWI	上流河床勾配	ΔAIC
1	-1.13				0.00
2	-1.14	-0.32			0.70
3	-1.09		0.26		1.01
4	-1.06			-0.27	1.06
5	-1.06	-0.39		-0.35	1.22
選択回数	5	2	1	2	

そのため、休眠期における低水温の時間数が長くなることにより生長期のオオカナダモ繁茂に負の影響を及ぼす可能性が考えられる。一方で、環境 DNA 濃度の増加と河川横断構造物までの距離との間に相関はみられなかった (図-5d)。表-1 にオオカナダモ環境 DNA 濃度の増加量に対する各環境要因の相対的な影響を推定するための GLM の解析結果を示す。上位モデル ($\Delta AIC < 2.0$) に 5 種のモデルが選択された。また、トップモデルには、水温 10°C 以下の時間数が選択され、オオカナダモ環境 DNA 濃度の増加量と負の相関がみられた。また、上位モデル 5 種の説明変数の選択回数を比較すると、水温 10°C 以下の時間数がすべてのモデルで選択されており、河川横断構造物までの距離や平均 TWI、上流河床勾配と比較して環境 DNA 濃度の増加に相対的に強く影響している可能性が示唆された。さらに、GLM の偏回帰係数に着目すると、水温 10°C 以下の時間数の偏回帰係数が最も高く、休眠期の水温上昇が衰退期から生長期にかけてのオオカナダモ群落の増加を最も促進し得ることが示された。また、河川横断構造との距離も上位モデルに選択され、環境 DNA 濃度増加と負の相関がみられたことから、河川横断構造物上流の湛水区間でオオカナダモが生長している可能性が明らかとなった。オオカナダモは流れの緩やかな環境で定着する傾向があり、堰堤や床止め工により形成される湛水域はオオカナダモの繁茂に適した生育場であると考えられる。

4. 結論

本研究では、水系スケールにおけるオオカナダモの季節的な繁茂特性について把握することを目的とし、中国地方の 5 つの一級水系を対象に環境 DNA 分析を用いて、衰退期から生長期にかけてのオオカナダモの繁

茂状況の把握を行った。結果として、高津川水系の中上流域と江の川水系の中流域において季節を通してオオカナダモの群落面積が相対的に高いことが明らかとなった。さらに、衰退期から生長期にかけてのオオカナダモ環境 DNA 濃度の増加と環境要因との関係について検討し、休眠期の河川水温が相対的に高い河川区間及び河床勾配が緩やかな河川区間及びでオオカナダモ群落の増加が起りやすいことが明らかとなった。これらの結果から、環境 DNA を用いた複数の大規模河川における流域網羅的な調査によって、大規模河川において季節を通してオオカナダモ繁茂が顕著な河川区間を特定し、衰退期から生長期にかけてのオオカナダモ群落の増加に影響し得る環境要因を推定可能であることが示唆された。

謝辞：本研究では、国土交通省中国地方整備局三次河川国道事務所受託研究「オオカナダモ分布拡大の抑制に関する研究 (研究代表者：赤松良久)」の一環として行われた。

参考文献

- 1) 国立環境研究所侵入生物データベース：
https://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/DB/detail/80670_ref.html
- 2) Haramoto, T. and Ikushima, I.: Life cycle of *Egeria densa* Planch., an aquatic plant naturalized in Japan. *Aquat. Bot.*, Vol.30, pp.389-403, 1988.
- 3) Minamoto, T., Miya, M., Sado, T., Seino, S., Doi, H., Kondoh, M., Nakamura, K., Takahara, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kasai, A., Masuda, R. and Uchii, K.: An illustrated manual for environmental DNA research: Water sampling guidelines and experimental protocols. *Environmental DNA*, Vol.3, pp.8-13, 2021.
- 4) Thiébaud, G., Gillarda, M. and Deleub, C.: Growth, regeneration and colonisation of *Egeria densa* fragments: the effect of autumn temperature increases, *Aquat. Ecol.*, Vol.50, pp.175-185, 2016.