

江の川におけるオオカナダモの繁茂が アユに与える影響の検討

EXAMINATION OF OVERGROWTH EFFECTS OF *EGERIA Densa* ON *PLECOGLOSSUS ALTIVELIS ALTIVELIS* IN THE GONOKAWA RIVER

児玉貴央¹・宮園誠二²・山口皓平³・中尾遼平⁴・赤松良久⁵
Takao KODAMA, Seiji MIYAZONO, Kohei YAMAGUCHI, Ryohei, NAKAO
and Yoshihisa AKAMATSU

¹学生会員 山口大学工学部 社会建設工学科 (〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)

²正会員 農博 山口大学大学院学術研究員 創成科学研究科 (〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)

³学生会員 山口大学大学院 創成科学研究科 (〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)

⁴正会員 農博 山口大学大学院特命助教 創成科学研究科 (〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)

⁵正会員 工博 山口大学大学院教授 創成科学研究科 (〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)

It is concerned that *Egeria densa*, a nonnative aquatic weed, could negatively affect *Plecoglossus altivelis altivelis*, a native fish species, in Japanese rivers. In this study, we examined the effects of *E. densa* and other environmental factors on *P. a. altivelis* in the Gonokawa River in Japan in August 2019, using environmental DNA (eDNA) method, unmanned aerial vehicle, and statistical modeling (simple linear regression and generalized linear model). The results of the simple linear regression indicated that the eDNA concentrations of *P. a. altivelis* were not significantly related to *E. densa* cover degree, but negatively related to water temperature in the study sites in the summer high-water temperature condition. The best model of the generalized linear model also indicated that water temperature had the highest correlation with the eDNA concentrations of *P. a. altivelis*. These results suggest that water temperature could influence the abundance of *P. a. altivelis* more than *E. densa* in the high-water temperature condition.

Key Words : *Egeria densa*, UAV, *Plecoglossus altivelis altivelis*, environmental DNA

1. はじめに

オオカナダモ *Egeria densa* (図-1) は、南米原産の外来沈水植物であり、日本への移入は植物生理学の実験植物として導入されたことがはじまりである。1940年代に山口県において野生化が確認され、1970年代に琵琶湖で大規模に繁殖したことで問題視されるようになった¹⁾。本種は、環境省外来生物法において重点対策外来種に指定されており、生態系への被害が懸念されている²⁾。国内には、雄株のみが帰化しており³⁾、生殖様式は切れ藻による栄養繁殖で、流水域及び止水域問わず容易に分布域を拡大する性質を持つ⁴⁾。オオカナダモは、従来、湖沼やため池、水路などの滞水域を中心に繁茂していたが⁵⁾、近年河川本流でも繁茂している事例が報告されており⁴⁾、これに伴う河川の景観悪化や枯死藻体による水質悪化、クロモなどの在来沈水植物との光を巡った生息場の競合



図-1 河床に繁茂したオオカナダモの様子

により河床付着性藻類の生育を妨げ、その結果水産有用種であるアユ *Plecoglossus altivelis altivelis* の餌場を劣化させるなどの問題を引き起こしている^{2) 4) 6)}。

これらの背景から、オオカナダモの適切な防除及び管理手法の開発が求められるが、そのためには河床に繁茂

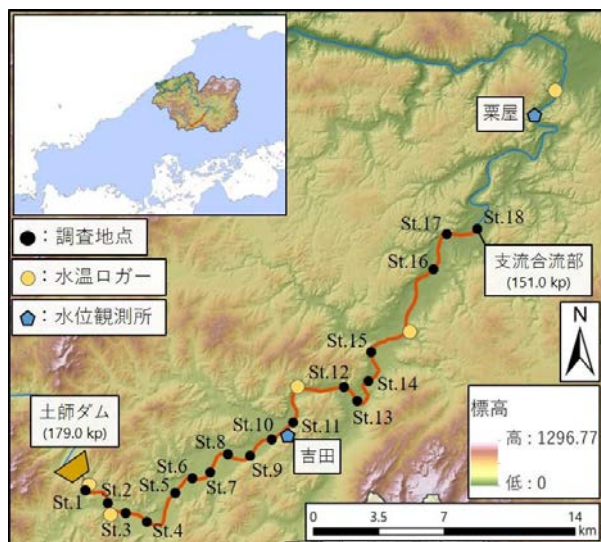


図-2 調査地点図

するオオカナダモが他の河川生物に及ぼす影響について解明することが必要とされている。しかし、日本の河川におけるオオカナダモと河川生物の関係を明らかにした研究例は不足している。これは従来、沈水植物や河川生物の生物量を広域的に把握する手段が無かったためである。

しかし、乾ら⁷⁾は山口県佐波川水系において UAV (Unmanned aerial vehicle : 無人航空機) を使用し、広域のオオカナダモ被度の定量化を行い、被度と環境特性の関係を解析することで繁茂条件を検討し、Doi et al.⁸⁾ は環境 DNA 分析を用いて河川のアユの生物量を定量化するなど、UAV や環境 DNA 分析を用いた河川生物の広域モニタリングの有効性が実証されつつある。

そこで本研究では、UAV や環境 DNA 分析を用いて河川におけるオオカナダモ及びアユの定量化を行い、アユの生物量に影響を与えられ考えられるオオカナダモや各種環境条件との関係について単回帰分析及び一般化線形モデル (Generalized linear model : GLM) を用いて解析することで、アユの生物量に影響を与える要因について検討することを目的とした。

2. 方法

(1) 現地調査

本研究において、調査区間は先行研究においてオオカナダモの繁茂が特に顕著である江の川上流域の土師ダム (広島県安芸高田市, 179 kp) から坂木川合流部 (同県三次市, 151 kp) までの約 28 km とし⁹⁾、この区間内において UAV を用いたオオカナダモの繁茂状況の空撮及びアユの環境 DNA サンプルの採水を行った。空撮は、2019 年 5 月 22~23 日に行い、マニュアル操作で高度 100 m から河道中央が写真の中心となるように上流から下流にか

けて行い、前後の写真同士の重複率が 80% 以上となるよう撮影のインターバルを 2 秒に設定し、飛行速度を 5~10 m/s を目安に UAV を飛行させた。環境 DNA サンプルの採水は、2019 年 8 月 6 日に調査区間内の 18 地点において行い、瀬の下流側でアユの環境 DNA サンプル (表層水 1 L) の採水をおこなった (図-2)。赤松ら¹⁰⁾ は、アユの環境 DNA が最も反映する範囲を 400 m~800 m と報告している。そのため、上流の採水地点の環境 DNA を重複して採水しないよう各採水地点は 800 m 以上離し設定した。採水したサンプルには、DNA の分解を遅らせるため DNA 分解阻害剤 (10% 塩化ベンザルコニウム、和光純薬工業株式会社) を 1 mL 添加し、クーラーボックスに入れ冷蔵保存し持ち帰った。このとき、輸送時のクーラーボックス中における DNA の混入を確認するため、採水ボトルに脱イオン水を入れたクーラーブランクを入れた。採水に使用したボトルは、調査前に次亜塩素酸ナトリウム漂白剤 (市販製品を脱イオン水で 10% に希釈したもの) に浸け DNA を分解し、脱イオン水で洗浄したものをを用いた。

(2) 環境 DNA 分析

採水したサンプルについては Doi et al.⁸⁾ に従い、サンプル水のろ過・DNA 抽出・定量 PCR を行った。サンプル水は、GF/F ガラスフィルター (孔径, 0.7 μm : GE Healthcare, Little Chalfont) でろ過し、市販のアルミホイルに包んで DNA 抽出を行うまで -20 $^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存した。またろ過の際には、作業中におけるサンプル間の汚染を確認するため、クーラーブランクをネガティブコントロールとして用いた。ろ過により濃縮された環境 DNA をフィルターから抽出する際は、サリベットチューブ (Sarstedt) 及び DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) を用いて、サンプル水 1 L から DNA 抽出溶液 100 μL を精製した。抽出した DNA サンプルは CFX Connect Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD) を用いて、リアルタイム定量 PCR による環境 DNA 濃度を分析した。定量 PCR を行う際、アユに特異的なプライマーおよび TaqMan プローブについては Yamanaka & Minamoto¹¹⁾ と同様のものを使用した。また、標準試料として PCR ごとに 6.0×10^5 , 6.0×10^4 , 6.0×10^3 , 6.0×10^2 , および 6.0×10^1 copies の既知濃度に希釈したアユの人工合成 DNA を測定し、これらの結果から検量線を作成することでサンプルの定量化を行った。

(3) オオカナダモ被度の算出

オオカナダモ被度を算出するため、まず SfM-MVS (Structure from Motion-Multi View Stereo) を用いて、現地調査から得られた空撮画像からオルソ画像を作成した。オルソ画像を作成する際は、SfM ソフトとして一般的に用いられる Metashape Professional (Agisoft 社) を使用した。次に、オルソ画像をもとに ArcGIS10.6.1 (ESRI 社)

上で、オオカナダモ群落ポリゴンと低水路ポリゴンをマニュアルで作成した。最後に、ポリゴンを 200 m 距離標位置で分割し、各ポリゴンの 200 m ごとの面積をジオメトリ演算を用いて算出し、式(1)から調査区間内におけるオオカナダモ被度を算出した。

$$\text{被度 (\%)} = \frac{\text{オオカナダモ面積 (m}^2\text{)}}{\text{低水路面積 (m}^2\text{)}} \times 100 \quad (1)$$

式(1)から得られた 200 m 間隔の被度は、距離標の端点を結ぶことで作成したポリゴンに内挿し、被度の大きさごとに分類することで可視化した。

また、統計解析によるオオカナダモ被度とアユの生物量の関係を検討するため、採水地点から上流 200 m 間の被度を上記と同様の方法で算出した。

(4) 環境条件の算出

a) 水深及び流速

対象域の水深・流速は、河川の流れ解析ソフトウェアである iRIC(International River Interface Cooperative) の Nays2DH ソルバーを用いて算出した。計算に用いた地形データは、2017 年 9 月に実施された江の川土師ダム下流域の 200 m ピッチの定期横断測量結果より得られたデータから iRIC の riv ファイルクリエーターを用いて地形作成したものを用いた。計算格子についても同様に 2017 年 9 月の定期横断測量成果から作成し、格子サイズは 5 m × 5 m と設定した。河床材料粒径は、2017 年 9 月の定期横断測量結果による粒度分布を用いて、ダムと調査区間内に存在する水位観測所間ごとに平均粒径を算出し、St.1~St.10 には 51.9 mm, St.11~St.16 には 79.9 mm, St.16~St.18 には 153.2 mm を計算条件として与えた。境界条件は、2019 年 8 月 6 日のダム放流量または水位観測所の水位を H-Q 式(平成 30 年)を用いて算出した流量に支流流量を加えたものを上流端に与え、下流端を等流水深とした。ダム放流量または各観測所の水位は、国土交通省水文水質データベース¹²⁾で公開されているデータを用い、支流流量はダムまたは観測所間の流量差を支流の集水面積の割合をもとに配分することで算出した。

流れの再現シミュレーションから得られた水深と流速は、ポイントデータであるため ArcGIS のゾーン統計を用いて、各採水地点上流 200 m の低水路内の平均水深と平均流速を算出した。

b) 濁度

現地調査では環境 DNA サンプルの採水と並行して水質サンプル 500 mL の採水も行い冷蔵保存して持ち帰り、多項目水質計(マルチ水質チェッカー U-50 シリーズ U-51、堀場製作所)を用いて濁度(NTU)を測定した。

c) 水温

採水地点の水温を得るため、土師ダムから西城川、馬洗川の合流部の間の 5 地点において水温ロガー(HOBO ウォーターテンププロ V2 : Onset 社)を用いて、15 分間

隔で河川水温の連続モニタリングを行った。設置する際は、水深が低水時に 20~50 cm 程度で十分鉛直混合されているトロに当たる箇所を選定し、極力流心に近い礫背面の河床付近に水温ロガーが出水により流されないように杭を用いて設置した。そして、採水地点における河川水温を算出するため、各水温ロガー位置における 2019 年 8 月 6 日の 9 時~15 時の平均水温をもとに、水温ロガー間の水温を逆距離荷重(Inverse Distance Weighted : IDW)内挿を用いて内挿補間し、採水地点の水温を抽出した。この際、データの集計には ArcGIS を用いた。

(5) 統計解析

アユの生物量に影響を及ぼす要因についてはアユの環境 DNA 濃度とオオカナダモ被度や環境条件の関係を単回帰分析及び GLM を用いて統計解析を行うことで検討した。解析は、調査区間内に好適環境を求めたアユの移動を制限する可能性がある堰(173.8 kp)が存在したことから、すべての調査地点データを用いた場合と堰上流の St.1~St.4 の調査地点データを除外した場合の 2 種類について行った。このとき、頻度分布の歪度が 1 以上であったアユの環境 DNA 濃度とオオカナダモ被度に関しては平方根変換を用いて正規化を行った。GLM の応答変数に適用する確率分布は、正規分布及びガンマ分布の 2 パターンについて行い、応答変数にはアユの環境 DNA 濃度(copies/mL)、説明変数には採水地点上流 200 m のオオカナダモ被度(%), 水深(m), 流速(m/s)及び、採水地点の濁度(NTU)、調査中の平均水温(°C)を用いた。この際、説明変数間の比較をするため式(2)を用いて説明変数の標準化を行った。

$$z = \frac{x - \bar{x}}{s} \quad (2)$$

ここで、 z : 標準化後のデータ、 x : 標準化前のデータ、 $\bar{x}$: データの平均値、 s : 標準偏差である。解析結果は、確率分布が正規分布とガンマ分布のうち、最適モデルの AIC が小さい分布を用いた。本研究では、St.1~St.4 を除いた場合、すべての地点データを用いた場合のどちらも、確率分布にガンマ分布を適用したとき最適モデルの AIC が小さかったためその結果を示す。また、応答変数と説明変数の関係性の強さは ΔAIC が 2 以下のモデルにおける説明変数の選択回数を基準とした。解析には統計ソフト R-3.6.1(R Development Core Team)を用い、モデル選択のためのパッケージ・ライブラリは MuMIn¹³⁾を使用した。

3. 結果と考察

(1) アユの環境DNA濃度

図-3にアユの環境DNA濃度の空間分布を示す。アユの環境DNA濃度はSt.5で最大80.26 copies/mL、St.16で最小1.27 copies/mL、平均19.29 copies/mLを示した。乾ら¹⁴⁾の

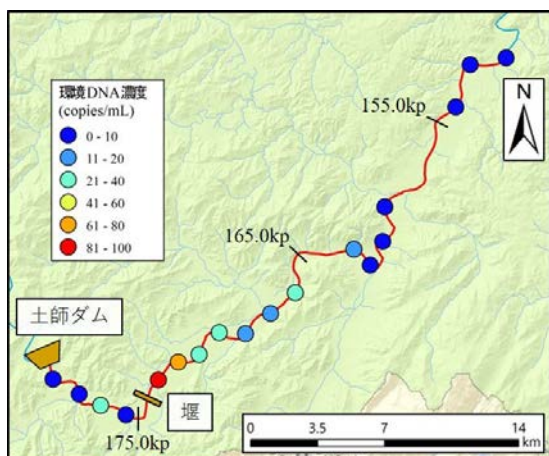


図-3 アユの環境DNA濃度の空間分布

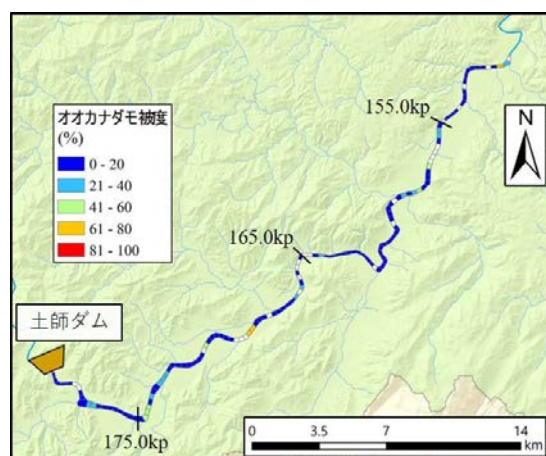


図-4 調査区間内のオオカナダモ被度

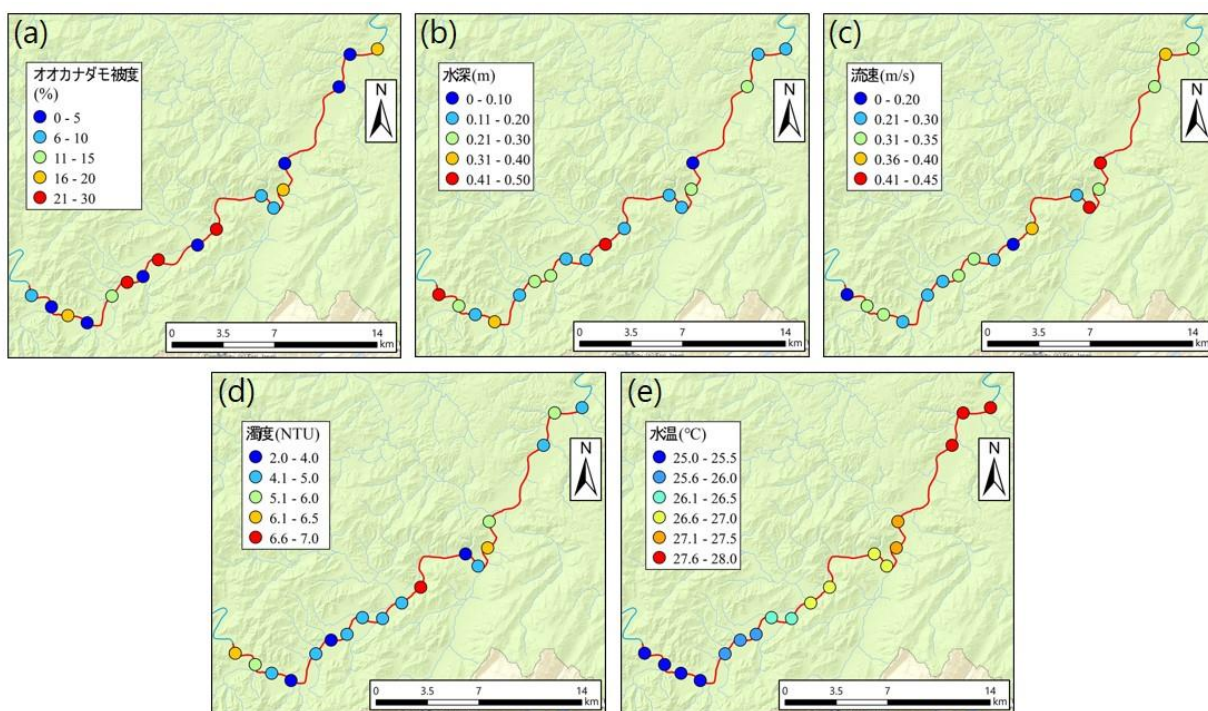


図-5 採水地点付近におけるオオカナダモ被度及び環境条件の空間分布

(a) オオカナダモ被度 (b) 水深 (c) 流速 (d) 濁度 (e) 水温

先行研究である2016年8月の江の川（土師ダム～西城川、馬洗川合流部）における結果において、アユの環境DNA濃度の平均は71 copies/mLであり、2019年8月の調査区間内におけるアユの生物量は2016年8月と比較して少ないと考えられる。またアユの環境DNA濃度の空間分布は、下流から上流に行くほど高くなり、堰を境に減少することがわかった。これはSt.4とSt.5の間に存在する堰によりアユの好適環境を求めた移動が制限されたことが考えられる。

(2) オオカナダモ被度及び環境条件

図-4に調査区間全域における200 m間隔のオオカナダモ被度を示す。図中の白抜きの区間は波や太陽光の反射により河床の判別がつかない区間である。被度は、174.2 kp～174.8 kp, 168.6 kp～169.0 kp, 151.4 kp～151.6 kpなど

一部の区間を除き、ほぼすべての区間で40 %以下を示し、アユの環境DNA濃度とは異なり明確な空間的傾向は見られなかった。また、図-5に採水地点におけるオオカナダモ被度及び環境条件の空間分布を示す。オオカナダモ被度、水深及び流速と濁度に関して、調査区間全域のオオカナダモ被度と同様に、明確な空間的傾向は見られなかったが、調査中の平均水温は上流から下流に行くにつれ高くなる傾向を示し、アユの環境DNA濃度とは反対の空間分布を示した。

(3) アユの生物量に影響を与える要因の検討

図-6、表-1にすべての地点データを用いた場合のアユの環境DNA濃度とオオカナダモ被度、環境条件の単回帰分析結果及びGLM結果を示す。単回帰分析の結果、アユの環境DNA濃度とオオカナダモ被度の R^2 は0.180と強い

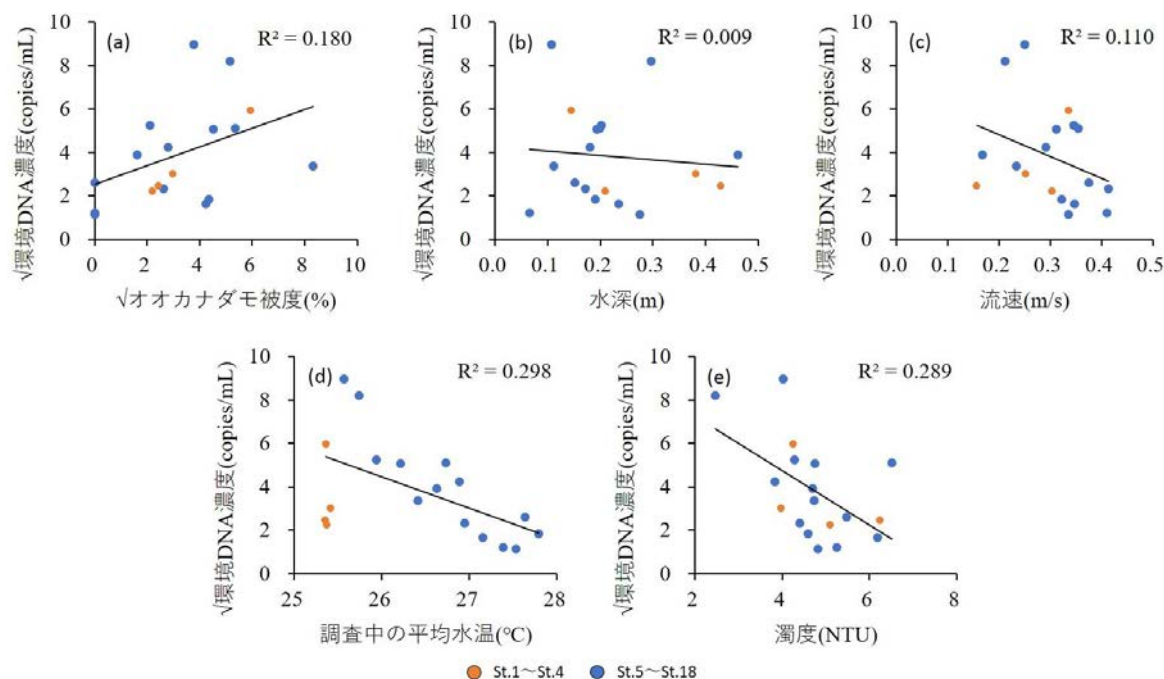


図-6 すべての地点を用いた場合のアユの環境DNA濃度とオオカナダモ被度及び環境条件の関係
(a) オオカナダモ被度 (b) 水深 (c) 流速 (d) 水温 (e) 濁度 橙色の丸はSt.1～St.4、青色の丸はSt.5～St.18を示す

表-1 GLM結果：すべての地点データを用いた場合

	AIC	オオカナダモ被度	水深	流速	水温	濁度	切片
1	68.70	0.233			-0.261	-0.170	1.240
2	69.70	0.229			-0.335		1.253
3	70.50	0.220	-0.044		-0.274	-0.166	1.240
4	70.60	0.233		0.035	-0.276	-0.176	1.240
選択回数		4	1	1	4	3	

相関がみられなかったが、環境条件では調査中の平均水温と濁度に負の相関がみられ、 R^2 はそれぞれ0.298、0.289を示した。GLMの結果、オオカナダモ被度は ΔAIC が2以下の上位4モデル中4回選択され、アユの環境DNA濃度に正の相関を示し、水温が4回、濁度が3回選択され、アユの環境DNA濃度に対して負の相関を示した。

St.1～St.4を除き単回帰分析を行った結果、アユの環境DNA濃度とオオカナダモ被度の R^2 は0.145とすべての地点データを用いた場合と同様に強い相関は見られなかった。環境条件では調査中の平均水温、流速、濁度と負の相関がみられ、それぞれ $R^2=0.800$ 、 $R^2=0.303$ 、 $R^2=0.292$ を示した。表-2にSt.1～St.4を除いた場合のGLMの結果を示す。GLMの結果、 ΔAIC が2以下の上位5モデルのうちオオカナダモ被度の選択回数は1回と、アユの環境DNA濃度と相関は弱いことが示されたが、水温は上位5モデルすべてにおいて選択され、最適モデルでは水温のみが選択されるなど強い負の相関を示した。水温と強い負の相関

がみられたのは、調査中の平均水温が調査区間最上流で25.3℃、最下流で27.9℃と上流から下流にかけて高くなる傾向にあり、アユが好適水温（14℃～25℃¹⁵⁾）を求め移動したためと考えられる。また、アユの環境DNA濃度と調査中の平均水温の相関が、すべての地点データを用いた場合に比べて顕著に強まったが、これは堰上流の4地点(St.1～St.4)に低い水温があるにも関わらず、アユの環境DNA濃度が低かったためである(図-6)。これにより、堰にアユの好適水温を求めた移動が制限されていたことが示唆された。

乾ら¹⁴⁾は、江の川において環境DNA分析を用いてアユを定量化し、GLMを用いてアユの環境DNA濃度に影響を与える環境条件（オオカナダモ被度、水質、水理条件、標高）を明らかにすることを試みた。その結果、上位10モデルのうちオオカナダモ被度の選択回数は1回と顕著な相関がみられなかったと報告している。本研究においても、環境DNA濃度とオオカナダモ被度との相関は

表-2 GLM結果：St.1～St.4を除いた場合

	AIC	オオカナダモ被度	水深	流速	水温	濁度	切片
1	45.60				-0.547		1.222
2	47.40	0.043			-0.529		1.221
3	47.50			-0.028	-0.533		1.222
4	47.50		0.019		-0.546		1.222
5	47.60				-0.546	-0.002	1.222
選択回数		1	1	1	5	1	

見られなかったことから先行研究と類似した結果が得られたといえる。

これらの結果から、本調査区域における夏季の高水温時のアユの現存量はオオカナダモの繁茂よりも水温の影響を強く受けることが示唆された。

4. 結論

本研究では、オオカナダモとアユの生物量をUAV及び環境DNA分析を用いて定量化し、アユの生物量に影響を与えると考えられるオオカナダモ被度及び環境条件の関係を単回帰分析及びGLMを用いて検討した。その結果、アユの環境DNA濃度とオオカナダモ被度の間に明確な相関は見られなかったが、堰下流の地点において水温と強い負の相関を示すことがわかった。これにより、堰にアユの好適水温を求めた移動が制限されていることが示唆された。これらの結果から、調査区域における夏季の高水温時のアユの現存量はオオカナダモの繁茂よりも水温の影響を強く受けることが示唆された。

謝辞：本研究は、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「オオカナダモの除去及び繁茂抑制に関する技術的支援（研究代表者：赤松良久）」の一環として行われた。本研究に際して、国土交通省中国地方整備局三次河川国道事務所から貴重なデータの提供を頂いた。ここに記して謝意を示す。

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.html>
- 2) 要注意外来生物リスト | 日本の外来種対策 | 外来生物法—環境省：
<https://www.env.go.jp/nature/intro/2outline/list/caution.html>
- 3) 財団法人リバーフロント整備センター：川の生物図典，山海堂，pp.16-17，1996

- 4) Haramoto, T., and Ikushima, I.: Life cycle of *Egeria densa* Planch. an aquatic plant naturalized in Japan, *Aquatic Botany*, Vol.30, pp.389-403, 1988
- 5) 内田朝子，白金晶子，洲崎燈子，碓伸夫，水野修，椿隆明：矢作川における要注意外来生物オオカナダモ(*Egeria densa*)の繁茂状況と駆除活動，矢作川研究No.18, pp.33-40, 2014.
- 6) 高橋勇夫，寺内弘悦，曾田一志，村山達朗，福井克也：江の川上流域におけるアユ漁場診断調査の記録，島根県水技研報8, pp.30-49, 2015
- 7) 乾隆帝，赤松良久，掛波優作：佐波川におけるオオカナダモ被度の定量化と繁茂要因の検討，土木学会論文集B1(水工学) Vol.72, No.4, I_1123-I_1128, 2016
- 8) Doi, H., Inui, R., Akamatsu, Y., Kanno, K., Yamanaka, H., Takahara, T., Minamoto, T.: Environmental DNA analysis for estimating the abundance and biomass of stream fish, *Freshwater Biology*, Vol.62, pp.30-39, 2017
- 9) 児玉貴央，赤松良久，宮園誠二，山口皓平：大規模出水時のオオカナダモの流失特性の検討，土木学会論文集(水工学)，Vol.75, No.2, I_391-I_396, 2019
- 10) 赤松良久，乾隆帝，一松晃弘，河野誉仁，土井秀幸：環境DNAを用いた河川内の魚類現存量推定に関する基礎的検討，土木学会論文集B1(水工学)，Vol.73, No.4, I-1111-1116, 2017
- 11) Yamanaka H and 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
- 12) 国土交通省水文水質データベース：<http://www1.river.go.jp>
- 13) Bartoń, K.: Multi-Model Inference, R package version 1.43.15, 2019
- 14) 乾隆帝，後藤益慈，河野誉仁，赤松良久，掛波優作，一松晃弘：江の川における環境DNA分析を用いたアユの定量化と生物量に影響を与える環境要因の検討，土木学会論文集B1(水工学)，Vol.73, No.4, I-1105-1110, 2017
- 15) 西田陸：びわ湖のコアユの産卵形態，日本水産学会誌，Vol.44, No.6, pp.577-585, 1978

(2020. 4. 2受付)