# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4年 6月23日現在

機関番号: 14301

研究種目: 基盤研究(A)(一般)

研究期間: 2018~2021

課題番号: 18H04009

研究課題名(和文)先端技術の融合で解き明かす地下生態系のブラックボックス

研究課題名(英文)Integration of DNA metabarcoding and stable isotope analyses for disentangling below-ground ecosystem processes

#### 研究代表者

東樹 宏和 (Toju, Hirokazu)

京都大学・生態学研究センター・准教授

研究者番号:60585024

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 34,000,000円

研究成果の概要(和文):50種のクモから検出された1000種類にも及ぶ餌種節足動物のデータを分析することによって、各クモ種がどの季節に菌食性(地下由来)の餌に依存し、どの季節に地上部(植食性昆虫等)の餌にシフトしているのか、解明することができた。また、安定同位体分析によって、14Nと15Nの比率のデータから、各クモ種の栄養段階が大きく異ることが見えてきた。また、12Cと13Cの比率に関するデータから、C3植物とC4植物に端を発するエネルギー・チャンネル(植食性昆虫の宿主植物特異性を介した異なるエネルギー・チャンネル)に由来すると思われる変異が、クモ種間だけでなく、クモ個体間でもみられることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義 陸上植物によって生産された有機物(純一次生産)のうち、地上の食物網に直接流れるのは1割ほどである。大半 の炭素は地下生物圏に流入するか、微生物や土壌動物の圧倒的多様性に研究が阻まれ、生物間相互作用網の構造 はブラックボックスのままであった。 本プロジェクトでは、本研究グループが世界的な技術的優位性をもつDNA メタバーコーディングと安定同位体解析を融合し、地上生態系と地下生態系が、クモを中心とする食物網によっ て連結されていることを実証した。食物網の構造が季節の変化に伴ってダイナミックに変化していくさまを、世 界に先駆けて解明することができた。

研究成果の概要(英文): By analyzing data on as many as 1,000 different prey species arthropods detected in 50 spider species, we were able to elucidate which seasons each spider species relies on mycophagous (underground-derived) food and which seasons it shifts to terrestrial (e.g., herbivorous insects) food. Stable isotope analysis also revealed that the trophic levels of each spider species differed significantly based on data on the ratio of 14N to 15N. Data on the ratio of 12C to 13C also revealed that variation, which may originate from energy channels originating from C3 and C4 plants (different energy channels via host-plant specificity of plant-eating insects), is found not only among spider species, but also among individual spiders.

研究分野: 生態学

キーワード: 群集 食物網 地下生態系 クモ ネットワーク

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1.研究開始当初の背景

陸上植物によって生産された有機物(純一次生産)のうち、地上の食物網に直接流れるのは1割ほどである。大半の炭素は地下生物圏に流入するが、微生物や土壌動物の圧倒的多様性に研究が阻まれ、生物間相互作用網の構造はブラックボックスのままであった。

### 2.研究の目的

本プロジェクトでは、地下をめぐる炭素循環のブラックボックスを高解像度で解明することを目指す。植物から地下に流れた大量の炭素は、地下生物圏でリレーされたあと、どこかで地上の相互作用網に流入すると考えられる。しかし、種間相互作用網が「ブラックボックス」の現状では、群集構造の動態と炭素循環を関連づけることができない。

この状況を打破するため、DNA メタバーコーディングと安定同位体分析を融合する。この 2 つの技術群において、申請者らは世界を主導する立場にある(「申請者らの技術的優位性」参照 )。相互作用を多角的かつ高精度に解明する技術融合を土台にしてはじめて、地下生態系と地上生態系の動態を統合的に理解することが可能となる。最新技術を持ち寄り、群集・生態系生態学分野における新たな「業界標準」の提案を目指す。

# 3.研究の方法

「植物-真菌-菌食者-地表捕食者」の経路を経て地上へと流入する生物量は、地上の食物網動態を考察する上で、本来無視できない要素である。特に、地下の膨大な資源に支えられて捕食者が大量に供給される場合、地上の生食連鎖における一次消費者の個体群に強いトップダウン効果がはたらくと予想される。従来の食物網モデルに大幅な変更を迫りかねない重要な作業仮説であるが、決め手となるような実証系がまだ確立していない。

この仮説を検証する上で注目すべきなのが、地下と地上の食物網を繋いている可能性が指摘される地表捕食者群集(特にクモ群集)である。そこで、群集内に生息するクモ全種を徹底的にサンプリングし、地下と地上の餌資源の利用状況を各種で解明する。季節によって地下資源と地上資源の利用率が変化する可能性があるため、定期的なサンプリングを行い、DNA メタバーコーディングと安定同位体の多検体処理システム(生態学研究センターで環境整備済み)にかけていく

「どの栄養段階」の生物が「いつ」流入するかによって、食物網の動態は決定的な影響を受けると予測される。地下の膨大な資源に支えられたクモ群集が、地上の植食者がまだ現れていない早春に成立するとすれば、強力な捕食圧によって植食者個体群の成長が抑制され、食物網動態が安定化するであろう。地下相互作用網からの流入のタイミングによって陸上生態系全体の動態が駆動されていることを、重厚かつ精細なデータとともに示す。

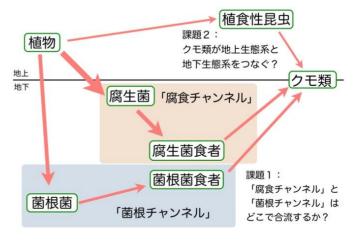
#### 4.研究成果

クモ類の DNA 増幅を抑えつつ、餌種のデータを効率的に取得できる DNA メタバーコーディングの手法を開発することに成功した。先行研究(Toju & Basa 2018 Zoological Letters)で使用していたようなブロッキングプライマーが不要となり、より簡便な分析が可能になる。最適な DNA メタバーコーディング領域の選択、PCR プライマーの最適化、DNA 実験の各工程における最適化、インフォマティクスの最適化、といった面において著しい進歩があり、従来、採集したクモ標本の 30%ほどからしか餌生物 DNA を検出できなかったところ、新手法では検出率が 90%に達することが明らかになった。

この新手法を活かし、高精細食物網の構造について、その季節動態を解明した。1 つの生物群集で採集された約50種、2000個体以上のインで解明したデータを詳細に分って解明したデータを詳細に分析し、4月から11月にかけての食物網の時系列動態を分析した。その結果、地上部と地下部の餌資源を各クトできた。膨大なデータとともに明らかにすることができた。

クモの種によって、生活史や出現の季節パターンが異なっており、また、個体の発達段階によって、地上部と地下部の餌を食べる比率が異なることが考えられる。50種のクモか

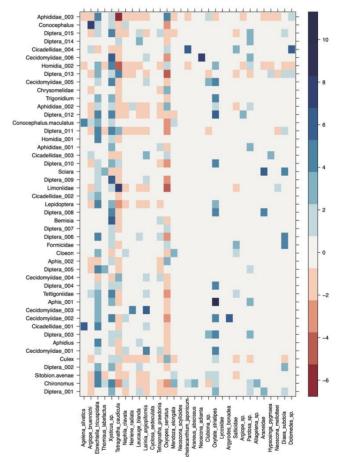
図1 炭素循環と相互作用網のブラックボックス



ら検出された 1000 種類にも及ぶ餌種節足動物のデータを分析することによって、各クモ種がどの季節に菌食性(地下由来)の餌に依存し、どの季節に地上部(植食性昆虫等)の餌にシフトしているのか、解明することができた。

上記、食物網の季節変動動態を分析する上で、ネットワーク科学や各種の統計分析を融合した、新たな分析プラットフォームを構築した。そもそも、食物網構造がどのように変動していくのか、従来の研究ではほとんど解明されてきていない。本研究プロジェクトでは、大規模に食物網の構造変化を追跡し、膨大なデータセットを得られる手法を標準化したことによって、食物網の時系列分析という新たな領域を開拓した。こうしたフロンティアの開拓によって、食物網の時系列データ分析という新たな分野が生まれることとなり、その分析方法を整備していくことができた。この時系列分析によって、地上と地下の生態系のつながりについて、数々の興味深い知見が得られた。地下由来の菌食節足動物が、恒常的に地上部を徘徊したり、地上部で網を張ったりしているクモ類の重要な餌資源として機能しており、地上生態系において、常に捕食者が大量のバイオマスとともに存在する構造を作り出していることがわかった。従来、生態系ピラミッドを一段上がるごとに、バイオマスが 1/10 になるとされてきたが、そうした見方に修正が必要となるであろう。地上部の捕食者群集は、地下からの大量バイオマス供給によって、恒常的に保たれており、地下と地上の境界線上に位置する捕食者によってエネルギー・チャンネルが統合され、トップダウン効果による食物網の安定化が起こっていると考えられる。

上記の DNA メタバーコーディング解析に加えて、安定同位体分析によるエネルギー・チャンネルの分析を行った。14N と 15N の比率のデータから、各クモ種の栄養段階が大きく異なることが見えてきた。また、12C と 13C の比率に関するデータから、C3 植物と C4 植物に端を発するエネルギー・チャンネル(植食性昆虫の宿主植物特異性を介した異なるエネルギー・チャンネル)に由来すると思われる変異が、クモ種間だけでなく、クモ個体間でもみられることが明らかになった。



# 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計13件(うち招待講演 5件/うち国際学会 1件)
1.発表者名 鈴木紗也華、馬場友希、木庭啓介、東樹宏和
2 . 発表標題 大規模食性解析から食物網ネットワークの季節動態を探る
3.学会等名 日本生態学会第69回全国大会
4 . 発表年 2022年
1.発表者名 東樹宏和
2.発表標題 生物群集をまるごと捉えて見えてくるもの
3.学会等名 京都大学生態学研究センターワークショップ
4. 発表年 2021年
1.発表者名 東樹宏和
東樹宏和  2.発表標題 多様な生態系をみつめることで多種システムの共通駆動原理に到達できるか?  3.学会等名 第69回日本生態学会
東樹宏和  2.発表標題 多様な生態系をみつめることで多種システムの共通駆動原理に到達できるか?  3.学会等名
東樹宏和  2.発表標題 多様な生態系をみつめることで多種システムの共通駆動原理に到達できるか?  3.学会等名 第69回日本生態学会  4.発表年
東樹宏和         2.発表標題         多様な生態系をみつめることで多種システムの共通駆動原理に到達できるか?         3.学会等名         第69回日本生態学会         4.発表年         2022年         1.発表者名
東樹宏和  2 . 発表標題 多様な生態系をみつめることで多種システムの共通駆動原理に到達できるか?  3 . 学会等名 第69回日本生態学会  4 . 発表年 2022年  1 . 発表者名 東樹宏和

1.発表者名
, 東樹宏和
2.発表標題
異分野融合で解き明かす生物間相互作用と生態系動態
3 . 学会等名
高遠分子細胞生物学シンポジウム(招待講演)
4 . 発表年 2021年
20217
1.発表者名
東樹宏和
2 : 元代伝送   多種生物システムの動態理解に向けたゲノム科学と群集生態学の融
2 4644
3.学会等名
ERATO共生進化機構先端セミナー(招待講演)
2022年
1.発表者名
Hirokazu Toju
2 . 発表標題
Does informatics of microbiomes revolutionize agriculture?
- S. テムモロ - Keynote lecture. The Joint Meeting of The eDNA Society & The Society of Population Ecology(招待講演)(国際学会)
4.発表年
2020年
1.発表者名 - 東樹安和
東樹宏和
2.発表標題
農業生態系の総合的管理による持続可能な食糧生産に向けて
農林水産省 講演(招待講演)
4 . 発表年
2021年

1.発表者名 東樹宏和
2.発表標題 食物網、共生ネットワーク、そして生態系の再生へ
3 . 学会等名 第68回日本生態学会シンポジウム
4.発表年
2021年
1.発表者名
鈴木紗也華・馬場友稀・東樹宏和
2.発表標題
2 .光衣信題 節足動物群集のDNAメタバーコーディングから被食ー捕食ネットワークの季節動態へ
2 24/4/4
3 . 学会等名 第68回日本生態学会ポスター発表
4.発表年
2021年
1 . 発表者名 鈴木紗也華・馬場友稀・東樹宏和
2 . 発表標題 DNAメタバーコーディングを用いた草原性クモ群集の被食ー捕食ネットワークの季節変動と種特異性の評価
s WAME
3.学会等名 第65回日本応用動物昆虫学会 ポスター発表
4.発表年
2021年
1. 発表者名
鈴木紗也華,東樹宏和
3 7V = 145 F7
2 . 発表標題 草原性クモ群集における餌利用の季節動態:DNAメタバーコーディングによる食性解析
3.学会等名 日本生態学会第67回全国大会
4.発表年 2020年
•

1.発表者名 鈴木紗也華、馬場友希、東樹宏和	
2.発表標題	
DNAメタバーコーディングによるクモ群集の食物網解析	
2 24 6 7 7	
3 . 学会等名	
第66回日本生態学会	
4 . 発表年	
2019年	

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6.研究組織

. 6	. 研究組織		
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
	中森 泰三	横浜国立大学・大学院環境情報研究院・准教授	
研究分担者	(Nakamori Taizo)		
	(50443081)	(12701)	
研究分担者	馬場 友希 (Baba Yuki)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環 境変動研究センター・上級研究員	
	(70629055)	(82111)	
研究分担者	木庭 啓介 (Koba Keisuke)	京都大学・生態学研究センター・教授	
	(90311745)	(14301)	

7.科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------