

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24770022

研究課題名(和文)空間スケールの階層性と生物群集・生態系研究：島嶼のため池群を用いて明らかにする

研究課題名(英文) Spatial hierarchy for community and ecosystem studies using the ponds on the Islands

研究代表者

土居 秀幸 (DOI, HIDEYUKI)

広島大学・サステナブル・ディベロップメント実践研究センター・特任講師

研究者番号：80608505

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：瀬戸内海の島嶼7つと本土の7地域を選定し、それぞれ5つのため池を選んで(合計70箇所)、プランクトン群集、水草、及び環境DNAについて調査を行った。ブルーギルについて、水中に遊離するDNA(環境DNA)を抽出し、リアルタイムPCRで測定した。その結果、目視で生息が確認された地点では全てブルーギルに特異的なDNAが検出され、環境DNAによる生息場所の調査が有用であることを示された。生物群集については、動物プランクトン群集については島内での違いが大きいこと、水草群集では島内の違いよりも島間の違いが大きいことが明らかとなった。これは生物の移動分散能力や繁殖様式によって違いが生じていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We surveyed the community structure of plankton and macrophytes in the 70 ponds on 7 islands and 7 regions of the mainland in Seto-Inland Sea during 2012-2014. Using an eDNA-based method, we estimated the presence of the invasive bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*, in the 70 ponds. We quantified the concentration of DNA copies in a 1 L water sample using quantitative real time polymerase chain reaction (qPCR) with a primer/probe set. We detected bluegill eDNA in all the ponds where bluegill were observed visually and some where bluegill were not observed.

As the results of community analyses, we found that the difference in zooplankton communities was higher in island scale than regional scale, while the difference in macrophyte communities was higher in regional scale. This indicated that the community assembly would be driven by the dispersal and reproduction types of the community.

研究分野：生態学

キーワード：生物群集 水域生態系 ため池 環境DNA

1. 研究開始当初の背景

生態学で認められている現象や構造の多くは、生物群集構造から起因していることが多い。その群集を対象とする群集生態学の分野においては、近年、メタ群集理論という局所一地域の生物群集間のつながりを考えた理論体系(例えば、中立モデル、集団効果など)の隆盛が起こってきた(例えば、Leibold et al. 2004 in *Ecology Letters* 7:601-613, 瀧本(2008)メタ群集の理論とその適用 in シリーズ群集生態学第3巻, 京都大学出版会)。現在では、これらの理論体系を元にして、盛んに同分野の研究が進められている。また、その研究対象として、野外では島嶼や湖沼がしばしば取り扱われている。メタ群集理論の多くは、局所一地域群集の繋がりについて空間的な階層構造(1つの湖沼一ある地域の湖沼群一複数の湖沼群同士のつながり など)があることを仮定しているが、“空間スケールの階層性”や“空間スケール間での要因の違い”がどのように決定要因に影響しているかについて、野外で検討することは難しい。メタ群集の解析には、空間スケールの階層的なアプローチが必要であることは言われているにもかかわらず、実際に野外でそれを調査・観察することは困難なため、マイクロゾウム系などを用いて調べられてきたという経緯がある(例えば、Cadotte and Fukami 2005 in *Ecology Letters* 8: 548-557)。

一方で、生態学においては、島嶼と湖沼は半閉鎖系の生態系として、野外でのモデル系として研究が続けられ、多くの生態学的知見に貢献してきた。申請者はこれまで、野外調査によって、特に湖沼や河川などの水圏生態系における生物群集、食物網、そして物質循環の動態について多くの研究を進めてきた。本研究では、島嶼と湖沼という半閉鎖系の生態系を“階層的に”組み合わせることが可能な島嶼のため池群を用いて、生態学における独創的かつ画期的な野外調査研究を展開する(図1)。空間的に入れ子状に成っているというユニークなシステムを利用することで、明確な空間スケールを野外において検討することが可能であり、統計モデルでも扱いやすい最良の野外データを得ることが可能で

ある。

2. 研究の目的

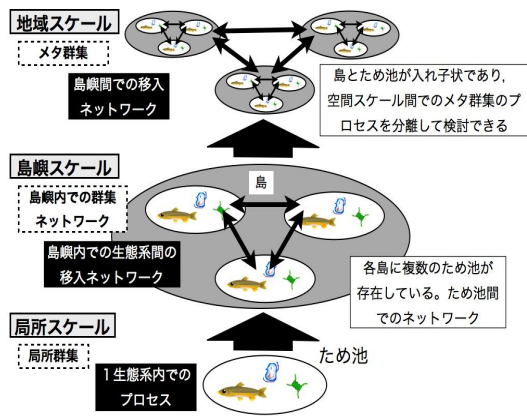
当分野においては、近年すでに多くの野外調査研究や実験がなされてきており、それら研究を統合したメタ解析の結果からも、それらの生態学研究の成果が支持され、統合的・一般的な理解が進んできている(例えば、生物多様性一生態系機能との関係など、Cardinale et al. 2006 in *Nature* 443:989-992)。

しかし、それらの研究では、“空間スケールの階層性”については十分に考慮できていない。それは、野外で明確な地理的、空間構造的な区分を設けて、生物群集や生態系機能について調査することが極めて困難であるからである。しかし、本研究では、これまで踏み込めていなかった野外での“空間スケールの階層性”について、島嶼とため池が入れ子状態になっている系を用いることで(図1)、革新的な結果、それによる新たな仮説や理論を提供できる可能性を十分に秘めている。

また本研究では、上位捕食者となる両生類や魚類、および底生動物の定性/定量的な生息状況について、ため池に溶解する各種特異的なDNA断片から推定する新規な手法を導入して調査を行う。これによって、目視や捕獲が困難な動物種を含む生物群集の組成(比)を明瞭かつ効果的に明らかにできる。

本研究結果から、メタ群集理論を生物群集予測のみならず、食物網構造、生態系機能の予測に用いることができる。すなわち、統計モデルを用いて解析することによって(詳細は研究計画・方法に記載)、環境要因、群集モデルから、生物群集、食物網構造、生態系機能の予測を可能にする結果をもたらすことが可能である。

よって、本研究では、3年の研究期間を通じて、島嶼内のため池群における生物群集、食物網構造、生態系機能の野外調査結果から、メタ群集理論が実際の野外の生物群集をどのように規定されているかについて明らかにする。さらに、生物群集の変化を通じて、食物網構造や生産性・呼吸量などの生態系機能が変化するかについて明らかにする。



(図1)

3. 研究の方法

調査は瀬戸内海の島嶼にて行った。瀬戸内海は大小3000にも及ぶ島が点在しており、本研究対象として最適である。対象とする島嶼は様々な大きさ、本土からの距離をもつもの7島を選定し、その中での5つのため池を調査対象とした。さらに、本土側でも同様に7地域、各5ため池ずつ調査した。よって合計70ため池を各季節(年2回、春、秋)において調査を行った。ため池についても、多数ある場合は、島内での配置、ため池の容積などがばらつきを持つように考慮して調査対象を選定した。

生物群集: 主に、動物・植物プランクトン群集を対象として、プランクトンネットなどにより採集を行い、個体数、バイオマスなどを計測した。両生類や魚類、および底生動物については、ため池の水サンプルに溶解する各種特異的なDNA断片をPCRおよびリアルタイムPCRで測定し、定性/定量的に明らかにした。

生物群集の統計的な解析については、メタ群集理論の主なモデルについて統計的に検討を行った。例えば、中立モデルなど4つのモデルについて Variation partitioning などを用いて検討した。また空間階層性を考慮した階層ベイズモデルを構築して、群集の予測モデルを構築した。

食物網: 炭素・窒素安定同位体比による食物網構造の解析を行う。炭素・窒素安定同位体比は被食者-捕食者間である一定の変化があることが知られている。よって、採集した各生物種や有機物(懸濁態、堆積物)について、それぞれ炭素・窒素安定同位体比を測定

した。その変化量を元にして、各消費者種の餌資源について混合モデルなどを用いて推定し、そこから食物網構造を明らかにした

生態系機能: ため池の持つ生態系機能として、生産性・生態系呼吸についてそれぞれ測定した。

4. 研究成果

平成24-26年度は、瀬戸内海の島嶼7つと本土の7地域を選定し、各島嶼、地域からそれぞれ5つのため池を選んで(合計70箇所のため池)、春(5-6月)と冬(11-12月)にそれぞれ調査を行った。生物群集としては、プランクトンネットなどで主に、動物・植物プランクトン群集を対象として採集を行い、個体数、バイオマスなどを計測した。また、バクテリアについてはDGGE(変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法)を用いて分類群数を概算するため、フィルターで採集した水をろ過して保存中である。なお26年度についてはさらに、しまなみ海道に位置する5つの島を調査値として増やして、全部で12島について96ため池において調査を行った。

外来種のブルーギルについて、ため池の水サンプルに遊離するDNA(環境DNA)を抽出し、各種特異的なDNA断片をPCRおよびリアルタイムPCRで測定した。その結果、目視調査でのブルーギルの存在と比較したいところ、目視でブルーギルの生息が確認された地点では全てブルーギルに特異的なDNAが検出された。このことは環境DNAによる生息場所の調査が有用であることを示している。また島嶼のため池ではほとんどブルーギルの生息がDNA情報からは確認されなかった。しかし、4箇所の島嶼のため池ではブルーギルのDNAが確認され、これは島嶼にはまだブルーギルが侵入しつつあることを示している。この成果はすでに論文として公表した(Teruhiko Takahara, Toshifumi Minamoto, and Hideyuki Doi (2013) PLOS ONE 8:e56584)。

生物群集についての解析を行い、動物プランクトン群集については島内での違いが大きいこと、一方では水草群集では島内の違いよりも島間の違いが大きいことが明らかとなった。よって、生物群集に応じて空間構造が与える効果が異なることが明らかとなった。これは生物の移動分散能力や繁殖様式によるところが大きいと考えられる。これら生物群集についての結果は現在投稿論文としてまとめつつあるところである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

- 1) Hideyuki Doi, Kimiko Uchii, Teruhiko Takahara, Saeko Matsushashi, Hiroki Yamanaka, and Toshifumi Minamoto (2015) Use of droplet digital PCR for estimation of fish abundance and biomass in environmental DNA surveys. PLOS ONE 10: e0122763 DOI : 10.1371/journal.pone.0122763 査読あり
- 2) Teruhiko Takahara, Satoru Endo, Momo Takada, Yurika Oba, Wim Iqbal Nursal, Takeshi Igawa, Hideyuki Doi, Toshihiro Yamada, and Toshinori Okuda (2015) Radiocesium accumulation in the anuran frog, *Rana tagoi tagoi*, in forest ecosystems after the Fukushima Nuclear Power Plant accident. Environmental Pollution 199:89-94. DOI: 10.1016/j.envpol.2015.01.018 査読あり
- 3) Teruhiko Takahara, Toshifumi Minamoto, and Hideyuki Doi (2015) Effects of sample processing on the detection rate of environmental DNA from the Common Carp (*Cyprinus carpio*). Biological Conservation 183:64-69. DOI: 10.1016/j.biocon.2014.11.014 査読あり
- 4) Kwang-Hyeon Chang, Hideyuki Doi, Yuichiro Nishibe, Gui-Sook Nam and Shin-ichi Nakano (2014) Feeding behavior of the copepod *Temora*

turbinata: clearance rate and prey preference on the diatom and microbial food web components in coastal area. Journal of Ecology and Environment 37: 225-229. DOI: 10.5141/ecoenv.2014.027 査読あり

5) Izumi Katano, and Hideyuki Doi (2014) Stream grazers determine their crawling direction on the basis of chemical and particulate microalgal cues. PeerJ 2:e503 DOI: 10.7717/peerj.503 査読あり

6) Teruhiko Takahara, Mie N. Honjo, Kimiko Uchii, Toshifumi Minamoto, Hideyuki Doi, Takafumi Ito, and Zen'ichiro Kawabata (2014) Effects of daily temperature fluctuation on the survival of carp infected with Cyprinid herpesvirus 3. Aquaculture 433:208-213 DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.06.001 査読あり

7) Teruhiko Takahara, Toshifumi Minamoto, Hideyuki Doi, Takafumi Ito, and Zen'ichiro Kawabata (2014) Differences between domesticated Eurasian and Japanese indigenous strains of the common carp (*Cyprinus carpio*) in cortisol release following acute stressor. Ichthyological Research 61:165-168 DOI: 10.1007/s10228-013-0385-4 査読あり

8) Hideyuki Doi, Alexandre Heeren and Pierre Maurage (2014) Scientific activity is a better predictor of Nobel award chances than dietary habits and economic factors. PLOS ONE 9:e92612 DOI: 10.1371/journal.pone.0092612 査読あり

9) Hideyuki Doi, Elena I. Zuykova, Shuichi Shikano, Eisuke Kikuchi, Hiroshi Ota, Natalia I.

Yurlova, and Elena Yadrenkina (2013)
Isotopic evidence for the spatial heterogeneity of
the planktonic food webs in the transition zone
between river and lake ecosystems. PeerJ 1:e222
DOI: 10.7717/peerj.222 査読あり

10) Hideyuki Doi (2013) The “four-color issue”
in ecology for considering ecosystem
boundaries. Web Ecology 13:91-93. DOI:
10.5194/we-13-91-2013 査読あり

11) Hideyuki Doi, Izumi Katano, Junjiro N.
Negishi, Seiji Sanada, and Yuichi Kayaba (2013)
Effects of biodiversity, habitat structure, and
water quality on human recreational use of
rivers. Ecosphere 4:102 DOI:
10.1890/ES12-00305.1 査読あり

12) Hideyuki Doi, Kwang-Hyeon Chang,
Yuichiro Nishibe, Hiroyuki Imai, and Shin-ichi
Nakano (2013) Lack of congruence in species
diversity indices and community structures of
planktonic groups based on local environmental
factors. PLOS ONE 8:e69594 DOI:
10.1371/journal.pone.0069594 査読あり

13) Teruhiko Takahara, Toshifumi Minamoto,
and Hideyuki Doi (2013) Using environmental
DNA to estimate the distribution of an invasive
fish species in ponds. PLOS
ONE 8:e56584 DOI:
10.1371/journal.pone.0056584 査読あり

14) Hideyuki Doi, and Terutaka Mori (2013) The
discovery of species-abundance distribution in an
ecological community. Oikos 122:179-182. DOI:
10.1111/j.1600-0706.2012.00068.x 査読あり

〔学会発表〕(計 2件)

1) 土居秀幸 生物多様性・生息場所構造と

文化的生態系サービス 2015年3月2
0日 第62回日本生態学会鹿児島大会 鹿
児島大学

2) 土居秀幸 第16回吉村賞受賞記念講
演 “陸水域における安定同位体比を用いた食
物連鎖長の解析” 日本陸水学会筑波大会
2014年9月13日 つくば国際会議場

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

6. 研究組織
(1) 研究代表者
土居秀幸 (DOI HIDEYUKI)
広島大学 サステナブル・ディベロップメン
ト実践研究センター 特任講師
研究者番号: 80608505