

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07211

研究課題名(和文) 有史以来のため池と水田の築造が淡水動物の多様性に与えた効果

研究課題名(英文) Effects of farm-pond and paddy-field constructions on the diversity of aquatic microcrustaceans

研究代表者

牧野 渡 (Makino, Wataru)

東北大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：90372309

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：稲作伝来以降の水田やため池の築造といった人為的な土地改変が、氾濫原湿地を元来のハビタットとしていたプランクトンに与えた効果についてはよくわかっていない。本研究では、水田やため池の築造が、プランクトンの集団サイズに与えた影響について、日本の水田やため池に普遍的に出現するオナガミジンコ類とタマミジンコ類を材料として調べた。得られた結果から、水田やため池の築造といった人為的な土地改変は、氾濫原湿地を元来のハビタットとしていたオナガミジンコ類とタマミジンコ類の集団サイズに対して、かなりポジティブな効果を与えていたことが推察された。

研究成果の概要(英文)：In Japan, the effects of farm-pond and paddy-field constructions on the diversity of aquatic microcrustaceans remain unclear. By investigating the geographic structures of genetic compositions in farm-pond and paddy-field zooplankton, this study tried to approve the hypothesis that farm-pond and paddy-field constructions have increased the population sizes of zooplankters there, which had been distributed in floodplains before such constructions. The obtained results in the genetic analysis, including the genotyping by sequencing, of the genus *Diaphanosoma* and the genus *Moina* in Japan, suggested that farm-pond and paddy-field dwelling species at present have higher dispersal abilities than those in their counterparts. It is therefore argued that historical farm-pond and paddy-field constructions have functioned to stabilize/increase the population size of animals that had been distributed in floodplains prior to the construction of farm-pond and paddy-field.

研究分野：水圏生態学

キーワード：動物プランクトン 水田 ため池 生物多様性

1. 研究開始当初の背景

日本の国土面積の数%を占める「水田」や、全国各地に20万カ所以上存在する「ため池」は、人工構造物ではあるものの、実は日本の淡水生物の多様性を維持する上で欠かせない存在である。例えば、日本では過去数十年の間の河川改修や土地開発などにより、氾濫原湿地が著しく減少したが、かつて氾濫原湿地に生息していた生物は、現在では「ため池」や「水田」を生息地として利用している。その典型例が *Moina macrocopa* (タマミジンコ類の一種) であり、これはユーラシアの氾濫原湿地に出現する典型的な動物プランクトンであるが、今日の日本では水田以外にほとんど出現しない。

このような、生物多様性保全にかかる「水田」や「ため池」の役割については、近年になり広く理解されるようになりつつあるが、その一方で、日本への稲作伝来以降の「水田」や「ため池」の築造といった、長期にわたり連綿と行われてきた人為的な土地変化が、氾濫原湿地を元来のハビタットとしていた止水性淡水生物に与えた効果については、定量的な解析がないままであった。

2. 研究の目的

日本の淡水生物は、地質時代には、日本海開裂(中新世)以降の地殻変動や、完新世までの氷期-間氷期サイクルといった、大規模な環境変動の影響を強く受けた。ごく最近には、人為的な影響を強く受けた。例えば、明治以降の淡水魚の種苗生産と放流や、高度経済成長期に顕在化した湖沼の富栄養化は、淡水生態系を大きく改変したと考えられている。さらには多くの外来種が定着し、生物多様性の局所的な減少を招いている。このように、過去150年間ほどの間に増大した人間活動が、淡水生態系に与えたネガティブな影響に関しては知見が揃いつつある一方で、一方、地質時代から明治期の間を生じた現象が淡水生物に与えた影響については、ほとんど研究されていない。

そこで本研究では、「水田」や「ため池」に着目し、その築造のような「より古い人間活動」が淡水生態系に与えた効果を調べた。具体的には、日本の「水田」や「ため池」に普遍的に出現する動物プランクトンを研究対象とし、有史以来の「水田」や「ため池」の築造が、動物プランクトンを著しく増加させた可能性について、検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) まず全国各地の「ため池」に広く出現する動物プランクトンとして、「ため池」の典型的なタクサであるオナガミジンコ類 (*Diaphanosoma* 属) を用いて、「ため池」に

出現する種と、そうではなく山岳湖沼や湿原といった、人為影響の極めて小さいハビタットに出現する種との間で、遺伝構造を比較することを試みた。

この解析では、まず北海道から鹿児島県にかけて、オナガミジンコ類を網羅的に採集した。その試料について、外部形態をもとに種判別を行い、ついで動物における「DNA バーコード」領域であるミトコンドリア DNA・COI 領域をシーケンスして、塩基配列の種内変異の程度を調べた。さらに、近年開発された Genotyping by Sequencing に相当する方法を用いて、ゲノムワイドな情報に基づき、遺伝構造を比較することも行った。これらの情報をもとに、オナガミジンコ類各種の集団履歴について類推することを試みた。

(2) 次に湛水直後の「水田」の動物プランクトンの代表的なタクサであるタマミジンコ類 (*Moina* 属) の遺伝的特徴を調べた。

ここでは、まず、北海道から鹿児島県にかけて、湛水中の「水田」からタマミジンコ類を網羅的に採集した。その試料について、ミトコンドリア DNA・COI 領域の塩基配列を解析して種判別を行うとともに、塩基配列の種内変異を調べて、過去の集団履歴について類推することを試みた。

なお、この解析の過程で、日本に出現するタマミジンコ類の種判別に使われている文献に記載されている情報が、正確とはいえないことが判明した。そこで今回得られたタマミジンコ類の遺伝的情報をもとに、遺伝的情報と調和的になる形態情報を抽出し、日本産タマミジンコ類の分類を整理し直す試みも行った。

4. 研究成果

(1) オナガミジンコ類について人工構造物である「ため池」に出現するオナガミジンコ類としては3種 (*Diaphanosoma dubium*, *Diaphanosoma* cf. *macrophthalma*, *Diaphanosoma* cf. *orientalis*) を、また「ため池」ではなく山岳湖沼や湿原といった人為影響の少ない環境に出現する種としては1種 (*Diaphanosoma* cf. *amurensis*) を対象として解析を行った。

D. cf. *amurensis* では、池毎に異なる mtCOI のハプロタイプが認められたことから、遺伝子流動が極めて小さいことが推察された。またゲノムワイドな解析では、日本の高山植物で認められるような標高勾配に応じた集団構造が見いだされた。つまり山岳湖沼や湿原に出現する *D.* cf. *amurensis* は、分散能力が小さく、局所個体群が孤立しがちであると考えられた。

これに対して、人工構造物である「ため池」に出現する *D. dubium*, *D.* cf. *macrophthalma*, および *D.* cf. *orientalis* の3種では、同一の mtCOI ハプロタイプが広範囲の「ため池」

から出現したことから、山岳湖沼や湿原に分布する *D. cf. amurensis* のように、遺伝子流動が極めて小さいという可能性は、高いとは言えないと判断された。またゲノムワイドな解析でも、いずれも種も共通して、東西の2個の単純なクラスターに分かれただけであった。

以上の結果から、オナガミジンコ類のうち人工構造物である「ため池」に出現する種は、自然環境に分布する *D. cf. amurensis* よりも、顕著な遺伝構造を示さないことがわかった。その理由としては、人工構造物である「ため池」に住む3種の方が、遺伝子流動が比較的大きいためであると推察された。従って、「ため池」に出現する種では、たとえ局所的な絶滅がおこっても、近隣集団からの移入により局所集団が再生しやすいため、結果的に集団サイズが高く保たれる傾向が強いと考えられた。

(2) タマミジンコ類について

従来の理解では、日本には *Moina macrocopa*、*Moina micrura*、*Moina weismanni* の3種類が出現するとされていた。ところが本研究の遺伝的解析の結果、日本のタマミジンコ類は3種類ではなく、少なくとも7種類であることが明らかとなった(図1)。従来から知られていた *M. macrocopa* と *M. weismanni* に関しては従来の理解のままで差し支えない。一方、従来の理解で *M. micrura* とされていたタクサは、狭義の *M. micrura* ではない(狭義の *M. micrura* はヨーロッパにのみ分布する)。また、このタクサを1種類とするのは不适当であり、むしろ3種類(*Moina cf. micrura* 1、*M. cf. micrura* 2、*M. cf. micrura* 3、とここでは呼ぶ)に分けられることが分かった。さらに、日本からは初記録となる *Moina cf. affinis* と、もう一種、判別できない種(便宜的に *Moina sp. kyushu* とする)を加えて7種類である(図1)。これらの7種は、いくつかの形態的特徴(例えば第一触覚の相対長や、甲殻復縁の微細棘や細毛の配置パターン、休眠卵鞘の編目模様)の組み合わせにより、明瞭に区別できることがわかった。

今回の調査では、*M. macrocopa* と *M. cf. affinis* が全国各地の「水田」から採集された。ただし瀬戸内地方から九州北部にかけては、*M. macrocopa* と *M. cf. affinis* に加えて、*M. micrura* 3 と *M. sp. kyushu* も出現していた。一方、これらの種は、「ため池」にはほとんど出現しなかった。主に「ため池」に出現していたのは *M. weismanni* と *M. cf. micrura* 1 であった。*M. cf. micrura* 2 は霞ヶ浦にだけ出現した。これらの3種は、「水田」にはほとんど出現しなかった。

全国の「水田」から普く採集された *M. macrocopa* では、遺伝的に異なる2つの系統があったが、これらの系統は同一の「水田」から出現していた。つまり *M. macrocopa* では、過去に分断されていた集団が、現在の日

本の「水田」で二次接触していることが推察された。同様の傾向は、*M. cf. affinis* においても認められた。また、「水田」と同様に人為的なハビタットである「ため池」に出現した *M. weismanni* と *M. cf. micrura* 1 では、同一の mtCOI のハプロタイプが広範囲から出現していた。

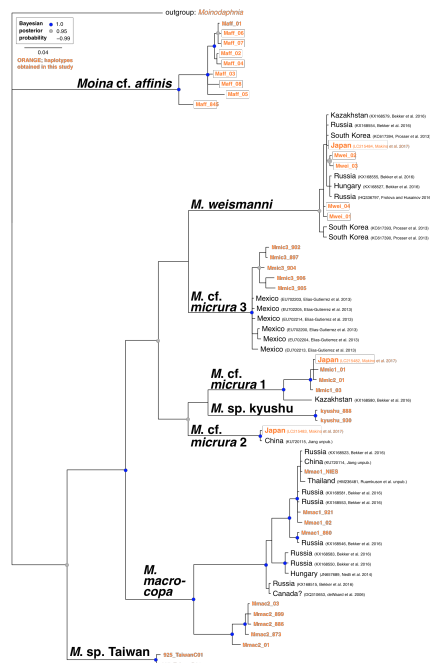


図1. 日本産タマミジンコ類(台湾産の1種を含む)における、mtCOI領域のハプロタイプに基づく分子系統樹(ベイズ推定)。

(3) 結果のまとめ

以上のオナガミジンコ類とタマミジンコ類の結果からは、次の事柄が推察された：

- ・「水田」や「ため池」の築造といった人為的な土地改変は、氾濫原湿地を元来のハビタットとしていた動物プランクトンの「代替」生息地を数多く(氾濫原の数よりも多く、の意)作り出した。

- ・「水田」や「ため池」が築造されたために、氾濫原湿地を元来のハビタットとしていた動物プランクトンは、「水田」や「ため池」が新造される度に、飛び石を伝うように分散・定着した。

- ・「代替」生息地ではあるが、「水田」や「ため池」は、氾濫原よりも数が多く、且つ氾濫原よりも湛水期間が長いという特徴のため、仮に、ある「水田」や「ため池」の局所集団が絶滅したとしても、地理的に近隣の別の「水田」や「ため池」の局所集団からの移入が、一定程度は期待できるため、絶滅地での

集団再生が生じやすくなった。

・このような「補償機構」が新しくできたこと、そもそも生息可能なハビタットの数が増えたことから、「水田」や「ため池」を利用できる動物プランクトンでは、地域的な集団サイズが増加した。

・従って、「水田」や「ため池」の築造は、汎濫原性の動物プランクトンの集団サイズに対して、かなりポジティブな効果を与えていたことが推察された。

なお、集団サイズが急増する時期には、DNA塩基配列の種内変異も増加すると考えられているため、DNA塩基配列の種内変異を高精度で検出し、合祖理論シミュレーションにより過去の集団サイズの変遷を再現すれば、集団サイズの増加時期が「水田」や「ため池」の築造時期と一致しているか否かを判断できる(=仮説検証できる)。本研究でも、オナガミジンコ類とタマミジンコ類から得られた遺伝的データに、合祖理論を適用する予定であったが、各種から得られる情報量が不十分であったため、実際には適用することができなかった。これは野外で採集された1個体ずつから遺伝的情報を得て、合祖理論を適用しようとした当初の予定が、残念ながら、現実的ではなかったことを示す。そこで現在は、オナガミジンコ類とタマミジンコ類について、野外で得られた個体(系統)のクローンを実験室で大量に作成し、それら大量の飼育個体をプールして遺伝子解析に供することで、個体(系統)から得られる情報を飛躍的に増加させることを試みている。

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3件)

(1) Makino W, Tanabe AS, Urabe J (2018) The fauna of freshwater calanoid copepods in Japan in the early decades of the 21st Century: implications for the assessment and conservation of biodiversity.

Limnology and Oceanography 63: 758-772.

DOI: 10.1002/lno.10667 査読あり

(2) Makino W, Maruoka N, Nakagawa M, Takamura N (2017) DNA barcoding of freshwater zooplankton in Lake Kasumigaura, Japan. Ecological Research 32: 481-493. DOI:

10.1007/s11284-017-1458-z 査読あり

(3) Lakatos C, Urabe J, Makino W (2015) Cryptic diversity of Japanese *Diaphanosoma* (Crustacea; Cladocera) revealed by morphological and molecular assessments. Inland Waters 5: 253-262.

DOI: 10.5268/IW-5.3.847 査読あり

[学会発表](計2件)

(1) 牧野渡. タマミジンコ (*Moina* 属) の「正しい」種判別とその応用. 日本生態学会第65回全国大会, 2018年3月.

(2) 牧野渡・丸岡奈津美・中川恵・高村典子. DNAバーコードを用いた日本淡水産動物プランクトンの種判別. 日本生態学会第64回全国大会, 2017年3月.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧野 渡 (MAKINO, Wataru)

東北大学・大学院生命科学研究所・助教

研究者番号: 90372309

(2) 研究分担者

なし