

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2019

課題番号：16K12640

研究課題名（和文）人工ウェットランド（ため池）における人間活動と生態系の相互作用の解明

研究課題名（英文）Human impact on man-made wetlands ecosystems

研究代表者

渡邊 園子（Watanae, Sonoko）

広島大学・国際協力研究科・特任准教授

研究者番号：80403616

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：東広島市西条盆地のため池に生育する絶滅危惧種の遺伝マーカーの開発とため池の植物相調査を行った。コウホネ属3種の遺伝解析で使用できるマイクロサテライトマーカーを15個開発し、11個がベニオグラコウホネとサイジョウコウホネで増幅することを確認した。また、過去にコウホネ属3種およびヒルムシロ属3種の生息が確認されているため池を中心に、その周辺のため池を含めて150カ所を超えるため池の調査を行った結果、池自体が消滅していたり、外来種などの繁茂により、生育が確認できなかったりするため池が多くあることが明らかとなった。また、2018年7月の西日本豪雨の被害により、環境が変化しているため池が数多くあった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ため池や湿地のような地域に点在する生育地の保全には、分布パターンや生育地間のネットワークの重要性が認識されているものの、具体的な保全方法は明らかとなっていない。本研究は、生態特性の異なる複数の絶滅危惧種の遺伝構造解析を通して、様々な人為的インパクトに対する個々の植物種の反応、脆弱性を地域スケールで解明するものがある。本研究で開発したマーカーを使用することで、池間のネットワークや分布構造のさらなる解明につながるものである。また、約10年間のため池の生物多様性の変化とその地理的な特徴の変化、災害による攪乱の影響は、農業生態系の生物多様性の保全に貢献するものである。

研究成果の概要（英文）：The Saijo Basin have more than 2,000 irrigation ponds with many endangered species are reported. In this study, we investigated the growth of endangered species in Saijo Basin and developed new microsatellite marker of endangered species. We collected plant samples from three populations of *N. japonica* in the Saijo Basin. And we also gained an understanding of and evaluate the inhabitation status of aquatic plants especially *Nuphar* taxa and *Potamogeton* taxa in more than 150 irrigation ponds. The western Japan heavy rain in July, 2018 caused tremendous damage. In addition, in the reservoir after this heavy rain, there was a reservoir whose environment was greatly changed by heavy rain, such as the possibility that water grass flowed out due to the inflow of soil and sand and the rise of water. Our findings contribute to an understanding of the vegetation patterns in irrigation ponds at the landscape scale and may have important implications for aquatic plant conservation and restoration.

研究分野：景観生態学

キーワード：生物多様性 遺伝マーカー 地理的分布構造 人為的攪乱 自然攪乱

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ため池は、農業利用のための人工のウェットランドであるにもかかわらず、地域の生物相の保全に重要な役割を果たすとともに、農業生態系として人間と自然の共存を考える上で非常に興味深い生態系である。しかしながら、近年ため池は、外来種の移入や水質汚濁による生態系機能の低下、農業利用の変化に伴う埋め立てや管理放棄の増加、改修工事などの脅威にさらされ、動植物の生育地としての質の低下や数の減少の問題が生じている。

ため池のような地域に点在する生息地では、ある種が生育可能なため池が周辺の再移入可能な距離に十分存在し、地域全体で種が移動できるネットワークが存在する場合には、その種の存続確立が高くなると考えられる。また、小さな池の集合体には同じ面積の単一の大きな池よりも多くの動植物が生育していること、生育地の分布パターンやネットワークがため池の生物多様性の存続に重要な役割を果たしていることが先行研究で明らかになっている。一方で、生物多様性の保全計画の策定のために必要な、地域の中に生物が存続するための生育地の配置や密度、ネットワークなどの具体的な情報は明らかになっていない。これらを明らかにするためには、生育地での絶滅確率や種子散布などによる移動距離、生育地の持続可能性などをもとにしたシミュレーションや、遺伝子交流などの調査が必要であるが、このような研究は一部の種でしか行われておらず、生育地の保全計画の立案まではかなりの時間を要する。また、ため池は、農業生態系として、人間活動の影響のもとに成立してきた生態系であるため、造成、改修、管理形態の変化、開発などの人為的なインパクトのもと、局所的な絶滅や移入などが繰り返されてきたことが容易に推測できる。そして、その影響下で繁殖している水生植物の多くは巧みで多様な栄養繁殖の手段を持ち、地下茎や植物体断片で増えるだけでなく、栄養繁殖のためのしくみが発達し、自殖する種も多い。また、環境変動にともなってその繁殖形態を変える種もある。このような、様々な人為攪乱と多様な繁殖形態によって保たれてきたため池の生態系のメカニズムを、遺伝子から景観までの多様なスケールに渡って解明することは、生物多様性を重視した持続可能な農林水産業の維持・発展に向けて非常に重要である。

本研究では、ため池に生息する複数の水生植物から大量の DNA 塩基配列情報を収集し、絶滅危惧種を含む集団遺伝学的解析と種ごとによって、絶滅危惧種保全、生物多様性保全にとって重要な保全スケール、地理的な分布構造、遺伝構造を適切に評価するとともに、様々な人為的インパクトに対する個々の植物種の脆弱性を解明しようとするものであり、遺伝的変異パターンのメタ解析を行うことで、種や個体群の持続可能性についての評価・予測をもとにした、適切かつ的確な生物多様性保全策の提案を行うことを可能にするものである。

2. 研究の目的

本研究は、絶滅危惧種水生植物を対象とした遺伝構造解析と地域スケールの空間統計学によって、農業利用などの人為的インパクトに対する生物多様性と生態系機能のインタラクションと、人工ウェットランド(ため池)のホットスポット(生物多様性の保全スケール)を明らかにし、ため池の生態系機能、生物多様性を維持・増進する方策を提案する事を目的とする。ため池や湿地のような地域に点在する生育地の保全には、その分布パターンや生育地間のネットワークの重要性が認識されているものの、具体的な保全方法は明らかとなっていない。本研究は、生態特性の異なる複数の絶滅危惧種の遺伝構造解析を通して、様々な人為的インパクトに対する個々の植物種の反応、脆弱性を地域スケールで解明するもので、農業生態系の生物多様性の保全に大きく貢献するものである。

3. 研究の方法

本研究は、植物サンプルの採取と生育環境調査、マイクロサテライトマーカーの開発、生態特性の異なる植物種を対象とした集団遺伝学的解析とその比較を行い、人間の農業活動が水生植物種の存続および生物多様性に与える影響を評価し、適切な地域の生態系保全策を提案する。

(1) 遺伝マーカーの開発

本研究では、東広島市に同所的に存在しているコウホネ属3種(コウホネ、ベニオグラコウホネ、サイジョウコウホネ)の解析に使用できるマイクロサテライトマーカーの開発を行った。

コウホネ個体群3カ所、ベニオグラコウホネ個体群1カ所、サイジョウコウホネ個体群1の計5個体群を用いてマーカーの開発を行った。個々の池の間の地理的距離は2.3から8.4 kmの範囲に分布し、平均の距離は5.8 kmである。

(2) 絶滅危惧種の生息状況調査

本研究では、コウホネ属3種のほか、ヒルムシロ属3種の生息地の調査を行った。コウホネ属については、西条盆地で同所的に生息する絶滅危惧種として特徴的な種である。また、ヒルムシロ属については、西条盆地に広く生息していることが報告されている種である。

本研究では、これらの種を中心に生息地調査と周辺環境調査、DEMから作成した地形情報を行

い、生息地の選好性 (Maxent) と、地理的分布構造の変化を明らかにした。理論的分布構造については、Riplay の K 関数を用いた。生息地の選好性、分布構造については、1995 年から 2000 年にかけて行われた約 10 年前の東広島市のため池調査報告書のデータの解析結果とも比較を行った。

4. 研究成果

(1) 遺伝マーカーの開発

本研究では、東広島市の西条盆地に多く分布するため池に生育する絶滅危惧種の特徴を明らかにするため、西条盆地の絶滅危惧種の生育状況調査、絶滅危惧種の遺伝子からマーカー開発を行った。そのため、西条盆地の水生植物や湿地、草地の絶滅危惧種を中心に絶滅危惧種のサンプル採集、生育状況調査うとともに、収集した生息地データの GIS データベースを作成し、生育状況の変化を明らかにすることに取り組んだ。遺伝マーカーの開発については、西条盆地に生育するコウホネ属 3 種の遺伝解析で使用できるマイクロサテライトマーカーの開発のため、西条盆地の 3 集団とベニオグラコウホネとサイジョウコウホネの各 1 集団をもちいて、マイクロサテライトマーカーを 15 個開発した。開発したマーカーの対立遺伝子の総数は、2 から 9、平均は 3.47 であり、ヘテロ接合度は 0.50 から 0.78 の範囲であった。開発したマーカーのうち、11 個がベニオグラコウホネとサイジョウコウホネで増幅することを確認することができた (表 1・2)。

表 1 : Characteristics of the 15 polymorphic microsatellite markers developed for *Nuphar japonica*

Locus	Primer sequences (5'-3') ^b	Repeat motif	Fluorescent label	Allele size range (bp)	GenBank accession no.
NJ03362	F: [F9AGG] AAGGGTAGATGGTGCCGTC R: CGACCCCTGGAGTACGTCAA	(AG) ₁₇	HEX	384-430	LC164697
NJ03807	F: [F9GAC] CACAGTACCAAACGGCGAAC R: GTAAGGAAAGGCGACAGGC	(AG) ₁₅	FAM	127-143	LC164698
NJ03886	F: [F9CCG] CGCGATTAAATGATGGCCCTC R: CACCACACCCGTACCTATGT	(AT) ₁₇	FAM	321-339	LC164699
NJ04340	F: [F9CCG] GAAACCCACACATCACCTCC R: GGACGTAGCATTTCTCTCTCCT	(AG) ₁₆	FAM	312-328	LC164700
NJ08140	F: [F9GAC] ATCTCTCCCGCATCAAGACC R: CTCGATCTCCACCTTCAGCA	(AG) ₁₈	FAM	136-170	LC164701
NJ08349	F: [F9GCC] AGCATAACCACACAAAGTCCC R: CCAATGAGCTCACCTTTCCC	(AG) ₁₈	PET	274-288	LC164702
NJ11253	F: [F9CCG] AGGACACATTTGCCAACGCTG R: CCATTATCGCCGGCAAGAAG	(AG) ₁₇	FAM	316-328	LC164703
NJ12418	F: [F9GTC] TTTGTTGGTTGGCAGCAGAC R: CGAAGGTAGGGCTGTGAAC	(AG) ₁₈	HEX	186-196	LC164704
NJ13401	F: [F9GCC] ACACAAATTCACGGAGCAGAC R: CAGCTGGGCTTGAATGGAC	(AC) ₁₇	PET	289-315	LC164705
NJ14763	F: [F9AGG] GGCAAGACAAAGTGAGGCTC R: GGCTGGTTGGGTTTCAGTTC	(AT) ₁₅	HEX	366-370	LC164706
NJ15714	F: [F9GCC] GCATTCCTGATCGTGTCTGC R: CAACCTACAGAAGAGCGGA	(AG) ₁₆	PET	250-270	LC164707
NJ17517	F: [F9GAC] GAGCAAGGAGGAGAAGGTTTC R: CTCCTATAATGGCGACACAAGCT	(AG) ₁₇	FAM	146-174	LC164708
NJ18010	F: [F9TAC] CATCACGACGGAACCAAGG R: GCACGAGCGAGACTAGAAGA	(AG) ₁₈	NED	228-260	LC164709
NJ18322	F: [F9AGG] TTCACAGCTCCCTTCCGCTC R: GCTCGAGAACCCTTGACCTCA	(AG) ₁₆	HEX	406-410	LC164710
NJ21829	F: [F9AGG] ACGCACACCAATCGTGTGTAG R: CTACCCAGAAGCGACAGTGA	(AG) ₁₇	HEX	401-433	LC164711

^aAnnealing temperature was 60°C for all loci.

^bSequences of the BStag primers: F9GAC-FAM = 5'-CTAGTATCAGGACGAC-3', F9GTC-VIC = 5'-CTAGTATGAGGACGTC-3', F9TAC-NED = 5'-CTAGTATCAGGACTAC-3', F9GCC-PET = 5'-CTAGTATTAGGACGCC-3', F9CCG-FAM = 5'-CTAGTATTAGGACCCG-3', F9AGG-VIC = 5'-CTAGTATTAGGACAGG-3'.

表 2 : Genetic variation of the 15 polymorphic microsatellite loci in three populations of *Nuphar japonica*, one population of *N. oguraensis* var. *akiensis*, and one population of *N. ×saijoensis*.

Locus	A _T	<i>N. japonica</i>									<i>N. oguraensis</i> var. <i>akiensis</i>			<i>N. ×saijoensis</i>		
		Sawahara (n = 12)			Kouno (n = 12)			Doimouchisako-shita (n = 8)			Rakan (n = 8)			Imori-shita (n = 8)		
		A	H _e	H _o	A	H _e	H _o	A	H _e	H _o	A	H _e	H _o	A	H _e	H _o
NJ03362	9	6	1.000	0.736	3	0.917*	0.554	2	0.750	0.500	—	—	—	6	0.375*	0.858
NJ03807	2	2	0.917	0.518	2	0.666	0.464	2	1.000	0.533	1	0.000	0.000	2	0.750	0.533
NJ03886	3	2	0.833	0.507	3	0.833	0.562	2	0.875	0.525	—	—	—	2	0.125	0.125
NJ04340	3	2	0.833	0.507	3	0.833	0.554	2	0.875	0.525	2	1.000*	0.500	2	0.875	0.525
NJ08140	3	3	0.750	0.620	3	0.583	0.453	2	0.875	0.525	2	0.000	0.233	3	0.625	0.492
NJ08349	3	3	0.833	0.562	2	0.833	0.507	2	1.000	0.533	2	0.000	0.400	2	0.125	0.125
NJ11253	4	2	1.000*	0.522	3	0.666*	0.638	3	0.875*	0.642	—	—	—	1	0.000	0.000
NJ12418	3	3	0.917	0.562	2	0.833	0.507	2	0.875	0.525	2	0.125	0.125	2	0.750	0.500
NJ13401	2	2	0.666	0.464	2	1.000*	0.522	2	1.000	0.533	1	0.000	0.000	2	0.875	0.525
NJ14763	2	2	0.583	0.518	2	0.750	0.489	2	1.000	0.533	1	0.000	0.000	3	0.625	0.542
NJ15714	4	2	0.833	0.521	2	0.666	0.464	4	1.000*	0.650	2	0.000	0.233	2	0.750	0.500
NJ17517	3	2	1.000*	0.522	2	0.750	0.489	2	0.875	0.525	1	0.000	0.000	3	1.000	0.592
NJ18010	6	3	0.500	0.507	3	0.750	0.562	5	1.000*	0.700	1	0.000	0.000	3	0.750	0.700
NJ18322	2	2	0.833	0.522	2	0.583	0.489	2	0.875	0.525	1	0.000	0.000	2	0.875	0.525
NJ21829	3	2	1.000*	0.522	2	0.833	0.507	3	0.875	0.692	—	—	—	2	0.000	0.233

Note: — = not amplified; A = total number of alleles in *N. japonica* populations; H_e = expected heterozygosity; H_o = observed heterozygosity.

*Voucher and locality information are provided in Appendix 1.

*Significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium expectations (P < 0.01).

(2) 生育状況調査

これまで論文等で報告があったコウホネ属の生育するため池については、池自体が消滅していたり、外来種などの繁茂により、生育が確認できなかったりするため池が多くあることが明らかとなった。本研究では、過去にコウホネ属3種およびヒルムシロ属3種の生息が確認されているため池を中心に、その周辺のため池を含めて生息地の調査を行い、156カ所のため池で調査を行った。その結果、コウホネ属、ヒルムシロ属の2つの属について、それぞれの生息地が、大きく減少していることが明らかとなった。調査の結果、最も直接的な水草の消滅原因は、ため池そのものの消失であった。住宅地への転用、灌漑用水としての利用がないため、落水、陸地化しているため池が多く確認された。ヒルムシロ属については、10カ所しか生育を確認することができなかった。これらの種が生息する池の多くでは、ヒシやスイレンなどが優先する池となっていたが、周辺環境や湛水状態に変化が少ないにも関わらず水草が消滅している池もあった。豪雨災害や改修工事などの影響が考えられた。GISによるデータベースの作成については、生育分布の地理的分布構造の解析をすすめるため、10年前の分布データとの比較も踏まえた生息適地モデルの解析の精緻化を進めた。Maxentのモデルについては、対象種が生息する池数が非常にすくないため、モデルを作成することができなかった。

今回、調査したため池において、絶滅危惧種が出現したため池について、地理的分布構造として、RiplotのK関数を改変したL関数を求めた(図2)。その結果、明確では無いが約500mの集中分布構造があることが明らかとなった。500mの集中分布については、1995年から2000年にかけて行われた約10年前の東広島市のため池調査報告書のデータ(約1,500カ所)を用いて解析した分布構造の結果と同程度の集中分布であった。しかしながら、これは数カ所の集中的な分布が影響し、地域に広く点在する集中構造はできていない可能性がある。

本研究では、2018年7月の西日本豪雨の被害により、多くの池が、近づくことが出来ない、または、危険箇所として立ち入り禁止になっていたため、地域によっては十分な調査を行う事ができなかった。また、11カ所のため池においては、土砂等の流入、増水によって水草が流出した可能性など、豪雨によって大きく環境が変化していたほか、多くのため池でこのうち、土砂の流入したため池については、植物相の変化が、豪雨による一時的なものである可能性もあるため、今後も継続して調査を行う必要がある。

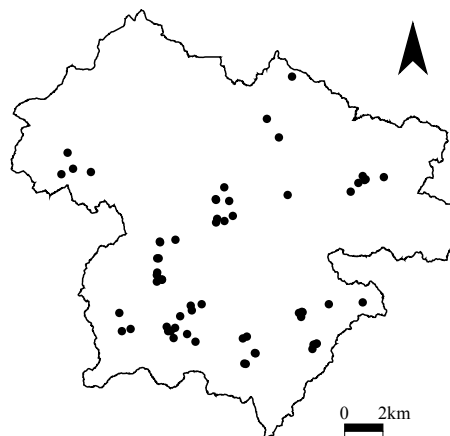


図1 調査したため池の分布

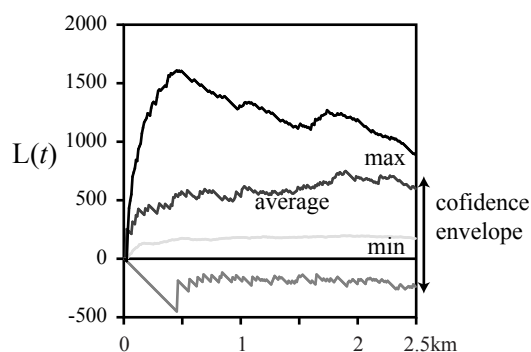


図2 絶滅危惧種の分布構造

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kondo T, Watanabe S, Shiga T, Isagi Y	4. 巻 4
2. 論文標題 Microsatellite markers for Nuphar japonica (Nymphaeaceae), an aquatic plant in the agricultural ecosystem of Japan	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Applications in Plant Sciences	6. 最初と最後の頁 apps.1600082
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3732/apps.1600082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	近藤 俊明 (Kondo Toshiaki) (40391106)	広島大学・国際協力研究科・特任准教授 (15401)	
研究分担者	井鷲 裕司 (Isagi Yuji) (50325130)	京都大学・農学研究科・教授 (14301)	