

平成 22 年 5 月 14 日現在

研究種目：基盤研究（A）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19207003
 研究課題名（和文） 地球・地域環境変化と生物進化：ミジンコ休眠卵を用いた分子古生物学的解析
 研究課題名（英文） Global and local environmental changes and biological evolution: paleolimnological and molecular biological analyses using resting eggs of *Daphnia* in sediments
 研究代表者
 占部 城太郎 (URABE JOTARO)
 東北大学・大学院生命科学研究科・教授
 研究者番号：50250163

研究成果の概要（和文）：調査を行った山形県畑谷大沼では、複数のミジンコ種が雑種を形成し長期間個体群を維持していること、さらに、1970年代のオオクチバス侵入と同時に別種の *Daphnia pulex* も定着するようになったことを、古生物学的及び分子生物学的手法により明らかにした。一方、八幡平高山湖沼では大気降下物由来と考えられる富栄養化が過去30年の間に生じていること、それに伴って新種を含む動物プランクトンも個体数を増大させていることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Historical changes shown by genetic analysis using resting eggs of *Daphnia* in the sediments indicated that *Daphnia* species in Hataya-Onuma pond, Yamagata Prefecture has produced the hybrids within *Daphnia galeata-dentifera* species complex since the 1950s. Despite drastic environmental changes through the last several decades, they have kept its population. In the 1980s, other species of *Daphnia pulex* established its population in the pond probably due to the reduced predation pressure from planktivore fish by introduced black bass. As a result, multiple *Daphnia* species could have coexisted in this pond since then. Meanwhile, the analysis of plankton remains in Lake Hourai-Numa, Iwate prefecture, showed that a new species of *Daphnia* population increased after the 1990s when the abundance of phytoplankton drastically increased in parallel with the abrupt increase of TN and TP concentrations. The results suggest that the phyto- and zooplankton communities have been changed due to effects of nutrient loading since the 1980s. Since we did not detect direct anthropogenic effects in the watersheds, recent increase in nutrient loadings to this lake are most likely brought by air deposition.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	15,600,000	4,680,000	20,280,000
2008年度	13,300,000	3,990,000	17,290,000
2009年度	10,100,000	3,030,000	13,130,000
年度			
年度			
総計	39,000,000	11,700,000	50,700,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態、環境

キーワード：古陸水学、植物プランクトン、動物プランクトン、湖、堆積物、休眠卵、ミジンコ、高山湖沼

1. 研究開始当初の背景

(1) 地域的環境変化・広域的環境変化に対する生物応答の違いを明らかにすることが急務

過去100年間の人間活動による高まりは、富栄養化や移入種(魚類の放流)など地域的な影響だけでなく、温暖化や大気降水物などによる広域的な影響にまで及んでいると懸念されている。こういった環境変化は、様々な形で生物種にストレスを及ぼし、生態系を変質させている可能性が高い。しかし、個々の環境変化に対する生物種の応答が明らかになった例は少なく、こういった環境変化に対する生物種、生態系の応答を明らかにすることが生態学の急務の課題となっている。特に、地域的な環境変化の多くは周囲の人間活動により短時間で強いストレスを生物に与えるのに対し、地球規模で広域的な環境変化によるストレスは一般に緩やかで漸次的である。したがって、生物の応答も、地球規模の広域的な環境変化と集水域レベルの地域的環境変化とは異なっている可能性が高い。高山湖沼は大気降水物や温暖化などの影響を受けやすい脆弱な生態系として、その生態系変化が危惧されている。しかし、我が国の高山湖沼を対象とした長期にわたる定期的な生物調査はほとんど実施されておらず、このような様々なスケールの人間活動の高まりが高山湖沼の生物群集にどのような影響を及ぼしているのか、全く判っていない。

(2) 個々の環境変化に対する進化的応答を含めた長期解析が必要

これまでの研究では、地域レベルでの急激な環境変化に対して生物種が絶滅したり、広域レベルの環境変化に対応して生物種の分布域が変化したりすることが記述・予測されてきた。しかし、環境変化に対する進化的応答の可能性は殆ど検討されていない。それは、人間活動による環境変化速度に比べ生物の進化的応答は遥かに緩やかであるという前提のもと、個々の生物種の特性を固定的したものと捉えて来たからである。しかし、生物種は異なる生態特性をもつ遺伝子型の頻度が変わることで、環境変化にも適応できることが近年の研究で示されている(Hairston et al. 2005)。したがって、自然界においても、例えば温暖化のような漸次的な環境変化に対しては、生物種は進化的応答を通じて個体群を維持するかも知れない。このような進化的応答は、生態系変化を緩衝するよう働くので、生態系レベルでの環境応答予測を行う上で、見逃せない、必須

課題である。しかし、進化的応答を含めた解析を行うには、過去に遡った環境と生物双方の長期にわたる解析が必要である。

2. 研究の目的

(1) 環境が異なる湖沼を比較し、地域・広域的な環境変化に対する生物応答の違いを把握する

湖沼は富栄養化や魚類の移入など、地域レベルでの急激な環境変化ばかりでなく、温暖化や大気降水物など広域的な環境変化の影響を受けやすい生態系であり、湖底堆積物に刻印されている化学情報から過去の環境変化を復元することが出来る。中でも、高山湖沼は集水域に恒常的な人間活動は無く、平地湖沼のような集水域レベルの人為的な影響は極めて少ない。従って、広域的な環境変化に対する生物群集の応答を明らかにするためには、高山湖沼が適していると考えられる。申請者は堆積物中のプランクトン遺骸を用い、琵琶湖における動物プランクトン群集の過去100年の長期的な変遷を、富栄養化等と関連づけて復元してきたが、琵琶湖のような大きな湖では、様々な人間活動が錯綜して生物群集に作用するため、近年問題視されている温暖化や大気降水物の影響を把握することが出来なかった。だが、八幡平には集水域に人間活動のない湖沼や観光化により富栄養化している湖沼が点在している。このような湖沼間で、長期にわたる環境変化と動・植物プランクトンの動態を比較すれば、地域的な影響と広域的な影響を個別に評価することが可能となる。

(2) ミジンコ休眠卵を用いた遺伝子解析により、過去に遡って生物応答を解明する

Daphnia は、植物プランクトンを餌とし、魚類の餌となる湖沼食物網の中心的な動物プランクトンで、世代時間が短く、その遺骸片(尾爪)は微化石として堆積物に保存される。したがって、それらを計数・測定することで、長期の個体群動態を把握できる。さらに*Daphnia* は通常、単為生殖により増殖するが、年1~2回、有性生殖で休眠卵を産卵する。この休眠卵は、堆積物中で100年程度は生きてまま保存されることが知られている。従って、堆積物中の休眠卵を用いた解析により過去の生態的・遺伝的特性を把握する。

3. 研究の方法

本研究は、標高1500m以上の八幡平国立公園内にある蓬萊沼・八幡沼と山形県の大沼の

3 湖沼を調査対象とした。このうち八幡沼は八幡平の山頂に位置し、蓬萊沼は森林に囲まれた堰き止め湖であるが、両湖沼共に国立公園内に位置し、集水域から直接的な人為攪乱の影響は受けていない。一方、山形県大沼は、1970 年代より公共事業による観光化のため集水域で改修工事が実施され、また魚類の放流も 1920 年代頃より実施されている。従って、八幡沼と蓬萊沼にみられる変化から、大気降下物など広域的な環境変化の影響を、大沼での変化から魚類放流や富栄養化の影響を見ることが出来る。

湖沼の環境変化速度や変化強度を具体的に把握するため、 ^{210}Pb - ^{137}Cs 法による堆積物の年代測定を行うとともに、富栄養化の指標となる堆積物の有機物含量や炭素・窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) を測定する。さらに、各年代の堆積物に含まれる重金属や鉛の安定同位体比 ($^{206}\sim^{208}\text{Pb}$) から大気降下物の影響や起源の推定を、藻類由来色素の量や組成の変化から一次生産者の変遷を明らかにする。

Daphnia は、各湖沼の堆積物中の遺骸や休眠卵の形態サイズに関する顕鏡と休眠卵を用いた DNA 解析を行う。まず、堆積物中の *Daphnia* 遺骸 (尾爪部) を計数・測定し、長期個体群動態を把握する。ついで、各年代の休眠卵から DNA を抽出し、DNA 塩基配列から種同定を行うとともに、遺伝的多様性や近隣湖沼との遺伝子交流の変遷を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 山形県畑谷大沼における *Daphnia* 複数種の長期変化: 休眠卵を用いた遺伝子解析

富栄養化や外来種などによる生態系へのインパクトが深刻視されているが、生物種の移入・絶滅の履歴への波及効果が判っている事例は極めて少ない。本研究では、魚の導入 (オオクチバス・ワカサギ) と集水域における開発工事によって富栄養化が進行している畑谷大沼において、*Daphnia*2 グループの移入、共存の歴史と環境変化との関係について休眠卵を用いて検証した。

まず mt12SrDNA 等の塩基配列を用い、畑谷大沼に生息している *Daphnia* 種について検討したところ、2つの *Daphnia* グループ、すなわち大型サイズの *D.pulex* グループの *D.pulex* と、より小型の *D.longispina* グループの *D.galeata dentifera* が生息していることがわかった。そこで、この 2 グループの共存は、一時的 (競争排除の最中にあり将来的に 1 種になる) あるいは長期的 (ニッチ重複が少なく今後も共存する可能性が高い) なのかについて、休眠卵を用いた卵鞘サイズおよび mt12SrDNA 塩基配列の PCR-RFLP 分析によ

る種判別によって解析した。その結果、1930 年頃から、*D.galeata dentifera* は生息していたが、*D.pulex* は 1980 年降より、定着が可能になったことが判明した。80 年頃は、集水域からの人為的な負荷が高まり、大沼で富栄養化が進行した時期であり、しかもブラックバスの放流により動物プランクトン食魚類のワカサギが減少し、*Daphnia* への捕食圧が低下したことが予測された。従って、*D.pulex* の定着は、本沼で餌となる植物プランクトンが増えた Bottom-up 効果と捕食圧低下の Top-down 両方の効果に起因すると考えられた。なお、この研究成果は日本生態学会 (2009 年 3 月) で発表し、ポスター優秀賞を受賞した。

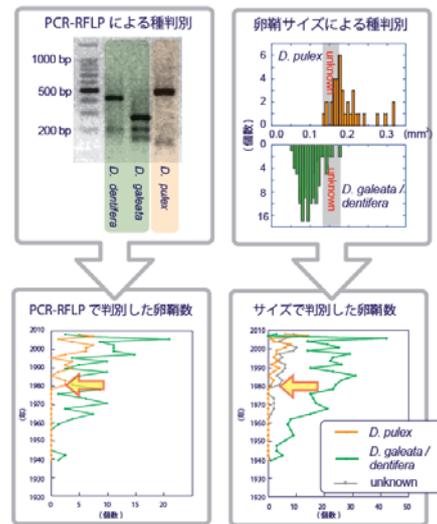


図 1 畑谷大沼の *Daphnia* 組成変化

(2) プランクトン遺骸で復元する大沼の近過去生物群集

(1)の研究によって畑谷大沼では元々、*D.galeata dentifera* が生息していたが、1970 年頃から富栄養化が進み、1980 年頃にはブラックバスの侵入と共に、*D.pulex* が定着するようになったことが判明した。そこでさらに、富栄養化やブラックバスの移入が他の動物プランクトンにどのような波及効果を及ぼしたのかについて、プランクトン遺骸を用いて解析した。

その結果、*D.pulex* の定着が確認された 80 年以降、原生動物で有鐘繊毛虫の *Pontigulasia* sp. *Tintinnopsis* sp. は増加するが、原生動物の *Diffugia* sp.1, sp.2 は減少していることが判明した。有鐘繊毛虫の増加要因は、餌が増えたことに加え、捕食者であるカイアシ類が *D.pulex* の定着による競争激化で減少し、繊毛虫にとっての捕食圧が低下した可能性も考えられた。一方、湖底に生息する *Diffugia* の低下は、植物プランクトン量増加

による有機物負荷の増大が湖底環境の悪化を引き起こし *Diffugia* の減少につながったと推測された。近年の富栄養化に伴う *Diffugia* 個体数の減少は、申請者らの研究によって、琵琶湖でも確認されており、我が国の湖沼で広く同様の現象が生じている可能性が示唆された。なお、これら成果は日本生態学会(2010年3月)で発表し、一部発表はポスター優秀賞を受賞した。

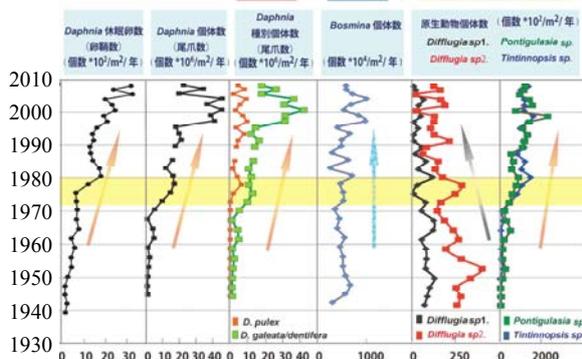


図2 畑谷大沼における動物プランクトン群集の変遷

(3) 八幡平高山湖沼での動植物プランクトンの長期動態: 高山湖沼で何が起きているか?

八幡平の高山湖沼に産する *Daphnia* の分類を分子生物学的手法により検討したところ、*D. galeata* に近縁で系統の古い新種が蓬萊沼に分布していることがわかった。また蓬萊沼を含む八幡平湖沼群では、手つかずの自然と考えられていた高山湖沼であるにもかかわらず、大気降下物由来と考えられる富栄養化が進行しつつあることが分かった(図3-5)。

蓬萊沼では、環境条件の指標である総リン・総窒素量が1950年以降増大し、同時に植物プランクトンも僅かに増加していた。さらに、リン・窒素の顕著な増加が認められる1990年代以降、植物プランクトンは5倍以上に急激に増加していることが明らかとなった。一方、動物プランクトンについては、私新種の *Daphnia* が卓越し、植物プランクトンが急激に増加する1990年代以降、3-6倍と大幅に増加したことが判明した。また、他の動物プランクトン *Alona*, *Chydorus* も1950年以降、僅かに増加していた。これらの結果は、蓬萊沼の動植物プランクトン動態は Bottom-up 的な制御を受けていたが、近縁の栄養塩負荷により群集構造が大きく変化しつつあることを示唆している。蓬萊沼は、集水域での人為的な影響は認められず、近年の栄養塩負荷の増大は、大気降下物由来と考えられた。なお、これについては、微量元素や鉛安定同位体などを用いて、堆積物の解析を継続的に行っている。

一方、八幡沼は、蓬萊沼と比べ動植物プラ

ンクTONの密度は全般に低く、総窒素量は1990年以降僅かに増加するが、総リン量に大きな変化は認められなかった。植物プランクトンは1990年以降、僅かに増加するが、動物プランクトンの *Alona*, *Chydorus*, *Daphnia* 共に大きな変化は認められなかった。両沼は僅か1.3kmしか離れていないが、このように動植物プランクトンの長期動態は大きく異なっていた。これは、八幡沼は周囲を湿地に囲まれ、集水域の酸性土壌が大気降下物のリンを吸着し、本沼へのリン負荷を低減させているためと推察された。つまり、本研究結果は、集水域の植生、土壌の性質の相違によって湖沼への大気経由のリン負荷の影響の度合いが異なることを示唆している。なお、学会での本成果発表は日本生態学会(2009年3月)ポスター優秀賞を受賞、また2009年4月21日の岩手日報に掲載された。

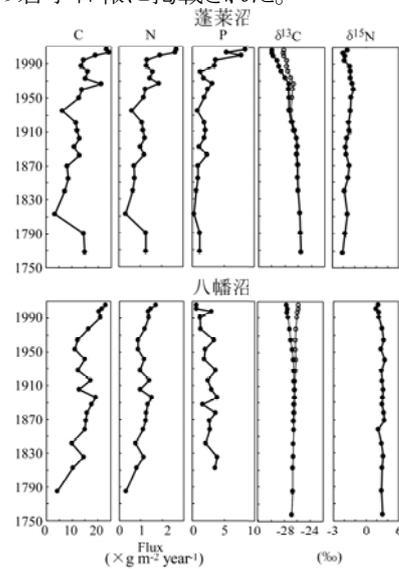


図3 蓬萊沼・八幡沼のC, N, Pフラックス・ ^{13}C , ^{15}N

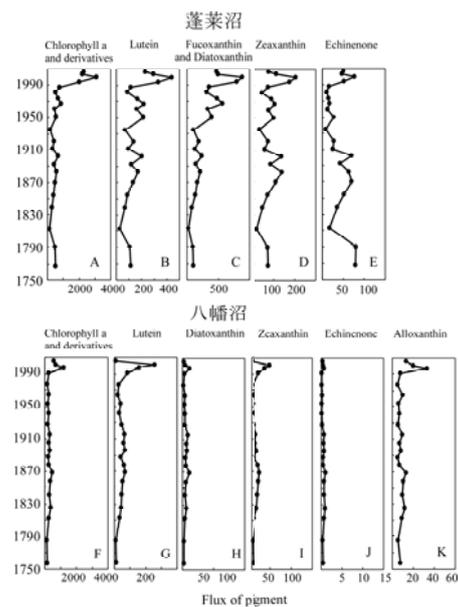


図4 蓬萊沼・八幡沼の植物プランクトン由来色素

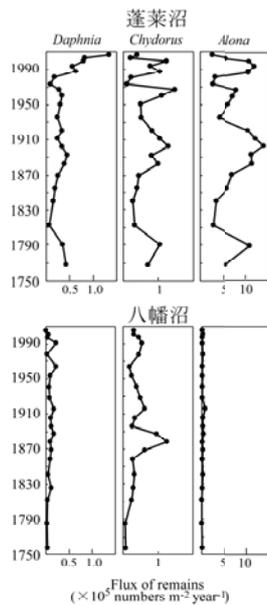


図5 蓬莱沼・八幡沼の動物プランクトン

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 7 件)

1. Tsugeki N. K., Urabe J., Hayami Y., Kuwae M., Nakanishi M. Phytoplankton dynamics in Lake Biwa during the 20th century: complex responses to climate variation and changes in nutrient status. *Journal of Paleolimnology*, 査読有, 44, 2010, 69-83.
2. Togashi, H., T. Suzuki and J. Urabe. Spatial variations in chironomid larvae and dragonfly predation in a Japanese high mountain moor. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 査読有, 30, 2010, 1357-1362.
3. Iwabuchi, T. and J. Urabe. 2010 Phosphorus acquisition and competitive abilities of two herbivorous zooplankton, *Daphnia pulex* and *Ceriodaphnia quadrangula*. *Ecological Research*, 査読有, 25, 619-627.
4. Urabe, J. and N. Waki. Mitigation of adverse effects of rising CO₂ on a planktonic herbivore by mixed algal diets. *Global Change Biology*, 査読有, 15, 2009, 523-531
5. Tsugeki, N.K., S. Ishida and J. Urabe. Sedimentary records of reduction in resting egg production of *Daphnia galeata* in Lake Biwa during the 20th century: A possible effect of winter warming. *Journal of Paleolimnology*, 査読有, 42(2), 2009, 155-165
6. Hyodo F., N. Tsugeki, J. Azuma, J. Urabe, M. Nakanishi and E.Wada. Changes in stable isotopes, lignin-derived phenols, and

fossil pigments in sediments of Lake Biwa, Japan: implications for anthropogenic effects over the last 100 years. *Science of the Total Environment*, 査読有, 403(2), 2008, 139-147

7. Shimizu Y. and J. Urabe. Regulation of phosphorus stoichiometry and growth rate of consumers: theoretical and experimental analyses with *Daphnia*. *Oecologia*, 査読有, 155, 2008, 21-31

[学会発表] (計 11 件)

1. 栗野将, 槻木(加)玲美, 牧野渡, 石田聖二, 松島野枝, 河田雅圭, 小田寛貴, 占部城太郎. プランクトン遺骸で復元するため池の近過去生物群集: 山形県畑谷大沼の例. 日本生態学会第 57 回大会, 2010 年 3 月 17 日, 東京. 動物群集 ポスター優秀賞受賞
2. 阿部周, 石田聖二, 松島野枝, 牧野渡, 河田雅圭, 占部城太郎. 同所的に出現するミジンコ 2 種のクローン動態. 日本生態学会第 57 回大会, 2010 年 3 月 17 日, 東京.
3. 野村篤之, 占部城太郎. *Daphnia* (ミジンコ) における休眠卵生産量の種内変異. 日本生態学会第 57 回大会, 2010 年 3 月 17 日, 東京.
4. 占部城太郎. プランクトン遺骸・休眠卵を用いた湖沼の近過去復元と環境モニタリング. 日本原生動物学会大会, 2009 年 11 月 1 日, 石巻.
5. Urabe, J. stoichiometric and portfolio effects of rising CO₂ on aquatic herbivores: an experimental study. *International Symposium on Quantitative Ecology*, 2009 年 10 月 11 日, Taipei /Taiwan.
6. 槻木(加)玲美・占部城太郎・速水祐一・加三千宣・中西正巳. 琵琶湖の過去 100 年にわたる植物プランクトン動態. 日本第四紀学会, 2009 年 8 月 29 日, 草津.
7. 王婉琳, 槻木(加)玲美, 谷幸則, 小田寛貴, 松田智之, 占部城太郎. 八幡平湖沼の動植物プランクトンの長期動態: 高山湖沼で何が起きているか? 第 56 回日本生態学会大会, 2009 年 3 月 18 日, 盛岡. 動物群集 ポスター優秀賞受賞
8. 栗野将, 槻木(加)玲美, 牧野渡, 松島野枝, 河田雅圭, 小田寛貴, 占部城太郎. 山形県畑谷大沼における *Daphnia* 複数種の長期変化: Hybrid はいつから形成されたか? 日本生態学会第 56 回大会, 2009 年 3 月 18 日, 盛岡. 動物群集 ポスター優秀賞受賞
9. 槻木(加)玲美, 王婉琳, 谷幸則, 小田寛貴, 松田智之, 占部城太郎. 湖沼堆積物に記

録された*Daphnia*の柔軟な生活史変化：八幡平湖沼と琵琶湖の例。第56回日本生態学会大会，2009年3月18日，盛岡。

10. Tsugeki-Kuwae, N., J. Urabe, Y. Hayami, M. Kuwae, M. Nakanishi. Phytoplankton dynamics in Lake Biwa during the 20 th century: complex responses to changes in nutrient status and climate variation. ASLO Aquatic Science Meeting, 2009年1月28日, Nice/France.
11. 占部城太郎・槻木(加)玲美. 地域・地球環境変化と生態系応答：湖沼研究のタテとヨコ. 地球環境フロンティア研究センター・日本生態学会関東地区会共催シンポジウム, 2007年11月10日, 横浜.

[図書] (計2件)

1. 槻木(加)玲美, 占部城太郎. 裳華房, 遺伝：古陸水学的手法による湖沼生態系の近過去復元とモニタリング, 特集号〔生態系・生物多様性モニタリングの統合に向けて〕, 63(6), 2009, 66-72.
2. 占部城太郎・槻木(加)玲美. 地域・地球環境変化と生態系応答：湖沼研究のタテとヨコ. 日本生態学関東地区会会報, 56, 2008, 11-15.

[産業財産権]

なし

[その他]

ホームページ等

http://www.j-bon.org/wp/wp-content/uploads/2009/04/e999b8e6b0b45_e58da0e983a8e59f8ee5a4aae9838e.pdf

6. 研究組織

(1) 研究代表者

占部 城太郎 (URABE JOTARO)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：50250163

(2) 研究分担者

河田 雅圭 (KAWATA MASAKADO)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：90204734

横山 潤 (YOKOYAMA JUN)

山形大学・理学部・教授

研究者番号：80272011

上田 眞吾 (UEDA SHINGO)

日本大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：40318390

小田 寛貴 (ODA HIROTAKA)

名古屋大学・年代測定総合研究センター・助教

研究者番号：30293690