

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：82101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05642

研究課題名（和文）堆積物中における水生植物の埋土種子の種多様性評価と生育可能性を考慮した保全地選択

研究課題名（英文）Estimating aquatic plant diversity in freshwater sediments using environmental DNA metabarcoding

研究代表者

池田 香代子（福森香代子）（Ikeda, Kayoko）

国立研究開発法人国立環境研究所・生物多様性領域・特別研究員

研究者番号：00644535

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、淡水の堆積物中に存在する水生植物の種多様性をDNAメタバーコーディングにより判別し、地上植生との違いを明らかにすることを目的とした。ため地において堆積物と環境水を採取し、得られたDNAについてrbcL領域とtrnL領域のメタバーコーディングを実施した。その結果、調査地全体で検出された属数の多様性は、環境水試料よりも堆積物試料の方が多かった。これより、堆積物中には、埋土種子、あるいは過去に堆積された植物片として残存している種が存在する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、直接野外で生育を確認することが難しい水生植物を環境DNAメタバーコーディングによって検出することで、精度よく種多様性を評価することができる。この方法を用いれば、外来水生植物による漁業被害を事前に防止するための生育調査や希少種の保全などに役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated aquatic plant diversity in freshwater sediments and waters in pools using environmental DNA (eDNA) metabarcoding. We collected sediments and surface waters in pools and extracted total eDNA. DNA metabarcoding of the rbcL gene sequences indicated that genus diversity of aquatic plants in the study area were higher in sediments than in waters. The result suggested that some aquatic plant species which are not distributed in water columns were present in sediments as seed bank or small pieces of plant material.

研究分野：動物生態学

キーワード：メタバーコーディング 水生植物 環境DNA 淡水 ため池

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本の在来水生植物は、近年の河川や湖沼の環境悪化により約 40%が絶滅の危機に瀕しているため¹、早急に保全の対策をとる必要がある分類群である。淡水域の生き物が暮らす環境は、水資源の開発などのためにここ数十年の間に急速に劣化しており、ため池、湿地、放棄水田などは、水生植物の貴重な生育場所となっている。生物を効果的に保護する区域を選定するためには、長期にわたる個体数変化のモニタリングデータや詳細な生態学的情報が必要である。しかし、そのようなデータの取得は一般に難しいため、これまでは、ある時点での生物の分布データが用いられてきた。しかし、数年の単位で消長するような生活史特性を持つ生物や、種数の減少速度が速い絶滅危惧種などを対象とする場合、一時的な分布データのみに基づいて選定された保護区では効果的な保全ができない恐れがある。例えば、多くの水生植物は埋土種子を持ち、環境などに応じて数年間休眠することがあるため、一時的な地上植生の観察だけでは地下に埋土種子として存在している個体群を見落とす可能性があった。

我々はこれまでに、東広島市における 415 のため池に生育する水生植物 62 種の過去 37 年間の在・不在データを解析し、一度池から消失した水生植物種が再び出現(個体群が回復)する頻度を計算した。その結果、前年に地上個体群が不在であっても翌年以降に埋土種子から再生する種が比較的多いことを明らかにした²。また、100 年後に絶滅確率が 70%を超えた種の生育形はすべて抽水植物か沈水植物であったことから、ため池の護岸化や水質悪化により種の絶滅リスクが増加する可能性が示された。さらに、水生植物種ごとの埋土種子からの再生を考慮して保護対象とする池を選定した場合、それらを考慮しない場合に比べて少ない数のため池でより多くの種を効果的に保全できることを明らかにした。これより、生物が持つ生活史特性と個体群動態を考慮した保全計画を実施することが重要だと考えられる。

DNA メタバーコーディングは、環境中に生息している種を判別する手法として近年急速に発達してきた。しかし、これまでは魚類や両生類などの環境水中に生息する種に対象が絞られており、堆積物中に生息する生物の検出にはほとんど使用されてこなかった。環境 DNA メタバーコーディング法を応用して堆積物中の埋土種子から水生植物種を同時検出できれば、これまで堆積物中で眠っていた水生植物群集の解明に大いに力を発揮する可能性がある。

2. 研究の目的

本研究は、淡水の堆積物中に存在する水生植物種の埋土種子の種多様性を DNA メタバーコーディングにより判別し、地上植生との種多様性の違いを明らかにすることを目的とする。また、堆積物中に埋土種子として存在するが地上植生として出現していない水生植物種の生育形の特徴および、それらと環境要因との関係を解析する。さらに、得られた結果から、埋土種子の生育可能性を考慮した水生植物の保全優先地選択を行い、在来種を効果的に保全するための対策を提示する。

3. 研究の方法

- (1) 本研究ではまず、堆積物試料を用いた DNA メタバーコーディングの手法検討を行った。茨城県の複数の湿地において堆積物と環境水を採取し、得られた DNA についてメタバーコーディングを実施した。堆積物は、真空凍結乾燥機で凍結乾燥後、DNeasy PowerSoil Pro Kit を用いて DNA を抽出した。環境水は、1L を採水し、GF/F フィルターでろ過後、DNeasy Blood & Tissue kit を用いて DNA を抽出した。
- (2) 次に、茨城県土浦市の宍塚大池 10 地点において、2023 年 7 月 11 日に堆積物と環境水の採取および環境要因を測定する調査を行った。各地点において、調査船の上から 1L の表層水を採水後、エクマン採泥器を用いて堆積物を採取した。また、マルチ水質センサー (ProDSS; YSI, Yellow Springs, Ohio, USA) を用いて池の表層から底層までの環境要因 (水温、溶存酸素濃度、pH など) を測定した。リファレンスデータ作成のため、調査時に生育している水生植物を発見した場合には、葉を 1 枚採取して DNA 抽出のために保存した。堆積物は、以下の 3 種類に分類して採取し、各採取法で別々に DNA を抽出した：採泥器で採取した堆積物試料、を 300 マイクロメートルのベントスネットに入れて洗浄した後の残留物、の残留物を検鏡して拾い出した種子 (図 1)。堆積物は液体窒素で凍結乾燥後、上記と同じ方法で DNA を抽出した。

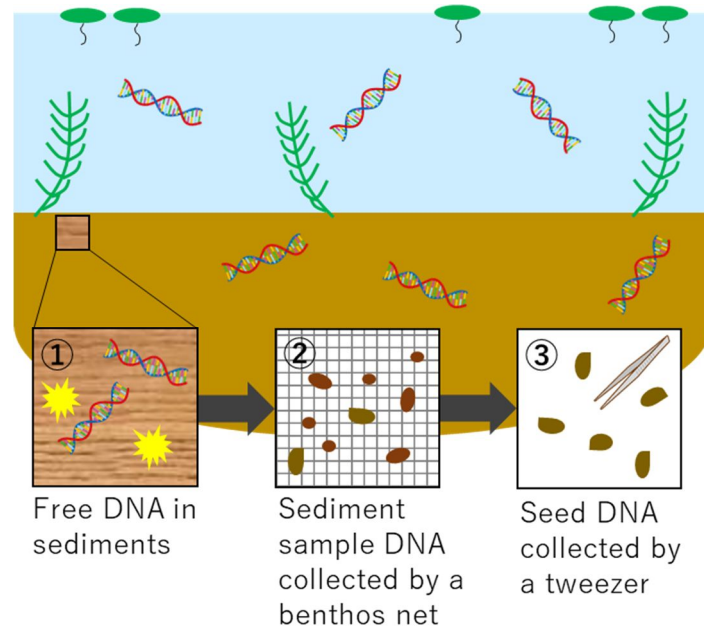


図 1. 堆積物の採取方法

4. 研究成果

- (1) 手法検討の調査において、葉緑体 *rbcL* 領域の結果を解析したところ、同じ地点の堆積物と環境水から検出された水生植物の属名は、概ね一致していた。一方で、いくつかの地点では、堆積物試料のみで検出された属および、環境水試料のみで検出された属が見られた。調査地全体で検出された属数は、環境水試料よりも堆積物試料の方が多かった。これより、堆積物中には、埋土種子、あるいは過去に堆積された植物片として残存している種がいる可能性が示唆された。
- (2) 穴塚大池の水温は 28～35°C の範囲であった。溶存酸素濃度は、表層では約 11mg/L を示したが、底層では 0～5mg/L を示し、貧酸素水塊が発生している地点も見られた。堆積物の検鏡を行ったところ、上記の採取法の拾い出した種子の中には、水生植物の種子のほか、陸上植物の種子も含まれていた。堆積物と環境水から検出された水生植物の種多様性が、ため池の環境要因とどのように関係しているかについて解析を進めている。

< 引用文献 >

- 1) 角野康郎 (2014) 日本の水草. 文一総合出版, 東京. 326p.
- 2) Fukumori K, Ishida S, Shimoda M, Takenaka A, Akasaka M, Nishihiro J, Takamura N, Kadoya T (2019) Incorporating species population dynamics into static prioritization: Targeting species undergoing rapid change. *Journal of Applied Ecology* 56:450-458.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fukumori Kayoko, Oguchi Kohei, Ikeda Hiroshi, Shinohara Tadashi, Tanahashi Masahiko, Moriyama Minoru, Koga Ryuichi, Fukatsu Takema	4. 巻 13
2. 論文標題 Evolutionary Dynamics of Host Organs for Microbial Symbiosis in Tortoise Leaf Beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 mBio	6. 最初と最後の頁 e03691-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mbio.03691-21	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 -

1. 著者名 Matsuzaki Shin ichiro S., Kohzu Ayato, Tsuchiya Kenji, Shinohara Ryuichiro, Nakagawa Megumi, Fukumori Kayoko, Yamaguchi Haruyo, Kondo Natsuko?I., Kadoya Taku	4. 巻 68
2. 論文標題 Water level drawdowns can improve surface water quality and alleviate bottom hypoxia in shallow, eutrophic water bodies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Freshwater Biology	6. 最初と最後の頁 229 ~ 244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/fwb.14020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukumori Kayoko, Kondo Natsuko I., Kohzu Ayato, Tsuchiya Kenji, Ito Hiroshi, Kadoya Taku	4. 巻 14
2. 論文標題 Vertical <sc>eDNA</sc> distribution of cold water fishes in response to environmental variables in stratified lake	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 e11091-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ece3.11091	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Fukumori Kayoko, Kondo Natsuko I., Kohzu Ayato, Tsuchiya Kenji, Ito Hiroshi, Kadoya Taku
2. 発表標題 Differences in vertical distribution of two salmonid species: the impacts of warm water temperature and hypoxia in a stratified lake.
3. 学会等名 The eDNA Society International Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Fukumori Kayoko、Kondo Natsuko I.、Kohzu Ayato、Tsuchiya Kenji、Ito Hiroshi、Kadoya Taku
2. 発表標題 Vertical distribution of two salmonid species in response to water temperature and hypoxia.
3. 学会等名 The 2023 Conference of the Ecological Society of Australia (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福森香代子、今藤夏子、高津文人、土屋健司、角谷拓
2. 発表標題 成層化した湖沼における生物の鉛直分布把握と環境要因との解析
3. 学会等名 第68回日本生態学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福森香代子、今藤夏子、萩原富司、渡邊未来、小松一弘、山口晴代、中川恵、松崎慎一郎
2. 発表標題 定量PCR法による絶滅危惧種アカヒレタビラの生息域推定
3. 学会等名 環境DNA学会第4回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福森香代子、今藤夏子、高津文人、土屋健司、角谷拓
2. 発表標題 湯ノ湖におけるサケ科魚類の分布推定 - 水温と溶存酸素濃度は分布の制約となるか? -
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松崎慎一郎、高津文人、土屋健司、篠原隆一郎、中川恵、福森香代子、山口晴代、今藤夏子、角谷拓
2. 発表標題 栄養塩添加・水位低下による底層酸素環境の変化：大型実験プールを用いた操作実験
3. 学会等名 日本陸水学会第85回大会
4. 発表年 2023年

〔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	今藤 夏子 (Kondo Natsuko) (10414369)	国立研究開発法人国立環境研究所・生物多様性領域・室長 (82101)	
研究分担者	角谷 拓 (Kadoya Taku) (40451843)	国立研究開発法人国立環境研究所・生物多様性領域・室長 (82101)	

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
---------	---------