平成25年3月15日(金)10:20-10:40　@砂防会館 別館3階

環境省環境研究総合推進費 D-1002
研究実施期間:平成22-24年度
累積予算額:75,400千円

東北大学 TOHOKU UNIVERSITY
愛媛大学 EHIME UNIVERSITY
岡山大学 OKAYAMA UNIVERSITY

湖沼生態系のレトロスペクティブ型モニタリング技術の開発

研究課題代表者　占部城太郎　東北大学大学院生命科学研究科

サブテーマ(1)
占部城太郎(東北大)
牧野　渡　(東北大)
＜研究協力者＞
石田聖二(東北大)
大槻　朝(東北大)

サブテーマ(2)
加三千宣(愛媛大)
＜研究協力者＞
槻木玲美(愛媛大)
伊藤信靖(産総研)
谷　幸則(静岡県立大)
小田實貴(名古屋大)

サブテーマ(3)
兵藤不二夫(岡山大)
＜研究協力者＞
千葉　仁(岡山大)
中野孝教(地球研)
申　基　(地球研)
佐々木尚子(地球研)
林　竜馬(京都府大)

生態系モニタリングの問題点と克服

特に生物群集や食物網構造について

- 環境モニタリングは変化が懸念されてから
- 変化要因特定に必要な比較データがない
- すべての生態系を日常的に監視するのは困難

↕

- 事後的に過去の変化を復元出来る
- 比較すべき他生態系の時系列データが得られる
- 辺境な生態系でも時系列データが観測出来る

➡ **湖沼堆積物情報の高度利用**

目　的

現状の問題点を克服するための、
レトロスペクティブ（事後回顧）型モニタリング技術の開発

①堆積物を用い、近過去（100年程度）の湖沼生態系の変遷を高精度に復元する技術

【技術開発のポイント】

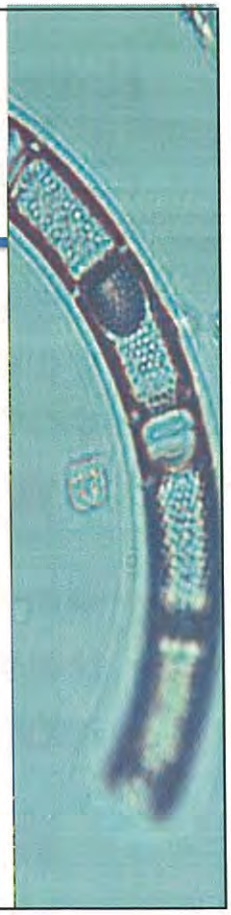
- 最新の分子生物学、分析化学、安定同位体手法の高度利用
- 生物・環境項目の比較解析による復元技術の高度化

② 湖沼比較による環境変化要因の識別

変化の広がりは局所？地域？広域？

- 生態学と生物地球化学の連携による変化要因一群集応答の特定
- 本モニタリング手法の有効性評価

研究チームとサブテーマ



サブテーマ(1)　東北大学　占部城太郎・牧野 渡

堆積物の動物プランクトンDNA情報を用いた湖沼生物群集の復元

- プランクトン遺骸のDNAを用いた群集復元の高精度化
- 休眠卵利用による過去情報の獲得

サブテーマ(2)　愛媛大学　加 三千宣

堆積物の藻類・光合成色素を用いた湖沼の栄養環境の復元

- 年代測定　・動植物プランクトン遺骸解析による変遷解析
- カロチノイド由来物質を用いた群集構造解析

サブテーマ(3)　岡山大学　兵藤不二夫

堆積物の有機物・安定同位体を用いた湖沼と集水域環境の復元

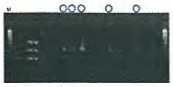
- 有機物分析（リグニンフェノール等）：集水域植生
- 安定同位体解析（$\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$, $\delta^{34}S$, $\delta^{18}O$）：環境負荷、群集応答
- 重金属等：環境負荷（大気降下物vs集水域）

成果 -1-　　東北大学

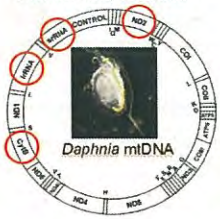
プランクトン
遺骸や休眠卵から遺伝情報の抽出に成功

Daphniaの微量DNA解析

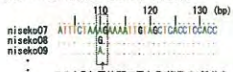
現生Daphniaで遺伝子配列を決定し多型の情報を得る



休眠卵鞘のDNAで配列の違いをPCRにより検出するためのプライマーを短い領域(100～300bp)に対して設計



D. dentifera
例）ニセコ大沼12SrRNA配列



このような個体間で異なる(複数の)部分を含む領域を増幅する

各遺伝子領域で検出された配列により判別できるタイプ数

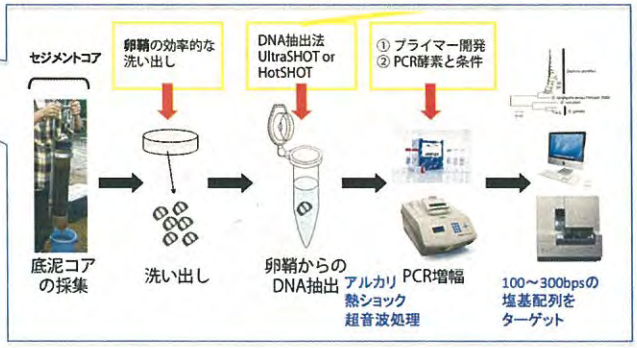
	12SrRNA	ND2	16SrRNA	CYTB
羅臼湖	2	6	1	3
阿寒湖	2	2	2	2
ニセコ大沼	5	9	3	4
渡島大沼	-	-	-	-

湖底に堆積していたミジンコの休眠卵（左）と卵鞘（遺骸：右）を分けたところ。
卵と遺骸のミトタイプは常に一致した。

Ultra-Shot法

Ishida et al. (2012) Limnology

休眠卵は孵化しなかった生物個体なので、バイアスがかかっているが、遺骸はバイアスの少ない生態情報である。しかし、これまでプランクトン遺骸からDNAを抽出・利用することは困難とされてきた。
このプロジェクトでは、遺骸の分離法、DNA抽出法、プライマー設計を工夫することで、遺骸から種（や遺伝子型の）同定を可能にした → 過去情報の高精度化に成功



成果 -2-　　東北大学

これまで過去が見えなかった
ケンミジンコ個体群の復元が可能になった

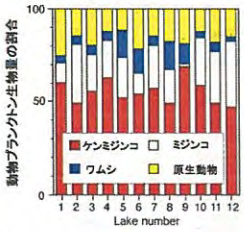
ケンミジンコ（Copepoda）はミジンコと並ぶキーストン生物
遺骸が残らないため過去の個体群復元は困難とされてきた。

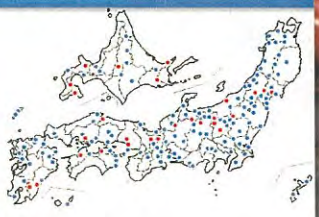
生物量多いが、信頼出来る過去知見なし

【問題点】ケンミジンコ休眠卵の利用
・形態では区別出来ない
・堆積中にDNA劣化の可能性

Ultra-Shot法の利用
短い遺伝子領域で分子マーカーを作成

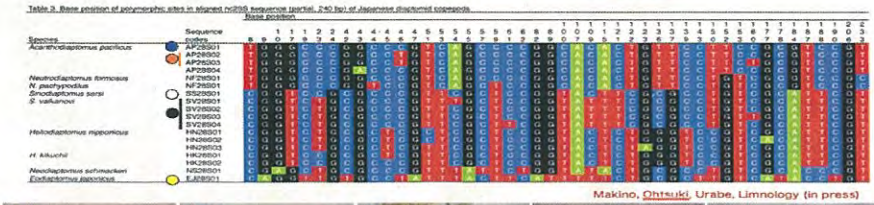
国内種：28SrRNA領域(240bp)データベース化



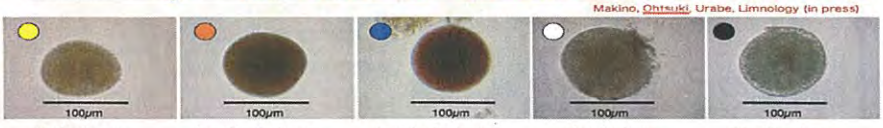


全国でサンプリング
ケンミジンコのDNAライブラリ作成

ケンミジンコの休眠卵DNAから種同定が可能に → 過去情報の増大、高精度化へ



Makino, Ohtsuki, Urabe, Limnology (in press)



Eodiaptomus japonicus　*Acanthodiaptomus pacificus* Lineage mtCOI-B　*Acanthodiaptomus pacificus* Lineage mtCOI-A　*Sinodiaptomus sarsi*　*Sinodiaptomus valkanovi*

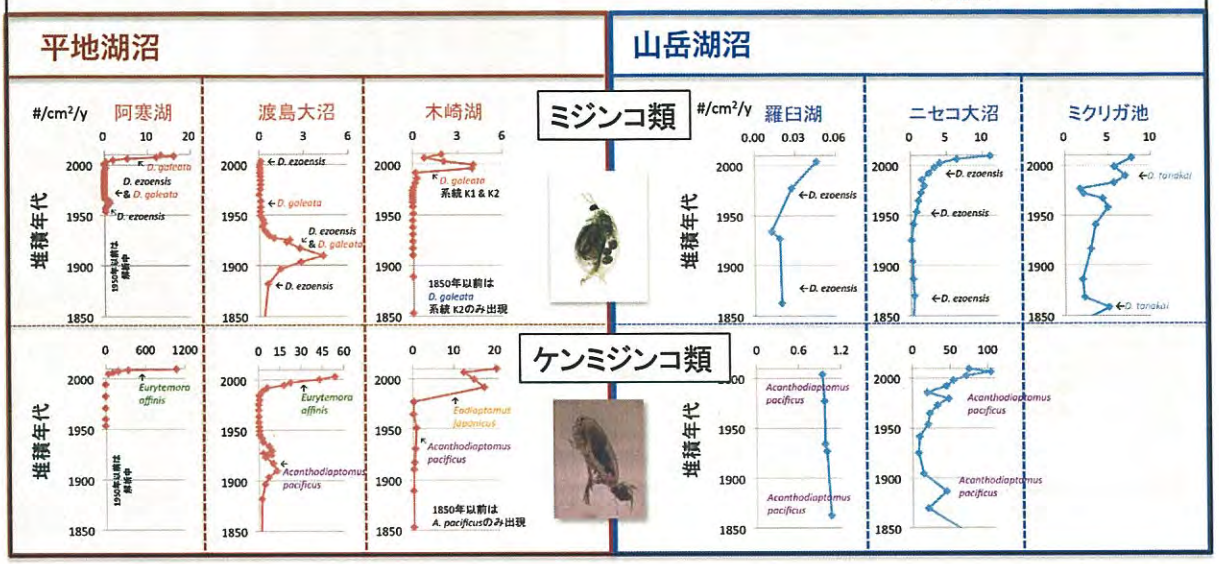
成果 -3-　東北大学

分子情報から生物群集の歴史的変遷が解明された

山岳湖沼：いずれも出現種に変化なし
→生態系よく保存（GOOD NEWS！）

平地湖沼：いずれも過去100年間で出現種交代
→群集構造大きく変化

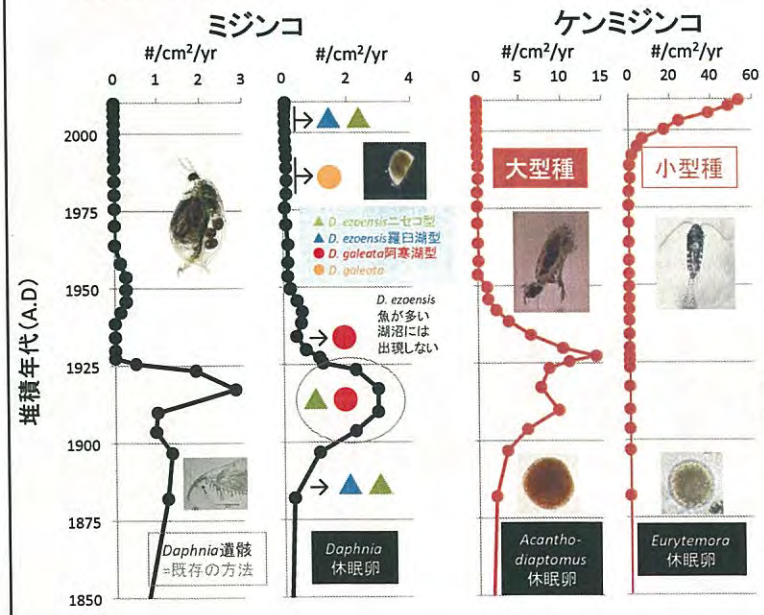
平地湖沼の変化ドライバーは集水域の人間活動（富栄養化、魚類放流）



成果 -4-　東北大学

分子情報を用いた詳細な過去復元の例

渡島大沼の例



1980以降
アオコ発生
水生植物の増加→駆除・刈取り
湖周辺での牛放牧急増

湖沼環境保全のため協議会設置（1974）
湖の放水先を函館湾へ変更（1965）
国定公園指定（1958）

1950-60年代
ワカサギ放流量は1930年代の5-10倍
集水域内で金の採鉱（1939-1944頃）
漁獲高・過去最高値を記録（1936）

ワカサギ放流開始（1927）

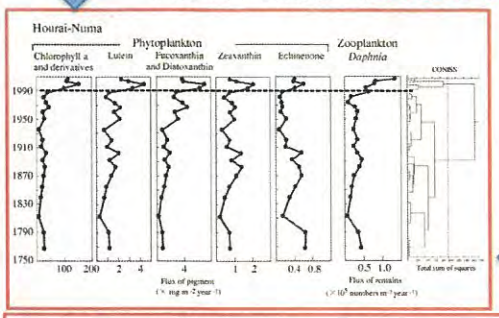
1900-1920頃
湖周辺の開発・整備（鉄道・工場・発電所）、第一次世界大戦（1914-1918）で工場好況
初のヒメマス放流（1900）
当初好成績も、成長後降海し、湖に残留せず→1905以降は放流記録なし
集水域内で硫黄・褐鉄鉱採掘（1896-1959
湖内へ初の魚類（コイ・フナ）放流（1871）

成果 -5-　　愛媛大学

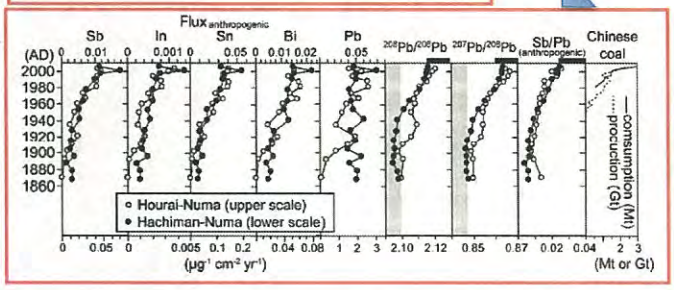
大気降下物による山岳湖沼の変化を検出

八幡平湖沼で、過去20年の間にN,P増加
それに伴い動植物プランクトンが増加

→ 近年、山岳湖沼でも富栄養化が進行

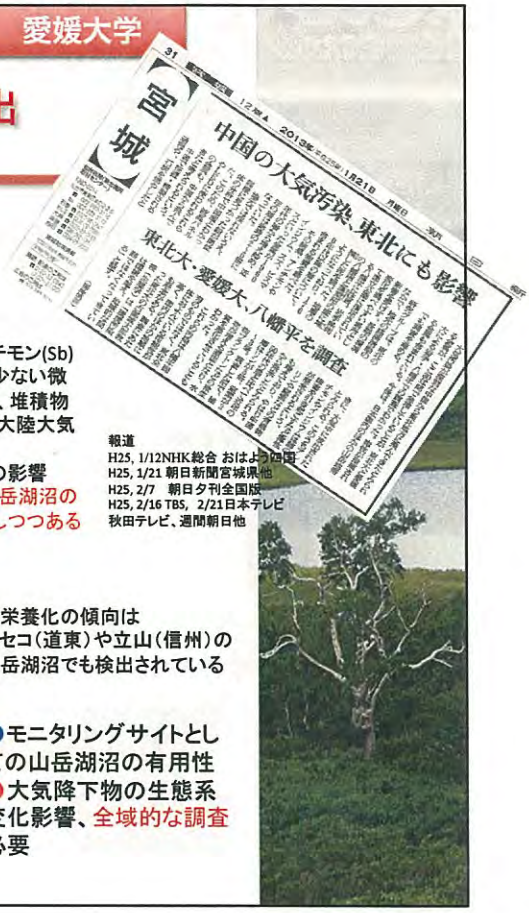


インジウム(In)やアンチモン(Sb)など周辺の地質帯に少ない微量元素の堆積が増加、堆積物の鉛安定同位体比は大陸大気成分比に近づく
→ 大陸起源降下物の影響
→ 越境汚染により山岳湖沼の生態系はすでに変化しつつある



富栄養化の傾向は
ニセコ(道東)や立山(信州)の
山岳湖沼でも検出されている

●モニタリングサイトとしての山岳湖沼の有用性
●大気降下物の生態系変化影響、全域的な調査必要



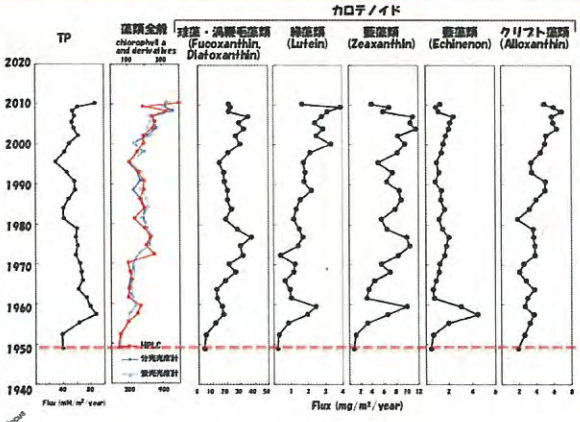
報道
H25, 1/12NHK総合 おはよう日本
H25, 1/21 朝日新聞宮城県他
H25, 2/7　朝日夕刊全国版
H25, 2/16 TBS,　2/21日本テレビ
秋田テレビ、週間朝日他

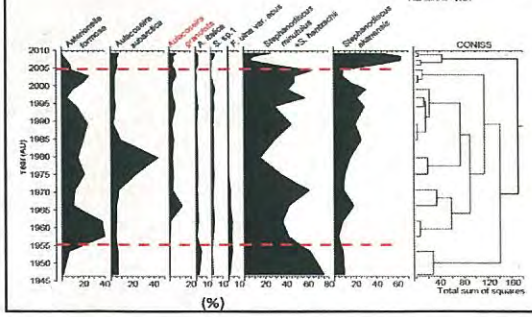
成果 -6-　　愛媛大学

歴史的変遷と環境変化ドライバーを解明

阿寒湖の例

【色素・遺骸分析】
1950年代に藻類全般に増加、特に藍藻顕著
→観光地化が進んだ1950年代に富栄養化進行
→動物プランクトン量、魚の変遷と関係





【珪藻分析】
富栄養性種*Aulacoseira* や*Asterionella* の増加から阿寒湖は1955年以降富栄養化したことが裏付けられた。
2005年の珪藻群集の変化は新たな環境変化要因を示唆。

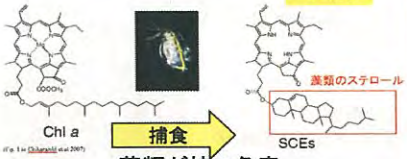
成果 -7-　　愛媛大学

生物過程を指標するマーカーの有用性を検討

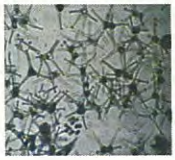
藻類被食量としてのSCEs色素
（Steryl Chlorin Esters）

食われた藻類の色素が動物プランクトンの消化管内で
一部構造が変化
した色素、分類群特異的

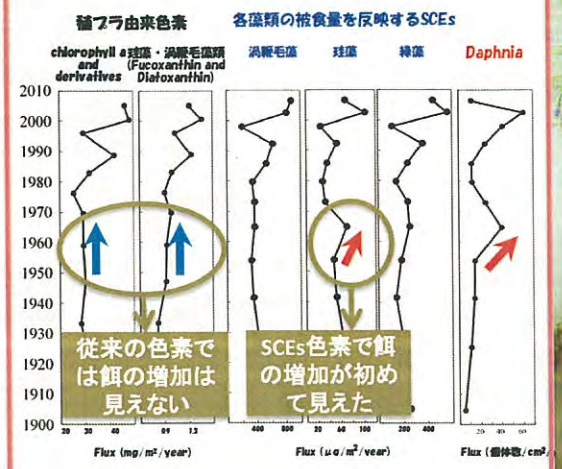
糞として排出
↓
堆積物に保存



藻類が持つ色素



ニセコ大沼での分析結果



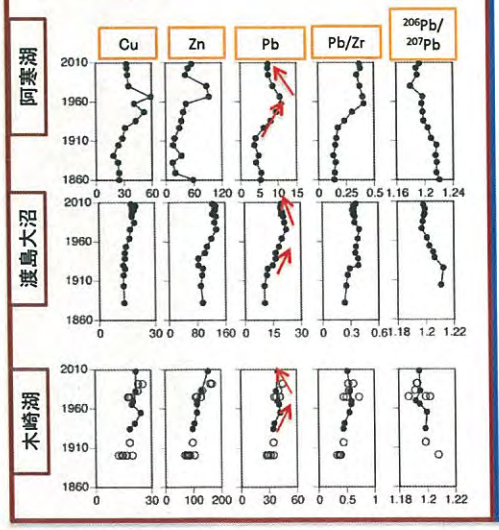
成果 -8-　　岡山大学

堆積物の有機物・安定同位体を用いた湖沼と集水域環境の復元

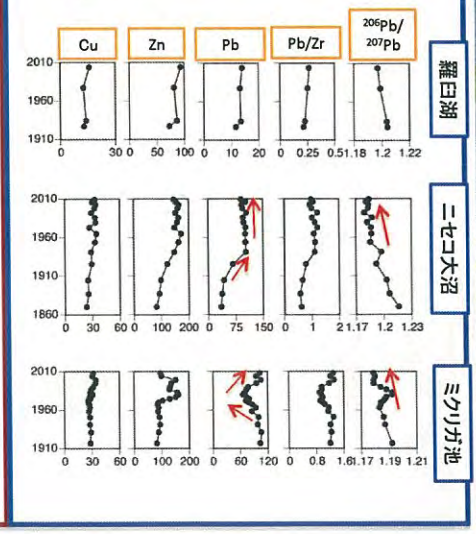
微量金属から大気降下物の影響を確認

鉛濃度は、平地湖沼では近年が減少、立山ミクリガ池では増加
→ 大陸からの影響、中部山岳地帯で特に懸念

平地湖沼



山岳湖沼

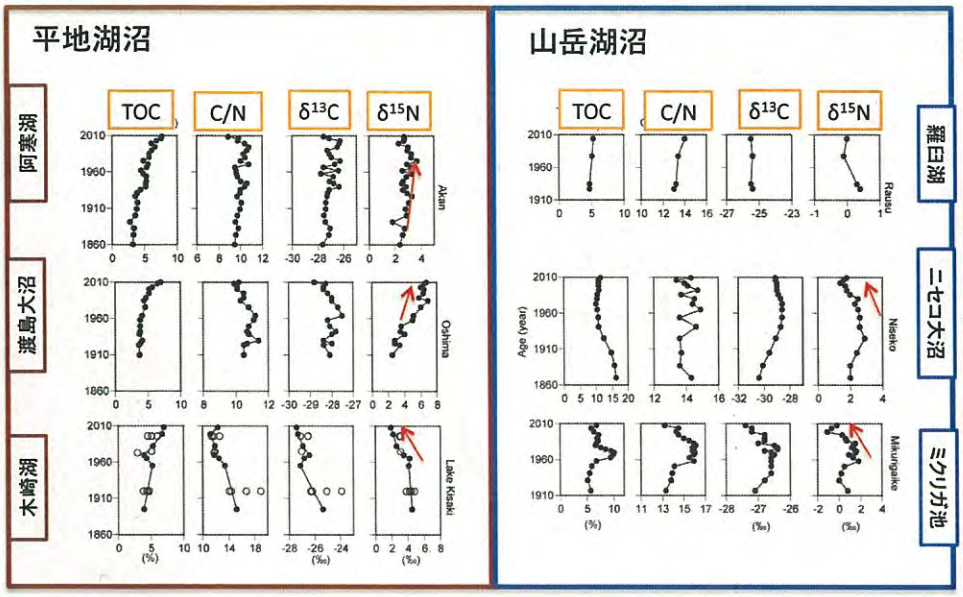


成果 -9-　　岡山大学

堆積物の有機物・安定同位体を用いた湖沼と集水域環境の復元

安定同位体比から湖沼生産特性の変遷を推定

平地湖沼で集水域起源の富栄養化、
ニセコや立山の山岳湖沼では大気降下物の負荷が増大している可能性

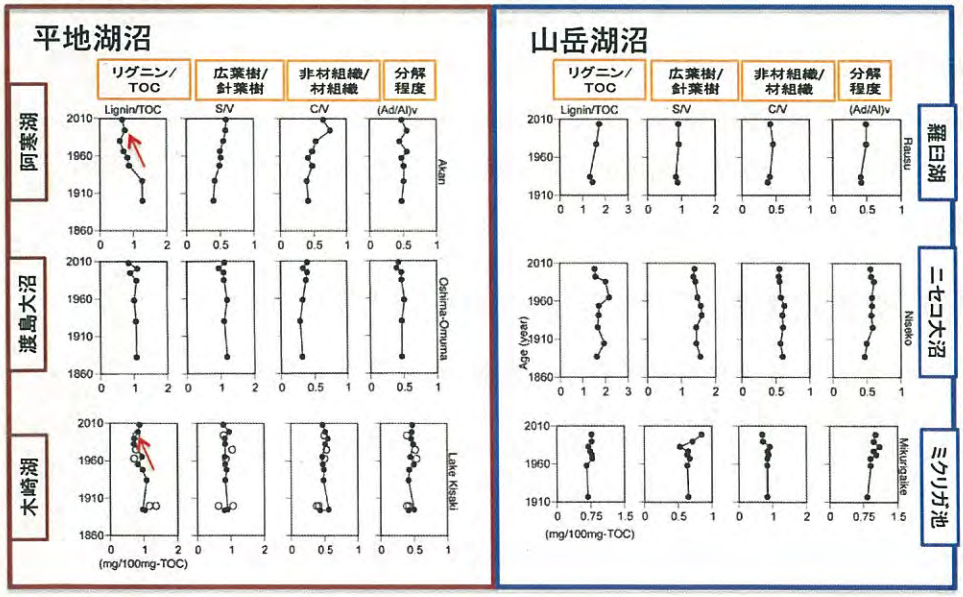


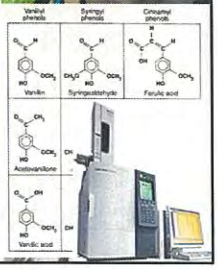
成果 -10-　　岡山大学

堆積物の有機物・安定同位体を用いた湖沼と集水域環境の復元

陸上起源有機物から集水域の被覆変化を解明

低地湖沼や山岳湖沼では植生の顕著な変化は見られない
（花粉分析でも確認: c.f. 木崎湖と渡島大沼のスギ増加）



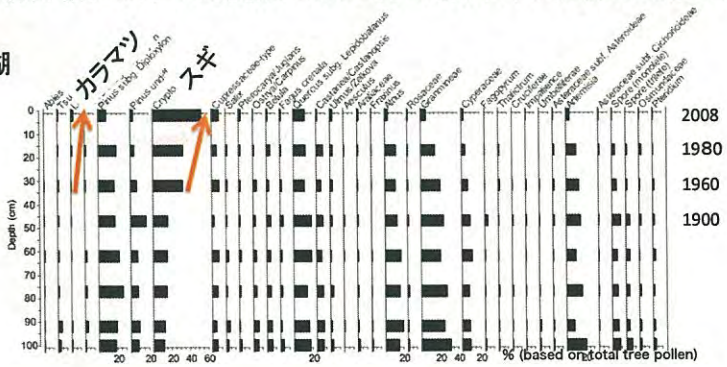


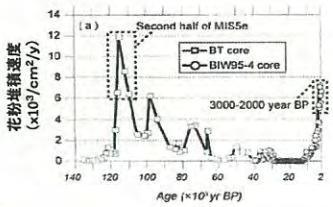
堆積物の有機物・安定同位体を用いた湖沼と集水域環境の復元

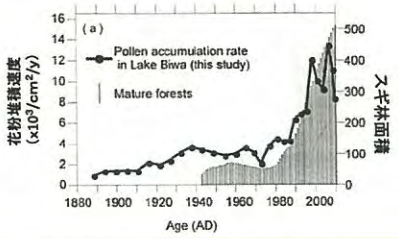
花粉から集水域の集水域の被覆変化を検証

花粉分析により平地湖沼では1960年以降スギ花粉の増加を確認

木崎湖







琵琶湖
スギ造林面積と花粉堆積速度一致
現在の花粉飛散量は10万年前と同じレベル！

林他(2012)

成果のまとめ

古陸水学的手法は新しい方法ではないが、最新の技術を取り込むことで近過去の時系列データ復元と環境モニタリングとして利用出来ることを示した。

①堆積物を用い、近過去（100年程度）の湖沼生態系の変遷を高精度に復元する技術を確立した

- 分子生物学的手法により過去の種や遺伝子型を解明
- 遺骸の残らない生物種の個体群も復元可能に
- 色素や安定同位体比、微量金属情報などを組み合わせることで生態系変化のドライバーを特定（放流、富栄養化、大気降下物、酸性化、温暖化）

② 各湖沼の変遷と環境変化ドライバーを特定した

- 平地湖沼では地域人間活動（富栄養化・魚類放流）の影響が顕著
- 近年、上下水道整備により貧栄養化傾向もみられた（木崎湖）
- 山岳湖沼、群集組成に大きな変化はまだないが富栄養化傾向
  →大気降下物の湖沼生態系影響を実証した

本研究により、見えなかった過去や広域的な影響が可視化され堆積物情報による環境モニタリングの有効性が明らかとなった。

環境政策に向けて

レトロスペクティブ（事後回顧）型モニタリング技術の開発

① 越境汚染による山岳湖沼の変化の懸念

本研究により、国立公園など我が国の豊かな自然の保全は、地域的な取り組みだけでは困難になりつつあることが分かった。本研究やその手法を用いた研究は生態系保全のための国際的取り組みに必要な、透明性のある科学データを提供

② 国土や生態系保全のためのモニタリングとして

生物モニタリングは生態系管理に不可欠であるが、あらゆる生態系を監視することは不可能。本手法は時系列的かつ広域的な監視を低コストで実現可能（事前データなくして事後評価不可能）

③ 合意形成のためのアセスメント項目

科学的知見のない湖沼でも、自然再生や保全の目標設定が可能であり、アセスメント項目として有効。

予算・時間の都合で出来なかった西日本を含む広域調査が望まれる→次の研究提案へ

成果の公表

レトロスペクティブ（事後回顧）型モニタリング技術の開発

平成25年度生態学会大会企画シンポジウムで本研究の成果を報告し、科学者コミュニティーの評価の機会を設けた。

【査読付き論文：2013年3月1日の時点】

Ishida, S., H. Ohtsuki, T. Awano, N. K. Tsugeki, W. Makino, Y. Suyama, and J. Urabe. 2012. DNA extraction and amplification methods for *Daphnia* ephippia in lake sediment: a novel approach to reconstruct zooplankton population structure in the past. Limnology 13, 261-267.

林 竜馬, 兵藤 不二夫, 占部 城太郎, 高原 光（2012）琵琶湖湖底堆積物に記録された過去100年間のスギ花粉年間堆積量の変化. 日本花粉学会会誌 58(1) 5-17.

Tsugeki N. K., Agusa T. Ueda S., Kuwae M., Oda H., Tanabe S., Tani Y., Toyoda K., Wang W-L., Urabe J. (2012) Eutrophication of mountain lakes in ・East Asia due to increasing deposition of anthropogenically-produced dust. Ecological Research, 27: 1041-1052［日本生態学会2013年度 Ecological Research 論文賞］

Itai, T., Kumagai, M., Hyobu, Y., Hayase, D., Horai, S., Kuwae, M., Tanabe, S. (2012) Apparent increase in Mn and As accumulation in the surface of lake sediments in Lake Biwa, Japan, from 1977 to 2009. Geochemical Journal 46: e47 to e52, in press

Kuwae M., Tsugeki N. K., Agusa T., Toyoda K., Tani Y., Ueda S., Tanabe S., Urabe J. (2013) Sedimentary records of metal depositions in Japanese alpine lakes for the last 250 years: Recent enrichments of airborne Sb and In in East Asia. Science of The Total Environment, 442: 189-197.

Makino, W., H. Ohtsuki and J. Urabe. 2013. Finding copepod footprints: a protocol for molecular identification of diapausing eggs in lake sediments . Limnology (in press)

【書籍等】

占部城太郎、鈴木孝男(2012) 津波影響評価と環境修復に向けた生物多様性モニタリングの重要性. 用水と廃水 54:70-78.

石田聖二、牧野渡 「淡水動物プランクトン種の地理的構造を形成した歴史的プロセス」現代生態学講座・淡水生態学のフロンティア (2012)

槻木玲美「古陸水学的手法による近過去の湖沼生態系変動の解析」 現代生態学講座・淡水生態学のフロンティア(2012)

Tsugeki N. K., Urabe J. (2013)「Eutrophication, warming and historical changes of the plankton community in Lake Biwa during the 20th century Goldman C., Kumagai M., Robarts R. (eds)「Climate Change and Inland Waters: Impacts and Mitigation approaches for Ecosystems and Society」Wiley Blackwell. pp. 111-130.

【学会・シンポジウム】

- 槻木玲美・王婉琳・谷幸則・上田眞吾・阿草哲郎・小田寛貴・占部城太郎 「八幡平湖沼のプランクトン長期動態とその変動要因：高山湖沼で何が起きているか？」地球惑星科学関連学会2010年合同大会, 千葉, 5月27日
- Ishida S, Ohtsuki H, Suyama Y, Jotaro U「Application of an inexpensive and high-throughput genomic DNA extraction method for the molecular ecology of zooplanktonic remains」International Forum for Adaptability Science II: Technologies for a Sustainable Society 2010年11月30日-12月3日 仙台
- 槻木玲美. (2011) 琵琶湖の過去100年にわたる動植物プランクトン動態. 滋賀県立大 環境科学セミナー （彦根, 2011. 1.120)【招待講演】
- 槻木玲美・占部城太郎・谷幸則・上田眞吾・阿草哲郎・小田寛貴・王婉琳・田辺信介（2011)「アジア大陸起源の大気降下物は日本の湖沼へどのような影響を与えているか？」日本生態学会第58回全国大会 札幌, 3月9日
- Tsugeki, N.K., Urabe, J., Tani, Y., Ueda, S., Agusa, T., Oda, H., and Tanabe, S. (2011)「Does atmospheric dust transported from the Asian continent influence oligotrophic lakes in Japan?」ASLO Aquatic Sciences Meeting (Puerto Rico, USA, 2011.2.13-18)
- Tsugeki N. K., Tani Y., Ueda, S., Agusa, T., Toyoda Y., Kuwae M., Oda H., Tanabe S., Urabe J. (2011) Shifts in alpine lakes' ecosystems in Japan driven by increasing Asian dusts. American Geophysical Union 2011 Fall Meeting (San Francisco, 2011.12.5-9)
- 石田聖二、大槻朝、陶山佳久、占部城太郎「湖底に堆積する動物プランクトン遺骸（ミジンコ休眠卵鞘）の遺伝解析手法の開発」日本生態学会 平成2011年3月9日 札幌

成果の公表 つづき

レトロスペクティブ（事後回顧）型モニタリング技術の開発

- 兵藤不二夫「湖沼堆積物コアの炭素窒素同位体比の変化から人為影響の変遷を探る」第2回同位体環境学勉強会　2012年6月29日総合地球環境学研究所　京都
- Tsugeki, N.K., Agusa, T., Ueda, S., Kuwae, M., Oda, H., Tanabe, S., Tani, Y., Toyoda, K., Wang, W-L., and Urabe, J. (2012) Eutrophication and increasing metal deposition of mounatin lakes in East Asia due to anthropogenically-produced dust, ASLO Aquatic Sciences Meeting (Otsu, Japan, 2012.7.8-13).
- 林 竜馬、高原 光、佐々木尚子、兵藤不二夫、槻木玲美、加 三千宣、牧野 渡、占部城太郎「湖底表層堆積物中の花粉組成に基づく立山みくりが池と木崎湖周辺における過去100年の植生モニタリング」日本生態学会第59回全国大会 (2012年3月18日，大津)
- 佐々木尚子、林 竜馬、高原 光、兵藤不二夫、槻木玲美、加 三千宣、牧野 渡、占部城太郎「湖底表層堆積物中の花粉組成に基づく羅臼湖，ニセコ大沼，阿寒湖周辺における過去100年の植生モニタリング」日本生態学会第59回全国大会 (2012年3月18日，大津)
- Makino, W. and J. Urabe. Finding copepod footprints: DNA barcoding for the diapausing eggs in lake sediments .日本生態学会　2012年3月21日 大津
- 佐々木尚子、林竜馬「堆積物中の花粉を用いた湖沼・集水域植生の復元」日本生態学会第60回全国大会 (2013年3月6日，静岡)
- 林 竜馬、高原 光、佐々木尚子、兵藤不二夫、槻木玲美、加 三千宣、牧野 渡、占部城太郎「湖沼堆積物の花粉組成は何を反映しているか？琵琶湖、立山みくりが池、木崎湖における植生ー花粉組成の比較と定量的植生復元手法の検討」日本生態学会第60回全国大会 (2013年3月7日，静岡)
- 槻木玲美, 加三千宣（2013）堆積物の色素・遺骸を用いた湖沼のプランクトン動態の復元. 日本生態学会第60 回全国大会（静岡, 2013. 3.6）
- 兵藤不二夫、大元皓平「堆積物の有機物・安定同位体を用いた湖沼と集水域環境の復元」日本生態学会第60回全国大会、静岡　3月6日

【関連論文：本研究に成果を活用している発表論文】

Tsugeki N. K., Urabe J., Hayami Y., Kuwae M., Nakanishi M. (2010): Phytoplankton dynamics in Lake Biwa during the 20th century: complex responses to climate variation and changes in nutrient status. Journal of Paleolimnology, 44, 69-83.

Makino, W., Q. Gong and J. Urabe. (2011) Stoichiometric effects of warming on herbivore growth: experimental test with plankters. Ecosphere 2:art79. [doi:10.1890/ES11-00178.1]

Ishida, S., A. Takahashi, N. Matsushima, J. Yokoyama, W. Makino, J. Urabe, J. and M. Kawata. (2011) Latitudinal and altitudinal gradients in the morphology of two hybridizing species, Daphnia galeata and D. dentifera in mature habitats. BMC Evolutionary Biology,11:209 [doi:10.1186/1471-2148-11-209]

Sagawa, T., Yokoyama, Y., Ikehara, M., and Kuwae, M. (2011) Vertical thermal structure history in the estern subtropical North Pacific since the last glacial maximum. Geophysical Research Letters: 38, L00F02, doi:10.1029/2010GL045827

Adachi, T., Ishikawa, A., Mori, S., Makino, W., Kume, M., Kawata, M., Kitano, J. (2012) Shifts in morphology and diet of non-native sticklebacks introduced into Japanese crater lakes. Ecology and Evolution 2, 1083-1098.

Kuwae, M., Yamamoto, M., Ikehara, K., Irino, T., Takemura, K., Sagawa, T., Sakamoto, T., Ikehara, M., and Takeoka, H. (2012) Stratigraphy and wiggle-matching-based age-depth model of late Holocene marine sediments in Beppu Bay, southwest Japan. Journal of Asian Earth Sciences in press.

Omori, K., Ohnishi, H., Hamaoka, H., Kunihiro, T., Ito, S., Kuwae, M., Hata, H., Miller, T.W., Iguchi, K. (2012) Speciation of fluvial forms from amphidromous forms of migratory populations. Ecological Modelling 243: 89–94

Yoshino K., Tsugeki N. K, Amano Y., Hayami Y., Hamaoka H., Omori K. (2012) Intertidal bare mudflats subsidize subtidal production through outwelling of benthic microalgae. Estuarine, Coastal and Shelf Science 109, 138-143

谷 幸則, 森田陽光, 坂田昌弘, 大橋典男, 槻木(加)玲美, 後藤敏一. (2011) 湖沼の堆積物コアから読み取る人間活動の影響：佐鳴湖を例にして. 日本海水学会誌, 65(5) 264-271

Ban, S., Makino, W., Sakano, H., Haruna, H., Ueda, H. (2013) Annual variation in biomass and the community structure of crustacean zooplankton over 5 years in Lake Toya, Japan. Limnology 14, 59-70.

Hyodo, F., Nishikawa, J., Kohzu, A., Fujita, N., Saizen, I., Tsogtbaatar, Javzan, C., Enkhtuya, M., Gantomor, D., Amartuvshin, N., Ishii, R., Wada, E. Variation in nitrogen isotopic composition in the Selenga river watershed, Mongolia. Limnology. (in press)