

雨水を集めて森の生きものを解析

－ 樹上生物モニタリングを可能にする新技術の開発 －

当館の坂田歩美 研究員と宮 正樹 主任上席研究員を中心に、一般財団法人沖縄美ら島財団総合研究所の岡 慎一郎 動物研究室長、香港科技大学の潮 雅之 助理教授らの研究グループは、雨が降ると枝や幹を伝って滴り落ちる樹幹流から得られた環境 DNA を解析することで、樹上に生息・生育する生きものを調べる方法を開発しました。この論文は、2023 年 10 月に国際学術誌 MethodsX で公開されました。

概要：日本の国土の約 3 分の 2 は森林に覆われており、その最上部を形成する林冠層は陸上生物の多様性が最も高い場所の一つとされています。これまで、林冠層に生息・生育する生物を調査するには大がかりな装置や多くの人手に加えて多額の費用を伴う上に、生物種を同定するには高度な専門的な知識が必要でした。本研究では、目視や採集などの従来法では把握することが困難だった樹上生物多様性の網羅的把握を、専門的な知識がなくても迅速簡便にできるように、木の幹を伝って流れる雨水（樹幹流）に含まれる樹上生物由来の DNA を回収し、その DNA を分析することにより樹上生物多様性をモニタリングする方法を開発しました。この方法で回収した樹幹流をフィルターでろ過し、フィルター上に集められた DNA を環境 DNA メタバーコーディング法（多種同時並列検出法）で分析したところ、樹上に見られる地衣類の検出に成功しました。この技術を応用すれば、樹幹流を集めて DNA を分析するだけで、地衣類だけでなく将来的には他の生物を含めた樹上生物の網羅的モニタリングが可能になり、森林生態系の保全に資する重要な情報が得られるかもしれません。

■ 背景

日本の国土の約 3 分の 2 は森林に覆われており、森林には微生物から大型生物まで多様な生物が生息・生育しています。その森林内でも、林床より高所にある林冠は生物多様性が最も高い場所とされています。林冠を構成する木々の幹や枝は、多種多様な地衣類や着生植物に覆われており、それらを餌や住処とするさまざまな生物が複雑な生態系を形成しています。一方、この複雑な生態系は高所にあり調査の実施が難しく研究例が乏しいため、林冠の生物多様性を網羅的に把握する迅速簡便な調査法が開発が待ち望まれていました。

当館の地衣類の専門家である坂田歩美 研究員は、木の枝や幹を伝って流れる雨水（樹幹流）に着目し、樹幹流を集めてそこに含まれる DNA を取り出して分析すれば、樹上に生息する生きものを検出できるのではないかと考えました。同じ職場に、水を汲むだけでそこに生息する魚の種を特定できる技術（環境 DNA メタバーコーディング法；多種同時並列検出法）を開発した宮 正樹 主任上席研究員がいたため、その技術が樹上生物多様性のモニタリングに生かせないかと共同研究を始めました。

■ 研究方法と結果

樹幹流を効率的に回収するため、木の幹にゴムロープとガーゼを巻きつけ、そこを伝って流れてくる樹幹流を集めるシステムを開発しました（図 1）。ポリ袋にたまった樹幹流はそのままフィルターでろ過します。また、樹幹流が流れ落ちる過程でガーゼにひっかかった物質は元々樹幹流に含まれていたものであることから、これも水に溶かし込んでフィルターでろ過します。フィルター上に集められた物質から環境 DNA を抽出し、抽出した環境 DNA から地衣類の DNA 断片を PCR により増幅・加工しました。こうして増幅・加工した DNA 断片を次世代シーケンサで超並列分析したところ、樹上に生育する葉状地衣 7 種のうち 6 種を検出することに成功し、さらに目視では確認できなかった 2 種を検出することに成功しました。

■ 研究の意義と今後の展開

今回の研究は、目視観察が容易な地衣類の DNA が樹幹流に含まれていることを、環境 DNA で開発されたメタバーコーディング法を用いて実証しました。もちろん、樹幹流には他の樹上生物の DNA も含まれているはずですが、だとすると、これまで実施することが困難であった樹上の生物多様性モニタリングが簡便迅速にできるようになります。これまで多くの謎に包まれていた林冠層の生物多様性が明らかになる日も近いかもしれません。もちろん、樹幹流は雨の日しか流れませんから、雨以外の日にも使える生物多様性モニタリング法を開発することも重要になります。

発表論文

英文タイトル : Collection of environmental DNA from stemflow for monitoring arboreal biodiversity: preliminary validation using lichens

和訳 : 樹幹流から集めた環境 DNA を利用した樹上生物多様性モニタリング : 地衣類を用いた予備的検証

掲載ジャーナル : MethodsX

Doi: 10.1016/j.mex.2023.102448

著者 : Ayumi Sakata, Tetsuya Sado, Shin-ichiro Oka, Masayuki Ushio, Masaki Miya

関連する事業・研究課題

普遍研究・生命誌系 1「樹幹流を利用した新たな樹上生物多様性モニタリング法の開発」

日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究 (C)「樹幹流を利用した新たな樹上生物多様性モニタリング法の開発 : 地衣類をモデルとして」 (課題番号 23K11516)

お問合せ先

千葉県立中央博物館 研究員 坂田歩美

TEL : 043-265-3111

E-mail : a_sakata@chiba-muse.or.jp

樹幹流から環境DNAを集める方法



図 1. 樹幹流から環境 DNA を集める方法。① 地衣類の体の一部など大きな断片をガーゼ上に回収し、樹幹流に含まれる DNA など小さな断片をポリ袋に回収する。② 回収したガーゼと樹幹流から地衣類の体の一部や DNA をそれぞれカートリッジの中にあるフィルター上に集める。③ フィルターから環境 DNA を抽出する。

環境DNAメタバーコーディング法

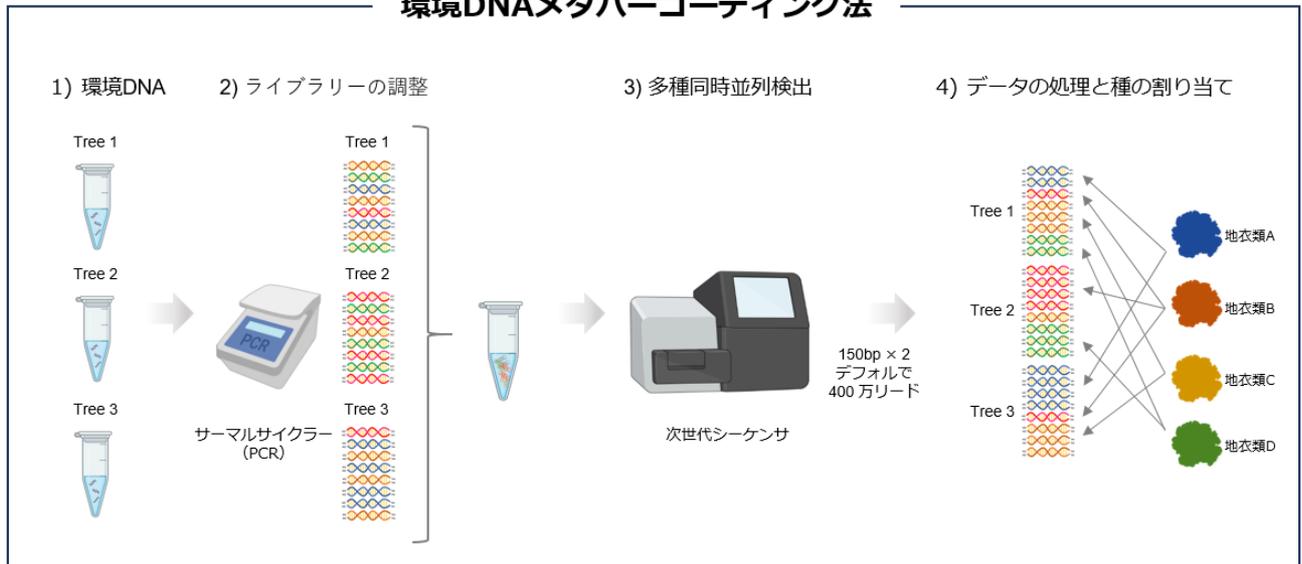


図 2. 環境 DNA メタバーコーディング法の模式図。複数生物に由来する DNA が混ざっている環境 DNA を一度に大量のデータを解析できる次世代シーケンサで同時並列的に解析することで、専門知識がなくても調べたい場所にどのような生きものがいるのか把握することができる。