

2025 年度研究成果報告

「河川流域内の水生植物の地理的遺伝構造を考慮した効率的な保全策の検討」

研究期間：2025～2026 年

研究代表者：槐ちがや（土木研究所流域水環境研究グループ）

はじめに

近年、一級水系本川およびその河川流域内では、気候変動による降雨量の増加への対応策として河道掘削等による流下能力の確保が進められているが、流域内の生物多様性保全との両立も強く求められている。しかし、水系の全域で両者を実現することは難しいため、両者を重視する場所をそれぞれ区分けして、流域を 1 つの保全単位と捉えることが次善策として考えられる。しかし、生物種によって、流域内の地理的遺伝構造が異なることが魚類などの先行研究から示唆されていることから、区分けの指針を策定するためには、保全対象とする生物種の地理的遺伝構造を明らかにする必要がある。河川生態系における基盤生物群である水生植物においては、地理的遺伝構造とその成因と推測される河川流路、空間的距離、環境との関係性に対する知見は極めて限定的である。そこで本研究では、河川流域内の複数の水生植物種の地理的遺伝構造を検出し、流路や距離、環境との関係性を明らかにすることにより、河川流域内の治水エリアと水生植物保全エリアを区分けしながら、同流域内で共存させるための効率的な保全指針を提示することを目的とする。

方法

2025 年 5 月から 9 月まで、九頭竜川水系および利根川水系（図 1）でササバモ（ヒルムシロ科）、ツルヨシ（イネ科）、バイカモ（キンボウゲ科）を対象に 100m 範囲内の個々が約 5m 以上離れた集団から葉をサンプリングし、乾燥保存した。加えて、各集団の生育地点の環境データ（泥厚、水深、水温、平均流速など）を取得した。

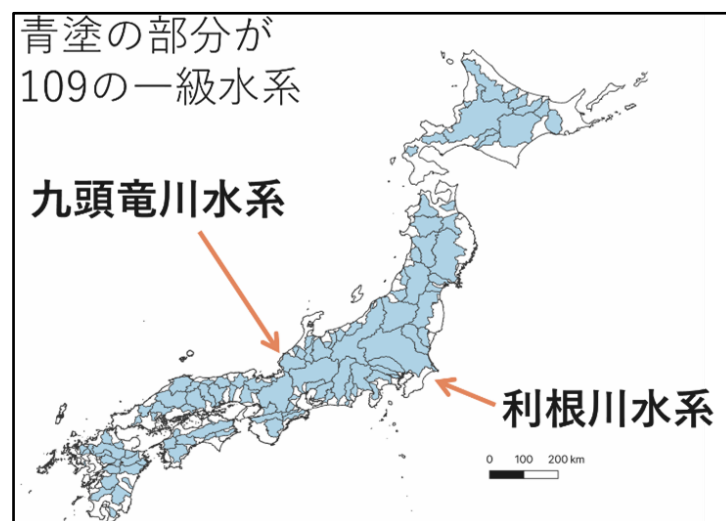


図 1. 全国の 109 水系と九頭竜川、利根川水系の位置

それぞれの葉から CTAB 法で DNA を抽出、MIG-seq (Suyama and Matsuki 2015; Suyama et al. 2022)で SNP データを取得した。ライブラリー作成後、Illumina MiSeq で Miseq Regent Kit v3(150 cycle)(Illumina)を用いてシーケンスを行った。(ライブラリー作成に使用したサンプルは 2024 年以前に取得したものを含む。) 2025 年度はササバモとツルヨシ (図 2) に関して解析を実施した。シーケンスに得られた生データを Trimmomatic v0.39 によるアダプター配列等の除去(Bolger et al. 2014)、Population プログラム Stacks v2.68 (Rochette et al. 2019) を利用し SNPs を抽出した。各集団内で locus が存在する最小割合を 75%とし、ツルヨシ (個体数: 71) は minor allele count を 3 未満に設定し 424SNPs を得た。ササバモ (個体数: 81) は minor allele count を同じく 3 未満に設定し 403SNPs を得た。クラスタリング解析 (ADMIXTURE (Alexander et al. 2009)) は CV エラー値からツルヨシは $K=18$ 、ササバモは $K=10$ を採用した。その後、R 4.5.2 の pophelper package (Francis 2017) で可視化した。さらに MIG-seq 法から得られた SNPs に基づく Neighbor Net 図を作成した。また、各集団における環境要因についてはチューキーの多重比較検定を実施し、集団間の環境要因の差異を確認した。この解析には R 4.5.2 の multcomp, emmeans package を使用した。



図 2. 左：ササバモ (ヒルムシロ科) 右：ツルヨシ (イネ科)

結果と考察

九頭竜川水系のツルヨシについて、 $K=18$ の際の ADMIXTURE 解析の結果を図 3 に示した。図 3 で得られた各地点のクラスターの割合を図 4 に示した。これらの結果から、次のことが示された。まず、各地点の個体間には、ほとんど遺伝的変異が検出

されない場合、つまりほぼ単一のクラスターで構成される場合（日野川下流、和田川、織田川など）と、複数のクラスター要素が混在する場合（九頭竜川上流、真名川上流など）があることがわかった。そして、地理的に近隣の地点間（暮見川、真名川支川、赤根川、真名川中流、九頭竜川上流のセットと九頭竜川中流、九頭竜川下流、荒川のセット）で同じ遺伝的要素を共有する場合がある一方で、この水系内では地理的に遠く、流路も共有していない地点間で同じクラスター要素を共有する場合（吉野川、暮見川、真名川支川）も確認された。さらに詳細な解析が必要ではあるが、この時点では、九頭竜川水系内では、地理的距離と遺伝的距離、あるいは流路を介した距離と遺伝的距離は、単純な関係には無く、それ以外の要因が影響していることが示唆された。流路にそって遺伝的構造ができていない一方で、地理的距離が近くとも流路を共有しない場合、周辺集団と異なる遺伝的組成を検出する場合があった（例えば、和田川と織田川）。和田川と織田川の直線距離は近いものの、流路の間に標高 200m 程度の小山が存在する。そのため、そうした小山が種子の風による分散の障壁となっており、周辺集団と異なる遺伝的組成を示している可能性がある。

また、MIG-seq 法から得られた SNPs に基づき各サンプル間の遺伝的距離を算出し、Neighbor Net を構築した（図 5）。支川によっては各個体がほぼ同じ位置に存在し、他個体として採取していた個体がクローンである可能性があり、今後クローン性に関する解析も実施する必要があると考えられた。さらに集団ごとに環境要因の結果を比較した（図 6）。環境要因と遺伝的構造の間に明確な関係性は見いだせなかった。ツルヨシは上流部の水際の急流から河原の陸地まで多様な環境に生育でき、そもそもの生育できる環境が幅広いことが考えられる。

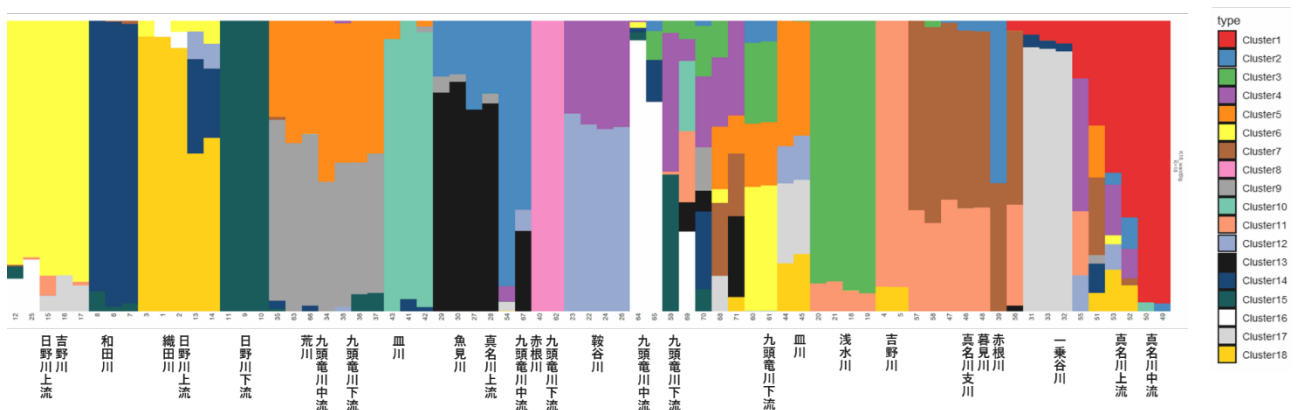


図 3. K=18 (CV エラー値最小) の ADMIXTURE 解析の結果

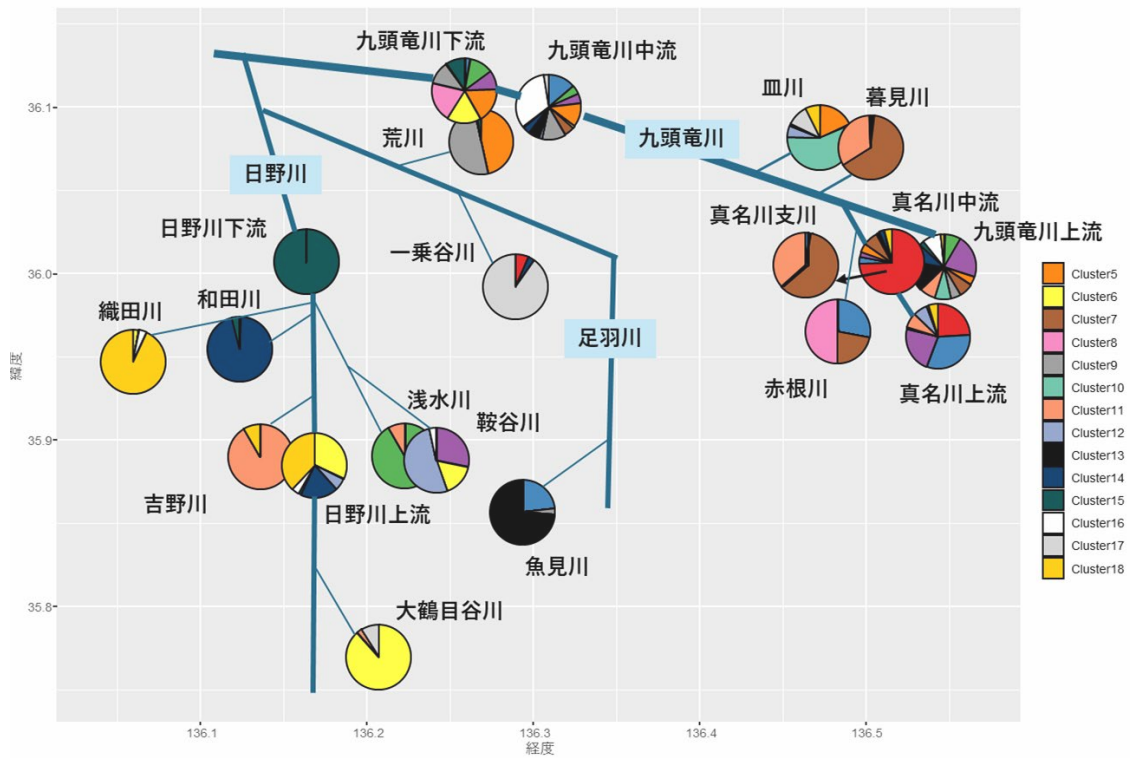


図 4. 九頭竜川水系のツルヨシの地理的遺伝構造。青線は河川の接続性を模式的に示す。矢印が存在する場合、その根元が本来の集団の位置を示す。

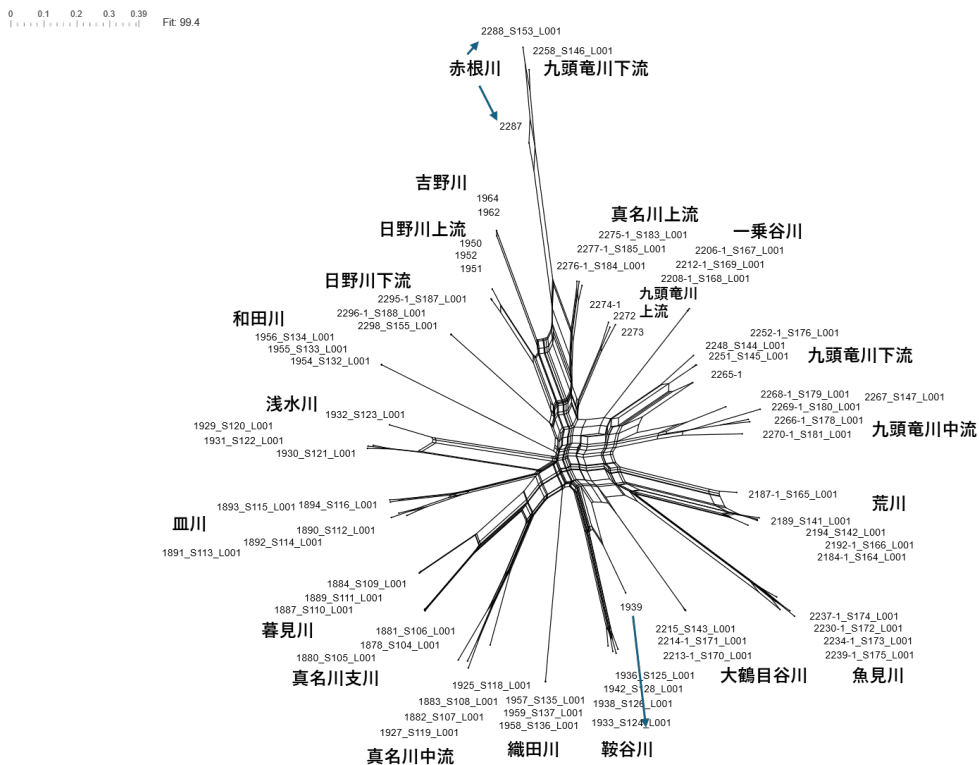


図 5. 九頭竜川水系のツルヨシの Neighbor Net 図

一方で、利根川水系のササバモの地理的遺伝構造を図 7、K=10 の際 ADMIXTURE 解析の結果を図 8、MIG-seq 法から得られた SNPs に基づく Neighbor Net 図を図 9 に示した。矢場川、大谷川上流、花室川で、他地点と異なる遺伝的組成が検出された。矢場川、花室川は他地点との地理的距離が大きい、大谷川上流は他地点に隣接し、距離が小さい。鬼怒川上流と五行川上流は、流路を共有せず、地理的距離は小さい。2つの地域は、他地点との独立性は低いものの、2地域間の遺伝的組成には共通性が見られた。そのため、矢場川、花室川では、流路の影響が遺伝的組成に強く反映しているが、一方で、鬼怒川上流と五行川上流の間では、近接する独立した流路間での遺伝的交流が生じること示唆された。そのため、ササバモについては、河川流路および地理的距離は複合的に遺伝的構造に影響すると考えられた。また、ササバモについても環境要因と遺伝的構造の間に明確な関係性は見いだせなかった（図 10）。

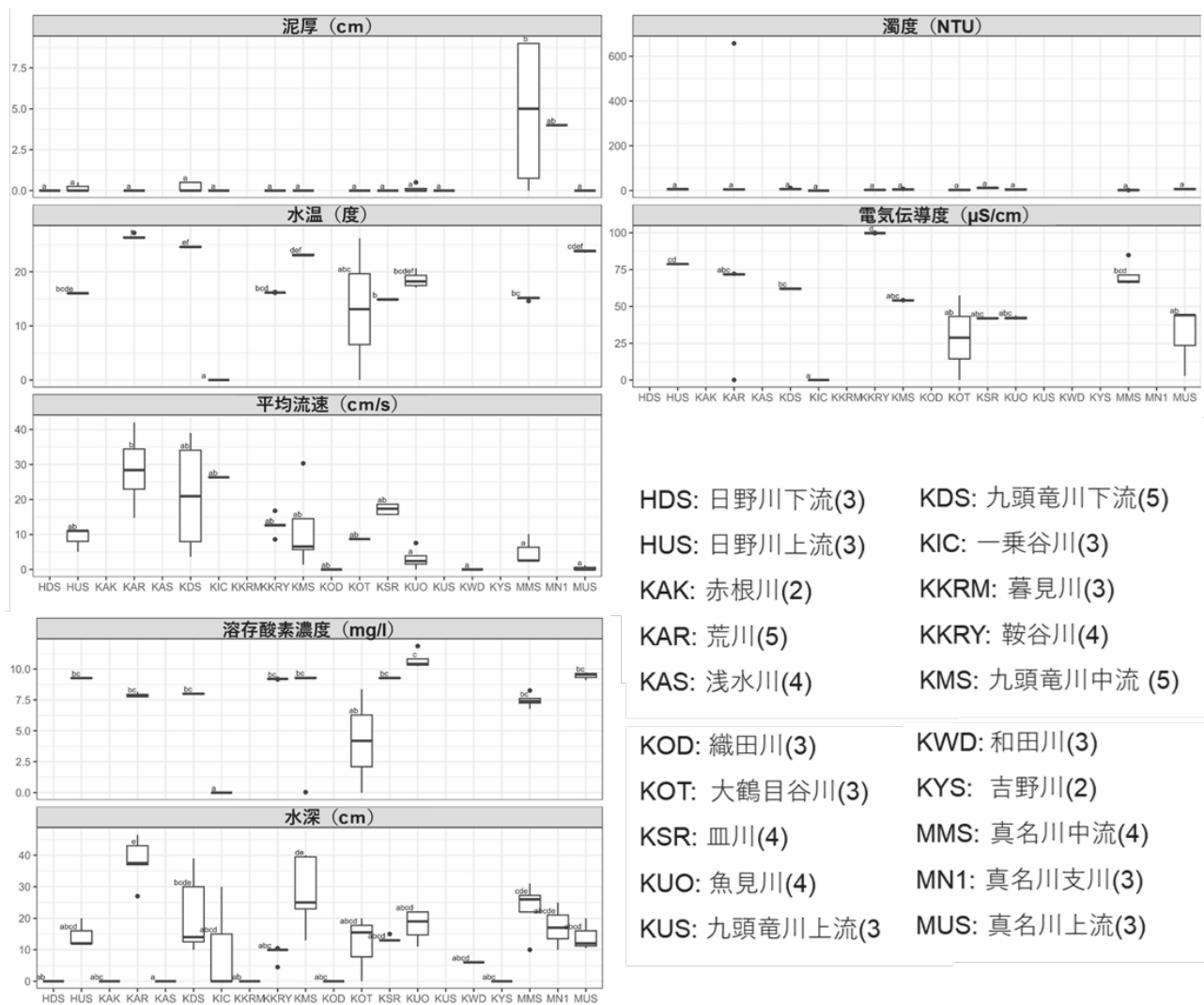


図 6. 九頭竜川水系のツルヨシの集団ごとの環境要因の比較。略称: 集団遺伝構造解析の集団名(サンプル数)。遺伝構造解析についてはサンプル数すべてを使用している。環境要因によってはデータ欠損のため、サンプル数以下も存在する。

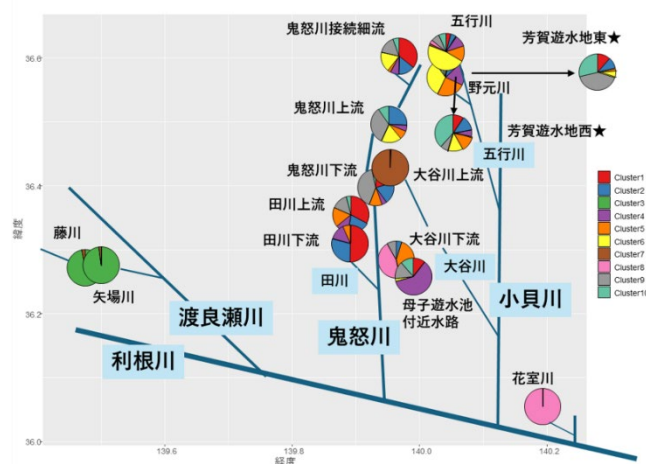


図 7. 利根川水系のササバモの地理的遺伝構造。

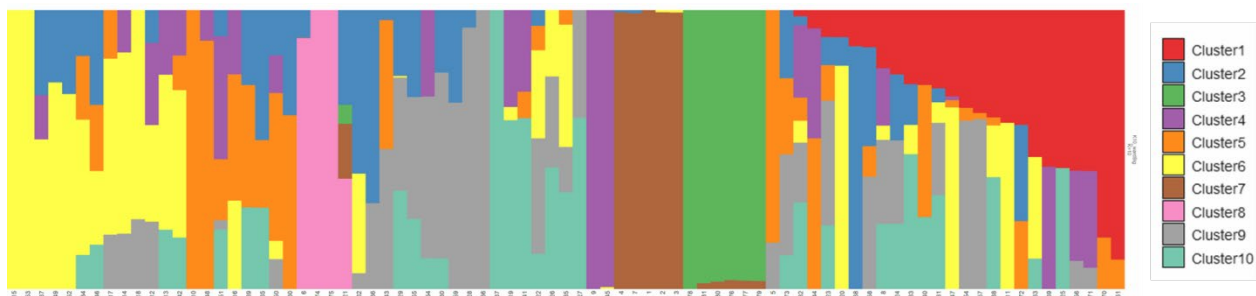


図 8. K=10 (CV エラー値最小) の ADMIXTURE 解析の結果

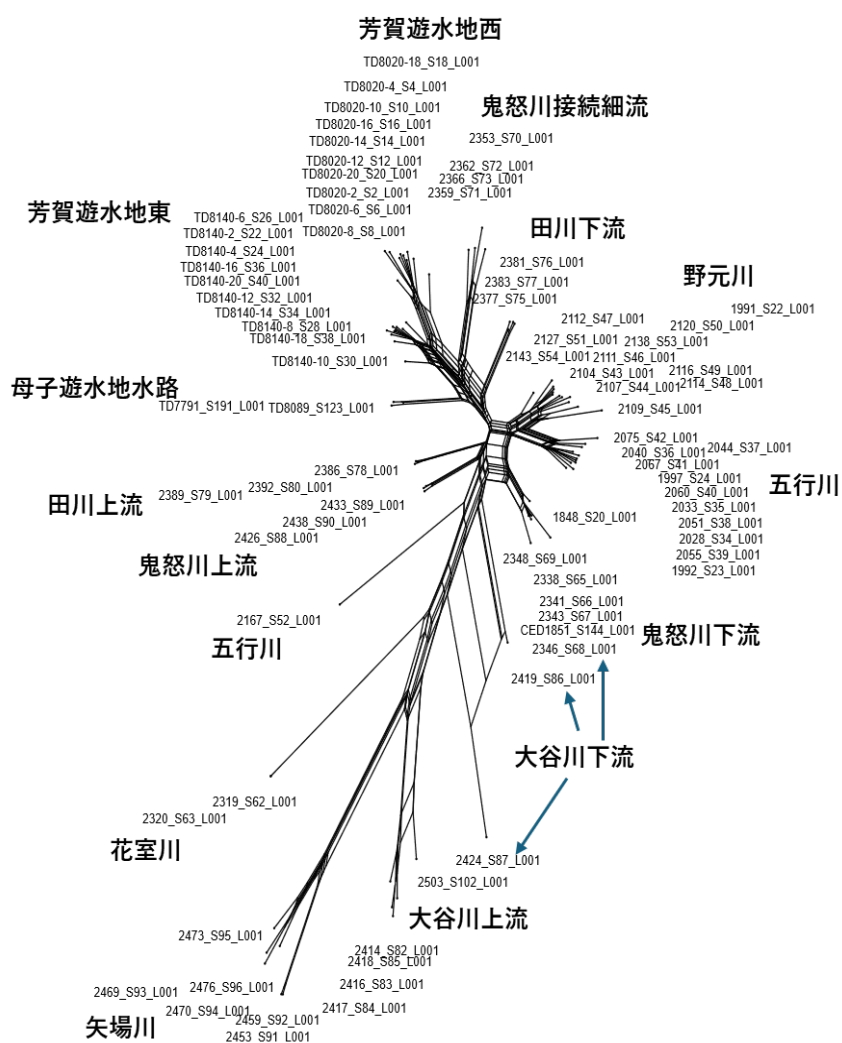


図 9. 利根川水系のササバモの MIG-seq 法から得られた SNPs に基づく Neighbor Net
図

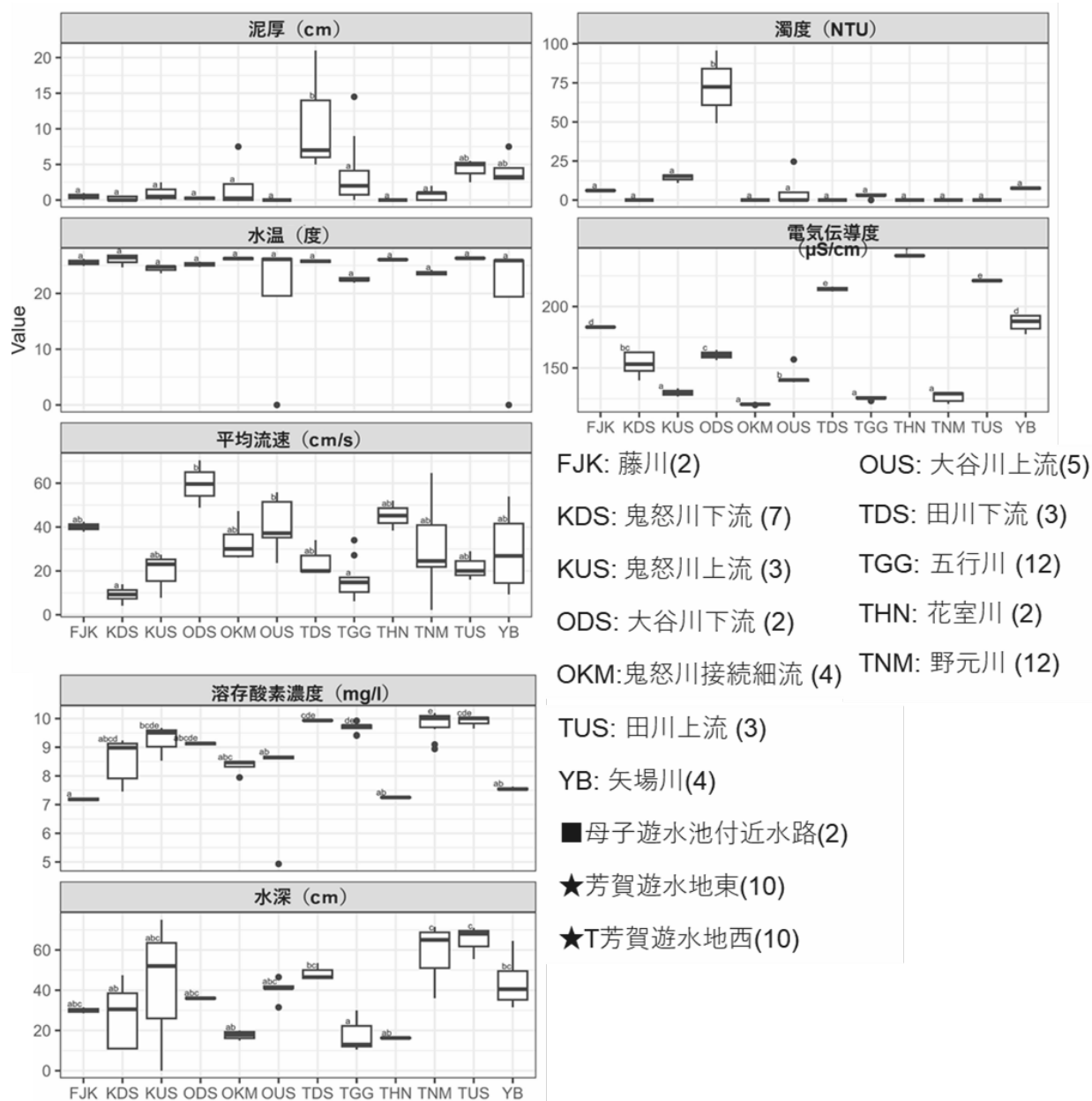


図 10. 利根川水系のササバモの集団ごとの環境要因の比較。略称: 集団遺伝構造解析の集団名(サンプル数)。遺伝構造解析についてはサンプル数すべてを使用している。環境要因によってはデータ欠損のため、サンプル数以下も存在する。★、■については環境要因データ無し。

まとめと今後

利根川水系のササバモについては、河川流路および地理的距離は複合的に遺伝的構造に影響すると考えられた。今回、環境要因との関係性は検出できなかったが、より広域なスケールでの調査を行いたい。今後さらに詳細な解析を複数の河川について実施する

ことで、流路、地理的距離、分散様式、環境要因と遺伝的構造の関係を明らかにしたいと考えている。加えて、2025 年度に解析を実施できなかったバイカモおよび九頭竜川水系のササバモ、利根川水系のツルヨシについても順次解析を実施する予定である。

参考文献

- Alexander DH, Novembre J, Lange K (2009) Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research* 19:1655–1664. <https://doi.org/10.1101/gr.094052.109>
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B (2014) Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30:2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Francis RM (2017) pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. *Molecular Ecology Resources* 17:27–32. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12509>
- Rochette NC, Rivera-Colón AG, Catchen JM (2019) Stacks 2: Analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Molecular Ecology* 28:4737–4754. <https://doi.org/10.1111/mec.15253>
- Suyama Y, Hirota SK, Matsuo A, et al (2022) Complementary combination of multiplex high-throughput DNA sequencing for molecular phylogeny. *Ecological Research* 37:171–181. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12270>
- Suyama Y, Matsuki Y (2015) MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Sci Rep* 5:16963. <https://doi.org/10.1038/srep16963>