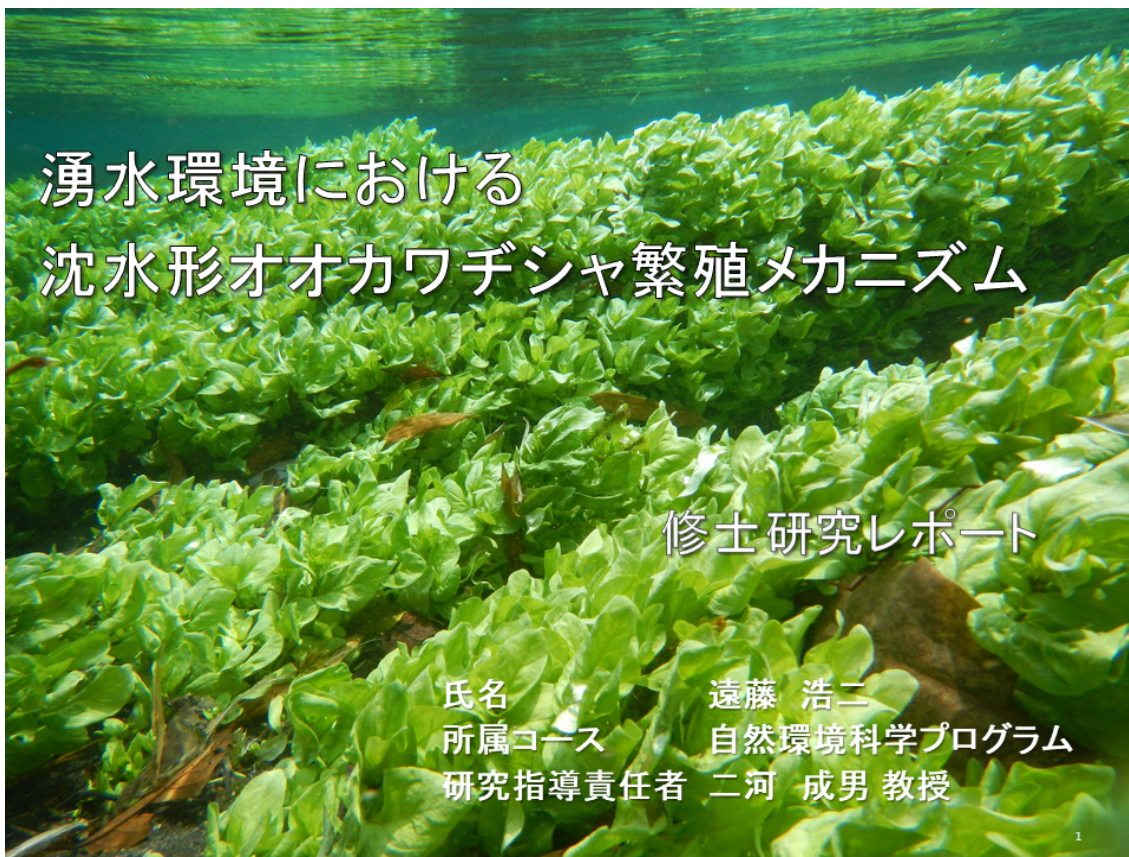


基調講演②：「湧水環境における沈水形オオカワヂシャ繁殖メカニズム」

遠藤 浩二 （公財）柿田川みどりのトラスト 会員／放送大学大学院 修士課程修了生

【加藤 憲二 研究会代表（静岡大学名誉教授）】 遠藤さんに「湧水環境における沈水形オオカワヂシャ繁殖メカニズム」ということで、修士研究の成果、プラスアルファかな、ご紹介いただきたいと思います。



【遠藤】 ただいま紹介にあずかりました柿田川みどりのトラストの遠藤と申します。

私は、2017年度、放送大学修士課程においてオオカワヂシャの繁殖メカニズムの研究を行いました。指導教員は、放送大学大学院教授の二河成男先生になります。自己紹介の欄を設けていなかったんですが、私ごとですが、この三島市の北にある裾野市のトヨタ自動車に勤めております。この研究を行うきっかけなんです、2008年度にリーマンショックが起きまして、残業の見直しにより、残業が亡くなりこれを好機と捉えて、そこから学位のほうの研究から始めております。

それでは、「湧水環境における沈水形オオカワヂシャ繁殖メカニズム」の発表、研究報告をさせていただきます。

目 次

1. はじめに(背景・目的)
2. 仮説
3. 研究の方法(観察実験・DNA解析)
4. 結果
5. 考察
6. おわりに

2

内容がこのような6つの段落でなっております。

1. はじめに

背 景

柿田川湧水

2011年9月 天然記念物

- ・ 湧水量100万トン超 / 日 (富士湧水群の1/4~1/5)
- ・ 良質な水質(BOD:AA品質)
- ・ 絶滅危惧水生植物が繁茂(ミシマバイカモなど)

特定外来生物侵入

オオカワヂシャ *Veronica anagallis - aquatica*

圧倒的な繁殖力！
遺伝子汚染！

公益財団法人柿田川みどりのトラストで活動

放送大学卒業研究

(2012年度)

在来種カワヂシャ *V. undulata* と競合駆逐するほか、交雑雑種のホナガカワヂシャ *V. × Myriantha* を形成、雑種は発芽能力のあるとされ、遺伝的攪乱のおそれ。

3

「はじめに」ですが、柿田川湧水、皆様のほうがご存じかと思いますが、1日100万トンを超える

湧水量、富士湧水群の大体4分の1から5分の1を占めております。そのまま飲めるほどのBOD品質であります。また、絶滅危惧種の水生植物、ミシマバイカモなどが多く繁茂しているということで、2011年9月、天然記念物に認定されました。

ですが、特定外来生物の侵入に悩まされてしているということで、その1つ、オオカワヂシャ、*Veronica anagallis aquatica*は、その圧倒的な繁殖力、そして在来のカワヂシャと競合して駆逐すると言われております。また、交雑種をつくるということで、この遺伝子汚染が叫ばれております。こちらのほうが重大ということらしく、特定外来生物に指定されたと聞いております。

そこで、2010年度になります。公益財団法人みどりのトラストに入会、放送大学にて2012年度に行った卒業研究の流れを引き継いで、今回、修士においてオオカワヂシャの研究いたしました。

目 的

1. オオカワヂシャ沈水形

繁殖メカニズムの解明



2. 種間交雑種の同定

他地域との遺伝関係



外来水生植物に対する湧水環境保護・保全

4

目的は、学士研究でわからなかったオオカワヂシャ沈水形がどういったメカニズムで繁殖しているかということ解明することです。このように非常に水の中で、上の写真の右のほうは、ミシマバイカモ等を被圧しているという状況です。また、2つ目としまして、種間交雑種の同定ということで、カワヂシャとオオカワヂシャの交雑種であるホナガカワヂシャというものがほんとうに存在するのか、その同定をすること。そして、オオカワヂシャという種が、非常に日本全国に繁殖しております。ですので、他地域との遺伝的關係がどうなのかということ調べました。

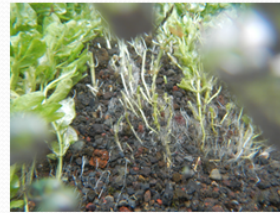
そして、研究、解明した知見を外来水生植物に対する湧水環境の保護・保全に役立てようということが本研究の目的です。

2. 仮 説

オオカワヂシャ沈水形の繁殖メカニズム

【流水・沈水域】

- ・ 種子: 水流でほとんどが流出
- ・ 形状: 葉の水流抵抗大・中空茎構造(浮力流出)
- ・ 繁殖: 多年生化・亜成体状態(種子産生不可)
- ・ 他: 除去活動により抜き取られる(2回/月)



毎 年 同 じ 場 所 に 繁 殖 ？

【仮説】根(不定根)が再生 ⇒ 無性芽 ⇒ クローンで繁殖？



2017年4月23日 柿田川中流 沈水域 無性芽

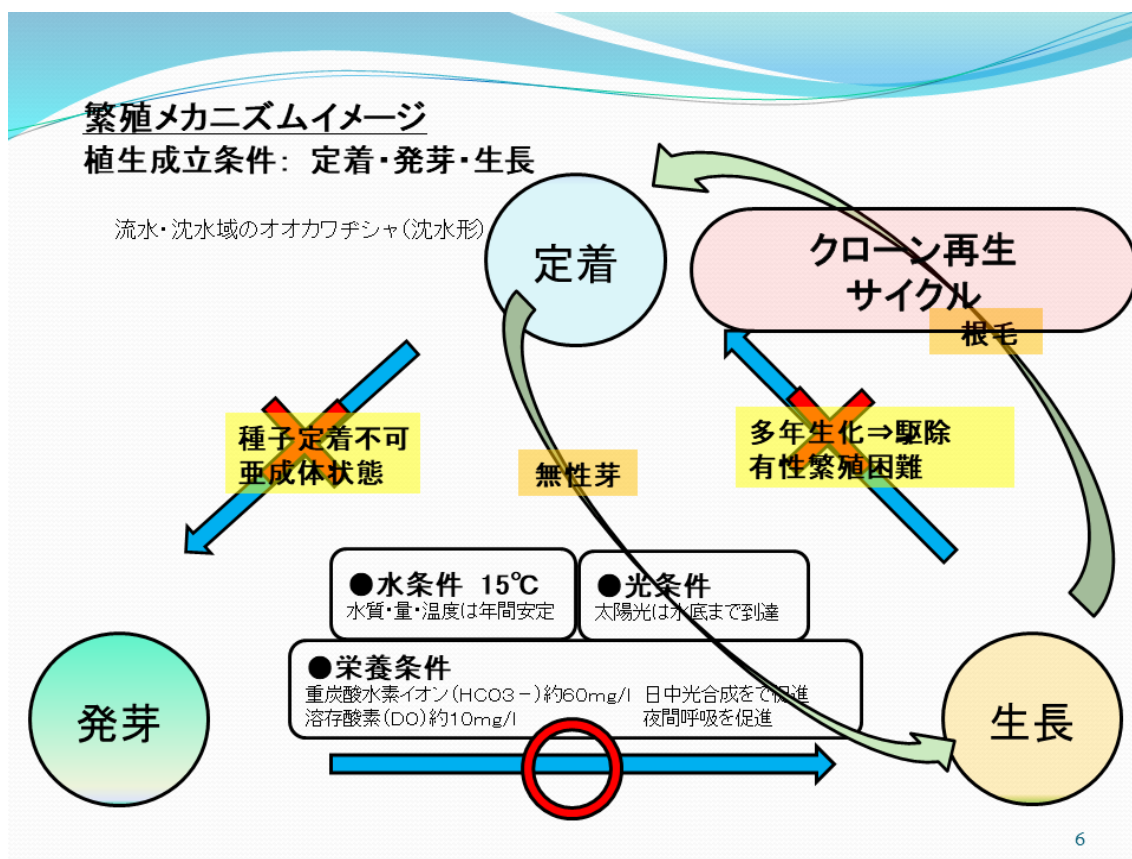


5

まず、仮説ですが、オオカワヂシャ沈水形は、このような非常に流量が、流速が速いところでも、しがみついて繁茂しているということで、本来であれば、種子というものは、この水流だと流出してしまう。形状も、オオカワヂシャの亜成体は葉が丸くて、在来種よりも非常に水の抵抗が大きい、また中空茎構造ですので、一度土壌から離れてしまうと、浮き上がって流出してしまう。繁殖も、湿生タイプであれば本来1年生草本なんですが、水中では多年生化します。水の底で深い場合ですと、亜成体の状態のままで、種子産生が難しいと考えられます。何よりも、除去活動によって抜き取られている。現在、月2回の除去活動が行われております。

ですが、毎年同じ場所に繁殖しているというのが、私が見ていて思ったことになります。

仮説ですが、抜いた後に、根が、不定根が残っていて、これが再生している。左側の写真がクローンになったと思われるもの、無性芽と呼んでいますけど、これを取り除いてみると非常に細かい根がいっぱい生えているということで、根が再生して無性芽が育ってクローン繁殖しているんじゃないかと考えました。



繁殖メカニズムをイメージにしますと、植生の3条件、定着、発芽、生長が必要になります。オオカワヂシャの沈水形に当てはめると、水条件、光条件、栄養条件というのはすこぶる良好であります。ですので、発芽から生長に関しましては、何らかの形で発芽できてしまえば、異常に爆発的に繁殖するということです。

ですが、生長から定着というのが、駆除されてしまうため、有性繁殖が難しい。そして、種子の定着が水中ではさらに難しく、定着から発芽についても無理だろうということで、考えられるのが、根が残っていて、それが定着する、そして無性芽のような形になって、初夏に爆発的に増える。このクローンの再生サイクルがあるんじゃないかと考えました。

3. 研究の方法

採取・保管

特定外来生物法 ※飼育、栽培、保管及び運搬が原則禁止！

※ 研究目的などで、逃げ出さないように適正に管理する施設を持っているなど、特別な場合には許可
※ 生きているものに限られ、個体だけではなく、卵、種子、器官など含む

染色体実験×、DNA実験○

- ① 特定外来生物飼育用許可申請書（学校長の承認要）
- ② 飼育施設図・写真・位置・概況図（周辺地域がわかる）
- ③ 飼育等の目的・説明資料

アセトン浸漬（不活化）し運搬・保存（冷暗）

サンプル採取場所



A. 富士山湧水群

1. 富士山南東湧水群（柿田川湧水） 静岡県駿東郡清水町
2. 3. 富士山南西湧水群（湧玉池・潤井川） 静岡県富士宮市
4. 富士山北東湧水群（明日見湖） 山梨県富士吉田市

B. 武蔵野湧水群

5. 南沢湧水（落合川） 東京都東久留米市
6. 矢川湧水（矢川） 東京都立川市

C. 静岡県西部湧水・河川

7. 馬込川 静岡県浜松市
8. 9. 今之浦川・太田川 静岡県磐田市

7

続きまして、研究の方法ですが、オオカワデシヤは特定外来生物になります。ですので、特定外来生物法が適用される。こちらは飼育、栽培、保管、運搬が原則禁止になります。研究目的では特別な場合に許可されるんですが、こちら、教授とも話し合ったんですけど、違反すると個人で300万円、団体だと1億円ということで、諦めたほうがよいのではないかと結論に至りました。実際に環境省のほうに問い合わせいたしたところ、ほんとうにやるんですかということと言われまして、諦めたということです。

ただ、本来でしたら生きた状態の根をとってきて、先端の細胞分裂部分の染色体を調べれば、3倍体のオオカワデシヤ、5倍体のオオカワデシヤの間ですので、4倍体であれば雑種と言えるのですが、これは諦めて、DNA解析によって明らかにしようと思いました。このメリットといたしましては、地域差の違いがわかるんじゃないかということです。ですので、そこで持ち出す際にはアセトンで浸漬して、運搬、保存をいたしました。

下の地図がサンプルの採取場所になります。大きく三つのエリア、富士山の湧水群、柿田川を中心とした湧水群で、1番目が富士山南東、柿田川ですね。そして南西の遊水群、湧玉池と潤井川の隣にある羽衣遊水池というところからとってきました。そして、北東にあります明日見湖というところ、河口湖と山中湖の間にある小さな沼のようなところですよ。

そして、Bエリアは武蔵野湧水群です。こちら、南沢湧水と矢川湧水で落合川と矢川になります。東京都の久留米と隣の立川でとってきております。

Cエリアですが、静岡県の西部湧水・河川ということで、馬込川、これは浜松市です。あと、今之浦川、太田川という磐田市にある河川から採取しております。

このエリアを選んだというのも、たくさんのエリアを探したんですが、結果的に見つからなかったというのもありますし、ちょうど台風が来て流されてしまって、とれなかったというのも理由ですが、幹線道路、東名高速を中心とした人の往来が非常に激しいところで100キロごと離れており遺伝的な差を比較するのに適していたことが挙げられます。

1. 観察実験

①. 抜き取り後の再生実験

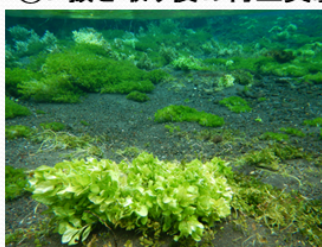


写真3-4-4 オオカワヂシャ抜き取り後の川底状態 左:抜き取り前、右:抜き取り後 柿田川 2017年3月25日

	タイプ	状態
A	沈水形1	残根なし
B	沈水形2	残根あり
C	無性芽クローン体	残根なし

・流水沈水域の個体を取り除きマーキング
⇒2週間～1か月後の状態調査

②. 部位(断片)再生実験



写真3-4-5 部位再生実験 左:網へのSET状況 右:設置状況 柿田川 2017年3月25日・4月22日

	部位	備考
A	1株全体	葉から根まで全体
B	太い根(主根)	茎・葉を取り除く
C	細い根(側根)	葉・茎・主根を取り除く
D	葉と茎	根を取り除く

・亜成体と無性芽(クローン体)の2種
・ナイロン袋に入れて沈水流下水下に設置
⇒2週間後の状態調査

8

では、観察実験ですが、三つ行っております。一つ目が抜き取り後の再生実験ということで、沈水形のオオカワヂシャを抜きまして、その後に2週間から1か月後ぐらいの観察を行いました。タイプとしては、沈水形の根があるタイプ、根を残したタイプと、ないタイプ。そして、無性芽クローン体の根がない状態で、三つの条件で観察いたしました。

二つ目が、部位の再生実験という形で、これも沈水形のオオカワヂシャをとってきまして、各部位に分けて、それをナイロンの網の袋に入れて、同じ場所で2週間ほど状態を観察いたしました。

③. 抜き取り後の再生実験(安定環境下)



実験場所: 柿田川中流域ビオトープ
水深: 約20cm



	タイプ	沈水形(亜成体)
A	無性芽加-ン体	葉～根の1株全体
B	無性芽加-ン体	葉から茎(根除く)
C	無性芽加-ン体	太い根(主根)
D	無性芽加-ン体	細い根(側根根毛)
E	沈水形亜成体	葉～根の1株全体



移植元のラメット集合体
(沈水+無性芽クローン体)



A. 葉～根、B. 葉～茎(無性芽クローン体)



C. 太い根(主根中心)



D. 細い根(側根・ひげ根中心)



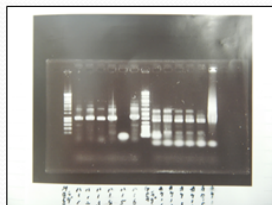
E. 葉～根(沈水形)

9

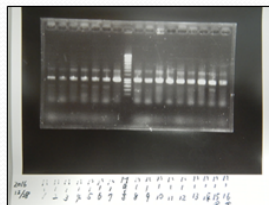
3つ目が、安定環境下においてどうなるかということ調べました。これも流水・沈水域でとってきましたオオカワヂシャ、この左下写真がラメット集合体になっていますが、クローンから若干育った亜成体のものが含まれている一つの集合体になります。これを分離いたしまして、葉から根まであるもの、葉から茎、太い根、細い根というような形で、この五つの条件で観察しております。

2. DNA解析実験

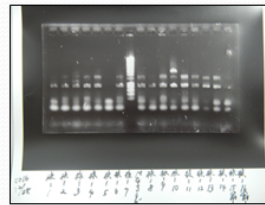
①. DNA抽出 紫外線写真(電気泳動)



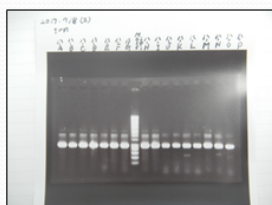
第1回抽出結果2016年6月12日
左: 1-6葉緑体DNA、右: 7-16核DNA



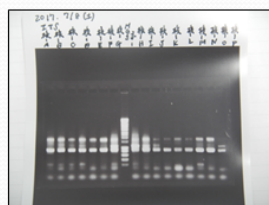
第2回抽出結果2016年12月28日 左: ハ1-16 葉緑体DNA



右: 核1-16 核DNA



第3回抽出結果 2017年7月8日 左: ハA~P 葉緑体DNA 右: 核A~P 核DNA





Genomics

Oligonucleotide Data Sheet

二河 成男 様

受付番号 1160795

製品名 PCReady™ プライマー

受注日 2016/5/25

No.	Name	Sequence(5' to 3')	OD	nmol	base	MW	T _{m1}	T _{m2}	Purif.	μM
1	trnLSF	CGAAATCGGTAGACGCTACG	2.0	9.0	20	6151	57	56	OPC	50
2	trnLFR	ATTGAACTGGTACACGAG	2.0	8.9	20	6181	53	51	OPC	50
3	ITS18D	CACACCGCCCTCGCTACCGATTG	2.6	9.8	27	8117	69	67	OPC	50
4	ITS28C	CGCCGTACTAGGGGAATCCTTTAAG	2.3	7.7	27	8315	63	61	OPC	50

使用プライマー

葉緑体DNA: TrnL5F
核DNA: ITS18D

10

続きまして、DNA解析の実験なんですけど、まず、こういったことは初めてやりました。DNA抽出は、一番最初の一つだけとれなかったというのはあるんですけど、2回目、3回目を実施して、全部で35サンプルぐらいとれました。この真ん中のサンプルは抽出の成否確認の意味で、トマト等を使っているものなので、真ん中のサンプルは違います。

使用プライマーに関しましては、葉緑体DNAのほうが、TmL5F、核のほうがITS18Dを使っております。

②. シーケンス解析(サンプル)

DNAシーケンス解析オーダーリスト 依頼先:株式会社ファスマック

葉緑体			核		
No	解析名	採取地・生長・種類	No	解析名	採取地・生長・種類
1	Kj_Ao_trnLSF	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ	1	Kj_Ao ITS18D	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ
2	Kj_Ch_trnLSF	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ?	2	Kj_Ch ITS18D	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ?
3	Kj_Dk_trnLSF	A-1-①(柿田)・A48・亜成体・ガデシヤ?	3	Kj_Dk ITS18D	A-1-①(柿田)・A48・亜成体・ガデシヤ?
4	Kj_Ek_trnLSF	A-1-①(柿田)・亜成体・ガデシヤ	4	Kj_Ek ITS18D	A-1-①(柿田)・亜成体・ガデシヤ
5	Kc_Fo_trnLSF	A-1-①(柿田)・クローン体(無性芽)・オオガデシヤ	5	Kc_Fo ITS18D	A-1-①(柿田)・クローン体(無性芽)・オオガデシヤ
6	Kc_Gk_trnLSF	A-1-①(柿田)・クローン体(無性芽)・ガデシヤ?	6	Hj_Ch ITS18D	A-2-③(潤井)・亜成体・オオガデシヤ?
7	Hj_Ch_trnLSF	A-2-③(潤井)・亜成体・オオガデシヤ?	7	Oj_Ao ITS18D	C-1-⑤(落合)・亜成体・オオガデシヤ
8	Oj_Ao_trnLSF	C-1-⑤(落合)・亜成体・オオガデシヤ	8	Kc_5k ITS18D	A-1-①・亜成体・ガデシヤ(6月抽出サンプル)

第1回シーケンス解析依頼 オーダーリスト

葉緑体			核		
No	解析名	採取地・生長・種類	No	解析名	採取地・生長・種類
1	Aa_Ak_trnLSF	A-3-④(明日見)・成体・ガデシヤ	1	Aa_Ak ITS18D	A-3-④(明日見)・成体・ガデシヤ
2	Mj_Ek_trnLSF	C-1-②(馬込)・亜成体・ガデシヤ	2	Mj_Ek ITS18D	C-1-②(馬込)・亜成体・ガデシヤ
3	Ia_Dk_trnLSF	C-2-②(今之浦)・A48・成体・ガデシヤ	3	Ia_Dk ITS18D	C-2-②(今之浦)・A48・成体・ガデシヤ
4	Oj_Eo_trnLSF	C-3-③(太田)・亜成体・オオガデシヤ	4	Oj_Eo ITS18D	C-3-③(太田)・亜成体・オオガデシヤ
5	Ka_Gk_trnLSF	A-1-①(柿田)・成体・ガデシヤ	5	Ka_Gk ITS18D	A-1-①(柿田)・成体・ガデシヤ
6	Ka_Hh_trnLSF	A-1-①(柿田)・成体・オオガデシヤ?	6	Ka_Hh ITS18D	A-1-①(柿田)・成体・オオガデシヤ?
7	Ka_Jo_trnLSF	A-1-①(柿田)・成体・オオガデシヤ	7	Ka_Jo ITS18D	A-1-①(柿田)・成体・オオガデシヤ
8	Kc_Jh_trnLSF	A-1-①(柿田)・クローン体(無性芽)・オオガデシヤ?	8	Kc_Jh ITS18D	A-1-①(柿田)・クローン体(無性芽)・オオガデシヤ?
9	Kj_Kk_trnLSF	A-1-①(柿田)・亜成体・ガデシヤ	9	Kj_Kk ITS18D	A-1-①(柿田)・亜成体・ガデシヤ
10	Kj_Lh_trnLSF	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ?	10	Kj_Lh ITS18D	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ?
11	Kj_Mh_trnLSF	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ?	11	Kj_Mh ITS18D	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ?
12	Kj_Nh_trnLSF	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ?	12	Kj_Nh ITS18D	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ?
13	Kj_Oo_trnLSF	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ	13	Kj_Oo ITS18D	A-1-①(柿田)・亜成体・オオガデシヤ
14	Kc_gk_trnLSF	A-1-①(柿田)・クローン体(無性芽)・ガデシヤ	14	Kc_gk ITS18D	A-1-①(柿田)・クローン体(無性芽)・ガデシヤ
15	Wj_ao_trnLSF	A-2-②(漢玉)・亜成体・オオガデシヤ	15	Wj_ao ITS18D	A-2-②(漢玉)・亜成体・オオガデシヤ
16	Yj_co_trnLSF	B-2-⑥(矢川)・亜成体・オオガデシヤ	16	Yj_co ITS18D	B-2-⑥(矢川)・亜成体・オオガデシヤ

第2回シーケンス解析依頼 オーダーリスト

11

こちらが、シーケンス解析のサンプルですが、全部で24サンプルオーダーいたしました。こちらの読み方ですが、最初のKというのが柿田川になります。潤井川は近くの羽衣湧水というところからとってきましたからH、落合川はOというような形で、アルファベットはそういった名前をつけております。続いてのjとかcというのが、jが亜成体、ジュブナイルですね。cがクローン体、aがアダルトという形で成体です。その後のアルファベットがとれたところの数や順番をアルファベットで表していますが、その後の小文字に関しては、oがオオカワデシヤであり、kがカワデシヤ、hがホナガカワデシヤと、私が目で見て判断した分類になります。

下の1番ですが、こちら明日見湖でとってきたカワデシヤになるんですが、実は柿田川のカワデシヤというのが、どうも葉の鋸歯があまり目立たないタイプで、ほんとうにこれがカワデシヤかという疑いがあったもので、明日見湖のサンプルというのは非常に鋸歯がぎざぎざしておりまして、間違いなくカワデシヤだろうということで、これを基準に見ております。

4. 結果

1. 観察実験

①. 抜き取り後の再生実験

●抜き取り前

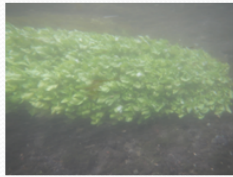


A. 沈水形亜成体 抜き取り(根残なし)

●抜き取り後



●1カ月経過後



B. 沈水形亜成体 抜き取り(根残あり)



C. 無性芽クローン体 抜き取り(根残なし)



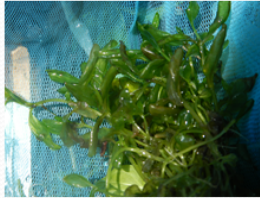
Bは根が残っていたにもかかわらず再生しない⇒A、Cの再生は他個体が流れ着いた可能性あり

12

結果ですが、1 番目の観察実験の抜き取り後の再生実験ですが、抜き取り前、抜き取り後、1 カ月経過という形で、残根あり、なし、それからクローンの残根なしになります。結果として、ちょっと意外というか、失敗してしまったかなというのがあるんですが、根が残っているタイプだけ再生しなかったということで、これを推測すると、他個体が流れ着いた可能性もあるんじゃないかということが挙げられます。

②. 部位(断片)再生実験

A. 葉から根



B. 葉から茎(根なし)



C. 主根(太い根)



D. 側根・ひげ根(細い根)



調査対象: 無性芽クローン体

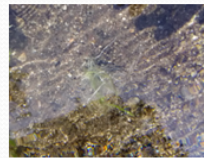
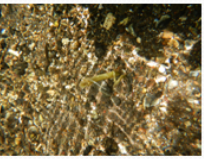


部位(A~D)からの再生は認められなかった。

13

続きまして、部位の再生実験は、この無性芽クローン体を部位に分けて入れたんですが、2週間後、全部溶けてなくなってしまっていました。これを推測すると、かなり流速の速いところに置きましたので、袋の中で植物体がこすれて傷つき腐ってしまったのではないかと考えられます。

③. 抜き取り後の再生実験(安定環境下)

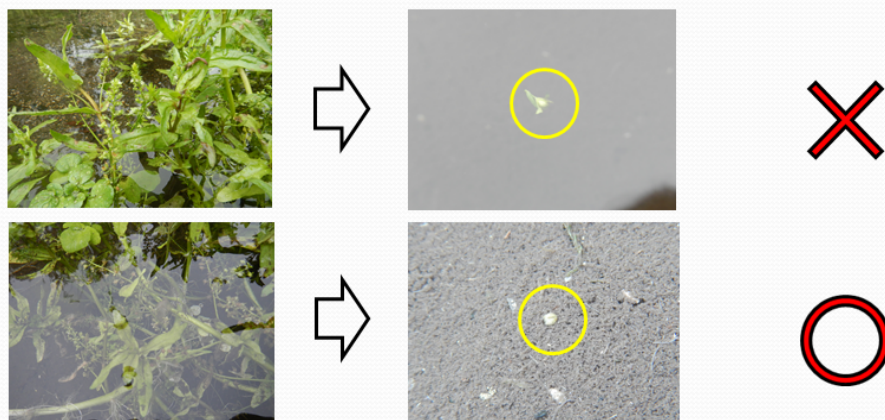
無性芽クローン体				沈水形
A. 葉～根1株全体	B. 葉から茎(根なし)	C. 主根(太い根)	D. 側根・ひげ根(細い根)	E. 葉～根1株全体
				
↓				
			確認できず	
○	○	×	×	○

根からの再生は認められず。葉と茎が残っている場合は再生確認。茎の節から多くの不定根の発生を確認。

14

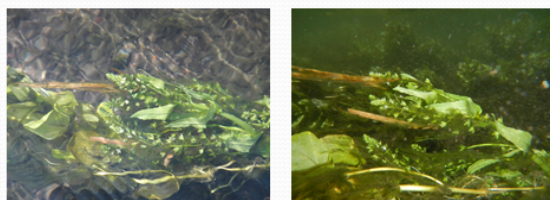
安定環境下に置いたものに関しましては、この五つあるんですが、結果的には葉と茎が残っているものだけ再生、生長したということで、根は太くても細くてもだめでした。よく見ると、茎の節から多くの不定根が発生しているのを確認できました。

④. 追加実験（種子沈水・水底定着実験）



上:カワヂシャ湿生タイプ、下:カワヂシャ抽水タイプ 柿田川2017年10月28日

流水・沈水域での開花個体の確認



カワヂシャ沈水タイプ 右:同, 水中写真 柿田川2017年10月28日

※ 流水・沈水域での有性繁殖の可能性

- ・種子沈水・水底定着(水中開花・結実の場合)
- ・流水・沈水域で開花結実している個体を確認
- ・常態化⇒水底に種子が無尽蔵供給される

15

これは途中で思いついたというか、追加実験なんですけど、有性繁殖の可能性もあるんじゃないかということで、種子の沈水、水床に定着できるかどうかというところを観察いたしたものです。湿性域のものに関しましては、結実した種が落ちても、浮力だけでなく、表面張力もあるためずっと浮いたままになります。ですが、結実しているもので水の中に入っているものに関しましては、しっかりと水床に沈むというのが確認できました。そして、流水の沈水域でもこのように開花している、結実しているものというのが秋終わりのほうで確認されております。

この結果から言えることが、水床に定着できるため、礫の間に入り込めば流されずに有性繁殖ができる。これが常態化してれば、無尽蔵に種子が供給されるんじゃないかということで、有性繁殖の可能性を大きくいたしました。

2. DNA実験結果

シーケンス解析結果

1. 全体結果

	DNA領域	塩基配列	内容	備考
1	葉緑体(trn)	成功	大きく2種類が存在	カワヂシャとオオカワヂシャと判断
2	核(ITS)	成功	2種類の混じった遺伝情報あり	交雑種や地域差による可能性

2. オオカワヂシャ

シーケンス 解析番号	オオカワヂシャ サンプル名 (サンプル詳細)	DDBJ登録No: KK061038 登録名: Veronica salina 上段: Identities (%) 下段: Gaps (%)	DDBJ登録No: KJ829432 登録名: Veronica anagallis-aquatica 上段: Identities (%) 下段: Gaps (%)	DDBJ登録No: KJ630584 登録名: Veronica michauxii 上段: Identities (%) 下段: Gaps (%)
1-①	Kj_AoJTS18D (柿田川 亜成体_A オオカワヂシャ)	663/664 (99%) ~ (0%)	679/681 (99%) 1/681 (0%)	718/734 (97%) 2/734 (0%)
1-⑤	Kc_FoJTS18D (柿田川 クローン体_F オオカワヂシャ)	664/665 (99%) 1/665 (0%)	680/682 (99%) 2/682 (0%)	719/734 (97%) 2/734 (0%)
1-⑦	Oj_LoJTS18D (落合川 亜成体_A オオカワヂシャ)	661/665 (99%) 1/665 (0%)	676/681 (99%) 2/681 (0%)	720/735 (97%) 3/735 (0%)
2-④	Oj_EoJTS18D (太田川(磐田) 亜成体_E オオカワヂシャ)	662/664 (99%) ~ (0%)	678/681 (99%) 1/681 (0%)	718/734 (97%) 2/734 (0%)
2-⑥	Ka_JoJTS18D (柿田川(上流) 成体_I オオカワヂシャ)	664/664 (100%) ~ (0%)	680/681 (99%) 1/681 (0%)	719/734 (97%) 2/734 (0%)
2-⑩	Kj_OoJTS18D (柿田川(中流) 亜成体_O オオカワヂシャ)	664/664 (100%) ~ (0%)	680/681 (99%) 1/681 (0%)	719/734 (97%) 2/734 (0%)
2-⑬	Yj_cJTS18D (矢川緑地(2016) 亜成体_c オオカワヂシャ)	664/664 (100%) ~ (0%)	680/681 (99%) 1/681 (0%)	719/734 (97%) 2/734 (0%)

16

DNA実験のほうの結果ですが、まずシーケンス解析の結果を大きく見ますと、全体結果は、葉緑体のほうでは大きく二つの種類があることがわかりました。これはカワヂシャとオオカワヂシャだろうと。核を見てみますと、それらの混じった情報もあるんじゃないかということで、交雑種、もしくは地域差による可能性が考えられます。

細かく見ていきますと、オオカワヂシャ、これはこちらが柿田川の2サンプルと矢川緑地、矢川湧水のもの一致しておりました。こちら一応、DDBJ登録のベロニカサリナというものと比べたんですが、これはシノニムだと考えております。上がアイデンティティーで、下がギャップになります。そのほかに、柿田川の1サンプルと落合川のもの一致している結果となりました。

3. カワヂシャ・ホナガカワヂシャ

シーケンス 解析番号	カワヂシャ・ホナガカワヂシャ サンプル名 (サンプル詳細)	KJ829436 Veronica anagallis-aquatica	KJ829479 Veronica kaiserii	KJ829478 Veronica kaiserii
		上段: Identities (%) 下段: Gaps (%)	上段: Identities (%) 下段: Gaps (%)	上段: Identities (%) 下段: Gaps (%)
1-②	Kj_Ch.JTS18D (柿田川 亜成体_C ホナガカワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
1-③	Kj_Dk.JTS18D (柿田川 亜成体_D カワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
1-④	Kj_Ek.JTS18D (柿田川 亜成体_E カワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	672/679 (98%) 1/679 (0%)	671/679 (98%) 1/679 (0%)
1-⑥	Hj_Ch.JTS18D (羽衣湧水 亜成体_C ホナガカワヂシャ)	632/636 (99%) 2/636 (0%)	675/683 (98%) 4/683 (0%)	674/683 (98%) 4/683 (0%)
1-⑩	Kc_5k.JTS18D (柿田川 クローン体_5カワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
2-①	Aa_Ak.JTS18D (明日見湖(山梨)成体_A カワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
2-②	Mj_Bk.JTS18D (馬込川(浜松) 亜成体_B カワヂシャ)	631/634 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)	672/679 (98%) -(0%)
2-③	Ia_Dk.JTS18D (今之浦川(磐田)成体_D カワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	659/665 (99%) 1/665 (0%)	658/665 (98%) 1/665 (0%)
2-⑤	Ka_Gk.JTS18D (柿田川(上流) 成体_G カワヂシャ)	629/634 (99%) -(0%)	670/679 (99%) -(0%)	669/679 (98%) -(0%)
2-⑨	Kj_Kk.JTS18D (柿田川(中流) 亜成体_K カワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
2-⑩	Kj_Lh.JTS18D (柿田川(中流) 亜成体_L ホナガカワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
2-⑩	Kj_Mh.JTS18D (柿田川(中流) 亜成体_M ホナガカワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
2-⑪	Kj_Nh.JTS18D (柿田川(中流) 亜成体_N ホナガカワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
2-⑪	Kc_gk.JTS18D (柿田川(2016) 亜成体_g カワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)
2-⑪	Wj_ao(h).JTS18D (湧玉池(2016) 亜成体_a ホナガカワヂシャ)	632/634 (99%) -(0%)	674/679 (99%) -(0%)	673/679 (99%) -(0%)

17

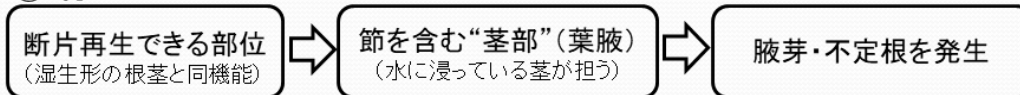
カワヂシャとホナガカワヂシャだろうと考えられていたものに関しましては、ほとんどがカワヂシャだったということで、参考に基準とした明日見湖のものとこれだけ一致したということです。

違いがあるのが、潤井川の隣の羽衣湧水のものと馬込川のサンプルですが、これは若干塩基が違っていたという程度です。では、ホナガカワヂシャ、交雑種らしきものがないかと言いますと、一つだけ、5塩ほどの置換が起きているものが柿田川のサンプルにありました。これがホナガカワヂシャでないのかと考えました。

5. 考 察

目的1. オオカワヂシャ沈水形繁殖メカニズム

①: 再生



腋芽(不定根)の発生状況



葉腋からの腋芽発生 柿田川 2017年6月24日



腋芽・不定根
多



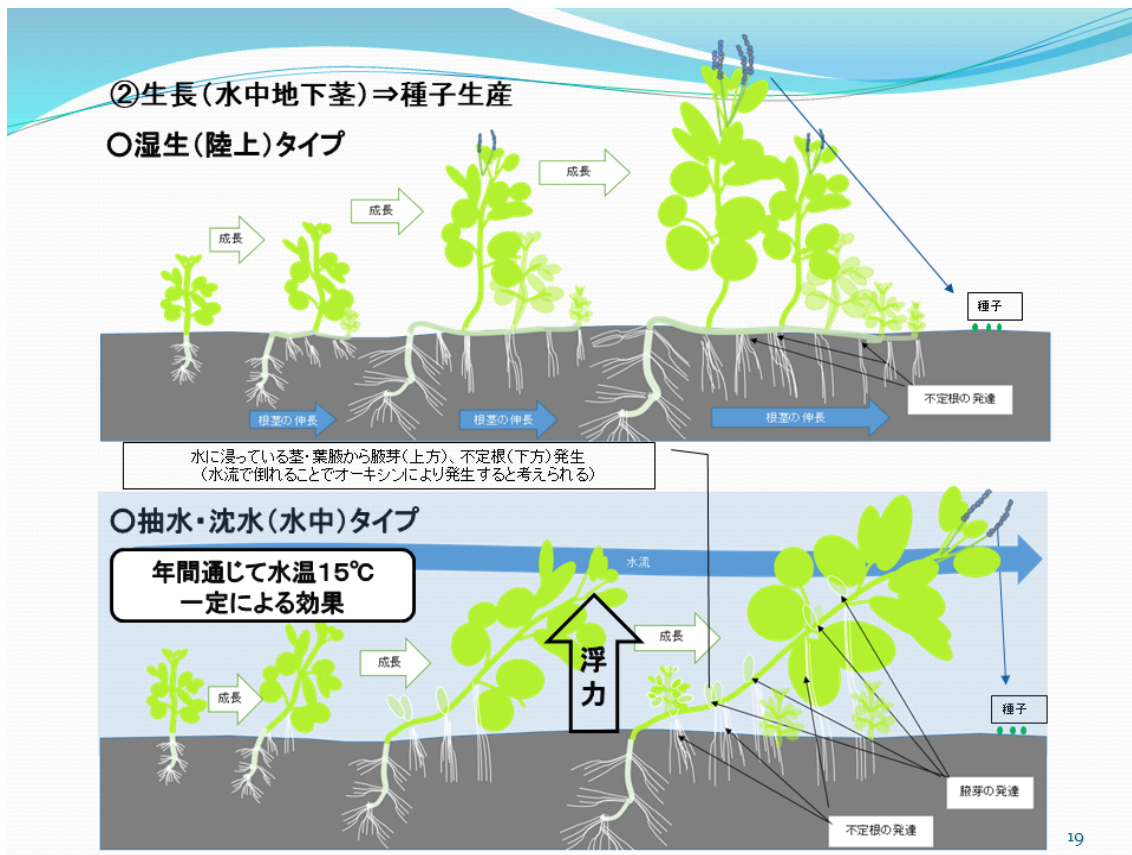
腋芽・不定根
少

左:ビオトープ移植2週間無性芽状態の成体 右:ビオトープ内に生えていた垂成体 柿田川 2017年6月24日

18

考察ですが、オオカワヂシャ沈水形繁殖メカニズム、再生の部分で考えますと、左上の写真が湿生域のオオカワヂシャであり、上下逆になっているんですが、根茎の部分を見ると、鉛直方向で太陽方向の上側に芽が出ておりまして、地中方向である下側に不定根が出ているということです。これが水中でも起こっているんじゃないかということで、水中のビオトープに移したもので見てみますと、葉腋から腋芽が発生すると、上に芽が出て、下に根が出るという形で、拡大すると、このような節から腋芽・不定根が出ているというのを確認できました。

もともこの場所に繁殖していた個体が右側ですが、深いところからとってきたサンプルに関しましては、同じところに2週間置いただけで不定根と腋芽が大量に発生している結果となり、浅い場所に繁殖していた個体と、深い場所から移植したサンプルの不定根・腋芽の発生量の違いが観察できました。



これをイメージにいたしますと、生長なんですが、湿性、陸上タイプのものというのが、まず芽が出ます。ですので、生長するに従って、風雨にさらされて倒れていく。倒れていきますと、根がまた出てきまして、根茎、地下茎が伸びていくという形になります。これと同じように、水中でも何らかの形で定着いたしましたら、浮力がありますので浮き上がるんですけど、水流がかなりありますので、倒されていく。1メートルぐらいに茎が伸長するんですが、倒されているところから土壤に接触して、上側に腋芽が発生して、下に不定根が発生していく。そういった形で繁殖していくと考えられます。また、仮に十分生長し、先端が水面にできれば、開花結実して種子を落とせるということです。

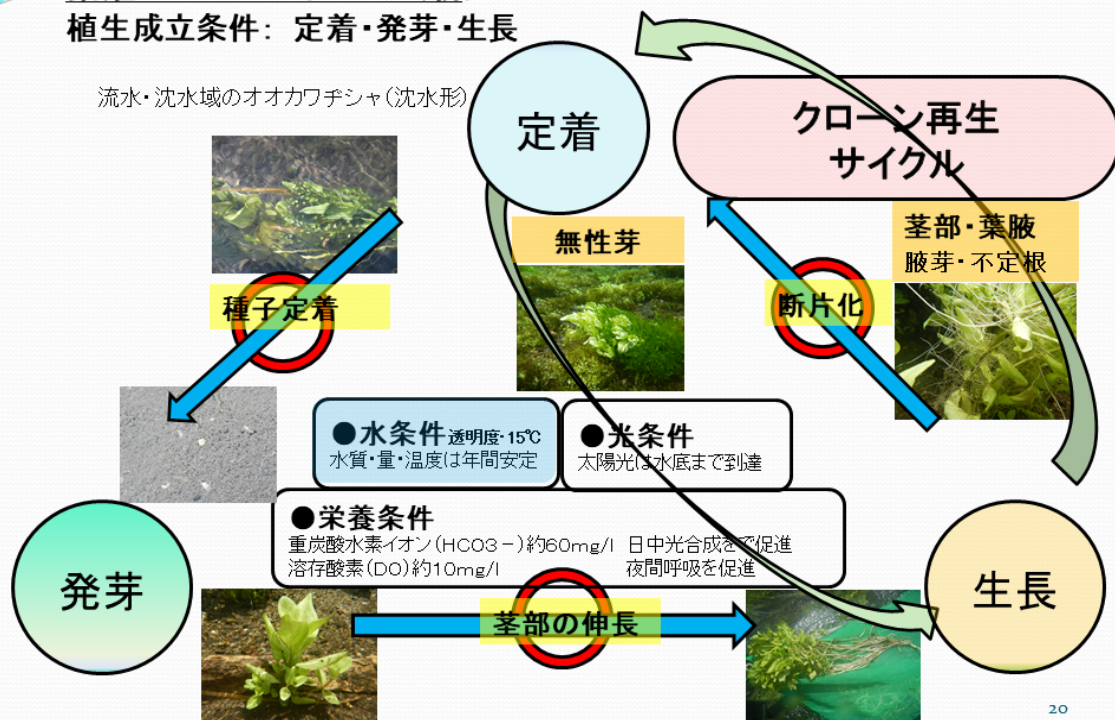
こちらは、本来、植物ホルモンのオーキシシンの作用によって、地上タイプだと倒れた茎の上側に芽、下側に根が発生しますが、水中でも水の勢いで全体が倒されることで、同じように茎の上側に腋芽、下側に不定根が発生したと考えられます。

これは、湿生タイプというのは一年生草本ですので、1年で終わりなんですが、抽水・沈水タイプというのは、多年生化して複数年続くということです。

繁殖メカニズムイメージ(新)

植生成立条件: 定着・発芽・生長

流水・沈水域のオオカワヂシャ(沈水形)



新しいメカニズムのイメージを三つの条件に当てはめると、水条件、光条件、栄養条件は変わりませんが、クローン再生サイクルが、茎の葉腋から発生した腋芽、不定根が定着して、無性芽によって広がっていく。

有性繁殖の可能性もある。そして発芽した場合、茎が伸び続け、水流で倒されることで水底に接触し根茎も伸びていくクローン再生だけでなく有性繁殖を含めて、定着、発芽、成長の3要素を満たしたと言えます。このことは、恵まれた柿田川環境・条件に支えられているということに尽きます。

目的2-1. 種間交雑種の同定

オオカワチシャ・カワチシャは同定

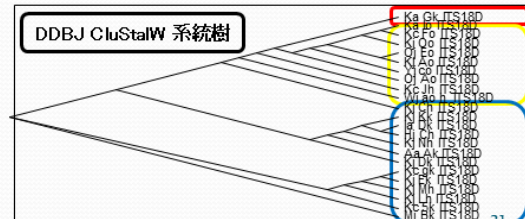
交雑種同定の確証データ得られず

ホナガカワチシャの可能性 5塩基違い(置換) KJ829436

人工的な交雑種を作り形態比較が必要

[illegible]

2-5 Ka Gk ITS18D 柿田川(上流)成体Gカガシマ?	Query: 577 cat tacc catcc agct agct tacc tacc tacc catcc gat gat cag
KJ829436	Subject: 481 cat tacc catcc agct agct tacc tacc tacc catcc gat gat cag
1-3 KJ_Kd ITS18D 柿田川 量成体Oカガシマ	Query: 577 cat tacc catcc agct agct tacc tacc tacc acat cag gat gtag cag
KJ829436	Subject: 481 cat tacc catcc agct agct tacc tacc tacc acat cag gat gtag cag
2-12 KJ_Og ITS18D 柿田川(中流)量成体Oオカガシマ	Query: 577 cat tacc cccccc agct agct agct agct agct agct agct agct agct
KJ829436	Subject: 480 cat tacc gccc agct agct agct agct agct agct agct agct agct
2-5 Ka Gk ITS18D 柿田川(上流)成体Gカガシマ?	Query: 637 agt tgc tacc tacc agtc gat tgc gat gct agt agt agt agt agt agt
KJ829436	Subject: 541 agt tgc tacc tacc agtc gat tgc gat gct agt agt agt agt agt agt
1-3 KJ_Kd ITS18D 柿田川 量成体Oカガシマ	Query: 637 agt tgc tacc tacc agtc gat tgc gat gct agt agt agt agt agt agt
KJ829436	Subject: 541 agt tgc tacc tacc agtc gat tgc gat gct agt agt agt agt agt agt
2-12 KJ_Og ITS18D 柿田川(中流)量成体Oオカガシマ	Query: 637 agt tgc tacc tacc agtc gat tgc gat gct agt agt agt agt agt agt
KJ829436	Subject: 540 agt tgc tacc tacc agtc gat tgc gat gct agt agt agt agt agt agt



続いて、種間交雑種の同定ですが、オオカワヂシャとカワヂシャは同定できたと考えられるんですが、交雑種の同定というのは、今回は確証データは得られずという形で終わりました。

なぜかといいますと、5塩基ほど置換があるんですが、一つだけ、右上の箇所がオオカワヂシャと共通置換ですが、ほかの箇所はカワヂシャと共通置換、双方の共通置換、単独置換箇所があるというだけであり、この5塩基異なる置換だけではやはり同定できたとは断言できない。

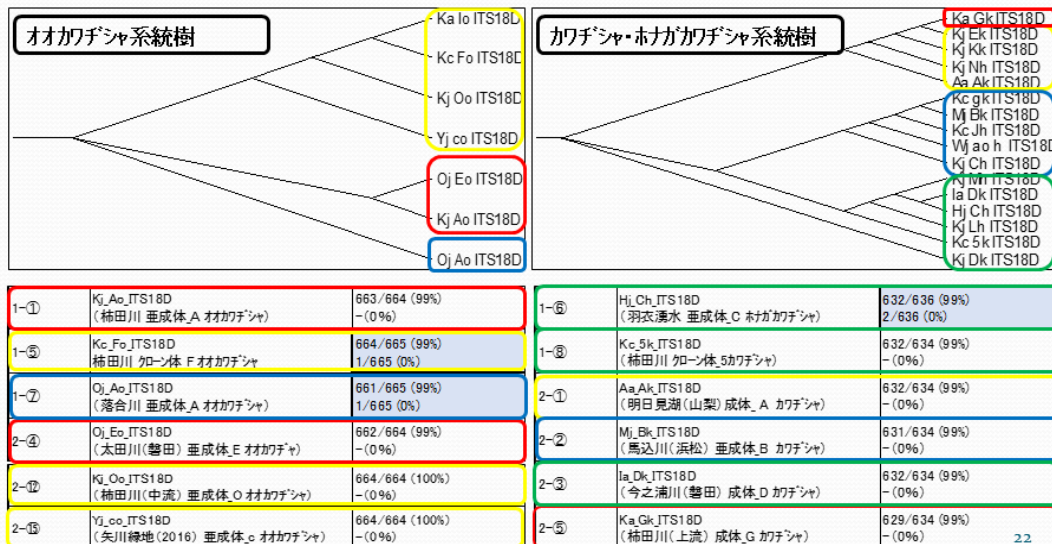
DDBJのClustalWの系統樹に当てはめても、どちらかという、オオカワヂシャに近いという位置ですが、700bp程度の塩基配列だけで見ているだけのため、やはり確証を得られずということで、これをもしやり遂げるのであれば、人工的な交雑種をつくり出して、形態比較が必要だと考えました。

目的2-2. 他地域との遺伝関係

※ 柿田川と他地域の共通性、柿田川内での違いを確認

高い遺伝的共通性は近隣との遺伝的交わりを示唆。種子・断片の供給元・媒介は？（風、鳥、人為）

DDBJ塩基配列データ(カワヂシャ類)には多くのシノニムが存在、ITS塩基配列で見ると、世界的に分布し多様化したカワヂシャ類は地域差や交雑種まで含める様々。交雑種同定には人工的なモデルとの比較が必要。



また、他地域との遺伝関係ですが、オオカワヂシャ、このような形で柿田川のもの、また柿田川と太田川のものという形で、全部で三つほどあることがわかりました。そして、カワヂシャとホナガワヂシャのほうもこのような形で大きく三つに分かれております。

これは何を言っているかといいますと、柿田川と他地域との共通性、そして柿田川内でも違いがあるということで、高い遺伝的共通性があり、さらに近隣との交わりがあるんじゃないかと。種子とか断片が供給されているということでもあります。

DDBJの塩基配列を見ると、カワヂシャ類というのは多くの種類があって、多くのシノニムも存在する。今回ITSの塩基配列で見たんですが、世界中に分布したカワヂシャ類というのは、地域差、交雑種まで含めると、さまざま、やはり同定には人工的なモデルが必要なんじゃないかと考えました。

5. おわりに

柿田川湧水環境がオオカワヂシャに適合、沈水域まで拡大し繁殖
水環境(量・質・温度)・湧水特有(流入出小・氾濫小)・オオカワヂシャ性質・構造

近隣河川・湧水にもオオカワヂシャ繁殖 ⇒ 種子・断片の供給元
自然の湧水環境を維持しての根絶は極めて困難

柿田川が存続する限り、保全活動が必要
優占種減、環境変化により新たな影響(ノハカタカラクサ・トリボネマ等)

外来種問題・外来種も在来種同被害者、責任は持ち込んだ人間

入れない・捨てない・拡げない！ 予防三原則の徹底

終わりにですが、本来、生物が環境に合わせて適応すると考えられますが、柿田川の湧水環境は、とても生物からみて恵まれた環境で繁殖しやすく、環境がオオカワヂシャに適合していたとも言えるほどです。その要因に柿田川の水環境、特に1年中変わらない15℃という水温が考えられます。沈水域まで拡大し繁殖した。水環境、特に温度が上げられます。そして、湧水特有、柿田川の特有なんです、流入出が少ない、氾濫が少ないということです。また、オオカワヂシャのさまざまな繁殖方法という性質とその構造が上げられます。

そして、近隣河川にもオオカワヂシャが繁殖しているということで、こちらから種子とか断片の供給がされるということで、自然環境を維持しての根絶というのは非常に困難じゃないかと考えます。ですので、柿田川が存続する限り、保全活動は永久的に継続していく必要があるということです。また、除去活動の効果で今回、オオカワヂシャは一時的に減少してきているんですが、逆に、優占種が減少することによって新たな変化、ノハカタカラクサとかトリボネマなんかはかなり増えております。

外来種問題を考えますと、外来種も在来種と同様に被害者であると。持ち込んだ人間に責任があると考えます。ですので、入れない、捨てない、広げないという外来種の予防3原則の徹底が必要かと考えます。



ご清聴ありがとうございました。(拍手)

【加藤】 しっかりオオカワヂシャに向き合われて、丁寧なお仕事をされたと思います。随分お聞きしたいことがたくさんありますが、いかがでしょうか。

まず私のほうから。ちょっと聞き落としたんですが、流れがないところというのは結果的には生長が遅いんですか。

【遠藤】 遅いというか、移植してきたものになるんですけど、非常に流れの速いところのかなり生長しているものというのは、やはり茎がすごい伸びていまして、そこから生えている根というのも非常にたくさんある。浅いところというのはすぐ抜き取られてしまいますので、そこまで観察ができていないんですけど、深くて流れの強いところほど残されているという要因はあるんですが、そういった腋芽とか不定根が非常に生えているということが挙げられます。

【加藤】 あと、遺伝子解析のところは少しご専門外の皆さんにはわかりにくかったかもしれないんですけど、大ざっぱに言えば、柿田川独特のものと、それから近隣の例えば浜松であるようなものと、それから東京の一部、それぞれが混在しているということだったんですが、ちょっと難しいんですけど、大ざっぱに量的には今、柿田川で一番優占しているのはどのタイプだということになりますでしょうか。

【遠藤】 オオカワヂシャに関しましては、これで見える限りですけど、東京のものと近いのかなと。

【加藤】 東京人が持ち込んだ。

あともう一つ、これは今、研究がまだこれからも続けられるだろうと期待しているんですけども、

3種、大ざっぱに言って、三つのグループの生長速度はどうなんでしょうか。

【遠藤】 すいません、そこはまだ調べておりません。

【加藤】 直感的にどうですかね。

【遠藤】 実は、真冬の環境でも育っているというのは柿田川しかなくて、矢川とか久留米の湧水なんかはそれほど深くないです。真冬になると、かなりなくなってしまうというのがあります。

湧水河川独特なんです。鬼怒川とか長野の河川とか、きれいな河川にも生えるんですけど、やはり春から夏、秋にかけてで、真冬の場合ですとあまり生えないということ、これは温度が関係していると思うんですが、また、普通の河川ですと、やはり氾濫してしまいますので、根こそぎ流されてしまう場合があって、なかなか見つからないというのがあります。

【加藤】 この間、19号の後、水位が随分上がりましたが、流出した水草の割合というか、何かごらんになりましたか、情報を。

【遠藤】 いえ、そこはまだ確認していないんですが、柿田川は氾濫といっても、ふだんから流れがあって、それが濁流になるわけじゃなくて、水草というのはそれほど流れていないんじゃないかと考えます。

【加藤】 じゃ、柿田川に冬がないことが悪い、こういうのが一つのお話かもしれません。

どうぞ、どんなことでも、せっかくの機会ですので、ご質問ください。どうぞ。

【岩田 智也 会員（山梨大学 准教授）】 山梨大学の岩田です。駆除しても同じ場所でまた再生してくるということだったんですけども、でも、腋芽からという話が最後ありましたけど、その関係はどういうふうに考えられているのでしょうか。

【遠藤】 根から再生はしないんですが、横に伸びた茎というか、根茎が残っていて、そこが根でなく、根茎から腋芽と不定根が出ている。それを取り残しているということじゃないのかなと考えております。

【岩田】 そうしますと、根茎までをしっかりと除去すれば、ある程度は抑えることができる。

【遠藤】 そうですね。ただ、有性繁殖に関しましてはどうしようもないというのがあるんですが。

【岩田】 わかりました。ありがとうございます。

【加藤】 クローンと有性とのスイッチングというか、割合というのはいくらか環境との要因の関係が見えますか。何か関係していそうかな。

【遠藤】 ちょっとそこまでは調べ上げていないんですが、ただ、湿性域のものとか抽水域のものからかなりたくさん種が出ますので、その陸地に近いものからとっていけば、自然に減っていくとは思いますが、それでも残っているのであれば、クローンなのかなと考えております。

【加藤】 どうぞ、竹門さん。

【竹門 康弘 会員（京都大学防災研究所 准教授）】 先ほどの種子が発芽して、定着できた場合とで

きていなかった場合の違いが何だったのかというのを聞き漏らしちゃったんですけど、種子のほうで実験されていますよね。あれの差が出た要因って何だったんですか。

【遠藤】 最初から水に浸かって結実しているのか、空中にあるのかということだと思います。

【竹門】 最初から水にある種というの也有ると。

【遠藤】 はい。浸水しているものという。雨とかが降って水かさが上がって、水の中にあるのか、それとも水中のまま結実しているのか、ちょっとわからないんですけど。

【竹門】 花自体は空中じゃないと結実しないですね。でも、一旦咲いて、受精した胚芽が水中にあった場合と、そのまま空中にあった場合の違いということ。

【遠藤】 はい、そういうことで捉えています。

【竹門】 それは結果的に種子の比重に効いてくるということですかね。

【遠藤】 そうです。比重も含めて、表面張力もあると思うんですが。

【竹門】 ということは、もし、しっかりと根茎を除去できたとしても、種が残ったらだめとさっきおっしゃっていましたが、種の比重が比較的小さいものであるとすれば、表面の土壌を攪拌したら、流れに乗って流下するということはあり得るということですか。

【遠藤】 そうだと思っています。

【竹門】 そうだとすると、根絶に向けた努力としては、上流側から生えているところのまず根茎まで含めてしっかりと土壌の中にすき込んで、くしのように入れて、しっかりと根茎までとっちゃうと。ひげ根が残ってもオーケーということですね。

【遠藤】 そうですね。

【竹門】 さらに、そこをくわのようなものでよく攪拌したら、種子は舞い上がって、それで流れる。小さな面積であっても上流から毎年毎年それをやっていったら、下流でしか生息できないということは起こり得ますよね。

【遠藤】 はい。

【竹門】 それも一つの手かなと。

【遠藤】 そうですね。実際に上流から抜き取り等やっているんですけど、上流域も必ず毎年あるんです。

【竹門】 ですから、それがなぜかというのは今回の研究成果でかなり見えてきたんじゃないかなと思いますね。つまり、根っこはあっても出てこないんだけど、ちょっとでも根茎が残っていれば、そこから発芽するので、対策としては、単に抜き取るんじゃなくて、根際についている茎まできれいに取るようにという、そういうやり方が合理的だと。

さらに種子までしっかりと攪拌をして、巻き上げて、土壌に残らないようにするという対策かなというふうに聞いていて思ったんですけど、それを地道にちょっとずつやっていったら。

【加藤】 一気にじゃなくて、順番にというのがよさそうですね。

【竹門】 そうですね。上流からが順番に徹底的にやっていく。幸いなことに、カゼイサマクだとかドウジサンプウのような形で上流に向かっていくということはあまり考えにくいので、徹底的に上から順番にやっていけば、少なくとも囲碁のように陣地は増やしていけるんじゃないかなと思いましたけど。

【遠藤】 ありがとうございます。

— 了 —