

Environment Research and Technology Development Fund

環境省環境研究総合推進費終了研究等成果報告書

小笠原諸島の自然再生における
絶滅危惧種の域内域外統合的保全手法の開発
(4-1402)

平成26年度～平成28年度

Integrated Approach of In-situ and Ex-situ Conservation
of Threatened Species in the Ogasawara Islands

国立研究開発法人 森林総合研究所
東北大学
首都大学東京
神奈川県立生命の星・地球博物館
特定非営利活動法人 小笠原自然文化研究所

平成29年5月

環境省
総合環境政策局総務課環境研究技術室
環境保健部環境安全課環境リスク評価室
地球環境局総務課研究調査室

小笠原諸島の自然再生における
絶滅危惧種の域内域外統合的保全手法の開発
(4-1402)

I. 成果の概要	・・・・・・・・・・	i
1. はじめに (研究背景等)		
2. 研究開発目的		
3. 研究開発の方法		
4. 結果及び考察		
5. 本研究により得られた主な成果		
6. 研究成果の主な発表状況		
7. 研究者略歴		
II. 成果の詳細		
(1) 生物進化に配慮したハビタットの持続的管理手法の開発 (国立研究開発法人 森林総合研究所)	・・・・・・・・・・	1
要旨	・・・・・・・・・・	1
1. はじめに	・・・・・・・・・・	1
2. 研究開発目的	・・・・・・・・・・	2
3. 研究開発方法	・・・・・・・・・・	3
4. 結果及び考察	・・・・・・・・・・	6
5. 本研究により得られた成果	・・・・・・・・・・	2 3
6. 国際共同研究等の状況	・・・・・・・・・・	2 4
7. 研究成果の発表状況	・・・・・・・・・・	2 4
8. 引用文献	・・・・・・・・・・	2 7
(2) 絶滅危惧植物の繁殖成功に配慮した域内保全手法の開発 (首都大学東京)	・・・・・・・・・・	2 9
要旨	・・・・・・・・・・	2 9
1. はじめに	・・・・・・・・・・	2 9
2. 研究開発目的	・・・・・・・・・・	3 1
3. 研究開発方法	・・・・・・・・・・	3 1
4. 結果及び考察	・・・・・・・・・・	3 3
5. 本研究により得られた成果	・・・・・・・・・・	4 4
6. 国際共同研究等の状況	・・・・・・・・・・	4 4
7. 研究成果の発表状況	・・・・・・・・・・	4 4
8. 引用文献	・・・・・・・・・・	4 7
(3) 絶滅危惧昆虫の域内・域外保全および再導入手法の開発 (神奈川県立生命の星・地球博物館)	・・・・・・・・・・	4 9
要旨	・・・・・・・・・・	4 9
1. はじめに	・・・・・・・・・・	4 9
2. 研究開発目的	・・・・・・・・・・	5 0
3. 研究開発方法	・・・・・・・・・・	5 0
4. 結果及び考察	・・・・・・・・・・	5 1
5. 本研究により得られた成果	・・・・・・・・・・	6 1
6. 国際共同研究等の状況	・・・・・・・・・・	6 2
7. 研究成果の発表状況	・・・・・・・・・・	6 2
8. 引用文献	・・・・・・・・・・	6 3

(4) 絶滅危惧陸産貝類の域内・域外保全および再導入手法の開発 (東北大学)	・ ・ ・ ・ ・	6 4
要旨	・ ・ ・ ・ ・	6 4
1. はじめに	・ ・ ・ ・ ・	6 4
2. 研究開発目的	・ ・ ・ ・ ・	6 5
3. 研究開発方法	・ ・ ・ ・ ・	6 6
4. 結果及び考察	・ ・ ・ ・ ・	6 8
5. 本研究により得られた成果	・ ・ ・ ・ ・	7 7
6. 国際共同研究等の状況	・ ・ ・ ・ ・	8 0
7. 研究成果の発表状況	・ ・ ・ ・ ・	8 0
8. 引用文献	・ ・ ・ ・ ・	8 1
(5) 絶滅危惧海鳥の域内保全手法の開発と飼育技術確立のための食性の解明 (特定非営利活動法人小笠原自然文化研究所)	・ ・ ・ ・ ・	8 2
要旨	・ ・ ・ ・ ・	8 2
1. はじめに	・ ・ ・ ・ ・	8 2
2. 研究開発目的	・ ・ ・ ・ ・	8 3
3. 研究開発方法	・ ・ ・ ・ ・	8 4
4. 結果及び考察	・ ・ ・ ・ ・	8 6
5. 本研究により得られた成果	・ ・ ・ ・ ・	9 2
6. 国際共同研究等の状況	・ ・ ・ ・ ・	9 3
7. 研究成果の発表状況	・ ・ ・ ・ ・	9 3
8. 引用文献	・ ・ ・ ・ ・	9 5
III. 英文Abstract	・ ・ ・ ・ ・	9 8

課題名 4-1402 小笠原諸島の自然再生における絶滅危惧種の域内域外統合的保全手法の開発
 課題代表者名 川上 和人 (国立研究開発法人 森林総合研究所 野生動物研究領域
 鳥獣生態研究室 主任研究員)
 研究実施期間 平成26～28年度
 累計予算額 134,496千円 (うち平成28年度: 43,985千円)
 予算額は、間接経費を含む。
 本研究のキーワード 域外保全、域内保全、遺伝的攪乱、侵略的外来種、再導入、植栽、生息地管理、絶滅危惧種

研究体制

- (1) 生物進化に配慮したハビタットの持続的管理手法の開発 (国立研究開発法人森林総合研究所)
- (2) 絶滅危惧植物の繁殖成功に配慮した域内保全手法の開発 (首都大学東京)
- (3) 絶滅危惧昆虫の域内・域外保全および再導入手法の開発 (神奈川県立生命の星・地球博物館)
- (4) 絶滅危惧陸産貝類の域内・域外保全および再導入手法の開発 (東北大学)
- (5) 絶滅危惧海鳥の域内保全手法の開発と飼育技術確立のための食性の解明 (特定非営利活動法人小笠原自然文化研究所)

研究概要

1. はじめに (研究背景等)

小笠原諸島は、多数の固有種が進化し、貴重な生態系を有するが、それと同時に侵入した外来種によって多くの絶滅が生じている。これまでの研究により、小笠原に侵入した外来種の影響とその駆除手法に関する成果が多く得られ、アカギやクマネズミ等の外来種駆除事業に応用された。外来種駆除を実施した地域においては、多数の在来動植物の再生、鳥類や陸産貝類の回復など目覚ましい成果が確認されている。しかし、その一方で、外来種のノヤギやトクサバモクマオウ (以下、モクマオウ) 等が他の外来植物の増加を抑えていた側面も明らかになってきた。その結果、ある外来種の駆除を行った場合に他の外来種が増加し、新たに絶滅危惧種の生息環境の劣化と個体群への影響を生じる事例が生じている。このため、現在の小笠原の絶滅危惧種は、外来種の影響そのものに加え、一部の外来種駆除後の急速な環境変化にさらされている。

2. 研究開発目的

急速な環境変化と外来生物の影響にさらされている絶滅危惧種を保全し、世界自然遺産の価値を維持していくためには、これらの絶滅危惧種の生息地を適切に管理することと、それぞれの種の特性に応じた域内・域外保全が必要不可欠である。特に、固有性が高く小笠原諸島内でも分布の狭い種では、絶滅の危険性が高いと考えられるため、緊急の対策が必要となる。

絶滅危惧種の生息環境を維持するためには、外来植物駆除後の在来種の植栽が必要となる場合もある。ただし、植栽は生態系に対して人為的攪乱を生じさせるおそれがあるため外来種駆除後に在来種の更新が不良な場所に限るべきであり、植栽対象種の遺伝的攪乱への配慮も必要である。また、絶滅が危惧される保全対象種には、生活史や生息環境条件が未知の種も多い。海洋島は独自の進化を遂げた生物相をもつため、それぞれの種の進化過程と種間相互作用に応じた手法を適用しなければ、有効な保全はできない。陸産貝類や昆虫では分布の狭い新種が相次ぎ発見されているが、このような種は絶滅リスクが高く、飼育増殖と再導入を含む域外保全と域内保全を組み合わせた保全策を緊急に開発する必要がある。以上のことから、特に危機的な状況にある絶滅危惧種として、送粉系攪乱の影響を強く受けている特異な性表現を持つ植物、外来種捕食者および外来植物による環境改変の影響を強く受けている陸産貝類、昆虫、海鳥を主要な対象として、生息地の維持と管理、域内及び域外保全手法を確立し、それらを統合した保全手法を開発することを本研究の目的とした。

3. 研究開発の方法

(1) 生物進化に配慮したハビタットの持続的管理手法の開発

1) モクマオウ駆除後に植栽を必要とする条件の解明

2010年にモクマオウの駆除を大規模に行った西島において、駆除の効果および植栽が必要になる条件を明らかにするため、モクマオウが優占する森林 (外来林) および在来樹種が優占する森林 (在来

林)のモクマオウ駆除区と非駆除区(対照区)で環境変化および生物相変化に関するモニタリング調査を行った。また、モクマオウ駆除区において植物の更新状況を明らかにし、在来樹および外来樹の更新数と地形条件の関係を評価した。さらに、1978年・2009年・2014年に撮影された空中写真を用いて、モクマオウの侵入プロセスや在来樹種の分布域の読み取りを行った。

2) 植栽候補樹における遺伝構造解析

小笠原で植栽候補種となっている8種(アカテツ〔コバノアカテツを含む〕、アコウザンショウ、キンショクダモ〔ムニンシロダモを含む〕、シマイスノキ、シマモチ〔ムニンモチを含む〕、シャリンバイ、ムニンノキ、ヤロード)について、サンプリングを行い、マイクロサテライトマーカーを用いて遺伝解析を行った。その結果をもとに、各種の種苗配布区分を策定した。

3) サブテーマ間の統合

各サブテーマから得られた結果を統合し、複数の外来種が侵入し複数の保全対象種がいる環境において、駆除対象となる外来種の組み合わせと、その駆除が各保全対象種に与える影響を予測した。この結果に基づき、それぞれの外来種駆除時に必要な保全手法を提案した。

(2) 絶滅危惧植物の繁殖成功に配慮した域内保全手法の開発

1) 絶滅危惧植物の繁殖成功と進化過程を担保した域内保全手法の開発

絶滅危惧植物の繁殖成功と進化過程を担保するための域内保全手法の開発のため、特異な性表現をもつ絶滅危惧植物(オガサワラボチョウジ・ムニンハナガサノキ)を対象に、野外における個々の種の繁殖特性、個体群構造についての調査を行った。これらの種は異型花柱性および雄性両全性異株という極めて特異な性表現を持ち、小笠原諸島の生態系を象徴する進化的価値を持つが、外来種による送粉系崩壊による影響を強く受けている可能性がある。また、これらの種のマイクロサテライトマーカーを開発し、その遺伝的マーカーを活用して遺伝構造・花粉流動を調査した。

2) 外来樹駆除地における主要在来樹種の機能特性と繁殖状況の解明

外来樹種モクマオウの駆除後に侵入した外来樹種ギンネムが在来木本種の実生の定着に及ぼす影響を評価するために、モクマオウの駆除跡に移植した4種の在来木本種(タコノキ、シャリンバイ、ヒメツバキ、モモタマナ)の生残と成長をギンネム存在下と不在下で比較した。また、モクマオウを駆除しないで在来木本種による更新が可能かどうかを検証するために、モクマオウが優占する森林に在来木本種であるヒメツバキの実生を移植し、その生残と成長をモニタリングした。さらに、モクマオウ駆除後の在来木本種の更新の可能性を検証するために、主要木本種であるオガサワラビロウ、タコノキ、ウラジロエノキの結実状況を把握し、結実の有無と個体サイズとの関係を明らかにした。

(3) 絶滅危惧昆虫の域内・域外保全および再導入手法の開発

1) オガサワラハンミョウの生息地再生と飼育個体の野生復帰

オガサワラハンミョウは、父島の戦前の標本をもとに記載されていたが、戦後は確認されておらず、1980年代になって兄島台地上の裸地で再発見された。その後、新産地も見つかっていたが、2000年代に激減した。主な減少要因は、外来樹種モクマオウ、リュウキュウマツの落葉が裸地を被覆し、幼虫の生息環境を脅かしたと考えられる。本研究では、この種の域内保全のため、外来樹駆除による環境再生を行い、その後の個体群調査を実施した。開発した環境再生の手法の評価とマニュアル化を行った。また、域外系統保存個体群を用いて野外への導入を行い、野生復帰に向けた技術の評価を行った。

2) アニジマイナゴの系統保存技術の開発と生息地再生

アニジマイナゴは、2011年に新属新種として記載されたが、兄島に侵入したグリーンアノールによる影響が心配されている。本種の分布や生活史について断片的な知見しかいないため、保全に必要な情報を得るための調査を行った。この情報を元に飼育手法を確立するために本州での飼育試験を行い、系統保存技術のマニュアル化を行った。

3) 固有トンボ類の生息地再生

小笠原には5種の固有トンボ類が知られているが、父島・母島ではそのほとんどが絶滅しており、主要因はグリーンアノールの捕食圧と考えられている。2004年から生息地確保のための人工池設置を各地で進め、個体群の安定化を図ってきたが、本研究では特に危機的な状況にあるオガサワラアオイトトンボの中長期的な種の存続を目指し、弟島、兄島、西島での池の増設を行い、保全効果のモニタリングを行った。本種の保全的導入を目標に、導入元である弟島と導入予定地である西島の環境整備を行った。また、固有トンボ類復元のための環境整備手法および導入手法のマニュアル化を行った。

（４）絶滅危惧陸産貝類の域内・域外保全および再導入手法の開発

１）保全的導入に向けたカタマイマイ類の飼育技術の確立と候補地選定

陸産貝類は小笠原の世界自然遺産の価値の中心をなす分類群だが、ネズミやプラナリアの捕食により危機的状況にある。カタマイマイは小笠原での進化を示す代表的陸貝で人工飼育の技術が開発されてきた。本研究では野外での繁殖技術を改良するため、交配をめぐる選好性を調べる目的で、室内において様々な性質の組み合わせで交配実験を行った。ただし、カタマイマイは希少種であるために行うことのできる実験に制約があるため、カタマイマイに最も近縁な本土の種である *Euhadra* 属とオナジマイマイ属の種を用いた。さらに、カタマイマイ類が野外で栄養として利用する餌を調べる目的で、軟体部の炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) を母島のカタマイマイ類の保管されている冷凍試料を用いて解析した。また殻についても $\delta^{13}\text{C}$ を調べて、両者の結果を比較した。また、母島南崎をモデル地として、二種のカタマイマイ類の生息状況と生息環境を詳細に調査した。このデータから、屋外施設での繁殖に必要な環境要因、設置条件などを推定した。

父島周辺の離島の陸貝相と環境調査を行い、特にカタマイマイを中心に飼育中の種類を導入するための適地の探索を行った。そしてカタマイマイ類については、上記で得られたデータをもとに条件の最もあう島を候補地として提案した。

２）小型陸貝類の飼育技術の開発

小型種のオガサワラヤマキサゴやエンザガイ類、キセルガイモドキ類のように、通常の餌では飼育が困難な種類の餌を特定するため、餌分析を行った。母島で得られた菌類を単離培養し、陸貝に餌として与え、最も成績の良い餌のスクリーニングを行った。小型種陸貝に最も適した給餌方法の検討を行い、人工餌による飼育技術の開発を行った。また、種の違いによる餌の選好性の違いを調べた。また、樹上性の小型種の人工繁殖において、特に幼貝の死亡率を軽減させることを目指し、飼育槽の高さや内部基質の違いなどによる死亡率や成長率の違いを調べ、最適条件を探索した。

３）保全単位と優先度の判定の基礎情報

保全の優先度、保全単位の決定が重要であるため、ヤマキサゴ類・エンザガイ類・キセルガイモドキ類について遺伝子解析を行い、系統推定を行った。また、ヤマキサゴ類については、野外への導入に向けて、形態的に識別できる集団や、遺伝的に分離された集団間でニッチ利用にどのような差があるかを調べた。保全単位として現在の分類に従うことが妥当かどうか、またそれに基づいて保全の優先度の決定を行った。なお、絶滅種が再発見される可能性があったため、原記載標本や戦前の標本を用いた形態解析も行った。

（５）絶滅危惧海鳥の域内保全手法の開発と飼育技術確立のための食性の解明

１）絶滅危惧海鳥の域内保全手法のための生息地探索

小笠原の海鳥は外来ネズミによる捕食圧を強く受けており、特に小型のオガサワラヒメミズナギドリとセグロミズナギドリは危機的状況にある。しかし、その分布や生態には不明点が多い。そこでこれらの種の生息地を明らかにするため、賀島列島、父島列島、母島列島において、屋外録音装置を用いて、夕方から翌朝にかけて15分おきに1分間の録音を行った。回収した録音データを解析し、音紋波形による分析を行った。また、音声分析によりオガサワラヒメミズナギドリの飛来ピークであると判断された冬期に東島で直接観察を目的とした夜間調査を行った。東島では音声記録頻度の分析からオガサワラヒメミズナギドリが選好する生息環境を推定した。また、小笠原で繁殖するセグロミズナギドリの保全上の地位を明らかにするため、DNA分析により系統の解析を行った。

２）食性解析のための糞DNA解析手法の開発

絶滅の危険性の高い海鳥では人工飼育手法を確立する必要があるが、小笠原の海鳥の食性には不明点が多い。海鳥の食性の重要な構成要素である魚類および軟体類を糞中から識別するため、DNAバーコーディングを用いた糞分析を行った。まず、手法確立のため、小笠原諸島において広く分布する普通種であるとオナガミズナギドリの営巣地における糞サンプルにもとづく食性解析を行った。糞サンプルは産卵期前と育雛期中にそれぞれ採取した。この分析により方法論を確立した上で、絶滅危惧1B類であるセグロミズナギドリを対象に父島属島東島の営巣地周辺において産卵期と巣立ち期にそれぞれ糞サンプルを採取し、同様の方法で食性解析を行った。

４．結果及び考察

（１）生物進化に配慮したハビタットの持続的管理手法の開発

１）モクマオウ駆除後に植栽を必要とする条件の解明

モクマオウが駆除されると、光条件・地表の物理的条件・水分条件が劇的に変化し、改善された。

また、鳥類相については、外来植物後に更新したウラジロエノキ等の果実を食物とする種を中心に個体数が増加する傾向が見られた。陸産貝類は駆除後に在来植生の更新が見られた場所では多様度指数の上昇が見られたが、植生の更新が見られず乾燥化が進むと低下が見られた。ただし、落枝を用いたシェルターを作ることによって集団の維持が可能だった。モクマオウ駆除地での在来植物の更新は、南斜面および緩傾斜地に比べて、北斜面および急傾斜地で悪かった。一方、外来植物については、特に傾斜や方位との関係は見られなかった。つまり、モクマオウ駆除後に速やかに在来樹が更新し環境が改善されたプロットもあれば、在来樹の更新が不良でモクマオウが再生したプロットもあることが確認された。

撮影時期の異なる空中写真の読み取りにより、モクマオウの侵入は方角や地形に関係なく全方向的に進行していることが明らかになった。これは、調査プロットにおけるモニタリングの結果と同じ傾向であった。また、空中写真を立体視により、一部の在来樹の樹種判別ができた。これらより、空中写真を用いることで、長期的・広域での外来種の侵入、在来種の衰退を把握できる可能性が明らかになった。

2) 植栽候補樹における遺伝構造解析

植栽候補樹種が小笠原群島全体および各列島内でいくつかの遺伝的グループに分かれるのか、またその遺伝的組成がどのように分布しているのかが明らかになった。例えば、父島列島のキンショクダモでは、島間で異なる遺伝的グループを維持しているだけでなく、島内でも距離に応じた遺伝的組成の違いがみられた。植栽候補樹種の遺伝構造は種によって異なったため、各種でそれぞれの結果に基づいて種苗配布区分を設定した。8種（アカテツ〔コバノアカテツを含む〕、アコウザンショウ、キンショクダモ〔ムニンシロダモを含む〕、シマイスノキ、シマモチ〔ムニンモチを含む〕、シャリンバイ、ムニンノキ、ヤロード）について、「小笠原諸島における植栽木の種苗移動に関する遺伝的ガイドライン2」として一般向けのパンフレットを作成した。今回策定した遺伝的ガイドラインを用いることで、植栽が必要となった地域で植栽可能な樹種を選定し、種子を採取する地域を検討できるようになった。

3) サブテーマ間の統合

これまでの西島のモニタリング結果および各サブテーマで得られた結果に基づき、ヤギ、ネズミ、モクマオウの3種が定着している状況で、1種、2種、3種の外来種を駆除した場合に、植生、植物、鳥類、陸産貝類、昆虫が受ける影響を予測した。その結果、ネズミのみを駆除する場合には、特に保全対象種に負の影響を与えることはないが、ヤギのみ、モクマオウのみ、および3種の内の2種を組み合わせ駆除する場合には、いずれかの保全対象種に負の影響が生じると予測された。たとえば、ヤギの駆除により外来樹種やネズミなどが増加することで、絶滅危惧種の生息地の環境改変や捕食圧の上昇が生じる可能性がある。このため、一部の外来種の駆除だけでは、必ずしも対象となる絶滅危惧種の保全につながらないと考えられる。全ての絶滅危惧種を保全するためには、全種の外来種の駆除が望ましいが、これが難しい場合には、各サブテーマで提案する保全対象種の特性に応じた局所的な外来種駆除や域外保全を組み合わせる必要がある。現在、小笠原諸島における外来種駆除事業では外来種を含む種間関係図に基づいて計画が立てられているが、駆除対象外来種の組み合わせによる自然再生の効果については検討が不十分である。今後はこれを検討することで、より効果的な自然再生事業が可能になると考えられる。

(2) 絶滅危惧植物の繁殖成功に配慮した域内保全手法の開発

1) 絶滅危惧植物の繁殖成功と進化過程を担保した域内保全手法の開発

オガサワラボチョウジは、いずれの集団でも、形態的に短花柱花をもつ個体と長花柱花をもつ個体の二種類からなることが確認された。二型花柱性の植物は一般に自家・同型花間において不和合性を示すが、オガサワラボチョウジも基本的には同様の特性をもっていた。ただし、一部の集団（父島集団）においては、S-S花間（短花柱花間）で部分的な和合性が確認された。また、父島・母島・兄島の各野外集団において、二型花それぞれの結果率はいずれも10%程度と低かった。そして、S型花の結果率がL型花に比べて極端に低かった。これは、L型からS型への送粉がうまくいっていないことを示唆している。この結果は、本来の送粉者と考えられる口吻の長いスズメガ類ではなく、外来のセイヨウミツバチが送粉していることが影響していると考えられた。

父島・兄島・母島（石門・乳房山）においてオガサワラボチョウジの個体群構造を調べたところ、母島石門でのみ幼木を確認できた。現存するオガサワラボチョウジの集団の中で、母島石門集団が唯一の健全な世代更新が行われている集団であると考えられた。

オガサワラボチョウジとムニンハナガサノキにおいて、次世代シーケンサーを用いてマイクロサテ

ライトマーカーを設計した。オガサワラボチョウジで26遺伝子座、ムニンハナガサノキで25遺伝子座、多型のあるマーカーが開発できた。

オガサワラボチョウジは、父島・母島間で有意な遺伝的分化がみられた。また、兄島と母島石門において花粉流動を調べたところ、兄島集団ではほとんどの場合、花粉の移動距離が50 m以下だったのに対し、母島石門集団では100 m以上離れた個体間でも交配していることが推定された。また、二型花柱性を示す植物では、異型花間で送粉が行われるシステムが維持されていると考えられてきたが、兄島集団では同型花間の送粉が一部で示唆され（S型同士：16%、L型同士：8%）、母島石門集団ではL型に結実したほとんどの種子が同型花間もしくは自殖により形成されたことが示唆された。

これらの結果から、オガサワラボチョウジの保全のためには、唯一稚樹の更新がある健全な母島石門地域において、花粉流動の促進と結実率の向上に努める必要がある。具体的には、当該地域において送粉系を攪乱するグリーンアノールやセイヨウミツバチのエリア根絶が考えられる。

ムニンハナガサノキの聳島・父島・母島列島に分布する個体の遺伝構造を調べたところ、集団間の遺伝的分化の程度 F_{ST} の平均値は0.17であり、父島列島と母島列島の集団間では全ての組み合わせにおいて、有意な遺伝的分化がみられた。また、個体レベルのクラスター解析では、2つの遺伝的クラスターに分けられ、聳島列島と弟島を除く父島列島が1つのクラスター、母島が1つのクラスターに割り振られ、弟島の個体は2つのクラスターが混じっていた。ムニンハナガサノキの種内の遺伝的多様性や遺伝構造を維持して保全していくためには、各集団を保全ユニットとして、結実率の向上を促すような対策をとることが望ましいと考えられる。

2) 外来樹駆除地における主要在来樹種の機能特性と繁殖状況の解明

父島洲崎のモクマオウ駆除跡に移植した在来樹種の内、タコノキ、シャリンバイ、モモタマナは移植から1年経過した段階で90 %以上の個体が生残したが、ヒメツバキの生残率は50%以下だった。ヒメツバキの死亡は2~3月に集中しており、また実験区のほとんどが海側の開けた場所であったことから、冬季における海水を含む風に影響を受けたことによると考えられた。移植時の個体サイズとギンネムの播種処理の有無による生残個体数の違いは明確にはみられなかった。以上の結果から、モクマオウ駆除後のギンネムの侵入は、短期的には移植個体の生残には強く影響しないことが示唆された。つまり、ギンネムの侵入があっても在来樹種の実生は生残可能であると考えられる。一方で、実生の成長は、ギンネムの侵入によって抑制される可能性が示唆された。

父島洲崎のモクマオウ優占林に移植したヒメツバキの実生のうち、移植から約6年後、75%以上の個体が生残した。移植時の実生のサイズによる生残個体数における違いは見られなかった。実生の成長速度は、移植時のサイズに関わらず安定していたが、モクマオウ駆除跡に移植したヒメツバキの成長速度より低かった。以上の結果は、モクマオウが優占する森林においてモクマオウの駆除をしなくとも在来木本種の実生の定着が可能であることを示唆する。一方で、駆除を実施しない場合、堆積しているモクマオウのリターは維持されるため、移植した個体は成長し、種子生産をしたとしても、その種子が発芽し、定着する可能性は低い。つまり、在来木本種の更新には、最終的にモクマオウの駆除が必要であると考えられる。

西島のモクマオウの駆除地において確認されたオガサワラビロウの約70%で、タコノキの7%で結実が確認された。また、結実の有無と樹高のサイズクラスとの間には有意な関係が見られた。一方、ウラジロエノキの約90%で結実が確認された。結実の有無と樹高のサイズクラスとの間には有意な関係が見られなかった。

(3) 絶滅危惧昆虫の域内・域外保全および再導入手法の開発

1) オガサワラハンミョウの生息地再生と飼育個体の野生復帰

オガサワラハンミョウの生息環境の再生のため、兄島の大丸山から乾沢源頭部周辺の過去の産地2か所で、周辺尾根部まで含めた外来樹の枯殺を行い、枯殺後は、枯死木と枯死時の落葉の除去も実施した。この作業によって、周辺からの新たな種子供給も断ち、作業実施後2年目で稚樹更新もほとんどなくなった。また、周囲からのリターの供給もなくなったため、リター除去の効果も顕著で急速に良好な裸地環境が再生している。巣穴のカウント調査による個体群サイズの推定では、2014年に総個体数約500頭まで落ち込んだ個体群を2016年2月には、約2200頭にまで回復させることができた。これまでの結果から、オガサワラハンミョウの生息地再生には以下のことを実施することが効果的であると考えられる。a. 大径木の外来樹種は薬剤注入により枯殺する。b. 樹高4 m程度の外来樹種は枝払いによって駆除する。これにより生息地での薬剤使用料を抑制できる。c. 生息地周辺の外来樹種は、駆除後の新たな種子供給源となってしまうため、外来樹種のエリア根絶を実施する。特に、生息地より標高が高い位置に分布する外来樹は完全枯殺する。d. 外来樹枯死後は堆積したリターを除去する。

2015年に飼育個体を導入したところ、10個の巣穴が確認され、秋の発生時期の調査で1頭の未マーキング個体が確認され、放虫個体由来の新規個体である可能性が高いと考えられた。2016年秋にも約40頭の放虫を実施した。

2) アニジマイナゴの系統保存技術の開発と生息地再生

兄島における分布調査により、本種は島内の乾性林には広く分布し、シマイスノキ群落の中に点在するタコノキをねぐらの的に使用していることが明らかになった。また、食樹については、シマイスノキのみを摂食することが分かった。なお、本土に自生するシマイスノキに近縁のイスノキを与えたところ、摂食・成長が見られたが、初令で死亡した。これは、本土での飼育の際に、代替食の確立で大きな課題となることが分かった。本種の生活史については、成虫は年間を通して確認されるが、幼虫は5月～9月にかけて記録され、6月にピークを持つ一山型の発生と推定された。

外来樹種モクマオウ、リュウキュウマツは、ねぐらとなるタコノキの葉鞘に落葉を堆積することで、本種の生息に影響を与える可能性がある。そこで、大量の落葉に被覆され衰退の可能性が高い2ヶ所の生息地でタコノキ周辺の外来種駆除を実施した結果、駆除後も生息が継続確認できた。

本研究で開発したアニジマイナゴの系統保存技術は以下の通りである。a. 湿度の保持、観察の容易さの観点から、飼育容器は透明プラスチック容器を用いる。ただし、適度な湿度をコントロールするために、乾燥剤を用いる。b. 容器内にシマイスノキとタコノキを入れる。c. 糞の掃除を数日おきに行い、カビの発生を抑止する。d. 樹上での交尾が見られる時期になったら、小型の容器（10 cm×5 cm×深さ5 cm）に水と砕いた赤玉土を詰めると、小型容器に産卵する。e. 産卵された小型の容器は保管を続けると、5～6月に孵化する。f. 幼虫の飼育は、成虫と同様の方法で問題ない。g. 気温が10℃を下回ると、飼育個体の活性が低下することから、冬期は加温が必要である。また、夏期の高温にも注意が必要である。以上のような管理を行うことで、人工飼育は比較的容易であり、系統保存技術は確立できたと言える。

3) 固有トンボ類の生息地再生

トンボ池の保全効果の調査により、兄島でこれまで単発の成虫記録しかなかったオガサワラアオイトトンボの幼虫を島南東部の人工池で初めて確認できた。確認例は少ないが、部分的に定着地が創出された可能性がある。また、リュウキュウマツ、モクマオウの落葉が入る人工池では固有トンボがほとんど発生しないため、人口池周辺の外来樹木の駆除を実施した。兄島、弟島の南部の試験実施地域ではこの改善によって、池への落葉がほぼ抑止でき、秋季の調査において良好な生息状況を示した。これまでの結果から、小笠原固有トンボ類のうち止水性の3種（オガサワラアオイトトンボ、オガサワライトトンボ、オガサワラトンボ）の生息環境復元には以下のことが求められる。a. 運搬時の負担を考慮し、100リットル程度の容量のプラスチック容器の設置が望ましい。紫外線による容器の劣化を避けるため、透明・半透明の容器は避け、耐久性の高いものを選択する。b. 降水量が例年並みである場合には給水は必要なく、設置後の自然降雨のみで水量は十分である。c. 在来林中のスポット上に上空が開けた場所に容器を設置する。林内以外の開放放地では、固有トンボ類と競合する広域分布種（ヒメハネビロトンボやベニヒメトンボなど）が先に定着するため、そのような場所は避ける。また、モクマオウやリュウキュウマツなどの外来林では、落葉が容器内に大量に堆積するため、避ける。これまでに長期間に渡って特に効果的だった設置場所は、シマイスノキやヒメフトモモ、コヤブニッケイなどの樹陰下に設置した容器である。d. 容器には、枯れ枝を入れることで、羽化時期の足場や幼虫の生息場所となり、さらに餌となるユスリカの定着も促される。e. 容器内の落葉除去のため、年1回のメンテナンスが必要である。その際に、水が白濁している場合は水質悪化が危惧されるため、水を抜く必要がある。これらを実施することで安定した水域が創出され、固有トンボ類の定着支援として十分に機能すると考えられる。

（4）絶滅危惧陸産貝類の域内・域外保全および再導入手法の開発

1) 保全的導入に向けたカタマイマイ類の飼育技術の確立と候補地選定

*Euhadra*属とオナジマイマイ属を利用して、交配様式を調べたところ、交尾後の精子の保有率や受精率、生存率の分析から、交尾を巡るオスとしての役割とメスとしての役割に対立があり、それが交尾行動の重要な要因として働いていることがわかった。また、この性質の副産物として、互いに同じ体の大きさの個体とのみ交尾する同類交配が生じており、体サイズが同じ個体同士が選択的に交尾する傾向があり、サイズの違う個体とは交配できないことが分かった。以上の結果から、カタマイマイ類の交配様式は複雑であり、特に人為的な操作をあまり行わない屋外での人工繁殖では、室内で飼育した個体との定期的な入れ替えなどが必要であると考えられた。

母島の3種のカタマイマイ類の安定同位体の分析結果では、軟体部の $\delta^{13}\text{C}$ 値に有意な差が認められ

た。 $\delta^{13}\text{C}$ 値が最も大きい樹上性の種の主な餌は菌類であり、一方、それよりも $\delta^{13}\text{C}$ 値が低い潜没型の種では菌類または動物性の餌を利用していることが推定された。また、軟体部の $\delta^{13}\text{C}$ 値で認められた種間の違いのパターンと整合的なパターンが殻の $\delta^{13}\text{C}$ 値からも認められた。さらに、殻の成長に伴う $\delta^{13}\text{C}$ 値の変化から、野外では幼貝と成貝で主に利用する餌の種類が異なる可能性も示唆された。

まだ環境条件と生息状況が健全な、母島の二種のカタマイマイ類をモデルとして、その生息に適した環境条件の推定と、生活様式を調査したところ、2種間での休眠場所の違いや、1日の移動距離、地表からの深さ等が明らかになった。この結果は、安定炭素同位体比の分析から推定された、植物食と菌類・動物食という、二種の餌の違いと整合的であった。

以上の結果を踏まえると、カタマイマイの屋外飼育施設は少なくとも $10 \times 10 \text{ m}$ の面積が必要であり、飼育場所の周囲を囲って個体の移出防止を図ることが必要である。また、カタマイマイの野外飼育には、十分な低温の微環境が必要であると判断される。帰家行動がないため、好適な微環境は広く点在している必要がある。二種を同時に飼育する場合には、複雑なリター構造が共存に必要であり、様々な種・大きさ等の異なる落ち葉の供給が求められる。また、菌類や動物遺体の供給が必要である可能性が高く、土壌動物を同時に野外飼育施設内で共存させることが有効であると考えられる。

現在、保全的導入が検討されているチヂジマカタマイマイとカタマイマイについて、様々な条件を考慮すると、西島が最適であると判断される。ただし、安定な植生と土壌動物相の健全な維持が不可欠であるため、モクマオウの駆除など植生管理と一体として保全的導入は進められなければならない。

2) 小型陸貝類の飼育技術の開発

小笠原在来のカビから、小型陸貝の餌となるカビを単離、培養に成功した。これはクラドスポリウムの1種であり、培養は容易でかつ幅広い種に供与が可能であった。このカビを用いて、ヤマキサゴ類の安定的な世代交代に成功し、少なくともヤマキサゴ類はこのエサを用いて人工繁殖が可能であることがわかった。またこの餌は、樹上性のカタマイマイ類の餌としても、非常に良い成績を示した。同じ餌により、エンザガイやオガサワラオカモノアラガイの維持にも成功した。

樹上性のオガサワラオカモノアラガイの飼育環境を改善するための幾つかの技術開発を行った。高さ30 cm程度の容器を用い、内部に餌とは無関係にタコノキやオオタニワタリの苗を設置することにより、幼貝の死亡率をほぼ0%にすることができた。また飼育容器の高さをより大きくすることによって、成貝の生存率を有意に高めることができた。

3) 保全単位と優先度の判定の基礎情報

小型種の保全の優先度、保全単位を決定するため、系統推定を行ったところ、オガサワラヤマキサゴ属は、著しく遺伝的に多様な系統からなり、多数の同胞種が存在することがわかった。島間・同じ島の中でも地域間で遺伝的分化や種分化が進んでおり、保全の単位はこれら各地域の集団と見なすべきである。特に、兄島のヤマキサゴ類は、植生の違いにより生態的な分化を生じている可能性があるため、系統保存すべき個体の選定や、後の再導入に際しては、生息地の植生にも注意する必要があると考えられた。

オガサワラキセルガイモドキ属は従来4種が知られており、媒島に分布するヒラセキセルガイモドキを除き、父島列島、母島列島いずれにも共通な種が分布すると考えられてきた。しかし、分子系統解析の結果、父島列島と母島列島の種は別系統であり、従来同種と考えられていた種は、系統の異なる種に生じた形態の収斂進化の結果であると考えられた。キセルモドキ類が島ごとに遺伝的分化を示し、同胞種群を含んでいることは、島ごとに保全単位を想定する必要があることを示している。またこの結果から鳥山のキセルガイモドキの保全価値が高いことが示された。

エンザガイ属の系統関係は比較的形態とよく対応し、上記2属のような形態と分子系統の不一致は認められなかった。いずれの種の集団も単系統であり、亜種として記載された集団も、比較的近縁であった。また、父島鳥山に残存するハタイエンザガイと判断される集団の保全的価値と優先度は極めて高いことが明らかになった。

(5) 絶滅危惧海鳥の域内保全手法の開発と飼育技術確立のための食性の解明

1) 絶滅危惧海鳥の域内保全手法のための生息地探索

父島列島の東島と巽島、賀島列島の北之島、媒島において、オガサワラヒメミズナギドリの音声を確認できた。飛来期間は、11月～翌年5月の少なくとも半年間に渡ることが判明した。特に、東島では録音期間中の記録頻度が高く、また、1夜当たりの確認回数は2月から増加して3月末が最高値となった。冬期に直接の夜間探索を実施したところ、10個体を確認し、種を確認するために4個体を捕獲し、形態測定および足環装着後に速やかに放鳥した。捕獲個体は、タコノキの低木林とオガサワラス

スキの草地で発見された。また、タコノキの低木林に隣接したオガサワラススキの草地の地面に掘った穴の中で、抱卵中の巣が1箇所発見された。音声の録音頻度と植生の関係を分析した結果から、本種はタコノキの低木林と草地が混在する環境で密度が高いことが明らかになった。

一方、セグロミズナギドリの音声は、既知の営巣確認地である父島列島の東島のみで記録された。また、母島列島の鰹鳥島、中鰹鳥島、小鰹鳥島では、既知のオーストンウミツバメの音声は記録されたが、オガサワラヒメミズナギドリおよびセグロミズナギドリの音声は確認されなかった。

3年間に渡る録音装置による海鳥類の営巣環境の探索調査より、小笠原諸島における絶滅危惧の小型海鳥類の生存環境が明らかになった。第一に、小型海鳥類の捕食者となる外来ネズミ類が不在な生息環境を整えること、第二に、営巣環境として在来植生の海岸植生（タコノキ群落、オガサワラススキ群落）の維持が必要である。これらの環境条件を満たすには、現在、着手されている外来ネズミ類の駆除と、海岸林からのギンネムやトクサバモクマオウ等の植生管理は、小笠原諸島の絶滅危惧の海鳥の域内保全対策として重要であることが示された。本調査で開発された録音装置を用いた海鳥類の営巣環境特性の把握手法は、アクセスの困難な無人島等において適用性の高いものと言える。

セグロミズナギドリはこれまで広域に分布するAudubon's Shearwaterの亜種とされていたが、DNA分析の結果異なる系統に属することが明らかになり、小笠原のみで繁殖する独立した集団と考える必要があることが示唆された。本種の保全価値はこれまで考えられていたより高いと言える。

2) 食性解析のための糞DNA解析手法の開発

オナガミズナギドリの分析では31の魚類の分類群が検出され、産卵期は中深層性遊泳魚である*Scopelarchoides*（デメエソ科）が、育雛期中は同じく中深層性遊泳魚である*Benthoosema*（ハダカイワシ科）が最も大きな割合を占めていた。また、軟体動物においては、産卵期は*Ommastrephes*（アカイカ科アカイカ属）がほとんどの割合を占め、*Sthenoteuthis*（アカイカ科トビイカ属）がほとんどの割合を占めていた。食物の構成が時期によって異なることが明らかになった。

父島列島東島のセグロミズナギドリの糞からは、産卵期中と巣立ち期で検出された魚類は15分類群であった。トビウオ科が両時期共に高い割合で検出された。オナガミズナギドリと比較すると、中深層性遊泳魚はほとんど検出されず、同じミズナギドリ科でも利用魚種が大幅に異なり、セグロミズナギドリにおいては表層遊泳種が重要な食物資源であることが示唆された。また、セグロミズナギドリにおいては、軟体動物は主な食物資源ではないと推測された。絶滅危惧種の飼育技術確立の際に、小笠原諸島に生息するセグロミズナギドリの場合では、その最多に検出したトビウオ類が主要な餌料として挙げられる。セグロミズナギドリの試験餌料の候補としては、トビウオ類で示される高タンパクで低脂質な栄養特性の魚種が適していると考えられた。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

1) 生物進化に配慮したハビタットの持続的管理手法の開発

外来植物駆除後の生態系変化には地形要因が関与している可能性が明らかになり、植栽範囲を最小限に留めるための科学的根拠が得られた。また、植栽候補種になっている小笠原の在来樹種8種の遺伝的背景が明らかになり、島嶼における植物の進化における科学的理解に寄与した。複数の外来種が存在する生態系における効果の予測は保全生態学上重要な知見である。

2) 絶滅危惧植物の繁殖成功に配慮した域内保全手法の開発

二型花柱性を示すオガサワラボチョウジの個体群構造や繁殖生態が明らかになり、海洋島における特殊な性表現の進化に関する新たな知見が得られた。

外来樹駆除後の植生遷移プロセスや外来樹種と在来樹種の競争関係が明らかになり、今後の外来樹駆除手法に関して重要な科学的知見を与えた。また、外来樹駆除後の在来木本種の更新の可否を予測する科学的根拠が得られた。

3) 絶滅危惧昆虫の域内・域外保全および再導入手法の開発

国内ではこれまでほとんど実践事例のない昆虫類の野外への導入に向けて、域外での人工飼育技術の確立と域内での再導入を実際に進行させた。今回の実践手法は、他地域の他の種においても応用できると考えられ、保全生態学上の価値が高い。

4) 絶滅危惧陸産貝類の域内・域外保全および再導入手法の開発

野外での生態情報や餌情報、系統推定により、小笠原の陸産貝類に関する知見が補強された。これにより、人工飼育技術の向上し、保全単位や保全優先順位の設定が可能になった。

5) 絶滅危惧海鳥の域内保全手法の開発と飼育技術確立のための食性の解明

音声録音機を使用した探索手法により、絶滅危惧の小型海鳥種の営巣地を明らかにすることができ

た。糞サンプルのDNAメタバーコーディングにより、絶滅危惧種セグロミズナギドリ（*Sterna bergii*）の食性が明らかになった。これらの方法は個体数の少ない海鳥から生態情報を得る手法として他種にも適用可能であり、今後の生態研究の発展に資する。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

環境省による世界自然遺産科学委員会や、その下部ワーキンググループ、林野庁による小笠原諸島固有森林生態系修復事業検討委員会等において、本研究の各成果（モクマオウの効果的な管理手法、植物の遺伝構造から考えられる植栽候補樹種、ネズミによる影響とその緩和、訪花昆虫の減少による絶滅危惧植物の繁殖低下、希少昆虫の保全のための生活史情報、希少海鳥類の生息分布情報等）に関する提言を行い、生態系管理事業への成果還元を行った。また、本研究で開発された陸産貝類や昆虫の人工飼育技術等は環境省事業へ技術移転された。

本研究の絶滅危惧昆虫の再導入の成果に基づいて、静岡県浜松市のカワラハンミョウ生息地の保全対策、南西諸島と本州における絶滅危惧種のゲンゴロウ類での域内環境再生において、域外の系統保存技術開発や域内での環境再生を含む再導入計画が策定、実施された。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

植栽候補樹の遺伝解析の結果をまとめたパンフレット「小笠原諸島における植栽木の種苗移動に関する遺伝的ガイドライン2」が、今後の生態系修復事業において活用され、樹木の進化性を妨げることのない植栽が進められることが期待される。モクマオウの駆除と在来種の植栽による生態系修復事業において、在来樹の植栽を先行して行い、その後モクマオウを駆除するという新たな手法が実践されることが期待される。本研究で提案された手続きや技術に則った陸産貝類および昆虫の野外への導入の実施が見込まれる。さらに、本研究で開発された各種の人工飼育技術や域内への再導入の手法、非侵襲的な食性解析等が、他地域・他種で活用されることが期待される。

6. 研究成果の主な発表状況

（１）主な誌上発表

＜査読付き論文＞

- 1) K. WATANABE and T. SUGAWARA: AoB Plants, 7, plv087 (2015)
Is heterostyly rare on oceanic islands?
- 2) K. HATA, K. KAWAKAMI and N. KACHI: Pac. Sci., 69, 4 (vol, issue), 445-460 (2015)
Higher soil water availability after removal of a dominant, non-native tree (*Casuarina equisetifolia* Forst.) from a subtropical forest
- 3) K. KIMURA, T. HIRANO and S. CHIBA: Acta Ethol., 18, 3 (vol, issue), 265-268 (2015)
Assortative mating with respect to size in the simultaneously hermaphroditic land snail *Bradybaena pellucida*
- 4) K. KIMURA and S. CHIBA: Proc. R. Soc. London, Ser. B, 282, 1804 (vol, issue), 20143063 (2015)
The direct cost of traumatic secretion transfer in hermaphroditic land snails: individuals stabbed with a love dart decrease lifetime fecundity
- 5) K. HATA, K. KAWAKAMI, and N. KACHI: Sci. Total Environ., 545-546, 372-380 (2016)
Increases in soil water content after the mortality of non-native trees in oceanic island forest ecosystems are due to reduced water loss during dry periods
- 6) K. SUGAI, K. WATANABE, H. KATO and T. SUGAWARA: Appl. Plant Sci., 4, 5 (vol, issue), 1500133 (2016)
Development of SSR markers for *Psychotria homalosperma* (Rubiaceae) and cross-amplification in four other species
- 7) S. UCHIDA, H. MORI, T. KOJIMA, K. HAYAMA, Y. SAKAIRI and S. CHIBA: Conserv. Biol., 30, 6 (vol, issue), 1330-1337 (2016)
Effects of an invasive ant on land snails in the Ogasawara Islands
- 8) K. SUGAI and S. SETAUKO: BMC Res. Notes, 9, 332 (2016)
Novel microsatellite markers for *Distylium lepidotum* (Hamamelidaceae) endemic to the Ogasawara Islands
- 9) S. CHIBA and R. H. COWIE: Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst., 47, 123-141 (2016)

Evolution and extinction of land snails on oceanic islands

- 10) K. SUGAI, H. KATO and T. SUGAWARA: J. For. Res., 21, 6 (vol, issue), 314-318 (2016)
Development and evaluation of microsatellite loci for *Gynochthodes boninensis* (Rubiaceae), a woody climbing plant endemic to the Bonin (Ogasawara) Islands, Japan
- 11) 苅部治紀: Tombo, 57, 73-74 (2016)
小笠原諸島兄島におけるオガサワラアオイトトンボの幼虫初確認
- 12) T. GALLAHER, M. W. CALLMANDER, S. BUEKLI, S. SETSUKO and S. C. KEELEY: J. Biogeogr., DOI: 10.1111/jbi.12933 (2016)
Navigating the 'broad freeway': ocean currents and inland isolation drive diversification in the *Pandanus tectorius* complex (Pandaceae)
- 13) S. SETSUKO, M. OHTANI, K. SUGAI, T. NAGAMITSU, H. KATO and H. YOSHIMARU: Plant Species Biol., 32, 1 (vol, issue), 13-24 (2017)
Genetic variation of pantropical *Terminalia catappa* plants with sea-drifted seeds in the Bonin Islands: Suggestions for transplantation guidelines
- 14) K. SUGAI and S. SETSUKO: Plant Species Biol., 32, 1 (vol, issue), 87-91 (2017)
Isolation and characterization of *Ligustrum micranthum* (Oleaceae) microsatellite loci using paired-end Illumina reads
- 15) K. HATA, and N. KACHI: J. For. Res., 22, 2 (vol, issue), 135-140 (2017)
Establishment of early-stage planted seedlings of a native woody species under a closed canopy of invasive *Casuarina equisetifolia* in the subtropical oceanic Ogasawara Islands

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) 鈴木節子, 須貝杏子, 加藤英寿, 山本良介, 井鷲裕司, 川上和人: 日本生態学会第64回全国大会(2017)「小笠原諸島における絶滅危惧種の生息に重要な樹木種の種苗移動に関する遺伝的ガイドラインの策定」
- 2) 畑憲治, 平舘俊太郎, 可知直毅: 日本生態学会第64回大会(2017)「土壌流出に伴い化学特性が変化した土壌は、草本植物の初期成長を種特異的に制限する: 野生化ヤギの攪乱を受けた小笠原諸島の事例」
- 3) 小村健人, 安藤温子, 堀越和夫, 鈴木創, 井鷲裕司: 日本生態学会第63回大会(2017)「小笠原の海鳥は何を食べている? -糞のDNAバーコーディングで探るその素顔-」
- 4) 苅部治紀, 森英章: 日本生態学会第63回大会(2017)「絶滅危惧種オガサワラハンミョウ生息地における外来樹とそのリター除去による環境再生の効果と再導入試験の成果」
- 5) 川上和人: 日本生態学会第63回大会(2017)「風が吹いても桶屋が儲かるとは限らない」
- 6) 可知直毅: 日本生態学会第63回大会(2017)「ノヤギ駆除の誤算: 駆除後の外来植物の拡散」
- 7) 千葉聡: 日本生態学会第63回大会(2017)「ネズミ駆除事業は陸産貝類を救えたか?」
- 8) 苅部治紀: 日本生態学会第63回大会(2017)「グリーンアノールは人知れず海を越える」
- 9) 堀越和夫: 日本生態学会第63回大会(2017)「想定外は想定外か?」

7. 研究者略歴

課題代表者: 川上 和人

東京大学農学部卒業、博士(農学)、現在、森林総合研究所主任研究員

研究分担者

- 1) 可知 直毅
東京大学理学部卒業、博士(理学)、現在、首都大学東京理工学研究科教授
- 2) 苅部 治紀
東京農業大学農学部卒業、農学修士、現在、神奈川県立生命の星・地球博物館主任学芸員
- 3) 千葉 聡
東京大学理学部卒業、博士(理学)、現在、東北大学東北アジア研究センター教授
- 4) 堀越 和夫
University of Florida 動物学部卒業、Ph.D.、現在、特定非営利活動法人小笠原自然文化研究所理事長

4-1402 小笠原諸島の自然再生における絶滅危惧種の域内域外統合的保全手法の開発

(1) 生物進化に配慮したハビタットの持続的管理手法の開発

国立研究開発法人 森林総合研究所

野生動物研究領域 鳥獣生態研究室 川上 和人

樹木分子遺伝研究領域 生態遺伝研究室 山本 節子

<研究協力者>野生動物研究領域 鳥獣生態研究室 須貝 杏子

<研究協力者>一般社団法人日本森林技術センター 大河内 勇

平成 26～28 年度累計予算額：41,971 千円（うち平成 28 年度：15,286 千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

小笠原諸島は貴重な固有生態系を有するが、それと同時に外来種によって多くの絶滅が生じている。現在、小笠原では外来種駆除等の自然再生事業が多数進められ、その成果も得られているが、生息環境の劣化等、絶滅危惧種のおかれた現状は厳しい。これらの問題を早急に解決するため、絶滅危惧種の生息地を適切に管理することが求められている。その際に、場合によっては在来植物の植栽が必要になることがある。しかしながら、植栽の範囲は必要最小限に抑えるべきであり、また植栽を行う場合には用いる樹種への遺伝的攪乱にも配慮する必要がある。

外来種駆除後に在来種が順調に更新しない場合は、そこに生息する在来動物相が崩壊する可能性があるため植栽が必要となる。そこで、外来植物駆除後の在来種更新不良条件を明らかにするため、大規模な外来樹種駆除が行われている西島において、環境および生物相の変化をモニタリングし、植生更新と地理的条件の関係を明らかにした。また、空中写真の判読により外来植物の分布拡大と地形との関係を評価した。その結果、在来植物の更新は北側斜面および急斜面において悪いが、外来植物は特に地形とは関係なく全方位的に分布拡大していることが明らかになった。

さらに、植栽候補種の種苗配布区分を設定するため、小笠原における遺伝構造を明らかにした。遺伝構造は種によって異なり、列島間や島間だけでなく、同じ島内であっても遺伝的分化がみられ、種苗の移動を制限すべき種もあった。植栽候補種となっている 8 種(アカテツ[コバノアカテツを含む]、アコウザンショウ、キンショクダモ[ムニンシロダモを含む]、シマイスノキ、シマモチ[ムニンモチを含む]、シャリンバイ、ムニンノキ、ヤロード)の種苗配布区分を提案し、「小笠原諸島における植栽木の種苗移動に関する遺伝的ガイドライン 2」¹⁾としてパンフレットにまとめた。今回策定した遺伝的ガイドラインを用いることで、今後の植栽事業において遺伝的攪乱に配慮した種苗の確保が可能になった。

[キーワード]

植栽、生息環境、持続的管理、遺伝的攪乱、種苗配布区

1. はじめに

小笠原諸島は多数の固有種が進化し、貴重な生態系を有するが、それと同時に侵入した外来種によって多くの絶滅が生じている。これまでの研究により、小笠原に侵入した外来種の影響とその駆除手法に関する成果が多く得られており、外来種駆除を実施した地域においては多数の在来動植物の回復が確認されている。しかし、その一方で、外来種のノヤギやトクサバモクマオウ（以下、モクマオウ）などが他の外来生物の増加を抑えていた側面も明らかになってきた。たとえば、ノヤギの駆除後にノヤギが食害していた外来植物が分布を拡大する事例や、モクマオウ駆除後にその被圧により抑制されていたギンネム等別の外来植物が増加する事例等が確認されている。つまり、ある外来種駆除の結果として他の外来生物が増加し、新たに絶滅危惧種の生息環境の劣化と個体群への影響が生じている。また、従前の外来生物問題もまだ対策の途上にあり、現在もその影響は継続している。このため、現在の小笠原の絶滅危惧種は、外来種の影響そのものに加え、一部の外来種駆除後の急速な環境変化にさらされている。この問題を早急に解決し、世界自然遺産の価値を維持していくためには、絶滅危惧種の生息地管理が求められている。そして、生息環境を維持するためには、外来植物駆除後の在来種の植栽が必要となる場合もある。

その一方で、植栽を実施する場合に使用する在来植物も、小笠原諸島内で進化の歴史をもつ種であるため、無計画に植栽を行うと在来生態系の攪乱につながる可能性がある。このため、小笠原諸島世界自然遺産地域科学委員会では、「小笠原諸島の生態系の保全・管理の方法として「植栽」を計画するにあたっての考え方」²⁾を発表し、植栽の実施は必要最小限に抑えることや、植栽に用いる樹種の遺伝的攪乱に配慮する必要があることを述べている。以上のことから、小笠原諸島において絶滅危惧種の生息地管理を行うためには、植栽を実施するための条件や遺伝的ガイドラインを策定することが必須である。

2. 研究開発目的

小笠原ではノヤギ駆除後に分布が拡大して在来生態系に大きな影響を与えている侵略的外来植物モクマオウの駆除事業が実施されている。その結果、モクマオウの駆除後に在来植物が順調に更新する場合もあるが、一方で外来植物が優占する場合や、更新不良で乾燥化が起こる事例も生じている。モクマオウのリターには小型陸貝類等の在来土壌動物が依存しており、特に乾燥化が生じるような場合には土壌動物相が崩壊する危険性がある。このため、在来動物の生息地としての森林環境を継続的に維持するためには、在来植物の植栽が必要となると考えられる。そこでこのサブテーマでは、まずモクマオウ駆除後に植栽が必要となる条件を明らかにするため、駆除後に生じる環境および生物相の変化のモニタリングを行う。そして、順調に在来植物が更新しない場合の地形的な条件の抽出を行った。また、空中写真判読を行い、モクマオウが更新しやすい地形条件を明らかにする。

次に、小笠原で在来植物を植栽する場合に必要な遺伝的ガイドラインを策定するため、植栽の候補となる樹種の遺伝構造を解明する。ここでは、特に絶滅が危惧される動物の生息地を管理することを目的として、アカガシラカラスバトやオガサワラオオコウモリなどが利用する8種の在来樹種を選び、マイクロサテライトマーカを用いた遺伝解析を行う。

また、この研究課題ではサブテーマ2から5で絶滅のおそれのある植物、陸貝類、昆虫、海鳥を対象としてその保全手法の開発を行っている。しかし、小笠原諸島の生態系には複数の外来種が侵入しているため、ある分類群には特定の種の駆除が利益になっても、他の分類群には不利益をもたらすような場合がある。そこで、各サブテーマの成果を統合するため、それぞれの外来種を駆除した場合に

保全対象となる個々の種に及ぼされる影響を整理し、分類群間での相反を評価する。

3. 研究開発方法

(1) モクマオウ駆除後に植栽を必要とする条件の解明

父島列島属島の西島はモクマオウの純林に広く覆われている。この島で、モクマオウが優占する森林（外来林）および在来樹種が優占する森林（在来林）において、モクマオウ駆除区と非駆除区（対照区）を設定した。これらのプロットは 2010 年にモクマオウの試験駆除を実施し、その後モニタリングを続けている場所で、各プロットは 20 m×20 m の方形区である。

ここではまず、モクマオウの駆除が生態系に与える影響を明らかにするため、環境変化および生物相変化に関するモニタリング調査を行った。環境変化については、リター厚、開空度、土壌水分量、土壌硬度の計測を行った。生物相変化については、地表面における植被率の変化のモニタリングを行った。また、陸貝類相の変化を明らかにするためのモニタリング調査を実施した。陸貝類の生息状況は、ハビタットを形成する樹種によって異なることが分かっているため、モクマオウ、タコノキ、オガサワラビロウのそれぞれについて調査を実施した。鳥類相への影響を明らかにするため、陸鳥についてはモクマオウの駆除区および非駆除区において各年の繁殖期および非繁殖期に定点センサスを行った。定点センサスでは、それぞれの環境における 5 ヶ所以上のプロットにおいて半径 25 m 以内に出現する鳥類の記録を行い、平均出現個体数を算出した。

それぞれのプロットにおいて外来植物駆除後に更新した植物について毎木調査を行った。毎木調査では、胸高以上の樹高をもつ木本植物を対象に実施し、その更新状況と各プロットの標高、斜面方位、傾斜との関係を明らかにした。

また、1978 年、2009 年、2014 年に撮影された空中写真を用いて、モクマオウの侵入プロセスや在来樹種の分布域の読み取りを行った。

外来植物駆除後の更新に関わる要因として鳥類による種子散布が考えられる。このため、小笠原諸島において主要な種子散布者となっているメジロおよびヒヨドリの種子散布能力を検討するため、本種の遺伝構造の分析を行った。分析は小笠原群島および硫黄列島のメジロおよびヒヨドリのミトコンドリア DNA を対象とした。

(2) 植栽候補樹における遺伝構造解析

小笠原で植栽候補種となっている 8 種（アカテツ [コバノアカテツを含む]、アコウザンショウ、キンショクダモ [ムニンシロダモを含む]、シマイスノキ、シマモチ [ムニンモチを含む]、シャリンバイ、ムニンノキ、ヤロード）について、サンプリングを行い、マイクロサテライトマーカーを用いて遺伝解析を行った。その結果をもとに、各種の種苗配布区分を策定した。

野外調査は、聳島列島、父島列島、母島列島において、各樹種の分布域をカバーするように、主要な島々、具体的には聳島、媒島（以上聳島列島）、父島、弟島、兄島、西島（以上父島列島）、母島、向島、姉島、妹島、姪島（以上母島列島）で行った。各島での集団数は、島の面積や対象種の分布に応じて面積の小さい島では 1 集団程度、中サイズの島（聳島、兄島、弟島）では 2～3 集団、大サイズの島（父島、母島）では 4～10 集団とした。なお、中サイズ、大サイズの島で複数の集団を収集する目的は、島内の遺伝的分化の有無を評価するためである。そして、1 集団のサンプル数は 20～30 個体程度とした。しかしながら、個体密度が低いために、やむを得ず少ない個体数となった集団もあった。採集した葉サンプリングから DNA を抽出し、解析用試料として保存した。DNA の抽出は、CTAB 法

³⁾もしくは、DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を用いた。抽出された DNA は -30°C のフリーザー内で保存した。すでにマイクロサテライトマーカーが開発されていたアコウザンショウ、近縁のアカテツのマーカーが適用できると期待されたムニンノキを除く 6 種について、次世代シーケンサーを用いてマイクロサテライトマーカーを開発した。各種について、開発されたマイクロサテライトマーカーを用いて、収集した全サンプルの遺伝子型を決定した。小笠原群島における遺伝構造を明らかにするため、STRUCTURE 解析⁴⁾により、島間、島内の遺伝的分化を評価した。以下に、樹種ごとの手法を記載する。

1) アカテツ (コバノアカテツを含む)

アカテツ (*Planchonella obovata* (R.Br.) Pierre) はアカテツ科、アカテツ属に分類される常緑高木である。小笠原の主要構成樹種であり、果実をアカガシラカラスバトが食物とする。小笠原全域に分布する他、琉球から台湾、フィリピン、マレーシアなどにも分布している。さらに、小笠原にはアカテツの変種とされるコバノアカテツ (*P. obovata* (R.Br.) Pierre var. *dubia* (Koidz. ex H.Hara) Hatus. ex T.Yamaz.) が分布している。コバノアカテツはアカテツよりも葉が小さく、樹高も低いという特徴があり、兄島、父島、向島、姪島の乾燥した岩石地などに生育する。この 2 分類群の葉サンプルを、賀島列島、父島列島、母島列島から合計 22 集団、547 個体 (1 集団につき平均 24.9 個体) 採取した。葉サンプルから DNA を抽出し、アカテツで開発されたマイクロサテライトマーカー 14 座を用いて遺伝子型の決定を行った。

2) アコウザンショウ

アコウザンショウ (*Zanthoxylum ailanthoides* Siebold et Zucc. var. *inerme* Rehder et E.H.Wilson) は、ミカン科、サンショウ属に分類される落葉高木である。小笠原の固有変種で、弟島・父島・母島・向島に分布する。アコウザンショウは小笠原においてパイオニア種の 1 種であり、外来種駆除後のギャップにいち早く更新してくる。また、果実は絶滅危惧種アカガシラカラスバトの主要な食物でもある。アコウザンショウの葉サンプルを、父島列島、母島列島から合計 11 集団、237 個体 (1 集団につき平均 21.5 個体) 採取した。葉サンプルから DNA を抽出し、基準変種のカラスザンショウですでに開発されていたマイクロサテライトマーカー 9 座⁵⁾を用いて遺伝子型の決定を行った。

3) キンショクダモ (ムニンシロダモを含む)

キンショクダモ (*Neolitsea sericea* (Blume) Koidz. var. *aurata* (Hayata) Hatus.) は、クスノキ科、シロダモ属に分類される常緑小高木である。小笠原の主要構成樹種であり、果実をアカガシラカラスバトが食物とする。小笠原では、父島列島の各島と賀島に分布する。小笠原にはキンショクダモと同属のムニンシロダモ (*N. boninensis* Koidz.) が父島列島と母島に分布しており、ムニンシロダモの葉の裏側の毛の色が粉白色なのに対し、キンショクダモのそれは黄金色をしているという違いがある。この 2 分類群の葉サンプルを、賀島、父島列島、母島から合計 20 集団、427 個体 (1 集団につき平均 21.4 個体) 採取した。葉サンプルから DNA を抽出し、キンショクダモで開発されたマイクロサテライトマーカー 23 座を用いて遺伝子型の決定を行った。

4) シマイスノキ

シマイスノキ (*Distylium lepidotum* Nakai) は、マンサク科、イスノキ属に分類される常緑低木である。小笠原の固有種で、賀島・父島列島・母島列島に分布する。乾性低木林の主要構成樹種であり、絶滅危惧種アジマイナゴの唯一の食物である。シマイスノキの葉サンプルを、賀島、父島列島、母島列島から合計 20 集団、509 個体 (1 集団につき平均 25.5 個体) 採取した。葉サンプルから DNA を

抽出し、シマイスノキで開発されたマイクロサテライトマーカー19座を用いて遺伝子型の決定を行った。

5) シマモチ（ムニンモチを含む）

シマモチ (*Ilex mertensii* Maxim.) はモチノキ科、モチノキ属の常緑小高木である。小笠原の固有種で、父島列島と母島列島の全域に分布する。小笠原にはシマモチの変種とされるムニンモチ (*I. mertensii* Maxim. var. *beecheyi* (Loes.) T.Yamaz.) が弟島と母島に分布しており、ムニンモチはシマモチと比べ、葉が小さく全縁か丸みを帯びた疎鋸歯があり、花柄が長いという特徴がある。この2分類群の葉サンプルを、賀島列島、父島列島、母島列島から合計21集団、402個体（1集団につき平均19.1個体）採取した。葉サンプルからDNAを抽出し、ムニンモチで開発されたマイクロサテライトマーカー14座を用いて遺伝子型の決定を行った。

6) シャリンバイ

シャリンバイ (*Rhaphiolepis indica* (L.) Lindl. var. *umbellata* (Thunb.) H.Ohashi) は、バラ科、シャリンバイ属に分類される常緑低木である。小笠原では、賀島列島・父島列島・母島列島に分布する。小笠原の主要構成樹種のひとつであり、花はオガサワラオオコウモリが食べ、果実はアカガシラカラスバトが食べる。シャリンバイの葉サンプルを、賀島列島、父島列島、母島列島から合計25集団、653個体（1集団につき平均26.1個体）採取した。葉サンプルからDNAを抽出し、シャリンバイで開発されたマイクロサテライトマーカー14座を用いて遺伝子型の決定を行った。

7) ムニンノキ

ムニンノキ (*Planchonella boninensis* (Nakai) Masam. et Yanagihara) はアカテツ科、アカテツ属の常緑高木であり、果実をオガサワラオオコウモリが食物とする。兄島、父島、母島、向島に分布する。本種の葉サンプルを合計6集団、166個体（1集団につき平均27.7個体）採取し、葉サンプルからDNAを抽出した。ムニンノキは上述のアカテツと近縁であるため、アカテツで開発したマイクロサテライトマーカーが利用できる可能性が予想された。適用を試みたところ、アカテツで開発されたマイクロサテライトマーカー11座で安定したPCR増幅と多型性が確認された。そのため、この11座を用いて遺伝子型の決定を行った。

8) ヤロード

ヤロード (*Ochrosia nakaiana* (Koidz.) Koidz. ex H.Hara) は、キョウチクトウ科、ヤロード属に分類される常緑高木である。小笠原の固有種で、賀島列島・父島列島・母島列島に分布する。小笠原の主要構成樹種のひとつであり、オガサワラオオコウモリが食物とする。ヤロードの葉サンプルを、賀島列島、父島列島、母島列島から合計21集団、547個体（1集団につき平均26.0個体）採取した。葉サンプルからDNAを抽出し、ヤロードで開発されたマイクロサテライトマーカー8座を用いて遺伝子型の決定を行った。

(3) サブテーマ間の統合

小笠原諸島では複数の侵略的外来種が生息する生態系が珍しくない。このためここでは、ノヤギ、ネズミ、外来樹が侵入している系を想定し、1種、2種、3種を駆除した場合にそれぞれの保全対象分類群が正の影響を受けるか、負の影響を受けるかを予測した。ここでは保全対象分類群としては、植物、陸貝類、昆虫、海鳥、陸鳥とした。また、これら以外に保全対象分類群の生息地となる植生も被影響者の対象とした。

これらの効果を明らかにするため、西島を調査地とした。西島はノヤギ、ネズミ、モクマオウが高

密度で侵入した履歴のある島である。ノヤギについては一時期 30 頭以上が生息していたが、銃器による駆除により 2003 年までに雄 1 頭を除き根絶された。この雄個体はその後 2008 年に死亡が確認された。ネズミとしてはクマネズミが侵入しており、2007 年にベイトステーションを用いた殺鼠剤による駆除が行われた。これにより少なくともごく低密度の状況が続いたが、2009 年に再発見され、2010 年に環境省による殺鼠剤の空中散布による再駆除が行われた。しかし、2013 年に再々発見され、その後個体数を増加し、2016 年秋にベイトステーションおよび殺鼠剤の空中散布による再々駆除が行われた。このプロセスの中で、それぞれの外来種の駆除の効果を測定した。

外来種駆除が海鳥に与える影響を明らかにするため、島内で繁殖する唯一の海鳥であるオナガミズナギドリの繁殖地において営巣個体数の推移を明らかにすると共に、近年の繁殖成功度を明らかにした。

ネズミによる植物の稚樹への捕食圧を明らかにするため、ネズミが生息する環境下において在来植物および外来植物の被害率を明らかにした。在来植物としてはオオバシロテツ、センダン、ウラジロエノキ、モモタマナ、テリハハマボウ、テリハボク、アカテツを、外来植物としてはモクマオウおよびソウシジュを対象とした。被害率は、それぞれの種について樹高 20 cm 以上の稚樹 50 個体を対象に、ネズミによる食痕の有無から計算した。タコノキとヤロードでは稚樹のサイズの違いがネズミによる被害頻度に与える影響を明らかにするため、稚樹サイズと被害の有無の関係を明らかにした。タコノキでは被害により倒れている稚樹が多く樹高を定量的に判定することが難しかったため、最長葉長を稚樹サイズの指標とした。

また、これまでに小笠原諸島の各島で実施された外来生物駆除事業の成果から、駆除後に生じた主な生物相の変化を抽出した。また、各サブテーマにおいて得られた外来生物駆除の効果についても整理した。これらの結果に基づき、それぞれの外来種駆除時に生じる保全対象種間での効果の相反を評価した。

4. 結果及び考察

(1) モクマオウ駆除後に植栽を必要とする条件の解明

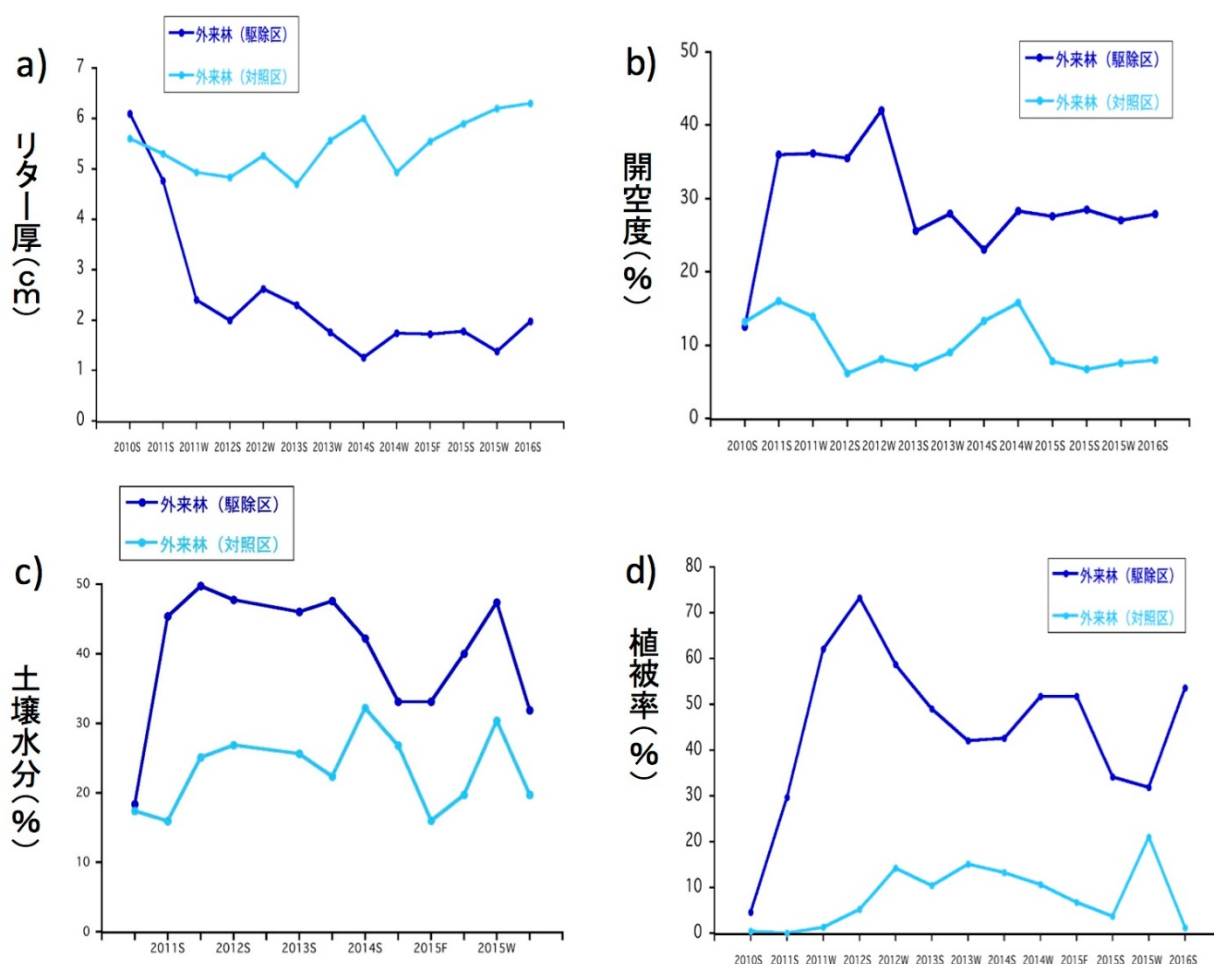
西島の調査プロットにおいて、環境のモニタリングを実施した。リター厚はモクマオウ駆除の直後に急減し、その後平均 1~2 cm で安定していることが明らかになった（図 (1) - 1a)). モクマオウはリターが深く堆積することが知られているが、駆除によりその供給が減少すると共に分解が進み、リター厚が減少したものと考えられる。その後リター厚がゼロにならずに安定しているのは、植生が更新し地上が被覆されモクマオウ以外の種のリターが堆積したことによると考えられる。

開空度は駆除後に急増したが、その後に低下し平均 20~30% で推移していた（図 (1) - 1b)). これは、駆除により速やかにモクマオウが落葉したことで一時的に開空度が上昇したものの、その後に在来樹等が更新することによって開空度の低下が生じたものと考えられる。ただし、開空度の低下後も駆除の行われなかった外来林と比べると開空度は高いレベルで安定していることから、駆除によって林内の光条件は改善したと考えられる。

土壌水分量は駆除後に急激に上昇し、その後低下傾向があった（図 (1) - 1c)). これはモクマオウによる土壌水分の消費が大きいことを示していると考えられる。また、土壌水分量が低下したのは、在来樹等が更新することによって水分の消費が回復したためと考えられる。ただし、土壌水分量の低下後も駆除前の状況に比べると十分に湿潤な状態となっていた。モクマオウ林は在来林に比べて乾燥

傾向にあるが、モクマオウの駆除により土壌水分条件は大いに改善されると考えられる。また、モクマオウは乾燥地に侵入することが多いことが知られているが、乾燥していない在来林等に侵入し、その後に水分を消費することによって水分環境を悪化させている可能性がある。土壌硬度については、駆除後に特に顕著な変化は見られなかった。

植被率は駆除後に急激に増加し、その後に減少傾向が見られた（図（1）－1d）。モクマオウの駆除の直後には、主にエダウチチヂミザサが急速に林床を覆うことで、植被率の上昇を招いた。その後、駆除地ではウラジロエノキを中心とした樹木の急速な成長が見られ、これらが低木層を形成した。エダウチチヂミザサはその後場所によっては枯死し、このことにより植被率が低下した。一般にエダウチチヂミザサは日のよく当たる明るい場所よりも少し照度の低い場所に生育する傾向がある。この種は、モクマオウ駆除による環境条件の改善により一時的に生育したもの、開空度が上昇し日当たりがよくなりすぎること、枯死が進んだ可能性がある。また、ウラジロエノキ等の更新による被圧が影響した可能性もある。いずれにせよ、モクマオウの駆除後には平均的には環境の改善が見られ、在来種の更新が確認された。

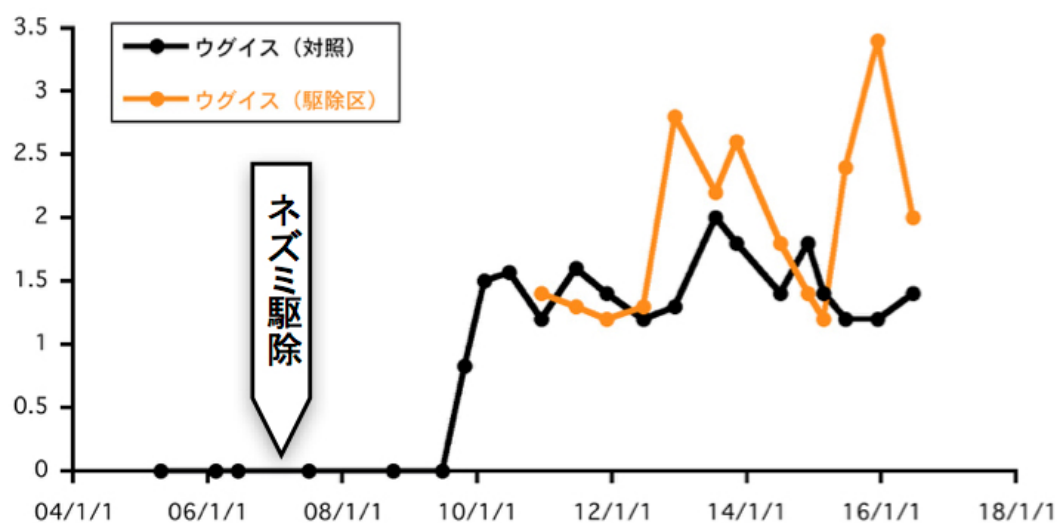


図（1）－1 外来林におけるモクマオウ駆除後の環境変化。

陸貝類の生息状況をモニタリングした結果、在来陸貝類相は外来樹駆除によってタコノキ、オガサ

ワラビロウ下では多様度指数が上昇または維持され、さらに駆除によりエダウチチデミザサが増加した場所では非常に高くなることが明らかになった。一方、駆除後に更新不良の場合は多様度指数が顕著に減少はしなかったが、生息個体数は激減した。また、駆除後に枯れ枝を1m×2m程度の範囲に20～30cm積み上げてシェルターを作ると、他の環境に比べて多様度指数が高くなることが明らかになった。これらのことから、駆除後の更新不良が予想されるような環境においては、枯れ枝によるシェルターを作ることによって陸貝類相の崩壊を免れると考えられる。

陸鳥相変化をモニタリングした結果、2007年のネズミ駆除後に出現したウグイスは、モクマオウ駆除区において個体群密度が上昇していることが明らかになった（図（1）－2）。ネズミの捕食圧から解放されたウグイスが、モクマオウ駆除による環境改善により個体数を増加させたものと考えられる。ウグイスは主に節足動物を食物としていることから、植生の更新によりそこに依存する節足動物の密度が上昇し、間接的な効果が波及したものと考えられる。また、モクマオウ駆除後にはアカガシラカラスバトやヒヨドリが西島に出現する頻度が上昇していた。アカガシラカラスバトについてはつがいや若鳥が高頻度で見られるようになり、西島に定着し繁殖を開始した可能性が高い。これらの種は西島で更新したウラジロエノキを採食している姿がよく見られており、植物の更新に伴って生息密度を上昇させたものと考えられる。ヒヨドリは非繁殖期における一時的な利用のみが確認された。この他に、メジロについてもモクマオウ駆除区において生息密度の上昇が確認された。



図（1）－2 ウグイスの個体群密度の変化。縦軸はプロット辺りの平均個体数。

各プロットでの毎木調査の結果、外来林における外来樹駆除区においては、在来種であるウラジロエノキ、オオバシナムラサキ、テリハハマボウ、アカテツ、オオバシロテツ、ヤロード、ハツバキ、センダン、シャリンバイの更新が確認された（表（1）－1）。また、外来種としてはモクマオウ、ソウシジュ、シマサルスベリ、シマグワの更新が確認された（表（1）－2）。モクマオウおよびウラジロエノキは全てのプロットにおいて更新が確認されたが、その他については更新した樹種や個体数はプロットによって大きく異なっていた。プロットによっては外来植物が旺盛に更新している場所もあったことから、駆除後5年程度でメンテナンスのため再び外来樹駆除を実施する必要があると言える。

表（1）－1 外来林におけるモクマオウ駆除後に更新した在来樹種構成。

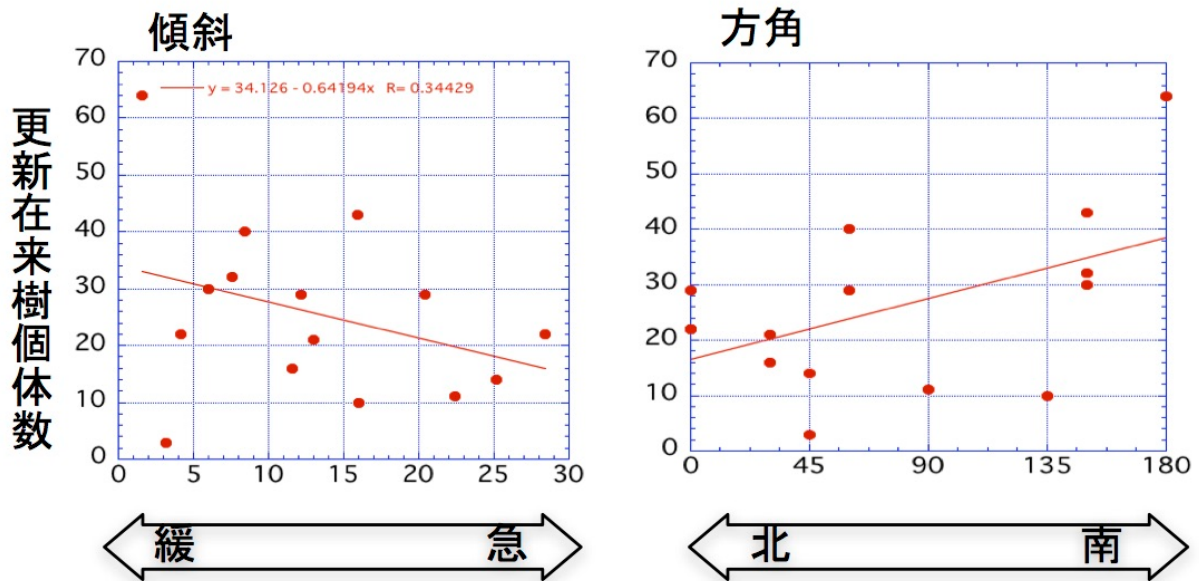
プロットno.	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	
ウラジロエノキ	29	9	12	11	18	24	5	26	21	18	173
オオバシマムラサキ		7		3	10		4			3	27
テリハハマボウ			20				2				22
アカテツ		9	1				2				12
オオバシロテツ	2	2	2				1				7
ヤロード	3	2			1						6
ムニンハツバキ			1				1				2
センダン						1					1
シマシャリンバイ							1				1
	34	29	36	14	29	25	16	26	21	21	

表（1）－2 外来林におけるモクマオウ駆除後に更新した外来樹種構成。

プロットno.	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	
モクマオウ	7	4	39	2	24	1	22	7	14	48	168
ソウシジュ		1	14	4			17				36
シマサルスベリ	11	17									28
シماغワ		1									1
	18	23	53	6	24	1	39	7	14	48	

在来樹種の更新個体数と地形との関係を明らかにしたところ、傾斜が急なほど更新が悪く、また斜面の方位が北に向くほど更新が悪いことが明らかになった（図（1）－3）。一般に急傾斜地は緩傾斜地に比べて土壌が安定せず植物の生育環境として条件が悪いと考えられるが、これは小笠原の外来樹駆除地においても同様であると考えられる。また、小笠原のような亜熱帯地域であっても北斜面は日照条件が悪いため在来樹の更新が悪いものと考えられる。ただし、外来樹については、傾斜についても斜面の方角についても特に更新状況に傾向が見られず、環境条件が悪いと考えられるような場合でも更新が可能と考えられた。

3つの時期の空中写真の読み取りにより、モクマオウの侵入は方角や地形に関係なく全方向的に進行していることが明らかになった。これは、前述の調査プロットにおけるモニタリングの結果と同じ傾向であった。また、2009年に撮影された空中写真を立体視することにより、オガサワラビロウ、モモタマナ、ヤロード、およびタコノキの樹種判別ができることが分かり、各種の個体位置を把握した。樹種判別の結果を過去の毎木調査のデータと比較すると、比較的良好な正解率で樹種を判別できていた。これらより、空中写真を用いることで、長期的・広域での外来種の侵入、在来種の衰退を把握できる可能性が明らかになった。



図（1）－3 外来林におけるモクマオウ駆除後に更新した在来樹種構成。

メジロの遺伝構造を明らかにした結果、小笠原群島の集団は伊豆諸島および硫黄列島から移入された集団であるという従来の見解と矛盾しなかった。火山列島内の分析結果では、南硫黄島の集団は硫黄島および北硫黄島の集団と交流がないことが明らかになった。この結果から、イオウトウメジロは60 km 程度の海によって隔てられた島間では移動しないと考えられる。また、ヒヨドリの結果では、小笠原群島のオガサワラヒヨドリは八重山諸島に起源をもち、火山列島のハシブトヒヨドリは本州以北の集団に起源をもつことが明らかになった。一方、火山列島内では北硫黄島、硫黄島、南硫黄島の間でハプロタイプを共有していた。火山列島と小笠原群島の間は約150 km あり、ヒヨドリはこの距離の海を渡らないが、火山列島内の60 km 程度の海であれば移動可能と考えられる。以上のことから、小笠原群島内の島間であればヒヨドリが外来植物の種子散布を行う可能性もあると考えられる。

（2）植栽候補樹における遺伝構造解析

植栽候補樹種が小笠原群島全体および各列島内でいくつの遺伝的グループに分かれるのか、またその遺伝的組成がどのように分布しているのかが明らかになった。例えば、父島列島のキンショクダモでは、島間で異なる遺伝的グループを維持しているだけでなく、島内でも距離に応じた遺伝的組成の違いがみられた。植栽候補樹種の遺伝構造は種によって異なったため、樹種ごとに結果及び考察を下に記載した。8 種（アカテツ〔コバノアカテツを含む〕、アコウザンショウ、キンショクダモ〔ムニンシロダモを含む〕、シマイスノキ、シマモチ〔ムニンモチを含む〕、シャリンバイ、ムニンノキ、ヤロード）について、「小笠原諸島における植栽木の種苗移動に関する遺伝的ガイドライン 2」¹⁾として一般向けのパンフレットを作成した。今回策定した遺伝的ガイドラインを用いることで、植栽が必要となった地域で植栽可能な樹種を選定し、種子を採取する地域を検討できるようになった。

1) アカテツ（コバノアカテツを含む）

アカテツとコバノアカテツの両者を含めて遺伝解析を行った結果、小笠原群島全体で2つの遺伝的グループに分かれた。しかし、これらは葉の形態とは関連がなく、アカテツとコバノアカテツの間では遺伝的分化が生じていないことが示された。サンプリングと同時に葉形態の測定も行ったが、アカ

テツとコバノアカテツで葉のサイズは連続的であり、両者を明確に識別できなかった。よって本研究ではこれらの2つの分類群をまとめて解析を行った。

小笠原群島全体では聳島・父島列島と母島列島で異なる遺伝的グループが優占していた(図(1)－4)。さらに、聳島・父島列島内、母島列島内の地域ごとに解析を行ったが、各地域内に遺伝的な分化が見られなかった(図(1)－5)。よって、聳島・父島列島と母島列島の間では種苗の移動はすべきではないことが指針として得られた。なお、父島列島と聳島列島の間では遺伝的組成は似ているものの、地理的には離れているため、安全を期して種苗の移動は控えるべきである。

2) アコウザンショウ

アコウザンショウは小笠原群島全体では2つの遺伝的グループに明瞭に分かれ、父島列島と母島で各グループが優占していた(図(1)－6)。さらに、父島列島、母島内の地域ごとに解析を行った(図(1)－7)。その結果、父島列島では2つ、母島では3つの遺伝的グループに分かれた。父島と母島の中部では、それぞれ南北で地理的勾配が生じていた。よって、父島と弟島の間、母島の北部と中部の間においては、種苗の移動は控えること、父島と母島の中部では、それぞれできるだけ近い集団の種苗を用いるべきことが指針として得られた。

3) キンショクダモ (ムニンシロダモを含む)

キンショクダモとムニンシロダモの両者を含めて遺伝解析を行った結果、小笠原群島全体で3つの遺伝的グループに分かれた。しかし、これらは葉の裏側の毛の色とは関連しておらず、キンショクダモとムニンシロダモの間では遺伝的分化が生じていないことが示された。サンプリングと同時に葉の裏側の毛の色の比較も行ったが、2分類群間で葉の裏側の毛の色は連続的であり、両者を明確に識別できなかった。よって本研究ではこれらの2つの分類群をまとめて解析を行った。

小笠原群島全体では母島が聳島・父島列島とは異なる1つの遺伝的グループが優占していた(図(1)－8)。一方、聳島・父島列島では2つの遺伝的グループが優占していた。父島列島で南北に地理的勾配が生じ、聳島は父島の一部と同じ遺伝的グループが優占していた。さらに、聳島・父島列島内、母島列島内の地域ごとに解析を行った(図(1)－9)。その結果、聳島では父島列島と異なるグループが優占し、父島列島では、弟島の南北、兄島の南北、西島で異なる遺伝的グループが優占し、父島ではそれぞれ南北で地理的勾配が生じていた。また、母島では島内で遺伝的な分化は生じていなかった。以上の結果から、聳島・父島列島と母島列島の間、聳島と父島列島の間、父島列島内の島間の種苗の移動は控えること、弟島・兄島は島内であっても南北で種苗の移動は控えること、父島ではできるだけ近い集団の種苗を用いるべきことが指針として得られた。

4) シマイスノキ

シマイスノキは、小笠原群島全体では2つの遺伝的グループに分かれ、聳島・父島列島と母島列島で各遺伝的グループが優占していた(図(1)－10)。さらに、聳島・父島列島内、母島列島内の地域ごとに解析を行った(図(1)－11)。その結果、聳島・父島列島では3つ、母島列島では8つの遺伝的グループに分かれた。聳島・父島列島では、聳島と弟島でそれぞれ1つの遺伝的グループが優占し、兄島と父島北・中部では南北で地理的勾配が生じていた。また、父島南部と母島列島では各集団で異なる遺伝的グループが優占していた。よって、聳島と父島列島の間、弟島と父島列島の他の島の間では種苗の移動は控えること、兄島と父島の北・中部では、できるだけ近い集団の種苗を用いるべきことが指針として得られた。また、父島の南部と母島列島では、各集団がパッチ状に分布しているために、集団間ではっきりとした遺伝的な分化が生じていたと考えられる。そのため、この地域では、集

団間の種苗の移動は控えるべきことが指針として得られた。

5) シマモチ（ムニンモチを含む）

シマモチとムニンモチの両者を含めて遺伝解析を行った結果、小笠原群島全体で2つの遺伝的グループに分かれた。しかし、これらは葉の形態とは関連がなく、シマモチとムニンモチの間では遺伝的分化が生じていないことが示された。サンプリングと同時に葉形態の測定も行ったが、シマモチとムニンモチでは葉のサイズは連続的であり、両者を明確に識別できなかった。よって本研究ではこれらの2つの分類群をまとめて解析を行った。

小笠原群島全体では、父島列島と母島列島で異なる遺伝的グループが優占していた（図（1）－12）。さらに、父島列島内、母島列島内の地域ごとに解析を行った（図（1）－13）。父島列島内は南西部を除き、島ごとに異なる遺伝的グループが優占していた。母島列島内では母島・向島と姉島・妹島・姪島で異なる遺伝的グループが優占していた。母島では遺伝的グループの組成が南北で地理的勾配が生じていた。以上の結果から、父島列島と母島列島の間、父島列島内では島間の種苗の移動は控えること、父島内では南西部と他の場所の移動は控えること、母島列島内では母島・向島と姉島・妹島・姪島の間の種苗の移動は控えること、母島内ではできるだけ近い集団の種苗を用いることが指針として得られた。

6) シャリンバイ

シャリンバイは、小笠原群島全体では3つの遺伝的グループに分かれ、鴛島列島と父島列島と母島列島で各遺伝的グループが優占していた（図（1）－14）。さらに、列島ごとに解析を行った（図（1）－15）。その結果、鴛島列島で2つ、母島列島で3つの遺伝的グループに分かれた。鴛島列島では、鴛島と媒島で異なる遺伝的グループが優占していた。母島列島では、母島と向島と、姉島・妹島・姪島でそれぞれ異なる遺伝的グループが優占していた。一方、父島列島内では遺伝的な分化はみられなかった。よって、鴛島と媒島の間、母島と母島列島の他の島の間、向島と他の母島属島の間では種苗の移動は控えることが指針として得られた。

7) ムニンノキ

ムニンノキは、小笠原群島全体では父島列島と母島列島で異なる遺伝的グループが優占していた（図（1）－16）。さらに、父島列島内、母島列島内の地域ごとに解析を行ったが、各地域内に遺伝的な分化が見られなかった（図（1）－17）。よって、父島列島と母島列島の間では種苗の移動はすべきではないことが指針として得られた。

8) ヤロード

ヤロードは、小笠原群島全体では2つの遺伝的グループに分かれ、父島列島と鴛島・母島列島で各遺伝的グループが優占していた（図（1）－18）。さらに、列島ごとに解析を行った（図（1）－19）。その結果、鴛島列島で2つ、母島列島で3つの遺伝的グループに分かれた。鴛島列島では、鴛島と媒島で異なる遺伝的グループが優占していた。母島列島では、母島北・中部と、母島南部・向島・姉島と、妹島でそれぞれ異なる遺伝的グループが優占していた。一方、父島列島内では遺伝的な分化はみられなかった。よって、鴛島と媒島の間、母島北・中部と母島列島の他の地域の間、妹島と他の母島属島の間では種苗の移動は控えること、母島北・中部ではできるだけ近い集団の種苗を用いるべきことが指針として得られた。

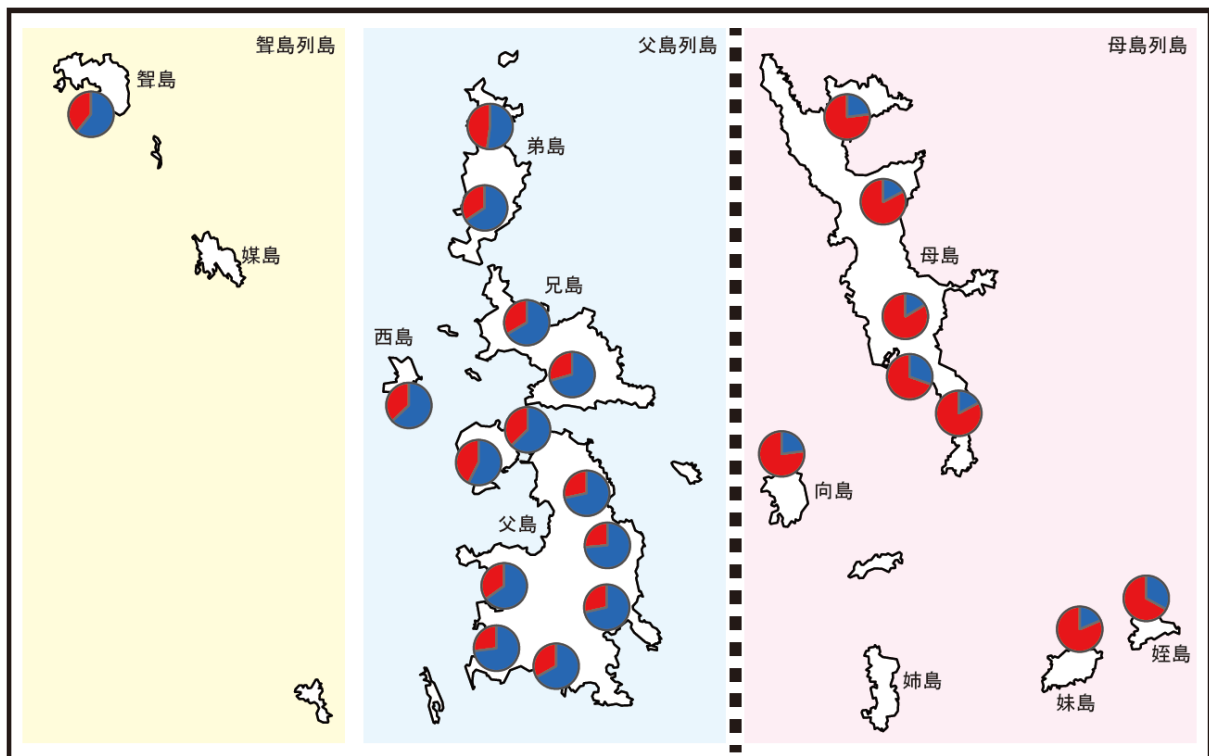


図 (1) -4 アカテツ・コバノアカテツの小笠原群島全体での遺伝的グループの分布。

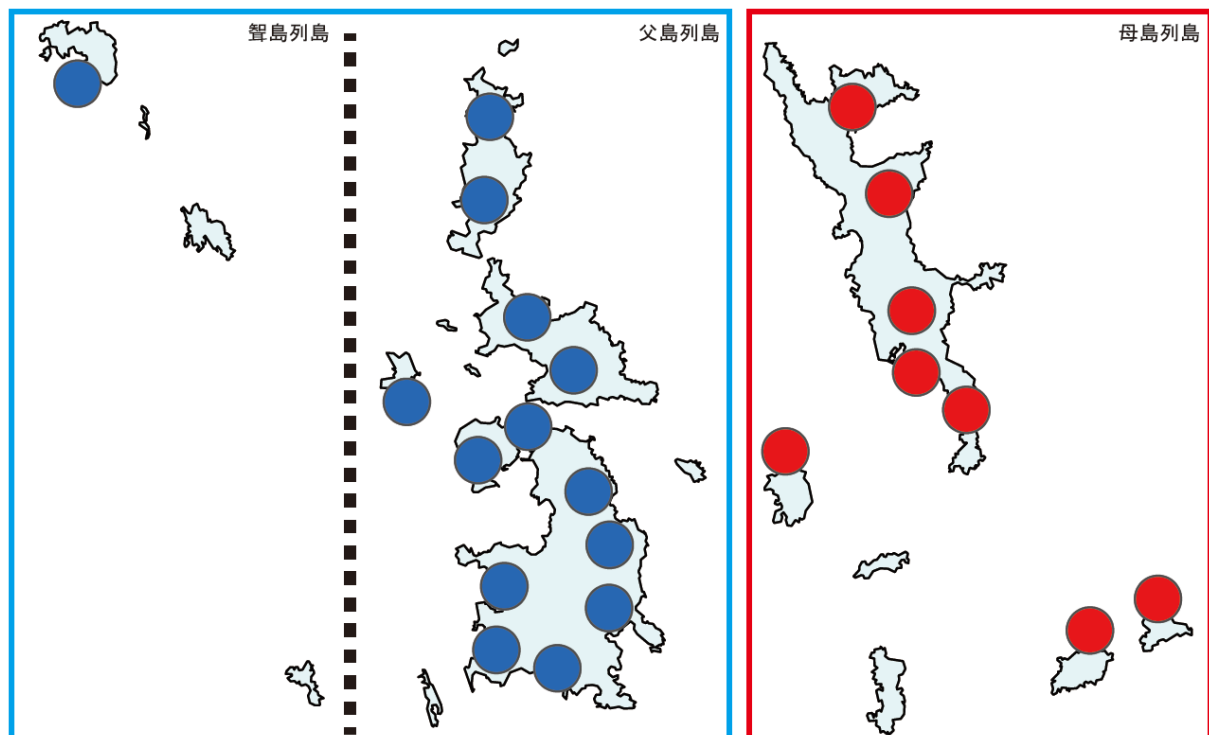


図 (1) -5 アカテツ・コバノアカテツの地域ごとの遺伝的グループの分布と植栽区分。

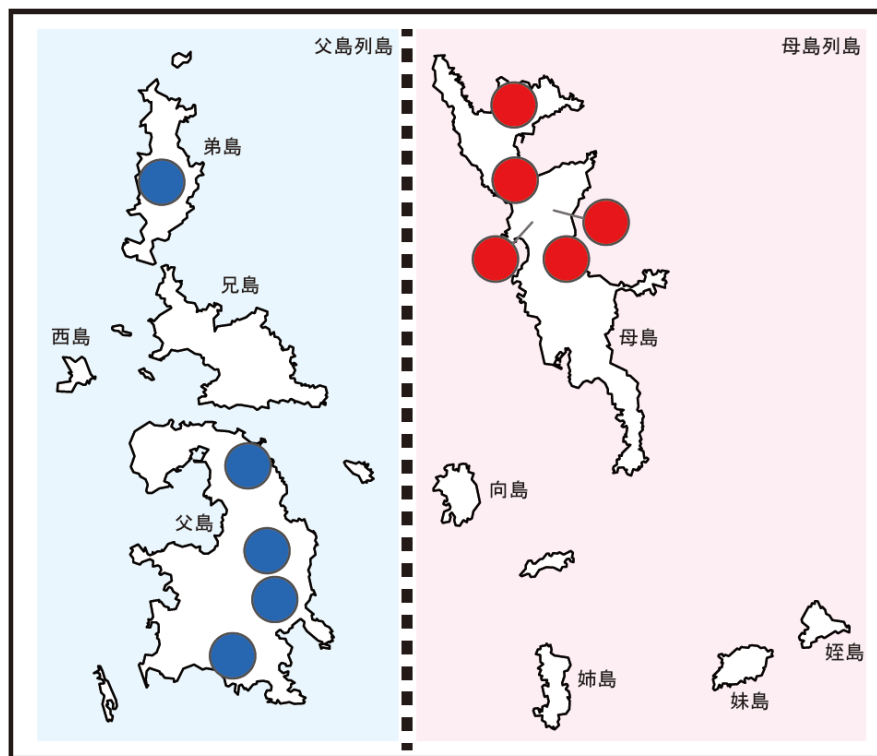


図 (1) -6 アコウザンショウの小笠原群島全体での遺伝的グループの分布。

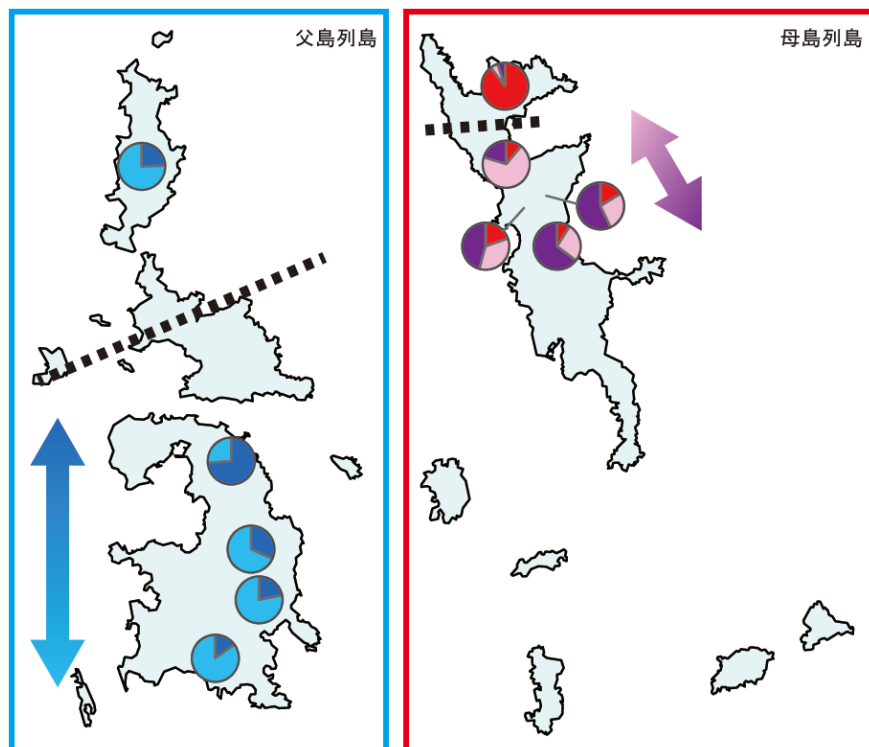


図 (1) -7 アコウザンショウの地域ごとの遺伝的グループの分布と植栽区分。

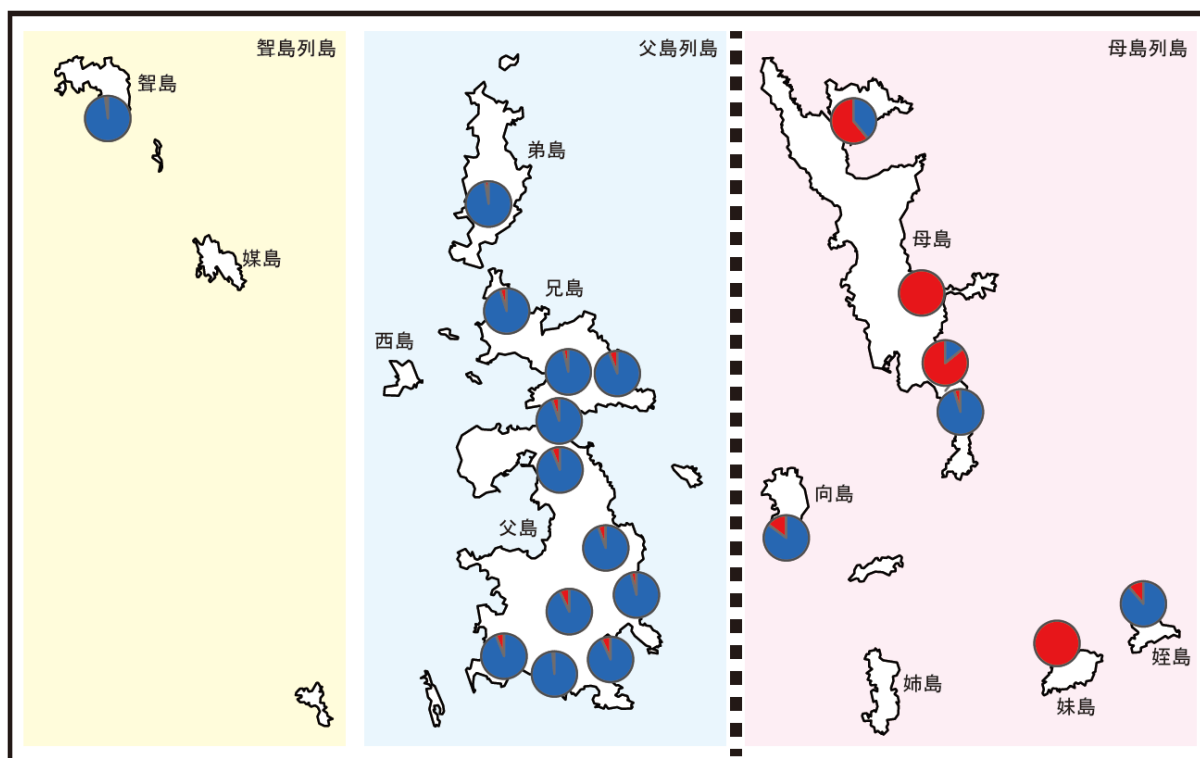


図 (1) -10 シマイスノキの小笠原群島全体での遺伝的グループの分布。

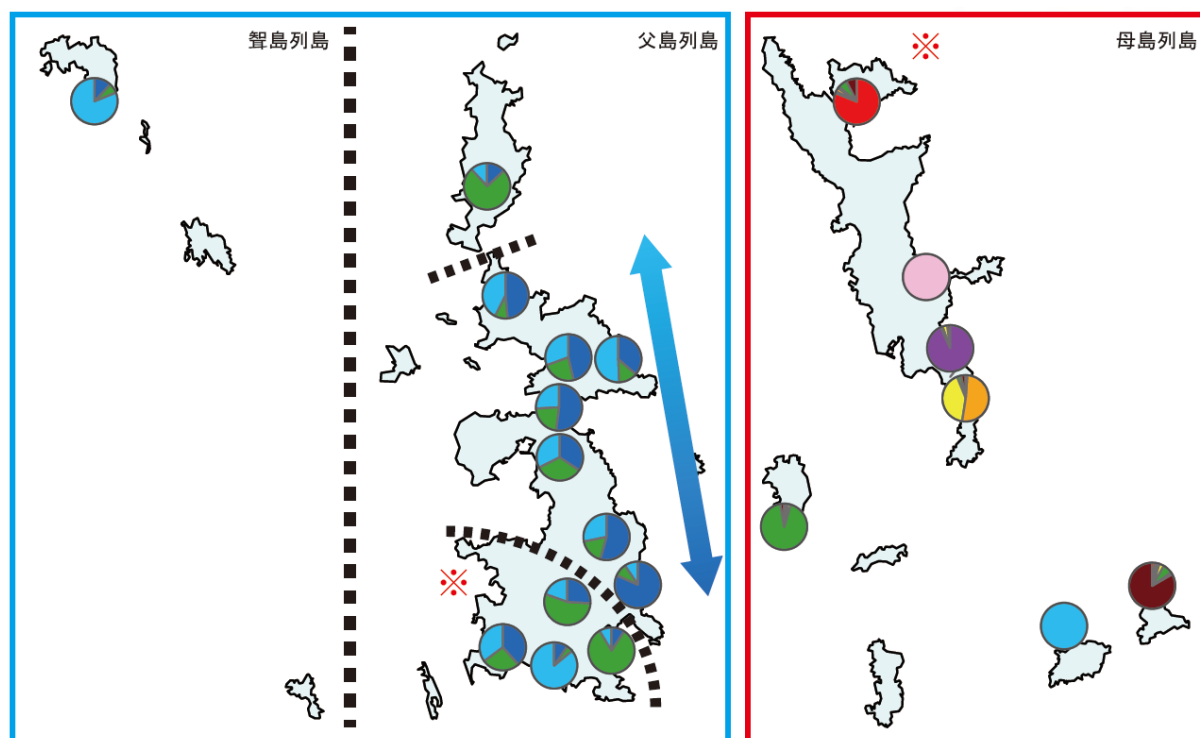


図 (1) -11 シマイスノキの地域ごとの遺伝的グループの分布と植栽区分。

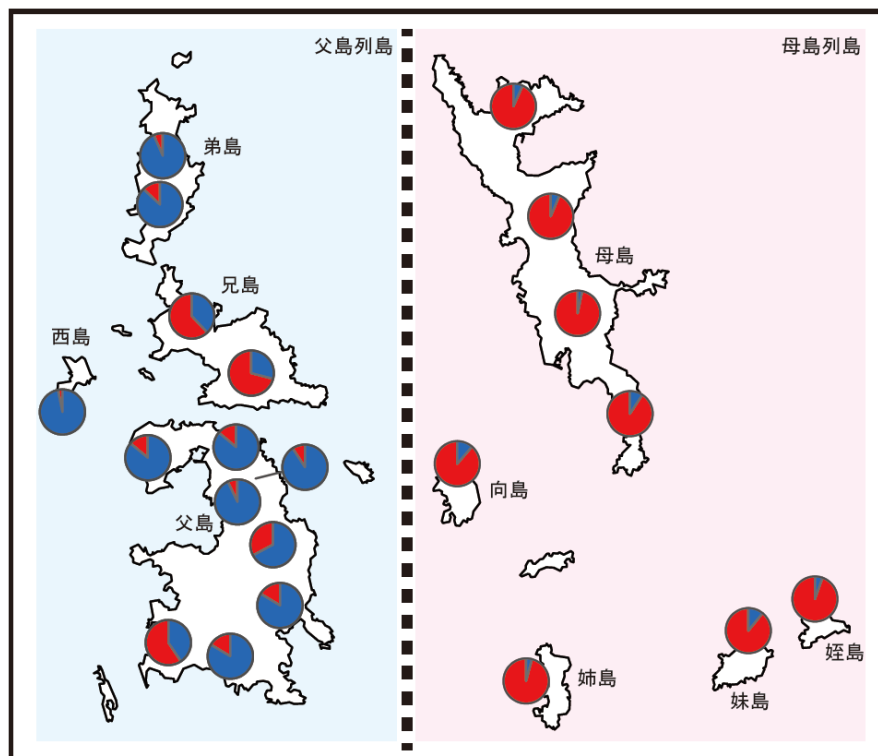


図 (1) -12 シマモチ・ムニンモチの小笠原群島全体での遺伝的グループの分布。

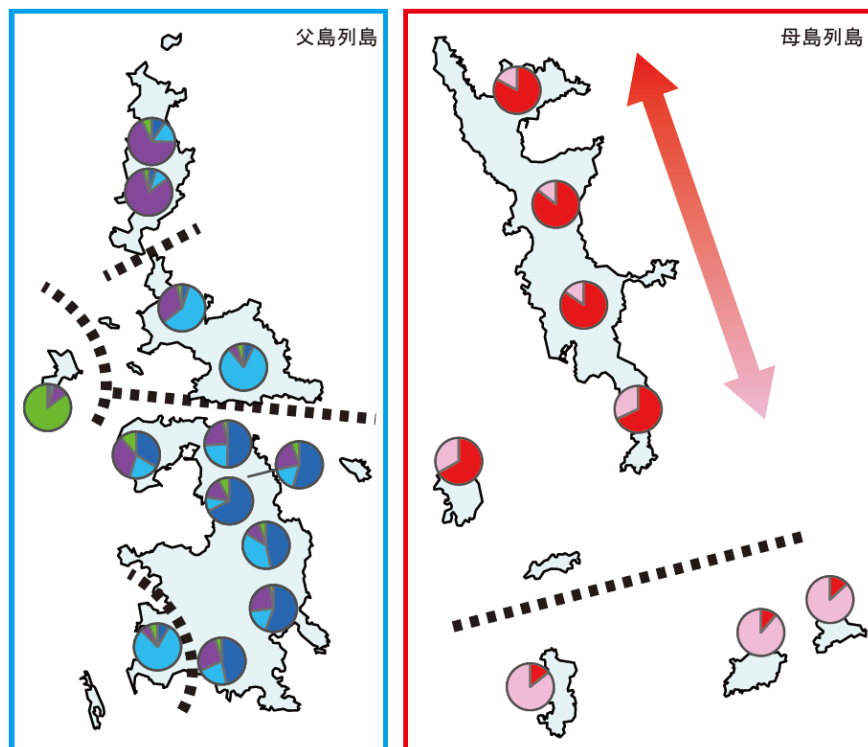


図 (1) -13 シマモチ・ムニンモチの地域ごとの遺伝的グループの分布と植栽区分。

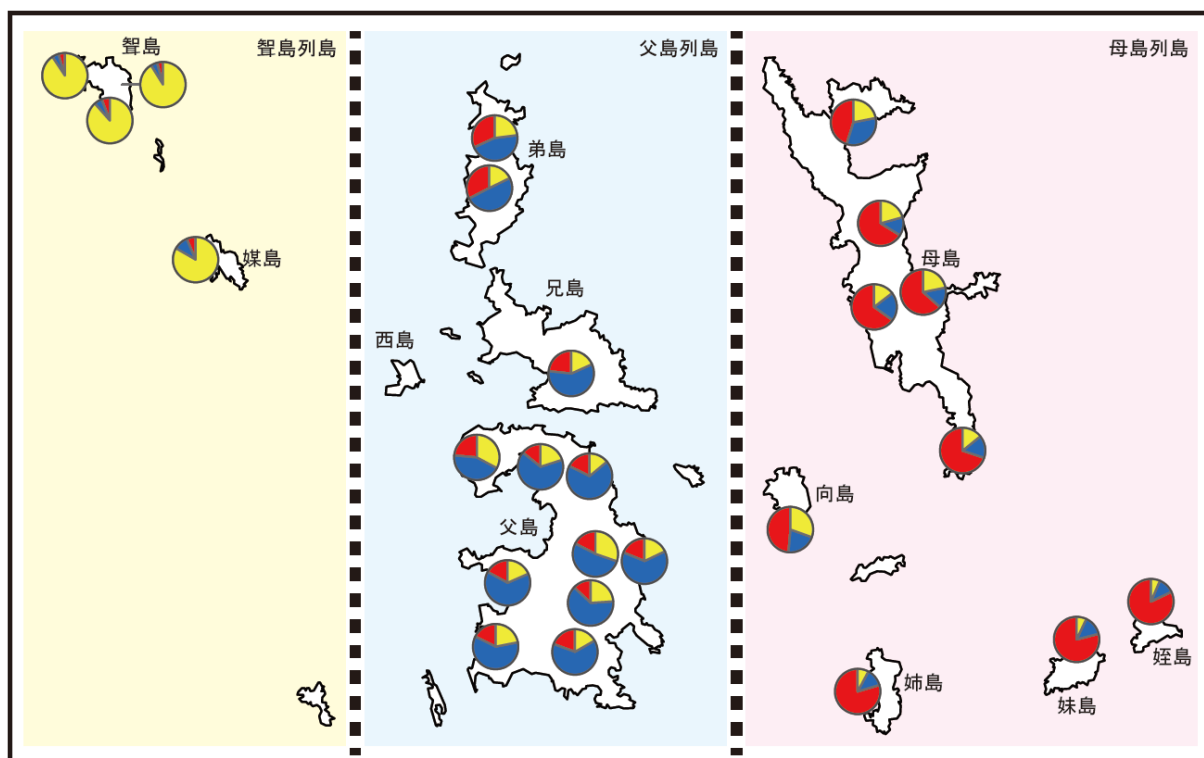


図 (1) -14 シャリンバイの小笠原群島全体での遺伝的グループの分布。

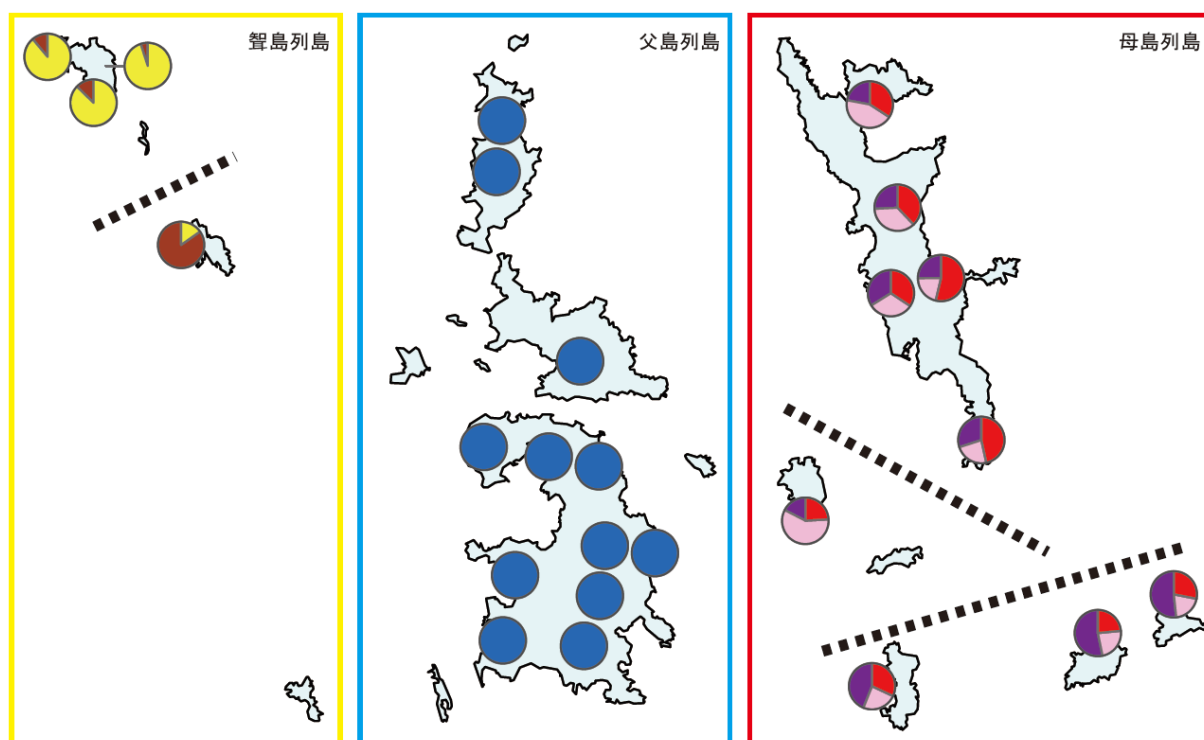


図 (1) -15 シャリンバイの地域ごとの遺伝的グループの分布と植栽区分。

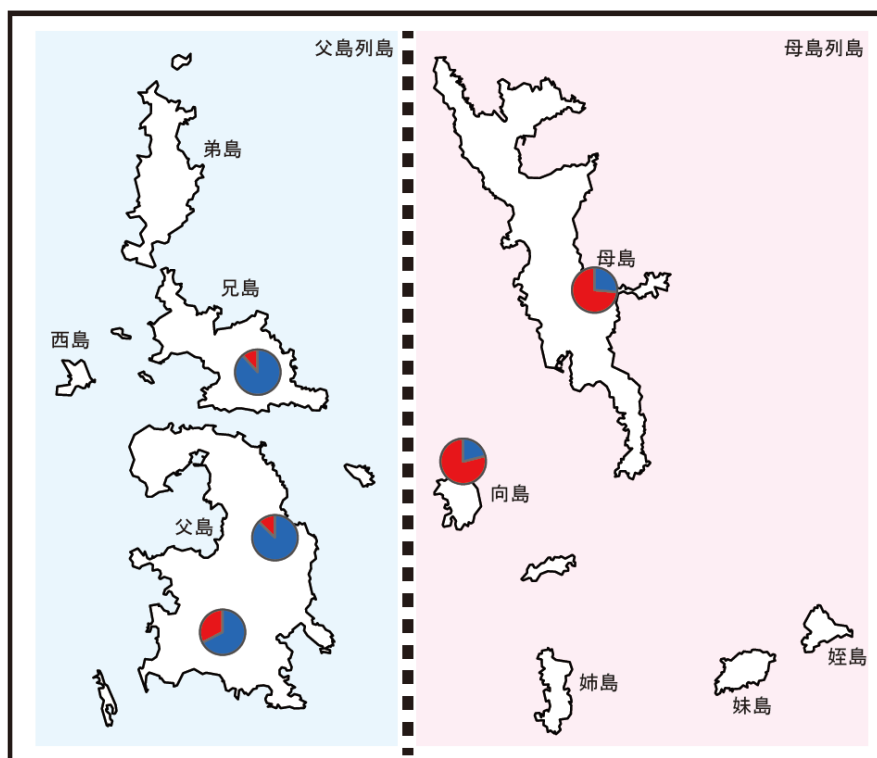


図 (1) -16 ムニンノキの小笠原群島全体での遺伝的グループの分布。

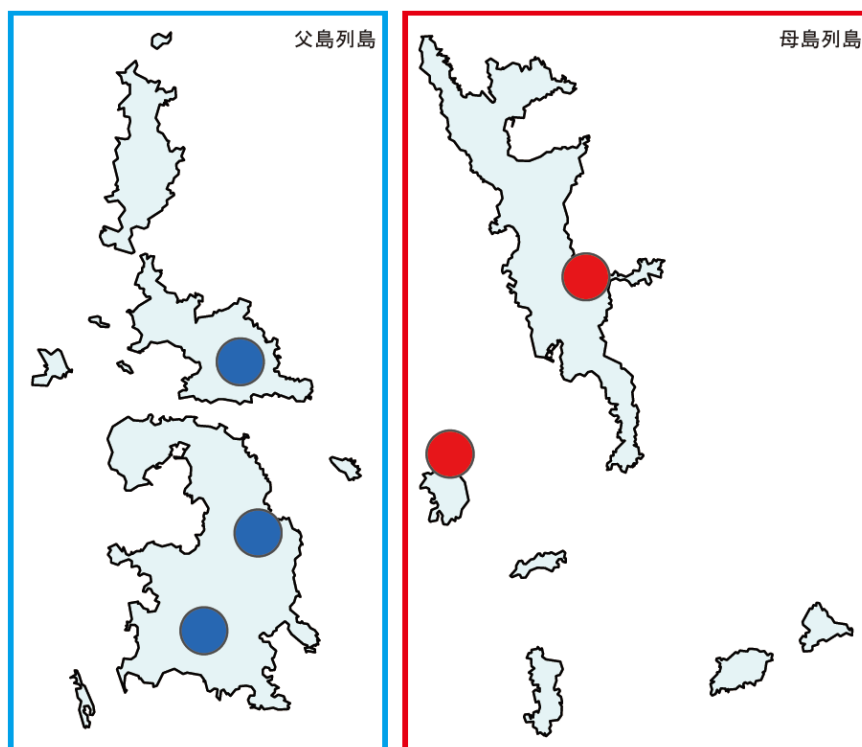


図 (1) -17 ムニンノキの地域ごとの遺伝的グループの分布と植栽区分。

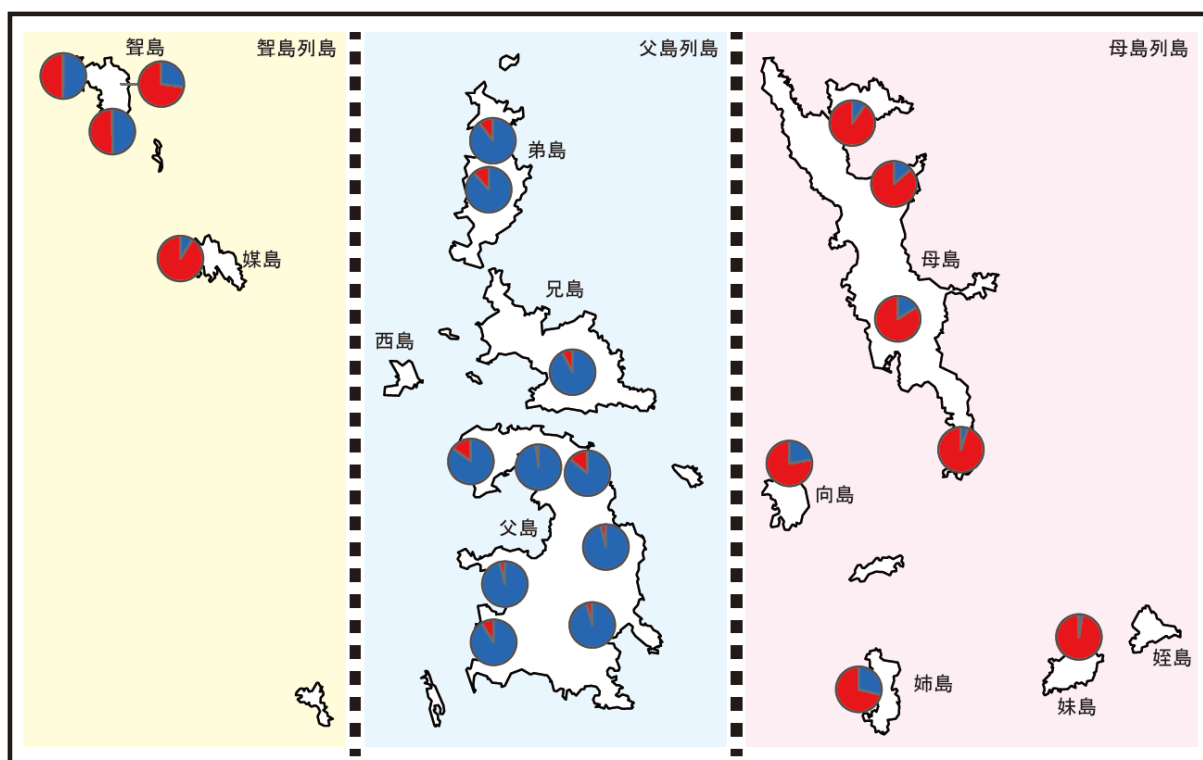


図 (1) -18 ヤロードの小笠原群島全体での遺伝的グループの分布。

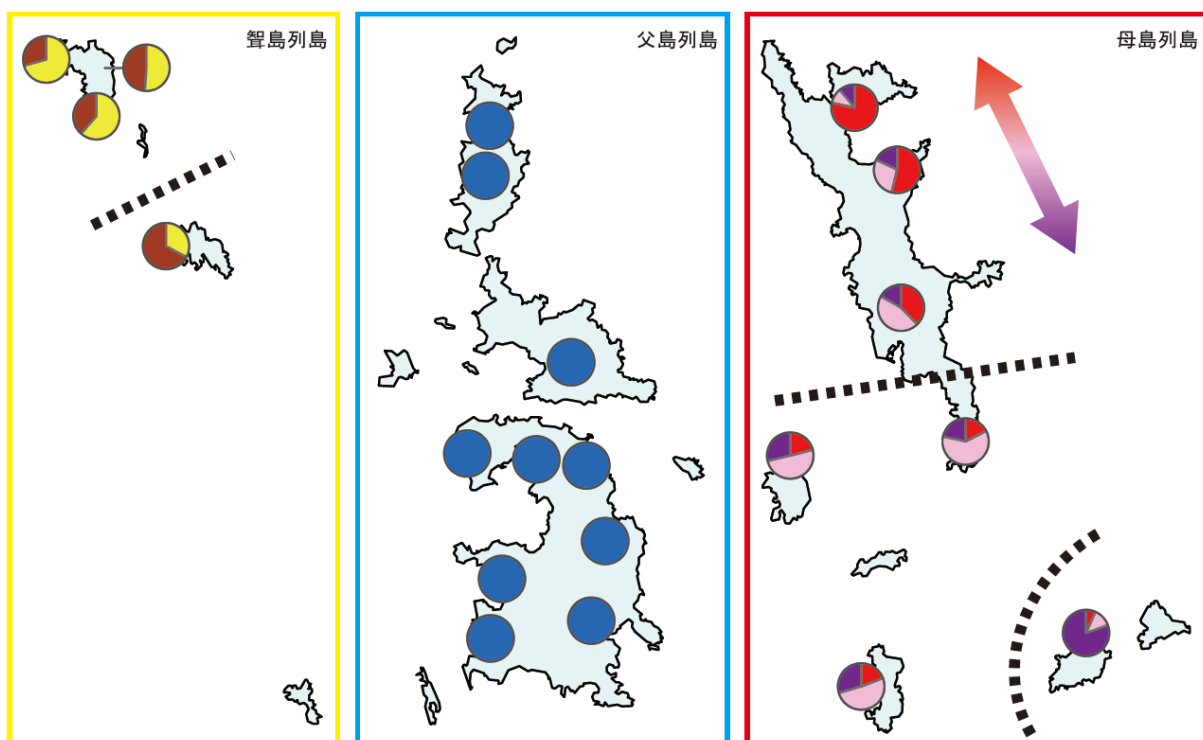
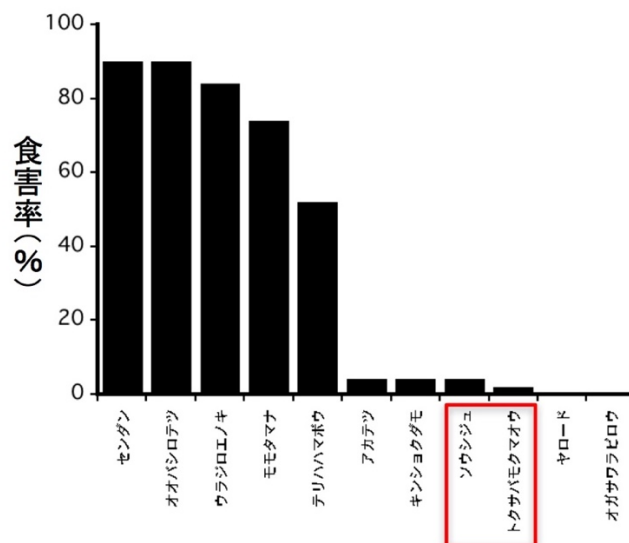


図 (1) -19 ヤロードの地域ごとの遺伝的グループの分布と植栽区分。

(3) サブテーマ間の統合

オナガミズナギドリの繁殖規模の変化を明らかにした結果、ノヤギ駆除後の 2005 年から定着が確認されていた西島の北西部繁殖地において、営巣個体数は上昇を続けていることが明らかになった。しかし、その一方で 2015 年には繁殖成功率は 12.5%、2016 年度には 15%となっていた。一般にミズナギドリ類の繁殖成功率は 70～80%であるため、これは非常に低い数字と言える。2015 年度の調査では、ネズミによると考えられる卵食害の頻度が高く、駆除後に再増加したクマネズミによる捕食圧の上昇が繁殖阻害の主要因と考えられた。

ネズミによる在来植物に対する食害は、在来種のおオバシロテツで 90%、センダンで 90%、ウラジロエノキで 84%、モモタマナで 74%、テリハハマボウで 52%の個体で発生していたが、外来種のソウシジュ、モクマオウでは 10%以下であった（図（1）－20）。また、タコノキでは、最長葉長が 80 cm 以下の個体で食害が発生し、特に 70 cm 以下の個体で発生率が高かった（図（1）－21）。一方、在来種のアカテツの稚樹では逆の傾向があり、樹高 40 cm 以下の小型の稚樹ではほとんど食害が生じないものの、50～160 cm の稚樹ではほとんどの個体が食害を受けていた（図（1）－22）。被害は若い枝先に集中しており、内部の髓をくりぬいて食べていた。小型の稚樹では髓が発達していないため、髓の発達した大型の稚樹が選択的に食害されたものと考えられる。



図（1）－20 在来および在来樹木の稚樹の食害率。

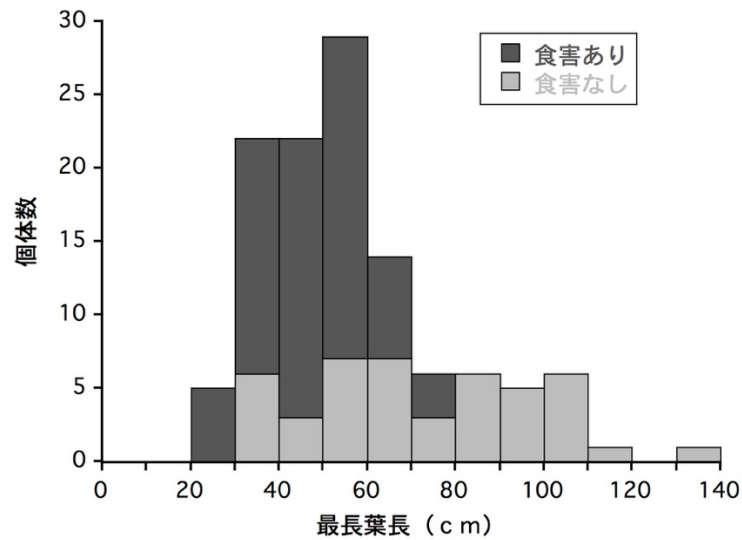


図 (1) -21 タコノキ稚樹の各サイズにおける食害個体数。

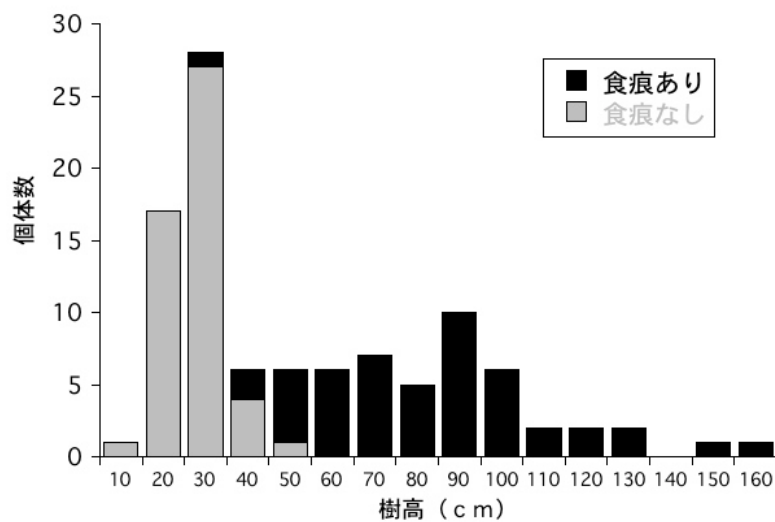


図 (1) -22 ヤロード稚樹の各サイズにおける食害個体数。

西島およびそれ以外の小笠原諸島の島において外来種駆除後に生じた生態系変化について整理したところ、次のような傾向が見られた。ヤギの駆除後には、食害から解放されたオオハマギキョウやウラジロコムラサキ等の希少植物が回復するが、その一方でモクマオウやギンネム等の侵略的外来種が急速に分布を拡大する。外来植物の増加は海鳥の営巣環境を減少させる。ヤギ根絶後にはカツオドリやアホウドリ科などの大型の海鳥の繁殖集団が回復する。ただし、モクマオウの純林では森林構造の変化は見られない。ヤギの競争者となっているネズミ類が増加している可能性がある。ネズミの駆除後には、タコノキ等大型種子をつける植物の回復が見られるが、モクマオウ林では森林の構造は変化しない。また、捕食圧から解放された陸貝類の集団の回復が見られる。モクマオウの駆除後には、サンスポットの増加やリターの減少により、トンボやハンミョウなどの集団が回復する。その一方で、希少鳥類のカワラヒワはモクマオウ林に依存している可能性があり、個体数が減少する危険性がある。

モクマオウの駆除後には競争者となっていたギンネム等の侵略的外来種が分布を拡大する可能性がある。

これらの結果に基づき、ヤギ、ネズミ、モクマオウの3種が定着している状態で、1種、2種、3種の外来種を駆除した場合に、植生および本研究プロジェクトで対象とした種を中心とする絶滅が危惧される鳥類、陸貝類、昆虫、植物が受ける影響を予測した。その結果、ネズミのみを駆除する場合には、特に保全対象種に負の影響を与えることはないが、ヤギのみモクマオウのみ、および3種の内の2種を組み合わせ駆除する場合には、いずれかの保全対象種に負の影響が生じると予測された（図（1）－23）。全ての保全対象種に対して正の効果を得るためには、3種全てを駆除する必要があるという結果になった。ただし、これらの結果は本研究で対象とした種を中心に予測したものであるため、各分類群の全ての種について担保されるものではない。たとえば、オガサワラノスリはネズミを主要な食物としているため、その駆除により負の影響を受ける可能性があると考えられる。このため、実際の事業を実施する場合にはそれぞれの状況に応じて改めて判定を行う必要がある。今回の結果から、複数の外来種が定着した生態系においては、一部の外来種の駆除だけでは、必ずしも保全対象となる絶滅危惧種の保全につながらない場合があると言える。例えば、ヤギの駆除により外来樹種やネズミなどが増加することで、絶滅危惧種の生息地の環境改変や捕食圧の上昇が生じる可能性がある。このため、全ての絶滅危惧種を保全するためには、全種の外来種を駆除することが望ましいと考えられた。ただし予算や資源等の問題でこれが難しい場合には、それぞれの種の特性に応じた局所的な外来種駆除や域外保全を組み合わせる必要がある。現在、小笠原諸島で行われている外来種駆除事業では外来種を含む種間関係図に基づいて計画が立てられているが、駆除対象外来種の組み合わせによる自然再生の効果については検討が不十分である。今後はこれを検討することで、より効果的な自然再生事業が可能になると考えられる。

駆除対象	外来種			保全対象種					
	ネズミ	モクマ	植生	植物	陸貝	昆虫	海鳥	陸鳥	
ヤギ	→	→	→	→	→	→	→	→	
ネズミ		→	→	→	→	→	→	→	
モクマオウ	→		→	→	→	→	→	→	
ヤギ + ネズミ		→	→	→	→	→	→	→	
ヤギ + モクマオウ	→		→	→	→	→	→	→	
ネズミ + モクマオウ			→	→	→	→	→	→	
全三種			→	→	→	→	→	→	

 回復(大)
  回復(小)
  減少

図（1）－23 複数の駆除対象がいる生態系で予測される駆除後の保全対象種の反応。

ただし、ここでの保全対象種は本研究課題で対象とした限定された範囲のものであるため、事業を実施する際には個別に予測を行う必要がある。

5. 本研究により得られた成果

（1）科学的意義

モクマオウ駆除後の生態系の反応については、これまで調査が十分に行われておらず、どのような変化が生じるかが分かっていなかった。本研究により回復の過程が明らかになったことから、保全生態学上重要な知見が得られたと言える。また、小笠原のメジロおよびヒヨドリが本土の集団に比べて移動性を低下させていることが示され、これは島嶼における動物の進化を示す新たな典型例となる。

外来植物駆除後の生態系変化には地形要因が関与している可能性があり、在来種の更新が芳しくない北斜面や急傾斜地では、外来植物駆除時に在来種の植栽を組み合わせる必要があることが明らかになった。さらに、駆除後5年程度経過した段階で、駆除後に更新した外来樹を再び駆除して生態系管理をしていく必要性が明らかになった。

植栽候補になっているアカテツ〔コバノアカテツを含む〕、アコウザンショウ、キンショクダモ〔ムニンシロダモを含む〕、シマイスノキ、シマモチ〔ムニンモチを含む〕、シャリンバイ、ムニンノキ、ヤロードについて、各種の遺伝的背景が明らかになった。このことは島嶼地域における植物の集団の分化と形態進化の科学的理解に寄与する。

複数の外来生物が定着している生態系では予想外の変化が生じることがあることが分かっていたが、小笠原においてこれが整理されたことにより、今後の外来種駆除に際しての科学的背景を与えることができたと考えられる。

（２）環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

環境省による世界自然遺産科学委員会（以下、科学委員会）や小笠原諸島ネズミ対策検証委員会、林野庁による小笠原諸島固有森林生態系修復事業検討委員会や父島列島生態系保全管理WG等において、ネズミによる在来植物の更新阻害やモクマオウ駆除後の植生更新、植物の遺伝構造から考えられる植栽樹種等についての提言を行い、生態系管理事業への成果還元を行った。

<行政が活用することが見込まれる成果>

植栽候補樹の遺伝解析の結果をパンフレット「小笠原諸島における植栽木の種苗移動に関する遺伝的ガイドライン2」にまとめ、2017年3月に関係各署に配布した。この成果は2011年に科学委員会で提案された植栽の考え方に対応するものであり、今後の科学委員会や小笠原諸島固有森林生態系修復事業検討委員会などの各種委員会で共有されることにより、植栽木の遺伝的変異に配慮した種苗が確保され、樹木の進化性を妨げることのない植栽事業が進められることが期待される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

（１）誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) M. SUGITA, K. KAWAKAMI and I. NISHIUMI: Zool. Sci., 33, 2 (vol, issue), 146-153 (2016), Origin of Japanese White-eyes and Brown-eared Bulbuls on the Volcano Islands.
- 2) K. SUGAI and S. SETSUKO: BMC Res. Notes, 9, 332 (2016), Novel microsatellite markers for *Distylium lepidotum* (Hamamelidaceae) endemic to the Ogasawara Islands.

- 3) T. GALLAHER, M. W. CALLMANDER, S. BUERKI, S. SETSUKO and S. C. KEELEY: J. Biogeogr., DOI: 10.1111/jbi.12933 (2016), Navigating the ‘broad freeway’: ocean currents and inland isolation drive diversification in the *Pandanus tectorius* complex (Pandanaceae).
- 4) S. SETSUKO, M. OHTANI, K. SUGAI, T. NAGAMITSU, H. KATO and H. YOSHIMARU: Plant Species Biol., 32, 1 (vol, issue), 13-24 (2017), Genetic variation of pantropical *Terminalia catappa* plants with sea-drifted seeds in the Bonin Islands: Suggestions for transplantation guidelines.
- 5) K. SUGAI and S. SETSUKO: Plant Species Biol. 32, 1 (vol, issue), 87-91 (2017), Isolation and characterization of *Ligustrum micranthum* (Oleaceae) microsatellite loci using paired-end Illumina reads.

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 川上和人：森林総合研究所百十年のあゆみ、376-380（2016）小笠原諸島における侵略的外来種の管理と絶滅危惧種の保全.

（２）口頭発表（学会等）

- 1) S. SETSUKO, T. NAGAMITSU, K. SUGAI, H. KATO and H. YOSHIMARU: The 1st International Conference on Island Evolution, Ecology and Conservation: Island Biology 2014 (2014) Genetic diversity and structure of *Pandanus boninensis*, the endemic tree species in the Bonin Islands.
- 2) K. SUGAI, S. SETSUKO, T. NAGAMITSU, N. MURAKAMI, H. KATO and H. YOSHIMARU: The 1st International Conference on Island Evolution, Ecology and Conservation: Island Biology 2014 (2014) Genetic and ecological differentiation in *Elaeocarpus photiniifolia* (Elaeocarpaceae) associated with dry scrubs and mesic forests in the Bonin (Ogasawara) Islands.
- 3) 須貝杏子、鈴木節子、永光輝義、加藤英寿：日本植物分類学会第 14 回大会（2015）小笠原諸島におけるアカテツとコバノアカテツの葉形変異と遺伝構造.
- 4) 須貝杏子、鈴木節子、森啓悟、村上哲明、加藤英寿：日本生態学会第 62 回全国大会（2015）小笠原諸島におけるセンダンの遺伝的分化と種苗配布区の設定.
- 5) 鈴木節子、須貝杏子、永光輝義、葉山佳代、加藤英寿：日本生態学会第 62 回全国大会（2015）小笠原諸島母島におけるオオバシマムラサキの複雑な遺伝構造と植栽計画への提言.
- 6) 鈴木節子、大谷雅人、須貝杏子、永光輝義、加藤英寿、吉丸博志：第 126 回日本森林学会大会（2015）広域分布種モモタマナの小笠原諸島における遺伝的多様性と遺伝構造.
- 7) 川上和人：日本鳥学会 2015 年度大会（2015）外来生物と島の鳥.
- 8) 杉田典正、川上和人、西海功：日本鳥学会 2015 年度大会（2015）硫黄列島のメジロとヒヨドリの系統地理学的位置.
- 9) 佐藤沙弥香、長谷川元洋、川上和人、南谷幸雄、伊藤雅道：日本土壤動物学会第 38 回大会（2015）フィリピンミミズ *Pithemera bicincta* (Perrier, 1875) の日本における分布の現状について.
- 10) 須貝杏子、鈴木節子：日本植物分類学会第 15 回大会（2016）小笠原群島におけるパイオニア種アコウザンショウの遺伝構造と種苗配布区域の設定.
- 11) 須貝杏子、鈴木節子：日本生態学会第 63 回大会（2016）単食性希少バッタの食樹シマイスノキの遺伝構造と植栽計画への提案.
- 12) 鈴木節子、須貝杏子、加藤英寿、吉丸博志：日本生態学会第 63 回大会（2016）タコノキの遺伝構

造からみる小笠原群島と硫黄列島の関係.

- 13) 日本生態学会第 63 回大会自由集会、企画者：川上和人（2016）小笠原諸島における自然再生の最前線：絶滅危惧種の進化と保全.
 - 13-1) 川上和人：小笠原が迎えた第三の危機.
 - 13-2) 菅原敬、渡邊謙太：小笠原固有ボチョウジ属植物の性表現の多型性とその進化.
 - 13-3) 千葉聡：消えゆく宝、亡びゆく王国：小笠原のカタツムリ.
 - 13-4) 荻部治紀：小笠原の絶滅危惧昆虫数種の域内・域外保全の現状と再導入の試み.
 - 13-5) 堀越和夫：幻の海鳥を探して：新たな保全研究の手法.
- 14) K. KAWAKAMI: The 2nd International Conference on Island Evolution, Ecology and Conservation: Island Biology 2016 (2016) Triple eradication of invasive alien species improves degraded biota on Nishijima in the Ogasawara Islands, Japan.
- 15) S. SETSUKO, M. OHTANI, K. SUGAI, T. NAGAMITSU, H. KATO and H. YOSHIMARU: The 2nd International Conference on Island Evolution, Ecology and Conservation: Island Biology 2016 (2016) Genetic variation of *Terminalia catappa*, pantropical plants with sea-drifted seeds, in the Bonin Islands.
- 16) K. SUGAI, S. SETSUKO, T. NAGAMITSU, N. MURAKAMI, H. KATO and H. YOSHIMARU: the 2nd International Conference on Island Evolution, Ecology and Conservation: Island Biology 2016 (2016) Gene flow between genetically differentiated groups of *Elaeocarpus photiniifolia* (Elaeocarpaceae) on Chichijima Island, Japan.
- 17) 須貝杏子、鈴木節子：京都大学生態学研究センターワークショップ「樹木の乾燥枯死、樹病枯死メカニズムの解明と温暖化等による乾燥影響評価」（2017）小笠原産樹木種における遺伝解析～種分化の途上にある分類群の紹介～.
- 18) 須貝杏子、鈴木節子：日本植物分類学会第 16 回大会（2017）小笠原産固有種シマイスノキにおける遺伝的多様性と遺伝構造.
- 19) 鈴木節子、須貝杏子、加藤英寿、山本良介、井鷲裕司、川上和人：日本生態学会第 64 回全国大会（2016）小笠原諸島における絶滅危惧種の生息に重要な樹木種の種苗移動に関する遺伝的ガイドラインの策定.
- 20) 須貝杏子、鈴木節子、永光輝義、村上哲明、加藤英寿、吉丸博志：日本生態学会第 64 回全国大会（2016）シマホルトノキの生態的分化に及ぼす遺伝と環境の効果.
- 21) 日本生態学会第 64 回大会自由集会、企画者：堀越和夫、川上和人、可知直毅（2017）想定外を想定する外来種対策～小笠原諸島の事例から学ぶ～.
 - 21-1) 川上和人：風が吹いても桶屋が儲かるとは限らない.
 - 21-2) 可知直毅：ノヤギ駆除の誤算：駆除後の外来植物の拡散.
 - 21-3) 千葉聡：ネズミ駆除事業は陸産貝類を救えたか？
 - 21-4) 荻部治紀：グリーンアノールは人知れず海を越える.
 - 21-5) 堀越和夫：想定外は想定外か？

（3）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4)「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 公開講演会「正しい世界遺産のまもり方～進化と新種と小笠原～」(2015年1月31日、神奈川県立生命の星地球博物館ミュージアムシアター、参加者105名)
 - 1-1) 川上和人：小笠原諸島の歩き方：海洋島の生物の魅力.
 - 1-2) 荏部治紀：新種も続々！どうやって守る？兄島固有昆虫保全作戦.
 - 1-3) 菅原敬、渡邊謙太：小笠原の固有植物において見られる珍しい♀と♂の進化.
 - 1-4) 千葉聡：消えゆく宝、亡びゆく王国：小笠原のカタツムリ.
 - 1-5) 川上和人：あらこんなところにオガサワラヒメミズナギドリ.
 - 1-6) 大河内勇：希少種とのつきあい方、楽しみ方.
- 2) 小笠原諸島世界自然遺産研究・保全取組発表会「西島最大の決戦 外来種駆除後に生き残るのは誰だ？」(2015年12月13日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者90名)

(5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) サブテーマ1の成果の記者発表(2016年4月7日、於森林総合研究所、
<https://www.ffpri.affrc.go.jp/press/2016/20160407/index.html>)
絶海の孤島、小笠原の鳥はどこから来たのか？
- 2) サブテーマ1の成果の記者発表(2017年3月8日、於森林総合研究所、
<https://www.ffpri.affrc.go.jp/press/2017/20170308/index.html>)
世界自然遺産・小笠原で絶滅危惧動物の保全に必要な植栽樹種の遺伝的ガイドラインをつくりました-樹木の進化に配慮した正しい植栽のしかた-
- 3) 毎日新聞(2016年4月8日、全国版朝刊、25頁)
- 4) 読売新聞(2016年4月12日、全国版夕刊、12頁)
- 5) 八重山毎日新聞(2016年4月12日、郡内版、8-9頁)

(6) その他

- 1) 川上和人：新潮45、262-265(2016)鳥類学者の優雅で過酷な日々《18》研究者に必要な三つの素養.
- 2) 川上和人：レッドデータブック in Tokyo 5、730:20(2016)東京都を代表する鳥・ハハジマメグロ、ユリカモメ.
- 3) 川上和人：技術評論社、264pp(2016)そもそも島に進化あり.

8. 引用文献

- 1) 森林総合研究所(2017)小笠原諸島における植栽木の種苗移動に関する遺伝的ガイドライン 2.
(<https://www.ffpri.affrc.go.jp/pubs/chukiseika/documents/4th-chuukiseika3.pdf>)
- 2) 小笠原諸島世界自然遺産地域科学委員会事務局(2011)小笠原諸島の生態系の保全・管理の方法として「植栽」を計画するにあたっての考え方. (<http://ogasawara-info.jp/pdf/shokusai.pdf>)
- 3) J. DOYLE and J. DOYLE: Phytochem. Bull., 19, 11-15 (1987), A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue.
- 4) J. PRITCHARD, M. STEPHENS and P. DONNELLY: Genetics, 155, 945-959 (2000), Inference of

population structure using multilocus genotype data.

- 5) H. NAGAI, T. YOSHIDA, K. KAMIYA, T. YAHARA and H. TACHIDA: Mol. Ecol. Resour., 9, 667-669 (2009), Development and characterization of microsatellite markers in *Zanthoxylum ailanthoides* (Rutaceae).

（２）絶滅危惧植物の繁殖成功に配慮した域内保全手法の開発

公立大学法人 首都大学東京

理工学研究科 生命科学専攻 可知 直毅・菅原 敬・加藤 英寿

<研究協力者>理工学研究科 生命科学専攻 畑 憲治

<研究協力者>独立行政法人国立高等専門学校機構沖縄工業高等専門学校 渡邊謙太

平成 26～28 年度累計予算額：35,800 千円（うち平成 28 年度：10,100 千円）

予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

小笠原諸島の絶滅危惧植物であるオガサワラボチョウジは、海洋島においては希と言われる L 型花と S 型花からなる二型花柱性を示す。野外での結果率を調査すると、二型花の結果率はいずれの集団においてもほとんど 10%を超えることはなく、とりわけ S 型花での結果率は 0.2～5.5%と L 型花に比べても極端に低い値であった。この結果は、野外において有効な送粉昆虫が欠如し、二型花間での送粉が S 型花から L 型花への片方向の送粉が優占していることを示唆する。花の形や芳香を考慮すると本来の送粉昆虫は長い口吻をもったスズメガ類の可能性が高いが、野外でそのような昆虫の訪花はほとんど確認できず、もっぱら移入種でもあるセイヨウミツバチによる送粉が行われている。セイヨウミツバチは中舌が短く、その中舌が S 型花の柱頭には達しないため、もっぱら S 型花の花粉が L 型花の柱頭へ運ばれることで受粉が成立している可能性が高い。L 型花に比べて S 型花の結果率が極端に低いという状況はまさにそれを示唆する結果である。

外来樹種モクマオウの駆除後に侵入した外来樹種ギンネムが在来木本種の実生の定着に及ぼす影響を野外実験で評価した。その結果、ギンネムは在来木本種の実生の生残には影響を及ぼさないが、実生の成長を抑制し、この抑制の程度は実生のサイズ依存することが明らかになった。モクマオウの駆除をしないで在来木本種の定着が可能かどうかを野外実験で検証した。その結果、モクマオウの樹冠下でも在来木本種の実生は生残、成長は可能であるが、駆除した場合と比較して多くの時間を要することが明らかになった。モクマオウ駆除後の在来木本種の更新の可能性を野外調査から検証した。その結果、主要樹種の結実の有無は個体のサイズ依存しており、将来安定した更新のための種子生産には植栽を含む新規加入個体の成長が必要であることが示唆された。

【キーワード】

二型花柱性、送粉、トクサバモクマオウ、ギンネム、植栽

1. はじめに

小笠原諸島は、2011 年に世界自然遺産に登録され、適切な生態系管理が求められている。現在も、ノヤギやアカギなど生態系全体の劣化を引き起こす侵略的外来種の駆除事業が行われ、その成果が現れている。しかし、一方で外来種駆除に伴う環境変化が絶滅危惧種に負の影響を与えている。これらの問題を早急に解決し、世界自然遺産の価値を維持するためには、適正な生息地管理が求められる。そのためには在来樹種の植栽を含む植生回復が必要である。

また、保全対象種には、生活史や生息環境条件が未知の種も多い。海洋島は独自の進化を遂げた生物相をもつため、それぞれの種の進化過程と種間相互作用に応じた手法を適用しなければ、有効な保全はできない。世界自然遺産としての価値を保存するためには、当該地域において危機的な状況にある絶滅危惧植物の生息地の維持と管理および域内保全手法を開発することも必要である。

小笠原諸島に生息する絶滅危惧植物の中には特異な繁殖様式（性表現）を示す種がある。その一つに、花柱の高さが異なる二型の花、すなわち長花柱花（L 型）と短花柱花（S 型）をもつ、いわゆる「二型花柱性（Distyly）」と呼ばれる繁殖様式をもつ種がある。このような繁殖様式をもつ植物種は世界中の様々な地域で確認されているが、海洋島では希な繁殖様式と見なされている¹⁾。その実例として同じ海洋島であるハワイ諸島では、雌雄異株化した種の割合が高いが、この中には二型花柱性から由来したとみなされる種が数多く報告されている²⁾。二型花柱性の植物は、集団内に花柱長の異なる二種類の個体を存在させることで、二型花間の相互交配を行って種子形成を進めている。一方で、相互交配を成立させるためには、二型花間の送粉を担保する送粉昆虫の存在が必要不可欠である。もう一つの例は、両性花をつける両性個体と雄花だけをつける雄個体からなる、いわゆる「雄性両全性異株（Androdioecy）」の繁殖様式を示す種の存在である。これは世界的にも極めて珍しい繁殖様式である。最近の調査より、小笠原諸島固有の絶滅危惧植物において、オガサワラボチョウジ（*Psychotria homalosperma*）は二型花柱性³⁾を、そしてムニンハナガサノキ（*Gynochthodes boninensis*）は雄性両全性異株性⁴⁾を示すことが初めて確認された（図（2）－1、2）。これらの種が小笠原諸島でどのような繁殖様式となっているのか、その実態は不明であった。そこで、二型性を示すオガサワラボチョウジを中心に、その繁殖・送粉の実態や個体群構造、そして野外集団の遺伝構造や遺伝子流動の状況を明らかにし、絶滅危惧植物の繁殖成功と進化過程を担保するための域内保全手法を開発した。



図（2）－1 オガサワラボチョウジの花（左）と二型の花（右）。

短花柱では花柱が花筒内に、長花柱花では花柱が花筒の外に突き出る。

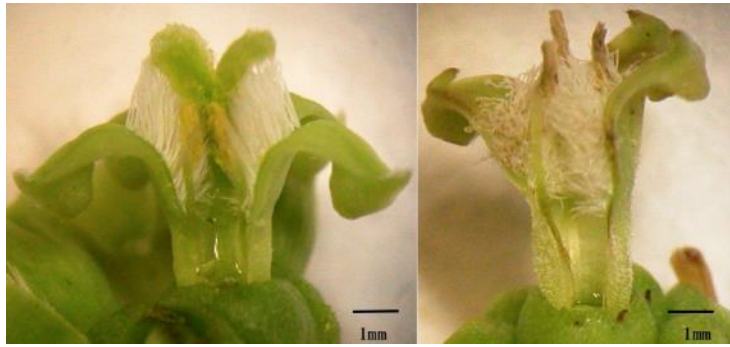


図 (2) -2 ムニンハナガサノキの両性花 (左) と雄花 (右)。

2. 研究開発目的

小笠原諸島には、二型花柱性や雄性両全性異株性という特異な繁殖様式を示す植物種が生育するが、これらは同地において現在絶滅危惧植物とみなされる状況にある。二型花柱性の種では、二型花間で相互交配を行うことで種子形成を行うため、種子繁殖には集団内に二型の個体が存在することが必要不可欠である。また、雄性両全性異株の種においては、雄個体の存在は花粉を提供源として機能することが重要である。そこで、二型性を示すオガサワラボチョウジを中心に、その繁殖の実態、そして集団の個体群構造や遺伝子流動の状況を明らかにし、絶滅危惧植物の繁殖成功と進化過程を担保するための域内保全手法を開発する。また、外来植物駆除地における絶滅危惧植物の生育環境（在来植生環境）を確保するため、在来植生の回復手法を開発する。

3. 研究開発方法

(1) 絶滅危惧植物の繁殖成功と進化過程を担保した域内保全手法の開発

絶滅危惧植物の繁殖成功と進化過程を担保するための域内保全手法の開発のため、特異な性表現をもつ絶滅危惧植物を対象に、1) 野外における個々の種の繁殖特性、2) 個体群構造についての調査を行った。また、3) これらの種のマイクロサテライトマーカーを開発し、4) その遺伝的マーカーを活用して花粉流動の状況を調査した。

1) オガサワラボチョウジの繁殖特性の調査

父島、兄島、母島に生育するオガサワラボチョウジについて、二型性に着目しながら花形質の変異の状況について調査した。また、認識された二型花について同型あるいは異型花間での人為的交配実験、そして自家受粉実験を行い、二型花の機能的繁殖特性の解明を進めた。また、野外自然状態での結果率（成熟果実になった花/調査した花数）についての調査を行った。さらに送粉に関与する送粉昆虫の調査も併せて行った。この調査では目視による送粉昆虫の調査に加えてインターバルカメラを活用し、2分間隔で昼夜連続的に花を撮影することで、訪花昆虫を把握することに努めた。

2) 母島におけるオガサワラボチョウジの個体群構造の調査

父島、兄島、母島乳房山、母島石門に生育するオガサワラボチョウジ各個体群について、個体の分布状況、各個体の花型、樹高、地際直径を調査し、個体群構造を調査した。また、一部の個体については、花序あたりの花数を計数した。

3) マイクロサテライトマーカーの開発

対象種のオガサワラボチョウジとハハジマハナガサノキのマイクロサテライトマーカーを開発した。

^{5,6)}現地で採集後冷蔵保存した葉のサンプルから DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を用いて DNA 抽出を行った。次世代シーケンサー (454GS Junior、Roche) により塩基配列を決定した。プログラム QDD 2.2⁷⁾を使って、マイクロサテライトマーカーを設計した。父島と母島の 1 集団ずつを用いて、マーカーの多型性を評価した。

4) マイクロサテライトマーカーを用いた遺伝構造、花粉流動の解析

兄島、父島、母島において、オガサワラボチョウジの成木から DNA 解析用試料として成葉を採取した。前項で開発されたマイクロサテライトマーカーの内、多型がみられた 26 座を用いて、父島・母島に分布する個体の遺伝子型を決定した。また、このうち開花および花型が確認できたものを、父性解析における花粉親候補として用いた。また 2014 年度の調査で花型が確認されている個体についても、花粉親候補として解析に加えた。その結果、兄島における花粉親候補は 55 個体、母島石門集団における花粉親候補は 93 個体になった。

種子に関しては、花粉親候補個体のうち 2015 年 12 月から 2016 年 12 月にかけて兄島集団において L 型母樹 6 個体から計 76 個の種子を、S 型母樹 7 個体から計 79 個の種子を採取した。母島石門集団からは L 型母樹 4 個体から計 56 個の種子を、S 型母樹 1 個体から計 14 個の種子を採取し解析に用いた。

葉サンプルはシリカゲルにて乾燥保存し、DNA 抽出には CTAB 法⁸⁾に改変を加えた手法を用いた。種子は種皮を取り除いたのち、胚乳部分を液体窒素で凍らせて粉砕し、その後 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。

マイクロサテライトマーカーは、前項で開発されたマーカー⁵⁾のうち 13 遺伝子座を用いた。これらの核マイクロサテライトマーカーについては Multiplex PCR Kit (QIAGEN) または Type-it Microstellite PCR Kit (QIAGEN) を用いてマルチプレックス PCR を行ったのち、キャピラリー電気泳動を行った。得られた PCR 産物のサイズを GeneMapper Software 5 (Applied Biosystems) で解析し、核マイクロサテライトの遺伝子型を決定した。得られた遺伝子型に基づき、Cervus ver. 3.0^{9,10)}を用いて、種子の父性解析を行った。また花粉親と推定された個体と母樹間との距離を QGIS ver. 2.18.3¹¹⁾を用いて算出した。

ムニンハナガサノキについては、聳島・父島・母島列島で葉を採取し、前項で開発されたマーカー⁶⁾のうち 23 遺伝子座を用いて、個体の遺伝子型を決定した。

(2) 外来樹駆除地における主要在来樹種の機能特性と繁殖状況の解明

外来樹種モクマオウの駆除後に侵入した外来樹種ギンネムが在来木本種の実生の定着に及ぼす影響を評価するために、モクマオウの駆除跡に移植した 4 種の在来木本種 (タコノキ、シャリンバイ、ヒメツバキ、モモタマナ) の生残と成長をギンネム存在下と不在下で比較した。父島のモクマオウ駆除後の 15 地点において隣接する 2 つの 1×2 m の実験区を設置し、2 段階の異なるサイズの実生を各実験区に移植した。移植と同時に 2 つの実験区のうち 1 つにギンネムの種子を数百粒ずつ播種した (播種処理をした方が処理区、しなかった方が対照区とする)。以後、1 年間、移植した実生の生残を確認し、半年おきに実生のサイズ (地際径、高さ、葉数) を測定した。

モクマオウの駆除をしないで在来木本種による更新が可能かどうかを検証するために、モクマオウが優占する森林に在来木本種であるヒメツバキの実生を移植し、その生残と成長をモニタリングした。父島洲崎のモクマオウ優占林において、1×1 m の実験区を 20 か所設置し、3 段階のサイズが異なるヒ

メツバキの実生を移植した。移植した実生は、約 6 年間、半年から 1 年おきに生残を確認し、そのサイズ（地際径、高さ、葉数）を測定した。

モクマオウ駆除後の在来木本種の更新の可能性を検証するために、主要木本種であるオガサワラビロウ、タコノキ、ウラジロエノキの結実状況を把握し、結実の有無と個体サイズとの関係を明らかにした。父島列島西島のモクマオウ駆除跡地を踏査し、出現した 3 樹種の個体の結実の有無を確認し、その樹高を測定した。

4. 結果及び考察

（1）絶滅危惧植物の繁殖成功と進化過程を担保した域内保全手法の開発

1) オガサワラボチョウジの繁殖特性

父島・母島・兄島に生育するオガサワラボチョウジについて、花筒内における雄蕊の位置と雌蕊の位置を調査した結果、この種はいずれの集団においても、短花柱花をもつ個体と長花柱花をもつ個体の二種類からなることが確認された。これはいわゆる二型花柱性とみなされる状況である。海洋島の植物種では稀な繁殖特性である。ハワイ諸島に生育する固有 11 種はいずれも雌雄異株化すると報告され、これらは二型花柱性から二次的に由来したと考えられている。同じ海洋島でも、小笠原諸島では依然二型花柱性が維持されていることを意味するのであろうか。二型花の雄蕊や雌蕊の位置に着目してみると、二型花間で、特に短花柱花の柱頭と長花柱花の葯が互いに対応しない位置にあることがわかる。これは二型花柱性と言われる植物においては特異な形である³⁾（図（2）－1）。

二型花柱性の植物は一般に自家・同型花間において不和合性を示すことが一般に知られている。オガサワラボチョウジについて、この特性を調べてみると、本種も基本的には同様の特性をもつことがわかった³⁾（表（2）－1）。これは、野外における種子繁殖には二型花間で相互交配が行われることが必要であることを示しているので、二型花間で送粉がうまく行われることが結実に結びつくことになる。一方で、一部の集団において（父島集団）において、S-S 花間（短花柱花間）で部分的な和合性確認された。

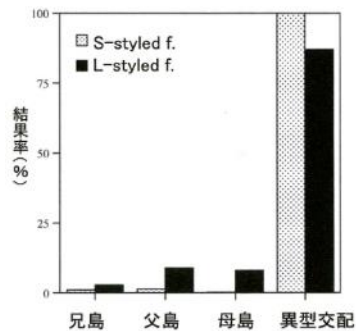
表（2）－1 オガサワラボチョウジの二型花における人工交配実験の結果。

Pollination experiments performed on S- and L-styled morph flowers of *Psychotria homalosperma* on Chichi-jima Island in 2003.

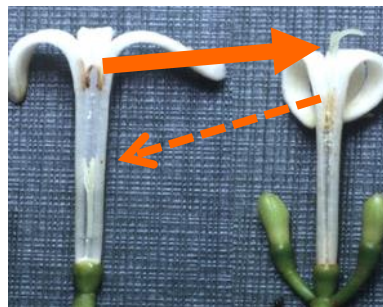
Artificial pollination	Treatment/morph	Number of individuals	Number of inflorescences	Number of flowers	Number of fruits	Fruit set (%)
Hand self pollination	S	11	20	32	0	0
	L	7	13	26	0	0
Hand cross pollination (male → female)	S → S	11	20	34	2	5.9
	L → L	5	9	19	0	0
	S → L	6	16	23	19	82.6
	L → S	10	21	33	28	84.8
Bagging experiments	S	4	8	72	0	0
	L	4	6	35	0	0

父島、母島、兄島の各野外集団において、二型花それぞれの花の結果率を調べてみると、結果率は、高くても 10% 程度と全体的に低く、またいずれの集団においても S 型花の結果率が L 型に比べて極端に低いという結果が得られた（図（2）－3）。野外における L 型花と S 型花の結果率が全体的に低いという結果は、これらへ訪花する花粉媒介者が不足し、花粉がうまく運ばれていないことを示唆している。花が白く、花筒が長い、そして芳香を放出するオガサワラボチョウジの花は、口吻の長いスズメガ類が本来の送粉者と考えられるが、長時間に渡る野外調査にも関わらず、このようなガ類の訪花は

ほとんど確認できず、もっぱら移入種であるセイヨウミツバチが訪花し、花粉を集めている様子が確認される。加えて S 型花での結実が極端に低く、L 型花での結実が高いという結果は、送粉が S 型から L 型へと片方向的に起こっていることを示唆する（図（2）－4）。その理由として、野外での送粉を短舌のセイヨウミツバチに強く依存しているため、柱頭が花筒入り口付近にある L 型花ではセイヨウミツバチにとって受粉しやすいが、花筒下部に位置する S 型花では口吻が柱頭に届かないために受粉が難しい。これが二型花間の結実の偏りの要因になっている可能性がある。



図（2）－3 オガサワラボチョウジの野外集団における結果率。



図（2）－4 S 型雄蕊から L 型柱頭への片方向の送粉が優占していると考えられる。

なお、二型花個体の割合を集団ごとに調べてみると、父島の集団では短花柱花の割合が長花柱花よりも高かった。一方、母島においては石門と乳房山の 2 集団とも短花柱花と長花柱花の出現頻度に有意な差はみられなかった。そのため、母島と父島の集団では異なる繁殖システムを持っている可能性がある。父島における S-S 間の部分的和合性がこの偏りに関係しているかどうかは不明である。

2) オガサワラボチョウジの個体群構造

父島、兄島、母島乳房山生育地での調査に加えて、母島石門周辺でもオガサワラボチョウジの生育が確認されたため、個体群構造の解析調査をおこなった。この石門ルート沿いで 156 個体のオガサワラボチョウジが確認されたが、開花齢に達していない若い個体が 50 個体以上含まれていた。根元直径に基づく頻度分図（図（2）－5）でも分かるように、兄島や父島の集団では直径 5 センチ以下の幼木を確認することはできないが、母島石門集団では、そのような個体が多数確認できる。これは、現存するオガサワラボチョウジの集団の中で、唯一世代更新が行われている集団と考えることができる。従って母島石門のオガサワラボチョウジは更新が正常に進んでいる保全上重要な集団であると言える。今後、石門と他の分布域で何が違うのかを明らかにする必要がある。種子の発芽率や実生の定着率、

定着後の生長量や成木の結果率など各ステージにおいてどのような障害があるのか、土壌水分などの生育環境の違いはあるのか、などについての種特性を解明することで、各集団を保全していく重要な情報を提供できる可能性がある。

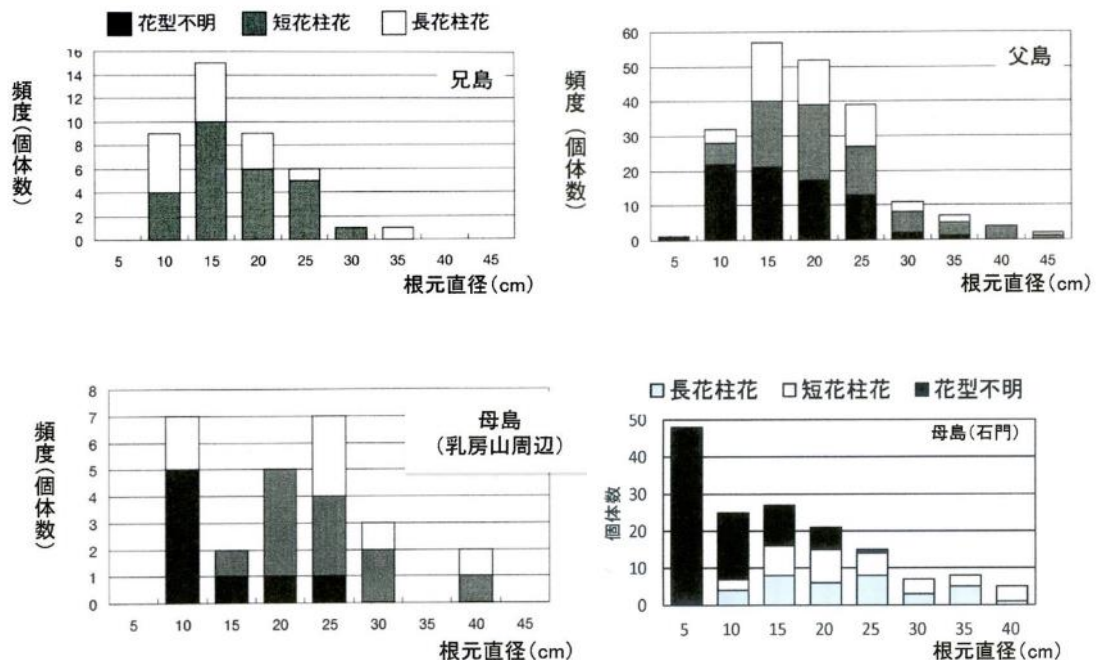


図 (2) -5 各島におけるオガサワラボチョウジ個体群構造。

石門では幼樹が確認できるが、他では確認できない。

3) マイクロサテライトマーカーの開発

次世代シーケンサーの塩基配列解読により、オガサワラボチョウジのサンプルから種識別のタグがあり、かつ 80 bp 以上の配列が 144,918 リード得られた。QDD 2.2 により、マイクロサテライト部位 (2 ~ 6 bp のモチーフが 5 回以上繰り返し) を含む配列が 5,544 リードあり、1,876 プライマーを設計できた。次世代シーケンサーを用いてマイクロサテライトマーカーを開発した。設計したマイクロサテライトマーカーのなかで、48 遺伝子座においてその有効性を検証した。その結果、26 遺伝子座で増幅と多型がみられた⁵⁾ (表 (2) -2)。

表 (2) -2 オガサワラボチョウジにおいて、増幅と多型が確認された 26 遺伝子座。

TABLE 1. Twenty-six SSR markers for *Psychotria homalosperma*.^a

Locus	Primer sequences (5'-3')	Fluorescent label ^b	PIG-tail ^c	Repeat motif	Allele size range (bp)	GenBank accession no.
Ph0095	F: TTAAGCGGCCATAAATTAAGAAGA R: TGGTATGAGGTATGATGCTGGAA	GCCTTGCCAGCCCGC	GTT	(CT) ₈	137-145	LC093233
Ph0172	F: GTGCTTGGAATCGATATCATTACTT R: CCGGTCTCTTCGTATACCTCTAAA	CGGAGAGCCGAGAGGTG	GTTT	(CT) ₈	114-122	LC093234
Ph0248	F: TTCAGTGACTCACTCTGTGATTTC R: TCTGAGTACCTGGAAATTTGATTG	CAGGACCAGGCTACCGTG	GTT	(AT) ₈	213-223	LC093235
Ph0288	F: TTCAGGACAAAGCAATAAATACCTAC R: AAGTTTACGATGAGGTTCTTACCA	CGGAGAGCCGAGAGGTG	GTTT	(TA) ₁₁	80-130	LC093236
Ph0353	F: AGGAGATTGCATTATTAACAACCG R: CTTATGTCCCAATTTCAACAGTGTG	CAGGACCAGGCTACCGTG	GTTT	(AT) ₁₀	173-217	LC093237
Ph0401	F: CCTAGGTAAATCAAAGCAAGAAG R: TCTTCTTATAGCGATTGAGCATGA	GCCTCCCTCGCGCCA	GTT	(ACA) ₁₀	136-151	LC093238
Ph0432	F: AATTCAACCGCTCTTCAATATCAA R: TCTGGTACACTGATCTGCTTCTG	GCCTTGCCAGCCCGC	GTT	(AG) ₈	123-125	LC093239
Ph0517	F: AAAGAATAAACAGCAAGTTAGGCT R: TAGAATACAAACATGGGATGACGA	CAGGACCAGGCTACCGTG	GTT	(AT) ₈	140-166	LC093240
Ph0539	F: GTCCGTTGTCATCGTCAATTAATA R: CGGGAAGTCTGTCAAGACAAGTAT	GCCTTGCCAGCCCGC	GTTT	(ACAA) ₈	195-219	LC093241
Ph0587	F: AGTTGCTTAGAAATGCAAGATGT R: TAGTAGTGAATCGAAAGGCAA	CAGGACCAGGCTACCGTG	GTT	(CT) ₈	108-128	LC093242
Ph0606	F: GATGGTCATGTGTTGTTGTGGAG R: TTTGCGACGAAAGAGAAACAT	CAGGACCAGGCTACCGTG	G	(GAGGA) ₈	142-173	LC093243
Ph0639	F: TGCAGTCTCGTCTTTAATAGAT R: CCTCTTAGATTGTCATTGTTATCGG	GCCTTGCCAGCCCGC	GTTT	(ATT) ₈	103-127	LC093244
Ph0711	F: GGTTTAATATTGGCTGGACCTTCT R: AGAATGATTTAACACCCACTTCG	CGGAGAGCCGAGAGGTG	GTTT	(AT) ₁₂	141-159	LC093245
Ph0770	F: ATTGCCTCTGCTATCTTTGGTTG R: GCATTATCTTGTGGCTCAATGT	GCCTTGCCAGCCCGC	GTTT	(AT) ₈	109-149	LC093246
Ph0789	F: ATCCAGGTGTACCCATAATTGTT R: TAGAGTGGTAGGACTTTGGAAATTG	GCCTTGCCAGCCCGC	GTT	(AAT) ₁₀	271-287	LC093247
Ph0855	F: TCTCGCTAGTACTGATGATAGGAA R: GAAAGGTAGGAGGTAACTATGCC	GCCTCCCTCGCGCCA	GTTT	(AT) ₉	167-177	LC093248
Ph0878	F: TTTGTAATTTGACTAGAATTCCGG R: AGTATTCACTCGAATGTTAAATGAA	GCCTTGCCAGCCCGC	GTTT	(TA) ₈	163-219	LC093249
Ph0954	F: CTGCTGAGCCATAATAAATTACA R: ACATTCCCATCATAGCATTAGGAC	CAGGACCAGGCTACCGTG	GTTT	(AAT) ₁₀	154-169	LC093250
Ph1051	F: ACATTGTTTACCTACGGCTACGAT R: TATACAACTCATGCTCCATTGTCC	GCCTCCCTCGCGCCA	GTT	(GAT) ₁₃	194-224	LC093251
Ph1073	F: TTTGGTGTACTAGAAGGAATTGGG R: GCTCTTCACCTCGCATCTCTT	CGGAGAGCCGAGAGGTG	GTTT	(TG) ₈	341-371	LC093252
Ph1122	F: ACACCTCGGAACCTTCCAC R: CCAGTCTCTGAGAAGAAGTGATTA	GCCTCCCTCGCGCCA	GTTT	(AAG) ₉	122-149	LC093253
Ph1126	F: CTTAGACGGATGATCATGAATGG R: AACAGTAGGATGAAGGAGTGAA	CAGGACCAGGCTACCGTG	GTTT	(AT) ₁₂	213-257	LC093254
Ph1163	F: AAACCTTAATGTACCTCTAATGCCA R: ATACCCCTATCAATTTCTCCACGCT	CGGAGAGCCGAGAGGTG	GTTT	(TG) ₉	167-183	LC093255
Ph1284	F: GATCAGAAATCAGCAAGCAT R: CTGTTTAGGCTTCTAACTCAAAGTTGC	GCCTCCCTCGCGCCA	GTTT	(AG) ₈	99-103	LC093256
Ph1346	F: TGATCTATGGATTGACGTAACCA R: CAATACAGAAGAGGTGGAGGAAG	GCCTCCCTCGCGCCA	GTTT	(CT) ₈	227-249	LC093257
Ph1387	F: TGATTCTCAATTGCATGTATTGGT R: ATGACTTGGGTTAAGTTGGAAGA	CGGAGAGCCGAGAGGTG	GTTT	(TA) ₉	131-135	LC093258

^a Annealing temperature for all loci was 57°C.^b Fluorescent label sequences attached to the forward primer (Blacket et al., 2012).^c PIG-tail sequences attached to the reverse primer (Brownstein et al., 1996).

一方、ムニンハナガサノキは小笠原諸島の父島列島と母島列島に分布する常緑藤本で、雄性両全性異株性、すなわち雄個体と両性個体が共存する性型を示す。この性型をもつ植物は非常に稀であり、この性型がどのように維持されているのか、花粉流動の解明が鍵になると思われた。そこで、次世代シーケンサーを用いてマイクロサテライトマーカーを開発した。設計した 158 座のマイクロサテライトマーカーのうち、48 座においてその有効性を検証した。その結果、37 座で増幅が確認され、その内の 25 座で多型がみられた⁶⁾。開発されたマイクロサテライトマーカーは、本種の花粉流動等の解析への応用が期待される。

4) オガサワラボチョウジにおける島間分化と花粉流動

先に開発したマイクロサテライトマーカー 26 座を用いて、父島・母島間の遺伝的分化の程度 F_{ST} は 0.1 と、有意な遺伝的分化がみられた。また、オガサワラボチョウジの兄島、母島石門集団について花粉流動の状況を探るための父性解析を行った。解析の結果、今回用いられたデータセットでは、兄島集団において片方の親の遺伝子型が分かっている場合の非排除確率（間違っ親としてしまう確率）が 1.5% と算出された。それに基づき 80% 信頼レベルにおいて、58 種子について花粉親を推定することができた。そのうち自殖と推定された種子は 11 個であった。S 型の母樹から得られた種子の

うち花粉親が推定できた種子が 24 個あり、そのうち花粉親が L 型であると推定された種子が 19 個（79.2%）、花粉親が S 型であると推定された種子が 4 個（16.6%）、自殖種子が 1 個（4.2%）であった。L 型の母樹から採取された種子では、35 個について花粉親が推定できたが、そのうち S 型の花粉親と推定された種子は 22 個（62.9%）、花粉親が L 型と推定されたものは 3 個（8.6%）、自殖種子が 10 個（28.6%）であった（表（2）-3 参照）。

一方石門集団では、非排除確率は 0.5%と算出された。38 種子の花粉親を 80%信頼レベルで推定できたが、そのうち 31 種子が自殖と推定された。石門では種子が解析できた母樹数が型間で偏っているが、L 型の母樹から採取された種子のうち花粉親が推定できた種子は 35 個であった。そのうち S 型が花粉親と推定された種子は 1 個（2.8%）、L 型が花粉親であった種子は 3 個（8.5%）、それ以外の 31 個はすべて自殖種子（88.5%）であった。特に 1 個体（PSN322）においては 24 個の種子すべてが自殖種子であった。S 型の母樹は 1 個体だけであるが、推定できた 3 個の種子の花粉親すべて（100%）が L タイプであった。

花粉の移動距離については、兄島集団ではほとんどの場合交配個体間の距離が 50 m 以下であるのに対して、母島石門集団では 100 m 以上離れた個体間で交配している状況が推定された（表（2）-3 参照）。

オガサワラボチョウジのような二型花柱性を示す植物においては、異なる二型花で送粉が行われるシステムが維持されていると考えられてきた^{3,12)}。人為的な授粉実験の結果からもそれを支持する結果が得られていた。今回の解析結果においても、兄島集団では多くの種子の花粉親が異型花であることが示された（S 母-L 父：79%、L 母-S 父：62%）が、同型花間での送粉も起こっていることが示唆された（S-S：16%、L-L：8%）。ただし、すべての個体が同型花間での交配を行っているわけではなく、一部の個体に限定された。さらに同型花間交配を行ったと推定された個体（PSN940、PSN941、PSN959）においても同型花間交配により形成された種子数は異型花間交配によるものより少なく、また自殖による種子形成も示唆された（表（2）-3）。以上の結果より、異型花柱性を示すオガサワラボチョウジ兄島集団の交配は、完全に異型花間交配に限られているのではなく、同型花間交配もしくは自殖も行いうる交配システムを持っている可能性がある。一方、母島石門集団では、L 型母樹から得られた種子のほとんどが同型花間交配もしくは自殖により形成されたことが示唆された。これに対して S 型の種子は異型花間交配によるものであることが示された（表（2）-3）。特に、石門集団における自殖率および同型花間交配率の高さは顕著である。父性解析の今回の結果は、一般的な二型花柱性の機能からは想像できない部分もあり、今後への新たな課題を投げかけられた結果でもある。この食い違いが何を意味するか、今後の精査が必要と考えている。これまでに得られた結果を踏まえて考えられる保全手法は、唯一稚樹の更新がある健全な母島石門地域において、花粉流動が促進されて、結実率が向上するよう努めることである。具体的には、石門地域において放花昆虫を捕食しているグリーンアノールおよび主要な花粉媒介者となっていると考えられるセイヨウミツバチのエリア根絶が考えられる。

表(2) - 3 兄島と母島石門のオガサワラボチョウジの父系解析結果と花粉流動距離。

兄島					石門				
母樹	種子数	推定花粉親	種子数	個体間距離(m)	母樹	種子数	推定花粉親	種子数	個体間距離(m)
PSN338 S	11	PSN956 L	2	25.47	PSN321 L	7	PSN321 Self	1	0
PSN926 L	15	PSN926 Self	8	0			PS206 S	1	117.79
		PSN939 S	1	11.13	PSN322 L	25	PSN322 Self	24	0
PSN927 L	8	PSN928 S	1	1.98	PSN985 L	10	PS187 L	1	390.47
		PSN964 S	1	3.47	PSN987 S	14	PS172 L	1	195.09
PSN931 S	10	PSN941 L	3	5.63			PS303 L	1	251.70
		PSN926 L	1	18.68			PSN328 L	1	717.12
PSN932 S	7				PSN990 L	14	PSN990 Self	6	0
PSN937 L or E	9	PSN936 S	1	31.23			PSN991 L	1	7.29
		PSN980 S	3	34.99			PS174 L	1	242.21
PSN939 S	7	PSN926 L	1	11.13					
PSN940 S	11	PSN941 L	1	10.73					
		PSN929 L	1	16.28					
		PSN966 S	1	30.39					
		PSN937 L or E	1	40.68					
		PSN976 L	1	414.46					
PSN941 L	24	PSN941 Self	1	0					
		PSN929 L	1	10.5					
		PSN940 S	1	10.73					
		PSN928 S	2	14.06					
		PSN927 L	1	16.02					
		PSN965 S	1	16.28					
		PSN967 L	1	18.97					
		PSN966 S	3	23.23					
		PSN939 S	1	25.54					
		PSN342 S	1	98.85					
PSN959 S	17	PSN959 Self	1	0					
		PSN956 L	4	6.81					
		PSN973 S	2	69.82					
		PSN975 S	1	70.91					
PSN963 L	11	PSN963 Self	1	0					
		PSN939 S	2	5.08					
		PSN940 S	1	13.08					
PSN967 L	9	PSN965 S	1	5.96					
		PSN928 S	1	33.02					
PSN978 S	16	PSN976 L	3	7.42					
		PSN969 L	1	418.54					

5) ムニンハナガサノキの遺伝構造

開発されたマイクロサテライトマーカー23座を用いて、聳島・父島・母島列島に分布する個体の遺伝子型を決定したところ、集団間の遺伝的分化の程度 F_{ST} の平均値は 0.17 であり、父島列島と母島列島の集団間では全ての組み合わせにおいて、有意な遺伝的分化がみられた。また、個体レベルのクラスター解析では、2つの遺伝的クラスターに分けられ、聳島列島と弟島を除く父島列島が1つのクラスター、母島が1つのクラスターに割り振られ、弟島の個体は2つのクラスターが混じっていた(図(2) - 6)。

ムニンハナガサノキの種内の遺伝的多様性や遺伝構造を維持して保全していくためには、各集団を保全ユニットとして、結実率の向上を促すような対策をとることが望ましいと考えられる。

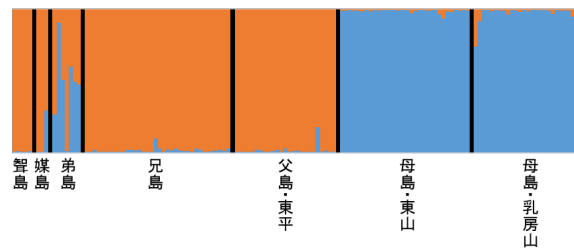
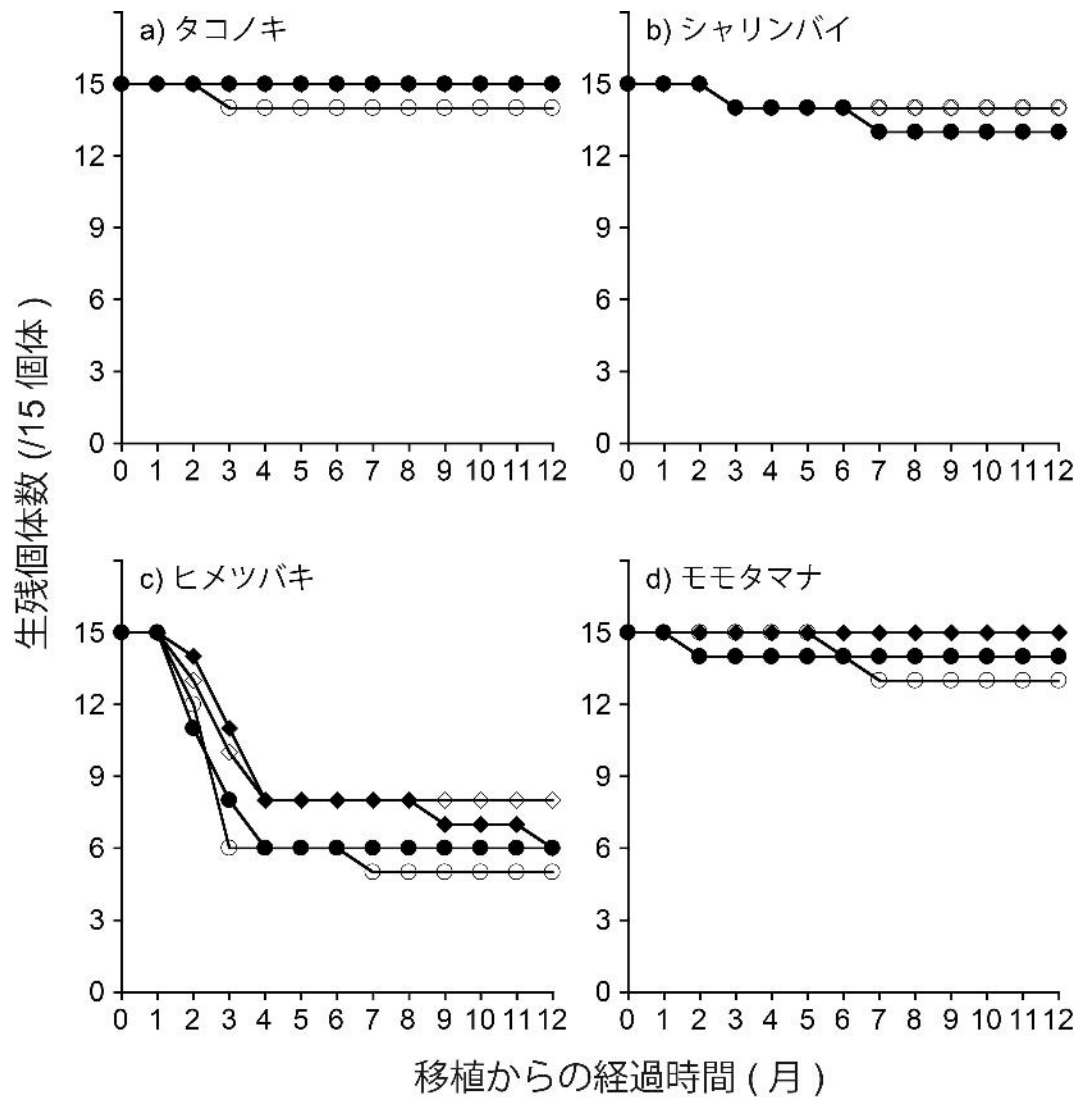


図 (2) -6 STRUCTURE 解析にもとづくムニンハナガサノキにおける各個体のクラスターの分布。

(2) 外来樹駆除地における主要在来樹種の機能特性と繁殖状況の解明

父島洲崎のモクマオウ駆除跡に移植したタコノキ、シャリンバイ、モモタマナにおいて、移植から1年経過した段階で90%以上の個体が生残した(図(2)-7a)、b)、d))。一方で、ヒメツバキの生残率は50%以下であり、この死亡は2~3月に集中していた(図(2)-7c))。ヒメツバキの枯死が見られた実験区のほとんどが海側の開けた場所であり、これは冬季における海水を含む風を受けたことによると考えられる。移植時の個体サイズとギンネムの播種処理の有無による生残個体数の違いは明確には見られなかった。4種全てにおいて初期サイズが大きい個体のほうが、1年後のサイズが有意に大きかった(図(2)-8)。処理区に移植したタコノキの高さと葉数は、対照区よりも有意に多かった。処理区に移植したシャリンバイ、ヒメツバキ、モモタマナの地際径、高さ、葉数の値は、対照区よりも有意に低かった。3樹種の地際径と葉数におけるこの傾向は、初期サイズが大きい個体ほど強かった。以上の結果は、モクマオウ駆除後のギンネムの侵入は、短期的には移植個体の生残には強く影響しないことを示唆する。つまり、ギンネムの侵入があっても在来樹種の実生は生残可能であると考えられる。一方で、実生の成長は、ギンネムの侵入によって抑制される可能性が示唆された。この抑制は、ギンネムに含まれるアレロパシー物質によるかもしれない¹³⁾。



図(2) ー7 移植した4樹種の実生の生残個体数の時間変化。

- ギンネム播種処理区に移植した初期サイズが小さい個体、
- 対照区に移植した初期サイズが小さい個体、
- ◆ギンネム播種処理区に移植した初期サイズが大きい個体、
- ◇対照区に移植した初期サイズが大きい個体。

父島洲崎のモクマオウ優占林に移植したヒメツバキの実生のうち、移植から約6年後、75%以上の個体が生残した¹⁴⁾(図(2)ー9)。移植時の実生のサイズによる生残個体数における違いは見られなかった。実生の成長速度は、移植時のサイズに関わらず安定していたが(図(2)ー10)、モクマオウ駆除跡に移植したヒメツバキの成長速度より低かった¹⁴⁾。以上の結果は、モクマオウが優占する森林においてモクマオウの駆除をしなくとも在来木本種の実生の定着が可能であることを示唆する。一方で、駆除を実施しない場合、堆積しているモクマオウのリターは維持されるため¹⁵⁾、移植した個体は成長し、種子生産をしたとしても、その種子が発芽し、定着する可能性は低い¹⁶⁾。つまり、在来木本種の更新には、最終的にモクマオウの駆除が必要であると考えられる。

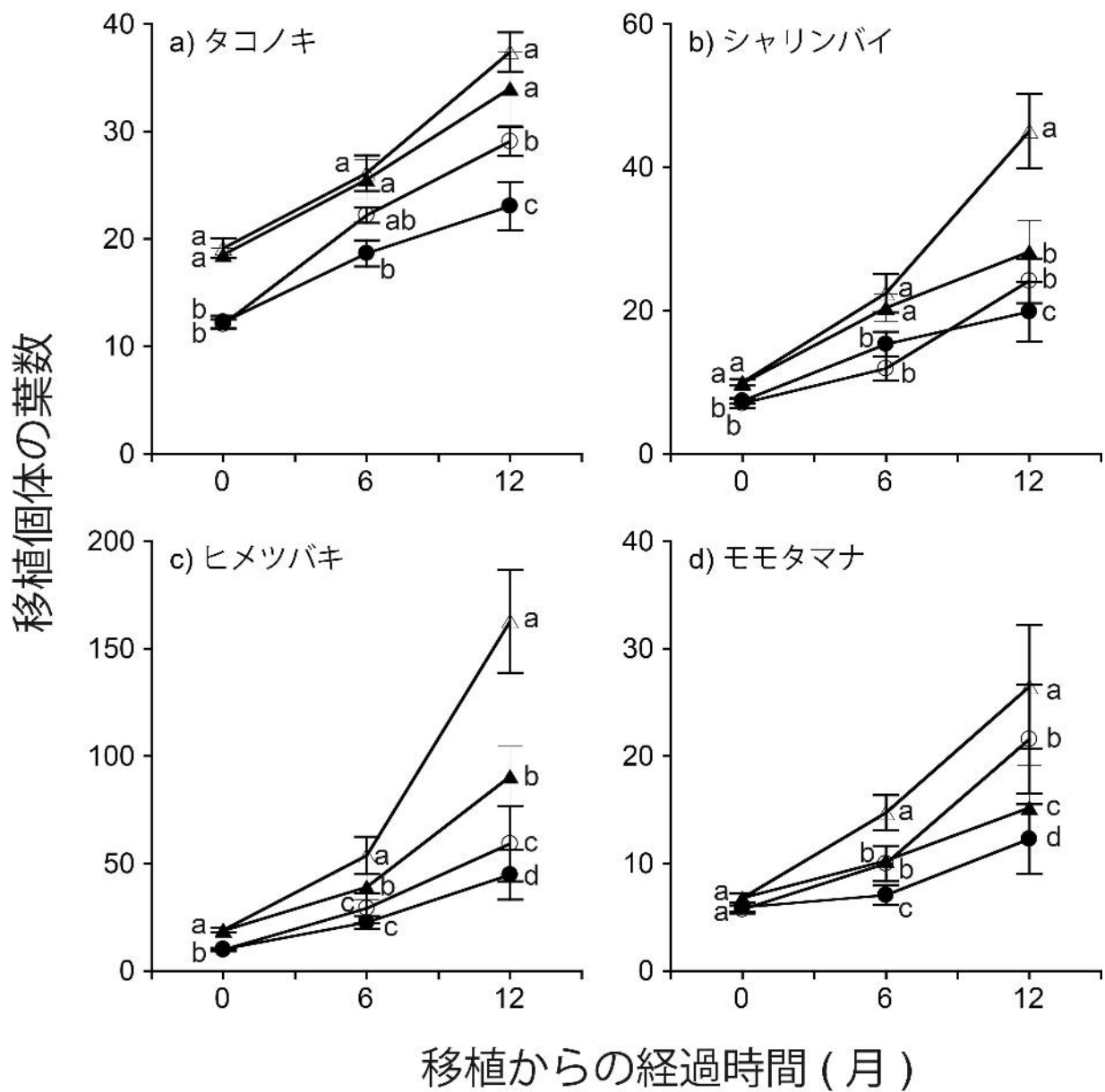


図 (2) -8 移植した 4 樹種の実生の生残個体数の葉数 (平均値±標準誤差) の時間変化。

- ギンネム播種処理区に移植した初期サイズが小さい個体、
- 対照区に移植した初期サイズが小さい個体、
- ▲ギンネム播種処理区に移植した初期サイズが大きい個体、
- △対照区に移植した初期サイズが大きい個体。

異なるアルファベットは、有意水準 5% 基準で統計的に有意に異なることを示す。

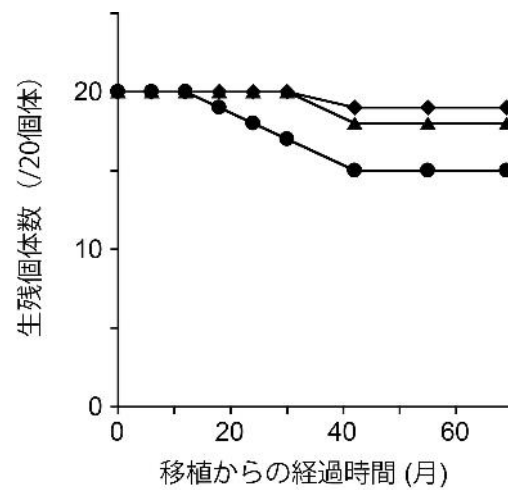


図 (2) -9 移植したヒメツバキの実生の生残個体数の時間変化。

- 初期サイズが小さい個体、
- ◆初期サイズが中間の個体、
- ▲初期サイズが大きい個体。

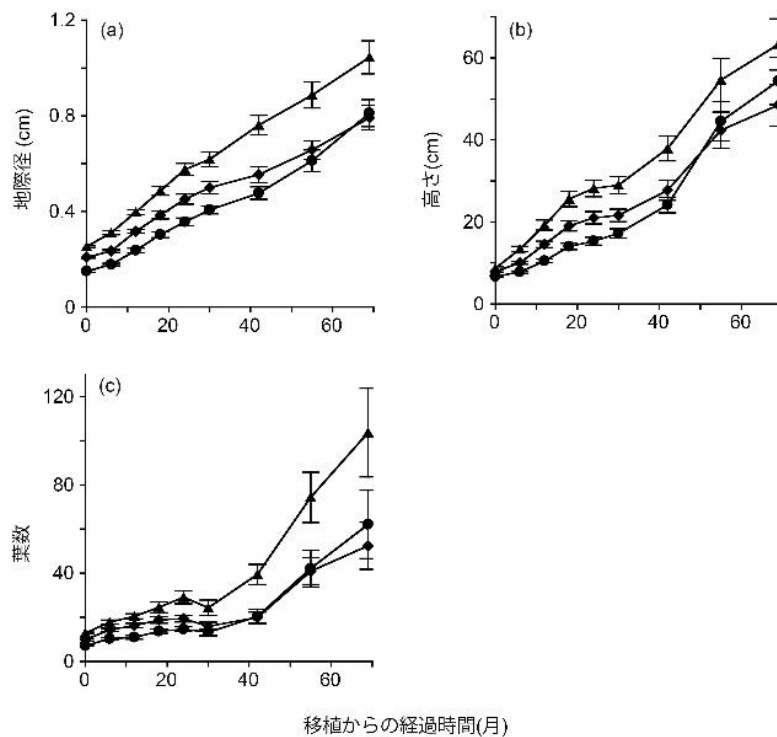
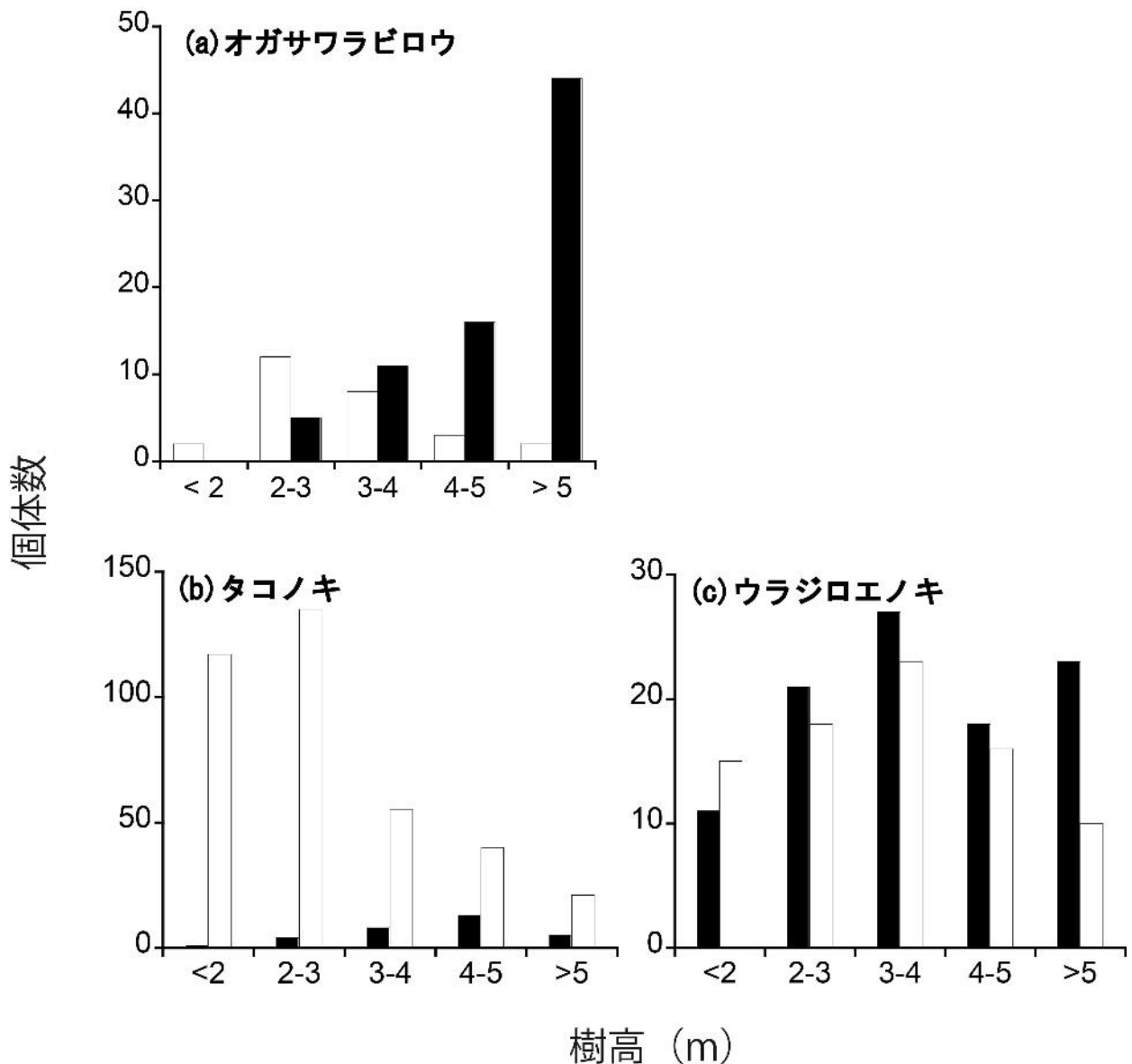


図 (2) -10 移植したヒメツバキの実生の (a) 地際径、
(b) 高さ、(c) 葉数の時間変化 (平均値±標準誤差)。

- 初期サイズが小さい個体、
- ◆初期サイズが中間の個体、
- ▲初期サイズが大きい個体。

西島のモクマオウの駆除地において確認されたオガサワラビロウの約 70%で結実が確認された（図（2）－11(a)）。結実が確認された個体のうち 50%以上が樹高 5 m 以上の個体であった一方で、樹高 2 m 未満の個体で結実は確認されなかった。西島で確認されたタコノキの 7%で結実が確認された。結実の有無と樹高のサイズクラスとの間には有意な関係が見られた。結実が確認された個体のうち 50%以上が樹高 4 m 以上の個体であった（図（2）－11(b)）。樹高 2 m 未満の個体で結実は確認されなかった。これらの種は繁殖がサイズ依存であるため、植栽個体を含む小さなサイズの個体の成長が、今後の更新に重要であると考えられる。西島において繁殖状況を実施したウラジロエノキの約 90%で結実が確認された。結実の有無と樹高のサイズクラスとの間には有意な関係が見られなかった（図（2）－11(c)）。



図（2）－11 西島における（a）オガサワラビロウ、（b）タコノキ、
（c）ウラジロエノキの繁殖個体の樹高サイズクラスの頻度分布。
黒塗りが繁殖個体、白塗りが被繁殖個体を示す。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

小笠原諸島固有植物でもあるオガサワラボチョウジは野外での個体数が減少し、絶滅危惧植物に指定されている。減少の要因の一つに種子形成がうまく行われていないということが挙げられるが、その背景には二型花柱性という特異な繁殖様式を担保する送粉昆虫が減少し、送粉が正常に機能していない可能性が高い。もう一つに、形成された種子の発芽による更新が多くの集団でうまく行われていないことも明らかになった。

また、モクマオウ駆除後のギンネムの侵入によって在来植物の成長が抑制されることが示された。このことは、モクマオウ駆除後の植生遷移プロセスに関する科学的知見を与えた。モクマオウの樹冠下でも条件次第で在来木本種の移植個体の定着が可能であることが示された。このことは、今後のモクマオウの駆除の仕方に関して重要な科学的知見を与えた。モクマオウ駆除跡における在来木本種の結実状況を把握し結実の可否におけるサイズ依存性の有無を明らかにした。このことは、モクマオウ駆除後の在来木本種の更新の可否を予測するうえで科学的根拠となる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

環境省による世界自然遺産科学委員会、林野庁による小笠原諸島固有森林生態系修復事業検討委員会や父島列島生態系保全管理 WG 等において、特異な性表現を持つ絶滅危惧植物は在来の訪花昆虫の減少による種間相互作用の影響を特に受けやすいこと、モクマオウの駆除地におけるタコノキの更新には新規加入個体の成長が不可欠であり、これには植栽も必要であることを報告した。これらの研究成果を踏まえ、植栽による遺伝的攪乱のマイナスの効果も考慮しつつ、父島列島西島のモクマオウ駆除跡地において、植栽による植生回復事業が進められている。

<行政が活用することが見込まれる成果>

モクマオウの樹冠下でも条件次第で在来木本種の移植個体の定着が可能であること、モクマオウ駆除後のギンネムの侵入が在来木本種の実生の成長に対して実生のサイズ依存的に影響を及ぼすことが明らかとなった。これらの結果は、モクマオウの駆除前に在来木本種を播種あるいは苗木を植栽し、一定のサイズに達した後にモクマオウの駆除を実施する手法が、生態系回復に効果的であることを示唆しており、小笠原諸島固有森林生態系修復事業において直接活用が期待される。

6. 国際共同研究等の状況

2016年9月4日にハワイで開催された IUCN World Conservation Congress 2016 Conservation Campus #9622 (Plant Extinction Prevention Program Model: Partnering for Effective Conservation on Oceanic Islands) に向けて、企画者に対して本サブテーマで実施している研究とその推進体制についての情報をインプットし (<http://www.surveygizmo.com/s3/2646902/PEPP-Model-IUCN-WCC-Survey>)、国際的なネットワークと情報交換、効率的なプロトコルやトレーニングマニュアルの作成の検討に貢献した。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) K. WATANABE and T. SUGAWARA: AoB Plants, 7, plv087 (2015), Is heterostyly rare on oceanic islands?
- 2) K. HATA, K. KAWAKAMI and N. KACHI: Pac. Sci., 69, 4 (vol, issue), 445-460 (2015), Higher soil water availability after removal of a dominant, non-native tree (*Casuarina equisetifolia* Forst.) from a subtropical forest.
- 3) K. HATA, K. KAWAKAMI, and N. KACHI: Sci. Total Environ., 545-546, 372-380 (2016), Increases in soil water content after the mortality of non-native trees in oceanic island forest ecosystems are due to reduced water loss during dry periods.
- 4) K. SUGAI, K. WATANABE, H. KATO and T. SUGAWARA: Appl. Plant Sci., 4, 5 (vol, issue), 1500133 (2016), Development of SSR markers for *Psychotria homalosperma* (Rubiaceae) and cross-amplification in four other species.
- 5) K. SUGAI, H. KATO and T. SUGAWARA: J. For. Res., 21, 6 (vol, issue), 314-318 (2016), Development and evaluation of microsatellite loci for *Gynochthodes boninensis* (Rubiaceae), a woody climbing plant endemic to the Bonin (Ogasawara) Islands, Japan.
- 6) K. HATA and N. KACHI: J. For. Res., 22, 2 (vol, issue), 135-140 (2017), Establishment of early-stage planted seedlings of a native woody species under a closed canopy of invasive *Casuarina equisetifolia* in the subtropical oceanic Ogasawara Islands.

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 須貝杏子、渡邊謙太、向哲嗣、加藤英寿、菅原敬：小笠原研究年報、38: 65-73、(2015) 小笠原諸島固有種オガサワラボチョウジの保全について（2）。
- 2) 畑憲治、郡麻里、森田沙綾香、平舘俊太郎、可知直毅：小笠原研究年報、38: 75-85、(2015) ノヤギ駆除後の媒島の草地植生の地上部バイオマスー土壤の化学特性ー環境要因との関係。
- 3) 渡邊謙太、須貝杏子、向哲嗣、加藤英寿、菅原敬：小笠原研究年報、38: 97-101、(2015) オガサワラボチョウジにおける花序あたりの花数は列島間で異なる。
- 4) 畑憲治、川上和人、可知直毅：小笠原研究年報、40、印刷中（2017）トクサバモクマオウの駆除が土壤水分環境に及ぼす影響。

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) K. WATANABE and T. SUGAWARA: The 1st International Conference on Island Evolution, Ecology and Conservation: Island Biology 2014 (2014) Distyly, dioecy and monoecy in six species of *Psychotria* (Rubiaceae) in the oceanic and continental island groups in East Asia.
- 2) 須貝杏子、渡邊謙太、加藤英寿、菅原敬：応用生態工学会第18回東京大会（2014）小笠原産ボチョウジ属植物の繁殖生態に注目した域内保全手法の開発に向けて。
- 3) 畑憲治、川上和人、可知直毅：応用生態工学会第18回東京大会（2014）外来樹木の駆除は乾燥に伴う土壌含水量の減少速度を小さくする。
- 4) 畑憲治、川上和人、可知直毅：日本生態学会62回大会（2015）海洋島の外来樹駆除が土壌含水量に及ぼす影響：乾燥時の減少と降雨時の増加の程度の変化。
- 5) 畑憲治、大澤剛士、平舘俊太郎、可知直毅：日本生態学会63回大会（2016）海洋島における野生

化ヤギによる攪乱に伴う土壌流出が植物群集に及ぼす影響。

- 6) K. HATA, K. KAWAKAMI, and N. KACHI: The 2nd International Conference on Island Evolution, Ecology and Conservation: Island Biology 2016 (2016) Impacts of control of an invasive tree, *Casuarina equisetifolia*, on soil water contents in north pacific islands, Ogasawara.
- 7) 畑憲治、平舘俊太郎、可知直毅：日本生態学会64回大会（2017）土壌流出に伴い化学特性が変化した土壌は、草本植物の初期成長を種特異的に制限する：野生化ヤギの攪乱を受けた小笠原諸島の事例。
- 8) 畑憲治、川上和人、可知直毅：京都大学生態学研究センターワークショップ「樹木の乾燥枯死、樹病枯死メカニズムの解明と温暖化等による乾燥影響評価」（2017）駆除に伴う侵略的外来樹木トクサバモクマオウの枯死は土壌水分環境を改変するか？

（３）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 小笠原諸島の自然環境の保全研究にかかわるワークショップ（2014年12月16－17日、相模原市 天下茶屋、参加者10名）
- 2) 公開セミナー「ファン・フェルナンデス諸島（チリ）の植生の現状～外来植物、生物価値、保全～」（2014年9月18日、首都大学東京牧野標本館2階セミナー室、参加者25名）
- 3) 企画展「東京の海・山・島に」ギャラリートーク「小笠原諸島における外来植物問題とその対策」（2015年11月7日、首都大学東京91年館、参加者5名）
- 4) 公開講演会「小笠原の固有植物の進化：オガサワラボチョウジの♂と♀」（2015年12月3日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者20名）
- 5) 可知直毅：SSH グローバル環境科学講座「小笠原の自然の価値と保全のとりくみ：世界遺産との共生を考える」（2016年5月28日、文京女子大学附属高等学校、参加者30名）
- 6) 可知直毅：首都大学東京オープンユニバーシティ講座「世界自然遺産としての小笠原」（2016年5月13日、首都大学東京、参加者14名）
- 7) 加藤英寿：首都大学東京オープンユニバーシティ講座「小笠原の植物」（2016年5月20日、首都大学東京、参加者14名）
- 8) 加藤英寿：小笠原諸島世界自然遺産地域登録5周年記念セミナー「小笠原の植物の由来と分化」（2016年8月26日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者40名）
- 9) 可知直毅：第1回首都大学東京公開講座2017「ヤギにより表土が流れてしまった島に植物はもどるか」（2017年3月28日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者69名）

（５）マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

（６）その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) K. WATANABE and T. SUGAWARA: AoB Plants, 7, plv087 (2015), Is heterostyly rare on oceanic islands?
- 2) A. K. SAKAI, W. L. WAGNER, D. M. FERGUSON and D. R. HERBST: Ecology, 76, 2517-2529 (1995), Origins of dioecy in the Hawaiian flora.
- 3) K. WATANABE, H. KATO and T. SUGAWARA: Flora, 209, 641-648 (2014), Distyly and incompatibility in *Psychotria homalosperma* (Rubiaceae), an endemic plant of the oceanic Bonin (Ogasawara) Islands.
- 4) M. NISHIDE, K. SAITO, H. KATO and T. SUGAWARA: Acta Phytotax. Geobot., 60, 61-70 (2009), Functional androdioecy in *Morinda umbellata* subsp. *boninensis* (Rubiaceae), endemic to the Bonin (Ogasawara) Islands.
- 5) K. SUGAI, K. WATANABE, H. KATO and T. SUGAWARA: Appl. Plant Sci., 4, 1500133 (2016), Development of SSR markers for *Psychotria homalosperma* (Rubiaceae) and cross-amplification in four other species.
- 6) K. SUGAI, H. KATO and T. SUGAWARA: J. For. Res., 21, 314-318 (2016), Development and evaluation of microsatellite loci for *Gynochthodes boninensis* (Rubiaceae), a woody climbing plant endemic to the Bonin (Ogasawara) Islands, Japan.
- 7) E. MEGLECZ, C. COSTEDOAT, V. DUBUT, A. GILLES, T. MALAUSA, N. PECH and J. F. MARTIN: Bioinformatics, 26, 403-404 (2010), QDD: A user-friendly program to select microsatellite markers and design primers from large sequencing projects.
- 8) J. F. DOYLE and E. E. DICKSON: Taxon, 36, 715-722 (1987), Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analyses.
- 9) T. C. MARCHALL, J. SLATE, L. E. KRUUK and J. M. PEMBERTON: Mol. Ecol. 7:639-655. (1998), Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations.
- 10) S. T. KALIINOWSKI, M. L. TAPER and T. C. MARCHALL: Mol. Ecol., 16, 1099-1106 (2007), Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment.
- 11) QUANTUM GIS DEVELOPMENT TEAM (2016), Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.
- 12) T. SUGAWARA, M. YUMOTO, S. TSUNEKI and K. WATANABE: J. Jpn. Bot., 89, 22-26 (2014), Incompatibility and reproductive output in distylous *Psychotria boninensis* (Rubiaceae), endemic to the Bonin (Ogasawara) islands, Japan.
- 13) C. H. CHOU and Y. L. KUO: J. Chem. Ecol., 12, 1431-1448 (1986), Allelopathic research of subtropical vegetation in Taiwan.
- 14) K. HATA and N. KACHI: J. For. Res., 22, 135-140 (2017), Establishment of early-stage planted seedlings of a native woody species under a closed canopy of invasive *Casuarina equisetifolia* in the subtropical oceanic Ogasawara Islands.
- 15) K. HATA, H. KATO and N. KACHI: Ogasawara Research, 35, 1-14 (2010), Litterfall in forests dominated by an alien woody species, *Casuarina equisetifolia*, on Chichijima Island.

- 16) K. HATA, H. KATO and N. Kachi: J. For. Res., 15, 384-390 (2010), Litter of an alien tree, *Casuarina equisetifolia*, inhibits seed germination and initial growth of a native tree on the Ogasawara Islands (subtropical oceanic islands).

（３）絶滅危惧昆虫の域内・域外保全および再導入手法の開発

神奈川県立生命の星・地球博物館

学芸部 荻部 治紀

＜研究協力者＞一般財団法人自然環境研究センター 森 英章

平成 26～28 年度累計予算額：16,504 千円（うち平成 28 年度：5,192 千円）

予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

本研究により、絶滅が危惧される固有昆虫の域内・域外の保全技術を統合した保全手法を試験実施した。オガサワラハンミョウでは、地域絶滅により分布範囲が急速に縮小していたが、その主要因がモクマオウ、リュウキュウマツの 2 種の外来樹木であることを明らかにし、環境再生としてこれら外来樹を枯殺し、堆積したリターの除去によって、幼虫が巣穴を作る裸地環境の再生ができること、それによって減少する個体群を初めて回復させることができた。また、2015 年に環境再生した絶滅生息地に環境省事業で系統保存された個体を野生復帰させる試験を共同実施し、産卵、幼虫の確認、その子孫と考えられる新成虫 1 頭を確認することができた。

アニジマイナゴでは、不明だった生態を解明し、固有樹種シマイスノキを食樹にして、タコノキをねぐらとしていることが明らかになった。国内には他に例がない樹上性のイナゴとしても重要な存在である。グリーンアノール捕獲用のトラップで混獲された個体も使用して、生活史の推定を行い、本種は 5～9 月頃までの長い繁殖期を持つ年 1 化であることを推定した。域外では本種の累代飼育に初めて成功し、父島、内地の双方で順調に継代できている。樹上性種であるが産卵は基本的に地上に行うことも明らかにした。飼育容器を使用した簡易な手法であり、今後本種が危機的状況に陥った際には、餌となるシマイスノキの確保ができれば昆虫園などで容易に累代できる基礎を整えた。

固有トンボ類については、とくに残存生息地が少ないオガサワラアオイトトンボを対象として、域内での外来樹種の排除、人工池の増設による個体群の安定化を図った。これまでトンボ類では先例がない再導入を計画し、移植先とする西島に人工池の整備を行い、繁殖環境を整えた。また、父島に網室を設置し、今後の半野外飼育に向けた準備を整えた。

【キーワード】

固有昆虫、保全、環境再生、再導入

1. はじめに

小笠原諸島では、侵略的外来種の影響により多くの生物群が危機的状況にあるが、固有昆虫も例外ではない。とくに顕著な事例が父島・母島に侵入したグリーンアノールで、固有のトンボ、チョウ、甲虫類など非常に多くの昼行性の種が地域絶滅している（図（3）－1）。これまでも、父島・母島で絶滅した危機的な希少種を保全するためのさまざまな保全対応が行われてきた。しかし、2013 年 3 月に保全上最も重要な地域である兄島の南西部においてグリーンアノールが確認されたことで、これまでの固有昆虫の保全策の前提となる兄島の健全性の維持に新たな課題が生じた。今後は、兄島がさらに

危機的状況に陥ることも想定した保全策が求められる状況になった。



図（3）－1 グリーンアノールによって捕食される固有種オガサワラゼミ。

2. 研究開発目的

このような現状から、今後危機的になっていく可能性が高い小笠原固有種の中から、特に絶滅が危惧される兄島固有種を中心に、実際に取り扱うことが可能な生態、大きさを持つ種を選択して、外来種によって劣化した環境再生を中心とした域内保全、飼育技術やその応用による域外保全の手法を確立することを目的とした。さらにこれまでほとんど試行されることのなかった両技術の統合によって、今後の小笠原における実践的な保全手法の構築を目指す。

具体的には、固有昆虫の中から、兄島へのグリーンアノール侵入によってとくに危機的状況になり保全策の確立が急がれる兄島固有種や現状として兄島にのみ残存している種を中心に、保全手法を構築していく。兄島固有属種のアニジマイナゴ、現在兄島にのみ生息するオガサワラハンミョウ、兄島・弟島にのみ現存するオガサワラトンボ、オガサワラオイトトンボなどの固有トンボをターゲットとして、これまでの保全手法も使いつつ、域内における環境再生、域外における系統保存の確立、さらに域外保全個体の再導入や補強などの手法を確立することを目的とする。

3. 研究開発方法

（1）オガサワラハンミョウの生息地再生と飼育個体の野生復帰

オガサワラハンミョウの域内保全のため、本種の生息地となる裸地環境を攪乱している外来樹の駆除とリターの除去を組み合わせることによる環境再生を行い、その後の個体群調査を実施した。また、開発した環境再生の手法の評価とマニュアル化を行った。飼育個体の野生復帰に関しては、域外系統保存個体群を用いて放虫を行い、野生復帰に向けた技術の評価を行った。

（2）アニジマイナゴの系統保存技術の開発と生息地再生

兄島において、これまで全く調査がされていないアニジマイナゴの生活史の調査を実施した。野外において得られた生活し情報に基づき、本種の域外飼育手法を確立させるために本州での飼育試験を行い、系統保存技術のマニュアル化を行った。

（3）固有トンボ類の生息地再生

固有トンボ類については、弟島にのみ確実な生息が確認されていたオガサワラアオイトトンボの保

全的導入を目標に、導入元である弟島と導入予定地である西島の環境整備を実施した。固有トンボ類復元のための環境整備手法および野生復帰手法のマニュアル化を行った。

4. 結果及び考察

(1) オガサワラハンミョウの生息地再生

オガサワラハンミョウ (*Cylindera bonina*、図 (3) -2) は、父島の戦前の標本をもとに記載された種であるが、戦後は確認されず、長らく幻の甲虫として絶滅種扱いされていた。1980 年代になって兄島台地上の裸地で再発見され、現存が確認された。生息環境が海岸ではなく台地上の乾性低木林内に点在する裸地だったことや、成虫期が秋季だったことが発見を遅らせた要因であろう。

再確認後しばらくは安定して多数が見られ、新産地も続々と見つかったが、2000 年代になって各地から急速に姿を消し始めた (図 (3) -2)。父島のように侵略的外来捕食者 (グリーンアノールやオオヒキガエル) が生息していなかった兄島での激減要因の解明は時間を要したが、急速に島内に繁茂したモクマオウ、リュウキュウマツの大量の落葉が裸地を被覆し、幼虫の生息域を奪っていったことが主要因と考えられている (図 (3) -4)。また、本種がメタ個体群構造をもつ種で、拡散を前提とした生活史をもっているため、過去に機能したであろう小規模パッチのほとんどが外来樹によって劣化していることも減少に拍車をかけた可能性がある。その後も減少が止まらなかったため、2000 年代後半から生息地での外来樹木の試験枯殺が実施されている (図 (3) -5)。



図 (3) -2 オガサワラハンミョウ (左) とその典型的な生息裸地。



図 (3) -3 オガサワラハンミョウの分布 (赤は絶滅、緑が現存産地を示す)。



図 (3) -4 オガサワラハンミョウの生息地を脅かす外来樹種モクマオウ。



図（3）－5 外来樹の枯殺の作業状況。



図（3）－6 リター除去の試行による環境変化。



図（3）－7 リター除去作業状況。

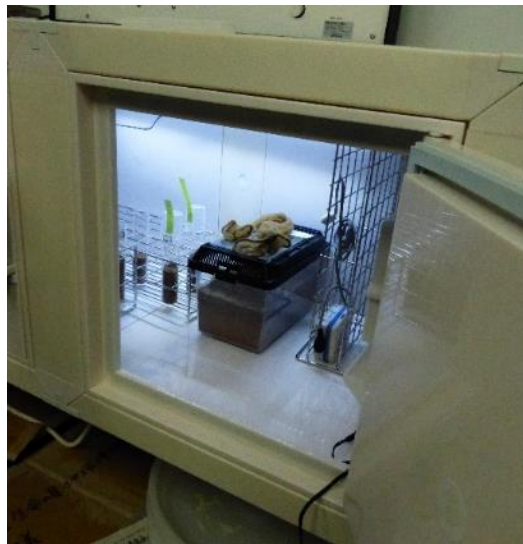
本研究では、とくに兄島の大丸山から乾沢源頭部周辺の過去の産地 2 ヶ所について、周辺尾根部まで含めた外来樹（リュウキュウマツ、モクマオウ）の枯殺を実施し、これを完了した。枯殺後は、枯死木と枯死時の落葉の除去も実施した（図（3）－6、7）。この作業によって、周辺からの種子供給も断つことができ、埋土種子としての寿命が数年とされるリュウキュウマツ、モクマオウは、作業実施後 2 年目の現在は稚樹更新もほとんどなくなり、周囲からのリターの供給もなくなったため、リター除去の効果も顕著で急速に良好な裸地環境が再生していることが確認された（図（3）－8）。

この調査地に生息する個体群サイズについて、巣穴のカウント調査を実施したところ、2014 年に総個体数約 500 頭まで落ち込んだ個体群が、2016 年 2 月には約 2200 頭にまで回復していることが確認された。これらは上記試験の成果とそれを環境省・林野庁の政策に活かして展開できた成果と言えよう。なお、定点観測している地点で、リター除去などの環境再生したポイント 2 ヶ所のモニタリング結果では、約 1/4 から 1/3 が新規の再生ポイントに産卵、巣穴を形成するなどの行動が記録され、攪乱環境を好む性質をもつことを示唆する結果になっている。



図（3）－8 ハンミョウ生息裸地とその周辺の外来樹枯殺直後の様相。

このように野生復帰の素地が整ったことから、2015年に別途環境省事業において、内地の3ヶ所にて系統保存されてきた個体群（技術は筆者が2000年代後半の推進費課題で開発したものを発展させたもの）は順調に生存しており、2015年度秋からは父島現地での飼育に着手し、こちらも順調に推移している（飼育繁殖については環境省事業との共同で展開した）（図（3）－9）。



図（3）－9 オガサワラハンミョウの系統保存飼育の様子。

現在年間数100頭を羽化させるが、恒温装置内飼育のために、羽化時期のずれが生じることや若齢時期の死亡率の高さなどの問題があり、飼育手法の改善について助言を行った。

飼育個体の野生復帰については、2015年に放虫した個体群（図（3）－10左）から10個の巣穴が確認され、秋の発生時期の調査で1頭の未マーキング個体が確認されたこと（図（3）－10右）から、これはここで2015年の放虫個体群由来の新規個体が発生した可能性が高い。2016年秋には約40頭の放

虫を実施した。放虫個体の追跡調査の結果、放虫個体はあまり飛翔しないものが目立つなど、今後野生復帰に向けて順化飼育など更なる技術改善が必要と考えられる。今後は、父島に設置された網室内において、幼虫の野外飼育や成虫の順化飼育などの試行を実施し、これらの課題解決をしていく必要がある。



図（3）－10 放虫された系統保存個体（左）。すべてがマーキングされ追跡が可能になっている。
2015年度の放逐個体から現地で発生したと考えられる個体（右）。

これまでの結果を踏まえると、オガサワラハンミョウの生息地再生には以下のことを実施することが効果的であると考えられる。1) 大径木の外来樹種は薬剤注入により枯殺する。2) 樹高4 m程度の外来樹種は枝払いによって駆除する。これにより生息地での薬剤使用料を抑制できる。3) 生息地周辺の外来樹種は、駆除後の新たな種子供給源となってしまうため、外来樹種のエリア根絶を実施する。特に、生息地より標高が高い位置に分布する外来樹は完全枯殺する。4) 外来樹枯殺後は、堆積したリターを除去する。

（2）アニジマイナゴの系統保存技術の開発と生息地再生

アニジマイナゴ（*Boninoxys anijimensis*）は、2011年に新属新種として記載された¹⁾もので、記載当初は兄島固有とされたが、その後同種と考えられるものが弟島でも確認された。本種については、確認例が少なく生態が不明であったが、その後に兄島島内の踏査が進むにつれて乾性林のシマイスノキ群落で生息が確認される例が多いことがわかってきた。本研究では、これまで断片的な知見しかなかった本種の生態について、特に保全上重要と考えられる分布と生活史の調査を実施した。その結果、本種は兄島島内の乾性林には広く分布することが確認できた。食樹はシマイスノキ群落に依存し、その中に点在するタコノキをねぐらの的に使用している（タコノキは食べない）ことが明らかになった（図（3）－11）。本種は探索手法が確立されていなかったが、まずシマイスノキの群落を探し、その中に生育するタコノキの葉鞘部分を覗くことで生息の有無が確認できることが明らかになった。生息している場合は、幼虫成虫とも個体の確認ができるか、葉鞘に蓄積された「ためぐそ」状態によって生息の有無の確認が可能となる。

●タコノキに残る生活痕

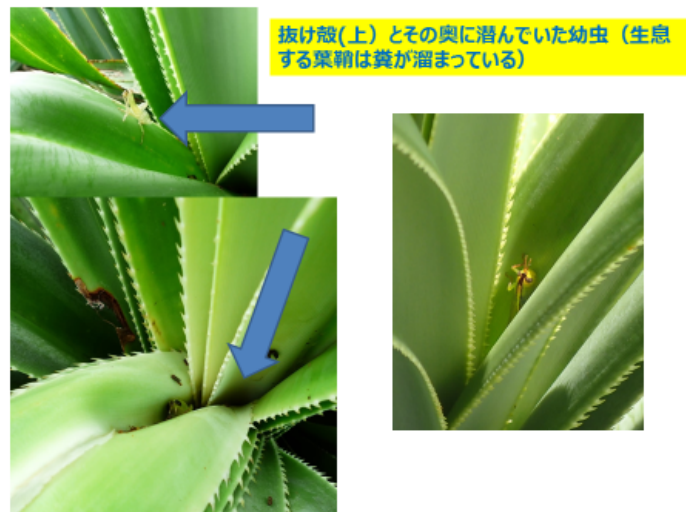


図 (3) -11 アニジマイナゴによるタコノキのねぐらとしての利用状況。

食草については、これまで知られているシマイスノキの他にホストが存在する可能性を考え、乾性林構成種である、クロガヤ、ナキリスゲ、アカテツ、ヒメフトモモ、シマイスノキ、シマモクセイ、ムニンネズミモチ、ムニンアオガンピ、タコノキ、オオバシロテツなどを与えたが、在来食物の中ではシマイスノキのみを摂食、成長した。

なお、今回本土に自生するシマイスノキに近縁のイスノキを与えたところ、摂食・成長が見られたが、初令で死亡した。原因は食樹によるものかどうか、更なる検証が必要である。本土での飼育を考えると代替食の確立も大きな課題となる。

野外での生活史を解明するために、環境省により実施されているアノール根絶事業によって混獲されるアニジマイナゴに関する解析を実施した（図 (3) -12）。兄島ではアノールを根絶するため、常時 45000 個以上の粘着トラップが稼働している。これに混獲されるアニジマイナゴは少なくない（年間 100 頭程度）。トラップは通年維持（2 週間～1 ヶ月ごとに点検）されているため、アニジマイナゴの活動にあわせて一定の確率で捕獲されると考えられる。

そこで、1 年間に混獲された個体の情報を整理して本種の生活史を推測した。それによると、成虫は年間を通して確認されるが、幼虫は 5～9 月にかけて記録され、6 月にピークをもつ一山型の発生をすることが確認された。野外での観察でも、秋から冬にかけては、タコノキで観察されるのは、基本的に成虫のみで（2017 年 1 月に 1 例のみ終齢幼虫が確認されたことがある）、4 月頃からはタコノキではほとんど観察されなくなる。この時期には交尾のためにシマイスノキに移動するなどしている可能性が高い。幼虫は 7 月頃からタコノキで見られるようになり、以降はタコノキで成長を継続し、幼虫の脱皮殻も葉鞘で頻繁に観察されている。

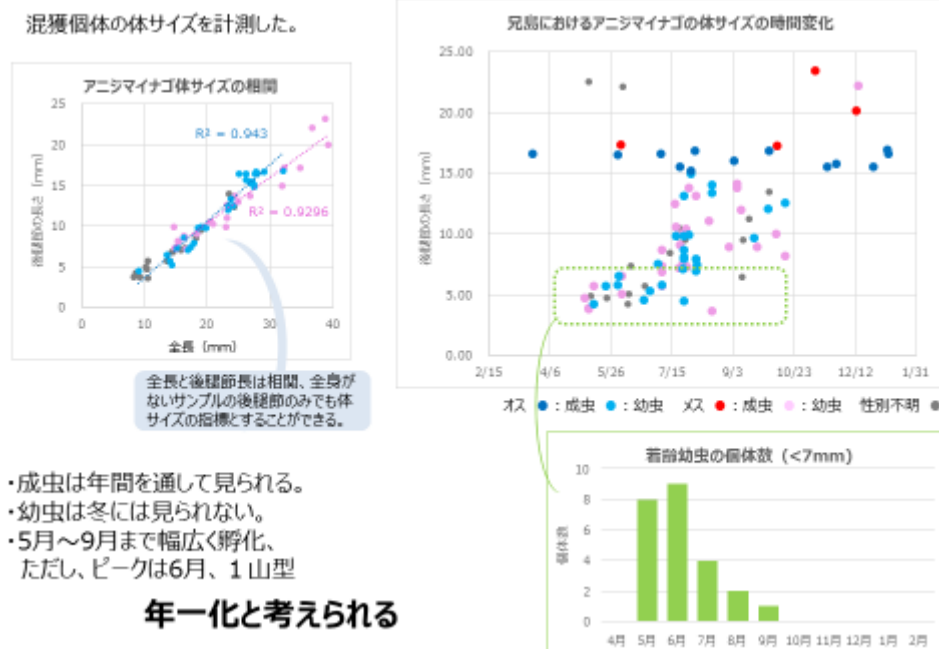


図 (3) - 12 アニジマイナゴの生活史推定。

域外保全技術は、図 (3) - 13 のように比較的平易なシステムを開発することができた。透明容器内に食樹のシマイスノキとねぐらのタコノキをセットで入れるもので、産卵用に赤玉土を入れておけば、容器内で交尾産卵に至る。幼虫も同様のセットで順調に成長して、2 年間以上の累代飼育に成功している。



図 (3) - 13 アニジマイナゴの飼育セット。

なお、本研究ではまず小笠原で飼育試験を行い、累代飼育に成功しており、また 2016 年度には内地関東地方での飼育試験も開始した。その結果、冬季に気温が 10℃を下回ると死亡個体が出ることから、一定の加温が必要なことが判明した。内地の飼育でも産卵から羽化まで無事に経過し、継代に成功した。このことにより、域外における飼育手法が確立したといえる。また、内地の飼育において初めて孵化から成虫までの飼育下での個別飼育による齢期追跡に成功し、雌雄各一個体であるが、雄は 5 齢

69 日で羽化、雌は 6 齢 95 日で羽化することが記録された。このように本種は冬季の加温や保湿を必要とするものの、人工飼育手法が確立し、兄島における本種の野外個体群の状況の悪化によって必要が生じれば、いつでも昆虫館などでの累代飼育が可能な技術が開発できた。今後は、父島網室内で加温せずに飼育する試験を実施し、自然状態に近い環境での飼育技術を開発することが望ましい。

本研究で開発したアニジマイナゴの系統保存技術は以下の通りである（図（3）－13）。1) 湿度の保持、観察の容易さの観点から、飼育容器は透明プラスチック容器を用いる。ただし、適度な湿度をコントロールするために、乾燥剤を用いる。2) 容器内にシマイスノキとタコノキを入れる。3) 糞の掃除を数日おきに行い、カビの発生を抑止する。4) 樹上での交尾が見られる時期になったら、小型の容器（10 cm×5 cm×深さ 5cm）に水と砕いた赤玉土を詰めると、小型容器に産卵する。5) 産卵された小型の容器は保管を続けると、5～6 月に孵化する。6) 幼虫の飼育は、成虫と同様の方法で問題ない。7) 気温が 10℃を下回ると、飼育個体の活性が低下することから、冬期は加温が必要である。また、夏期の高温にも注意が必要である。

また、本研究ではアニジマイナゴは固有樹種であるシマイスノキのみを食物として、隣接して分布するタコノキをねぐらとして使用することが明らかになっている。オガサワラハンミョウでも問題になった、外来樹種モクマオウ、リュウキュウマツによる生息地の環境改変は、本種においても課題の 1 つと考えられる。特にタコノキの周囲に拡散した外来樹は、葉鞘に落葉を堆積することで、本種のねぐら環境を消失させることにつながり、生息に影響を与える可能性が考えられた。そこで、兄島において外来樹の大量の落葉に被覆されねぐらとしての機能が衰退している可能性が高かった生息場所 2 ヶ所において、タコノキ周辺の外来種駆除を実施した結果、駆除後継続して生息を確認することができた。

（3）固有トンボ類の生息地再生

小笠原には 5 種類の固有トンボ類が知られているが、父島・母島ではそのほとんどが絶滅している（表（3）－1）。この主要因は、他の昼行性昆虫と同様に、グリーンアノールの捕食圧と考えられている。

表（3）－1 固有トンボ類の現存状況。

	賀	弟	兄	父	西	母	向	姪
オガサワライト	○	○	○	×	×	×	×	○
アオイト		○		×				
ハナダカ		○	○	×		○		
オガサワラ トンボ		○	○	×		×		
シマアカネ	○	○	○	×	×	△	×	○

これら固有トンボ類の中で特に危険な状況にあるのが、弟島にのみ確実な生息が確認されていたオガサワラアオイトトンボと、弟島、兄島のみに残存するオガサワラトンボである。これらの種は、人工池での繁殖が可能であり、2004 年から各地で池の設置を進めて、個体群の安定化を図ってきた経緯

がある。

これまでは兄島の生態系の健全性を前提に、弟島から兄島への自然拡散による個体群の安定化をはかる方針で保全が行われてきたが、兄島へのアノールの侵入によりこの前提が覆ることとなった。そのため、今後中長期に種が存続するための手法としてのこれらのトンボの導入技術の確立を目標として研究を実施した。

本研究ではまず、域内の環境整備を実施した。上述のように、オガサワラアオイトトンボ、オガサワライトトンボ、オガサワラトンボの3種の固有トンボは人工容器を使用した池で安定して発生させることを確認できているので、今回の試験にあたって、弟島、兄島、西島での池の増設を行った（図（3）－14）。これにより、この3島では、人工池の総数は約100基になり、約10トンの水域を創出したことになる。これらのトンボ池を設置したことにより、希少種だったオガサワラトンボが増加し、父島でも時折観察されるようになったこと、西島に設置した人工池に飛来・定着したことなどが成果として挙げられる。これまでの設置では人工池の8～9割から固有トンボ類の発生が認められており、設置や撤去が容易なこと、一基あたり2000円程度で購入できるなど、コストパフォーマンスに極めて優れることなどの利点がある。



図（3）－14 人工トンボ池の設置の状況。

この中で、兄島でこれまで単発の成虫記録しかなかったオガサワラアオイトトンボ（図（3）－15 左）の幼虫を島南東部の人工容器で初めて確認できた（図（3）－15 右）。また、本年度初夏の調査で島中部において成虫が2個体確認された。いまだ確認例は少ないが、部分的に定着地が創出された可能性がある。



図（3）－15 オガサワラアオイトトンボ成虫（左）と兄島で初めての繁殖確認例となった同幼虫（右）。

域内においては、外来樹（リュウキュウマツ、モクマオウ）の落葉が入る人工池では固有トンボがほとんど発生しない傾向があったため、トンボ池を設置した周辺の外来樹木の駆除による環境改善試験を実施した。兄島、弟島の南部の試験実施地域ではこの改善によって、池への落葉がほぼ抑止でき、秋季の調査において良好な生息状況を示していた。

これまでの結果を踏まえると、小笠原固有トンボ類のうち止水性の３種（オガサワラアオイトトンボ、オガサワライトトンボ、オガサワラトンボ）の生息環境復元には以下のことが求められる。１）運搬時の負担を考慮し、100 リットル程度の容量のプラスチック容器の設置が望ましい。紫外線による容器の劣化を避けるため、透明・半透明の容器は避け、耐久性の高いものを選択する。２）降水量が例年並みである場合には給水は必要なく、設置後の自然降雨のみで水量は十分である。３）在来林中のスポット上に上空が開けた場所に容器を設置する。林内以外の解放地では、固有トンボ類と競合する広域分布種（ヒメハネビロトンボやベニヒメトンボなど）が先に定着してしまうために、そのような場所は避ける。また、モクマオウやリュウキュウマツなどの外来林では、落葉が容器内に大量に堆積するため、避ける。これまでに長期間に渡って特に効果的だった設置場所は、シマイスノキやヒメフトモモ、コヤブニッケイなどの樹陰下に設置した容器である。４）容器には、周囲の枯れ枝を入れることで、羽化時期の足場や幼虫の生息場所となり、さらに餌となるユスリカの定着を促すことができる。５）容器内の落葉の除去するため、年１回のメンテナンスは必要である。また、その際に、水が白濁している場合には、水質悪化が危惧されるため、一度水を抜く必要がある。これらのことを実施することで、安定した水域が創出され、固有トンボ類の定着支援として十分に機能すると考えられる。

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

国内では、これまでほとんど実践事例のない、昆虫類の域内域外保全の現地導入にむけて、域外での飼育基礎技術の開発と域内現場での実践、準備を予定通り進行させた。絶滅危惧種の生息域内での環境整備については、保全対象種によって多様な取り組みが必要になるが、今回の事例のように劣化要因を解明してその影響を取り除く手法や発生環境の安定化は、対象が動植物いずれにも適合し、応用の幅が広いものである。とくに導入技術は、事前の準備や社会的な合意形成など条件整備に時間がかかり、関係者の意見も多様であるために、その合意形成の試行過程も今後の他所での実践においても先例となろう。

劣化した生息地の環境再生は、その成果や影響をモニタリングしながら進める必要があり、本計画はその点でも順調に進行したといえる。国内においてハンミョウ、トンボ類におけるこのような取り組みは初めての事例となる。本研究での成果を受けて、他所での国内での絶滅危惧種保全対象種である希少ハンミョウ（静岡県浜松市）、希少ゲンゴロウ（南西諸島、本州）において、本研究を活かして域外の系統保存技術開発、域内での環境再生を実施し、野生復帰計画を策定、実施した。これらは今後国内の希少昆虫における重要な保全手法の選択肢となり、先行事例として重要な指針となる。

（２）環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

環境省小笠原希少昆虫保護増殖事業連絡会議において、固有トンボ類、オガサワラハンミョウについての保全案の策定と現地での実践に協力した。2016 年秋には、2015 年に続き国内ではハンミョウ類

で初めての事例となるオガサワラハンミョウの飼育個体の野生復帰を環境省と共同で実施した。また、環境省世界遺産科学委員会の委員として本研究で得られた知見を紹介し、保全策の策定に協力した。環境省小笠原諸島兄島グリーンアノール対策WGの座長・メンバーとして、在来昆虫保全の視点から対策の策定・評価に協力した。東京都の兄島におけるアノール防護柵事業においてCライン現地調査に協力し、助言を行った。

小笠原以外では、静岡県浜松市のカワラハンミョウ生息地の保全対策、南西諸島と本州における絶滅危惧種のゲンゴロウ類での域内環境再生などに応用され、対策の現場実践を行った。

<行政が活用することが見込まれる成果>

上記のように、すでに多くの現場において本研究で得られた成果を活用されており、それは小笠原にとどまらない。今後導入技術の改良が進めば、さらに多くの地域・種類で活用が進むと思われる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) 荻部治紀：Tombo、57, 73-74 (2016) 小笠原諸島兄島におけるオガサワラアオイトトンボの幼虫初確認。

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 荻部治紀：昆虫と自然、50, 5 (vol. issue), 16-19 (2015) 特集 日本の世界遺産の昆虫と自然 小笠原の昆虫。

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 荻部治紀：トンボ研究会総会・研究発表会(2016) 小笠原における絶滅危惧昆虫の域内・域外保全および再導入手法の開発 とくにトンボ類を中心として。
- 2) 荻部治紀、森英章：日本生態学会第63回大会(2016) 固有属種アノジマイナゴの生態と系統保存技術の開発。
- 3) 荻部治紀、森英章、オガサワラハンミョウ再導入プロジェクトチーム：日本甲虫学会(2016) オガサワラハンミョウの域内・域外保全の現状について。
- 4) 荻部治紀、森英章：日本生態学会第63回大会(2017) 絶滅危惧種オガサワラハンミョウ生息地における外来樹とそのリター除去による環境再生の効果と再導入試験の成果。

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 講演会「妙なハンミョウを観よう」(2015年7月2日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参

加者 50 名)

- 2) 飼育見学会「妙なハンミョウを観よう」(2015 年 7 月 4 日、首都大学東京小笠原研究施設、参加者 15 名)
- 3) 荏部治紀：日本トンボ学会 公開シンポジウム「小笠原特産種保全の取り組み-人工トンボ池利用や外来樹排除による希少種保全―」(2016 年 11 月 20 日、神奈川県立生命の星・地球博物館、参加者 87 名)
- 4) 荏部治紀：小笠原諸島世界遺産登録 5 周年記念セミナー「小笠原の昆虫とアノールの今」―アノールの固有昆虫への影響と絶滅危惧種を救う試み― (2016 年 7 月 5 日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者 50 名)
- 5) 荏部治紀：地域連絡会議特別講演「昆虫から見た母島列島の重要性」(2017 年 1 月 13 日、小笠原村役場母島支所会議室、参加者 25 名)
- 6) 荏部治紀：地域連絡会議特別講演「昆虫から見た父島列島の重要性」(2017 年 1 月 23 日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者 20 名)

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) H. ISHIKAWA: Jpn. J. Syst. Entomol., 17, 115-120 (2011), Occurrence of a New Grasshopper, *Boninoxya anijimensis* gen. et sp. nov. (Orthoptera, Acrididae, Oxyinae) in the Ogasawara Islands, Japan.

（４）絶滅危惧陸産貝類の域内・域外保全および再導入手法の開発

国立大学法人東北大学

東北アジア研究センター 地域生態系研究分野 千葉聡

<研究協力者> 国立研究開発法人森林総合研究所 野生動物研究領域 鳥獣生態研究室 和田慎一郎

<研究協力者> 自然環境研究センター 森英章

平成 26～28 年度累計予算額：18,792 千円（うち平成 28 年度：6,264 千円）

予算額は、間接経費を含む。

〔要旨〕

小笠原諸島における絶滅危惧陸貝の人工繁殖技術の確立と、導入を行うための基礎となる情報の取得を行い、以下の成果を得た。小型種のオガサワラヤマキサゴなど、通常の餌では飼育が困難な種類の餌を分析し、菌類が餌の主要な部分を占めていることを突き止めた。そこで、小笠原諸島から菌類を採取、培養、分離、選択を行い、固有陸貝の飼育に適したカビを単離することに成功した。このカビを用いたヤマキサゴを含む多くの固有陸貝の室内飼育技術を確立し、環境省による陸貝の域外保全・人工繁殖の事業に技術移転をした。

野外での繁殖技術や保全的導入の候補地選定のため、生活史の情報と屋外環境の設計に必要な情報を取得した。カタマイマイに最も近縁な本土種を用い、同類交配の性質を見出したことから、個体数の少ない飼育条件下では近親交配が進みやすく、系統管理が必要であることを示した。野外調査から、屋外繁殖に必要な点として、最低でも 10 m×10 m の面積が屋外飼育には必要であり、1 日でもかなりの移動があるため個体の脱出防止柵は不可欠であること、常に 27 度以下となる休眠、活動場所が施設内に広く必要であることを示した。2 種を共存させる場合は、オガサワラビロウ、タコノキ、広葉樹の混合した植生が必要であることを示した。また以上の結果から保全的導入の適地として西島を選定した。

再導入や域外保全などの保全の優先度の根拠を得るため系統解析を行い、保全単位とその保全の緊急性を判定した。ウズムシ侵入対策が進められている父島鳥山に残存しているエンザガイ集団は、最近 100 年間記録の無い（環境省レッドリストで絶滅（EX）とされている）ハタイエンザガイの小型集団であることが判明し、保全の緊急度が高く、対策の重要性が改めて示された。ヤマキサゴ類では、集団ごとに遺伝的分化が著しく、地域ごとの保全が必要であることが判明し、兄島での環境省の陸貝保全対策の根拠となった。なお共存種間で一部交雑が生じ、遺伝子の集団間の浸透が起きていたため、その保全的導入には移入先のヤマキサゴ類の有無が重要な判断基準になると結論づけた。

〔キーワード〕

域外保全、生息環境、保全単位、遺伝的攪乱、保全的導入

1. はじめに

小笠原諸島の固有陸貝類は、極めて高い固有性と種多様性を有する。例えばカタマイマイ類は顕著な適応放散を遂げた例として海外にも広く知られ、高い進化生物学的な価値を有する¹⁾。そのためこ

れら陸貝類は、小笠原の世界遺産としての価値を高めるものと見なされている²⁾。しかし明治以降の開発により影響を受けたのち、近年ではニューギニアヤリガタリクウズムシやクマネズミなどを中心とした外来生物の食害により、系統の存続に対する大きな脅威にさらされている³⁾。

こうした危機的状況を背景として、環境省によりこれら陸貝の人工繁殖による域外保全対策や保全的導入による系統保存が企画された。カタマイマイ類については、一部父島の種群（カタマイマイ、チヂジマカタマイマイなど）の人工繁殖による保護増殖事業が開始され、さらなる技術の改善が期待される状況である。一方、カタマイマイ類の野外への再導入や保全的導入を目的とするためには、その前の段階として屋外での囲い施設などを利用した、野外飼育を行う必要がある。だが、この技術は未確立であり、技術を得るために野外でのカタマイマイ類の生活史や生息環境について、より詳細な情報が必要とされる。また野外的な環境での飼育には、どのような個体を利用するのが適切かを判断する必要がある、そのための情報を得る必要がある。一方、特にもともと生息していなかった地域への飼育個体の移植を行う、保全的導入には、上記の詳細な生息環境や生活史の情報に加えて、植生やそのほかの動物との関係など、生態系を一体的にとらえてその候補地の選定にあたる必要がある。そのためには、カタマイマイ類が安定に生息を維持するうえで、どのような植生、あるいはそれが作り出す落葉層の構造や、土壌生物の状態に影響されるかを考える必要がある。カタマイマイ類についてはすでにある程度の生態情報が得られており、地上性、樹上性などの生態型に分かれることが知られている。しかし、上記の目的に合致するような詳細な生態情報や生息環境の情報は十分には得られていない。

ヤマキサゴ類やエンザガイ類、キセルガイモドキ類など、小型種も著しい脅威にさらされているが、その保護増殖のための技術開発は行われておらず、域外保全の事業を進めるうえで飼育技術の開発が急務の課題となっていた。これらの小型種は餌が不明であり、まずは餌の把握と、それに基づく人工餌の開発を行うことが必要である。

小型種の保護増殖の事業を行うとしても、保全の優先順位やどの集団を系統保存に選ぶかという問題がある。これにはまず保全単位を決める必要がある。しかしヤマキサゴ類やエンザガイ類、キセルモドキガイ類など、代表的なグループも分子遺伝学的な解析が行われていないため、これらの問題に答えることができない状況であった。まずは保全単位を決定し、それに基づいて保全の優先順位を決めて、保護増殖事業につなげていく必要がある。

本研究は上記のさまざまなレベルの問題を解決し、固有陸貝類に対する保全対策を進めるための基礎技術と基礎情報を提供しようというものである。保全的導入の適地の選定やその後の導入個体群の管理には、植生や他の動物を含めた管理が必要であり、それらに対する保全対策も必要である。そこで他のサブテーマの成果と合わせることで、陸貝の域外保全を含む、適切な生態系の保全管理を行うことにも貢献することを目指す。

2. 研究開発目的

本研究では、上記の陸貝類の保全対策とその事業に関わる問題に答えるため、飼育技術の確立と保全的導入の候補地の選定に向けた、カタマイマイ類の生態、生息地環境、生息調査を行う。ヤマキサゴ類、エンザガイ類、キセルガイモドキ類など小型種の人工繁殖技術の開発を行うことが急務であることから、これらの飼育技術を開発する。また、これらの種群は保全単位と保全の優先順位を決めるための判断基準となる遺伝、系統情報を得ることを目的とした。

（１）保全的導入に向けたカタマイマイ類の飼育技術の確立と候補地選定

カタマイマイ類の野外への導入の前段階として、屋外環境での繁殖技術の改良や導入を目的とした生物情報を得る。野外における生活史、生息地での活動、餌利用、休眠様式、移動様式、交配様式、活動や休眠に利用する微小環境を解明し、野外の生息地の構造とそのなかでの生息状況を把握する。得られた生息地の環境の情報などに基づいて、父島で保護増殖が行われているカタマイマイ類の保全的導入の候補地を提案する。

（２）小型陸貝類の飼育・繁殖技術の開発

小型陸貝類の飼育・繁殖技術の確立を目的として、餌や生息環境、生活史を明らかにする。また、これらの陸貝の屋内繁殖のための人工餌の開発や条件の設定により、屋内飼育技術を開発する。対象となるのは、人工繁殖が課題となっているヤマキサゴ類とエンザガイ類、キセルガイモドキ類である。また地上性の種と樹上性の種は、飼育方法が大きく異なる可能性から、樹上性の種の飼育技術開発のため、オガサワラオカモノアラガイやテンスジオカモノアラガイの飼育技術の開発も行う。

（３）保全単位と優先度の判定の基礎情報

遺伝子解析や生態調査により、人工繁殖を行うべき種や集団の優先度や保全の単位を決定する。対象とするのは、ウズムシやクマネズミの影響により、人工繁殖や保全的導入による系統の保全が急務の課題になっているヤマキサゴ類、エンザガイ類、キセルガイモドキ類である。これらのグループで、生息環境と生活史などの基本的な生物情報を明らかにするとともに、中立遺伝子マーカーを用いた集団の遺伝構造の解析と、分子系統解析を行い、必要な基礎情報を得る。

３．研究開発方法

（１）保全的導入に向けたカタマイマイ類の飼育技術の確立と候補地選定

野外での繁殖技術を改良するためには、どのような個体間で交配が行われる傾向があるか、交配をめぐってどのような選好性があるかを明らかにしなければならない。そのため、室内においてさまざまな性質の組み合わせで交配実験を行った。ただし、カタマイマイでは個体数が少なく、交配実験に必要な個体数が十分に得られないこと、また希少種であるため、行うことのできる実験に制約があり、たとえば交尾後の精子の状況などの調査を解剖して調べるなどができないことから、カタマイマイに最も近縁な本土の種である *Euhadra* 属とオナジマイマイ属の種を用いることとした。これらのグループに共通して認められる繁殖上の性質は、カタマイマイ属でも同様に認められると考えることができる。

野外での繁殖技術を改良するためには、野外でどのような餌を利用しているかを知る必要がある。特にカタマイマイのようなグレーザーでは、食べている餌と、実際に体内に取り入れている餌が異なる可能性に注意する必要がある。実際カタマイマイは野外で落ち葉を摂食しているにもかかわらず、落ち葉だけを与えた条件では、十分に成長できないことが分かっている。こうした問題を解決するためには、実際に取り入れている餌の推定を行う必要がある。そこで、カタマイマイ類が野外で栄養として利用する餌を調べるため、軟体部の炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) を母島のカタマイマイ類の保管されている冷凍試料を用いて解析した。また殻についても $\delta^{13}\text{C}$ を調べて、両者の結果を比較した。チチジマカタマイマイにおいては、殻の炭素安定同位体比の分析を行った。

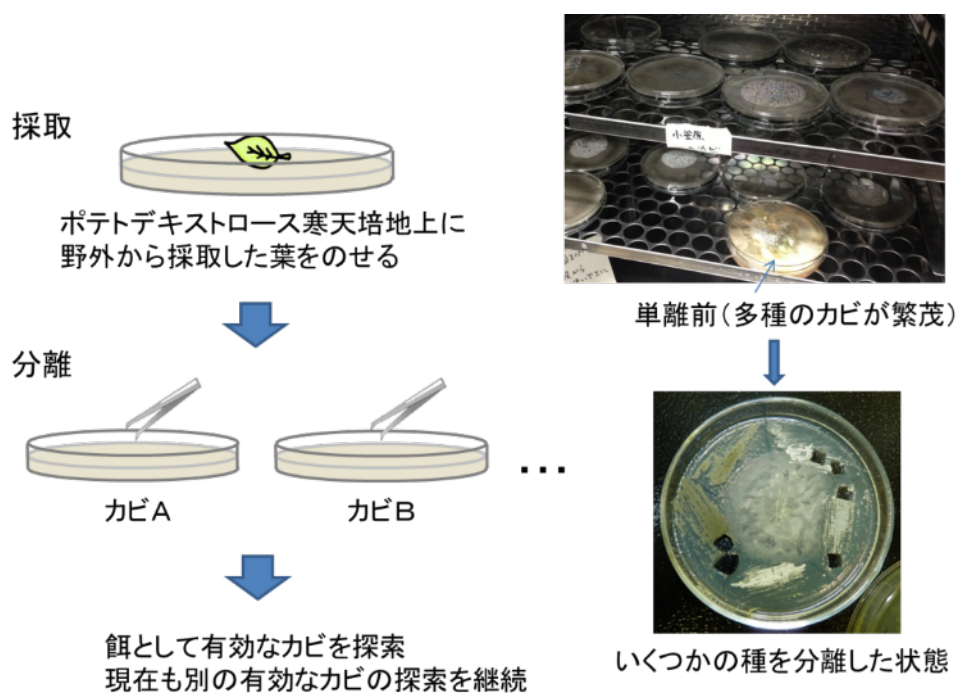
母島南崎をモデル地として、二種のカタマイマイ類の生息状況と生息環境を詳細に調査した（９～１０月）。休眠時の個体ごとの微小生息場所を特定するため、昼間の個体ごとの休眠位置、殻と周囲の温度、

付着基質を測定した。夜間の個体の活動状況をモニタリングし、活動場所、活動時間、摂食場所などを特定した。個体ごとに糸車法によって、一日に移動する距離の測定を行った。これらを二種で行い、比較した。またこれらのデータから、屋外施設での繁殖に必要な環境要因、設置条件などを推定した。

父島周辺の離島の陸貝相と環境調査を行い、特にカタマイマイを中心に飼育中の種類を導入するための適地の探索を行った。そしてカタマイマイ類については、上記で得られたデータをもとに条件の最もあう島を候補地として提案した。

(2) 小型種の飼育技術の開発

小型種のオガサワラヤマキサゴやエンザガイ類、キセルガイモドキ類のように、通常の餌では飼育が困難な種類の餌を特定するため、餌分析を行った。菌類が餌の主要な部分を占めているという結果を得ることができたことから、小笠原諸島母島において、モクタチバナなど在来植物の葉や落葉を採取し、付着している菌類の培養、分離、選択を行った。採取した葉を、寒天培地上に配したのち、寒天培地を 37℃ にて 24 時間、インキュベータ内に定置した。その後、繁茂したカビを選別、単離し、培養した。単離されたカビを、陸貝に供与し、採餌状況を見て餌としての適性を判断した。好ましいと考えられるカビ種が見つかった場合は、それをさらに培養し、多数のコロニーを得た。



図(4) -1 野外からの餌の菌類のスクリーニング方法。

これらの中から菌類ごとに陸貝に餌として与え、最も成績の良い餌のスクリーニングを行った(図(4)-1)。得られた餌の候補のカビを用いて、小型種陸貝に最も適した給餌方法の検討を行い、人工餌による飼育技術の開発を行った。また、種の違いによる餌の選好性の違いを調べた。

従来の研究では特に幼貝の死亡率を軽減できなかった樹上性の種に対する人工繁殖技術を得るため、飼育槽の高さや内部基質の違いなどによる死亡率や成長率の違いを調べ、最適条件を探索した。

樹上性の小型種の飼育手法の開発のため、オガサワラオカモノアラガイやテンスジオカモノアラガ

イを安定に生育するための飼育条件を検討した。特に樹上での休眠場所に対応する場所を設定するため、飼育容器の形状や内部構造などの選定を行った。

（３）保全単位と優先度の判定の基礎情報

保全の優先度、保全単位の決定が重要であるため、ヤマキサゴ類について遺伝子解析により分化のレベルを調べ、系統を調べるとともに、野外への導入に向けて、形態的に識別できる集団や、遺伝的に分離された集団間でニッチ利用にどのような差があるかを調べた。保全単位として現在の分類に従うことが妥当かどうか、またそれに基づいて保全の優先度の決定を行った。エンザガイ類とキセルガイモドキ類についても同様の遺伝子解析を行い、系統推定も行った。またこれらの種の保全的導入の可能性も想定し、その候補地の選定の判断基準になる、生息地の環境調査を行い、共存する種との関係の解析や、生息様式の解析を行った。

解析に用いた遺伝子領域は mtDNA の COI 及び 16SrRNA 領域と核の ITS 遺伝子領域である。なお、絶滅種が再発見される可能性があったため、原記載標本や戦前の標本を用いた形態解析も行った。

４．結果及び考察

（１）保全的導入に向けたカタマイマイ類の飼育技術の確立と候補地選定

１）交配実験による繁殖様式の解明

カタマイマイ類の代用として、最も近縁で生態も近い *Euhadra* 属とオナジマイマイ属を利用して、交配様式を解明した。交尾後の精子の保有率や受精率、生存率の分析から、交尾を巡るオスとしての役割とメスとしての役割に対立があり、それが交尾行動の重要な要因として働いていることがわかった。またこの性質の副産物として、互いに同じ体の大きさの個体とのみ交尾する同類交配が予想された。交配実験の結果、実際に体サイズが同じ個体同志が選択的に交尾する傾向があり、サイズの違う個体は飼育個体に含まれていると、その個体は交配できないことがわかった（図（４）－２）。

以上の結果から、体サイズの似た者同士、すなわち遺伝的に似た個体が交配する可能性が高く、少数の個体で飼育した場合には、近親交配が起こり、遺伝的な偏りが起こりやすいことがわかる。野外での飼育に際しては、各飼育場内で、飼育個体の体サイズの分布が連続的になるように、個体を選んで配置する必要がある。体サイズに偏りが生じた場合は、個体を入れ替えて、均等分布を維持することが必要である一方、このサイズ依存の交配を阻止すると、逆にオスメス機能の対立のため、大きな個体の精子がより受精しやすく、やはり世代とともに遺伝的な偏りが生じ可能性がある。このようにカタマイマイ類の交配様式は複雑であり、特に人為的な操作をあまり行わない屋外での人工繁殖では、室内で飼育した個体との定期的な入れ替えなどが必要であると考えられる。

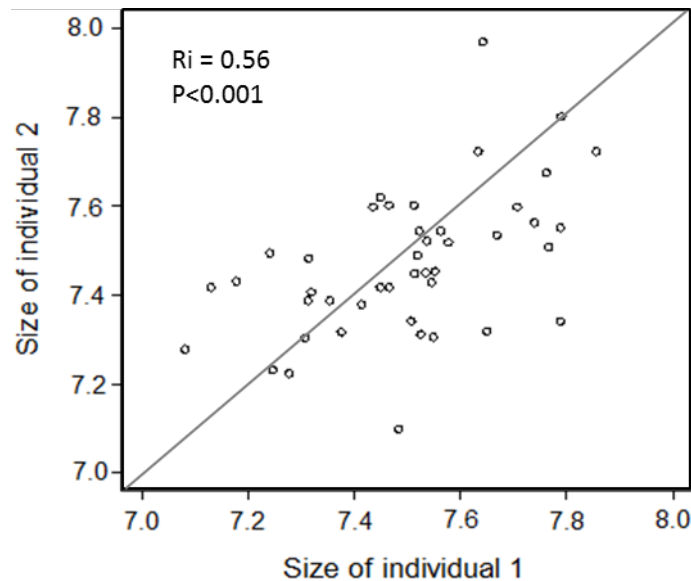


図 (4) -2 カタマイマイ近縁種 (オナジマイマイ) が示した体サイズの同類交配。

2) 安定炭素同位体分析による食性比較

母島の3種のカタマイマイ類の分析結果では、軟体部の $\delta^{13}\text{C}$ 値に有意な差が認められた (ANOVA, $p < 0.01$)。この差は、食物に含まれる菌類や動物遺体由来の有機物の比率の違いを反映していると考えられた。軟体部の $\delta^{13}\text{C}$ 値で認められた種間の違いのパターンと整合的なパターンが殻の $\delta^{13}\text{C}$ 値からも認められた (図 (4) -3)。

樹上性の種で $\delta^{13}\text{C}$ 値が最も大きく、次いで潜没型の種、地表に住む種で最も低い値となった。一般に菌類や動物食では $\delta^{13}\text{C}$ 値が大きく、植物食は C_4 植物を利用しない限り、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は小さい値になる。従って、この値から樹上性の種の主な餌は菌類であり、一方、潜没型の種では菌類または動物性 (動物遺体) の餌を利用していることが推定された。

この結果は、これまでに得られている室内飼育での餌条件と成長の関係と調和的である。殻の炭素同位体比は水にとけている全炭酸、食物、空気中の二酸化炭素、土壌の炭酸カルシウムの摂取で決まるが、食物以外の要因に大きな差がないと想定できることから、この違いも食物の違いを反映していると考えられた。チチジマカタマイマイの殻の $\delta^{13}\text{C}$ 値は、潜没型のヌノメカタマイマイの殻の $\delta^{13}\text{C}$ 値とほぼ同じ値を示したことから、チチジマカタマイマイも成長に菌類または動物性の餌が必要と考えられる。これは本種の屋外での飼育にこれらの資源を供給する必要があることを示している。また、チチジマカタマイマイの殻の成長に伴う $\delta^{13}\text{C}$ 値の変化から、野外では幼貝と成貝で主に利用する餌の種類が異なる可能性も示唆された (図 (4) -4)。

殻と軟体部で整合的な $\delta^{13}\text{C}$ 値が得られたことから、アニジマカタマイマイのように危急種のため軟体部の解析が困難な種でも、同様な餌の推定が可能なが示された。個体を殺傷せずに餌をある程度推定する方法として、非常に有効であると考えられる。また死殻から餌推定が可能なので、過去の餌条件を知ることにも可能である。植生環境の悪化の推定や生存に最適な条件の推定にも役立つと考えられる。

またこの結果から、地表性の生活型以外の種では、植物落葉だけが供給される環境では成長率が低下することが示された。これは屋外施設の飼育で枯葉を餌とするだけでは成長率が低下することと調

和的である。室内飼育では動物質の餌を与えているため、このような問題は生じていない。従って屋外での飼育に際しては、動物遺体の供給が必要である。特にチチジマカタマイマイのような潜没型のカタマイマイ類の生息に適した環境は、落葉層が発達し、かつダンゴムシなどの土壌動物が豊富に生息する環境であると判断できる。

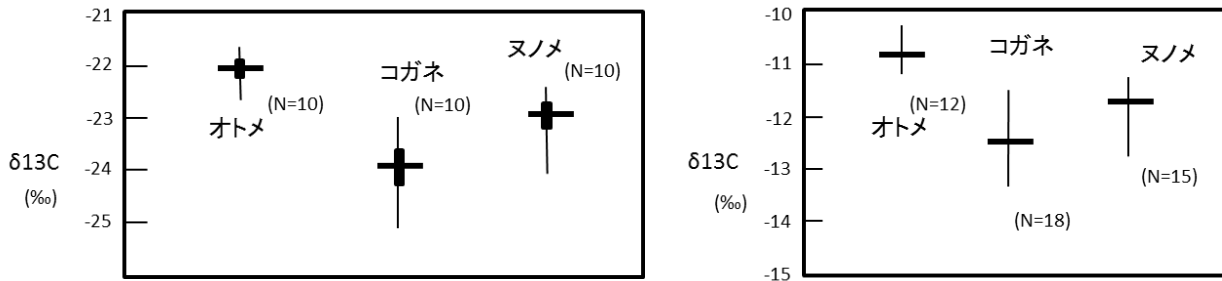


図 (4) -3 母島カタマイマイ類 3 種の炭素安定同位体比 (左：軟体部、右：殻)。

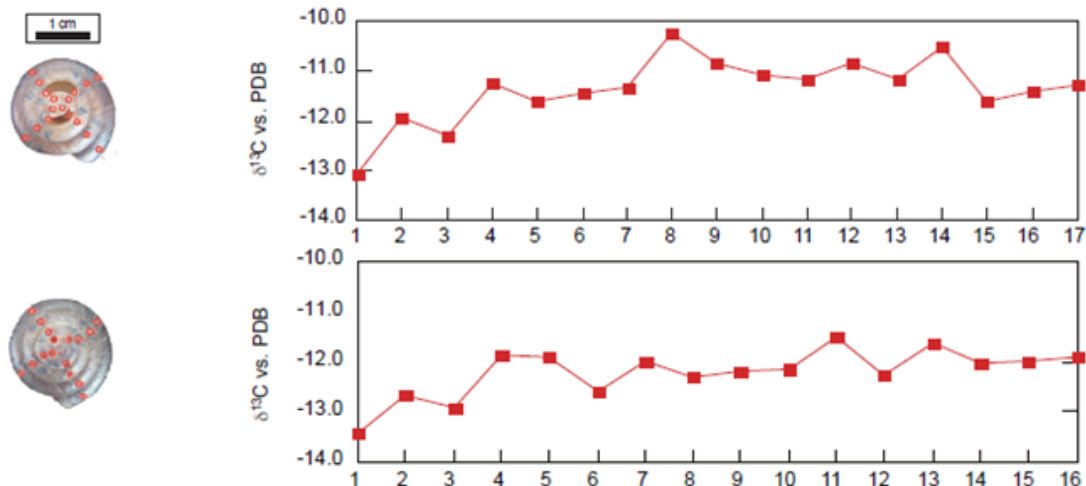


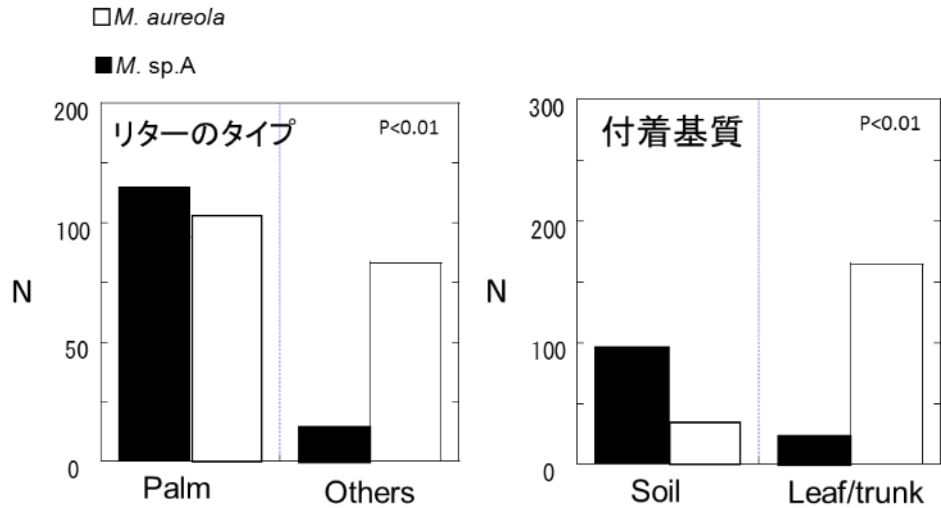
図 (4) -4 チチジマカタマイマイ殻の成長に伴う炭素安定同位体比の変化 (横軸は巻き数)。

3) 生息状況および生息環境

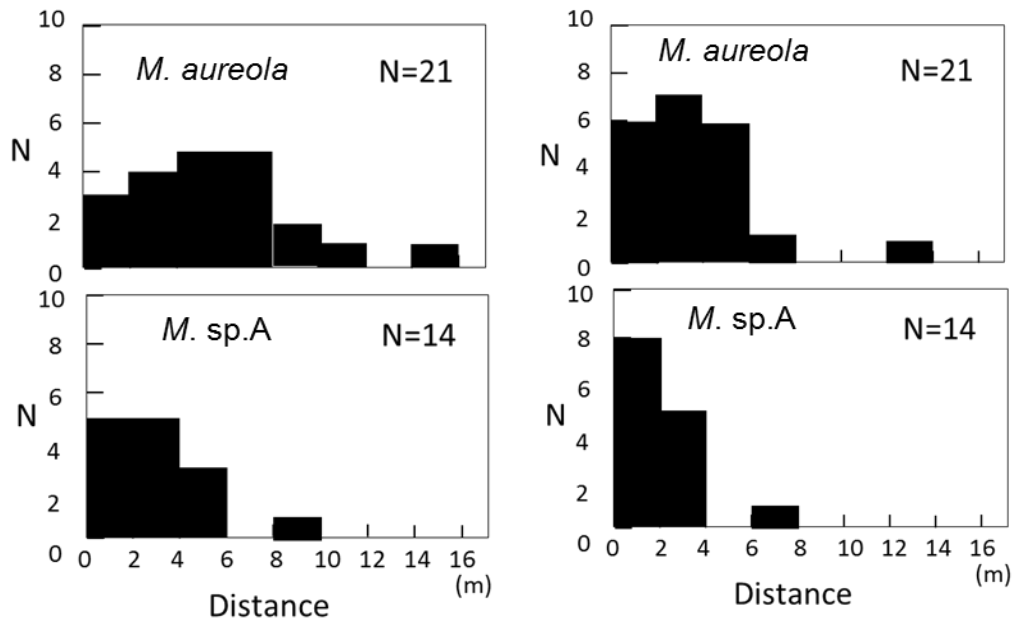
まだ環境条件と生息状況が健全な、母島の二種のカタマイマイ類をモデルとして、その生息に適した環境条件の推定と、生活様式を調査した。まず昼間の休眠場所の観察では、コガネカタマイマイはリター表面に近い枯葉や枝に付着して休眠する傾向が強いのに対し、クロカタマイマイは殆どがビロウを主とするリター下部の土壌に付着し、一部は土壌下部の裂け目に潜って休眠していることがわかった (図 (4) -5)。休眠場所の温度はクロカタマイマイが若干低いものの、いずれも 27°C より低い場所で休眠していた。調査場所の地点最高温度は 37°C であり、平均で 30°C を超えるにもかかわらず、 27°C 以下の場所を選んでいたことは、休眠には低温の場所を必要とすることを示している。また休眠場所は調査地内に広く点在しており、パッチ状に分布する低温の地点を休眠場所を選んでいると考えられる。

糸車を使用した個体の追跡からは、ほとんどの個体は 1 日の移動距離は 5 m 以下であった。またコガネカタマイマイのほうが、クロカタマイマイよりも水平方向への移動距離は大きい傾向が認められ

た（図（4）－6）。しかし、2種で移動量は異なるものの、1日に直線距離で10m以上移動する個体が見られた。帰家行動は認められず、ほぼランダムに移動していると判断された。



図（4）－5 コガネカタマイマイ (*M. aureola*) とクロカタマイマイ (*M. sp.A*) の休眠場所の違い。



図（4）－6 コガネカタマイマイ (*M. aureola*) とクロカタマイマイ (*M. sp.A*) の一日の移動距離（左：総距離、右：直線距離）。

夜間の行動観察の結果、コガネカタマイマイは地表で採餌し、クロカタマイマイはリター下部で採餌していた。そのため夜間はリター上部にはコガネカタマイマイの方がはるかに多く出現した。ただし、この行動は空中の湿度とも関係し、雨後の湿度の高い条件では、クロカタマイマイも比較的多く

リター表面に出現する傾向が現れた。

コガネカタマイマイは採餌のとき、新鮮なまだ緑色の残る落ち葉を好んで直接摂食する状況が観察された。一方、このような状況はリター表面に出ているクロカタマイマイでは観察されなかった。この結果は、安定炭素同位体比の分析から推定された、植物食と菌類・動物食という、二種の餌の違いと整合的である。

4) 屋外飼育の環境設定

カタマイマイの屋外飼育には1日の移動距離から判断して、野外飼育には少なくとも10×10 mの面積が必要であり、飼育場所の周囲を囲って個体の移出防止を図ることが必要である。またカタマイマイの野外飼育には、十分な低温（盛夏で27度以下）の微環境が必要であると判断される。帰家行動がないため、好適な微環境は広く点在している必要がある。二種を同時に飼育する場合には、複雑なリター構造が共存に必要であり、オガサワラビロウ、タコノキのほか、様々な大きさ等の異なる落ち葉の供給が求められる。

現段階では、潜没性の生活型をもつ父島産カタマイマイやチチジマカタマイマイの屋外飼育では、葉を用いた飼育だけでは十分な成長が達成できない可能性があり、菌類や動物遺体の供給が必要である可能性が高い。動物性の餌を特に与えない条件では、ダンゴムシ類などの土壌動物を同時に野外飼育施設内で共存させることが有効であると考えられる。また野外飼育場所の植生は、飼育個体の選択や野外への導入には不可欠な条件であり、適切な飼育を成功させるためには植生の保全もあわせて重要である。

5) 選定された保全的導入の候補地

現在、保全的導入が検討されているのは、チチジマカタマイマイとカタマイマイという潜没性の種であることから、オガサワラビロウ、タコノキなどの比較的厚いリターが生息地に必要である。十分な低温（盛夏で27℃以下）の微環境が必要なことから、日射を遮るビロウ林が安定して存在することが望ましい。また、チチジマカタマイマイは菌類や土壌動物の死骸が餌として必要であることから、豊富な土壌動物、特にダンゴムシ類が多産するか、鳥類が多産し十分な窒素分が得られる場所がよいと考えられる。

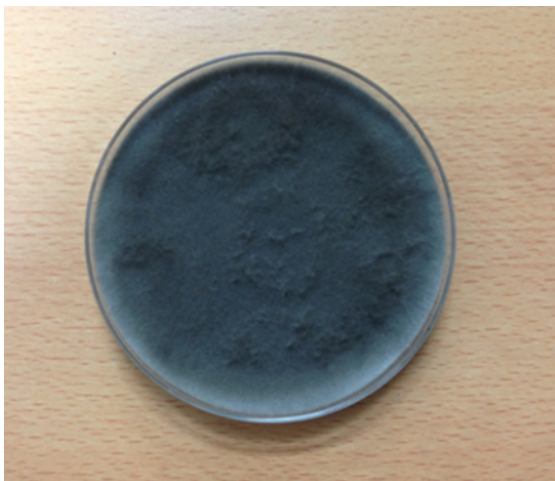
以上の条件をすべて満たすと考えられる島で、脅威となる外来生物が生息せず、かつ他のカタマイマイ類が生息せず、導入する陸貝と競合すると想定される種がいないことを条件として考えると、父島周辺の離島において今のところ保全的導入の候補地として最適なのは、西島であると判断される。ただし、安定な植生と土壌動物相の健全な維持が、導入とその後の管理において不可欠である。西島は外来のモクマオウ林があり、駆除が進められているので、今後の植生管理と一体として保全的導入は進められなければならない。

(2) 小型種の飼育技術の開発

小笠原在来のカビから、小型陸貝の餌となるカビを単離、培養に成功した。これはクラドスポリウム (*Cladosporium*) の1種であり、培養は容易でかつ幅広い種に供与が可能であった(図(4)－7、8、9)。このカビを用いて、ヤマキサゴ類の安定的な世代交代に成功し、少なくともヤマキサゴ類はこのエサを用いて人工繁殖が可能であることがわかった(図(4)－8)。飼育のための条件は、小型のタッパーに湿った紙を敷き、落葉などと混ぜるだけで十分であった。カビの繁茂したアガロースゲル切り、その断片をタッパーの上面に貼ることによって、1週間ごとの交換だけで容易に餌の管理を行うことができた(図(4)－10)。この餌の作成法を含め、繁殖技術のマニュアル化を行った。

またこの餌は、樹上性のカタマイマイ類の餌としても、非常に良い成績を示した。同じ餌により、エンザガイやオガサワラオカモノアラガイの維持にも成功した。しかし、エンザガイ類の幼貝は、産卵、ふ化、さらに幼貝を一定のサイズまで成長させることが可能になったものの、線虫の増加による寄生、死亡を防ぐことができず、世代交代には至っていない。

人工餌であるカビとそのアガロース培地に対する選好性を調べた結果、ヤマキサゴ類（および大型種のカタマイマイ類）は、両者の好みの差が乏しく、雑食性の傾向を示した。他の小型種はカビのみを採餌していた。



図(4)－7 単離した小型陸貝餌用カビ。



図(4)－8 ふ化直後のアニジマヤマキサゴの幼貝。



図(4)－9 カタマイマイ類とキセルモドキ類など、他の陸貝でも良好なカビの摂食を確認。



図(4)－10 ヤマキサゴ類の飼育状況。

樹上性のオガサワラオカモノアラガイの飼育環境を改善するための幾つかの技術開発を行った。オガサワラオカモノアラガイ類は幼貝の死亡率が高いのが難点であるが、高さ 30 cm 程度の容器を用い、内部に餌とは無関係にタコノキやオオタニワタリの苗を設置することにより、死亡率をほぼ 0%にすることができた。また飼育容器の高さをより大きくすることによって、成貝の生存率を有意に高めることができた。

ヤマキサゴ類の安定な世代交代が可能になった一方、エンザガイ類とキセルガイモドキ類は、個体の維持と一部個体の成長は可能となったが、安定した産卵と世代交代は依然として困難であり、技術

の確立までは至らなかった。これらは依然として飼育条件に問題があり、今後の検討が必要である。

餌のカビはヤマキサゴ類などの成長には非常にいい成績を示したものの、幾つか問題が残されている。炭素の過剰摂取は陸貝の成長率や出生率を低下させることが知られており、ヤマキサゴ類の屋内飼育では、ポテトスターチを多く含む培地の扱いに改善が必要である。キセルガイモドキ類やエンザガイ類が途中で死亡率が高まる要因として、寄生虫の他にこの餌の問題が関係している可能性があり、今後の検討課題である。

（３）保全単位と優先度の判定の基礎情報

１）オガサワラヤマキサゴ属の保全単位と優先度

小型種の保全の優先度、保全単位を決定するため、ミトコンドリア COI 遺伝子と核 ITS 遺伝子を用いて系統推定を行ったところ、オガサワラヤマキサゴ属は、著しく遺伝的に多様な系統からなり、多数の同胞種が存在することがわかった。特に兄島と父島の同種とされてきた個体群は、全く別系統であることが示された。

母島列島の系統は父島列島の系統とは異なり、それぞれの列島で独自の多様化が起きてきたことがわかった。スベスベヤマキサゴやカドオガサワラヤマキサゴは、伴に兄島と母島に生息しているが、遺伝的にはそれぞれ大きく隔たっており、いずれも別種である。また同じ島の中でも地域によって遺伝的分化や種分化が進んでおり、意図的、非意図的にこれらを移動させることのないよう配慮が必要である。また保全の単位はこれら各地域の集団と見なすべきである。

分子系統の結果から、父島の個体群は兄島の個体群では代置できず、保全の優先度が非常に高いと考えられる。一方で、これらの種群は、平行進化的に形態的に酷似した種が進化しただけでなく、兄島においては、種間で二次的な交雑が起きたことが推定された（図（４）－11）。また調べた中立マーカーに差が無くても、生息地の植生の違いにより、異なる生態型が分化していることが示された（図（４）－12）。これらは飼育下でも形態的な特徴が安定であることから、表現形質に関して遺伝的分化が生じていると考えられた。これらは住み場所の違いに適応するとともに、住み場所の違いにより遺伝的な隔離が生じている可能性を示唆する。特に、兄島のヤマキサゴ類は、植生の違いにより生態的な分化を生じている可能性があるため、系統保存すべき個体の選定や、後の導入に際しては、生息地の植生にも注意する必要がある。

この結果は、ヤマキサゴ類の保全すべき個体の選択には、生息地の植生を考慮することが必要であることを示す。また異種間で度々遺伝子浸透が起きている結果から考えると、ヤマキサゴ属の種が生息する地点に、他の生息地から異なるヤマキサゴ属の種を移植した場合には、交雑が起きる可能性が高い。

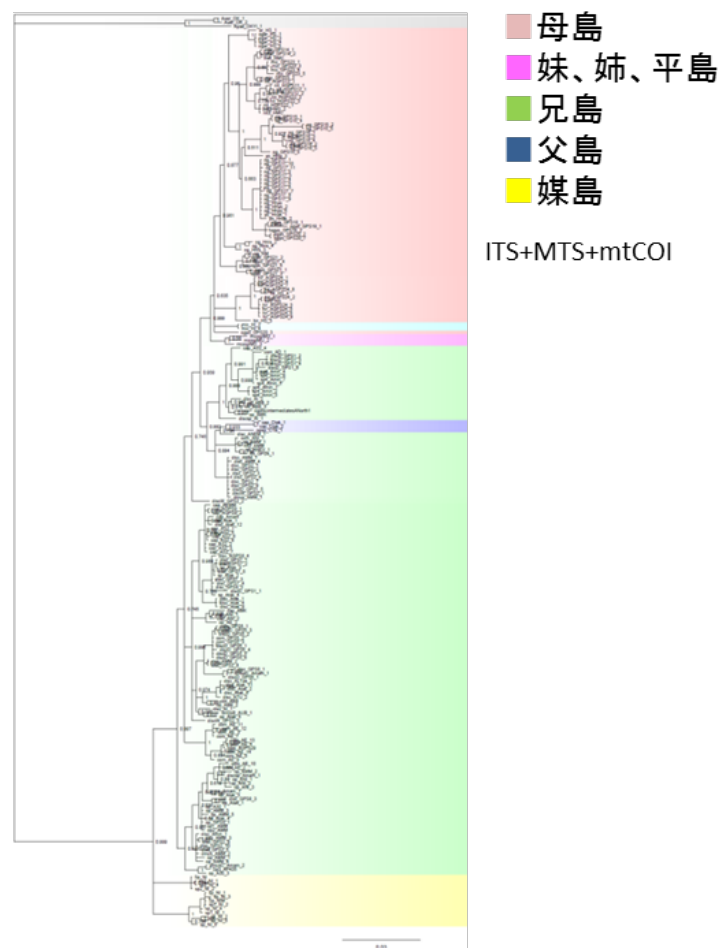


図 (4) -11 ヤマキサゴ属の系統 (mtCOI+ITS)。

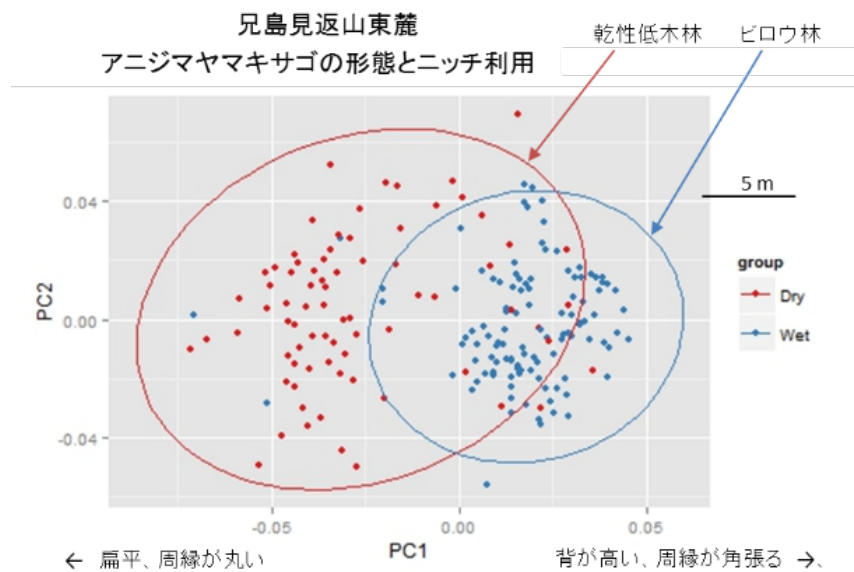


図 (4) -12 住み場所の違いによる同種の形態分化。

2) オガサワラキセルガイモドキ属の保全単位と優先度

本属は従来 4 種が知られており、媒島に分布するヒラセキセルガイモドキを除き、父島列島、母島列島いずれにも共通な種が分布すると考えられてきた。しかし、分子系統解析の結果、父島列島と母島列島の種は別系統であり、従来同種と考えられていた種は、系統の異なる種に生じた形態の収斂進化の結果であると考えられる。キセルモドキ類が島ごとに遺伝的分化を示し、同胞種群を含んでいることは、島ごとに保全単位を想定する必要があることを示している。またこの結果から鳥山のキセルガイモドキの保全価値が高いことが示された。

3) エンザガイ属の保全単位と優先度

本属の系統関係は比較的形態とよく対応し、ヤオガサワラヤマキサゴ属やオガサワラキセルガイモドキ属のような、形態と分子系統の不一致は認められなかった。いずれの種の集団も単系統であり、亜種として記載された集団も、比較的近縁であった。

分子系統関係と形態の再検討から、父島鳥山に残存するエンザガイの一種は、小型のハタイエンザガイであると判断された。形態解析の結果は戦前の標本とサイズ以外は完全に一致し、遺伝的にも母島の亜種ナカタエンザの父島における姉妹群の位置を示している(図(4)－13)。本種は環境省の RDB では絶滅となっており、最近 100 年間に全く記録が無かったもので、それが父島に未だに残存していたことは非常な驚きである。

以上の点から、ハタイエンザガイと判断される、父島鳥山に残存する集団の保全的価値と優先度は極めて高い。ただし東島のものも形態的、遺伝的に見て同種であると考えられ、飼育の困難度、コストを検討しつつ、今後の保全手法を判断する必要がある。その飼育技術の確立は今後の課題である。

なお、鳥山のハタイエンザガイはモクマオウのほぼ純林の落葉下に生息し、集団の維持が極めて困難になっている。同様の環境は西島にあるため、なるべく早期に西島への保全的導入を行うことが望ましい。遺伝子解析の結果からも、エンザガイ類は同所的に住む別種との間に交雑は起こしていない。また西島のヘタナリエンザガイとはもともと共存していたと考えられ、西島への導入への問題は少ないと考えられる。

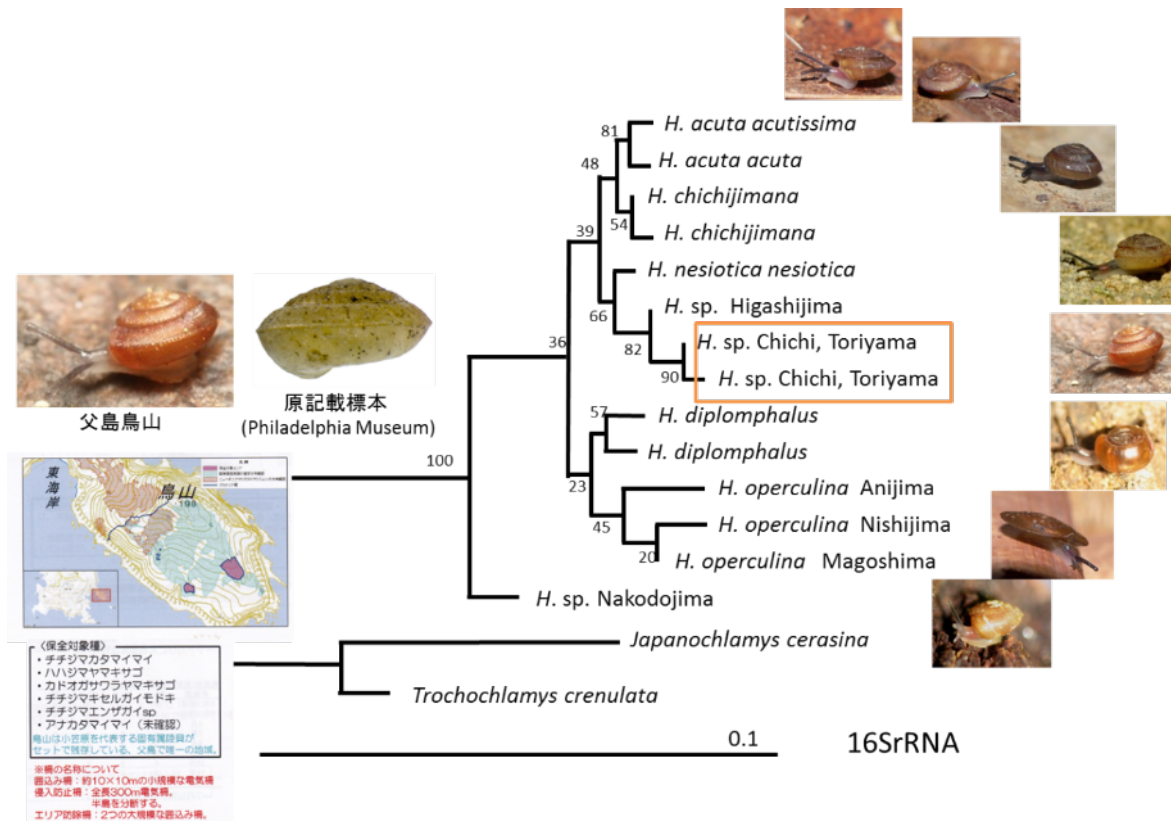


図 (4) - 13 エンザガイ属の系統 (mt16SrRNA) と
ハタイエンザガイの鳥山個体および原記載標本。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

1) カタマイマイ類の保全

カタマイマイ類の野外での餌の推定を行い、共存する種間で明確に餌が異なることが示された。これはニッチ分化により利用資源が異なっていることを明確に証拠立てた結果であるとともに、屋外飼育技術の改善に重要な貢献となる発見である。

カタマイマイ類の野外での飼育に必要な情報を得た結果、野外飼育施設に要求される面積や環境条件、餌などの条件を示すことができた。これらの情報は、野外飼育を進めるときのモニタリングの指標ともなる。

2) 保全的導入のプロセス

現在、屋内での保護増殖が進められているカタマイマイ類の保全的導入の候補地として、西島が最適な場所であることが示された。多面的なデータと情報を総合して行った判断であり、これまで日本で事業として行われたことのない保全的導入を進めるうえで、慎重な判断のプロセスを経た点で、重要な科学的成果であるといえる。特に保全的導入とその後の管理には、外来植物の管理とともに、植生の適切な維持や、土壌生物相の健全な維持が必要であることが示された。これは陸貝保全の計画は、幅広い動植物の分類群を含めた、包括的な生態系管理が必要であることを示している。導入後のモニタリング計画にも重要な指針を提供したと考える。

3) 小型陸貝の保全

これまでに適切な餌が得られていなかった小型陸貝に関して、好適な人工餌となるカビの単離、培養に成功し、これらの人工繁殖が容易になった。特にヤマキサゴ類の人工繁殖による系統保存技術確立に成功した。また飼育方法の改善を行い、保全の優先度の決定をするうえで重要な知見を得た。このような小型種でカビを使った人工繁殖技術を確立した例は世界にもなく、保全上も非常に重要な成果である。

4) 絶滅種の再発見

ウズムシの侵入対策が採られている父島鳥山で発見されたエンザガイ集団が、絶滅種ハタイエンザガイであることが判明し、優先順位の極めて高い保全対象であることがわかった。100年ぶりの発見であり、その科学的な意義は大きい。今後、早急に他の島への保全的導入の可能性など検討が必要であることが示された。

5) 保全単位と保全面での配慮

分子系統解析によって、小型陸貝の保全単位と優先順位を決めるための判断基準をつくることができた。ヤマキサゴ類やキセルガイモドキ類は、形態に基づく種と系統が一致せず、保全単位として種ではなく、島ごとの集団を使うべきであることが示された。またヤマキサゴ類では、異種間で交雑が起きていることが示され、再導入や保全的導入に際して、交雑の危険性に配慮する必要があることがわかった。これらの諸点は、今後のこれらのグループの保全事業を進めるうえで、重要な指針になると考えられる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

1) カタマイマイ類の保護増殖事業

環境省が進めているカタマイマイ類の保護増殖事業に、本研究によって得られたカビが餌として使用され、本研究の成果の技術移転がなされた。この技術は特に樹上性の種に対して、非常に良い成績を上げている(図(4)－14)。ネズミの増殖によって生存が困難になった兄島のキノボリカタマイマイの環境省事業による保護増殖には、このカビが非常に大きな役割を果たした。

また交配個体の組み合わせの方法に関する情報や動物性の餌が必要であるという研究成果は、すでに環境省の屋外施設でのカタマイマイの保護増殖事業に取り入れられ、その飼育状況の改善に貢献した(図(4)－15)。また環境省プラナリア対策事業で鳥山に設定された、カタマイマイ類の保護区の設計や環境設定に、本研究の成果である飼育に必要な面積や環境要因などの情報が取り入れられ、事業の進捗に貢献した。以上のように、カタマイマイ類の生態、環境調査によって得られた情報は、環境省の陸貝保護増殖事業に幅広く活用されている。



図（４）－14 環境省の父島事務所で、飼育中のカタマイマイに供するカビ餌を作成中の状況。

2) 小型陸貝の保全

環境省のプラナリア対策事業において、本研究で示された父島のヤマキサゴ類やエンザガイ類の重要性に関する情報が利用され、事業の適切な進捗に貢献した。ニューギニアヤリガタリクウズムシが父島・鳥山に侵入したことによって、環境省により鳥山のヤマキサゴ類とエンザガイ類の室内への緊急避難が行われたが、その維持の為に本研究の結果として得られた、これらの種に対する飼育技術が活用された。その結果、エンザガイについては世代の更新には至っていないものの、今のところこれらの種の絶滅が回避されている状況である。

3) 他の外来生物対策

環境省が行った兄島ネズミ対策の事業において、本研究で決められたヤマキサゴ類の保全単位が、事業計画の立案に非常に大きな役割を果たした。この研究で得られた遺伝子情報と保全単位に基づいて、兄島での陸貝重要保全エリアが設定され、保全エリアのモニタリングやネズミ駆除の対策が進められた。また兄島の薬剤散布前後の陸貝モニタリング計画は、そのベースに本研究で得られたヤマキサゴ類の生態情報が活用されている。



図（４）－15 環境省事業として進められている、カタマイマイの屋外飼育施設。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

本研究によって得られた成果は、いずれも環境省が今後推進する小笠原恵与党の陸貝保全事業はもちろん、生態系管理の事業推進に幅広く活用されると期待できる。

今後、西島を中心に、自然再生、修復のモデル的な事業が進むと予想されるが、本研究の成果である、カタマイマイの保全的導入やその後の管理に必要な基礎情報は、この事業を推進するうえで、不可欠の情報である。

小笠原諸島の陸貝の保護増殖事業は、今後も継続される見込みであるが、本研究で見出された様々な基礎情報は、今後も活用されていくはずである。特に屋外繁殖の事業においては、野外でのカタマイマイ類の生態、環境情報は有用である。今後はカタマイマイの保護増殖だけでなく、小型陸貝の保護増殖事業も開始されると考えられるが、本研究で示された保全単位や、保全の優先順位は、それを進めるうえでの指針になると期待できる。

環境省が今後見直しをする予定のレッドリスト策定事業においても、本研究で得られた情報が活用される。特に現生が確認されたハタイエンザガイの情報に基づき、絶滅ランクからの引き下げが行われる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

（１）誌上発表

＜論文（査読あり）＞

- 1) K. KIMURA, T. HIRANO and S. CHIBA: Acta Ethol., 18, 3 (vol, issue), 265-268 (2015), Assortative mating with respect to size in the simultaneously hermaphroditic land snail *Bradybaena pellucida*.
- 2) K. KIMURA and S. CHIBA: Proc. R. Soc. London, Ser. B, 282, 1804 (vol, issue), 20143063 (2015), The direct cost of traumatic secretion transfer in hermaphroditic land snails - individuals stabbed with a love dart decrease lifetime fecundity.
- 3) S. CHIBA and R. H. COWIE: Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst., 47, 123-141 (2016), Evolution and extinction of land snails on oceanic islands.
- 4) S. UCHIDA, H. MORI, T. KOJIMA, K. HAYAMA, Y. SAKAIRI and S. CHIBA: Conserv. Biol., 30, 6 (vol, issue), 1330-1337 (2016), Effects of an invasive ant on land snails in the Ogasawara Islands.

＜その他誌上発表（査読なし）＞

特に記載すべき事項はない。

（２）口頭発表（学会等）

- 1) S. CHIBA : New Zealand Ecological Society Conference (2014) Patterns of divergence and extinction in land snails on the oceanic Ogasawara Islands.
- 2) 内田翔太、森英章、児嶋翼、葉山佳代、坂入祐子、千葉聡：日本生態学会 63 回大会（2016）小笠原諸島に侵入したツヤオオズアリによる陸産貝類の減少。

- 3) 木村一貴、千葉聡：日本生態学会第 63 回大会（2016）カタツムリの外傷的交尾：操作物質を送り込む量と感受性.
- 4) S. CHIBA: 3rd International Symposium of Benthological Society of Asia (2016) Recent challenges of biodiversity conservation: examples of native ecosystems on islands and suburban ecosystems on mainland in Japan.

（３）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 千葉聡：小笠原諸島世界自然遺産登録 5 周年記念講演会「カタツムリから見る小笠原の自然」（2016 年 11 月 3 日、国立科学博物館、参加者数 120 名）

（５）マスコミ等への公表・報道等

- 1) National Geographic News（2015 年 3 月 10 日）
- 2) The Economist（2015 年 3 月 10 日）
- 3) NHK 総合・ニュースウオッチ 9（2015 年 6 月 24 日）
- 4) NHK 総合・ニュースおはよう日本（2015 年 6 月 24 日）
- 5) TBS テレビ・Nスタ（2015 年 6 月 25 日）

（６）その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) R. G. GILLESPIE: Curr. Biol., 23, R71-R74 (2013), Adaptive radiation: convergence and non-equilibrium.
- 2) IUCN (2011), Japan –Ogasawara Islands. In: IUCN Evaluations of Nominations of Natural and Mixed Properties to the World Heritage List, pp. 59-72. IUCN Report for the World Heritage Committee, 35th Session, Paris, France.
- 3) S. CHIBA and K. ROY: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108, 9496-9501 (2011), Selectivity of terrestrial gastropod extinctions on an oceanic archipelago and insights into the anthropogenic extinction process.

（５）絶滅危惧海鳥の域内保全手法の開発と飼育技術確立のための食性の解明

特定非営利活動法人小笠原自然文化研究所

堀越 和夫

<研究協力者> 特定非営利活動法人小笠原自然文化研究所 鈴木 創

<研究協力者> 国立研究開発法人国立環境研究所 安藤 温子（元・国立大学法人京都大学）

<研究協力者> 国立大学法人京都大学大学院 小村 健人

平成 26～28 年度累計予算額：21,429 千円（うち平成 28 年度：7,143 千円）

〔要旨〕

小笠原諸島で繁殖する海鳥類は、海洋島における海域と陸域を結ぶ栄養塩類の循環機能を果たす重要な生態系エンジニアである。しかし、多くの島で外来生物により直接の捕食被害や環境改変を受け繁殖集団の縮小や消滅が生じている。本調査では絶滅危惧種の海鳥類の保全にあたり、（１）域内保全手法のための生息地探索と（２）域外飼育技術確立のための糞 DNA 解析手法による食性分析を行った。

生息地探索では、現在も繁殖地情報がほとんどないオガサワラヒメミズナギドリ（IA 類）等を対象とし、候補地の島に屋外録音装置を設置して音紋分析により飛来情報を収集した。これにより、小笠原群島内では鴛島列島と父島列島の計 4 島にて音声を確認し、その飛来は 11～翌年 5 月期、盛期は 2～3 月期であることが判明した。この情報をもとに父島列島東島で夜間探索したところ、世界で初めての営巣確認に成功し、その営巣植生がタコノキ／ススキの在来植生であることが判明した。外来ネズミ類の駆除や植生修復事業が、絶滅危惧ミズナギドリの保全に効果があることが示された。

食性解析では繁殖地で採集された海鳥糞を用い、脊椎動物と軟体動物に特異的バーコード領域を設定して次世代シーケンサーにより塩基配列を解読し、これらを NCBI 登録のデータベースと照合して生物種の同定を行った。普通種のオナガミズナギドリでは、ハダカイワシ科など中深層遊泳魚が繁殖期前と育雛期共に高頻度で検出され、これらに強く依存していることが示された。またトビウオ科なども確認され、時期による食性の違いが判明した。絶滅危惧種であるセグロミズナギドリを対象とした糞のサンプルからは、産卵期と巣立ち期ともトビウオ科を最も多く採食していることが示唆された。オナガミズナギドリの場合とは異なり、中深層性遊泳魚はほとんど検出されず、繁殖時期と繁殖海域が重複するオナガミズナギドリとセグロミズナギドリは採食時間帯または採食海域を分けるなどしてニッチ分割を行っている可能性が示唆された。開発された本手法は、他地域における絶滅危惧の海鳥類の食性解明にも応用できる。

〔キーワード〕

絶滅危惧海鳥、オガサワラヒメミズナギドリ、音紋分析、食性解析、DNA メタバーコーディング

1. はじめに

小笠原諸島には海鳥が多く繁殖しており、ミズナギドリ科 5 種を含む 16 種の海鳥の営巣が確認され、その種多様性は高い^{1,2)}。海鳥類は海洋島における海域と陸域を結ぶ栄養塩類の循環機能を果たし

ており、小笠原の生態系の基盤を作る重要な生態系エンジニアとなっている。しかし、多くの島で、外来植物により繁殖環境が改変され、また外来ネズミ類により直接の捕食被害を受けており、繁殖集団の縮小や消滅が生じている。IUCN および環境省のレッドリストに記載されている海鳥は 11 種（全体の約 69%）におよび、多くの海鳥が危機的状況にあるといえる。

これら海鳥を保全するためのアプローチとして、採食域の保全、繁殖地の保全が挙げられる³⁾。最近、新規記載されたオガサワラヒメミズナギドリ⁴⁾のように、小笠原諸島に生息は確認されているが、その繁殖している島々の分布情報が明らかになっていない絶滅危惧の小型ミズナギドリ類が含まれる。

このオガサワラヒメミズナギドリは、ミッドウェイ諸島で 1963 年に採集された標本に基づいて種指定されたものだが、この標本以後、ミッドウェイでもう一度だけ見られた以外に記録がなく、すでに絶滅が疑われていた⁴⁾。しかし、小笠原諸島で 1990 年代以後に小笠原自然文化研究所等が回収した 6 個体の小型ミズナギドリの死体の DNA と形態を分析したところ同種と一致し、現在も小笠原に生き残っていることが判明したものである²⁾。しかし、その後、小笠原諸島においてもオガサワラヒメミズナギドリの飛来観察はできておらず、その繁殖地および保全すべき営巣環境についての知見も皆無である。現在、小笠原諸島においては外来ネズミ類の駆除事業が、無人島において徐々に進捗しており、このような絶滅危惧種の分布および利用環境の情報は、事業対象とする島の優先度を量る上で、また復元を目指す目標植生を具体的に描く上で大変重要なものである。

繁殖地保全に加え、飼育による域外保全も重要な要素である⁵⁾。飼育による域外保全や採食域の保全のためには、最も基礎的は生態情報である食性を正しく理解することが重要であるが、広い採食域をもち、採食行動の直接観察が難しい海鳥の食性を知ることは非常に困難である⁶⁾。海鳥の食性解析法としては、顕微鏡による胃内容の分析が主流であるが、胃内容サンプルを得るためには捕殺、または吐き戻しをさせる必要があり、個体に大きな負担をかける⁷⁾。また、顕微鏡分析は分析者の識別能力によるバイアスが無視できず、多大な労力も要する⁷⁾。DNA メタバーコーディングは様々な DNA 断片が含まれた環境中（水や土壌、糞など）から特定の短い DNA 領域を増幅・解読することで環境中に存在する生物由来の DNA を分類群同定する手法である。この手法は非侵襲的かつ低労力、高解像度な分析が可能であり^{8,9)}、近年大型哺乳類などを対象に糞に含まれる餌由来の DNA を同定し、食性解析への応用が進められている¹⁰⁾。海洋生態系においても、ペンギンやアザラシを対象にした糞からの食性解析が近年見られるが^{11,12)}、外洋性の海鳥を対象にした研究例は少なく、特に本研究対象のミズナギドリ類では研究例はほとんどない。そのため、まずは手法の最適化が必要不可欠である。また、安定同位体分析によって同属である *Balearic shearwater* の食性解析を行った研究において、繁殖期を通しての食性の変化が検出されている¹³⁾。本研究対象の種においても繁殖期の段階に応じて食性が変化する可能性は十分考えられるため、より正確な食性情報を得るため繁殖期の前期と後期でサンプリングを行うことが求められる。

2. 研究開発目的

（1）絶滅危惧海鳥の域内保全手法のための生息地探索

現在も繁殖地調査が進んでいない絶滅危惧の小型ミズナギドリ類である、オガサワラヒメミズナギドリ（絶滅危惧 IA 類）とセグロミズナギドリ（絶滅危惧 IB 類）を対象として、小笠原諸島内で小型海鳥類の生息が確認されている候補地の島々に、屋外録音装置を設置し、音声分析ソフトを用いて音紋分析を行い、その飛来状況の情報を収集する。また、セグロミズナギドリについては、その保全

上の地位を明らかにするため DNA 分析により系統関係を明らかにする。

(2) 食性解析のための糞 DNA 解析手法の開発

絶滅危惧種の海鳥類の域外飼育技術確立のための、食性解析を非侵襲的手法である DNA メタバーコーディングを用いて、糞サンプルより餌生物の特定をおこなう新手法を開発する。これには、まず普通種のミズナギドリ類を対象にして解析手法の有効性検証と最適化を行い、その次に実際に希少種を対象に食性解析を行って、飼育に必要とされる餌料特性を解明する。

3. 研究開発方法

(1) 絶滅危惧海鳥の域内保全手法のための生息地探索

屋外録音装置は、米国 Wildlife Acoustic 社製の Song Meter を用い、録音マイクは付属の耐候性のものをモノラルで使用した。録音スケジュールは、18 時～翌朝 5 時までの時間帯とし、15 分おきに 1 時間の録音を行った。回収した録音データは、米国 Wildlife Acoustic 社製の音声分析ソフトである Song Scope ver4.13 を用いて自動解析したのち、音紋波形および直に鳴き声を聴いて海鳥種を識別した。対象種のオガサワラヒメミズナギドリとセグロミズナギドリでは、冬季飛来が想定されるため、屋外録音装置は、少なくとも 3 月期が含まれるように配置した。絶滅危惧種が飛来する候補地の選択は、両種と体型が近似しているウミツバメ類であるオーストンウミツバメの生息地¹⁾から選定し、その調査範囲は、小笠原諸島の全範囲より火山列島と西之島を除いた、小笠原群島内の聳島列島、父島列島、母島列島とした(図(5)-1)。

2014 年度は父島列島の東島と巽島を対象とし、前年に設置した録音データの解析を行った。2015 年度は聳島列島の北之島と聳島鳥島を選定し、また他の夜間調査によりオガサワラヒメミズナギドリの鳴き声の情報があつた媒島を加えた。2016 年度は母島列島の鰐島島、中鰐島島、小鰐島島を対象地とした。屋外録音装置は、それぞれの島に 2～6 台を設置した。

なお、2014 年度の音声分析により 2～3 月期にオガサワラヒメミズナギドリの飛来ピークがあることが判明し、2015 年 2 月 25～26 日に東島で直接観察を目的とした、夜間調査を行った。

オガサワラヒメミズナギドリの生息が確認された東島では、島内に設置した複数の録音機器で得られた録音記録の頻度を明らかにし、植生との関係を明らかにした。植生図は小笠原自然情報センターで公開されているものを用いた。

小笠原に生息するセグロミズナギドリは日本鳥学会の鳥類目録第 7 版では *P. lherminieri* の亜種とされてきている。しかし、この種を含む近縁のグループでは最近になり形態による分類と分子分類の間で齟齬があることが確認されている。そこで、小笠原の *P. l. bannermani* 集団の mtDNA cytochrome 領域の配列を分析し、*Puffinus* 属の他種との系統関係を評価した。小笠原集団のサンプルは南硫黄島の繁殖集団から得たものおよび小笠原群島において保護された個体から得たものを使用した。*Puffinus* 属の多種の配列は、データベースにあるものを使用した。

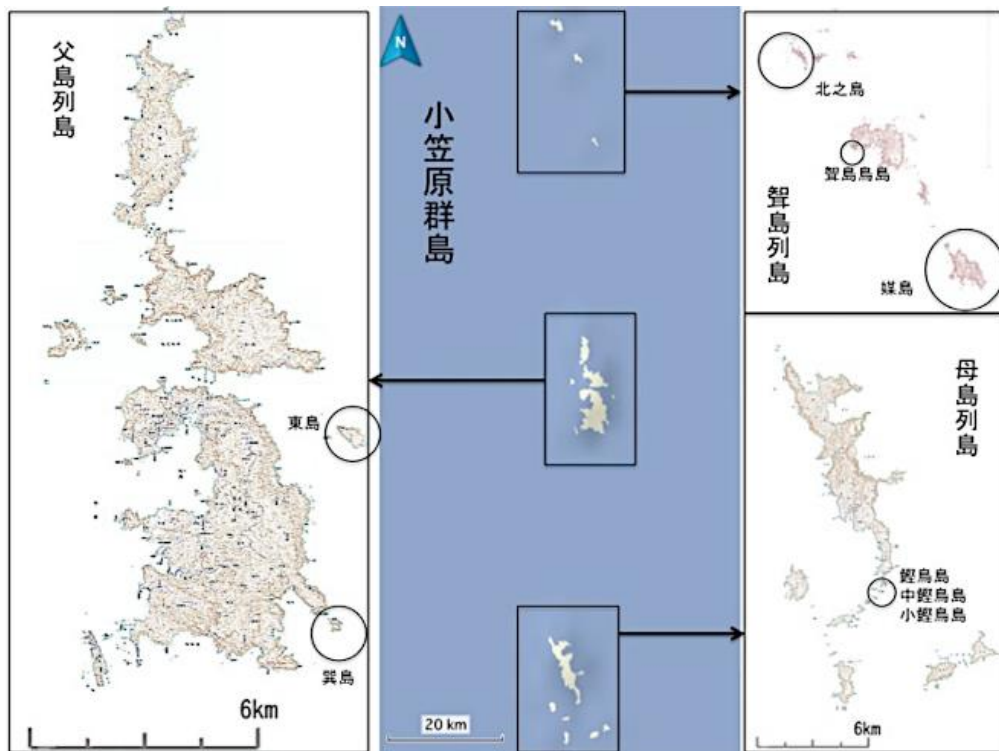


図 (5) -1 小笠原群島において野外音声録音機を設置した海鳥繁殖地。

(2) 食性解析のための糞 DNA 解析手法の開発

海鳥の食性の重要な構成要素である魚類および軟体類を糞中から識別するため、DNA バーコーディングを用いた糞分析の先行研究において脊椎動物を識別できる遺伝子領域として選定されている mtDNA 12S 領域の約 100 bp¹⁴⁾を解析対象領域とした。先行研究¹⁴⁾で開発されたユニバーサルプライマーにサンプル識別のためのタグ配列を付けたフュージョンプライマーを設計した。さらに、ミズナギドリ自身の DNA 塩基配列の増幅を抑制するブロックプライマーを先行研究¹⁵⁾を参考にして設計した。ブロックプライマーは PCR 増幅の際、PCR 用プライマーの 5 倍の濃度で使用した。得られた PCR 産物を精製後、次世代シーケンサー Ion PGM (Thermo Scientific) の 200bp Sequencing Kit 並びに Hi-Q Sequencing kit、Ion 318 Chip Kit を用いて、PCR 産物の塩基配列を網羅的に解読した。得られた塩基配列データに対して、ソフトウェア Claident¹⁶⁾を用いてエラー除去とクラスタリングを行い、クラスタリングされた各塩基配列の分類群同定は BLAST2Go¹⁷⁾を用いて、NCBI データベースから相溶性の高い配列を検索することにより行った。NCBI データベースに餌の種の塩基配列が全て登録されているとは限らず、また配列を共有する近縁種も多く存在するため検索結果が海鳥の食物と種レベルで一致する可能性は低い。このため BLAST トップヒットの種の中から最も *E-value* かつ類似度が高かった種を選び出し、それらが共通する最も低いランクの分類群にまとめた。ただし、最も *E-value* かつ類似度が高かった種が 1 種のみであった場合はその種の属でまとめた。さらに、除去しきれなかったエラー配列等による誤同定の可能性もあることから、検出された各科に割り当てられた配列数が、サンプルから得られた全配列数の 2 %に満たない場合、同定結果から除外した。

2014 年度は、小笠原諸島において個体数の多い、普通種であるカツオドリ（飼育個体）とオナガミズナギドリ（保護個体）から糞サンプルを父島にて採集し、冷凍保存後に、糞サンプルからの DNA 抽

出は、QIAGEN 社製の QIAamp DNA Stool Mini Kit または QIAamp DNA Micro Kit を用いて行い、NanoDrop ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer (NanoDrop Technologies) を用いて収量を確認した。

2015 年度は、繁殖地におけるオナガミズナギドリの糞サンプルにもとづく食性解析を行った。糞サンプルは父島属島南島において、産卵期前（2015 年 5 月）と育雛期中（2015 年 9 月）にそれぞれ 73 サンプルと 96 サンプルずつ採取した。採集したサンプルは実験室へ持ち帰り、QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。

2016 年度は、軟体類を検出するため mtDNA 16S 領域のユニバーサルプライマー¹⁸⁾を新たに加えて魚類と軟体類を検出対象に食性解析を行った。さらに、絶滅危惧 IB 類であるセグロミズナギドリを対象に父島属島東島の営巣地周辺において産卵期（2016 年 5 月）と巣立ち期（2016 年 9 月）にそれぞれ 50 サンプル、40 サンプルの糞を採取し、同様の方法で食性解析を行った。

4. 結果及び考察

(1) 絶滅危惧海鳥の域内保全手法のための生息地探索

2014 年度においては父島列島の東島と巽島において、各 1 台の屋外録音装置のデータ回収に成功し、それぞれオガサワラヒメミズナギドリの音声を確認した。東島では計 7 台の屋外録音装置を設置したのだが、6 台は機器設定に不備があったために、データ回収できたのは 1 台に留まった。東島では記録頻度が高く、2013 年 12 月～2014 年 3 月の分析期間では総計 54 日間確認された。1 夜当たりの確認回数は 2 月より増加して 3 月末が最高値となった (22 回/夜)。これより、オガサワラヒメミズナギドリの繁殖地における活動盛期は 2～3 月頃であり、この時期が直接の野外観察に適していることが判明した。

上記の飛来時期情報をもとに、2015 年 2 月 25～26 日に東島において夜間探索を実施した。オガサワラヒメミズナギドリが地上に飛来して鳴き声を出していた地点を探索することで、少なくとも 10 個体が鳴いていることを確認した。種を確認するために 4 個体を捕獲し、形態測定および足環装着後に速やかに放鳥した。捕獲個体は、タコノキの低木林とオガサワラススキの草地で発見された (図 (5) -2)。また、タコノキの低木林に隣接したオガサワラススキの草地の地面に掘った穴の中で、抱卵中の巣が 1 箇所発見された。本種の繁殖確認はミッドウェイ諸島の記録のみで、この発見は、小笠原に本種が生き残っていることを証明するとともに、世界で初めての営巣確認となった。

過去に東島でオガサワラヒメミズナギドリの死体の標本が回収されているが、これらはクマネズミにより小型ミズナギドリ種であるアナドリの集団営巣地において大規模被害が起きている時期に発見されている^{19,20)}。東島では、その後、環境省により殺鼠剤空中散布によるクマネズミ駆除が 2008 年と 2010 年の 2 度に渡り実施され、現時点までクマネズミの生息は確認されておらず、本研究によるオガサワラヒメミズナギドリ営巣確認は、外来捕食者から小型海鳥類への影響が大幅に減少した時期にあたり、同島で実施された外来ネズミ類駆除は重要な保全効果を示したものと考えられた。



図 (5) -2 初めて営巣が直接観察された東島でのオガサワラヒメミズナギドリ (左) と東島の植生 (右)。

2015 年度において聳島列島の北之島、媒島、聳島鳥島および、父島列島の東島と巽島の計 5 島において計 13 台の屋外録音装置のデータを回収した。オガサワラヒメミズナギドリの音声は、聳島列島の聳島鳥島を除く他の 4 島で確認された。聳島列島での確認記録は初記録となり、本種の繁殖地が聳島列島～父島列島まで分布していることが判明した。飛来時期の盛期は 2 月～3 月頃となったが、その飛来期間は 11 月 17 日 (巽島) より 5 月 31 日 (北之島、媒島) と少なくとも半年間に渡ることが、新たに判明した (図 (5) -3)。記録環境は、在来植生であるオガサワラススキからなる草地、タコノキ等を含む乾性低木林などであったが、海蝕崖においても記録され、飛翔中の鳴き声についても録音されている可能性が考えられた。セグロミズナギドリの音声は、既知の営巣確認地である父島列島の東島のみに記録され、既知の繁殖地にとどまり¹⁾、改めてセグロミズナギドリの営巣地の分布域は、大変限られていることが再確認された。

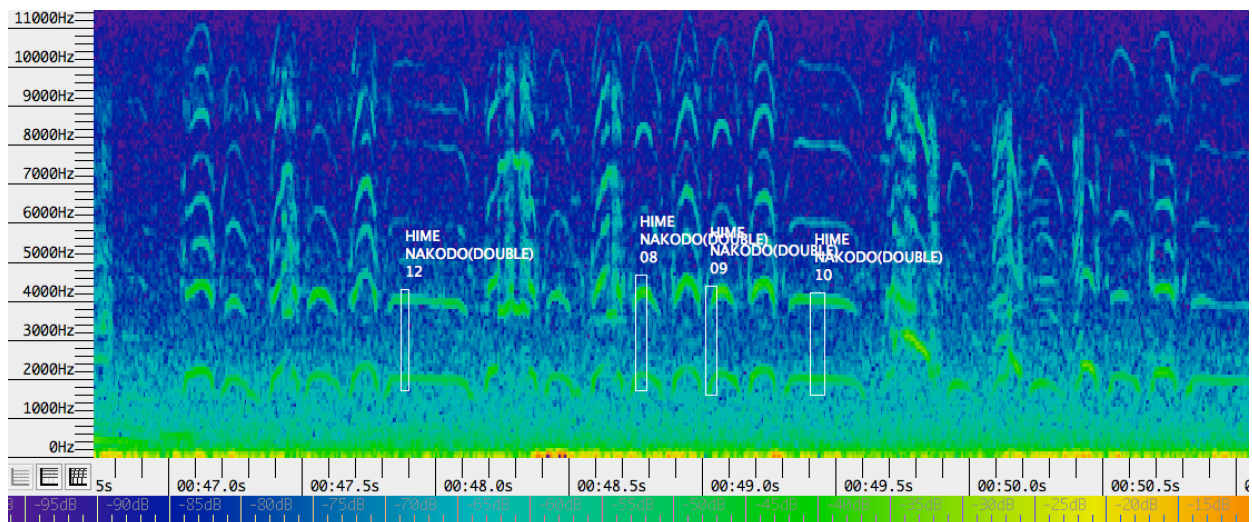


図 (5) -3 媒島で録音されたオガサワラヒメミズナギドリの鳴き声。

2016 年度は、母島列島の鰐島島、中鰐島島、小鰐島島におき計 6 台の屋外録音装置のデータ回収を

行った。この3島においては、既知のオーストンウミツバメの音声は記録されたが、オガサワラヒメミズナギドリおよびセグロミズナギドリの音声は確認されなかった。母島列島は、聳島列島や父島列島に比較して、営巣確認されている小型ミズナギドリ類の種数および繁殖している島数が大変限られている¹⁾。この原因は、母島列島の属島においては大型な外来ネズミ類であるドブネズミが属島に確認されており、父島列島や聳島列島の属島での定着種であるクマネズミに比べてより大きい被害影響を与えている可能性がある。これまで母島列島では外来ネズミ類の駆除事業は着手されておらず、駆除が専攻している父島列島や聳島列島と比べて、海鳥類にとって安全な営巣環境が回復に向かっている状況ではない。本調査を実施した母島列島の3属島は、母島列島のなかで唯一のオーストンウミツバメの営巣地であり、比較的安全な営巣環境が保たれていると考えられるが、絶滅危惧種のミズナギドリ類の営巣地としては利用されていないことが判明した。

3年間に渡る録音装置による海鳥類の営巣環境の探索調査より、小笠原諸島における絶滅危惧の小型海鳥類の生存環境が明らかになった(表(5) -1)。第一に、小型海鳥類の捕食者となる外来ネズミ類が不在な生息環境を整えること、第二に、営巣環境として在来植生の海岸植生(タコノキ群落、オガサワラススキ群落)の維持が必要である。これらの環境条件を満たすには、現在、着手されている外来ネズミ類の駆除と、海岸林からのギンネムやモクマオウ等の植生管理は、小笠原諸島の絶滅危惧の海鳥の域内保全対策として重要であることが示された。本調査で開発された録音装置を用いた海鳥類の営巣環境特性の把握手法は、アクセスの困難な無人島等において適用性の高いものと言える。

表(5) -1 野外音声録音機により判明した絶滅危惧の小型ミズナギドリ類の最新の生息分布状況と海鳥繁殖地の外来ネズミ類の生息状況。

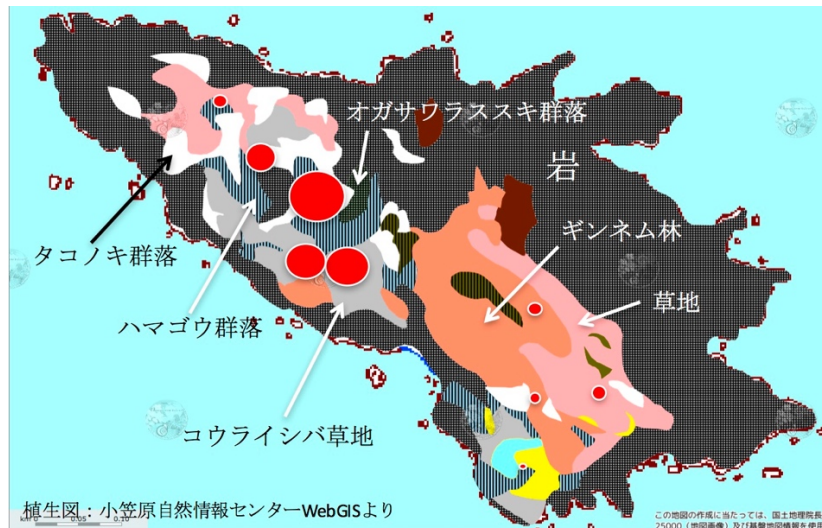
	オーストンウミツバメ (NT類)	セグロミズナギドリ (IB類)	オガサワラヒメミズナギドリ (IA類)	判明した飛来期間	外来ネズミ
聳島列島					
北之島	○	×	○	11月～5月	未侵入
聳島鳥島	○	×	×		駆除済み
媒島	×	×	○	12月～5月	ネズミ生息
父島列島					
東島	○	○	◎*	2月～4月	駆除済み
巽島	○	×	○	11月～4月	駆除済み
南島**	×	○	×		駆除後に低密度
母島列島					
鯉島島	○	×	×		ネズミ生息
中鯉島島	○	×	×		ネズミ生息
小鯉島島	○	×	×		ネズミ生息

*: 直接の営巣観察

**： 東京都調査結果

東島におけるオガサワラヒメミズナギドリの鳴き声の録音頻度と植生の関係を明らかにしたところ、外来植物ギンネムの低木林および草地が優占する島の南部においてはオガサワラヒメミズナギドリの生息密度が低いことが明らかになった(図(5) -4)。また、島の北部に分布するタコノキを中心とした低木林とコウライシバとオガサワラススキを中心とした草地が混在する環境においては、比較的密

度が高いことが明らかになった。この傾向は上陸調査において観察した結果と一致している。このため、本種は在来植生で構成された低木林と草地が混在する環境が本種の営巣環境として適していると考えられる。ただし、人間による攪乱を受ける前の本種の分布についてはまだ十分に分かっていないため、その他の環境も利用する可能性は否定できない。



図（5）－4 東島におけるオガサワラヒメミズナギドリ音声の録音頻度と植生の関係。
赤丸が録音機の設置場所で、円のサイズが録音頻度の多寡を示す。

セグロミズナギドリの小笠原集団の DNA を分析した結果、小笠原集団は *P. lherminieri* とは系統的に遠いことが明らかとなった。小笠原集団はハワイの *P. newelli*、ラパ島の *P. myrtae*、メキシコの *P. auricularis* と単系統群を形成することが明らかになった。これらの 3 種は最近の国際的な目録においてはそれぞれ別種とされることが多い。このため、小笠原集団についても *P. bannermani* として独立種とすることを検討する必要がある。この場合、小笠原集団の繁殖地は小笠原諸島内で見つからないため、小笠原における新たな固有繁殖種となり、保全上の優先度がこれまで以上に高まったと言える。

（2）食性解析のための糞 DNA 解析手法の開発

1) オナガミズナギドリを対象とした解析

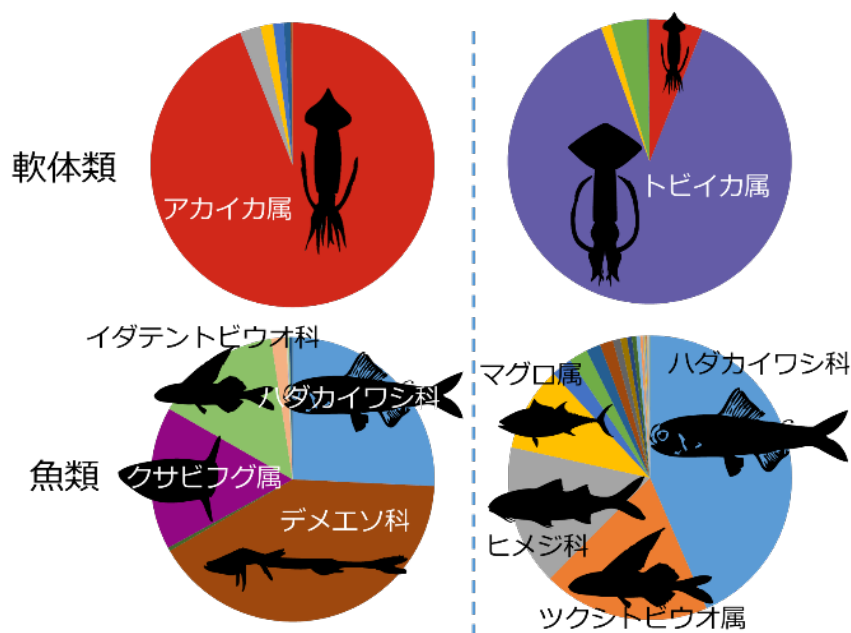
魚類を対象にするための 12S 領域が合計 125,040 リード、軟体動物を対象にするための 16S 領域が合計 28,235 リード得られた。12S において 41 の分類群が検出されたが、そのうち 10 の分類群は対象種自身の属、同じ島に生息する別の種の鳥、ネズミなどの陸生哺乳類やドジョウやケツギョなどのミズナギドリの採食生態から大きくかけ離れた分類群であった。これらは採集及び実験の際に混入した DNA 由来またはシーケンスエラーや PCR の際のキメラ配列由来の配列であると考えられる。これらを除いた 31 の分類群を食物由来であると考え、解析に使用した。

産卵期前の 12S 領域（魚類）において、*Scopelarchoides* (41%、デメエソ科) が最も大きな配列数の割合を占めており、これを含め配列数の割合が全体の 10% 以上の分類群は *Benthosema* (26%、ハダカイワシ科)、*Ranzania* (16%、マンボウ科クサビフグ属)、*Exocoetus* (14%、イダテントビウオ属) であ

った。これらの総計はリード数が全体の 97%を占めていた（図（5）－4 左下）。産卵期前の 16S 領域（軟体動物）において、*Ommastrephes*（94%、アカイカ科アカイカ属）がほとんどの割合を占めていた（図（5）－5 左上）。

育雛期中の 12S 領域（魚類）において、*Benthosema*（43%、ハダカイワシ科）が最も大きな配列数の割合を占めており、これを含め配列数の割合が全体の 10%以上の分類群は *Cheilopogon*（19%、ツクシトビウオ属）、*Mulloidichthys*（16%、ヒメジ科）、*Thunnus*（10%、マグロ属）であった。これらを合わせると配列数が全体の 88.1%を占めていた（図（5）－4 右下）。育雛期中の 16S 領域（軟体動物）において、*Sthenoteuthis*（88%、アカイカ科トビイカ属）がほとんどの割合を占めていた（図（5）－5 右上）。

なお、これらの分析結果はリード数の総計に基づいて算出しているが、リード数の割合は必ずしも本種の集団が採食している食物の個体数またはバイオマスの割合を直接的に表すものでない。このため、ここで示した割合は必ずしも直接食物の種構成を表さない可能性があるため、今後の手法の発展が期待される。



図（5）－5 オナガミズナギドリの食性解析結果。

16S（軟体類）と 12S（魚類）をターゲット領域として得られた食物の配列割合。2015 年 5 月の産卵期（左）、2015 年 9 月の育雛期（右）。

食物由来と考えられる分類群のうち、特に多く検出された分類群である、*Benthosema* や *Scopelarchoides* は中深層性遊泳魚である²¹⁾。深海魚を採食しているのは以下 3 つの理由が考えられる。

a. 漁船による雑魚の海洋投棄を採食しているから、b. 海洋を浮遊している稚魚や魚卵を採食しているから（産卵期前と育雛期中でこの 2 種の出現頻度に差があるのは、魚の生活史を反映している可能性がある）、c. 夜間に採食を行っているから（これら中深層性遊泳魚の多くは日中 200 m 以深に生息し

ているが、夜間になると表層付近まで上昇する、日周鉛直移動を行うため²¹⁾。特に、同じミズナギドリ科であるアナドリで夜間に中深層遊泳性の食物を食べている報告があるように、オナガミズナギドリでも同様に夜間における採食行動をとっている可能性は十分にある²²⁾。また、*Ommastrephes* と *Sthenoteuthis* は日周鉛直移動を行うことが知られており、中深層性遊泳魚同様夜間採食の可能性が示唆された^{23,24)}。ただし、これらの分析結果の中には、鳥類が直接捕食した魚だけではなく、捕食した魚の消化管内に含まれていた個体を二次的に検出している可能性も否定できない。今後、手法を改善することにより、検知精度を上げていく必要がある。

さらに、12S において産卵期前は *Ranzania* や *Exocoetus*、育雛期は *Cheilopogon* や *Mulloidichthys* などが多く検出され、食物構成が時期によって異なっていた。また、16S において産卵期前は *Ommastrephes*、育雛期は *Sthenoteuthis* がほとんどの割合を占め、時期によって優占分類群が変化した。このことから、繁殖期の段階によってヒナの栄養欲求の変化、もしくは餌資源バイオマスの季節変動などが影響し、食物が変化している可能性が考えられる。

2) セグロミズナギドリを対象とした解析

父島列島東島で採取した糞の落とし主の種判別を行った結果、産卵期中（2016 年 5 月）に採取された糞は 50 サンプル中 43 サンプル、巣立ち期（2016 年 9 月）に採取された糞は 44 サンプル中 27 サンプルがセグロミズナギドリの糞と同定された。食性解析はセグロミズナギドリと同定された糞のみを使用し、食物と考えられる配列が 12S 領域（魚類）において 8,523 リード得られた。産卵期中と巣立ち期のどちらか、もしくは両方から検出された食物由来の可能性が高い分類群は 12S 領域（魚類）において 15 分類群であった。12S 領域（魚類）において、トビウオ科が産卵期前では食物全体の約 49%、育雛期中では約 62%と、両時期共に高い割合で検出された（図（5）－6）。2015 年度の中型のミズナギドリ類であるオナガミズナギドリと比較すると、セグロミズナギドリではハダカイワシ科やデメエソ科などの中深層性遊泳魚はほとんど検出されなかった。セグロミズナギドリの潜水深度は不明だが、オナガミズナギドリでは最大潜水深度 66 m という報告もあり²⁵⁾、オナガミズナギドリは深層の魚を狙った採食行動を行っている可能性がある。同じミズナギドリ科でも利用魚種が大幅に異なり、セグロミズナギドリにおいては表層遊泳種が重要な食物資源であることが示唆された。なお、軟体動物を対象にするための 16S 領域の分析では、産卵期前と育雛期中のどちらの時期のサンプルセットでもほとんど PCR 増幅されず、現時点では軟体動物は主な食物資源ではないことが伺えた。

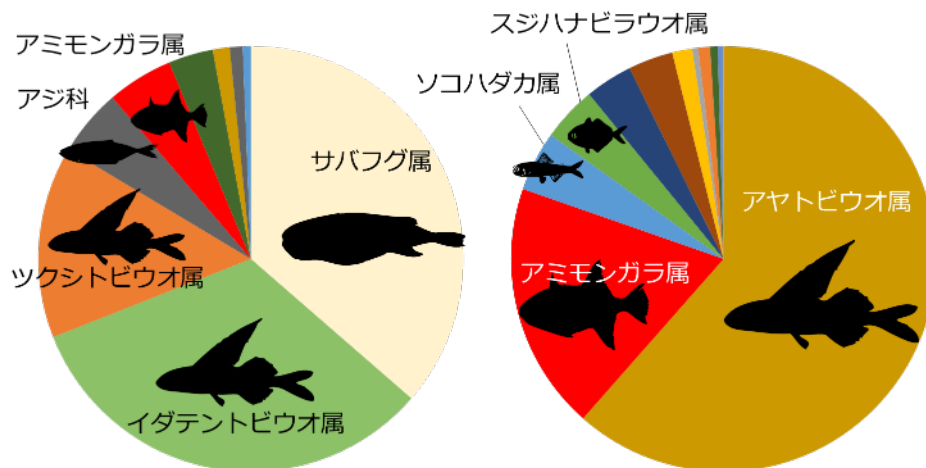


図 (5) -6 セグロミズナギドリの食性解析結果。

12S (魚類) をターゲット領域として得られた食物の配列割合。2016 年 5 月の産卵期 (左)、2016 年 9 月の巣立ち期 (右)。

絶滅危惧種の飼育技術を確立する際に、小笠原諸島に生息するセグロミズナギドリの場合では、その最多に検出したトビウオ類が主要な食物として挙げられる。トビウオ類の五訂日本標準成分表による栄養分量は 100 g 換算で 96 kcal、水分 76.9 g、タンパク質が 21.0 g、脂質が 0.7 g、炭水化物が 0.1 g であり、ビタミン・ミネラル類ではビタミン E (2.3 mg) とナイアシン (7.1 mg) の成分が高値となっている。本研究でも判明したようにミズナギドリ種により食物構成に違いがあり、セグロミズナギドリの試験餌料の候補としては、トビウオ類で示される高タンパクで低脂質な栄養特性の魚種が適していると考えられる。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

2011 年に新種として記載されたばかりで繁殖地がこれまでに見つかっていなかったオガサワラヒメミズナギドリの繁殖地を世界で初めて発見した。音声録音機を使用した探索手法により、絶滅危惧の小型海鳥種の必要な営巣環境として、外来ネズミ類と外来植生の管理が重要であることが示された。これまで亜種とされていたセグロミズナギドリの系統を生化学的手法により初めて明らかにしたことは、分類学上の重要な知見である。

小笠原諸島で繁殖する優占種の海鳥であるオナガミズナギドリと固有性が高く希少種であるセグロミズナギドリの繁殖期における食物構成が明らかとなった。さらに、オナガミズナギドリの夜間採食の可能性や繁殖海域・繁殖時期が重複するミズナギドリ 2 種のニッチ分割の可能性が示唆されたなど、糞の DNA メタバーコーディングによって観察の難しい生態情報の推測にもつながることが示された。絶滅危惧種セグロミズナギドリの食物利用は、同じミズナギドリ科でも利用魚種が大幅に異なり、人工飼育の餌候補としてはトビウオ類など高タンパク低脂質の魚種が挙げられた。さらに、今回開発された DNA を利用した食性分析法は他種にも適用可能であり、今後の生態研究の発展に資すると考えられる。

（２）環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

環境省による世界自然遺産科学委員会下部の管理計画アクションプラン改定ワーキングおよび、林野庁による小笠原諸島森林生態系保全管理委員会および小笠原諸島固有森林生態系修復事業検討委員会等において、希少海鳥類の生息分布情報を提供し、生態系管理事業への成果還元を行った。

<行政が活用することが見込まれる成果>

現行のオガサワラヒメミズナギドリの分布域が判明したことで、これら属島におけるクマネズミ類の侵入警戒のモニタリングや、新規駆除事業を開始する判断根拠として利用される。また、オガサワラヒメミズナギドリが利用する営巣環境が明らかになったため、今後の植生管理の目標となる。セグロミズナギドリの分類学上の地位が示されたことは、今後の保全上の重要性を考える上で基礎資料となる。

糞の DNA メタバーコーディングという非侵襲的な手法で絶滅危惧海鳥の食性を解明することが可能であることが明らかとなったため、今後絶滅危惧 IA 類であるオガサワラヒメミズナギドリをはじめとした他の希少海鳥の食性を把握し、域外保全技術確立に応用できる可能性を示した。

6. 国際共同研究等の状況

Peter Pyle (The Institute for Bird Populations, CA, USA) と Matthew McKown (Ecology and Evolutionary Biology, University of California, Santa Cruz, CA, USA) との共同研究により、小笠原及びハワイ諸島において音声録音によるオガサワラヒメミズナギドリの分布調査を進めている。本サブテーマにより、小笠原諸島における詳細な分布と繁殖状況が明らかになり、さらに世界で初めての営巣確認がされたことで、国際共同研究の発展とともに、世界自然保護連合のレッドリストにおける評価に貢献している。

7. 研究成果の発表状況

（１）誌上発表

<論文（査読あり）>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) K. KAWAKAMI and K. HORIKOSHI: DIWPA News Letter, 34, 7-8 (2016), The discovery of the Bryan's Shearwater in the Bonin Islands.

（２）口頭発表（学会等）

- 1) K. KAWAKAMI, K. HORIKOSHI, H. SUZUKI, M. MCKOWN and P. PYLE: The 1st International Conference on Island Evolution, Ecology and Conservation: Island Biology 2014 (2014) The recent evidence on the distribution of the seriously threatened Bryan's shearwater in the Bonin Islands, subtropical Japan.
- 2) K. KAWAKAMI, K. HORIKOSHI, H. SUZUKI, M. MCKOWN and P. PYLE: 26th International Ornithological Congress (2014) Detection of breeding sites of the Bryan's shearwater in the Bonin Islands,

subtropical Japan.

- 3) 小村健人、安藤温子、堀越和夫、鈴木創、井鷲裕司：日本生態学会第 63 回大会（2016）小笠原の海鳥は何を食べている？－糞の DNA バーコーディングで探るその素顔－.
- 4) T. KOMURA, H. ANDO, K. HORIKOSHI, H. SUZUKI and Y. ISAGI: 6th International Albatross and Petrel Conference (2016) Diet analysis of wedge-tailed shearwaters by DNA metabarcoding of feces in the Ogasawara Islands, an UNESCO Natural World Heritage Site.
- 5) 小村健人、安藤温子、堀越和夫、鈴木創、井鷲裕司：日本生態学会第 64 回大会（2017）繁殖海域を共有する海鳥は餌資源を分け合っているのか？－糞の DNA から探る採食戦略－.
- 6) 小村健人、安藤温子、堀越和夫、鈴木創、井鷲裕司：日本生態学会第 64 回大会自由集会 DNA スカトロロジー－DNA メタバーコーディングがもたらす新たな採食生態研究－（2017）深海から森へ－森林性海鳥の深海魚依存性－.
- 7) K. HORIKOSHI, H. SUZUKI, H. CHIBA and K. KAWAKAMI: Pacific Seabird Group 44th Annual Meeting (2017) Status of endangered Bryan's shearwaters and management of bird breeding islands in the Ogasawara Islands, Japan.

（３）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 公開講演会「うみどり代わる変わる」（2015 年 2 月 24 日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者 80 名）
- 2) ついに発見！オガサワラヒメミズナギドリ！生き残っていたまぼろしの海鳥（2015 年 4 月 2 日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者 70 名）
- 3) ついに発見！オガサワラヒメミズナギドリ！生き残っていたまぼろしの海鳥（2015 年 4 月 5 日、小笠原村役場母島支所大広間、参加者 30 名）
- 4) ついに発見！オガサワラヒメミズナギドリ！生き残っていたまぼろしの海鳥（2015 年 4 月 6 日、小笠原村役場扇浦交流センター、参加者 30 名）
- 5) ついに発見！オガサワラヒメミズナギドリの営巣地―謎の希少鳥類は、小笠原の国有林に生き残っていた―（2015 年 4 月 17 日・18 日全 4 回、森林総合研究所、参加者合計 107 名）
- 6) 西之島 vs 鳥類 小笠原最大の戦い（2016 年 12 月 13 日、東京都小笠原村父島ビジターセンター、参加者 90 名）
- 7) 西之島噴火始末記（2017 年 2 月 11 日、東京都八丈島ビジターセンター、参加者 60 名）
- 8) 西之島 vs 鳥類 小笠原最大の戦い（2017 年 2 月 25 日、東京都小笠原村母島村民会館、参加者 30 名）

（５）マスコミ等への公表・報道等

- 1) サブテーマ 5 の成果の記者発表（2015 年 3 月 24 日、於森林総合研究所、
<https://www.ffpri.affrc.go.jp/press/2015/20150324/index.html>）
ついに発見！オガサワラヒメミズナギドリの営巣地―謎の希少鳥類は、小笠原の国有林に生き残

っていた—.

- 2) NHK ニュース (2015 年 3 月 25 日、サブテーマ 5 の成果について 1 分ほど紹介、
<http://www3.nhk.or.jp/news/html/20150325/k10010026971000.html>)
- 3) 東京新聞 (2015 年 3 月 25 日、p2)
- 4) 読売新聞 (2015 年 3 月 25 日、地域版、p33)
- 5) 毎日新聞 (2015 年 3 月 25 日、p30)
- 6) 朝日新聞 (2015 年 3 月 25 日、p37)
- 7) 茨城新聞 (2015 年 3 月 25 日、p23)
- 8) 日本農業新聞 (2015 年 3 月 25 日、p13)
- 9) 日本経済新聞 (2015 年 3 月 25 日、夕刊、p16)
- 10) 朝日小学生新聞 (2015 年 3 月 26 日、p1)
- 11) 産経新聞 (2015 年 3 月 26 日、p27)
- 12) ライフスケープ vol.2 (2015 年 5 月 21 日、ブティック社、p19「幻の鳥の巣の発見」)
- 13) しんぶん赤旗 (2015 年 5 月 25 日、全国版、科学面)
- 14) 中部経済新聞 (2015 年 6 月 9 日、p15)
- 15) 中部経済新聞 (2015 年 6 月 10 日、p15)
- 16) 大分合同新聞 (2015 年 6 月 15 日、夕刊、p11)
- 17) 静岡新聞 (2015 年 6 月 22 日、特集面、p5)
- 18) 大分合同新聞 (2015 年 6 月 22 日、夕刊、p9)
- 19) 静岡新聞 (2015 年 6 月 29 日、特集面、p5)
- 20) 山陽新聞 (2015 年 7 月 21 日、文化面、p8)
- 21) 岐阜新聞 (2015 年 7 月 23 日、夕刊、p3)
- 22) 神戸新聞 (2015 年 7 月 25 日、特集面、p7)
- 23) 熊本日々新聞 (2015 年 7 月 29 日、文化生活面、p11)
- 24) 岐阜新聞 (2015 年 7 月 30 日、夕刊、p3)
- 25) 神戸新聞 (2015 年 8 月 1 日、暮らし面、p20)
- 26) 山陽新聞 (2015 年 8 月 4 日、文化面、p17)
- 27) 熊本日々新聞 (2015 年 8 月 5 日、文化生活面、p23)

(6) その他

- 1) 川上和人：新潮 45、282-285 (2016) 鳥類学者の優雅で過酷な日々《20》オガサワラヒメミズナギドリ懺悔録.
- 2) 川上和人：レッドデータブック東京 2014 [東京都環境局 (編)]、pp328-340 (2014) 鳥類 小笠原諸島.
- 3) 川上和人：レッドデータブック 2014 vol2 [環境省 (編)]、pp28-29, 76-77 (2014) 鳥類 (オガサワラヒメミズナギドリ、セグロミズナギドリ).

8. 引用文献

- 1) H. CHIBA, K. KAWAKAMI, H. SUZUKI and K. HORIKOSHI: J. Yamashina Inst. Ornithol., 39, 1-17 (2007), The Distribution of Seabirds in the Bonin Islands, Southern Japan.
- 2) K. KAWAKAMI, M. EDA, K. HORIKOSHI, H. SUZUKI, H. CHIBA and T. HIRAOKA: Condor, 114, 507-512 (2012), Bryan's shearwaters have survived on the Bonin Islands, northwestern Pacific.
- 3) J. P. CROXALL, S. H. M. BUTCHART, B. LASCELLES, A. J. STATTERSFIELD, B. SULLIVAN, A. SYMES and P. TAYLOE: Bird Conserv. Int., 22, 1-34 (2012), Seabird conservation status, threats and priority actions: a global assessment.
- 4) P. PYLE, A. J. WELCH and A. J. FLEISCHER: Condor, 113, 518-527 (2011), A new species of shearwater (*Puffinus*) recorded from Midway Atoll, Northwestern Hawaiian Islands.
- 5) K. A. WITZENBERGER and A. HOCHKIRCH: Biodivers. Conserv., 20, 1843-1861 (2011), Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species.
- 6) B. E. DEAGLE, N. J. GALES, K. EVANS, S. N. JARMAN, S. ROBINSON, R. TREBILCO, M. A. HINDELL: PLoS One, 2, e831 (2007), Studying seabird diet through genetic analysis of faeces: a case study on macaroni penguins (*Eudyptes chrysolophus*).
- 7) R. T. BARRETT, K. C. CAMPHUYSEN, T. ANKER-NILSSEN, J. W. CHARDINE, R. W. FURNESS, S. GARTHE and R. R. VEIT: ICES J. Mar. Sci., 64, 1675-1691 (2007), Diet studies of seabirds: a review and recommendations.
- 8) A. VALENTINI, C. MIQUEL, M. A. NAWAZ, E. BELLEMAIN, E. COISSAC, F. POMPANON and J. E. SWENSON: Mol. Ecol. Resour., 9, 51-60 (2009), New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the *trnL* approach.
- 9) S. SHOKRALLA, J. L. SPALL, J. F. GIBSON and M. HAJIBABAEI: Mol. Ecol., 21, 1794-1805 (2012), Next- generation sequencing technologies for environmental DNA research.
- 10) W. J. KRESS, C. GARCIA-ROBLEDO, M. URIARTE and D. L. ERICKSON: Trends Ecol. Evol., 30, 25-35 (2015), DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation.
- 11) S. N. JARMAN, J. C. MCINNES, C. FAUX, A. M. POLANOWSKI, J. MARTHICK, B. E. DEAGLE and L. EMMERSON: PLoS One, 8, e82227 (2013), Adélie penguin population diet monitoring by analysis of food DNA in scats.
- 12) K. J. PETERS, K. OPHELKELLER, N. J. BOTT, B. E. DRAGLE, S. N. JARMAN and S. D. GOLDSWORTHY: Mar. Ecol., 36, 347-367 (2015), Fine- scale diet of the Australian sea lion (*Neophoca cinerea*) using DNA- based analysis of faeces.
- 13) J. NAVARRO, M. LOUZAO, J. M. IGUAL, D. ORO, A. DELGADO, J. M. ARCOS and M. G. FORERO: Mar. Biol., 156, 2571-2578 (2009), Seasonal changes in the diet of a critically endangered seabird and the importance of trawling discards.
- 14) T. RIAZ, W. SHEHZAD, A. VIARI, F. POMPANON, P. TABERLET and E. COISSAC: Nucleic Acids Res., 39, e145 (2011), ecoPrimers: inference of new DNA barcode markers from whole genome sequence analysis.

- 15) W. SHEHZAD, T. RIAZ, M. A. NAWAZ, C. MIQUEL, C. PPOLLOT, S. A. SHAH and P. TABERLET: Mol. Ecol., 21, 1951-1965 (2012), Carnivore diet analysis based on next- generation sequencing: application to the leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) in Pakistan.
- 16) A. S. TANABE and H. TOJU: PLoS One, 8, e76910 (2013), Two new computational methods for universal DNA barcoding: a benchmark using barcode sequences of bacteria, archaea, animals, fungi, and land plants.
- 17) A. CONESA, S. GOTZ, J. M. GARCIA-GOMEZ, J. TEROL, M. TALON and M. ROBLES: Bioinform., 21, 3674-3676 (2005), Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research.
- 18) S. C. CONNELL, R. O'RORKE, A. G. JEFFS and S. D. LAVERY: N. Z. J. Mar. Freshwater Res., 48, 416-429 (2014), DNA identification of the phyllosoma diet of *Jasus edwardsii* and *Scyllarus* sp. Z.
- 19) 堀越和夫、鈴木創、佐々木哲朗、千葉勇人：地球環境，14, 103-105（2009），外来哺乳類による海鳥類への被害状況.
- 20) K. KAWAKAMI, K. HORIKOSHI, H. SUZUKI and T. SASAKI (2010), Impacts of predation by the invasive Black Rat *Rattus rattus* on the Bulwer's Petrel *Bulweria bulwerii* in the Bonin Islands, Japan. In: K. KAWAKAMI and I. OKOCHI (eds) Restoring the oceanic island ecosystem. Springer, Tokyo, pp51-55.
- 21) T. NAKABO (2013) Fishes of Japan with pictorial key to the species. Third edition (1). Tokai University Press, Kanagawa, Japan.
- 22) V. C. NEVES, D. NOLF and M. R. CLARKE: Waterbirds, 34, 357-362 (2011), Diet of Bulwer's petrel (*Bulweria bulwerii*) in the Azores, NE Atlantic.
- 23) R. SNYDER: J. Molluscan Stud., 64, 21-34 (1998), Aspects of the biology of the giant form of *Sthenoteuthis oualaniensis* Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Arabian Sea.
- 24) H. WATANABE, T. KUBODERA, T. ICHII and S. KAWAHARA: Mar. Ecol. Prog. Ser., 266, 173-184 (2004), Feeding habits of neon flying squid *Ommastrephes bartramii* in the transitional region of the central North Pacific.
- 25) A. E. BURGER: Auk, 118, 755-759 (2001), Diving depths of shearwaters.

Integrated Approach of In-situ and Ex-situ Conservation of Threatened Species in the Ogasawara Islands

Principal Investigator: Kazuto KAWAKAMI

Institution: Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI)
 1 Matsunosato, Tsukuba, Ibaraki 305-8687, JAPAN
 Tel: +81-29-829-8257 / Fax: +81-29-873-1543
 E-mail: kazzto@ffpri.affrc.go.jp

Cooperated by: Tokyo Metropolitan University, Kanagawa Prefectural Museum of Natural History, Tohoku University, Institute of Boninology

[Abstract]

The Ogasawara (Bonin) Islands were designated as a Natural World Heritage Site in 2011 due to its natural values, including serving as an outstanding example of on-going biological processes leading to species diversification. In recent years, successful eradication programs have reduced the numbers of invasive alien species, such as feral goats. However, this success has led to some unexpected consequences, where rapid environmental changes following eradication programs have further jeopardized the survival of endemic endangered species on the islands. Therefore, appropriate habitat management and conservation intervention in accordance with individual species' needs are required.

To restore degraded habitats for endangered species, we developed proper planting methods that consider the genetic variation of eight key native plant species that were essential for the conservation of threatened animals, such as Japanese wood-pigeons and Bonin flying-foxes. To minimize disturbances of natural habitats, it was necessary to minimize the revegetation areas as well. The current study showed that regeneration of native plants is unfavorable in areas on northern and/or steep slopes; planting should be conducted accordingly.

In addition, we developed in-situ and ex-situ conservation techniques for endangered endemic species. Microsatellite markers for *Psychotria homalosperma* and *Gynochthodes boninensis* were developed and the pollen flow of the former was clarified. The invasive European honeybees and Green Anoles were considered to be the main threats for these plants and they should be controlled in the wet woodlands that provide a stable environment for the growth of seedlings. For the conservation of *Cicindela bonina*, a habitat restoration method was established to eradicate alien plants. Field experiments were conducted using artificial ponds for endemic dragonfly larvae, and were successful in restoring the dragonfly community. We also developed captive breeding methods for *Boninoxia anijimensis* and land snails, and established re-introduction procedures for *Mandarina* land snails. With regard to micro-land snails, such as *Ogasawarana* and *Hirasea*, divergence patterns were clarified in order to determine their conservation units. We found a breeding nest of the seriously-

threatened Bryan's Shearwaters for the first time and detected its distribution on four small satellite islands. We succeeded in metagenomic analysis of the feces of the Bannerman's shearwater, and clarified its natural diet.

These results will help to protect the natural value of the Ogasawara Islands as a Natural World Heritage Site well into the future.

Key Words: Ex-situ conservation, In-situ conservation, Genetic disturbance, Invasive alien species, Re-introduction, Revegetation, Habitat, Endangered species