

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

希少植物・絶滅危惧植物の持続可能な域外保全ネットワークの構築
(4-1403)

平成26年度～平成28年度

Development of a Sustainable Network to Support Genetic Diversity in Rare
and Endangered Japanese Plant Species through Ex-situ Conservation

京都大学

東京大学

千葉大学

〈研究協力機関〉

横浜国立大学

京都府立植物園

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

希少植物・絶滅危惧植物の持続可能な域外保全ネットワークの構築

(4-1403)

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) 域外保全ネットワークによる野生集団および域外保全株の維持管理、 野生復帰の実践と評価（京都大学）	・ ・ ・ ・ ・	1
要旨	・ ・ ・ ・ ・	1
1. はじめに	・ ・ ・ ・ ・	2
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	・ ・ ・ ・ ・	51
6. 国際共同研究等の状況	・ ・ ・ ・ ・	52
7. 研究成果の発表状況	・ ・ ・ ・ ・	52
8. 引用文献	・ ・ ・ ・ ・	65
(2) 全種子植物に対応できる汎用遺伝マーカーの開発 （千葉大学）	・ ・ ・ ・ ・	66
要旨	・ ・ ・ ・ ・	66
1. はじめに	・ ・ ・ ・ ・	66
2. 研究開発目的	・ ・ ・ ・ ・	67
3. 研究開発方法	・ ・ ・ ・ ・	67
4. 結果及び考察	・ ・ ・ ・ ・	69
5. 本研究により得られた成果	・ ・ ・ ・ ・	74
6. 国際共同研究等の状況	・ ・ ・ ・ ・	74
7. 研究成果の発表状況	・ ・ ・ ・ ・	74
8. 引用文献	・ ・ ・ ・ ・	76
(3) トレーサビリティを担保した生物情報管理システムの構築 （東京大学）	・ ・ ・ ・ ・	77
要旨	・ ・ ・ ・ ・	77
1. はじめに	・ ・ ・ ・ ・	77
2. 研究開発目的	・ ・ ・ ・ ・	77
3. 研究開発方法	・ ・ ・ ・ ・	77
4. 結果及び考察	・ ・ ・ ・ ・	78
5. 本研究により得られた成果	・ ・ ・ ・ ・	88
6. 国際共同研究等の状況	・ ・ ・ ・ ・	88
7. 研究成果の発表状況	・ ・ ・ ・ ・	88
8. 引用文献	・ ・ ・ ・ ・	90
III. 英文Abstract	・ ・ ・ ・ ・	91

課題名 4-1403 希少植物・絶滅危惧植物の持続可能な域外保全ネットワークの構築
 課題代表者名 瀬戸口 浩彰 (京都大学大学院人間・環境学研究科 相関環境学専攻 自然環境動態論講座 教授)
 研究実施期間 平成26～28年度
 累計予算額 平成26～28年度累計予算額 144,325千円 (うち平成28年度: 45,663千円)
 予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード 域外保全、絶滅危惧種、希少種、遺伝解析、データベース、情報共有、ネットワーク、地域住民参加

研究体制

- (1) 域外保全ネットワークによる野生集団および域外保全株の維持管理、野生復帰の実践と評価 (京都大学)
- (2) 全種子植物に対応できる汎用遺伝マーカーの開発 (千葉大学)
- (3) トレーサビリティを担保した生物情報管理システムの構築 (東京大学)

研究協力機関

横浜国立大学
 京都府立植物園

研究概要

1. はじめに (研究背景等)

自生地の環境破壊や人による乱獲等の理由で絶滅の危機に瀕している植物として、環境省の第四次レッドリストに掲載されている維管束植物は1080種に及ぶ。こうした絶滅危惧種・希少種の持続的な維持・保全には、自生地集団の保護だけでなく、挿し木や種子の採集を行って設備の整った別の場所において栽培維持管理を行う「域外保全」が有効である。我が国の野生植物をとり巻く状況、すなわち獣害や外来種との競合等を鑑みると、域外保全の必要性は今後ますます高くなると予測される。

その一方で、日本全国の植物園や農林業試験場、自生地近くの民家などには、こうした希少植物がストックされている事例が多くある。したがって、その収集によって域外保全株の増殖が可能である。しかし、現在の植物園で維持された植物には、個体の由来産地や育成の履歴情報などが欠落していることが多く、保全に用いることを困難にしている。これは管理情報が育成担当者に属人化しており、人事異動などの機会に失われやすいことに拠る。さらに、個体別の遺伝情報が得られていないことが多いために、希少動物で行われているような遺伝的類縁度を考慮した動物園間の交配増殖に類似した施策は行われていない。植物における域外保全や野生復帰は、かつては遺伝的多様性への考慮が少ない「苗の数を増やす」ことに注力したものが主流であったと言わざるを得ず、ボトルネック効果によって遺伝的多様性を低下させて、将来に繁殖力が弱まるリスクもある。これは域外保全や野生復帰の集団を形成した際に、定植したが実生による更新が進まないなどの事態を招きかねない。

本研究はこうした状況を改善するために、希少種の域外保全株の増殖を進め、個体情報を統合するデータベースを構築することにした。個体毎にQRコードのタグを付けて「由来」や「育成分譲履歴」を対応させて、これらの情報のトレーサビリティを担保する。さらに個体毎に多型が検出し易いDNA解析を行って「由来産地」や「遺伝子型」を特定し、これも情報に付加していく。行政や植物園、大学などの研究機関などで横断的に形成した「域外保全株ネットワーク」のなかで、このデータベースを利用することによって個体や集団の管理を徹底した。これによって、絶滅危惧植物が遺伝的多様性の維持と野生復帰を行うための科学的基盤を形成した。域外保全と野生復帰の実践と評価も行った: 6種の絶滅危惧植物を対象にして、遺伝的多様性を最大化した集団の形成方法を確立した。実践には自生地の地元の小中学校や地域社会と大学、植物園が連携することにより「地域社会に委ねた」持続可能な保全体制を目指した。域外保全ネットワークの全体像を図1に、本研究課題を構成する3つのサブテーマの相互関係を図2に示す。

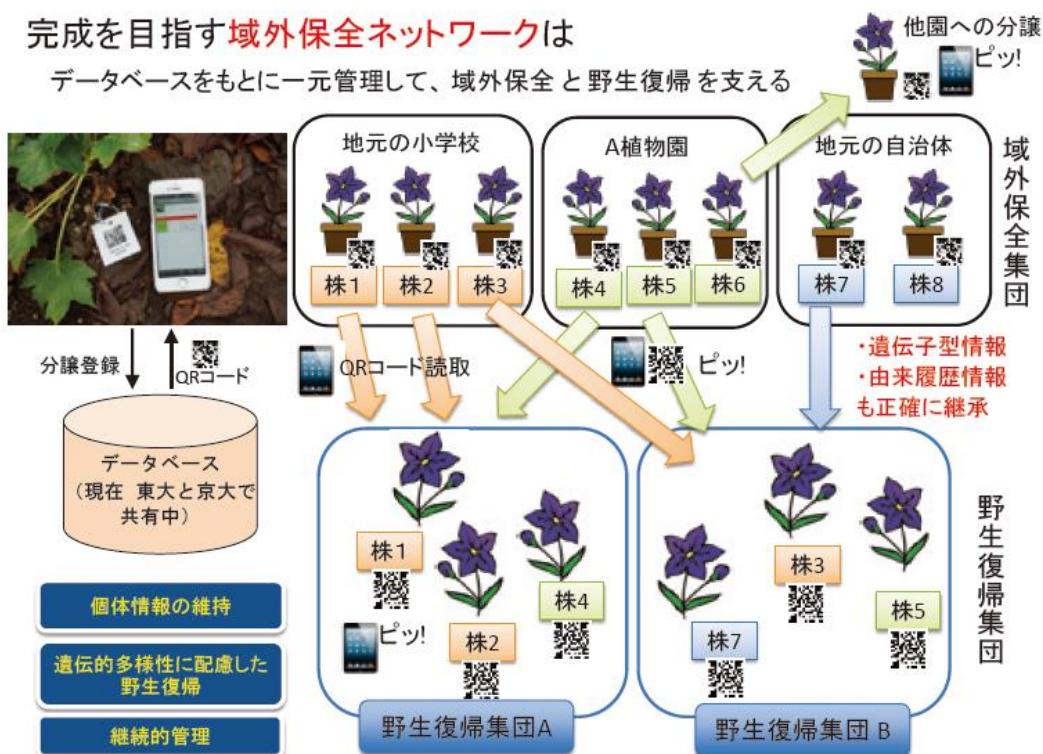


図1. 本研究課題が目指した域外保全ネットワークの概要

個体毎にDNA解析をするので、個体情報には遺伝情報、由来産地、分譲履歴等の情報を含む。個体情報はQRコードで管理するので、増殖や分譲を繰り返しても栽培の現場でさえ履歴をたどることが可能である。

希少植物・絶滅危惧植物の持続可能な域外保全ネットワークの構築

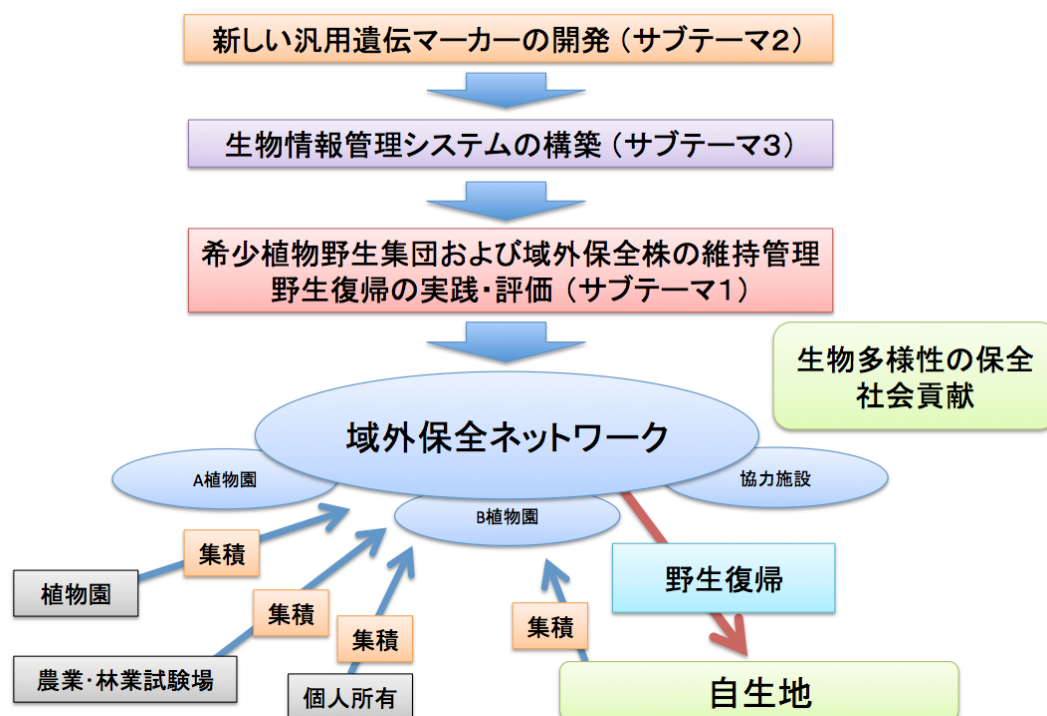


図2. 本研究課題の構成と生物多様性保全への貢献の内容

2. 研究開発目的

本研究では、絶滅危惧植物・希少植物種をDNAマーカーなどで個体識別し、由来や栽培履歴などの情報とともにデータベースで維持管理し、現物の植物にはQRコードのタグを取り付けてユビキタス管理が可能な生物情報管理システムを開発する。これによって個々の絶滅危惧種の個体情報が、行政や植物園などの機関を横断して共有情報として継承され、域外保全や野生復帰に用いることが出来るようになる。DNA解析にあたっては、汎用遺伝マーカーの開発も進めて、個体別遺伝情報の取得を簡素化することも目指す。

また、優れた域外保全集団を形成する技術手法の開発を目的とする。すなわち、域外保全集団を形成するに当たっては、集団サイズに応じて遺伝的多様性を最大に、近交係数をゼロに近づけた「遺伝的質」を重要視する。これによって、域外保全集団や野生復帰集団が、自らの実生形成によって世代更新させることを目指す。

さらに域外保全集団の作成を研究機関や植物園だけでなく、地域住民も参加した保全体制作りを試行する。生育地の地元教育機関や行政機関、町民組織に域外保全集団の維持や育成を徐々に委譲して、最終的には地域の植物は地域で守るという「持続可能な」域外保全集団づくりを推進するしくみを構築する。具体的に対象とする植物はアマミアセビ、オオキンレイカ、キブネダイオウ、チチブイワザクラ、ジョウロウホトトギス、チタカンアオイの6種である。本研究課題は環境省の推薦課題でもあるため、シンポジウムや講演会、小冊子の配布などを通して、国民への幅広い普及啓発活動を推進する。

3. 研究開発の方法

(1) 域外保全ネットワークによる野生集団および域外保全株の維持管理、野生復帰の実践と評価

1. 種苗と葉の収集

本課題は環境省自然保護局野生生物課の推薦課題であるため、検討のうえで6種の絶滅危惧種・希少種（アマミアセビ、オオキンレイカ、チチブイワザクラ、ジョウロウホトトギス、チタカンアオイ、キブネダイオウ）を研究対象に設定した。野生集団を現地調査して野生集団の葉を採取し、後述のDNA解析に用いると共に、種子や挿し木増殖用の枝を採取した。また、国内の植物園や林業試験所、山捕り品を扱う山野草販売業者、自生地近辺の民家からも同様に、葉と種子、枝の譲渡を受けた。採取にあたりすべて、個体別に種子などを管理して増殖や解析に用いた。

2. 種苗の増殖と里親制度を用いた育成

京都府立植物園にて種苗の増殖と育成を行った。全ての個体にはQRコードを与えて、データベース上で管理した。さらに、各自生地の地域において里親制度を築いて種苗の育成を続けた。

3. マイクロサテライトマーカーによる遺伝情報の取得分析

葉からDNAを抽出し、マイクロサテライトマーカーを用いて個体別の遺伝情報を取得した。

4. 遺伝子型と遺伝的多様性、集団遺伝構造の解析

集団遺伝学のパラメータは、GENALEX version 6.5、FSTAT version 2.9.3を用いて算出した。遺伝構造の解析には、STRUCTURE 2.3 でBayesian clusteringを行なった。

5. 域外保全集団と野生復帰集団の作成

上記4の結果に基づいて、里親によって育成されている種苗群の中から、遺伝的な多様性を最大、かつ固定指数をゼロに近づける（近親交配を防ぐことが出来る）ように、域外保全集団と野生復帰集団のデザインを行った。

6. 生物情報管理システムの試行

日本植物園協会と協力して、京都府立植物園より他の植物園への植物個体の譲渡を行った。QRコードタグを介したシステムの維持管理や情報入手、情報更新など実務面での仕様を検証し、サブテーマ（3）担当者に随時フィードバックを行った。

(2) 全種子植物に対応できる汎用遺伝マーカーの開発

被子植物の主要系統である単子葉類、バラ類、キク類よりラン科、キク科、バラ科を対象として選択した。これらの3科は、①1科に含まれる種数が多い、②絶滅危惧種数が多い、③観賞・食用利用されるなどの有用植物を多く含む特徴を有している。キク科、バラ科、ラン科のFT配列を遺伝子配列データベースNCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) より取得し、それぞれの科についてエキソン配列のアライメントをアミノ酸配列・塩基配列の双方で行い高保存性部位を特定した。そのアライメント情報を基にプライマーの設計を行った。汎用性を評価するために対象とする科内の大系統を網羅するように種のサンプルを採取し、個体識別能を評価するためにいくつかの種は複数個体を収集した。

(3) トレーサビリティを担保した生物情報管理システムの構築

以下の9項目の順に研究開発を展開した。

1. DNAバーコードなど、個体認識のための多様な遺伝マーカー情報の格納形式を検討する。その際、遺伝情報を格納する必要があるかを検討するために、実際の植物を用いてサンプルデータを取得する。
2. 生物の登録、分譲を記録したトレーサビリティをもつデータベースシステムのワークフロー・モデルを作成する。そのモデルに従ってシステム要件を検討して作成する。
3. サブテーマ代表者の研究室で開発した生物多様性情報データベースシステム(Ruga)を基盤として用い、要件設定に従ったプロトタイプ・データシステムをRuby on Railsを使用して作成する。
4. プロトタイプ・データシステムにテストデータを入力し、システムの検証を行う。検証後に、プロトタイプ・データシステムに基づいた実稼働システムの実装を行う。
5. 実稼働システムを他のサブテーマ研究者に試用してもらい、問題点の指摘に従ってシステムの改良を行う。
6. 種情報参照機能を実装する。
7. 域外保全植物の情報を入力し、管理機能の試験を実施する。そして、栽培個体の分譲を植物園間で行ってシステムの検証を行う。
8. 実稼働システムにデータを入力・修正するためのWebインターフェースを作成する。
9. 遺伝情報や他の項目による検索のための機能を実装する。

4. 結果及び考察

(1) 域外保全ネットワークによる野生集団および域外保全株の維持管理、野生復帰の実践と評価

本研究では個体レベルで遺伝子型を確定したうえで、遺伝的多様性などの「質」を担保した域外保全集団を形成する技術の開発をすることができた。そして域外保全株を統括的にデータベース化するシステムを構築し、そのネットワーク化を通して自生地での情報、遺伝情報を保全関係者間で共有することを可能にした。遺伝子型の決定については、幅広い植物群で共通して使用可能なマーカーの開発を行った。このような技術の研究開発を6種の課題植物種を対象にして実用化の試行を行った。このうち特にオオキンレイカとアマミヤセビに関しては、域外保全集団からさらに野生地への再導入に際しても遺伝的な「質」を担保した集団復元をデザインすることができた。さらに域外保全集団の形成にあたり、地元地方自治体や教育委員会と協力して、地元住民や児童生徒を包括した地域全体の保全活動に拡げることができた。これによって希少種が生育する地元で、大学と植物園主導の保全活動から地元主導の持続可能な保全活動への移行を達成した。また、環境教育や地域の自然に関する普及啓発活動を展開することが出来た。今後には、環境省自然保護局野生生物課と日本植物園協会が2017年度から実施する域外保全のプロジェクトに本研究課題の成果を提供することが決まっているため、さらに改善を重ねて、利用しやすく優れた域外保全集団作成の技術を行政等に提供していく。

(2) 全種子植物に対応できる汎用遺伝マーカーの開発

本マーカーを設計する部位に被子植物で広く保存されている花芽形成遺伝子 Flowering locus T (FT) を利用し、科レベルでの適用を目指して被子植物の代表的な科であるキク科、バラ科、ラン科それぞれに対して個別にプライマーを設計した。その結果、それぞれの科で広く利用できるプライマーを設計する事ができ、このプライマーの汎用遺伝マーカーとして利用可能性の評価を行った。いくつかの種では種内変異の検出や個体識別を行う事ができた。今後は、本研究で開発した手法と他の手法のコストや解析能力を総合的に比較する事で利用可能性を評価することが必要であると考えられる。

(3) トレーサビリティを担保した生物情報管理システムの構築

絶滅危惧植物や希少植物の域外保全に利用するための汎用遺伝マーカーを用いた個体の遺伝情報、その他の形質、由来産地、栽培履歴を、施設横断的に登録、管理、追跡できる域外保全野生植物株のデータベースを構築した。株の管理にはQRコードを用い、スマートフォンやタブレットにて栽培現場で該当株の情報へのアクセスや変更を可能にするとともに、同じQRコードを用いて一般利用客へその植物種の情報を提供することも可能になった。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

主に3つの科学的意義が得られた。まず、由来と遺伝的多様性を担保できる域外保全集団や野生復帰集団を構成する種苗個体の選抜方法を確立したことが挙げられる。これには、生物の集団遺伝

学や系統地理学の手法を適用することによって、遺伝的多様性の最大化と近縁交配の防止、ならびに出自が不明な植物個体の由来の推定を行うことが出来るようになった。また、希少植物の地理的な遺伝変異も考慮した保全研究が可能になった。

二番目に、構造がシンプルで使用方法が簡易な情報管理システムを開発したことである。当研究で開発されたデータベースで植物個体を厳密に管理することが出来るようになり、希少植物の情報継承が容易になった。ここにはQRコードを媒体として組み込んであるために、この情報管理システムは汎用性が高く容易な性質のものになった。開発したシステムの容量はとても軽いため、用いるパーソナルコンピュータは汎用品で十分であり、スマートフォンも用いることが出来る。

三番目に、種子植物が共有している花成遺伝子のイントロンの塩基配列を調べる多型解析方法の確立である。コード領域は保存性が極めて高いために、汎用性がある共通プライマーを用いて、イントロン部の塩基置換を効率よく調べる事が出来る。とくに、絶滅危惧種が多く含まれるラン科植物において、汎用性が高い解析手法を確立することが出来た。

（２）環境政策への貢献

- ・COP10 愛知ターゲット戦略目標C：「2020年までに、既知の絶滅危惧種の絶滅および減少が防止され、また特に減少している種に対する保全状況の維持や改善が達成される」に貢献することができる。また、本研究における「良質な域外保全集団の作成技術開発」、「希少植物の個体レベルでのトレーサビリティの確保」は、我が国における絶滅危惧種の保全状況を著しく向上させることにも貢献することができる。

＜行政が既に活用した成果＞

- ・環境省自然保護局野生生物課では2017年度において、日本植物園協会に国内希少野生植物等の生息域外保全に関係する業務委託を行う。この委託内容のなかに本研究課題における成果である「生息域外保全情報管理システム」が採用されている。このように本研究課題の成果は、行政の環境政策のなかで活用されることになった。
- ・福井県青葉山におけるオオキンレイカの生育状況と遺存集団の遺伝的多様性が高いこと、京都府側の集団と遺伝的に明瞭な分化があること等の情報を福井県自然環境課に伝えた。福井県はその固有性と生育現状を鑑みて県の天然記念物に指定し（平成27年3月県報）、一層の保護施策を採ることになった。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

- ・当研究で開発されたデータベース、QRコードとスマートフォンなどの携帯型端末を利用した株管理をする手法は、域外保全下にある絶滅危惧植物・希少植物の状況（保有機関や域外保全集団の位置、個体数、個体毎の履歴情報と遺伝子型）を常に更新された最新の情報として入手できる。この情報に関わる行政は、環境省や都道府県庁、市町村などの多くの行政における環境保全担当部署が見込まれる。
- ・絶滅危惧植物・希少植物の増殖を地域参加型の横断型ネットワークで進めるため、本研究課題で提案する域外保全集団や野生復帰集団の形成方法やデータ管理方法を活用することによって、行政が担当する環境保全施策をより実践的かつ低コストで実施することが期待される。

6. 研究成果の主な発表状況

＜査読付き論文＞

- 1) S. Sakaguchi and M. Ito: Applications in Plant Sciences, 1400035 (DOI: 10.3732/apps.1400035) (2014) Development and characterization of EST-SSR markers for *Solidago virgaurea* complex (Asteraceae) in the Japanese Archipelago.
- 2) S. Sakaguchi, J. Worth, G. Jordan, P. Thomas and M. Ito: Conservation Genetics Resources (DOI: 10.1007/s12686-014-0400-8) (2014)
Development of nuclear and mitochondrial microsatellite markers for the relictual conifer genus *Athrotaxis* (Cupressaceae).
- 3) S. Sakaguchi, J. Worth, G. Jordan, P. Thomas and M. Ito: Conservation Genetics Resources (DOI: 10.1007/s12686-014-0368-4) (2014)
Development of nuclear microsatellite markers for the Tasmanian endemic conifer *Diselma archeri* Hook. f. (Cupressaceae).

- 4) H. Higashi and H. Setoguchi: Conservation Genetics Resources 7: 389-391 (2015).
Isolation and characterization of microsatellite loci in *Patrinia triloba* var. *takeuchiana* (Valerianaceae) DOI: 10.1007/s12686-014-0377-3
- 5) 瀬戸口浩彰: 森林遺伝育種 vol. 15. 95-100 (2016)
「希少植物・絶滅危惧植物の持続可能な域外保全ネットワーク」
- 6) T. Otao, T. Kobayashi, K. Uehara: Application in Plant Sciences 18: 4 pii: apps.1500110. (2016).
Development and characterization of 14 microsatellite markers for *Indigofera pseudotinctoria* (Fabaceae). DOI: 10.3732/apps.1500110.
- 7) M. Yamamoto, H. Setoguchi and K. Kurata: Conservation Genetics (in press).
Conservation of endangered plant *Primula* on limestone mountain Mt. Buko, Japan.
DOI: 10.1007/s10592-017-0966-2
- 8) D. Takahashi, S. Sakaguchi and H. Setoguchi: Plant Species Biology (in press).
“Development and characterization of EST-SSR markers in *Asarum sakawanum* var. *stellatum* and cross-amplification in related species” . DOI: 10.1111/1442-1984.12156

<査読付論文に準ずる成果発表>

- 1) 上原浩一・斎木健一: 千葉県生物多様性センター研究報告 7, 79-90 (2014)
「絶滅危惧種イスミスズカケの概要と保全」
- (2) 主な口頭発表(学会等)
- 1) 山本将也、瀬戸口浩彰、倉田薫子: 日本植物学会第78回大会(神奈川) (2014年)
「マイクロサテライトマーカーを用いた絶滅危惧植物チチブイワザクラ栽培集団における遺伝的多様性の評価」
- 2) 倉田正観、伊藤元己: 日本植物分類学会第14回大会(福島) (2015年)
「阿蘇・久住地域の絶滅危惧植物における系統地理と遺伝的構造」
- 3) 山本将也、瀬戸口浩彰、倉田薫子: 日本植物学会第79大会(2015年)
「絶滅危惧植物チチブイワザクラにおける域外保全集団と野生復帰集団の遺伝構造」
- 4) 瀬戸口浩彰、東広之、服部千恵、野添翔吾、伊藤元己、平塚健一、肉戸裕之、長澤淳一: 日本植物学会第79大会(2015年)
「絶滅危惧植物オオキンレイカの遺伝的多様性の評価と域外保全ネットワークの形成」
- 5) 瀬戸口浩彰、東広之、服部千恵、野添翔吾、伊藤元己、平塚健一、肉戸裕之、長澤淳一:
日本植物分類学会第15大会(2016)
「絶滅危惧植物の遺伝的多様性の評価と域外保全ネットワークの形成、および野生復帰について」
- 6) 瀬戸口浩彰、服部千恵、松岡一久、平塚健一、長澤淳一、梅津幸恵、中川真喜子、野添翔吾、東広之、伊藤元己、佐藤正吾: 日本植物学会第80回大会(2016)
「マルチセクターによる希少植物の保全活動」
- 7) 服部千恵、瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第16大会(2017)
「マルチセクターによる希少植物の保全活動」

7. 研究者略歴

課題代表者: 瀬戸口 浩彰

東京大学大学院理学系研究科博士後期課程修了、博士(理学)、現在、京都大学大学院人間・環境学研究科教授

研究分担者

- 1) 上原 浩一
東京農業大学大学農学研究科博士後期課程修了、千葉大学園芸学部助教授、現在、千葉大学国際関係学部教授
- 2) 伊藤 元己
京都大学大学院理学研究科博士後期課程修了、東京都立大学理学部助手、千葉大学理学部助教授、現在、東京大学大学院総合文化研究科教授

4-1403 希少植物・絶滅危惧植物の持続可能な域外保全ネットワークの構築

(1) 域外保全ネットワークによる野生集団および域外保全株の維持管理、野生復帰の実践と評価

京都大学大学院人間・環境学研究科 関連環境学専攻 瀬戸口浩彰
 <研究協力者>

京都大学大学院人間・環境学研究科 関連環境学専攻 山本将也
 高橋大樹
 服部千恵
 中川真喜子
 梅津幸恵
 横浜国立大学教育人間科学部 倉田薫子

京都府立植物園 長澤淳一
 平塚健一

平成26(開始年度)～28年度累計予算額：62,879千円（うち平成28年度：20,492千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

自生地の環境破壊や人による乱獲等の理由で絶滅の危機に瀕している植物として、環境省の第四次レッドリストに掲載されている維管束植物は1080種に及ぶ。なかには保全の対象として保護区域の設定まで進んでいる植物種もあるが、生育環境が激変してしまった場合や獣害、外来種との交雑等の理由によって自生地での維持が困難な場合も多い。この場合には自生地から生育個体や増殖用の挿し穂や種子の収集を行い、設備が整った別の場所において栽培維持管理を行う「域外保全」が有効であり、今後その必要性は増加すると予想される。また、無事に域外保全された植物についても、産地情報や分譲履歴などが把握されていないことが多くあり、遺伝情報が個体毎に調べられていることは稀である。植物園や林業試験場などの域外保全施設は、栽培担当者の異動や組織の運営方針の転換等の事情によって、栽培個体は常に消失のリスクにさらされている。遺伝的多様性を考慮しない「株数だけの確保」を目指した増殖行為は、ボトルネック効果によって遺伝的多様性を失い、世代交代を繰り返すたびに繁殖力が弱まる危険性もある。

本研究では以上のような状況への対策として、個体レベルで遺伝子型を確定したうえで、遺伝的多様性などの「質」を担保した域外保全集団を形成する技術の開発を行った。そして域外保全株を統括的にデータベース化するシステムを構築し、そのネットワーク化を通して自生地での情報、遺伝情報を保全関係者間で共有することを可能にした。遺伝子型の決定については、幅広い植物群で共通して使用可能なマーカーの開発を行った。このような技術の研究開発を7種の課題植物種を対象にして実用化の試行を行った。このうち特にオオキンレイカとアマミアセビに関しては、域外保全集団からさらに野生地への再導入に際しても遺伝的な「質」を担保した集団復元をデザインすることができた。さらに域外保全集団の形成にあたり、地元地方自

治体や教育委員会と協力して、地元住民や児童生徒を包括した地域全体の保全活動に拡げることができた。これによって希少種が生育する地で、大学と植物園主導の保全活動から地元主導の持続可能な保全活動への移行を達成した。また、環境教育や地域の自然に関する普及啓発活動を展開することが出来た。

〔キーワード〕

域外保全、絶滅危惧種、希少種、遺伝解析、データベース、情報共有、ネットワーク、地域住民参加

1. はじめに

自生地の環境破壊や人による乱獲等の理由で絶滅の危機に瀕している植物として、環境省の第四次レッドリストに掲載されている維管束植物は1080種に及ぶ。これはレッドリストに掲載されている生物種全体の半数以上に及び、如何に維管束植物が幅広い分類群に渡って絶滅に瀕しているか、その厳しい現状がわかる。例えば絶滅危惧IA類（CR）に指定されているチチブイワザクラについては、その唯一の自生地である秩父・武甲山が大正時代より石灰岩セメントに用いる石灰石の採掘場となり、戦後は特に山姿を変容するほどの大規模な採掘が行われ自生地破壊が進んだ。これにより、自生地そのものが消失しようとしている。福井県の青葉山におけるオオキンレイカは、山野草としての園芸的価値のため山採りが頻発して個体数が激減し、絶滅危惧IB類（EN）に指定されるに到った。

なかには絶滅を免れ、保護区域も設定されて保全の対象になっている植物もあるが、環境が激変してしまった場合や獣害、外来種との交雑等の理由により自生地での維持が困難なケースがある。そのような場合は自生地から株そのもの、または挿し木や種子の採集を行い、設備の整った別の場所において栽培維持管理を行うことが有効であり、このような域外での保全は今後に必要な高まると予測される。

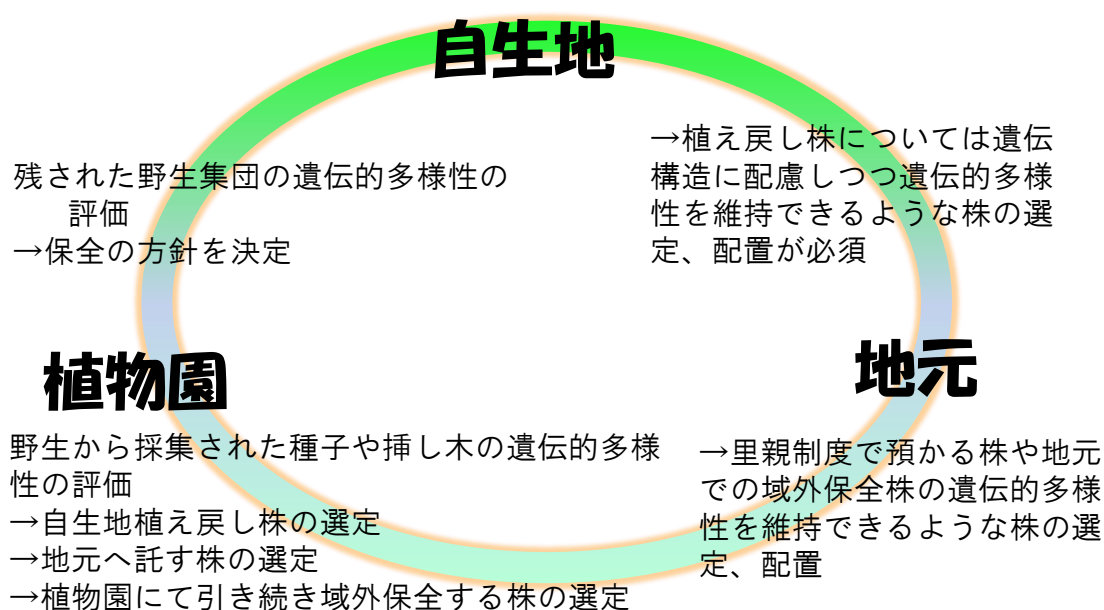
また、自生地での植物の所在地やその歴史を熟知しているRDB調査員や植物の愛好家の高齢化がすすみ、個体の位置など経験によって得られた知識の消失が深刻な問題になっている。無事に域外保全された植物個体においてもその実態（由来産地や栽培履歴の継承など）は総括的に把握されているわけではない。植物園などの施設において、担当者の変更や異動、またはその組織の方針の転換等の事情によって消失のリスクに常にさらされている。またボトルネック効果によって遺伝的多様性が失われ、世代交代を繰り返すたびに繁殖力が弱まる危険性もある。以上のような状況への対策として、個体レベルで域外保全株を統括的にデータベース化するシステムの構築が緊急に必要とされている。

2. 研究開発目的

本研究では、希少植物種をDNAマーカーなどで個体識別し、由来産地や栽培履歴などの情報とともにデータベースで維持管理して、現物の植物にはQRコードのタグを付けてユビキタス管理が可能なシステムを開発する。また、優れた域外保全集団を形成する技術手法を開発することを目的とする：域外保全集団を形成するに当たっては、集団サイズに応じて遺伝的多様性を最大に、近交係数をゼロに近づけた「遺伝的質」を重要視する。また、域外保全集団の作成を生育地の地元教育機関や行政機関、町民組織に委譲して、「持続可能な」域外保全集団づくりを推進するしくみを構築する。そして本研究課題の成果を絶滅危惧植物・希少植物種の域外保全

施策において活用できるように、実効性のある研究成果を得ることを目指す。

本研究の特徴は、従来の研究機関や公共機関による域外保全の枠を超えて、地元住民も巻き込んだの保全体制作りを模索することにある。そのひとつの試みとして学校の児童生徒や一般市民に苗の配布を行い成株まで育ててもらい里親制度を取り入れる。一般市民とのかかわりの中で大学、植物園が果たすべき役割とは何かということについても常に問いかけながら活動をおこなう。特に研究機関である我々大学の役割としては植物学的、生態学的知識、遺伝解析による個々の植物に関する情報を遺伝的多様性に配慮した域外保全活動、野生復帰に生かす方法を探る。具体的に対象とする植物はアマミアセビ、オオキンレイカ、キブネダイオウ、チチブイワザクラ、ジョウロウホトトギス、チタカンアオイの6種である。（イスミスズカケは千葉大学が担当。）



図(1)-1 希少植物の保全活動と遺伝解析の関係

3. 研究開発方法

(1) 域外保全

1) アマミアセビ

野生個体はほぼ絶滅しているので京都大学瀬戸口研究室と京都府立植物園職員が赴き、奄美大島島内の民家や林業試験場、日本や米国の植物園などで栽培されている個体から所有者の許可の下で、挿し穂とDNA抽出用の葉サンプルを採集した。挿し穂は京都府立植物園にて栽培した。

差し穂に由来する増殖苗の個体のサイズが大きくなると、植物園で維持が可能な個体数は減少してしまう。そこで自生地の行政や教育委員会と連携を取って、地域の小中学校や居住区の公民館などに苗を寄付し身近で育ててもらい、保全への理解を深めてもらうと同時に地元での域外保全集団を形成することにした。このように育成を地元の域外保全施設に委ねることにより、増殖拠点の植物園は、常に小型の個体を多数増殖し続けることが可能になる。なお、収集した全ての個体から葉を採取してDNAを抽出してマイクロサテライト解析を行うことにより、個

体判別や域外保全集団の構成を決める上での根拠データを取得する。また本研究開始以前に野生復帰を行った個体の追跡調査を行い、域外保全の先にあるべき課題のデータを収集することとする。

2) オオキンレイカ

自生地 of 福井県高浜町の青葉山に現存する自生個体の生育箇所をGPSで測定し地図上にプロットするとともに、DNA解析用の葉を収集する。秋期には自生個体から種子を採取して、京都府立植物園にて発芽・育成し、実生苗にて次世代の増殖を行う。一シーズンあたり実生苗は200鉢ほどを作成することとし、全ての苗のDNA遺伝子型解析したうえで、QRコードタグを付ける。苗の多くは①高浜町内の5つの小中学校、②有志の高浜町民に育成を委託する。本研究では、この育成委託を「里親制度」と呼ぶ。なお一部は京都府立植物園に残す。

育成を委託するにあたっては、分譲履歴をデータベースに記載して、QRコードをスマートフォンで読み込むことによって里親名が判るようにした。約一年間～二年間の育成期間の後に、里親によって育成された個体を、複数の域外保全集団と、二カ所の野生復帰集団の作成に用いる。この際の個体の選択は、後述のように「遺伝的多様性の最大化」と「近交係数の抑制」をDNAデータに基づいて行った。

自生個体からの種子の回収と実生の育成、育成委託は、本研究期間中に二回繰り返して行い、域外保全集団の拡充を図った。

3) チチブイワザクラ

武甲山の採掘権を有する二企業、株式会社秩父太平洋セメントと株式会社菱光石灰工業によって1970年代より域外保全が行われ、また自生地への再導入も行われてきた。しかし近年、保全株集団における結実率や発芽率、実生の生存率が低迷し、また再導入後の成功率も低いという問題が出てきた。そのため本研究においては繁殖特性の解明のため血縁度に基づいて交配実験を行い、それによって得た種子を用いて横浜国立大学にて発芽実験を行っている。ならびに遺伝マーカーを用いて域外保全集団の遺伝的多様性と集団遺伝構造の評価を行うことによって、再導入の手法を検証した。

4) ジョウロウホトトギス

ジョウロウホトトギスに関しては、日本植物園協会のホトトギス類保存拠点園として、京都府立植物園に複数産地に由来する個体群が維持されている。また、生育地の地元である高知県佐川町の牧野公園にて育成されている集団、高知県立牧野植物園にて展示、維持管理されている集団も個体数が多く栽培されているため、これら3施設の栽培個体群が「良質な域外保全集団」であるかを評価することを目的にした。葉サンプルを採集してDNAを抽出したのちに、マイクロサテライトマーカーで個体判別、遺伝的多様性の評価などを行った。

5) チタカンアオイ

チタカンアオイについては、地元植物愛好会によって自生地での野生個体の保護がおこなわれている。2013年2月に野生に生育する個体の花を揺らして自家受粉させた種子を回収して、200個体の実生を栽培してきた。その実生苗の一部を自生地に近い林床に域外保全をしている。

本研究では、野生集団と域外保全集団の全ての個体にQRコードタグを付け、域外保全集団に

については、栽培履歴をデータベースに記載した。また、野生集団と域外保全集団のすべての個体を対象にしてマイクロサテライト解析を行い、域外保全集団の遺伝的な質を評価した。

6) キブネダイオウ

京都府貴船川流域には希少種のキブネダイオウの他に、ヨーロッパ原産のエゾノギシギシ、ならびに両種の交雑個体が共存している。しかし、何れにおいても鹿の食害によって地上部が被食されていて、開花・結実に至らないキブネダイオウが多い。したがってこのケースでは、①キブネダイオウ・エゾノギシギシ・雑種の判別、②キブネダイオウの増殖と域外保全、の二項目を推進する。葉のサンプリングを行い、フローサイトメーターを用いて細胞内部のゲノム量比較によって3者の判別を行った。この結果に従って、a. 鹿による食害を防ぐため自生地でキブネダイオウを掘り採って京都府立植物園に保護、b. 外来種と交雑個体は伐根による駆除をおこなう、c. 2006年に採取したキブネダイオウの果実の播種と実生増殖、d. 貴船川で保護した個体は京都府立植物園で、実生苗については、生育地の小学校（京都市立鞍馬小学校）で域外保全集団を作成する。以上の3つの研究事業を行うことを目的にした。

(2) マイクロサテライト (SSR) マーカーによる遺伝情報の取得分析

従来から系統分類に用いられているSSRマーカーを用い、協力施設にて維持管理されている保全株アマミアセビ（126株）、オオキンレイカ（個体）、チチブイワザクラ（600株）、ジョウロウホトトギス（140株）から遺伝情報を取得し、分析した。

解析用のPCRにはMultiplex PCR Kit (Quiagen, Germany)を用いて、Applied BiosystemsのABI3130シークエンサーを用いて解析した。なお、サイズマーカーにはRox350 (Applied Biosystems)を用い、解析結果はGeneMapper Software (Applied Biosystems)にてサイズ判別した。集団遺伝学的な数値はGENALEX version 6.5 (Peakall and Smouse, 2012)ならびにFSTAT version 2.9.3 (Goudet, 2001)を用いて算出した。遺伝構造の解析にはBayesian clustering 解析を行なった。用いたソフトウェアはSTRUCTURE 2.3である。系統分析にはSplitstree4を用いた。

(3) 生物情報管理システムの試行

保有されている全ての域外保全株、またそれらから増殖した株、再導入株、寄贈した苗すべてについて、順次、生物情報管理システムにアクセスできるQRコード付きのラベルを付す。維持管理、モニタリングを行う際に情報の引き出しやすさ、項目が適切であるかどうか、情報更新のしやすさなど実務面での仕様を検証し、サブテーマ（3）担当者に随時フィードバックを行う。

4. 結果及び考察

(1) 域外保全

1) アマミアセビ

a 域外保全集団の確保

アマミアセビは2001年から京都大学と京都府立植物園で収集活動を始め、日本国内外の植物園や林業試験場、奄美大島の住戸から106系統を集めていた。本研究課題が内定後に、さらに奄美大島島内で穂木の収集を進めて2015年3月時において112系統(遺伝子型は考慮しない)、2016年12月の段階で145系統の穂木を収集した。奄美大島のなかで盆栽の趣味家の人脈を伝って収集に協力してくださった方々の存在は大きかった。また、庭木としての植栽は、自生地である湯湾岳・慈和岳周辺の地域に多かった。収集にあたっては、保有者の記憶に基づく親木の由来を聞き取って、データベースに付記した。

域外保全集団はこの145系統の穂木をもとにして、京都府立植物園の絶滅危惧植物増殖用温室にて挿し木で増殖した。さらに系統毎にDNAのマイクロサテライト解析を行って、系統毎の遺伝子型を同定すると共に個体間遺伝距離の推定を行って、域外保全集団の作成に役立てた。また、域外保全集団の遺伝的多様性や近親度の推定にも用いた(後述)。なお、本研究課題を始める前に収集した106系統については、Setoguchi et al. (2008)のアセビ属の分子系統の解析に基づいて、葉緑体DNAの*trnH-psbA* spacerと*matK*の塩基配列に基づいて他種(沖縄産リュウキュウアセビを含む)から分別できることを確認した。しかし本研究課題での穂木収集は、奄美大島島内であることと、葉の形態が明らかに他種と異なることSetoguchi et al. (2006)から、そのまま用いた。そしてマイクロサテライト解析で明らかに疎遠で異なる遺伝子型(alleles)を保有するかを見ることで、あとから判断することにした。その結果、収集した穂木に遺伝的に異質なものは存在しなかった。

収集において特徴的であったのは、栽培者の高齢化と民家の不在化である。例えば多くの穂木を収集した大分県の山採り山野草業者の場合、高齢と病氣療養のために管理が行き届かず、山採りのアマミアセビの親木は孟宗竹の竹藪の中に埋没していた。奄美大島の宇検村では、廃屋になった不在住居の庭に複数の親木が植えてあり、別居のご家族の立ち会いの下で収集することもあった。このように、絶滅危惧種の収集が、所有者の高齢化や死去によって困難になりつつあること、时期的に個人所有の絶滅危惧植物が消失する分岐点にあることを強く認識した。

b 自生地での野生株

これまでに発見した野生種の二株の生育を確認した、二株ともにチャートの岩の上に生育しており、今後の野生復帰における生育環境の示唆に富むものである。



図(1)-2 アマミアセビの野生個体。(左)2014年に現地調査員によって発見された野生個体。崖壁に張り出した小岩棚の上で見つかった。(右) 2016年の調査で林床に発見された実生(人物の右足下の前方)。

c 野生復帰

瀬戸口と長澤は2009年に環境省自然保護局野生生物課と協議の上で、湯湾岳周辺の指定地域外に30個体の野生復帰を行い、さらに3年後の2012年には3カ所に190個体を野生復帰させた。今回のプロジェクトではこれら野生復帰株の一部の生育評価を行った。

2015年11月、植え戻した3カ所のうちの2カ所において、合計48個体の生存を確認した。発見できなかった個体が存在することもあるが、何れの個体も周囲にはシャシャンボ、モチノキ、サザンカ、タイミンタチバナ、ヒサカキなどに覆われてアマミアセビが活着する林床は被陰されていた。活着率の評価は難しいが、枯死してしまった個体が存在することと、成長の具合に違いが観られることから(表1-1)、周囲の植生と同じ樹高に達するまで周りの枝払いを続けることなどの、長期的な作業とモニタリングが必要である。なお、2009年と2012年に植え戻した際の苗の樹高は約10cmであったのが4年～7年間の間に20cm～60cmに成長していたので、活着した野生復帰株の生育状態にはかなりの違いがあると評価される。

表(1)-1 2012年に再導入され、2016年11月まで生き残っていた株の数

湯湾岳		慈和岳	
樹高(cm)	本数	樹高(cm)	本数
20	5	10	2
30	7	30	10
40	6	40	4
50	10	50	1
60	2	60	1



図(1)-3 2012年に湯湾岳指定地域外に再導入された個体（2016年11月）

d 奄美大島の湯湾岳周辺地域の宇検村立田検中学校における域外保全集団の作成

2015年2月23日に鹿児島県大島郡（奄美大島）宇検村立田検中学校にて、様々な遺伝子型の増殖苗を100本植樹した。植樹にあたっては役場・学校職員の方々の立会いの元で、全校生徒を対象にしてパワーポイントを使った課外授業を行った。京都大学の瀬戸口からは、今回の記念植樹が地元の貴重な植物を復活させるための意義があることを説明した。また、苗に付属のQRコードを携帯電話やスマートフォンで読み込むと、植樹した人の名前が表示されることを伝えた。京都府立植物園の長澤園長と平塚技師からは、植物の特徴と栽培方法について説明した。なお、植栽した個体の選抜手法や域外保全集団の遺伝的な質については、後述する。



図(1)-4 宇検村立田検中学校における域外保全集団の作成（平成27年2月23日）

栽培苗を受け取った生徒たちは、「自分が植えた貴重な木を大事に育てたい。」「将来に仕事をするために島を離れても、中学校に寄って自分の木が育つのを見ていきたい。」「卒業後には後輩たちに育てるのを託し、成人式を迎える頃にはここで出来た種を使って山に戻して欲しい」などの感想が寄せられた。この域外保全集団作りとしての寄贈活動は今後も続けていく予定である(図(1)-4)。

一年後の2016年2月20日にその後のモニタリングとして田検中学校を再訪した。残念ながら植物の生育状況が思わしくなかったため、同行の京都府立植物園職員の指導の下、全ての個体を一度掘り上げて脇に置き、花壇にはピートモスを鋤き込んで土壌改良を行い、畝を作って高植えに植え直した(図(1)-5)。枯死していた個体は新たに持ち込んだ株にて補充した。QRコード付きのラベルも薄いプラスチック製だったものを耐久性が高いラベルに付け替え、かつ個体識別情報損失のリスクを低減するために根元にもラベルを埋め込んだ。

学校側からは鉢植えで育てるための株の提供も要請され、地域でもアマミヤセビに対する関心が高まりつつあることがわかった。今後もモニタリングを続け、必要ならば更なる土壌改良、株の提供、学校だけでなく地域住民も巻き込んだ里親制度の導入も考慮に入れる予定である。2015年の植え付けの様子と2016年の再訪は中学校のホームページにも記載されている。

(2015年の記念植樹) <http://c406506h.synapse-blog.jp/takenchu/2015/02/23/?ref=calendar>

(2016年の再訪) <http://c406506h.synapse-blog.jp/takenchu/2016/02/22/>



図(1)-5 奄美大島宇検村田検中学校での植え直しの様子

左：土壌改良作業（鈴木敏之氏撮影）

中：ラベリングとラベル確認作業。

右：QRコード付きラベル プラスチックの根元埋め込み用ラベルと耐久性を考慮したラベル

2016年11月、次項で述べる隣接する中学校にも同じようにピートモス、腐葉土を送付し、すでに植えつけられているアマミアセビの花壇に敷き詰めてきた。それ以降、電話による聞き取り調査では順調に育っている模様。

田検中学校ホームページに載っているアマミアセビ
<http://c406506h.synapse-blog.jp/takenchu/2017/03/post-8cf1.html>



図(1)-6 田検中学校にて土壌改良を行う

e 宇検村田検小学校における域外保全集団の作成

前年度に宇検村立田検中学校に116株、67株を二度にわたり苗を植えたが（枯死株が多かった）、隣接する田検小学校にも植栽することを宇検村役場と教育委員会、当該小学校に快諾していただいた。2016年11月に中学校には植えていない遺伝型のアマミアセビ53株を協力機関である京都府立植物園より委譲し、二校あわせてこれまで収集されたアマミアセビの全遺伝型を網羅する域外保全の一大拠点形成することができた。今後も新たな遺伝型の個体が見つければ随時加えていく計画である。田検中学校での植え付けで苗の活着が悪かったことを考慮して、今回は事前にピートモス、腐葉土を小学校に送付し、事前に植栽予定地に漉き込む準備を依頼した。具体的には搬送の便宜上極度に乾燥しているピートモスを除草した花壇一面に広げ、十分灌水をして湿らせておいてもらった。ピートモスはアマミアセビが好む酸性土壌にするために用いた。そして土壌構造を壊さないために花壇は耕さず植栽穴だけを掘り、水を満たして水が通る水筋を確保した。

移植当日は教室にてアマミアセビについての説明、育て方、QRコード付きのラベルの重要性について3・4年生を対象に授業をおこない、校庭に出て植え付けをおこなった。植え付け後は腐葉土によるマルチングをおこなった。これは水分の蒸発を防ぎかつ有機質を提供するため、土壌微生物の繁殖を促す。加えて冬には防寒、夏には直射日光から根を守る効果がある。

このようにして、以前に中学校で植栽したよりも改善した方法で域外保全集団を形成した。域外保全集団作成においても、野生復帰においても同様に、対象とする希少種が定着して生育する環境の設営が極めて重要であることを、この事業を通して実感した。

田検小学校ホームページにおけるアマミアセビ植栽の記事

<http://takenshou.synapse-blog.jp/taken/2017/02/post-5448.html>

http://www3.synapse.ne.jp/taken/dayori28_11u.pdf



図(1)-7 田検小学校でのアマミアセビ植え付けの様子



図(1)-8 田検小学校におけるアマミアセビ域外保全エリアの概観と水遣りをする児童たち

f 宇検村子供会へのアマミアセビの委譲と域外保全集団の作成

宇検村役場を通して宇検村の子供会よりアマミアセビを譲ってほしいという依頼を受けたため、2016年6月に48株を京都府立植物園から寄贈して、6つの子供会に分配した。

同年11月にモニタリングをしたところ、9株が枯死していたが37株は生存しており、移植5ヶ月後の生存率は77%であった。しかし、暗すぎる場所、プランターに植えられている苗もあり、いずれ枯死する可能性が高いため、生育場所を変えるように依頼した。この件は宇検村が中心になって進めたイベントであったため、園芸花卉を植えるような感覚で実施したと思われる。今後には、生育特性を説明して、植える場所の選定、植えつけ方の方法、土壌改良等の情報提供が必要であることを再認識した。



図(1)-9 宇検村内の子供会によって植えられたアマミアセビ

2) オオキンレイカ

青葉山において2014年の7月、8月、10月に自生地・青葉山で個体調査を行い、福井県側の稜線沿いに47個体の生育を確認した。その他、地元・5個体の栽培株、舞鶴市松尾寺と舞鶴植物公園の植栽に58個体を確認され、葉と果実（種子）の採取を行った。また、京都府の丹後半島にて2005年に発見された個体群からも葉の採取を行った。採集した種子は京都府立植物園にて維持管理され、種子での増殖を行った。

域外保全集団の作成は、生育地の青葉山を管理している福井県高浜町教育委員会と協議のうえ、全面的な協力を頂いて実施することになった。域外保全集団は、高浜町が2016年度を目処に完工を予定している青葉山中腹と高浜町役場のロックガーデンに形成することになった。その完工までの期間に、発芽後半年ほどの小さな実生苗を育成することにして、これを市民参加型の「里親制度」として計画した。まず1年目の試行として、青葉山の麓にある小中学校の2校の児童・生徒と、市民の有志を募ることにして、150株の提供をする計画した。なお、DNA解析による学術的な内容はp. 33以降に記載した。

地元の小学生と中学生（高浜町立内浦小中学校、青郷小学校）、ならびに地域の皆様のボランティアを「里親」として、一年間の育成を委ねることにした。こうした域外保全集団を生育地の地元で育てる行為は、絶滅危惧種の保護や生活地域の環境保護について地元住民の理解と関心を高める機能があると期待している。



図(1)-10 内浦小中学校における贈呈式。

京都府立植物園の職員から内浦小中学校の生徒代表に手渡された。様々な新聞やテレビ放送局の取材があり、今回の行事を広く広報することが出来た。

そして2014年9月24日にオオキンレイカの贈呈を行った。小学生と中学生を対象にして「地域の自然の大切さ」「オオキンレイカという絶滅危惧種が昔には沢山生えていたこと」「数が激減してしまった理由（盗掘）」「生育地の外にオオキンレイカを育てることの意義」を説明した（図(1)-10, 11）。

また同日の夕方には、応募された地域の皆様を対象にして同じく説明会と贈呈を行った（図(1)-12）。

高浜町における市民参加型の域外保全集団の育成においては、バーコード（のちにQRコードに交換）が意外な効果の一面を発揮した。それはボランティア各自が育成している個体のバーコードを携帯電話やスマートフォンのバーコードリーダーで読み込み、自分が登録してある「ニックネーム」と生育履歴を確認出来ることが「楽しい」という感想が多く寄せられたことである。研究実施者としてはQRコードを各個体のトレーサビリティ担保の目的で付加したが、市民参加型域外保全集団の形成にポジティブな効果をもたらしてくれることがわかった。



図(1)-11 自分で育てるオオキンレイカの鉢を選ぶ小学生。

鉢にはバーコードをつけた樹脂製の札が添えられている。なお、後にQRコードを作成し直して全員に張り替えて頂いた。



図(1)-12 高浜町でオオキンレイカの里親募集に集まって頂いたボランティアの皆様。

a 域外保全集団のメンテナンス（植え替え会）

昨年度2014年9月24日、地元の小学生と中学生（高浜町立内浦小中学校、青郷小学校）、ならびに地域のボランティアを「里親」として、京都府立植物園にて播種育苗されたオオキンレイカの一年間の育成を委ねる里親制度が始まった。それから8ヶ月余りが経ち、植えてあったポットも小さくなっているであろうことから、植え替え適期の2015年5月に京都府立植物園の技官を指導者に迎えて植え替え会をおこなった。昼は高浜町立内浦小中学校、青郷小学校において、夕方は一般の里親達が自分の株を持ち寄って青郷公民館にて植え替えを行った。その際に栽培における悩み相談もできることや、里親同士の交流の場を提供する事につながり、好評であった。

b 野生復帰（自生地への再導入）

2015年10月18日、11月15日には里親制度の最終段階である自生地青葉山への植え戻しを行った。10月18日は高浜町立内浦小中学校、青郷小学校で預かっていた個体から選別された21株が児童らの手によって東峰に植えられた（図(1)-13）。11月15日には主に一般の里親が預かっていた個体から選ばれた22株が西峰に植えられた（図(1)-14）。再導入用の個体の選抜方法等の、学術的背景については後述する（39ページ以降）。

植え付けに先立ち、大学側と高浜町の里親制度世話役ができるだけ多くの水を運び、あらかじめ植え穴を掘ってその中を水で満たした。そうする事によって植えつけた時に根の深い部分にも水が行き届いているため、また地中の細かい水脈ともつながるため植え付け後の根着きが抜群によくなる。植えつけたオオキンレイカの各個体にはQRコードタグを付け、根元にもプラスチック製のラベルを埋め込んだ。灌水と枯葉でマルチングをして植え戻しは終了した。なお、本事業の解説と、盗掘を防ぐ目的で登山者への説明のための看板をたてた（図(1)-15）。本研究の終了時点において盗まれた個体は一つもなく、2016年7月には半数近くの個体が開花するに至った。



図(1)-13 児童によるオオキンレイカの植え付け



図(1)-14 大人によるオオキンレイカの植え付け
植え付け前に研究員が手順を説明しているところ

オオキンレイカの苗を見守ってください

オオキンレイカは、かつて青葉山の岩の上にたくさんのが生えており、夏に花が咲くと麓の村から岩山が黄色く見えると言われていました。残念ながら、山から盗まれ続けて数が減り、いまは絶滅が心配されています。

ここに植えられたオオキンレイカの苗は、高浜町の小中学生が育て、そして植え戻したものです。わずかに残った野生の株に花粉を送り、種子を作って、山のオオキンレイカを増やすために植えました。自然を愛する皆様にも、見守りをよろしくお願いします。

平成 27 年 10 月

高浜町・高浜町教育委員会・青葉山麓研究所・京都府立植物園・京都大学

わたしたちが大事に育てた
「オオキンレイカ」です。
やさしく見守ってください。

青郷小学校 5 年生一同・内浦小中学校児童生徒一同



図(1)-15 オオキンレイカの野生復帰集団の傍に立てた看板

c 里親制度意見交換会

オオキンレイカの自生地への再導入という一大イベントが終わり、里親から「植え戻しに使われなかった株はいつまで預かれば良いのか」「大事にしていたオオキンレイカがなくなって寂しいので、また預かりたい」などの声が寄せられた。植物園での播種育成、地元における里親制度下での育成、自生地への再導入というように無事一連の保全活動につながった貴重な事例であることから、里親の気持ちや意見を吸い上げてこれからの活動に活かす為、そしてこれまでのいきさつや今後の展望を説明するためにも里親に集まってもらう機会を設けた。

域外保全集団の形成を、希少種の地元で行う体制を構築するうえで、こうした社会学的な調査研究も、今後に不可欠であろうと推測される。

ここで出る意見はオオキンレイカだけでなくほかの植物の地元参加型域外保全にも応用できるであろうことから、記録として残すためにも単なる座談会ではなくKJ法という情報整理のスタイルをとりいれたワークショップ形式の会合を計画した。参加者に付箋の束をわたし、時間を区切って各自の意見を一枚につき一項目ずつ書いてもらう。一つの質問に付き5から10ほどの意見を書いてもらう。それをグループ内で参加者が読み上げなら発表するというものである。その利点は口頭のみでの話し合いでは声が大きく積極的に発言する人に圧されてしまいがちな方々の意見も満遍なく伺える点にある。

2016年2月27日高浜町青郷公民館において里親制度意見交換会を主催した。参加人数は里親が15人。熱心な里親が多いのでより多くの参加が見込まれたのだが、後から同日に別の講習会やイベントが入ってしまったため、やむなく欠席した人が多くでた。前半はミニ講義を行い、研究員が再導入株選別の方法や今後の株の行き先やその時期についての計画を説明した（図(1)-16）。後半はKJ法を用いたワークショップを行い、参加者15名が4人、3人、4人、4人の4班に分かれて意見交換を行った（図(1)-17）。加えて2名が他での講習会に参加する必要があったため途中から参加もしくは途中退出したが、意見は書き置いてもらった。各班に大学側からグループリーダーが付き、意見交換のまとめ役を務めた。

話し合いのテーマは以下の二点。

- 1、「里親になってよかった点、苦労した点を自分の体験からお話してください」
- 2、「里親制度についてプロセスそれぞれについて思いつく改善点を挙げてください」

1、「里親になってよかった点、苦労した点を自分の体験からお話してください」

まず、苦労した点から。

- ・枯れないか不安だった。

大切なものを預かっているため、枯らしてはいけないといプレッシャーが相当あったことが伺われた。そのプレッシャーは他の人が自分よりうまく育てているのを見た時により大きくなった。また、冬枯れに関しても事前に知ってはいたものの実際に枯れると不安になったとのことで、学校の子供たちも心配していたと言う事だった。

- ・栽培方法に関する不安。

水遣りや施肥、置き場所に関して具体的な指標が欲しいとのことだった。一方で独自の工夫も見られ、水道水ではなく雨水を与える、鉢ごと土中に埋めて育てたら楽になったなど、参考になる意見も出た。

- ・花が咲かなかった。

オオキンレイカは多年草で植物体が成熟して花が咲くまで何年もかかるため、預かってその年に花が咲くことはない。その点の説明が抜けていたと思われる。また花が咲かないため感心を持続するのが難しいかも、と言う意見もあった。

よかった点について。

- ・意外と手間が掛からなかった。

植物を育て慣れている人にとって、オオキンレイカは手間が掛からなかったようである。不安に思ったりなかなか大きくなると心配している人が多い中、一見矛盾するように思えるが、経験や自信の有無が印象に大きく影響するのだろうと思われる。

- ・春に芽が出てきた時。

冬枯れで心配した反面、春に芽が出た時のうれしさは格別だった模様。葉の数が増えてきたときのうれしさや秋の紅葉の美しさも励みになったようである。

- ・オオキンレイカという植物に対する意識が深まった。

青葉山にしかないという事実には驚いたり、これまで登山をしても花を見に行くというわけではなかったが、今後はどうなったか山に見に行きたいという意見も出た。他の町民にも良さを周

知したいという意見も出た。青葉山のためになる事をしていると言う事もやりがいとなっていたようである。

- ・オオキンレイカが身近になった。

あだ名をつけて毎日呼びかけたり、毎日見るのが楽しみだったという意見があり、オオキンレイカが日常に溶け込んでいたことがよくわかった。また家族で関心を持つ事ができて話題を共有できたり、家族ぐるみで世話をしたりと家族の絆を強めることにも役立ったようである。手放してしまった今では寂しいので、再び里親になる喜びを味わいたいと次回の配布を心待ちにしているという意見も出た。

- ・「地元の方ならではの」の興味深い話。

牧野富太郎先生が高浜町に来られてこれまで身近にいっぱいあったオオキンレイカが実は青葉山の固有種でとても貴重なものであることがわかり、それ以降青葉山からオオキンレイカが消えていったと言うお話があった。これは研究者側にとっては深刻に受け止めなければならないお話であった。

また、まだ数多くあった昔には仏様への供え花として使っていた事もあるらしい。

2、「里親制度についてプロセスそれぞれについて思いつく改善点を挙げてください」

募集方法について

- ・鉢数については複数鉢育てたい人が多かった。その理由は栽培の際に条件を変えて試すためであったり、枯れた時の保険であったり、1鉢は手元においておきたいため、というものであった。

- ・里親の募集そのものについては、今回の里親選びは公募ではなかったということから、今後は広く公募にするという意見と責任感があり花を育てるのがうまい人を自薦他薦で募って育ててもらおうという二つの意見が出た。また、里親の年齢層は広い方が良いということから小学校や老人会などにも委ねるという意見も出た。

植物受け渡しについて

- ・受け渡し時に植物と一緒に管理マニュアルを手渡して欲しいという意見が多かった。しっかりとした説明をうけ、かつ印刷物を欲しいとのことだった。実際は植物園から簡単な説明書が配られたのだが、その後紛失したり、用いられていない可能性が高い。

植え替え会

- ・都合が合わないこともあるので、植え替え会は複数回開催して欲しいという意見が多く、たとえ参加できなかった場合でも、読めばわかるようなマニュアルを後日渡してはどうかと言う意見がでた。

- ・場所が屋外でおちつかなかったので、できれば屋内でやって欲しいとのこと。

- ・観察していると、土を全部落としてしまった人の株がかれてしまった気がするとの指摘もあった。

- ・京都府立植物園にて育成中のオオキンレイカの見学会を催して欲しいとの意見があった。その時に育て方についての質問をする機会があればとのことである。

持ち寄り

- ・枯れた株の鉢は回収し、枯れた植物の写真も回収することで不正を防いではどうかという案があった。
- ・これまでは職員が集めて回ったが、里親が自分で責任を持って持ち寄るべきとの意見がでた。
- ・里親から出される時期であるが、手放す前に花を見たい、花が咲くまで面倒を見たいと言う意見があった。

植え戻し

- ・自生地に植え戻されるのか、公共の場所へ植えつけられるのか、どちらに割り振られるのかを事前に知りたいとのことだった。もしくは里親がどちらか選びたいとのことだった。たとえば、気軽に山に登る事ができないお年寄りの場合は自生地に植え戻されるよりも身近なところに植えられるほうが見に行きやすいということである。
- ・自分で育てた株の行き先を知りたいという意見もあった。
- ・二度の自生地への植え戻しが終わったが、選ばれずにまだ手元に株が残っている里親への説明がなく、不安であるという意見があった。また株選定に関する説明がなかったという指摘もあった。

自生地への再導入

- ・自生地への植え戻しは専門家に任せるべきという意見もあったが、小学生に定植させてあげる機会を増やしたいという意見もあった。
- ・今後植え戻した場所への見学会のようなものを設けて欲しいという要望があった。
- ・自生地へ植え戻した株の里親の中には自分では足が悪いので山に登れないため、植え付けもできなかったしその後も見に行く事もできないので、山に手放して寂しかったという意見があった。
- ・動物が食べてしまわないか心配という意見があった。別の班では食害を防ぐためにトリカブトと混植するというアイデアも出た。

公共の場所への植え付け

注：公共の場所への植え付けはまだ実現していない。

- ・小学校の裏の畑にまとめて植えてはどうかという提案があった。
- ・また街中では人の目に多く触れるので、盗られない様に監視カメラを付けるという案が出た。



図(1)-16 研究員によるミニ講座



図(1)-17 グループに分かれての話し合いの様子
得られた意見は文書にまとめ、これまでの活動と今後の展望を書き加えた報告書を作り、青葉山麓研究所を通して全里親に郵送し、情報の共有につとめた。

表(1)-2 高浜町オオキンレイカリ親制度実績

□ 2013 年播種分（稜線付近から集めた種子）

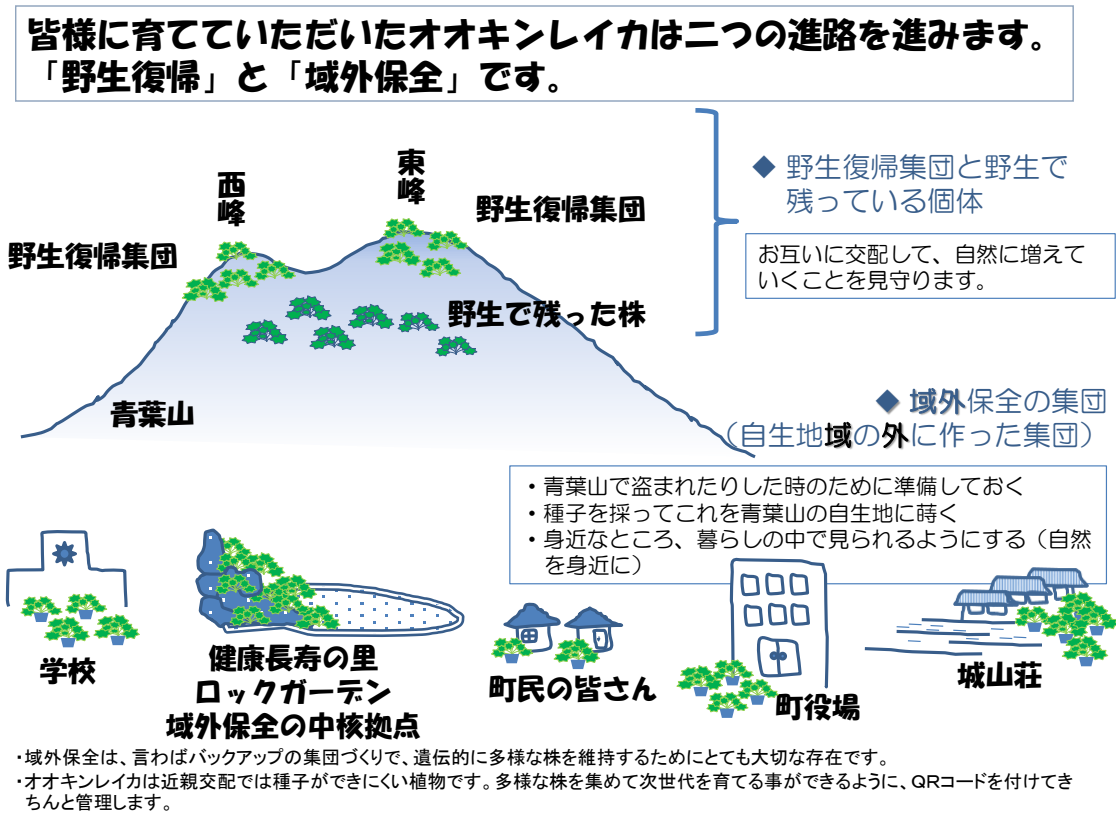
- 植物園から高浜町に送った株数：114 個体
- 東峰に植え戻した個体数：27 個体
- 西峰に植え戻した個体数：16 個体
- 現在のところわかっている枯死数：33 個体
- 里親様の手元に残っている個体数：38 個体

□ 2014 年播種分（北面から集めた種子）

- 植物園にて育成中の苗：369 個体



図(1)-18 京都府立植物園にて育成中のオオキンレイカの苗



図(1)-19 高浜町里親向けの説明イラスト

d 高浜町内全ての小中学校への苗委譲

2017年6月に高浜町教育委員会から要請があり、高浜町内の5つの小中学校へ京都府立植物園よりオオキンレイカを寄贈した。今回は青葉山北面にて発見された大群落から採集した種を元に作った域外保全集団を配布した。配布した植物の数は合計274個体で、38個体は京都府立植物園の域外保全コレクションとして残された。配布された植物の一部は里親制度の一環で児童に託され、将来的には公共施設に植え付けられる。残りは学校内に域外保全集団として植ええられる。



図(1)-20 府立植物園のトラックにて搬送されたオオキンレイカ(左)と高浜小学校での贈呈式の様子(右)

e 地域における自然観察会の実施

本研究課題におけるサブテーマ1は、希少種が生育する地域のなかで持続可能な(自律的な)域外保全集団づくりを構築することを目指した。その結果、地域住民が地域の自然に対する関心が高まり、自然観察会や小中学校における授業などへの貢献を求められるようになった。

「希少種の域外保全集団形成」を実効的なものにするためには、希少種保全を推進したい行政や研究機関が欲する要求を地域に求めるだけでなく、反作用として 地域が求める生物多様性学習に対しても貢献するような「双方向性の交流」が必要であることを理解した。

前年度2月に開催された里親制度意見交換会にて、里親としてオオキンレイカを育てたことから自生地である青葉山にも興味が広がったので、ガイド付きの観察会を催してほしいという要請を受けた。それに応えて2017年7月に里親を対象に自然観察会を催した。当日は内浦小中学校関係者を中心に合計76名が参加した。上りでは先頭に行く大学関係者が植物にその名前を書いた紙を貼っていき、一行はそれを見て植物の名前を学んだ。西峰と東峰に植え戻したオオキンレイカとも再会を果たし、里親を務めた児童や成人ボランティアはとても喜んでいた。また、開花している野生のオオキンレイカも見ることができた。



図(1)-21 青葉山自然観察会の様子。上左：登山の様子 上右：自生しているオオキンレイカ
中：2015年10月に導入されたオオキンレイカ。開花しているものが見られる。下：集合写真

f 公共施設における域外保全集団の作成

2016年12月、高浜小学校にて維持管理されていた39株の里親制度の株を 建設中の高浜町新町舎の北側のスロープ前の花壇に植えつけた。準備として大学から研究員が赴き、町職員、青葉山麓研究所職員、地元造園業者とともに作業し遺伝的多様性を考慮した植物の配置の仕方を指導した。

高浜町における域外保全集団は、栽培を担った各小中学校の校庭に作成すると共に、このような公共施設（地域の公民館、保健所、歴史資料館など）にも順次に作成していくことになっており、その実施にあたっては高浜町役場の協力を頂いている。なお、この行事にあたっては、京都大学からスタッフが赴いて配置などを指導した。



図(1)-22 高浜町新町舎への植え付けの準備

植え穴を掘って、植える鉢が配置されている。遺伝構造ごとにラベルに色分けをしている。



図(1)-23 高浜町新町舎への高浜小学校によるオオキンレイカの植え付け当日の様子

g 域外保全集団づくりにおける自立

2017年3月には、内浦小中学校にて里親制度で管理していた35株が内浦公民館の前庭に植えられた。これは大学側からは電話にて植え方の指導を行ったのみで、植物の配置やその後の植栽図の作成などは前回に倣って町職員、青葉山麓研究所職員が自発的に自ら主導して行った。地元への技術移転が進んでいることを示唆する画期的な事例になった。



図(1)-24 内浦公民館への内浦小中学校によるオオキンレイカの植え付け
地域で自発的に準備計画された最初の事例になった。

3) チチブイワザクラ

前述の二企業、株式会社秩父太平洋セメント、株式会社菱光石灰工業によって域外保全が行われており（図(1)-25）、本研究ではDNA抽出のための葉の採集、保全株のデータベース化を行った。



図(1)-25 株式会社秩父太平洋セメントによるチチブイワザクラの域外保全株

保全株集団における結実率や発芽率、実生の生存率が低迷し、また再導入後の成功率も低いという問題に対応するため、昨年度は繁殖特性の解明ならびに遺伝マーカーを用いて域外保全集団の遺伝的多様性と集団遺伝構造の評価を行ってきたが、今年度は継続して繁殖に関する観察を行うことになっており、特に受粉に関わる訪花昆虫を観察した。

1週間の観察の末、域外保全株が育成されている場所を訪れる訪花昆虫の多くはビロードツリアブであることが明らかになった。しかし域外保全株が育成されているケージ内は遮光が施されており、ビロードツリアブにとっては暗すぎるためか中に入ってくることはない。ためしに実験者が鉢を3時間ほど外に出したところ頻繁な訪花を確認した。以上の結果から、結実率を向上させるためには開花期にはケージ内の遮光を減らし、光量を上げて昆虫の訪花を促進することを会社側に提案した。

また平地のニホンサクラソウに寄生するニホントリバという寄生蛾が、チチブイワザクラ域外保全株にも寄生する事を確認した。本来の自生地では遭遇することのない寄生虫であるが、域外保全株は本来の自生地よりも標高が500mほど低い場所にあるために、ニホントリバの生育域と重なってしまったようである。比較的高い標高に生育する植物を低地で域外保全する際には、自生地との標高差から生じる気候の変化のみならず、昆虫相の違いも考慮に入れなければならない事がわかった。



図(1)-26 (株)秩父太平洋セメント三輪鉱業所におけるチチブイワザクラ域外保全株

左上：2016年に観察されたポリネーターの1種ビロードツリアブ

左下：同年に観察された、ニホントリバの産卵。葉の裏側に産卵していた

右：同年のケージ内にての開花の様子。多くの個体で開花している管理されている

菱光石灰工業では石灰石掘削跡地のテラスにフサザクラやヤシャブシなどの緑化植樹を行っており、20年前にチチブイワザクラ域外保全株200株を野生復帰させたことがあることを聞き取り調査した。残念ながら現在に残存するのは20株であり、活着率は10%である。域外保全だけでも困難であるうえに、野生復帰には克服するべき課題が多く残っていることを認識した（なお、当時はまだテラス造成後の間もない時期で、植樹された木々もまだ若く強い日差しが地面を直射していたと思われる。想像に過ぎないが、本種の生育地としては不適切であったと思われる）。

20年を経た現在、石灰石掘削跡地のテラスは緑化が進み、石灰岩の母岩にも草が生育を始めていることから、時間の経過とともにチチブイワザクラに適した環境条件が満たされるのを待って植え戻すことができれば生存率も向上するだろうと思われる。それまではできるだけ遺伝的多様性を維持したまま域外保全株を保持することが重要であるが、現在の域外保全集団では実生が形成されない問題があり、後述の遺伝的多様性の数が比較的高いことと符合しない。今後の研究が必要である。

4) ジョウロウホトトギス

京都府立植物園は日本植物園協会のホトトギス類の保全拠点園であり、ジョウロウホトトギスについては、全ての産地由来の苗を腰高の素焼き大鉢1鉢あたり4株植え込んでいる、合計で21鉢を維持している。また、自生地 of 地元である高知県立牧野植物園と、同県佐川町牧野公園でも、地植えで域外保全を行っている。本研究ではこれら三ヶ所の域外保全集団を対象にして、由来産地や栽培履歴の調査や、遺伝的な多様性、集団遺伝構造の解析を行って、今後の保全方針に役立てて頂くことにした。

京都府立植物園にて維持管理されている集団から78個体、高知県佐川町牧野公園にて育成されている集団から41個体、高知県立牧野植物園にて展示、維持管理されている集団から21個体の葉サンプルを採集した。



図(1)-27 高知県立牧野植物園にて維持管理されているジョウロウホトトギス



図(1)-28 佐川町立牧野公園にて育成されているジョウロウホトトギス

5) チタカンアオイ

愛知県東浦町にて、地元の植物愛好家である前田賢次氏の指導の下で、町立公園の管理を行っているボランティア団体の皆様の協力を頂いて、実生苗の作成を行った。また、育てられた実生苗を域外保全集団として用いる事に関して合意をいただいた。域外保全集団は、自生個体群と分けて育てることにして、同じ公園内の異なる場所に形成した。

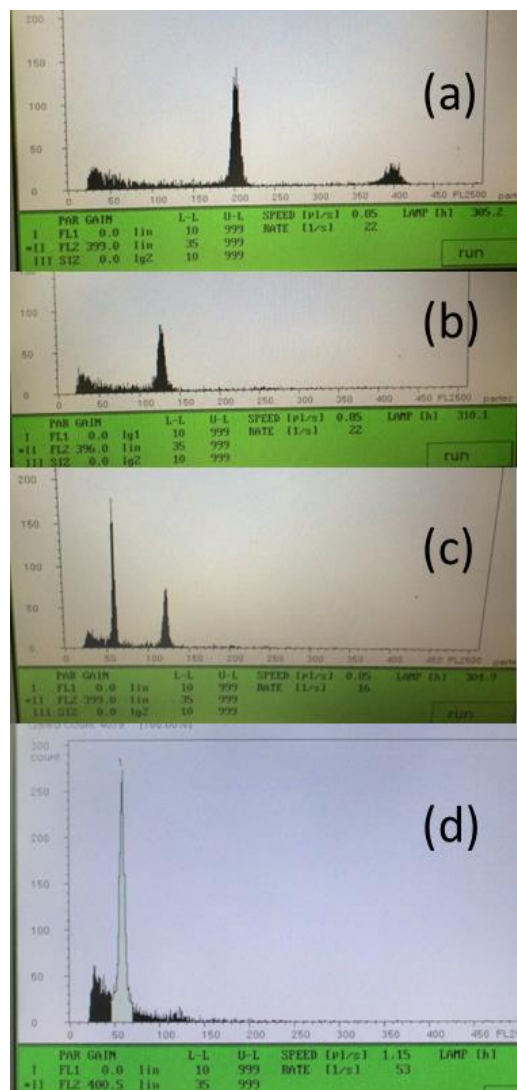
遺伝的な多様性は、すべての野生個体と、全ての域外保全株についてマイクロサテライト解析で行った（後述）。



図(1)-29 チタカンアオイ 自生地で人工授粉の作業をしている様子（左）、自生地における自生個体の生育の様子（右）。自生個体の脇には、赤いペイントを施した竹串が挿してある。後に、これらを全てQRコードタグにした。

6) キブネダイオウ

a 交雑種対策



図(1)-30 フローサイトメーターによる交雑検定

(a) キブネダイオウ

(b) 交雑種

(c) エゾノギシギシ、4C のピークが含まれている

(d) 北海道より採集したエゾノギシギシ

2016年早春に貴船川流域にてキブネダイオウと思われる新芽から葉サンプルを採集した。また、京都府立植物園にて維持管理されているキブネダイオウの域外保全集団もサンプリングした。合計270サンプルを二度にわたり千葉大学園芸学部中村郁郎教授の指導の下、フローサイトメーターにて測定した。

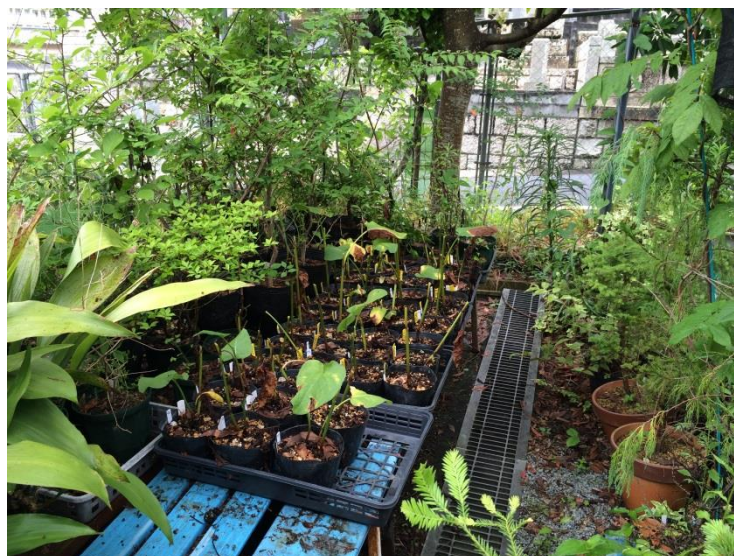
フローサイトメーターは細胞あたりのDNA量を相対的に測定することができる機器で、外来種エゾノギシギシやその交雑種の同定を簡易に行うことができた。まず、形態的にキブネダイオウであると同定されている個体をスタンダードに用い、ゲノム量のゲージを200にセットした。その後、実際のサンプルを測定して、同じように200にピークが現れるものをキブネダイオウと判断した。測定の結果、図(1)-30(a)のように200にピークが出るもの、120にピークが出るもの(b)、50と110に二本ピークが出るもの(c)の3パターンに分かれた。

一つ目のパターンをキブネダイオウ純系、二つ目のパターンを交雑種と判定した。三つ目のパターンに関して最初は別のタイプの雑種かと思ったが、後に北海道から純系のエゾノギシギシを入手し測定した結果(d)を鑑みて、エゾノギシギシであろうと判断した。110のピークは細胞周期の4Cのピーク(G2/M期)が出たと推測した。

その結果、貴船川流域に関してはキブネダイオウの純系と判断されたものは55個体、交雑種は8個体、エゾノギシギシが123個体という結果になった。植物園にて育成されている域外保全集団用の個体に関してはすべて純系であることがわかった。この結果を受けて、貴船川流域では純系以外はすべて伐根、あるいは除草剤を葉に塗布することによって駆除した。鹿による食害が深刻なので、キブネダイオウ純系と判断されたものは掘り取って大学の温室にて緊急保護した。後に京都府立植物園に維持管理を委ねた。

b 他の植物園への分譲

京都府立植物園には貴船産と岡山産を由来とする実生苗の両方が存在していた。キブネダイオウに関して遺伝解析を行っていないため貴船産と岡山産の遺伝構造に関する詳しい情報はないが、異なる産地間で交配するリスク（これも遺伝子汚染の範疇に入る）を避けるため、岡山産のものはすべて別の植物園に移すことになった。岡山市立半田山植物園に44鉢を分譲した。その際に11鉢が広島市植物公園に渡った。これらの植物園の間における分譲は、全てデータベースで管理され、QRコードタグの付加によって、トレーサビリティを担保した。



図(1)-31 岡山市立半田山植物園にて維持管理されているキブネダイオウ

c 自生地の地元である鞍馬小学校、鞍馬保育園における域外保全集団の形成

キブネダイオウの自生地である貴船川流域では、鹿による植物の食害が深刻であり、キブネダイオウもその食害対象になっている。貴船川に沿った土地に建つ京都市立鞍馬小学校で域外保全集団を維持して頂くことになった。高さ2mの金属フェンスで囲った空き地があり、その一角を域外保全集団用の花壇スペースとして学校から提供して頂いた。移植予定地には、予め土壌改良を施しておいた。

2017年3月6日に京都府立植物園にて増殖していた実生苗31株を児童と教職員に「里親」として委託した。贈呈にあたっては、貴船の自然とキブネダイオウという植物について京都大学スタッフから説明するとともに、京都府立植物園の職員が育て方について授業を行った。

児童・教職員による植え込みには、地元の自治会関係者も集まって頂き、学校を核にした地域全体でキブネダイオウの保全をお願いした。

また同日に、近接する鞍馬保育園にも13鉢を寄贈した。こちらは保育園職員の方々が植えた。



図(1)-32 京都市立鞍馬小学校でのキブネダイオウの植え付け

(2) マイクロサテライト (SSR) マーカーによる遺伝情報の取得と分析

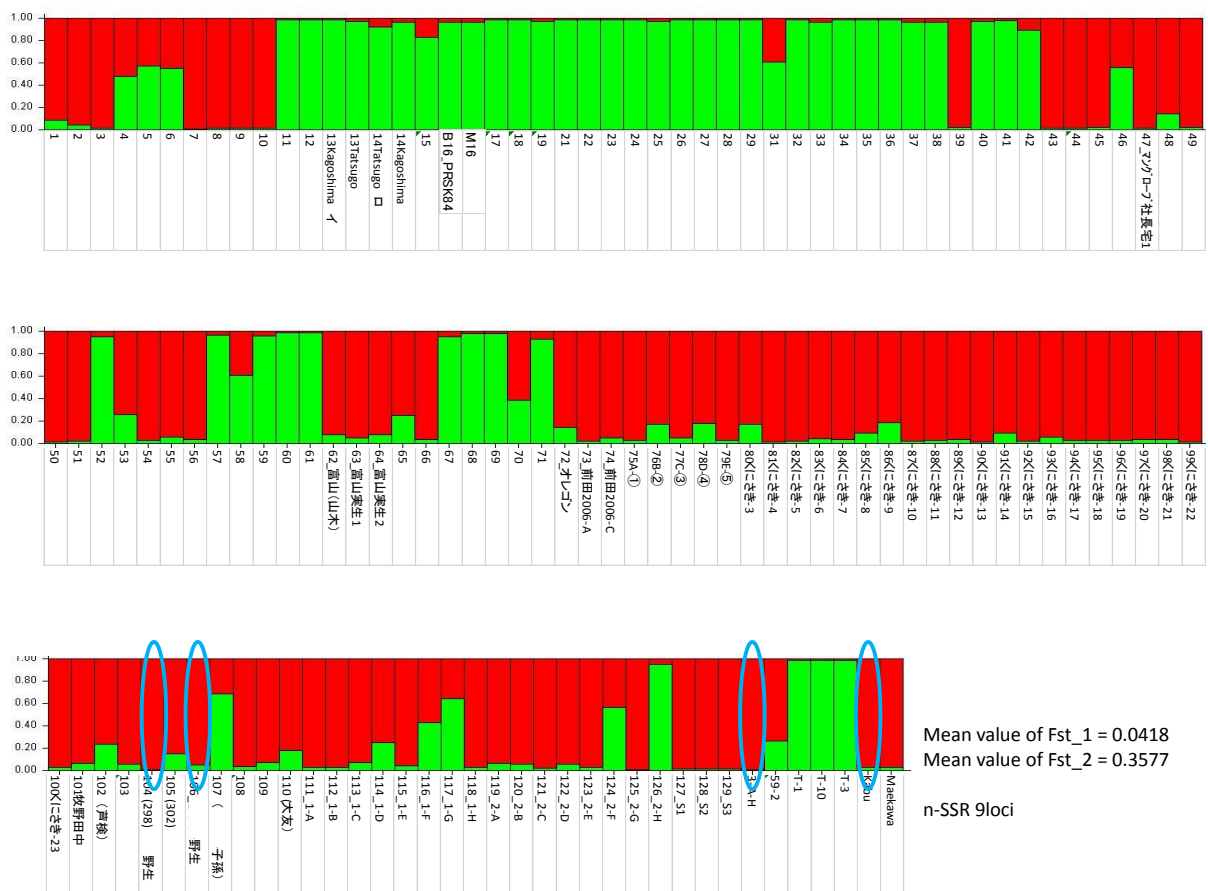
1) アマミアセビ

これまで随時集めてきた個体を含めて収集した全個体、137個体を統合して遺伝解析を行った。アマミアセビは野生から採集されたものは4個体のみで採集地が不明なものが多いため、集団に分けて遺伝解析にかけることはできなかった。遺伝的多様性を評価する解析では、ヘテロ接合度 (H_0) が高く、近親交配の度合いを示す近交係数 (F) も低いので、域外保全集団としては遺伝的多様性が高く維持されていることがわかった。

表(1)-3 アマミアセビ域外保全集団の遺伝的多様性の評価

Pop		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
Pieris	Mean	137.000	8.889	3.670	1.480	0.648	0.706	0.708	0.082
	SE	0.000	0.978	0.376	0.103	0.053	0.028	0.028	0.067

次に、遺伝構造を調べるため、STRUCTURE解析を行った。最適なクラスター数は $K=2$ で野生種がどちらのクラスターに入るのかに注目した(図(1)-33)。青の楕円で囲まれた部分が野生種を表すが、すべて赤いクラスターが優勢な遺伝構造を持っていた。一方で緑のクラスターを持つ野生個体がないということは、自生地では緑のクラスターをもつ個体や集団がすべて失われてしまったということを意味する。逆を言えば、野生で失われた遺伝構造を域外保全集団が維持していたということになり、域外保全の意義がより大きくなった。



図(1)-33 アマミアセビ域外保全集団全個体の遺伝構造解析バーチャート

京都府立植物園にて維持管理されているアセビであるが、差し穂を採取した親木が「山採り」個体だけではなくて、挿し木によって増やされた個体の可能性も多くあった。この場合には、親木が異なっても遺伝的には同一なクローンである。そのため、クローン検定を行うことが今回のデータ統合の大きな目的であった。クローン検定ではクローンがリストアップされるが、個体間遺伝距離を測って主成分解析を用いて図にしたものが図(1)-34のようになる。

クローン個体は多くの個体識別番号が一点に集中しているため明らかである。京都府立植物園では引き続きすべての個体を維持管理する予定であるが、今後他の植物園へ委譲する場合にクローン個体を省いて送ることができるので、無駄を省くことができる。また今後宇検村立田検小中学校へ送る際にも遺伝子型が重ならないように送ることができた。

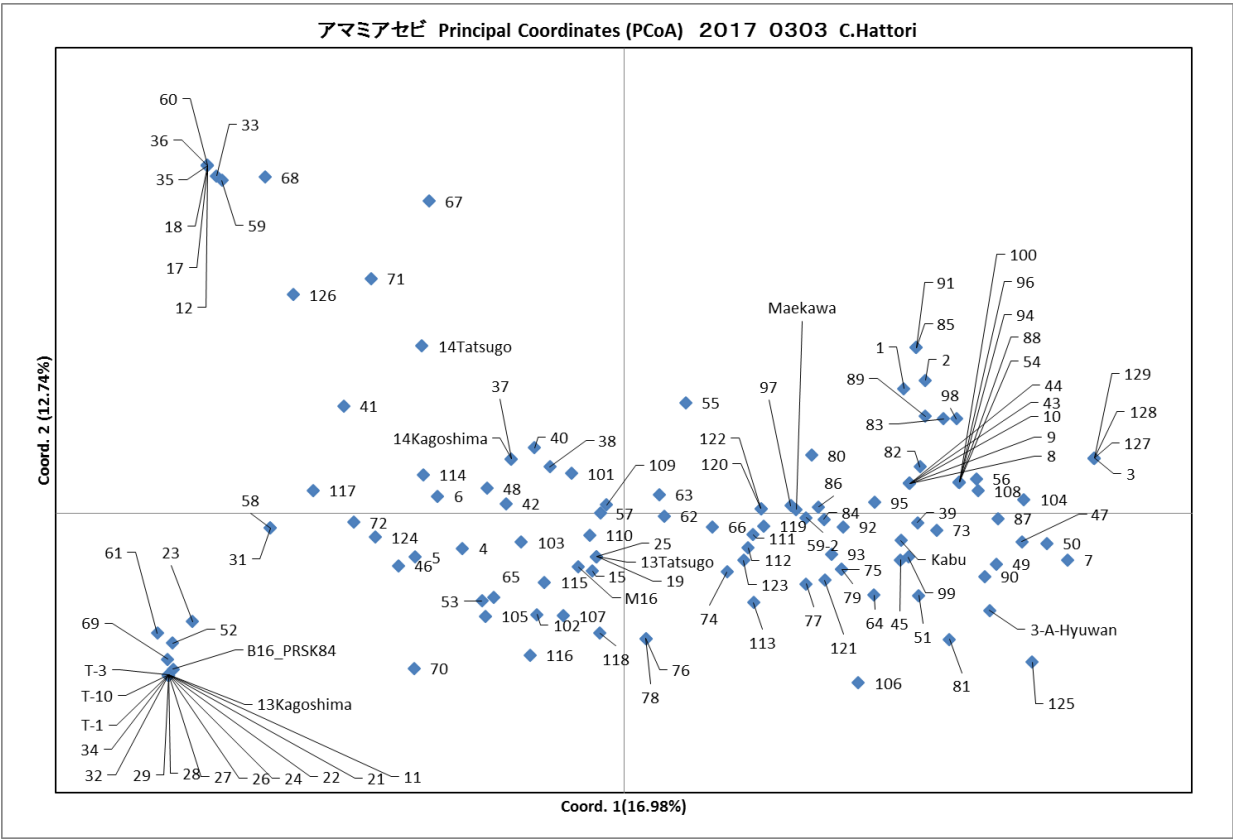


図 (1)-34 アマミアセビ域外保全集団の遺伝距離図

2) オオキンレイカ

青葉山の固有種と認識されてきたオオキンレイカであるが、2005年に京都府丹後半島にて大群落が発見され、この大群落を青葉山での再生に利用できるか否かを検討する必要性があった。そこで、青葉山自生個体から47個体、平成26年度に青葉山から種子を採取して生育させた実生苗（＝域外保全用増殖株）から105個体、京都府丹後半島の群落から60個体を用いてSSR解析に用いた。

表 (1)-4 オオキンレイカ野生群、域外保全株の各集団における遺伝的多様性

産地		マーカー数	N	N_A	P^*	H_O	H_E	F	N_e (95% CI)
青葉山	野生	14	47	3.643	2.214	0.384	0.473	0.195	12.3 (8.5 - 17.6)
	域外保全株(次世代株を含む)	14	105	4.357		0.264	0.510	0.483	
京都	野生	13	60	1.846	0.500	0.081	0.188	0.625	15.1 (3.6 - 52.0)

N, 解析に用いた個体数; N_A , 一遺伝子座あたりの平均アレル数; P^* , 一遺伝子座あたりの固有アレル数の平均値 ; H_O , ヘテロ接合度実測地; H_E , ヘテロ接合度期待値; F , 固定指数; N_e , 有効集団サイズ ; *. 文献「青葉山のオオキンレイカを題材とした希少野生生物の個体群復元」より引用

解析結果では、個体数が激減していて発見した全個体を投入した青葉山のオオキンレイカは遺伝的多様性に富んでおり、逆に生育個体数がきわめて多い丹後半島のものでは、遺伝的多様性が低い結果になるという、現在の生育状況とは真逆な結果が得られた。例えば表(1)-2にあるようにヘテロ接合度観測値(H_o)は、青葉山が0.384であるのに対して丹後半島は0.081にすぎない。一遺伝子座あたりのアリル数(N_A)にしても、青葉山は3.643であるのに対して丹後半島は1.846、一遺伝子座あたりの固有アリル数(多いほど独自の遺伝子型を多く保有する)も青葉山は丹後半島の4倍の固有遺伝子型を保有していた(青葉山 $P=2.214$ 、丹後半島 $P=0.500$)。このような結果は、集団の繁殖様式を示す固定指数(F)にも相違として現れており、青葉山では0.195であるのに対して丹後半島においては0.625と非常に高い数値を示した。これは、丹後半島のオオキンレイカ集団のほうが、より強い近親交配によって、次世代形成を行っていることを示唆している。

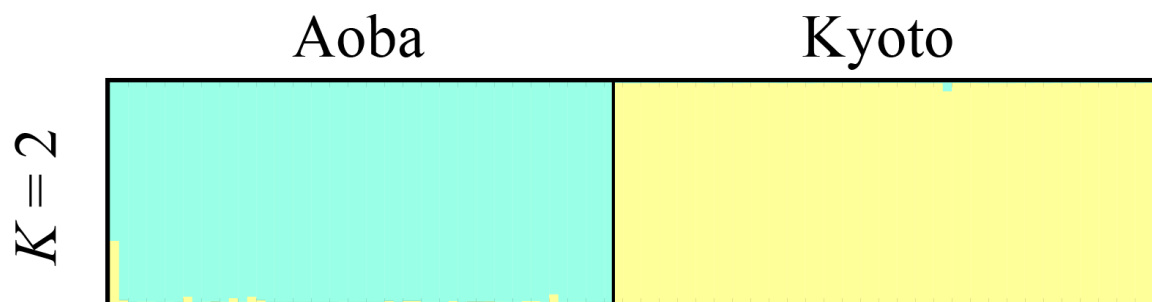
丹後半島の60サンプルは、広い面積に4箇所の分集団から構成される自生地全体を代表するように、広範囲から採取したものであるので、集団全体を代表する数値であると考えられる。集団サイズについては京都府文化環境部自然環境保全課の要請により言及できないが、青葉山の自生集団よりも遥かに多数の個体で構成されている。したがって、サンプリングバイアスの影響は無いと思われる。丹後半島の自生地は、山の斜面が地滑りを起こして岩盤が剥き出しになっており、地滑りの際に崩落した土砂が斜面の最下部に堆積していた。このような要因を考えると、丹後半島の集団は遺伝的多様性を失った小さな規模の集団に由来して、これが生育に適した岩盤が地滑りによってもたらされたために個体数と生育地の面積を拡大したと考えられる。これは集団遺伝学における典型的な「創始者効果」の事例であり、遺伝的に乏しい小規模集団に由来する集団は、たとえ規模が拡大しても源の多様性が乏しいために遺伝的な多様性が低いままであると解釈される。

一方で本研究の対象である青葉山では、遺伝的多様性に富んだ大規模集団が「間引き」をされるように盗掘されて規模が縮小したために、遺伝的な多様性が残存していると考えられる。青葉山が位置する若狭湾沿岸一帯は、第四紀更新世の気候変動が激しかった時代においても気温が温暖で湿度が保たれた地域であり、温帯性の植物が安定して生育できた場所であることが化石データおよび現存する様々な温帯林樹木のDNA多型から明らかになっている。オオキンレイカにおいても、同様な歴史的経緯、すなわち地史的なタイムスケールにおいて、青葉山とその周辺地域に集団を維持し続けたことが想定される。その根拠は、50個体ほどに集団サイズを減じていながらも、遺伝的多様性を高く保持していることである。また、このことは、現存する青葉山の個体を基にして実生個体を増殖することによって、遺伝的な多様性を保有し続ける個体群を回復させることが可能であることを示している。

域外保全株と採集地での自生株との比較からは、解析に用いられた域外保全株には次世代株を含むため、域外維持管理の宿命ともいえるボトルネックの影響が示唆された。ヘテロ接合度観測値(H_o)が野生のものでは0.384であるのに対し、保全株では0.264と少なくなっている。また固定指数も野生株では0.195であるのに対し、保全株では0.483と高い数値となった。野生株の域外管理への継続的な導入、あるいは野生株から採集した花粉を用いた人工授粉、遺伝的距離を考慮した鉢の配置など、集団内での遺伝的多様性を維持しながらの域外管理の方法の模

索を迫られる結果となった。

また京都丹後半島の大群落を青葉山での再生に利用できるか否かについてSTRUCTURE解析を使って検討した。その結果、青葉山と京都丹後半島の集団は全く異質であり、保全に当たっては個別に行うべきことが示唆された(図(1)-35)。この結果を受けて京都府立植物園では、両者をそれぞれ充分に離れた場所または温室にて管理して、担当する職員も別にするという対策をとっている。



図(1)-35 オオキンレイカの遺伝構造

各個体は二つのクラスター（青と黄）に分けられ、それぞれの程度の割合で帰属するかを示したものの。横軸は各個体をあらわす。青葉山と京都丹後半島の群落は全く異なる遺伝構造をもつことが明らかになった。

既に解析済みの青葉山稜線部から採集された野生個体群に新しく得た青葉山北面斜面の野生個体群、北面斜面の野生種から採集した種子から形成された域外保全株のデータを統合し、再度解析を行った。

表(1)-5から遺伝的多様性について北面斜面と稜線部から採集された野生種を比較すると、多様性を表す遺伝子座あたりの対立遺伝子数 (N_a) とサンプルサイズに依存しない有効対立遺伝子数 (N_e) の両方で北面個体群の方がそれぞれ4.909、2.344で稜線部の数値3.182、2.096よりも大きかった。ヘテロ接合度観測値 (H_o) も稜線部が0.481であるのに比べて北面では0.530で、北面斜面にある個体群は稜線部よりも多様性高いことが明らかになった。一方で近親交配の度合いを示す近交係数 (F) においては北面が0.279、稜線部は0.150と稜線部のほうが低く、北面個体群が稜線部と比べると孤立の度合いが大きい事がうかがわれた。稜線部では近交係数が低いことから広くランダムな交配が行われている事が伺える。稜線部で野生種に比べて域外保全株の対立遺伝子数が多いことから、いまだ採集されていない別の集団の存在が示唆され、そこからの遺伝子流動が起こっている可能性がある。今後、さらに範囲を広げて探せば、新たな対立遺伝子を持つ個体群が見つかる可能性が高いと思われる。

表(1)-5 青葉山オオキンレイカ、野生種と域外保全株の遺伝的多様性評価

Pop		個体数	N_a	N_e	H_o	H_e	F
青葉山北面子株	Mean	118	5.000	2.460	0.408	0.547	0.239
	SE	0	0.486	0.247	0.035	0.048	0.050
青葉山稜線部子株	Mean	147	4.091	2.177	0.269	0.491	0.435
	SE	0	0.563	0.230	0.029	0.051	0.041
青葉山北面野生株	Mean	43	4.909	2.344	0.385	0.530	0.279
	SE	0	0.639	0.256	0.044	0.042	0.046
青葉山稜線部野生株	Mean	13	3.182	2.096	0.406	0.481	0.150
	SE	0	0.400	0.185	0.063	0.050	0.094

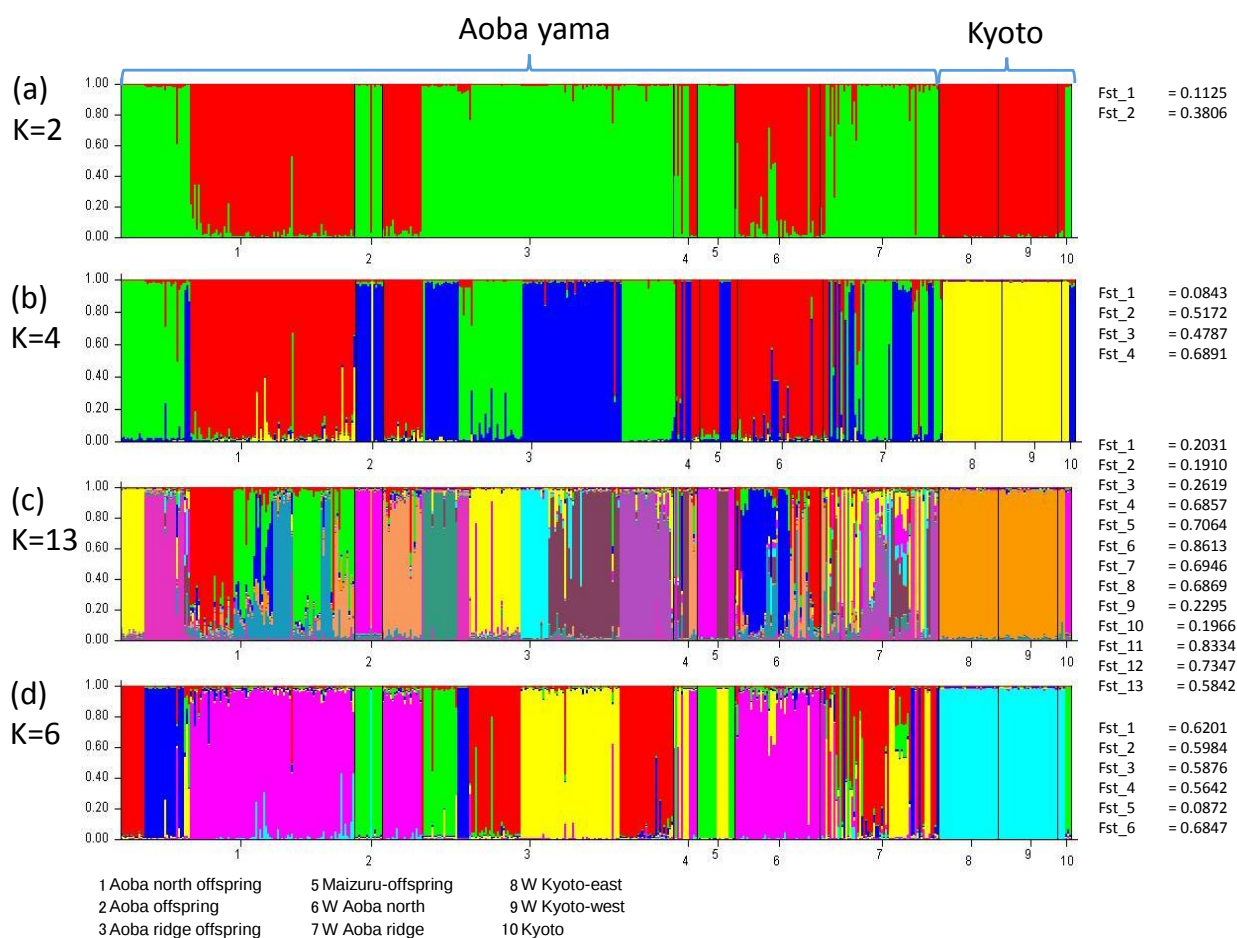
次に遺伝構造を調べるため、STRUCTURE解析を行った(図(1)-36)。まず先行研究も加えたデータを解析にかけ、STRUCTURE harvesterを用いて最適なクラスター数を調べた。もっとも支持されたクラスター数は $K=2$ 、その次が順に $K=4$ 、 $K=13$ 、 $K=6$ である。京都府の別の地域で見つかった個体群(グループ8, 9, 10)との関係を見みた結果、 $K=2$ (図(1)-36(a))では北側斜面個体群(グループ1, 6)は稜線部(グループ2, 3, 4, 5, 7)に比べてより京都府産の個体と共通性を持っていることがわかった。

北側斜面グループ1の緑の部分、稜線部グループ3の赤の部分はそれぞれ母個体番号26、1に由来している子株であるが、26番は稜線部に、1番は北側斜面グループに似た遺伝構造を持つ。北側斜面と稜線部は接しているので、この2個体はその境界を示すものと思われる。

またグループ10は京都府立植物園にて長い間引き継いで育てられてきた株ですべて京都府産だとラベリングされてきた。しかし構造解析によると明らかに青葉山のものが混じっている。おそらく長い栽培の間にラベルの挿し間違いが生じたものと思われる。

$K=4$ (図(1)-36(b))で見ると京都産(グループ8, 9, 10)は明らかに他の青葉山のグループから分離している。北面グループ(グループ1, 6)の中には京都産と部分的に共通の要素を持つ個体もある。

$K=13$ (図(1)-12(c))ではより細分化された構造が明らかになり、域外保全株のグループ(グループ1, 3)では母親を同じくする子株グループで分離してきた。また、前述のグループ10のラベルの間違いは植物園のコレクションであるグループ2かグループ5との間で起こった可能性を推測する事ができた。



図(1)-36 オオキンレイカの遺伝構造解析

稜線部から作られた域外保全株と北側斜面から作られた域外保全株を混ぜて扱うか、隔離して扱うかという問題について検討するため、遺伝距離を計算しそれを基に系統分析と主成分分析を行ってそれぞれの関係性を調べた。

系統分析では母個体を共にする域外保全株はまとめてグルーピングし、母個体や野生個体には番号の前にWをつけて個体ごとに解析した（図(1)-37）。番号1から25が稜線部、それ以上は北側斜面からの個体である。FW、FE、55、56、57、58は京都府（前述の丹後半島のもの）から見つかったグループをあらわしている。京都府から見つかったグループは青葉山のものから明確に分かれた。また稜線部は図の右側に集中していた。北側斜面はその中間に広い範囲で位置している。北側斜面でありながら稜線部に入っている26番、逆に稜線部から採取された個体でありながら北側斜面グループに入っている1番はSTRUCTURE解析のK=2の結果を裏付けた。4番も1番と同じく採取場所と異なる系統に近い結果が出たが、STRUCTURE解析ではK=4以降でそれと同じ結果がでた。

主成分分析では明らかに分かれることが予想される京都府のグループは外して調べたところ、系統解析と同じ結果が得られた（図(1)-38）。

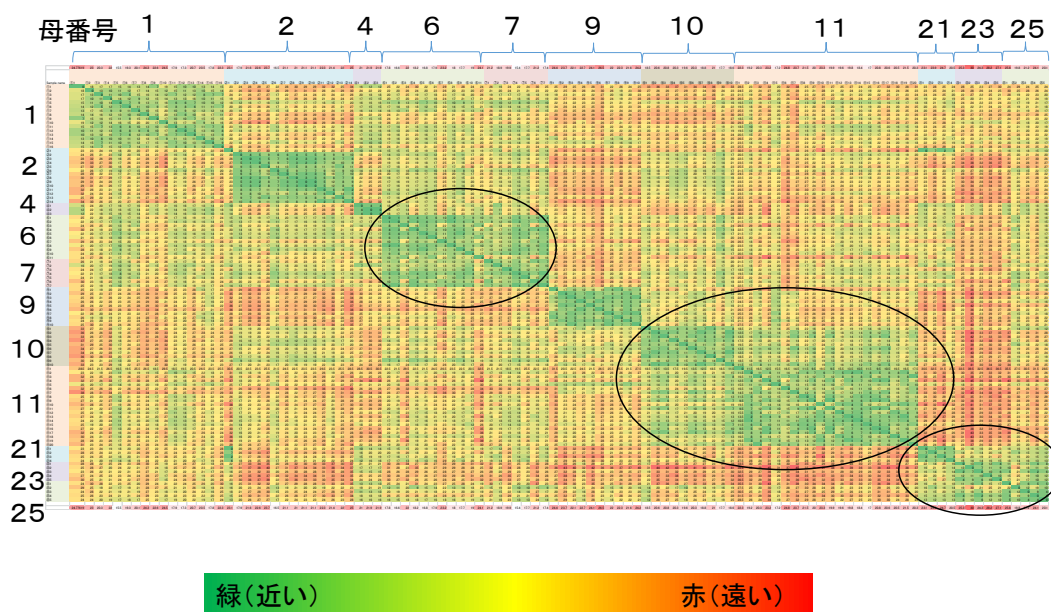
福井県側
稜線部

図(1)-38 域外保全集団用のオオキンレイカ全個体の個体間遺伝距離を基にした主成分分析

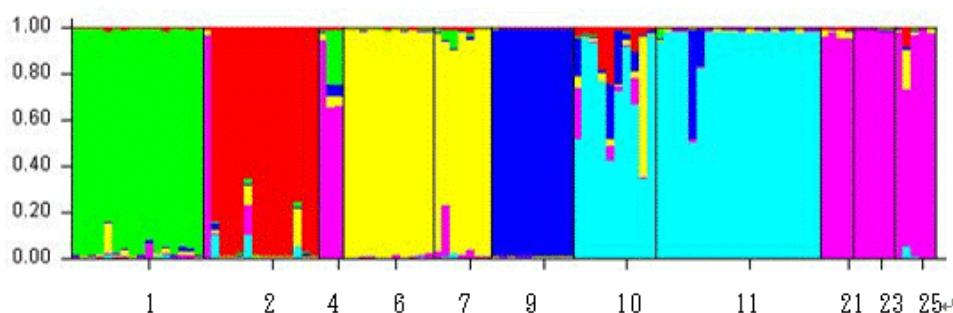
以上の3種類の解析結果により、稜線部から採集した種子によって形成された域外保全株集団と北面斜面からの集団は地理的にも境界は接しているため個体としても接点はあるが遺伝的には集団として距離があることが明らかになった。今のところ稜線部にも北面斜面にも多様性が保持された集団が存在していることが分析から示唆されたため、このままでも稔性は確保され盗掘や急激な気候変動等の外的要因がない限り集団は維持されていくであろう。またそれぞれの生育地の微環境の違い（例えば稜線部は日射が多くて比較的乾燥している、北面斜面では樹木に被陰されて湿潤である）に適応している可能性もある。このような理由から、特に積極的に混生・交配させる必要もないため、今の段階では二つのグループを分けて管理することが適切であると考えた。

植え戻し個体の選別

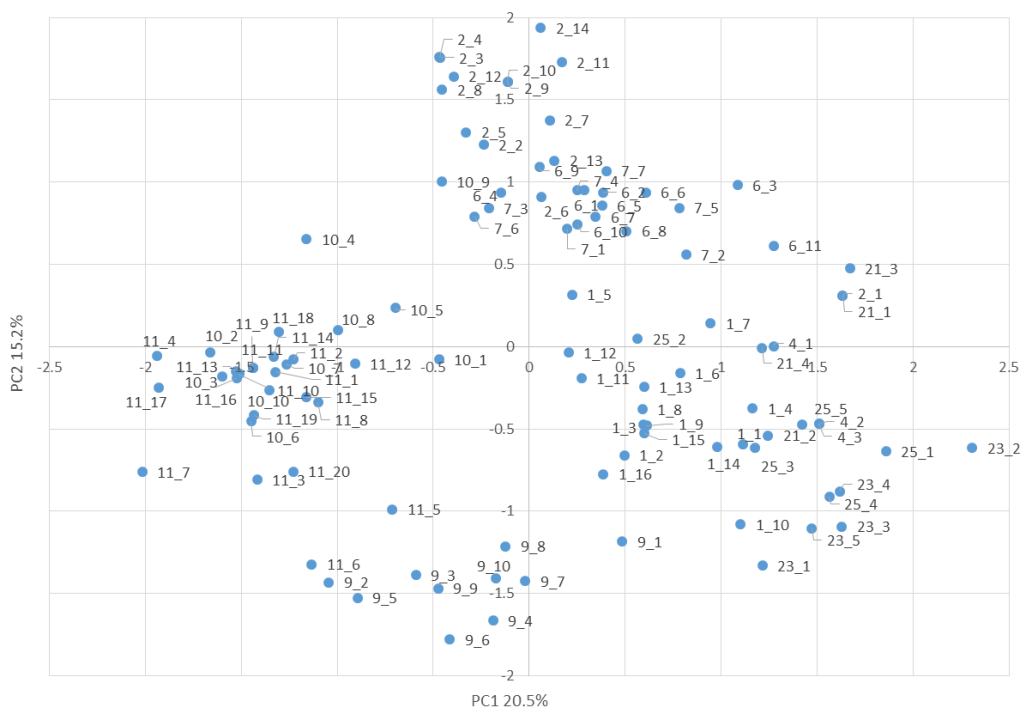
自生地に植え戻しを行うにあたって、遺伝解析の結果を基にして個体の選別を行った。まず遺伝距離の分析（図(1)-39）を行い、同時にSTRUCTUREにて遺伝構造分析を行い（図(1)-40）最適なK値を求め、それにしたがって植物個体をグループに分ける。全グループを網羅するように植物をピックアップするのだが、その際には個体間遺伝距離を算出して主成分分析を行い、それをもとにつくった分散図を参考にして同グループ内でも できるだけ離れた個体を選んだ（図(1)-41）。



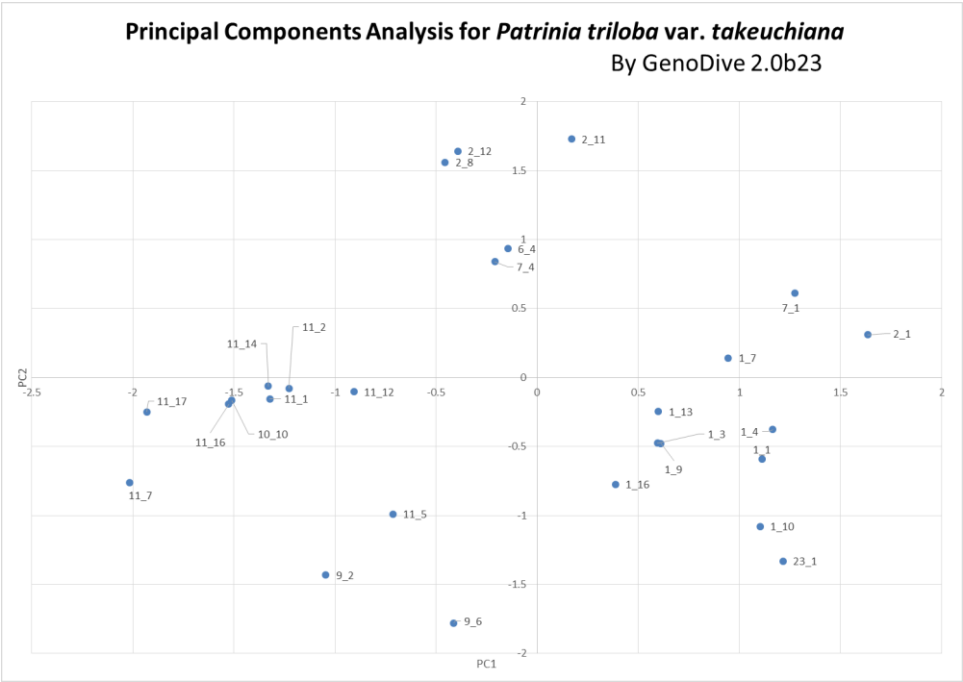
図(1)-39 オオキンレイカ2013年播種株の遺伝距離図



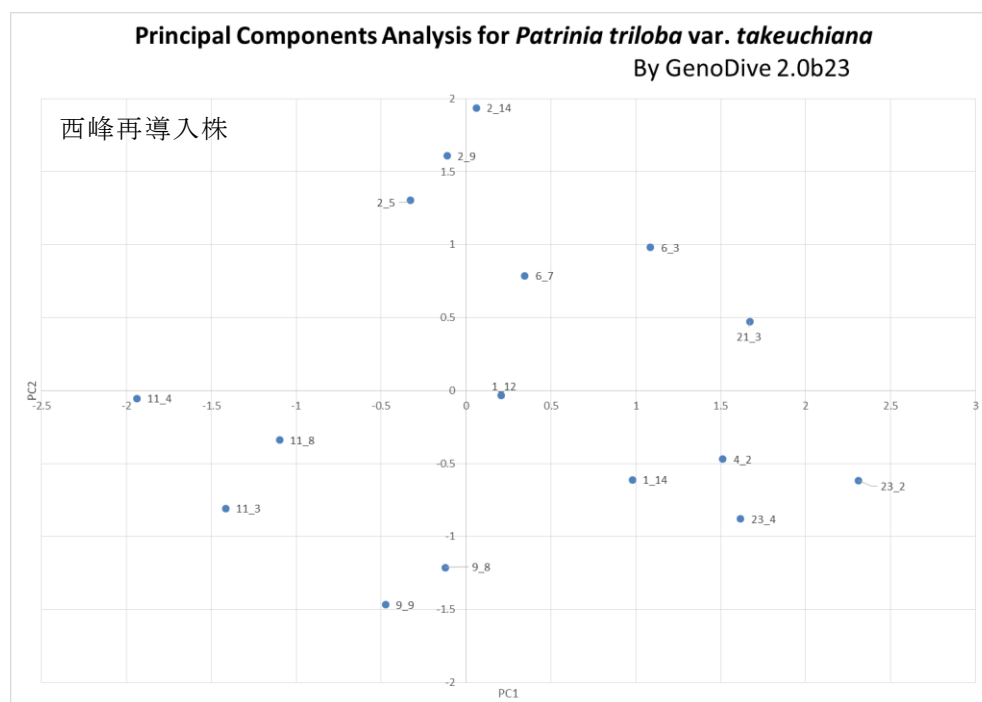
図(1)-40 オオキンレイカ2013年播種株の遺伝構造



a. 2013年に播種した全ての生育株の個体間遺伝距離を二次元に展開した図



b. 青葉山の東峰に再導入した株の個体間遺伝距離を二次元に展開した図。
上の図の枠内にて相互に離れた個体を選抜して、遺伝的多様性を最大にするように選抜した。

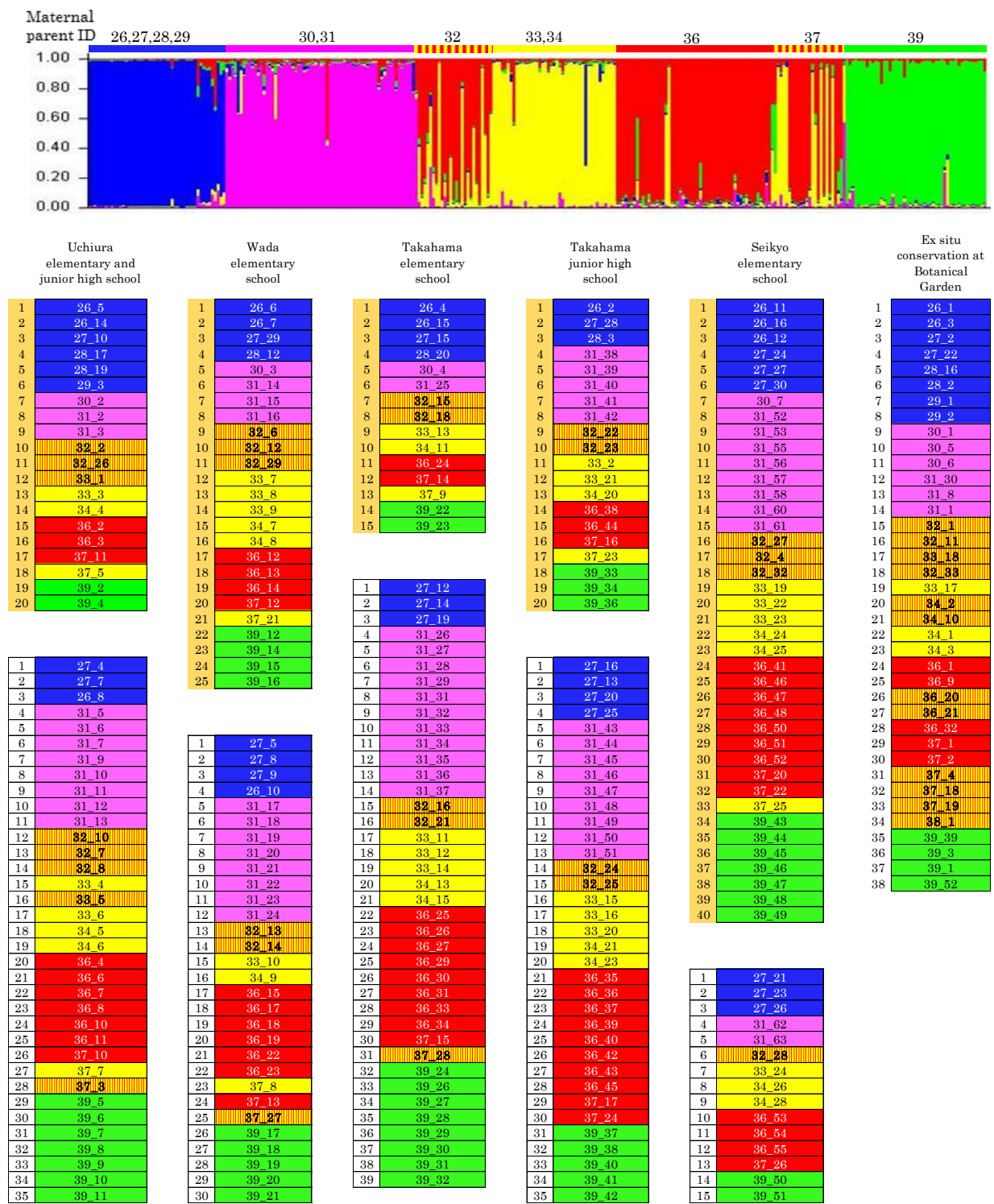


c. 青葉山の西峰に再導入した株の個体間遺伝距離を二次元に展開した図.

図(1)-41 オオキンレイカ2013年播種株と青葉山（東峰、西峰）に復帰させた個体の個体間相互遺伝距離に基づく主成分分析(a. b. c)

野生への植え戻しでは、青葉山の東峰と西峰に植え戻すために各20個体ほどを選ぶ事になった。植え戻し行事は二度に分けて行う事が決まっており、10月の東峰への植え戻しは小中学校の行事として位置づけられたため主に小中学校にて育てられていた個体から、11月の西峰への植え戻しはそれ以外、つまり成人の里親によって育てられていた個体から選ぶことになった。ここで生じた問題は、同じ母株から派生した子株グループをまとめて各里親グループに預けているため里親グループ内で育てているオオキンレイカの多様性がとても低く、近交係数も高かった。その中から選ぶのは容易な事ではなかった。そのため西峰への植え戻しの際には小中学校から残りの株を提供してもらった。今後は預ける段階でそれぞれのグループ内で多様性が高くなるように植物を配布すると、後に植え戻しをする際に株の選定をおこないやすい。

北側斜面の野生個体から採集した種子をもとにして域外保全集団が形成されたが、第二次里親制度が行われた。具体的には今回は小中学校にのみ配布することになり、274個体を5つの小学校での里親制度、5つの小学校内に植え込む集団、京都府立植物園に残す集団、計11集団に割り振ることになった。遺伝解析を用いてもとの域外保全集団が持っていた遺伝的多様性を小集団でも維持できるように、遺伝構造解析を駆使して株の割り振りを行った。ストラクチャー解析によってクラスターごとに割合によって色分けされた個体を同じ割合を維持するように11集団に分配した。またこの色分けは構内や公共施設での植え付け時にもよい種子をつくるためにはできるだけ同じ色を隣り合わせないように配置するようにと指導すると、とてもわかりやすいと好評であった。



図(1)-42 青葉山北側斜面由来のオオキンレイカ域外保全集団を高浜町内の5つの小中学校と京都府立植物園に割り振りをするために作成した集団別遺伝的多様性の構成図

番号の枠がオレンジ色のものは構内に植え付ける集団。枠が白色のものは里親として預かる集団。京都府立植物園には恒久的なコレクションとして維持管理してもらうことにした。

3) チチブイワザクラ (横浜国立大学)

以下の結果、考察は協力機関の横浜国立大学の研究による。

秩父太平洋セメントの保全株180個体、菱光石灰工業保全株20個体、菱光石灰工業野生再導入株24個体をサンプルにしてSSR解析を行った結果 (表 (1)-6)、各域外保全集団間の遺伝的多様性に大きな変化は見られず、同じレベルの遺伝的多様性を保持していることが明らかになった。

表 (1)-6 チチブイワザクラ域外保全集団における遺伝的多様性

集団		マーカー数	N	N_A	N_E	AR	H_O	H_E	F_{IS}
秩父太平洋セメント	保全株	11	180	5.455	1.584	2.902	0.322	0.366	0.067
菱光石灰工業	保全株	11	20	2.636	1.583	2.636	0.418	0.340	-0.201
	野生再導入株	11	24	3.000	1.749	2.882	0.352	0.396	0.102

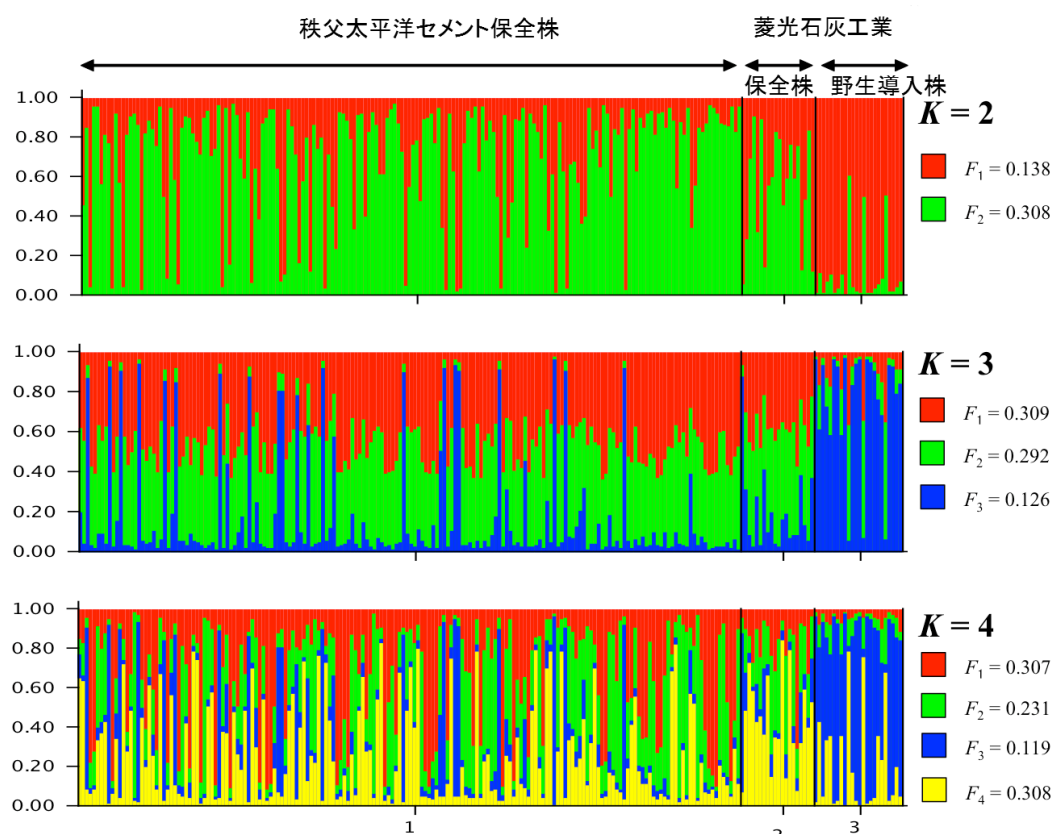
N, 解析に用いた個体数; N_A , 一遺伝子座あたりの平均アレル数; N_E , 有効平均アレル数; AR, アレル多様度; H_O , ヘテロ接合度実測値; H_E , ヘテロ接合度期待値; F_{IS} , 近交係数

一遺伝子座あたりの平均アレル数 (N_A) には差があるものの、それはサンプル数の影響をうけたと見られる。サンプル数に依存しないアレル多様性を示す有効平均アレル数 (N_E) やアレル多様度 (AR) には集団内で大きな差は見られなかった ($N_E = 1.58 \sim 1.75$ 、 $AR = 2.88 \sim 2.90$)。近交係数 (F_{IS}) はプラスの場合近親交配が進んでいることを示し、マイナスの場合はヘテロ接合度が過剰であることをしめすが、チチブイワザクラでの結果はハーディー・ワインバーグ平衡から期待されているヘテロ接合度 (平衡している場合0を示す) から有意に離れていず、近親交配が殆ど行われていないことが示唆された。

しかしサクラソウ属に限った場合、先行研究によって近親交配による遺伝的多様性の低下は認められず、さらに集団サイズが小さいほど近交係数の値が小さくなる傾向が見られることが明らかにされている。サクラソウ野生集団では近親交配による血縁個体が近交弱勢によって排除されていること、小集団ではヘテロ接合性の高い個体の適応度が高く環境変化に抗して生き残っている可能性が示唆された。チチブイワザクラにおいても結実率や発芽率の低下が大きな問題になっていることから同様の現象が起きている可能性がある。

また、他のサクラソウ属と比較した結果、チチブイワザクラの遺伝的多様性は著しく低いことが明らかになった。その理由として、チチブイワザクラは三度のボトルネックを経験している可能性があることがあげられる。第一はコイワザクラの石灰岩地残存種としての集団成立期に生じた創始者効果、第二は石灰岩採掘に伴う自生地消失と集団サイズの急減によって起こったもの、そして保全株として保護された集団やエリアが限定されていたことによるものである。

さらに、STRUCTURE解析の結果でも（図(1)-43）これまで二箇所で別々の会社にて域外保全されていた集団間には明瞭な遺伝的構造の違いは見られず、これら二つの域外保全集団は一つの保全単位であることが明らかになった。一方、菱光石灰工業の野生再導入株は祖先的なクラスター（ F_{IS} 値がより0に近いもの）をもつ個体が優占しており域外保全集団と比べて独自の遺伝構造をもつことがわかった。この結果から栽培環境下では優占していた派生的な性質を持つ個体が自然環境下において選択的に排除されてしまった可能性が示された。



図(1)-43 チチブイワザクラの遺伝構造

これまで20年にわたり増殖株の再導入が行われてきたが、多くの個体が数年で枯死するという結果になっていた。本研究の結果から移植後に枯死していた個体の多くは栽培環境下において適応的であるものが自生地環境下によって選択的に排除されていた可能性が高いことを示している。一方で祖先的性質を持つ個体は生き延びることができたといえる。

以上の結果から、今後の再導入に際しては植え戻す個体の遺伝的特性に考慮すること、野生再導入株からの花粉の採集を行い、人工授粉をすることによって祖先的性質を保全株に還元すること、栽培下の保全株にも適した環境を持つ移植先の検討をすることが今後の保全活動の前進に大きく貢献すると思われる。

チチブイワザクラの域外保全集団の維持管理には、関わる鉱山会社の理解と情報共有が必須であるために、研究結果の報告と今後の課題について話し合う機会を設けた。平成27年2月25日に秩父太平洋セメントの現地事務所において、横浜国立大学から3名、京都大学から1名、菱光石灰工業から3名、太平洋セメントから9名（うち2名は千葉の中央研究所から）が参加して報

告会・検討会を行った。そして、「遺伝的多様性を維持・回復することが早急に対処すべき課題である」ことを共通の認識として保有して頂き、平成27年度においては、両社が保有する域外保全株間の相互の人工授粉を試行するとともに、未解析の個体のDNA解析用に葉の試料提供を了解して頂いた。

4) ジョウロウホトトギス

京都府立植物園で維持管理されているジョウロウホトトギスは、現存する3カ所の自生地：高知県「葉山」「尾川」「横倉」から種を採取して作られたものである。同園は日本植物園協会ของホトトギス類保全拠点園であり、保有株は域外保全集団として維持されている。本研究ではこれに加えて高知県佐川町立牧野公園で育成されている集団の遺伝的多様性も調べた。

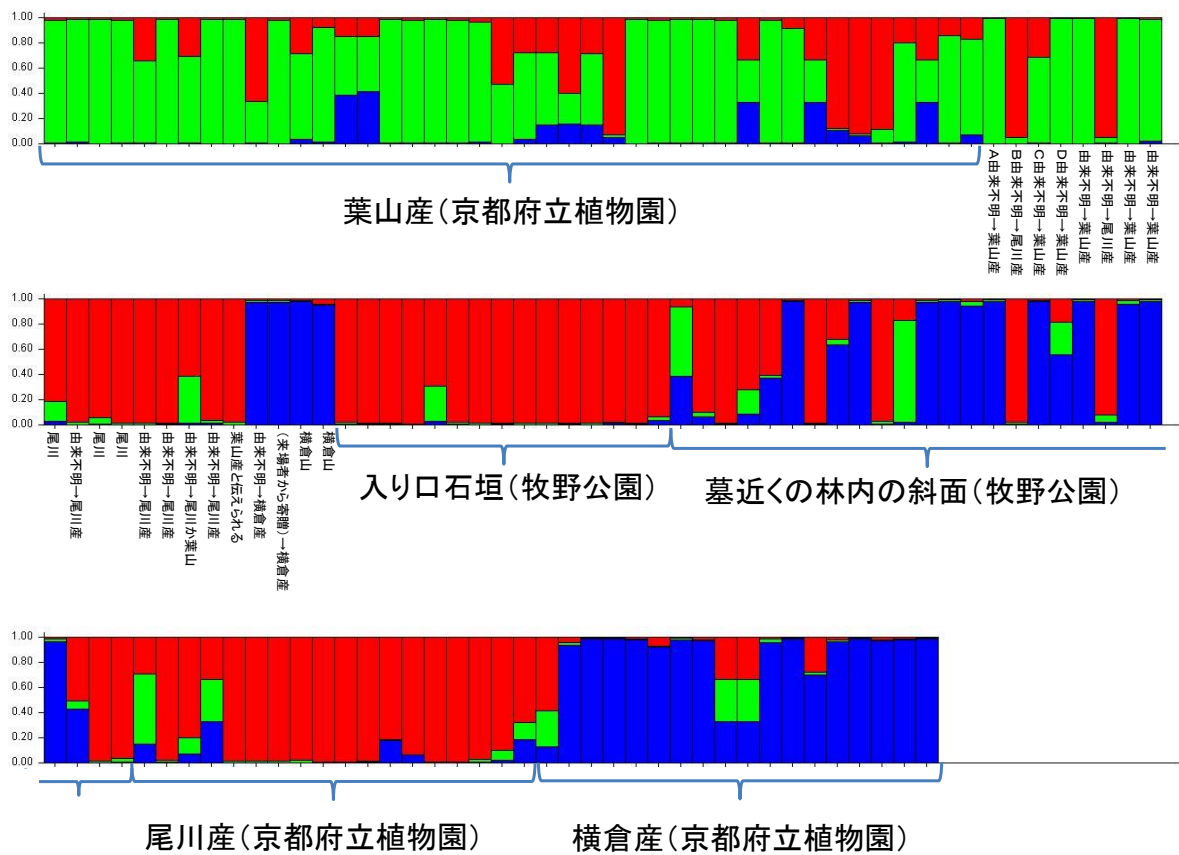
京都府立植物園では自然集団に比較して（Ohki et al., 未発表）、3集団ともにヘテロ接合度が低く（ $H_0=0.4$ 未満）近交係数が高い（横倉では $F=0.3$ ）傾向がある。これは種子を供給した親の個体数が多くなかったこと等の理由が考えられる。今後に機会があれば、各々の野生集団から種子を追加サンプリングして、新たな実生をコレクションに加えると改善されることが考えられる。

牧野公園におけるジョウロウホトトギスは、公園入り口脇の石垣と牧野富太郎博士の墓石付近の林内の二箇所にて、地植えの集団で育成されている（下記図(1)-44における集団「入り口石垣」と「墓近くの林内」）。運営する佐川町教育委員会や栽培管理者の元には導入元の記録がなく、由来産地が不明であった。本研究では1集団として集団サンプリングを行い、多様性解析をした。その結果、遺伝的多様性が大変に高く（ $H_0 = 0.618$ ）、アليل数も多かった（ $N_a=5.8$ ）。これは複数の祖先集団が混在していることに起因している可能性もあるが、固定指数が低い（ $F=0.136$ ）ことはH-W平衡が成り立っていることを示唆しており、もとの由来産地の遺伝的多様性が高かったことも要因として考えうる。

表(1)-7 ジョウロウホトトギス域外保全集団の遺伝的多様性の評価

		N	N_a	N_e	I	H_0	H_e	uH_e	F
京都府立植物園葉山産	Mean	28.200	4.600	2.614	0.877	0.281	0.411	0.419	0.273
	SE	2.596	1.568	0.936	0.377	0.158	0.167	0.171	0.182
京都府立植物園尾川産	Mean	13.600	3.400	2.153	0.840	0.372	0.467	0.485	0.241
	SE	1.030	0.812	0.320	0.230	0.164	0.119	0.124	0.229
京都府立植物園横倉産	Mean	12.600	3.600	2.039	0.835	0.379	0.461	0.481	0.315
	SE	0.748	0.510	0.281	0.165	0.111	0.091	0.096	0.184
牧野公園	Mean	36.000	5.800	3.335	1.242	0.525	0.618	0.627	0.136
	SE	1.342	1.463	0.821	0.255	0.067	0.092	0.093	0.035

高知県立牧野植物園では園内に展示されている個体とバックヤードにて育成されている個体からサンプリングを行ったが、由来産地が不明なものがいくつかあった。京都府立植物園の個体の由来がはっきりしていたため、それらの遺伝構造と照合することで由来を特定することができた。



図(1)-44 ジョウロウホトギスの遺伝構造解析バーチャート
最適K値は3。野生の3産地：葉山、尾川、横倉で分かれた。

5) チタカンアオイ

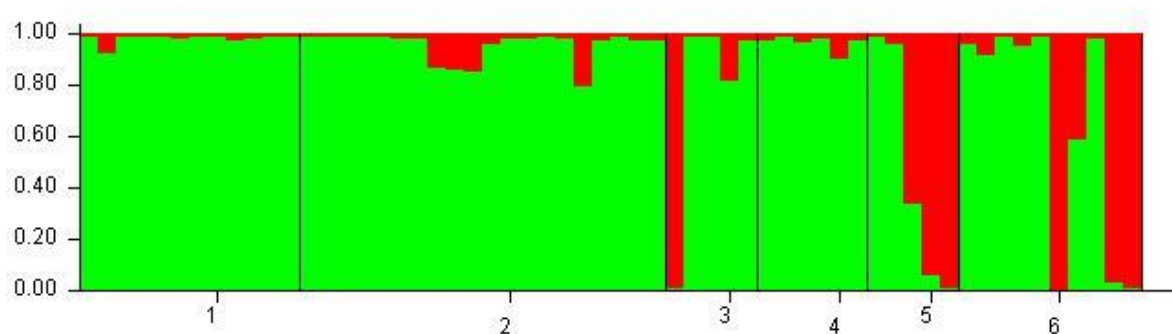
本種は愛知県知多郡の東浦町3カ所と阿久比町3カ所の合計6集団に生育する。各々の町内における集団は近接している。これら自生の株、合計58個体の遺伝解析を行った。全集団とも高いヘテロ接合度と低い近交係数を示し、遺伝的多様性と適度な交配を維持していることがわかった。

表(1)-8 チタカンアオイ自生集団の遺伝的多様性の評価

Pop		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
Higashiura_1	Mean	11.200	6.300	3.895	1.468	0.647	0.696	0.729	0.068
	SE	0.389	0.761	0.457	0.141	0.070	0.046	0.049	0.087
Higashiura_2	Mean	19.400	7.600	4.652	1.622	0.690	0.720	0.739	0.041
	SE	0.427	0.702	0.673	0.154	0.059	0.055	0.056	0.037
Higashiura_3	Mean	4.900	4.400	3.463	1.319	0.740	0.694	0.774	-0.077
	SE	0.100	0.306	0.267	0.076	0.067	0.025	0.029	0.103
Akubi_1	Mean	5.800	5.200	4.207	1.407	0.707	0.691	0.756	-0.018
	SE	0.133	0.742	0.753	0.161	0.071	0.050	0.054	0.061
Akubi_2	Mean	4.400	4.300	3.102	1.228	0.713	0.645	0.733	-0.130
	SE	0.306	0.448	0.350	0.104	0.042	0.034	0.037	0.084
Akubi_3	Mean	9.900	5.500	4.098	1.477	0.767	0.724	0.763	-0.061
	SE	0.100	0.500	0.440	0.112	0.062	0.035	0.037	0.074

引き続き、STRUCTURE解析で集団遺伝構造を調べた。東浦町と阿久比町の間で大きな差は見られなかった。集団固有アリルも存在しなかった。

なお、東浦町の自生集団から作出した苗：200個体の遺伝的な組成も自生集団と同様の性状を示し、良質の域外保全集団を形成することが出来た。



図(1)-45 東浦町、阿久比町に生息するチタカンアオイの遺伝構造解析
1, 2, 3の集団は東浦町、4, 5, 6は阿久比町の集団を現す。

(3) 生物情報管理システムの試行

域外保全株においては、協力施設である京都府立植物園にて栽培されているアマミアセビ、オオキンレイカ、いすみ環境と文化のさとセンターで栽培されているイスミスズカケ、株式会社秩父太平洋セメントと菱光石灰工業にて栽培されているチチブイワザクラについてはデータベースアクセス用のQRコード付きのラベルを各個体につけた。愛知県の東浦町と阿久比町のチタカンアオイ、京都市のキブネダイオウについても、全ての自生個体と域外保全個体にQRコード付きのラベルを付した。

また自生地原地元に、里親制度や保全意識の啓発向上のために寄贈した株についても、ラベルを付して由来が明らかになるようにした。

植物園の間での分譲・受入も「京都府立植物園（以降、府植園）→東京大学理学研究科附属植物園（小石川植物園）」、「府植園→新潟県立植物園」、「府植園→岡山市立半田山植物園」、「府植園→広島市植物公園」、「府植園→高知県立牧野植物園」で実施して、データベースへの記録とQRコード付きラベルの添付を進めた。

1) アマミアセビ

京都府立植物園にて育成されている145株については全てナンバリングが施され、QRコード付きのラベルを付与する事ができた。また挿し木で繁殖させていく場合のQRコードのつけ方、QRコードによってリンクされるデータベースのページの提案を行った。サブテーマ（3）の担当者との話し合いの結果、挿し木苗の場合には遺伝情報は同じなので、同じQRコードを付与する事になった。データベースには、マイクロサテライト解析による遺伝子型、栽培履歴と植栽履歴を入力済みである。

鹿児島県奄美大島の宇検村立田検小学校・田検中学校、宇検村内の各集落に作成した域外保全集団の全個体にも、QRコード耐久性ラベルをつけた。

2) オオキンレイカ

青葉山に植え戻した個体と高浜町内に作成した域外保全集団の全個体について、QRコード耐久性ラベルを挿す事ができた。新しく域外保全株に加わった北側斜面の個体についても全てQRコードを付し、データベースに加えている。データベースには、マイクロサテライト解析による遺伝子型、栽培履歴と植栽履歴を入力済みである。

3) チタカンアオイ

愛知県東浦町と阿久比町の二カ所の全ての野生株と、自生地から少し離して植えた域外保全株の全個体について、QRコード耐久性ラベルのタグを設置した。データベースには、マイクロサテライト解析による遺伝子型、栽培履歴と植栽履歴（域外保全集団の個体のみ）を入力済みである。現在、さらに二回目の域外保全株を育成中であり、植物体サイズがまだ小型のためにDNAタイピングとラベル付けは行っていないが、今後に順次に進める予定である。

4) ジョウロウホトトギス

京都府立植物園では鉢に寄せ植え、高知県立牧野植物園、および佐川町が運営する植物園では地植えで育てられている状況なので個体ごとに識別する事が難しく、管理者にも大きな負担をかけることになる。そのため、ジョウロウホトトギスに関しては個体ベースのラベリングではなく集団としてラベリングを行い、データベースに入力する予定である。

5) チチブイワザクラ

秩父太平洋セメント三輪鉱業所と菱光石灰（三菱マテリアル）宇根鉱業所の全ての域外保全集団の個体において、QRコード耐久性ラベルを各植木鉢に挿した。データベースには、マイクロサテライト解析による遺伝子型を入力済みである。残念ながら、栽培履歴と植栽履歴については不明のために、記録は出来なかった。

6) その他の事項

チチブイワザクラのように、自生地全域が石灰岩の採掘会社に帰属しており、敷地への立ち入りや研究の実施にも企業としての同意が必要な希少種においても、全個体の解析と情報のデータベース化、全個体の遺伝解析に協力して頂いたことには意義が大きい。ただし、企業が増殖に協力依頼をする意向を持っていても、日本植物園協会に対応してもらえない状態にあり、むしろ保護増殖機関の側の体制に、希少種の域外保全形成を実施する限界があることもわかった。

機能面では里親用のニックネーム入りの画面、植物辞典的な一般情報を見ることができる画面等、入力をする必要がない一般ユーザーのためのものと、植物園や研究機関での管理システムのための画面が完全に分けられた。これによってセキュリティの問題が解消され、より詳細な情報をデータベースに含めることができるようになった。また管理者用の入力画面であるが、これまでiPhoneやiPadによる使用に限られていたが、ウェブブラウザを通してデータの入力作業ができるようになり、より幅広いユーザーに対応できるようになった。

生物情報管理システムをより実用に適したものに改良するために、実際にQRコードを付したアマミアセビを委譲し、高知県立牧野植物園より藤田聖子氏、新潟県立植物園久原泰雅氏より使用上の感想、意見を聞いた。また武田薬品京都薬草園の古平栄一氏より栽培家として必要な情報、実際に現場で利用する際に求めることなどに関して貴重な意見を伺った。このシステムの真価を理解し、使いこなせる世代、組織の中で言えば現在の中堅が決定権のある管理職につくまでの間を持ちこたえることが重要であるとの指摘を受けた。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

研究の対象に選定した複数の希少種において、

①域外保全集団を遺伝的に良質な状態（遺伝的多様性の担保と近親個体の排除）で構築する科学的技法を開発したこと。

②保全集団を構成する個体を個体レベルで管理する（遺伝子型、個体の由来、栽培履歴、移動履歴、分譲履歴）手法を開発したこと。

③QRコードタグを個体毎に付けてトレーサビリティを担保するとともに情報共有を容易にしたこと。

④域外保全集団の作成を「大学等研究機関」「植物園」「地域住民や児童生徒」で連携することによって個々の負担を軽減し、持続可能な域外保全体制を構築することを実践したこと。また、この実践を通して新たな問題点を指摘したこと。住民参加型域外保全として里親制度が導入された先駆的な事例であり、今後の同様な計画の参考となる。

⑤従来の域外保全株の維持管理の問題点、自生地への再導入に際して考慮すべき点などが明らかにされ、今後の保全活動に実質的に役立つ結果が得られたこと。

本研究にて開発されたデータベースを利用することにより、これまで散在していた域外保全株の統括的維持管理が可能になった。また、データベースを共有化することによって全国の希少種保全施設との間でネットワークを構築する可能性が広がった。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

- このサブテーマ1ではサブテーマ3と連携しながら、QRコードを基にした生息域外保全情報管理システムを複数の植物における域外保全と野生復帰で試行と実践、改善をくり返してきた。この成果を基にして、環境省自然保護局野生生物課では2017年度において、日本植物園協会に国内希少野生植物等の生息域外保全に係る業務委託を行うことになった。

この委託内容のなかに本研究課題における成果である「生息域外保全情報管理システム」が採用されている。具体的には、日本植物園協会に加盟する10園ほどを対象にして、QRコードを用いた生息域外保全情報管理システムを試験的に運用してみて、情報管理システムの内容を植物園向けに改善することが、初年度の契約内容として盛り込まれた。我々もその実施にあたって関わることになっている。このように本研究課題の成果は、行政の環境政策のなかで活用されることになった。

- ・サブテーマ1においては、福井県高浜町、京都府、鹿児島県宇検村（奄美大島）における地方行政の要請と協力によって、絶滅危惧種の域外保全集団の形成を行った。何れも県や府が作成したレッドリストで絶滅危惧種に指定されている植物であり（オオキンレイカ、キブネダイオウ、アマミアセビ）、地方行政が環境保全施策の一環として、研究成果を活用した。
- ・福井県青葉山におけるオオキンレイカの生育状況と遺存集団の遺伝的多様性が高いこと、京都府側の集団と遺伝的に明瞭な分化があること等の情報を福井県自然環境課に伝えた。福井県はその固有性と生育現状を鑑みて県の天然記念物に指定し（平成28年1月県報第2691号）、一層の保護施策を採ることになった。

<行政が活用することが見込まれる成果>

- ・当研究で開発されたデータベース、QRコードとスマートフォンなどの携帯型端末を利用した株管理をする手法は、域外保全下にある絶滅危惧植物・希少植物の状況（保有機関や屋外保全集団の位置、個体数、個体毎の履歴情報と遺伝子型）を常に更新された最新の情報として入手できる。この情報に関わる行政は、環境省や都道府県庁、市町村などの多くの行政における環境保全担当部署が見込まれる。
- ・絶滅危惧植物・希少植物の増殖を地域参加型の横断型ネットワークで進めるため、本研究課題で提案する域外保全集団や野生復帰集団の形成方法やデータ管理方法を活用することによって、行政が担当する環境保全施策をより実践的かつ低コストで実施することが期待される。
- ・COP10 愛知ターゲット戦略目標C：「2020年までに、既知の絶滅危惧種の絶滅および減少が防止され、また特に減少している種に対する保全状況の維持や改善が達成される」に貢献することができる。

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) T. WAKABAYASHI, H. OH, M. KAWAGISHI, K. HARADA, S. SATO, H. IKEDA and H. SETOGUCHI : *J. Plant Res*, 127, 651-660 (2014).
“Polymorphisms of *E1* and *GIGANTEA* in wild populations of *Lotus japonicus*”
- 2) H. IKEDA, V. BARKALOV, V. YAKUBOV and H. SETOGUCHI : *New Phytol.* 203, 980-988. (2014)
“Molecular evidence of ancient relicts of arctic-alpine plants in East Asia”
- 3) H. HIGASHI, H. IKEDA and H. SETOGUCHI : *Plant Systematics and Evolution* (2014)
“Molecular phylogeny of *Shortia sensu lato* (Diapensiaceae) based on multiple nuclear sequences” (in press)

- 4) K. AOKI, S. UENO, T. KAMIJYO, H. SETOGUCHI, N. MURAKAMI and Y. TSUMURA: PLoS ONE 9: e87429 (2014)
 “Genetic differentiation and genetic diversity of *Castanopsis* (Fagaceae), the dominant tree species in Japanese broadleaved evergreen forests, revealed by analysis of EST associated microsatellites”
- 5) T. OHTSUKI, T. SHODA, Y. KANEKO and H. SETOGUCHI: Applications in Plant Sciences 2(4)1300100. (2014)
 “Development of SSR markers for *Vitex rotundifolia* (Verbenaceae), an endangered coastal plant isolated in Lake Biwa, Japan”
- 6) H. IKEDA, H. HIGASHI, V. YAKUBOV, V. BARKALOV and H. SETOGUCHI: Biological Journal of the Linnean Society 113: 497–509. (2014)
 “Phylogeographical study of the alpine plant *Cassiope lycopodioides* (Ericaceae) suggests a range connection between the Japanese archipelago and Beringia during the Pleistocene”
- 7) H. HIGASHI and H. SETOGUCHI: Conservation Genetics Resources (2014)
 “Isolation and characterization of microsatellite loci in *Patrinia triloba* var. *takeuchiana* (Valerianaceae)” (in press)
- 8) H. IKEDA, Y. YONETA, H. HIGASHI, P. B. EIDSEN, V. BARKALOV, V. YAKUBOV, C. BROCHMANN and H. SETOGUCHI: Journal of Plant Research (2014)
 “Persistent history of the bird-dispersed arctic-alpine plant *Vaccinium vitis-idaea* (Ericaceae) in Japan” (in press)
- 9) S. KAMEOKA., H. HIGASHI and H. SETOGUCHI: Applications in Plant Sciences (2014)
 “Development of polymorphic microsatellite loci in the perennial herb *Hepatica nobilis* var. *japonica* (Ranunculaceae)” (in press)
- 10) S. SAKAGICHI and M. ITO: Applications in Plant Sciences (2014)
 “Development and characterization of EST-SSR markers for *Solidago virgaurea* complex (Asteraceae) in the Japanese Archipelago”
- 11) S. SAKAGICHI, J. WORTH, J. JORDAN, P. THOMAS and M. ITO: Conservation Genetics Resources (2014)
 “Development of nuclear and mitochondrial microsatellite markers for the relictual conifer genus *Athrotaxis* (Cupressaceae)”
- 12) S. SAKAGICHI, J. WORTH, J. JORDAN, P. THOMAS and M. ITO: Conservation Genetics Resources (2014)
 “Development of nuclear microsatellite markers for the Tasmanian endemic conifer *Diselma archeri* Hook. F. (Cupressaceae)”
- 13) H. HIGASHI and H. SETOGUCHI: Conservation Genetics Resources, 7, 389–391 (2015)
 “Isolation and characterization of microsatellite loci in *Patrinia triloba* var. *takeuchiana* (Valerianaceae)” DOI: 10.1007/s12686-014-0377-3

- 14) H. IKEDA, Y. YONETA, H. HIGASHI, P. B., EIDENSEN, V., BARKALOV, V. YAKUBOV, C. BROCHMANN and H. SETOGUCHI: Journal of Plant Research 128: 437-444 (2015)
 “Persistent history of the bird-dispersed arctic-alpine plant *Vaccinium vitis-idaea* (Ericaceae) in Japan” DOI: 10.1007/s10265-015-0709-8
- 15) S. KAMEOKA, H. HIGASHI, H. SETOGUCHI. Applications in Plant Sciences 3(3): 1400114 : (2015)
 “Development of polymorphic microsatellite loci in the perennial herb *Hepatica nobilis* var. *japonica* (Ranunculaceae)” DOI:
<http://dx.doi.org/10.3732/apps.1400114>
- 16) Y. MURAI, H. SETOGUCHI, E. ONO and T. IWASHINA: Natural Product Communications 10: 429-432 (2015).
 “Flavonoids and their qualitative variation in *Calystegia soldanella* and related species (Convolvulaceae)” .
- 17) Y. MURAI, H. SETOGUCHI, J. KITAJIMA and T. IWASHINA: Natural Product Communications 10: 407-411 (2015).
 “Altitudinal variation of flavonoid contents in the leaves of *Fallopia japonica* and the needles of *Larix kaempferi* on Mt. Fuji”
- 18) H. HIGASHI and H. SETOGUCHI: Conservation Genetics Resources 7: 389-391 (2015).
 “Isolation and characterization of microsatellite loci in *Patrinia triloba* var. *takeuchiana* (Valerianaceae)” DOI: 10.1007/s12686-014-0377-3
- 19) Y. KONO, Y. HOSHI, H. SETOGUCHI, M. YOKOTA and OGINUMA, K: Caryologia 80: 193-202 (2015).
 “Widespread cytotypic variation, cytogeography and dynamic analysis of cytotypes of *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae) on Amamioshima, Kakeromajima and Tokunoshima Islands in the Amami Group of the Ryukyu Archipelago, Japan”
 DOI: 10.1508/cytologia.80.193
- 20) Q. HAN, H. HIGASHI, Y. MITSUI and H. SETOGUCHI: PLOS ONE 10(8): e0135132 (2015).
 “Distinct phylogeographical structures of wild radish (*Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino) in Japan” DOI: 10.1371/journal.pone.0135132
- 21) H. IKEDA, S. SAKAGUCHI, V. YAKUBOV, V. BARKALOV H. SETOGUCHI: Heredity 116: 232-238 (2015).
 “Importance of demographic history for phylogeographic inference on the arctic-alpine plant *Phyllodoce caerulea* in East Asia” DOI: 10.1038/hdy.2015.95
- 22) Q. HAN, H. HIGASHI, Y. MITSUI and H. SETOGUCHI: BMC Evolutionary Biology 16: 84 (2016).
 “Lineage isolation in the face of active gene flow in the coastal plant wild radish is reinforced by differentiated vernalisation responses” .
 DOI:10.1186/s12862-016-0655-7

- 23) Q. HAN, S. SAKAGUCHI and H. SETOGUCHI: Journal of Biogeography and Taxonomy 64: 17-23 (2016).
 “Geographic variation in leaf trichome of wild radish (*Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino) in Japan” .
- 24) K. AOKI, S. UENO, T. KAMIJO, H. SETOGUCHI, N. MURAKAMI, M. KATO and Y. TSUMURA: Plant Systematics and Evolution 302: 1093-1107 (2016).
 “Detecting east-west genetic differentiation in *Castanopsis* (Fagaceae) on the main islands of Japan and north-south on the Ryukyu Islands, based on chloroplast haplotypes” . DOI: 10.1007/s00606-016-1319-1
- 25) 瀬戸口浩彰：森林遺伝育種 vol. 15. 95-100 (2016)
 「希少植物・絶滅危惧植物の持続可能な域外保全ネットワーク」
- 26) D. HATA, H. HIGASHI, H. IKEDA, V. YAKUBOV, V. BARKALOV, and H. SETOGUCHI: Journal of Biogeography 44: 283-293 (2017).
 “Phylogeographic insight into the Aleutian flora inferred from the historical range shifts of the alpine shrub *Therorhodon camtschaticum* (Pall.) Small (Ericaceae)” . DOI: 10.1111/jbi.12876
- 27) S. KAMEOKA, H. SAKIO, H. ABE, H. IKEDA, and H. SETOGUCHI: Journal of Plant Research 130: 263-271 (2017).
 “Genetic structure of *Hepatica nobilis* var. *japonica*, focusing on within-population flower color polymorphism” . DOI: 10.1007/s10265-016-0893-1
- 28) J. MATSUDA, Y. MAEDA, J. NAGASAWA, and H. SETOGUCHI: PLOS ONE: 12(3): e0173489 (2017).
 “Tight species cohesion among insular wild gingers (*Asarum* spp. Aristrochiaceae) on continental islands: highly differentiated floral characteristics versus undifferentiated genotypes” . DOI: 10.1371/journal.pone.0173489
- 29) M. YAMAMOTO, H. SETOGUCHI and K. KURATA: Conservation Genetics (in press).
 “Conservation of endangered plant *Primula* on limestone mountain Mt. Buko, Japan” . DOI: 10.1007/s10592-017-0966-2
- 30) D. TAKAHASHI, S. SAKAGUCHI and H. SETOGUCHI: Plant Species Biology (in press).
 “Development and characterization of EST-SSR markers in *Asarum sakawanum* var. *stellatum* and cross-amplification in related species” . DOI: 10.1111/1442-1984.12156

<査読付論文に準ずる成果発表>

- 1) 平塚健一・長澤淳一・瀬戸口浩彰・東広之：日本植物園協会誌. 50号, pp. 130-132 (2015).
 オオキンレイカの栽培と保全.
- 2) 矢原徹一, 伊藤元己, 藤井伸二編：絶滅危惧植物図鑑レッドデータプランツ (増補改訂新版), 山と溪谷社, p. 434 (2015)
 「キブネダイオウ」 (執筆担当：瀬戸口浩彰) ,

- 3) 矢原徹一, 伊藤元己, 藤井伸二編: 絶滅危惧植物図鑑レッドデータプランツ (増補改訂新版), 山と溪谷社, p. 593 (2015)
「スルガジョウロウホトトギス」(執筆担当: 瀬戸口浩彰),
- 4) 瀬戸口浩彰: 「植物相と植物地理」植物学の百科事典, 丸善出版 (2016)
「植物相と植物地理」について(執筆担当: 瀬戸口浩彰)

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 小冊子: 「希少植物保全活動の最前線」(瀬戸口浩彰、服部千恵、中川真紀子)
- 2) 瀬戸口浩彰. 「若狭 青葉山の植物誌と動物誌」. 瀬戸口浩彰(編, 分担執筆). 高浜町. (2016).

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 山本将也、瀬戸口浩彰、倉田薫子: 日本植物学会第78回大会(神奈川) (2014年)
「マイクロサテライトマーカーを用いた絶滅危惧植物チチブイワザクラ栽培集団における遺伝的多様性の評価」
- 2) 倉田正観、伊藤元己: 日本植物分類学会第14回大会(福島) (2015年)
「阿蘇・久住地域の絶滅危惧植物における系統地理と遺伝的構造」
- 3) 石川直子、森下洋子、阪口翔太、伊藤元己: 日本植物分類学会第14回大会(福島) (2015年)
「蛇紋岩植物の進化 - シュンジュギクとミヤマヨメナの遺伝構造解析」
- 4) 阪口翔太・堀江健二・石川直子・永野惇・本庄三恵・工藤洋・伊藤元己: 日本植物分類学会第14回大会(福島) (2015年)
「北海道蛇紋岩地帯におけるアキノキリンソウ属植物の土壌エコタイプ形成」
- 5) 石川直子、森下洋子、阪口翔太、伊藤元己: 日本生態学会鹿児島大会(鹿児島) (2015年)
「蛇紋岩植物シュンジュギクの遺伝構造解析」
- 6) 亀岡慎一郎、崎尾均、阿部晴恵、瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第14大会(2015)
「日本列島におけるミスミソウの花色多型に着目した集団遺伝構造」
- 7) 若林智美, Stig Andersen, 佐藤修正, 半田佳宏, 川口正代司, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第14大会(2015)
「全ゲノム配列を使った日本産ミヤコグサの開花時期多様性に関わる遺伝的背景の比較」
- 8) Qingxiang Han, Yuki Mitsui, Hiroyuki Higashi, Hiroaki Setoguchi: 日本植物分類学会第14大会(2015)
“Contrasting Phylogeographic patterns and demographic history between mainland and Ryukyu Islands populations of wild radish in Japan.”
- 9) 大槻達郎, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第14大会(2015)
「湖岸環境に適応したハマエンドウの進化の歴史」
- 10) 高橋大樹, 寺峰孜, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第14大会(2015)
「カンアオイ属の分子系統: 亜属間の系統関係とSect. *Heterotropa*の系統地理」
- 11) 瀬戸口浩彰, 且原真木, 山下純(岡山大・資植研), 三井裕樹(東農大・), 小野俊朗(岡山大・生命研) 日本植物分類学会第14大会(2015)
「ハマダイコンの放射性セシウム吸収能力の評価」
- 12) 瀬戸口浩彰, 若林智美: 日本植物学会第79大会(2015年)

- 「ミヤコグサの開花時期の種内多型をもたらす遺伝的背景」
- 13) 亀岡慎一郎, 崎尾均, 阿部晴恵, 村井良徳, 大橋一晴, 瀬戸口浩彰: 日本植物学会第79大会 (2015年)
- 「ミスミソウの訪花昆虫相ならびに色彩識別能力と花色の関係」
- 14) 山本将也, 瀬戸口浩彰, 倉田薫子: 日本植物学会第79大会 (2015年)
- 「絶滅危惧植物チチブイワザクラにおける域外保全集団と野生復帰集団の遺伝構造」
- 15) 大槻達郎, 萬年一斗, 鈴木秀幸, 水谷正治, 瀬戸口浩彰: 日本植物学会第79大会 (2015年)
- 「海浜植物ハマエンドウのエコタイプ (淡水型・海浜型) における耐塩性に関するトランスクリプトーム解析」
- 16) 若林智美, Stig Andersen, 佐藤修正, 川口正代司, 瀬戸口浩彰: 日本植物学会第79大会 (2015年)
- 「全ゲノム配列を使った日本産ミヤコグサの開花時期多様性に関わる遺伝的背景の比較」
- 17) 瀬戸口浩彰, 東広之, 服部千恵, 野添翔吾, 伊藤元己, 平塚健一, 肉戸裕之, 長澤淳一: 日本植物学会第79大会 (2015年)
- 「絶滅危惧植物オオキンレイカの遺伝的多様性の評価と域外保全ネットワークの形成」
- 18) 池田啓, Lovisa Gustafson, Christian Brochmann, 瀬戸口浩彰: 日本植物学会第79大会 (2015年)
- 「ミヤマタネツケバナ *Cardamine nipponica* の系統解析とPHYEの分子進化」
- 19) 上原歩, 村井良徳, 瀬戸口浩彰, 岩科司: 日本植物学会第79大会 (2015年)
- 「塩生植物ハマツナノ生育環境の違いによるフラボノイド変動」
- 20) 服部千恵: 第41回植物バイテクシンポジウム (2016)
- 「保全遺伝学のできる事: 域外保全から自生地植え戻しまで」
- 21) 大槻 達郎, 且原 真木, 森 泉, 瀬戸口 浩彰: 日本植物分類学会第15大会 (2016)
- 「海浜植物ハマエンドウのエコタイプ間に見られる環境応答能力の違い」
- 22) 瀬戸口浩彰, 東広之, 服部千恵, 野添翔吾, 伊藤元己, 平塚健一, 肉戸裕之, 長澤淳一: 日本植物分類学会第15大会 (2016)
- 「絶滅危惧植物の遺伝的多様性の評価と域外保全ネットワークの形成、および野生復帰について」
- 23) Qingxiang Han, Hiroaki Setoguchi: 日本植物分類学会第15大会 (2016)
- “Lineage isolation in the face of active gene flow in the coastal plant wild radish is reinforced by differentiated vernalisation responses”
- 24) 山本将也, 大谷雅人, 倉田薫子, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第15大会 (2016)
- 「サクラソウ属コイワザクラ節 (sect. *Reinii*) の系統と生物地理」
- 25) 若林智美, Stig Andersen, 佐藤修正, 川口正代司, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第15大会 (2016)
- 「全ゲノム配列を用いた、ミヤコグサの開花所要日数の種内多型に関わる候補遺伝子の探索」
- 26) 高橋大樹, 寺峰孜, 阪口翔太, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第15大会 (2016)
- 「花の萼裂片長の著しい勾配を示すカンアオイ属サカワサイシン節の進化史」
- 27) 亀岡慎一郎, 村井良徳, 阿部晴恵, 崎尾均, 大橋一晴, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第15大会 (2016)
- 「ミスミソウの色素成分と、訪花昆虫の色覚との関係」

- 28) 瀬戸口浩彰、服部千恵、松岡一久、平塚健一、長澤淳一、梅津幸恵、中川真喜子、野添翔吾、東広之、伊藤元己、佐藤正吾：日本植物学会第80回大会（2016）
「マルチセクターによる希少植物の保全活動」
- 29) 瀬戸口浩彰：日本植物学会第80回大会（2016）
「琉球列島における植物の多様性と進化史の学術的再評価」シンポジウム3aSBオーガナイザー
- 30) 若林智美, Andersen, SU, 佐藤修正, 川口正代司, 瀬戸口浩彰：日本植物学会第80回大会（2016）
「ミヤコグサの開花時期の多型を生む遺伝的要因の探索 ～全ゲノム情報を利用して」
- 31) 高橋大樹, 寺峰孜, 阪口翔太, 瀬戸口浩彰：日本植物学会第80回大会（2016）
「萼裂片長が地理的勾配を示すカンアオイ属サカワサイシン節の進化史」
- 32) 山本将也, 堀田清, 瀬戸口浩彰：日本植物学会第80回大会（2016）
「ヒダカイワザクラとテシオコザクラにおける花形態と遺伝的な分化」
- 33) 亀岡慎一郎, 崎尾均, 阿部晴恵, 瀬戸口浩彰：日本植物学会第80回大会（2016）
「ミスミソウの異なる花色が有する生態的特性」
- 34) Tomomi Wakabayashi, Stig U. Andersen, Shusei Sato, Yoshihiro Handa, Masayoshi Kawaguchi and Setoguchi Hiroaki：日本進化学会第18回大会（2016）
「Genome-wide association study for flowering time in *Lotus japonicus*.」
- 35) 服部千恵、瀬戸口浩彰：公開講演会「希少植物保全活動の最前線」2017.1.28.京都府立植物園）
「道具としての遺伝解析」
- 37) 池田啓, Valentin YAKUBOV, Vyacheslav BARKALOV, 瀬戸口浩彰：日本植物分類学会第16大会（2017）
「高山植物アオノツガザクラ (*Phyllodoce aleutica*) の系統地理：日本列島に起源した可能性のある分布形成の歴史」
- 38) 若林智美, 田中幸子, Stig U. Andersen, 佐藤修正, 川口正代司, 瀬戸口浩彰：日本植物分類学会第16大会（2017）
「Detecting loci contributing local adaptation through flowering time in *Lotus japonicus* in Japan」
- 39) 山本将也, 堀田清, 高橋大樹, 瀬戸口浩彰：日本植物分類学会第16大会（2017）
「隔離された蛇紋岩ハビタット間での交流はあったのか？：北海道におけるサクラソウ属2種の研究例」
- 40) 亀岡慎一郎, 若林智美, 三井裕樹, 田中啓介, 村井良徳, 岩科司, 阿部晴恵, 崎尾均, 瀬戸口浩彰：日本植物分類学会第16大会（2017）
「ミスミソウの多様な花色に関連する遺伝子の集団内多型」
- 41) 近藤裕幸, 阪口翔太, 渡邊邦秋, 瀬戸口浩彰, 井鷲裕司, 伊藤元己：日本植物分類学会第16大会（2017）
「葉緑体ゲノムシーケンスと核SSRを用いた、オーストラリア産 キク科 *Brachyscome lineariloba* complex の集団解析」

- 42) 高橋大樹, 寺峰孜, 阪口翔太, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第16大会 (2017)
「萼裂片長の異なるカンアオイ属サカワサイシン節2種の空間遺伝構造の比較」
- 43) 韓慶香, 東広之, 阪口翔太, 三井裕樹, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第16大会 (2017)
「Lineage isolation maintained by natural selection despite ongoing gene flow in Japanese wild radish」
- 44) 服部千恵, 瀬戸口浩彰: 日本植物分類学会第16大会 (2017)
「マルチセクターによる希少植物の保全活動」

(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

- ・一般市民を対象としたシンポジウム等での研究成果の講演・説明
 - 1) 「青葉山の植物との付き合い方、活かし方について」(主催: 京都大学大学院人間・環境学研究科瀬戸口研究室 2014年5月25日 福井県高浜市高浜商工会議所 参加者約50名)という演題で講演。一般の方々、町会議員や企業経営者の方々を対象にして、本研究課題のなかのオオキンレイカにおける研究成果と意義について解説を行った。この講演会ののちに、町議会議員らのご理解を得て、高浜町の行政事業の一環として本研究課題の推進をご支援頂いた。
 - 2) 「青葉山の自然の貴重さと、オオキンレイカの域外保全をする意義」(主催: 京都大学大学院人間・環境学研究科瀬戸口研究室 2014年9月25日 福井県高浜町青郷公民館 参加者約20名)について一般の方々を対象にして、本研究課題のなかのオオキンレイカにおける研究成果について講演を行った。
 - 3) 自然観察指導員を育成するための植物観察会(主催: 京都大学大学院人間・環境学研究科瀬戸口研究室 2014年10月19日 福井県高浜町青葉山)を行い、オオキンレイカの域外保全集団形成に関わる研究成果について解説を行った。
 - 4) 青葉山オオキンレイカ里親意見交換会(主催: 京都大学大学院人間・環境学研究科瀬戸口研究室 2016年2月27日 高浜町青郷公民館 参加者はオオキンレイカの里親制度に参加した成人ボランティアおよび小中学校の担当教諭で合計17名)。本課題の研究成果について講演を行った。その後に、里親制度についての意見交換も行った。
 - 5) 希少植物・絶滅危惧植物保全のフロンティア: 実践から見てきたもの(第80回日本植物学会シンポジウム)(2016年9月15日 沖縄コンベンションセンター 観客200名)。本研究課題の成果について講演を行った。
 - 6) 市民・学校・植物園と大学による「環」の花保全: オオキンレイカでの実践例(主催: 京都学園大学 京町家「新柳居」連続セミナー: 和の花と生き物文化の再生 2016年11月1日 京都学園大学京町家「新柳居」 参加者25名)。オオキンレイカについての研究成果について講演を行った。特に里親制度や遺伝的多様性に配慮した域外保全ネットワークの構築について解説を行った。

京都学園大学京町家「新柳居」連続セミナー

和の花と生き物文化の再生

キクタニギク、フタバアオイ、チマキザサなど、京の文化を支えてきた植物が軒並み激減。それぞれ、保全再生の取組みは始まっていますが、課題は山積。この状況を広く市民のみなさんに知っていただき、担い手の交流と拡大および産公民学連携を推進し、議論の中から新たな展開を見出そうと、全6回の公開連続セミナーを企画しました。ご関心の回だけでも構いませんので、どうぞお越しください。

日程 2016 10/4・11/1・11/29・12/13・2017 1/17・2/7

時間 各回とも18:30～20:00(受付開始18:00)

定員 各回30名 先着順

場所 京町家「新柳居」
京都市中京区新町通
錦小路上ル百足屋町384

●駅近京都市丸太町駅 徒歩約6分
●地下鉄丸太町駅 徒歩約10分
●地下鉄丸太町駅 徒歩約10分

応募方法
申込フォームより応募ください。QRコードが読めない場合は、お電話でお申し込みください。
お電話の場合は、お名前・電話番号・参加日・応募のきっかけとなった広報紙(HP・チラシ・ポスター)をお伝えください。

右のQRコードからもお申し込みいただけます。



司会：森本 幸裕氏 (京都学園大学バイオ環境学部教授)

10月4日(木) 藤袴プロジェクトの展開に向けて

●話題提供：藤井 肇氏 (大原野森林公園の案内人)
●コメント：藤野 達宏氏 (大原のオオムラサキを守る会)

「藤袴物語」千年紀で盛り上がった野生系統のフタバカマを継承する活動のキーパーソンがフタバカマサミットを振り返り、環境省の「重要聖地(山)500」選定を前に今後の展開を考えます。

12月13日(木) 企業と生物多様性：『和の花』保全再生の社会的展開

●話題提供：津村 昭夫氏 (KES環境機構専務理事)
●コメント：井上 和彦氏 (京のアジェンダ21フォーラム)

京都府の「環境マネジメントシステム」の規格KESに登録する事業者によって、京都市生物多様性プランに基づく、自社の主体的な環境活動として京都の文化にゆかりのある希少植物の育成が始まりました。

11月1日(木) 市民・学校・植物園と大学による『環』の花保全：オオキンレイカでの実践例

●話題提供：瀬戸口 浩彰氏 (京都大学・院・人間環境研究科教授)
●コメント：佐藤 正吾氏 ((公財)京都市都市緑化協会企画総務課長)

遺伝子の多様性にも配慮した絶滅危惧種の域外保全や野生復帰をどうするかの、オオキンレイカを事例に、地域での学校や専門家、行政等の連携した取組みの意義と、希少種保全の展望を語ります。(本説明は環境省「環境研究総合推進費」1403万円で実施しました。)

1月17日(木) フタバアオイを考えるーコモンズ論の視点から

●話題提供：秋道 智彌氏 (産科環境医学研究所附属環境・虎ノプロジェクト副理事)
●コメント：畑田 彩氏 (京都外国語大学准教授)

繁殖に不可欠なフタバアオイの激減に対して、里親として育てて「和の森」を再生する英プロジェクトが盛り上がっています。これを契機に地球環境時代のコモンズとしての生態系とその継承を考えます。

11月29日(木) キクタニギクの咲く菊溪川の再生へ

●話題提供：中筋 祐司氏 (京都市産業観光局林業振興課森林保全係長)
●コメント：佐藤 正吾氏 ((公財)京都市都市緑化協会企画総務課長)

かつて文人にも好まれ、京都東山は高台寺十境の一つの菊溪川に咲き乱れていたという絶滅危惧種キクタニギク。京都伝統文化の森推進協議会がキクタニギクの咲く菊溪川の再生に乗り出しました。

2月7日(木) チマキザサ保全活動の現状と将来的展開の検討

●話題提供：東口 淳氏 (京都大学・院・GSS)
●コメント：中筋 祐司氏 (京都市産業観光局林業振興課森林保全係長)

祇園祭の巨燈籠(くまき)を媒介につなげてきた京の町と里山の花背集落。里山回廊と鹿食害による伝統文化継承の危機にどう立ち向かうか。様々な模索を続ける中にこれからの可能性を探ります。

主催：京都学園大学 共催：公益財団法人京都市都市緑化協会
後援：京都市、特定非営利活動法人KES環境機構

企業名：(株)森本幸裕氏 www.kyogakuen.ac.jp、Eメール：info@kyogakuen.ac.jp

すべては学生のために
京都学園大学
KYOTO GAKUEN UNIVERSITY

京都学園大学 京町家「新柳居」
電話：075-226-0160 ●月～土 8:30～16:30(日祝休)
上記にお申し込みの場合、申込・連絡先はセンターまでお願いします。
電話：075-226-0000 ●月～金 9:30～17:00
※会場は本館5階です。 ※バイクでのご来場はご遠慮ください(自転車可)。

図(1)-46 京町家「新柳居」連続セミナー「和の花と生き物文化の再生」のチラシ

- 7) 一般公開シンポジウム希少植物保全活動の最前線 (2017年1月28日、京都府立植物園、観客75名) 一般入場者および植物園関係者対象に遺伝解析、データベースによる管理、保全活動の実例に関してのシンポジウムを行った。

希少植物保全活動の最前線

→→希少植物はいかに保全すべきなのだろうか→→

希少植物を域外保全しているとき、なぜ野生復帰がうまくすすまないのだろうか？ 遺伝的多様性はどうなっているの？ もしかしら、これらはクローン個体なのか？ そもそもこの植物は、どこ由来なのか？ その疑問を一つずつ解決することから、この研究は始まりました。どのように遺伝解析を行い、それを現場で活用したのか。バラバラな情報をどのようにデータベース化して、希少植物にかかわる様々な人が使えるシステムにしたか。そして、野生復帰のためのどのような保全活動を行ってきたか、今後の保全活動のあり方について考えます。



2017年1月28日(土) 13:00～17:00
京都府立植物園 植物園会館2階研修室(参加申し込み不要)

第1部 保全と遺伝解析 瀬戸口浩彰 (京都大学大学院) 上原浩一 (千葉大学) 服部千恵 (京都大学大学院)	第2部 QRコードを使用したネットワーク 伊藤元己 (東京大学大学院) 中川真喜子 (京都大学大学院)	第3部 植物園での試み 長澤淳一 (京都府立植物園) 平塚健一 (京都府立植物園) ディスカッション
--	--	--

【主催】京都大学大学院人間・環境学研究科 瀬戸口浩彰研究室 <http://www.ikigaihozen-network.jp/>
 【共催】京都府立植物園・日本植物園協会
 ※本研究は、環境省・環境研究総合推進費・【4-1403】にて実施しました。

図(1)-47 一般公開シンポジウム「希少植物保全活動の最前線」のポスター

- ・大学・研究機関の一般公開での研究成果の講演
該当無し
- ・中高等学校での研究成果の講演（特別授業・主催）
 - 1) 2014年9月25日に福井県高浜町の高浜町立内浦小中学校において、本研究課題の意義と成果について解説をした。とくに児童・生徒が生活する地域でオオキンレイカの域外保全

をする意義、里親制度の意義について理解を得られるように、平易な表現で解説を行った。

- 2) 2015年2月23日に鹿児島県大島郡宇検村立田検中学校において、本研究課題の成果について講演を行った。また、奄美大島の植物の豊かさの特徴について紹介するとともに、なぜアマミアセビが絶滅に瀕しているのか、どのようにして守り、復元するのかについて理解を得られるように解説をして、生徒たちが里親制度に参加する意義について説明した。
- 3) 2015年10月26日に鹿児島県大島郡宇検村立田検小学校において、本研究課題の意義と成果について解説をした。上記の中学校における講演と同様に、児童が住む地域で絶滅に瀕している植物があることを知り、どのように復元するのかについて理解を得られるように解説をして、児童たちが里親制度に参加する意義について説明した。

・インターネット上での研究成果の継続的な発信

- 1) 2014年9月にホームページを開設して、本推進課題の目的や内容、経過を随時更新して情報発信を開始した。

<http://www.ikigaihozen-network.jp/index.html>

(5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) NHK滋賀放送局「おうみ発610」（2014年（平成26年）4月20日〔日曜日〕）「琵琶湖湖岸の海岸生植物ハマエンドウの価値と保護の意義について」（インタビュー取材）
- 2) NHK「おはよう日本」（全国放送）「ハマダイコンに除染効果の可能性」（2015年（平成27年）2月5日〔木曜日〕）（研究室と温室にてインタビュー取材）
- 3) NHK「おはよう日本」（近畿地区）「ハマダイコンに除染効果の可能性」（2015年（平成27年）3月2日〔月曜日〕）（研究室と温室、福島県大熊町にてインタビュー取材）
- 4) NHKエコチャンネル「ハマダイコンを植えて被災した農地の除染を」（2015年（平成27年）5月1日〔金曜日〕）（研究室と温室、福島県大熊町にてインタビュー取材）
- 5) 毎日新聞 朝刊26面 （2014年（平成26年）9月25日〔木曜日〕）
「大切に育てるね 高浜・内浦小中学校に希少植物」
- 6) 福井新聞 朝刊25面 （2014年（平成26年）9月25日〔木曜日〕）
「青葉山に自生、希少種 高浜の子どもたち「里親」に」

- 7) 高浜町議会便り第120号 p.2 (2014年(平成26年)10月24日)

「青葉山のオオキンレイカ日本初の増殖プロジェクト開始！」

青葉山オオキンレイカ日本初の増殖プロジェクト開始!

TOPICS

ト
ピ
ッ
ク
ス

高浜町の天然記念物に指定されているオオキンレイカは、青葉山麓周辺で調査の結果47株が確認された。この数字は、ほぼ絶滅に近い数字で、希少植物の保全対策が急務であることには間違いない状況である。3年前の9月議会で、オオキンレイカの絶滅危機に対する対策課題が問われ教育委員会を中心に生態に関する調査等の取り組みがなされて来た。



オオキンレイカ

このたびのオオキンレイカ増殖計画では、専門家を派遣し京都府立植物園平塚・肉戸氏・京都大学大学院瀬戸口教授他2名が青葉山麓のオオキンレイカの種子を採取し増殖苗が育成され高浜町に苗贈呈が行われた。この苗は、バーコードで管理され苗の由来や履歴、DNA遺伝子型などの情報を読み取ることができる仕組みで、CODE 39の種類で11桁の記号がつけられ「オオキンレイカ」「青葉山由来」「種子を取った母親の番号」「きょうだいの番号」で構成されている。DNA遺伝子型は平成25年に京都植物園で育成、平成26年9月24日に高浜町教育委員会に寄贈、譲渡先(お名前秘匿、希望者のみにニックネームを付加して公開)などの情報が加えられている。これらの情報は、携帯電話やスマートフォンのバーコードリーダーを使って、インターネット上で閲覧できる。

このシステムは京都大学・東京大学・千葉大学の研究チームが環境省の野生生物課と検討しながら進められる研究として、植物保全の管理システムに位置づけられている。

今回の100鉢につけられたバーコードは、わが国で第一号の実用例となった。今後の保全計画は一朝一夕になせるものではない。有志の連携を密にして希少植物の絶滅を防げることに期待したい。

文責：山本富夫

絶滅危惧種オオキンレイカ
町指定(天然記念物)から県指定格上げを!



オオキンレイカ贈呈式

- 8) 福井新聞 朝刊6面 (2014年(平成26年)10月30日[木曜日])
「植物観察 ポイント学ぶ 青葉山麓研究所(高浜)指導員養成向け」
- 9) 南海日日新聞 朝刊社会面(2015年(平成27年)2月24日[火曜日])
「アマミアセビ苗木を植樹 危惧種復活へ京大など協力 宇検村・田検中」
- 10) 福井新聞 地方版(2015年(平成27年)10月23日[金曜日])

「青葉山に希少種定植 オオキンレイカ 育てた児童ら 高浜」

- 11) 福井新聞 地方版 (2015年 (平成27年) 5月25日 [月曜日])
「京都から寄贈 青葉山の希少種定植 オオキンレイカ 元気に育ってね 高浜の児童」
- 12) 福井新聞 地方版22面 (2016年 (平成28年) 2月28日 [日曜日])
「希少種栽培で意見交換 高浜・青葉山のオオキンレイカ 1年の経験踏まえ」
- 13) 日刊県民福井 (2016年 (平成28年) 12月13日 [火曜日])
「児童が育てた「宝」親しんで 高浜のオオキンレイカ 町役場新庁舎に移植」
- 14) 福井新聞 (2016年 (平成28年) 12月13日 [火曜日])
「オオキンレイカ花開け 苗育てた高浜小児童 役場新庁舎に植栽」
- 15) 読売新聞 (2016年 (平成28年) 12月13日 [火曜日])
「青葉山の希少植物「里親」児童が移植 高浜の新町役場に」
- 16) 福井新聞 (2017年 (平成29年) 3月13日 [月曜日])
「オオキンレイカ育て 高浜内浦小中生ら植え替え」
- 17) 京都新聞 夕刊 (2017年 (平成29年) 3月28日 [火曜日])
「絶滅寸前種キブネダイオウ復活を府立植物園と京大が取り組み 鞍馬小児童、校内で育苗」

(6) その他

- 1) 第38回関東拠点園会議 (2015年11月26日 主催者：日本植物園協会 開催地：環境省新宿御苑管理事務所 参加者：日本植物園協会の関係者を主体とする約25名)
講演した内容：「持続可能な域外保全ネットワーク構築の事例紹介」について講演。植物園関係者と、植物園における希少種への試験的導入について意見交換をした。
- 2) 第39回関東拠点園会議 (2016年3月23日 主催者：日本植物園協会 開催地：神代植物公園 植物会館 参加者：日本植物園協会の関係者を主体とする約15名)
講演した内容：「園芸目的の採取で激減したリュウキュウアセビの域外保全と奄美大島における野生復帰まで」について講演。植物園関係者からQRコードをベースにした個体管理のコストなどについて質問があった。
- 3) 講演 (2016年4月13日 主催者：京都大学、秩父太平洋セメント、菱光石灰 開催地：埼玉県秩父市 秩父太平洋セメント三輪鉱業所 参加者：京都大学、秩父太平洋セメント、菱光石灰のから合計16名)
講演した内容：秩父武甲山における希少種：チチブイワザクラとブコウマメザクラの保全研究で判った最新の知見と、今後の保護増殖方針について提言。地権者である両社から、2016年度における保全研究への了解を戴いた。
- 4) 第40回関東拠点園会議 (2016年5月23日 主催者：日本植物園協会 開催地：環境省新宿御苑管理事務所 参加者：日本植物園協会の関係者を主体とする約25名)

講演した内容：秩父武甲山のチチブイワザクラとミヤマスカシユリの保護、増殖依頼について講演。

- 5) 第41回関東拠点園会議（2016年12月21日 主催者：日本植物園協会 開催地：環境省新宿御苑管理事務所 参加者：日本植物園協会の関係者を主体とする約25名）

講演した内容：秩父武甲山のチチブイワザクラとミヤマスカシユリの保護、増殖依頼について講演。植物園関係者からは、人的、金銭的な余裕が無いので協力できないという見解を戴いた。

8. 引用文献

特に記載すべき事項はない。

(2) 全種子植物に対応できる汎用遺伝マーカーの開発

千葉大学国際教養学部

上原浩一

<研究協力者>

千葉大学大学院園芸学研究科

渡辺洋一

平成26～28年度累計予算額：44,401千円（うち平成28年度：13,691千円）

予算額は間接経費を含む。

[要旨]

クローン成長を行う植物の効率的な保全を進める上で、個体識別を含む遺伝的変異の把握は非常に重要である。従来、種内レベルの遺伝的変異の解析にはAFLPや核マイクロサテライトなどの多型マーカーが用いられてきた。しかし、これらの手法は開発にコストや時間がかかり手間であるという欠点が存在し、多くの絶滅危惧種の保全の現場に適用することは難しかった。そこで、本研究では簡易に遺伝子型の決定を行う事ができ、多分類群で利用可能な汎用遺伝マーカーの開発を目指した。本マーカーを設計する部位に被子植物で広く保存されている花芽形成遺伝子 Flowering locus T (FT)を利用し、科レベルでの適用を目指して被子植物の代表的な科であるキク科、バラ科、ラン科それぞれに対して個別にプライマーを設計した。結果、それぞれの科で広く利用できるプライマーを設計する事ができ、このプライマーの汎用遺伝マーカーとして利用可能性の評価を行った。いくつかの種では種内変異の検出や個体識別を行う事ができた。今後は、本研究で開発した手法と他の手法のコストや解析能力を総合的に比較する事で利用可能性を評価することが必要であると考えられる。

[キーワード]

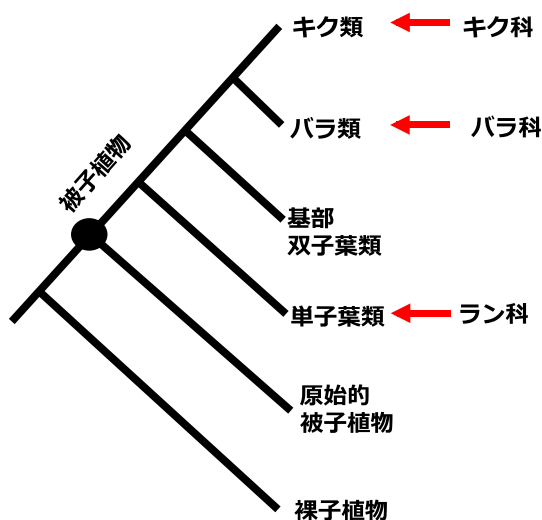
遺伝子マーカー, Flowering locus T, 個体識別, 遺伝情報

1. はじめに

種子植物の個体レベルの識別には、その植物の形態情報のみならず遺伝情報による識別が有用とされている。近年は植物の乱獲などによる遺伝資源や生物多様性の減少が問題となっており、絶滅を防ぐために域外保全株を栽培、管理、野生復帰するうえで遺伝マーカーを利用した保全策の構築がいくつかの種で行われている。ただし、従来の方法では個体識別を行うために個別の種において遺伝マーカーを開発する必要があり、コストと時間を要する欠点があった。そのため、多くの植物種で利用できる汎用性を有し、簡単に個体識別できる方法の開発が求められてきた。従来使用されている汎用性の高いマーカーは、多くの葉緑体プライマー^{1), 2), 3)}、ITS領域を増幅するプライマー³⁾、またいくつかの科ではPHYCなど特定の核遺伝子を増幅するプライマーを利用した手法が知られている。しかし、これらの領域では、種間や属間の変異を検出する事は可能であっても個体識別を含む種内の変異を検出することは非常に難しい。一方で、超多型領域の存在も知られており、このような領域を対象としアミノ酸配列の保存性の高いエキソン領域を利用してプライマーを設計することで、イントロン領域の配列の多様性を検出し個体識別が可能となるようなマーカー開発が可能となると考えられる。

2. 研究開発目的

本研究においては、被子植物で広く保存されている花芽形成遺伝子 Flowering Locus T (FT) の第2イントロンの塩基配列を用いた遺伝子マーカー（汎用遺伝マーカー）の開発を試みる事を目的としている。全種子植物に対応できる汎用性を有することが理想であるが、その予備段階として、真正双子葉類の主要系統である単子葉類（ラン科）、バラ類（バラ科）とキク類（キク科）についてそれぞれの塩基配列情報を用いた汎用遺伝マーカーの開発を試みた（図(2)-1）。また、設計したプライマーについては汎用性および個体識別能の検証を行った。



図(2)-1 本研究で対象とした分類群とその系統関係

3. 研究開発方法

被子植物の主要系統である単子葉類、バラ類、キク類よりラン科、キク科、バラ科を対象として選択した。これらの3科は、①1科に含まれる種数が多い、②絶滅危惧種数が多い、③観賞・食用利用されるなどの有用植物を多く含む特徴を有している。キク科、バラ科、ラン科のFT配列を遺伝子配列データベースNCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) より取得し、それぞれの科についてエキソン配列のアライメントをアミノ酸配列・塩基配列の双方で行い高保存性部位を特定した。そのアライメント情報を基に、Primer3を用いてプライマーの設計を行った。汎用性を評価するために対象とする科内の大系統を網羅するように種のサンプルを採取し、個体識別能を評価するためにいくつかの種は複数個体を収集した（表(2)-1）。

表(2)-1 利用した種の一覧

科名	亜科名	属名	種名
キク科	アザミ亜科	アザミ属	タカアザミ
			フジアザミ
			ノアザミ
		タムラソウ属	タムラソウ
		ヤマボクチ属	オヤマボクチ
	コウヤボウキ亜科	コウヤボウキ属	コウヤボウキ
		アキノノゲシ属	レタス
		オニタビラコ属	オニタビラコ
		コウゾリナ属	コウゾリナ
	タンポポ亜科	タンポポ属	カントウタンポポ
			セイヨウタンポポ
		タカサゴソウ属	オオジシバリ
		ノゲシ属	ノゲシ
	キク亜科	キオン属	ノボロギク
		センダングサ属	センダングサ
		ツワブキ属	ツワブキ
		ハハコグサ属	ハハコグサ
		ヨモギ属	カズサヨモギ
バラ科	シモツケ亜科	ナシ属	ナシ
		リンゴ属	ハナカイドウ
		ビワ属	ビワ
		カナメモチ属	カナメモチ
		ヤマブキ属	ヤマブキ
		モモ属	モモ
		サクラ属	オオシマザクラ
			ウメ
	バラ亜科	シモツケ属	コデマリ
			ユキヤナギ
		キジムシロ属	ヘビイチゴ
		バラ属	サンショウバラ
		キイチゴ属	クサイチゴ
			ナワシロイチゴ
ラン科	ヤクシマラン亜科	ヤクシマラン属	ヤクシマラン
		ムヨウラン属	ムヨウラン
	バニラ亜科		ホクリクムヨウラン
			クマガイソウ
	アツモリソウ亜科	アツモリソウ属	ツユクサ
	チドリソウ亜科	シュスラン属	アケボノシュスラン
		ネジバナ属	ネジバナ
	エピデンドラム亜科	キンラン属	クゲヌマラン

採取した葉はCTAB法によりDNAを抽出し、Nanodropを用いてDNA濃度の確認を行った。設計されたプライマーを用いてPCR法によるDNA断片の増幅を行った。その後、電気泳動によって増幅の確認を行った。増幅が確認できたものは、ダイレクトシーケンスもしくはクローニングを経たシーケンス解析を行うことで塩基配列を取得した。取得した配列はMEGA6.06を用いて比較し

た。より簡便な個体識別手法の開発を試みるため、汎用性が最も高い遺伝マーカーを用いて増幅したPCR産物を制限酵素で処理し、アガロースゲルによる電気泳動パターンを確認した。

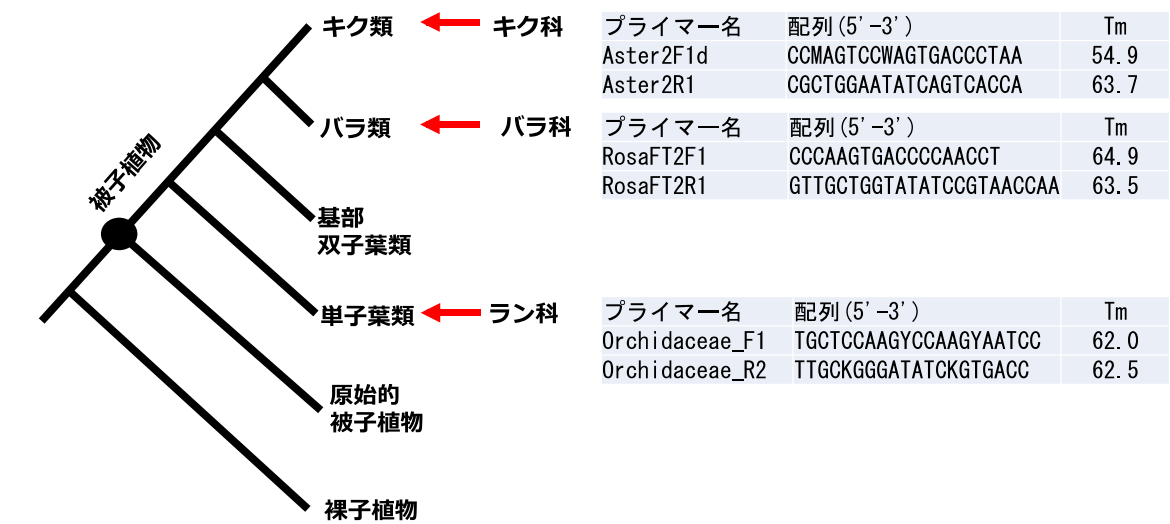
4. 結果及び考察

各科について保存性の高い領域においてプライマーの設計を行うことができた。設計したプライマーの一覧を表(2)-2に示す。

表(2)-2 設計したプライマー

科名	プライマー名	配列	Tm
キク科	Aster2F1d	CCMAGTCCWAGTGACCCTAA	54.9
	Aster2R1	CGCTGGAATATCAGTCACCA	63.7
	Aster2R1d	YGCKGGWATATCRGTMACCA	55.5
	Aster2f11a	TGATGCTCCMAGTCCWAGTG	57.0
	Aster2f11b	TGATGCTCCAAGTCCWAGTG	60.4
	Aster2f12a	GATCCTGATGCTCCMAGTCC	60.2
	Aster2f12b	GATCCTGATGCTCCAAGTCC	63.6
	Aster2f13a	VGATCCTGATGCTCCMAGTC	59.3
	Aster2f13b	RGATCCTGATGCTCCAAGTC	62.9
	Aster2r11a	DGTYGCKGGWATATCRGTMA	53.1
	Aster2r11b	KGTYGCTGGAATATCRGTMA	55.7
	Aster2r12a	CCNGTDGTYGCKGGWATATC	57.0
	Aster2r12b	CCTGTTGTYGCTGGAATATC	59.5
	Aster2r13a	NGTDGTYGCKGGWATATCRG	56.1
	Aster2r13b	TGTKGTYGCTGGAATATCRG	58.7
バラ科	RosaFT2F1	CCCAAGTGACCCCAACCT	64.9
	RosaFT2F1d	YCCARGTGAYCCCMAYCT	54.9
	Rosa2F1-1DD	CCARGTGAYCCCMAYCTDAA	56.4
	Rosa2F1-2DD	RGTGAYCCCMAYCTDAARGAA	56.1
	Rosa2F1-1D	CCAAGTGAYCCCAACCTWAA	61.3
	Rosa2F1-2D	AGTGAYCCCAACCTWAAGGAA	61.2
	RosaFT2R1	GTTGCTGGTATATCCGTAACCAA	63.5
	RosaFT2R1d	GTWGCWGGWATATCVGTVACYAA	54.4
ラン科	Orchidaceae_F1	TGCTCCAAGYCCAAGYAATCC	62.0
	Orchidaceae_F2	CCAGATGCTCCAAGYCCAAG	64.7
	Orchidaceae_F3	CWGATGCWCCAAGYCCAAG	61.9
	Orchidaceae_F4	ATCCAGATGCTCCAAGTCCA	64.6
	Orchidaceae_R1	TCGTTGCYGGGATATCKGTG	63.7
	Orchidaceae_R2	TTGCKGGGATATCKGTGACC	62.5
	Orchidaceae_R3	GGRATATCDGTGACCAACC	56.6
	Orchidaceae_R4	CKGGGATATCKGTGACCAACC	63.1

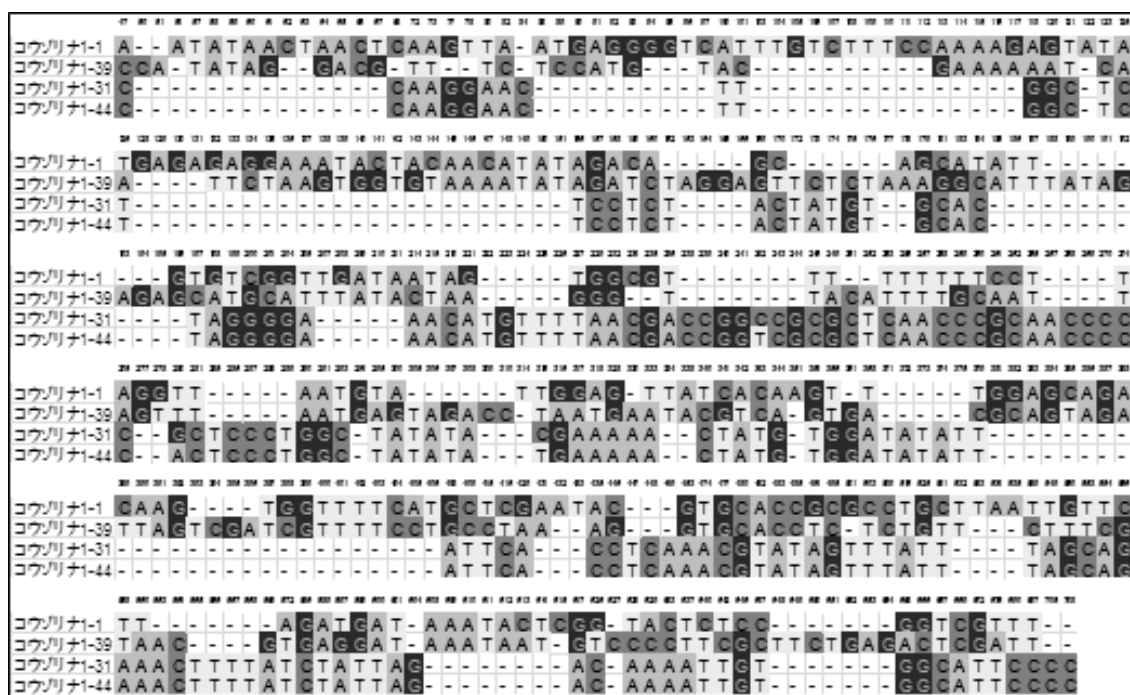
設計したプライマーを用いてPCR増幅を行った結果、キク科（Aster2F1d、Aster2R1）、バラ科（RosaFT2F1、RosaFT2R1）、ラン科（Orchidaceae_F1、Orchidaceae_R2）の組み合わせで比較的的非特異的産物の少ない安定した増幅が確認された（図(2)-2）。



図(2)-2 本研究で開発した汎用性の高い遺伝マーカー

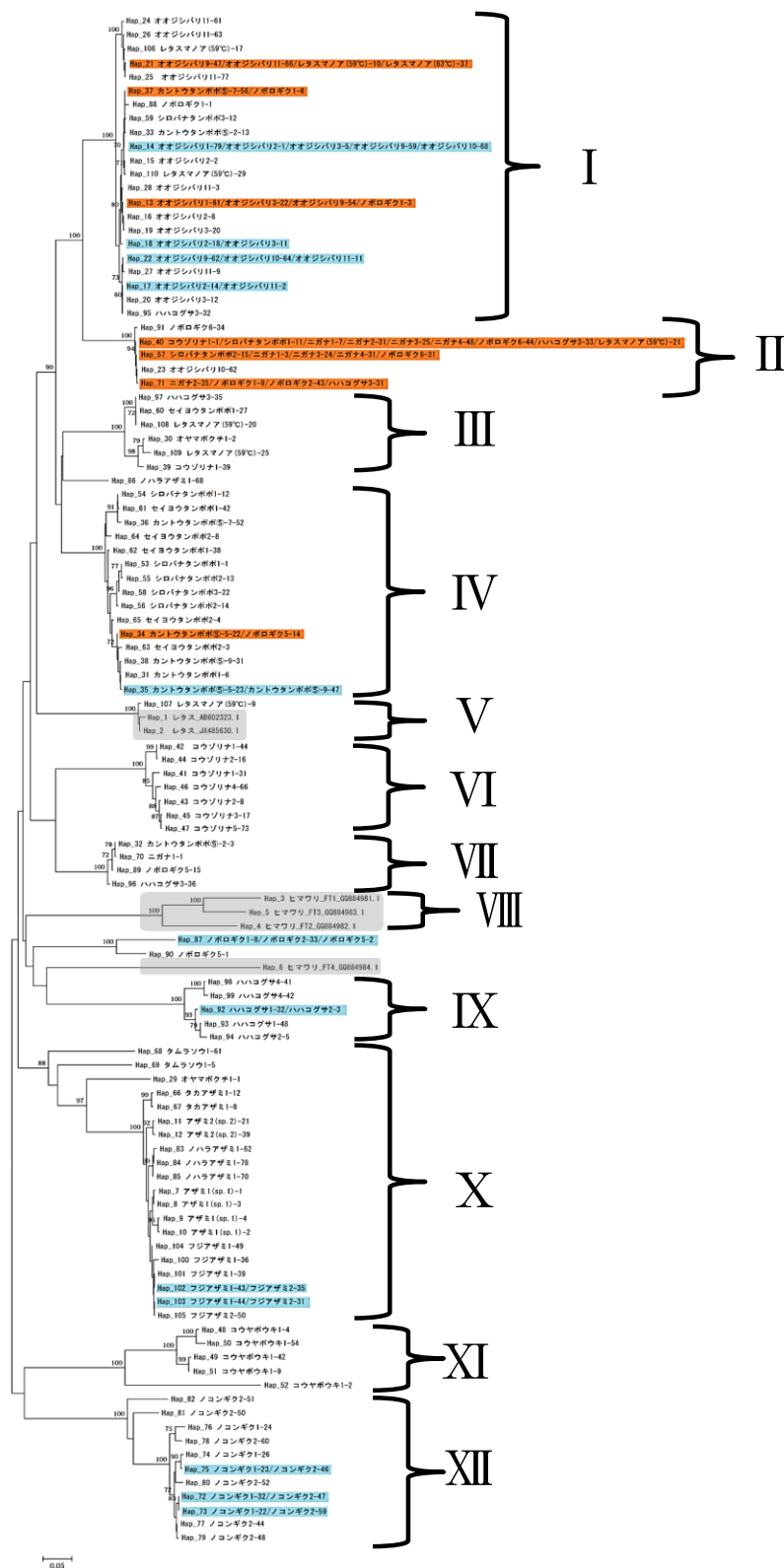
クローニングを経て塩基配列の決定を行い、これらの配列に対してBlast検索を行った結果、FT配列のデータが充実しているキク科、バラ科では配列はFT由来であることが示唆された。ラン科では少数の個体を除きFT配列であると断定できなかったが、これは決定したイントロン部分の塩基配列がデータベースに不足しているためだと考えられる。短い配列ではあるが、PCR産物に含まれるプライマーを設計したエキソン部分の配列が解読した配列に含まれていたためである。PCR産物長さは種によって多様で、キク科では600-800 bp、バラ科、ラン科では600-700 bpと配列長さに幅が確認された。

キク科では、多くの個体で2本以上、いくつかの個体では3本以上の配列を取得した（図(2)-3）。異なるこれらの配列はその類似性が高く、Blast検索ではFT由来であると示唆された。2倍体であると考えられる種でも2本以上の配列が取得される場合が多く、これはFTがparalog化しており、それらの配列を決定しているためだと考えられる。実際、キク科のゲノム解読種であるヒマワリではFTのparalog(ゲノム内で起こった1つの遺伝子の重複に由来する非相同だが類似した遺伝子群)が4種類あることが確認されている⁴⁾。



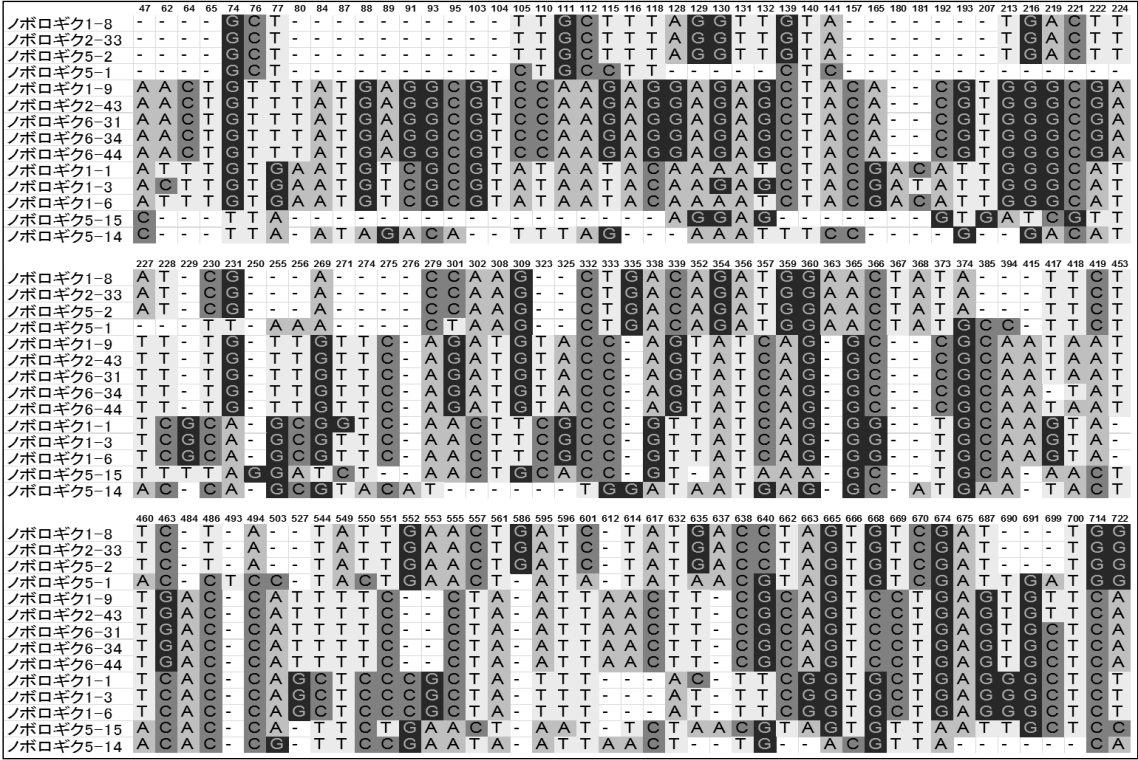
図(2)-3 キク科コウゾリナの1個体から決定された異なる配列

複数の配列が取得された点は、個体識別のための情報が増える事を意味しており、共優性マーカーではなく優性マーカーとして利用できるため大きな問題とはならないと考えられる。系統樹によるグループ分けを行った結果(図(2)-4)、亜科、属、種ごとのいずれかでまとまって形成されるグループ(グループIV, V, VI, VIII, IX, X, XI, XII)と亜科の異なる複数種が混在して形成されるグループ(グループI, II, III, VII)が確認された。アザミ亜科とコウヤボウキ亜科では亜科ごとに独立したグループを形成した(グループX, XI)。さらに、アザミ亜科のグループ内では種ごとのまとまりも確認された。タンポポ属では他のグループに分かれる配列もあったが、その多くは属でまとまりのあるグループを形成した(グループIV)。コウゾリナ、ハハコグサ、ノコンギクなどは種ごとにまとまるグループを形成した(グループV, VI, VIII, IX, XII)。一方、キク亜科とタンポポ亜科の複数種間で共有されるハプロタイプが集まって形成されるグループも確認され(グループI, II)、これらの亜科間では、6つのハプロタイプが共有されていた。亜科間で共有されるハプロタイプは、キク亜科とタンポポ亜科のみでしか確認されなかった。



図(2)-4 NJ法で作成したキク科FTイントロン配列の無根系統樹

ただし、これらの複数の配列を直接アライメントして利用することは非常に困難であり（図(2)-5）、複数個体由来の配列が同一かどうかを判別し“ハプロタイプ”として利用する事で個体識別が簡便に行える（表(2)-3、表(2)-4）。



図(2)-5 キク科ノボロギクの複数配列のアライメントの結果

表(2)-3 個体間でハプロタイプが完全に異なる例

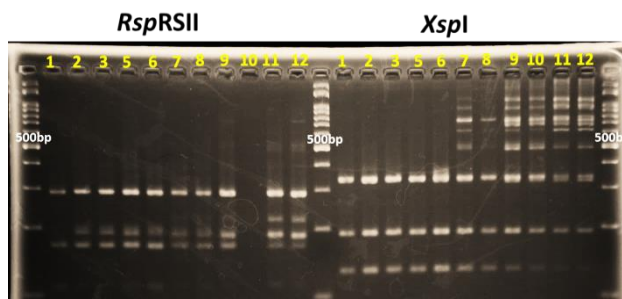
シロバナタンポポ (<i>Taraxacum albidum</i>)									
個体名	ハプロタイプ								
	40	53	54	55	56	57	58	59	
シロバナタンポポ1	○	○	○						
シロバナタンポポ2				○	○	○			
シロバナタンポポ3							○	○	

表(2)-4 個体間でハプロタイプのパターンが異なる例

ハハコグサ (<i>Gnaphalium affine</i>)									
個体名	ハプロタイプ								
	40	71	92	93	94	95	96	97	98 99
ハハコグサ1			○	○					
ハハコグサ2			○		○				
ハハコグサ3	○	○				○	○	○	
ハハコグサ4									○ ○

本研究によって得られたFTイントロン配列は1個体より1本以上の配列が得られる可能性があるため、クローニングという作業が必要となる。この作業は手間と時間がかかるものであり、簡便とは言いがたい。この作業を省きながらも個体識別を行うために、制限酵素処理による断片長多型の識別手法の開発も試みた。制限酵素で処理したPCR産物をアガロースゲルを用いて電気泳動した結果、サンプルによっては種間の違いが明確になること、種内でも多様なバンドパターンを検出できることが明らかとなった。そして、2種類の制限酵素（RspRS II、Xsp I）の

結果を組み合わせ、オオジシバリで個体間の比較を行ったところ、3個体（1, 7, 8）を識別することができた（図(2)-6）。単一の制限酵素で全ての個体間の違いを検出することは困難かもしれないが、制限酵素や電気泳動の条件を検討し直すことで、より詳細な識別が可能となると期待される。



図(2)-6 キク科オオジシバリ種内の電気泳動結果(数字は個体番号)

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究によって開発されたFTイントロンの配列由来の汎用遺伝マーカーを用いた個体識別手法は、汎用遺伝マーカーである多くの葉緑体プライマーやITS領域を増幅するプライマーよりも高い多型を有し、従来用いられてきたマイクロサテライトを用いた手法よりも低い開発コストを実現している。多型の程度は解析する種により異なるため、個々の種での適用可能性は異なる。そのため、今後、他の既存の手法と併せて総合的に比較・評価を行う必要があると考えられる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

汎用遺伝マーカーを用いることによって、希少植物の保全活動に必須な、集団の遺伝情報、個体識別情報などを短期間に、容易に取得することを可能になった。とくに、共通のマーカーを使って幅広い分類群の解析を安価に実施できる経費上のメリットは大きいと考えられる。今後行政が希少植物の遺伝情報を取得するうえで、この技術が活用されることが見込まれる。

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) Development and characterization of 14 microsatellite markers for *Indigofera pseudotinctoria* (Fabaceae). Otao T, Kobayashi T, Uehara K. Appl Plant Sci. 2016 Apr 18;4(4). pii: apps.1500110. doi: 10.3732/apps.1500110. eCollection 2016 Apr. PMID: 27144104
- 2) Yoichi W. S. Sakaguchi, S. Ueno, N. Tomaru K. Uehara. Development and characterization of EST-SSR markers for the genus *Rhododendron* section *Brachycalyx* (Ericaceae). Plant Species Biology (in press)

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

絶滅危惧種イヌミズカケの概要と保全 上原浩一・斎木健一 千葉県生物多様性センター研究報告 7: 79-90. 2014

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 大西威慶・渡部洋一・上原浩一 花芽形成遺伝子（Flowering Locus T）のイントロンを基にした汎用遺伝マーカーの開発 日本植物分類学会大会 2016年3月 日本植物分類学会第15回大会（2016. 3. 6~8. 富山）
- 2) 森重剛志¹・渡辺洋一¹・伊藤元己²・上原浩一¹（¹ 千葉大・院・園芸；² 東京大・院・教養）日本で多様化したアザミ属の系統関係の推定 日本植物分類学会大会 2016年3月 日本植物分類学会第15回大会（2016. 3. 6~8. 富山）
- 3) 福田拓実・渡辺洋一・上原浩一（千葉大・院・園芸）欧米、東アジア及び日本国内におけるイタドリ類の分子系統地理学的研究 日本植物分類学会大会 2016年3月 日本植物分類学会第15回大会（2016. 3. 6~8. 富山）
- 4) 伊藤元己・加藤俊英・森重剛志・上原浩一・海老原淳・綱本良啓・満行知花・陶山佳久. ゲノムワイド塩基配列多型検出のためのMIG-seq法試料として、さく葉標本から抽出したDNAは使用可能か？日本植物分類学会第16回大会（京都） 2017年3月.
- 5) 森重剛志・渡辺洋一・伊藤元己・加藤俊英・陶山佳久・綱本良啓・満行知花・上原浩一. 次世代型シーケンサーを用いた日本におけるアザミ属 (*Cirsium*) の系統解析日本植物分類学会第16回大会（京都） 2017年3月.
- 6) 渡辺洋一・永野惇・上原浩一・阿部晴恵. 広義コメツツジ類の系統地理解析から明らかになった高山への適応進化史. 日本植物分類学会第16回大会（京都） 2017年3月.
- 7) 上原浩一. 遺伝解析って何？そのイロハ 公開講演会「希少植物保全活動の最前線」（2017. 1. 28. 京都府立植物園）.

(3) 出願特許

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

公開講演会「希少植物保全活動の最前線」（2017. 1. 28. 京都府立植物園）にてQRコードとネ

ットワークについて概要を発表、研究成果を一般聴衆に紹介した。

(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) Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. & Bouvet, J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17, 1105–1109.
- 2) Shaw, J., Lickey, E.B., Beck, J.T., Farmer, S.B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K.C., Winder, C.T., Schilling, E.E. & Small, R.L. (2005) The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*, 92, 142–166.
- 3) Kress, W.J., Wurdack, K.J., Zimmer, E.A., Weigt, L.A. & Janzen, D.H. (2005) Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *PNAS*, 102, 8369–8374.
- 4) Blackman, B.K., Strasburg, J.L., Raduski, A.R., Michaels, S.D., & Rieseberg, L.H. (2010) The role of recently derived FT paralogs in sunflower domestication. *Current Bio*

(3) トレーサビリティーを担保した生物情報管理システムの構築

東京大学大学院総合文化研究科 伊藤元己

土松隆志（平成26, 27年度）

久保田渉誠（平成28年度）

平成26～28年度累計予算額：37,045千万円（うち平成28年度額は11,480千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

絶滅危惧植物や希少植物の域外保全に利用するための汎用遺伝マーカーを用いた個体の遺伝情報、その他の形質、由来産地、栽培履歴を、施設横断的に登録、管理、追跡できる域外保全野生植物株のデータベースを構築した。

株の管理にはQRコードを用い、スマートフォンやタブレットにて栽培現場で該当株の情報へのアクセスや変更が可能にするとともに、同じQRコードを用いて一般利用客へその植物種の情報を提供することも可能になっている。

[キーワード]

データベース、トレーサビリティー、絶滅危惧種、域外保全

1. はじめに

絶滅危惧種・希少種には、自生地は1カ所のみ、個体数も一ケタまで減少した種もあり、その持続的な維持・保全には、自生地集団の保護だけでなく、域外保全も必要となっている。しかし、現状の域外保全は、株の由来を追うことも困難な場合が多い。

本研究は絶滅危惧植物や希少植物の絶滅や減少を防止するため、域外保全を効率的、持続的、施設横断的に運用する「域外保全ネットワーク」の構築を目指す。サブテーマ3では、その目的に使用する採集・栽培履歴と遺伝情報を管理する新しい生物情報管理システムの構築をめざす。

2. 研究開発目的

汎用遺伝マーカーを用いた個体の遺伝情報、その他の形質、由来産地、栽培履歴を、施設横断的に登録、管理、追跡できる域外保全野生植物株のデータベースを構築する。保全株の施設間譲渡や分譲に際し、元株の情報を継承するトレーサビリティーを確保する。これらにより絶滅危惧植物の永続的・施設横断的な域外保全株管理を実践することで、絶滅危惧種の絶滅及び減少が防止され、また特に減少している種に対する保全状況の維持や改善に寄与する。

3. 研究開発方法

1. DNAバーコードなど、個体認識のための多様な遺伝マーカー情報の格納形式を検討する。
その際、遺伝情報を格納する必要があるかを検討するために、実際の植物を用いてサンプルデータを取得する。
2. 生物の登録、分譲を記録したトレーサビリティーをもつデータベースシステムのワークフ

- ロー・モデルを作成する。そのモデルに従ってシステム要件を検討して作成する。
3. サブテーマ代表者の研究室で開発した生物多様性情報データベースシステム (Ruga) を基盤として用い、要件設定に従ったプロトタイプ・データシステムをRuby on Railsを使用して作成する
 4. プロトタイプ・データシステムにテストデータを入力し、システムの検証を行う。検証後に、プロトタイプ・データシステムに基づいた実稼働システムの実装を行う。
 5. 実稼働システムを他のサブテーマ研究者に試用してもらい、問題点の指摘に従ってシステムの改良を行う。
 6. 種情報参照機能を実装する。
 7. 域外保全植物の情報を入力し、管理機能の試験を実施する。その際、実際物の分譲を植物園間で行ってシステムの検証を行う。
 8. 実稼働システムにデータを入力・修正するためのWebインターフェースを作成する。
 9. 遺伝情報や他の項目による検索のための機能を実装する。

4. 結果及び考察

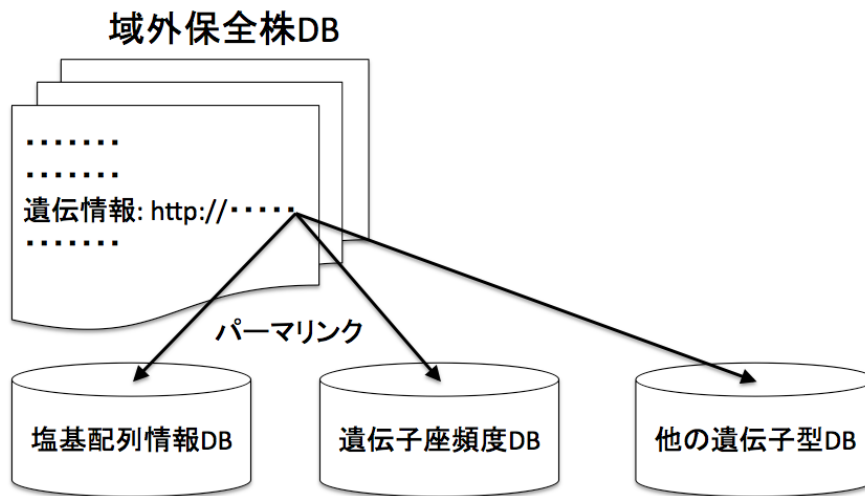
(1) 多様な遺伝マーカー情報の格納形式の検討とサンプルデータの取得

1) 遺伝マーカー情報のサンプルデータを取得するモデル例として、イッスンキンカ *Solidago minutissima* およびシュンジュギク *Aster savatieri* ssp. *pygmaeus* を選択し、屋久島および愛知県、三重県の自生地それぞれの野生株を採集した。

2) イッスンキンカ、シュンジュギクで使用可能なマイクロサテライト (SSR) マーカー用のプライマーセットの開発し、SSR領域の増幅と変異性を両種で確認した。その結果、イッスンキンカで14個、シュンジュギクで7個のSSR領域に多型があることが明らかになった。そのプライマーセットを用いて、イッスンキンカ10個体、シュンジュギク10個体の遺伝子型タイピングを行い、テストデータとした。

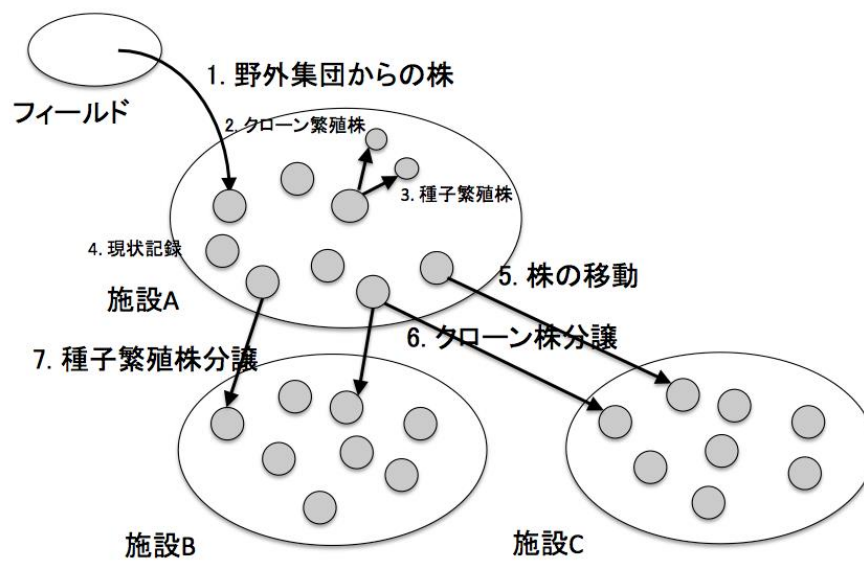
3) 遺伝子配列のテストデータを得るため、上記2種の各10個体について葉緑体DNAの遺伝子間2領域、*trnL-F*, *psbA-trnH* の塩基配列を決定した。

4) 遺伝子配列情報およびSSR情報の両者に対応するためのデータ形式を検討した。個体の遺伝情報は多岐に渡るため、各株のレコードには、データを格納した個別の遺伝情報データベースへのパーマリンク (httpによる結合) のフィールドを用いて標準化することとした。それぞれのタイプの遺伝情報ごとに格納データベースを作成して対応することとした (図(3) -1)

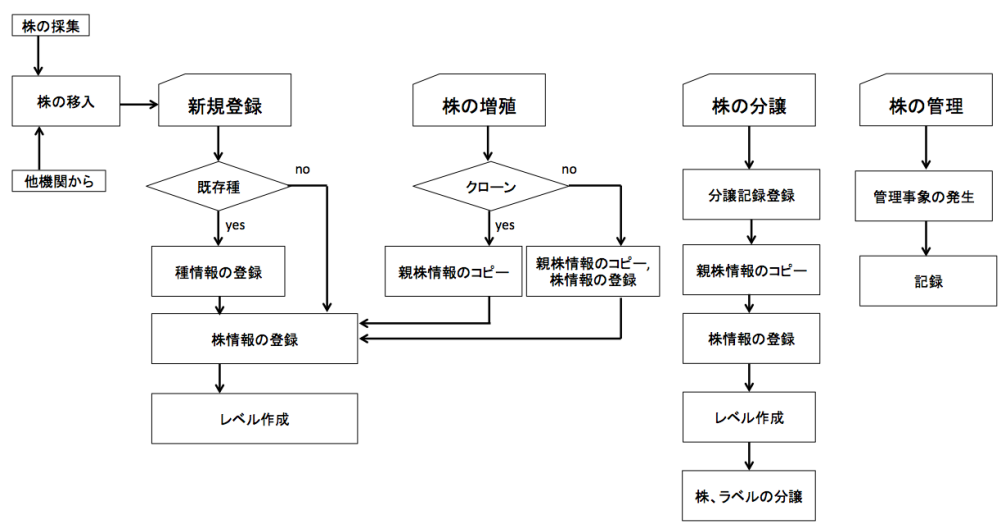


図(3) -1 個体識別用遺伝情報の構造

(2) トレーサビリティーをもつデータベースシステムのワークフロー・モデルの作成およびシステム要件を検討



図(3) -2 ワークフロー・モデル



図(3) -3 域外保全株管理のワークフロー

- 1) 域外保全計画を実行時の対象植物株の移動や繁殖について、想定される事象を検討し、ワークフロー・モデルを作成した(図(3) -2, (3) -3)。
- 2) ワークフロー・モデルに従い、域外保全株の情報データベースの要件を決定した(表(3) -1～(3) -4)。

表(3) -1 保全株Table

フィールド	Database field	データ型	BCコーディング時
ID	ID	Int	
植物ID	SpID	Strings	英文字3
産地No	LocID	Strings	数字2桁
基準株No.	StNo	Strings	数字3桁
個別株No.	IndNo	Strings	数字3桁
分配	TrField	Strings	Strings
遺伝情報ID	GenID	Strings	
Note	StNote	Strings	
保有機関	Inst	Strings	
作成日時	CreateDate	Date	
作成者	Created_by	Strings	
変更日時	ModifyDate	Date	
変更者	Modified_by	Strings	

表(3) -2 植物種Table

フィールド	Database field	データ型
植物ID	SpID	Strings
科名	Family	Strings
属名	Genus	Strings
種名	Species	Strings
亜種・変種名	Subsp	Strings
Note	SpNote	Strings
作成日時	CreateDate	Date
作成者	Created_by	Strings
変更日時	ModifyDate	Date
変更者	Modified_by	Strings

表(3) -3 産地Table

フィールド	Database field	データ型
産地ID	LocID	Strings
植物ID	SpID	Strings
種内産地No	LocNo	Strings
産地名	Locality	Strings
国	Country	Strings
県	Pref	Strings
緯度	Lat	Strings
経度	Long	Strings
標高	Elev	Strings
Note	LocNote	Strings
作成日時	CreateDate	Date
作成者	Created_by	Strings
変更日時	ModifyDate	Date
変更者	Modified_by	Strings

表(3) -4 遺伝情報Table

フィールド	Database field	データ型
遺伝情報ID	GenID	Int
方法	Method	Strings
リンク	Link	Strings
Note	GenNote	Strings
作成日時	CreateDate	Date
作成者	Created_by	Strings
変更日時	ModifyDate	Date
変更者	Modified_by	Strings

3) 株管理に必要なバーコードの選定を行ない、通常のバーコードはCODE39を使用し、Webに直接リンクする目的にはQRコードを使用することにした (図(3) -4)。また、実際に栽培用バーコードを作成する印刷システムを構築した。



図(3)-4. 保全株栽培用バーコード. 左, CODE39, 中, QRコードを使用したラベル例, 右, レベルプリンター.

(3) プロトタイプ・データシステムの作成

1) (2) で決定したデータベース要件を、実際に稼働するリレーショナル・データベースをRuby on Railsを使用して実装し、プロトタイプDBを作成した。

(4) プロトタイプ・データシステムの検証および、プロトタイプ・データシステムに基づいた実稼働システムの実装

1) (3) で作成したプロトタイプに検証用のデータとして、(1) で取得した株の情報を遺伝情報を含めて入力し、稼働状況を確認した。

2) 実証済みのデータベース構造を、実用段階で使用するファイルメーカーの上に実装し稼働状況の確認を行った。

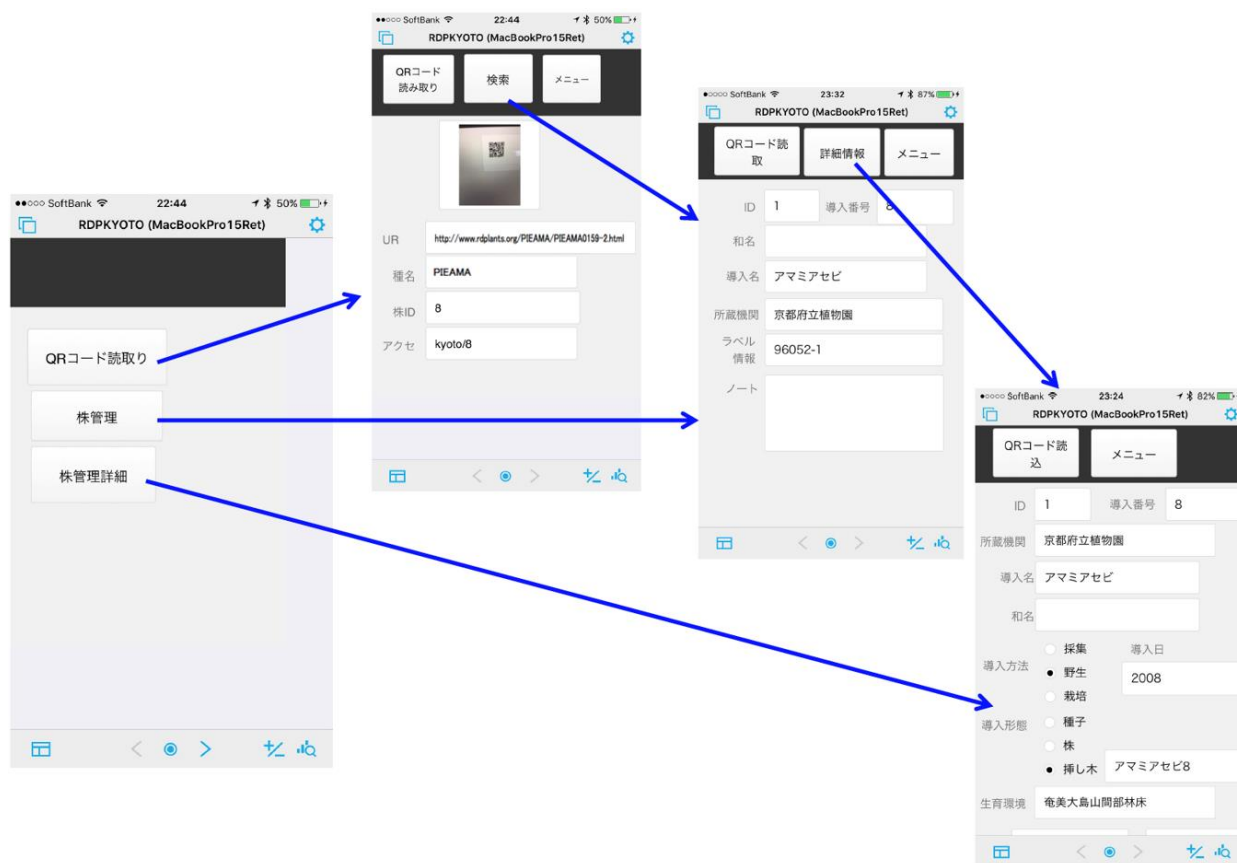
3) サブテーマ1で行う普及保全活動の一環として、27年度に行う予定であった、Webインターフェースの一部を前倒しで作成した。このシステムを用いて、オオキンレイカ *Patrinia triloba* var. *takeuchiana* およびアマミアセビ *Pieris amamioshimensis* についてそれぞれ約100株についてQRコードラベルを作成し、域外保全活動に協力をする市民に配布した。これにより、携帯電話等の機器を用いて、それぞれの株の情報にアクセス可能にした(図(3)-5)



図(3)-5. 市民対象のQRコードによるアクセス例(オオキンレイカ)。

(5) 実稼働システムの改良

栽培現場での、株情報の参照やデータ入力をサポートするため、スマートフォン、タブレット用管理画面の作成を行った（図(3)-6）。これにより、スマートフォンなどに内蔵されているカメラでQRコードを読み込んでのデータ参照が可能となった。



図(3)-6. iPhoneでの管理画面推移

平成26年度にファイルメーカーを使用して実装した実稼働システムを、他のサブグループの研究者に提供し、実際に植物株情報を入力して、テストを行った。その結果、入力項目や操作方法についての要望が出たので、フィードバックを反映させるように実稼働システムの修正を行った。

オオキンレイカとアマミアセビについては、地元の自治体などの協力で、植物株の里親制度が実施されることになったため、この取り組みに利用できるような管理システムを別途作成した（図(3)-7）。

ID	939	チェック	生存	変更日	2016/02/11
番号	59-2			作成日	2015/11/18
種名	PIEAMA	アマミアセビ			
	Pieris amamioshimensis Setoguchi et Y.Maeda		ERICACEAE		
採取地番号	012	PIEAMA012	産地名	瀬戸内町	
個体番号					
ラベル	アマミアセビ59-2				新産地登録
植物園番号	PRSK 004				
個体名	前田芳之氏(大)				
由来					
苗木作成園	京都府立植物園				
収集年					
履歴	2015年2月23日 宇検村立田検中学校へ分譲				
個体名2	大				
ノート	挿し木:京都府立植物園2株				
URL	http://www.rdplants.org/PIEAMA/PIEAMA0159-2.html				
備考2	01-431-大				新規レコード作成

図(3) -7. アマミアセビ用里親による植物域外保全データベース

(6) 種情報参照機能の実装

データベースに種情報に関するフィールド、種の記載と写真のフィールドを追加した。これらの情報を利用するため、QRコードをQRコードリーダーで読み込んだ時に表示させるようなシステムを実装した。これにより、同一QRコードを使い、株管理と一般用の植物情報提供の両者に利用可能となった(図(3) -8)。



図(3) -8. QRコードリーダーで読み込んだ時に一般用と管理用画面を表示させるシステムの実装

(7) 域外保全植物の情報を入力とシステムの検証

サブテーマ1で行われた、アマミアセビの挿木株とオオキンレイカの種子由来株について、産地情報、由来情報および遺伝情報を入力し、さらにこれらの株を分譲することにより、データベースシステムの管理機能の確認を行った。実際に使用しての問題点として、大量の挿木株を作成した際に株管理が煩雑となるとの指摘があった。そのため、株番号と株の対応を後に指定可能になるようなシステムの修正を行った。

(8) 実稼働システムにデータを入力・修正するための Web インターフェース作成

1) 26 年度に Web インターフェースの一部を前倒しで作成した。これに加えて、27年度は QRコード運用システムのデータベースへの実装と、公開用 Web サーバーへの自動出力システムを作成した。

2) 新たに加えた機能をメニューに実装し、各種の入力作業や検索作業を効率よく行えるようにした (図(3)-9)。

植物域外保全データベース

メインメニュー

株管理

QRコード印刷

QRコード読込

遺伝情報

種マスター

産地マスター

管理機関

ファイルを閉じる

植物域外保全データベース 株管理

ID

植物ID

産地No

株ID

管理ID

機関管理番号

遺伝情報ID

Note

作成日時

作成者

変更日時

変更者

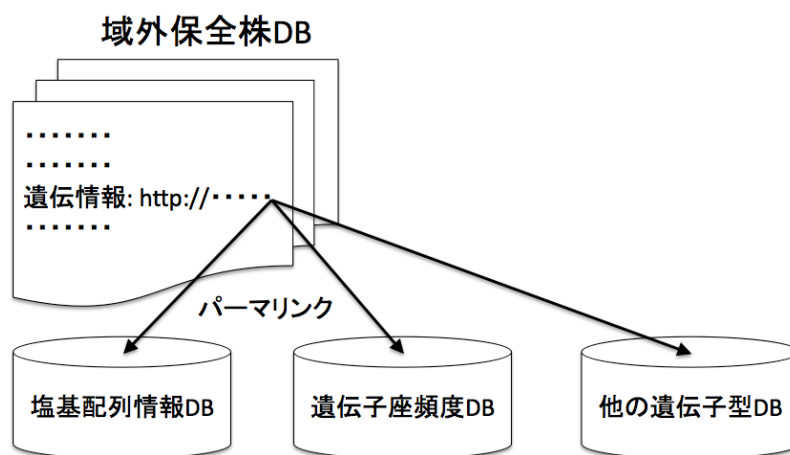
ラベルID

図(3) -9. 物域外保全データベースのメインメニュー（上）と株管理情報入力画面（下）

（９） 遺伝情報や他の項目による検索のための機能の実装

１）遺伝情報として、DNA 塩基配列情報および SSR 等の遺伝子座の遺伝子型情報を収録できるように株管理のデータベースの拡張を行った。

２）昨年度および本年度に取得した、*Solidago minutissima* およびシュンジュギク *Aster savatieri* ssp. *pygmaeus* の DNA 塩基配列情報および SSR 座遺伝子型情報に加え、サブテーマ１で取得したオオキンレイカとアマミアセビの SSR 座遺伝子型情報をテストデータとして入力し、データベースの稼働状況の確認を行った。

[illegible]

図(3) -10. 個体識別用遺伝情報の構造 (上) とデータベース参照画面 (下)

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

当研究で開発されたデータベースで株を管理することにより、希少植物の産地由来が明確になることにより、地理的な遺伝変異を考慮した研究が可能になる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

サブテーマ1の項目でも記載したように、このサブテーマ3で開発された成果を基にして、環境省自然保護局野生生物課では2017年度において、日本植物園協会に国内希少野生植物等の生息域保全に関する業務委託を行うことになった。この委託内容のなかに本研究課題における成果である「生息域外保全情報管理システム」が採用されている。具体的には、日本植物園協会に加盟する10園ほどを対象にして、QRコードを用いた生息域外保全情報管理システムを試験的に運用してみて、情報管理システムの内容を植物園向けに改善することが、初年度の契約内容として盛り込まれた。我々もその実施にあたって関わることになっている。このように本研究課題の成果は、行政の環境政策のなかで活用されることになった。

<行政が活用することが見込まれる成果>

- ・ 本研究で開発されたデータベース、QRコードとスマートフォンなどの携帯型端末を利用した株管理をする手法は、域外保全下にある絶滅危惧植物・希少植物の状況（保有機関や屋外保全集団の位置、個体数、個体毎の履歴情報と遺伝子型）を常に更新された最新の情報として入手できる。この情報に関わる行政は、環境省や都道府県庁、市町村などの多くの行政における環境保全担当部署が見込まれる。
- ・ 絶滅危惧植物・希少植物の増殖を地域参加型の横断型ネットワークで進めるため、本研究課題で提案する域外保全集団や野生復帰集団の形成方法やデータ管理方法を活用することによって、行政が担当する環境保全施策をより実践的かつ低コストで実施す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) Sakaguchi, S. and Ito, M. (2014) Development and characterization of EST-SSR markers for *Solidago virgaurea* complex (Asteraceae) in the Japanese Archipelago. Applications in Plant Sciences, 1400035 (DOI: 10.3732/apps.1400035)
- 2) Sakaguchi, S., Worth, J., Jordan, G., Thomas, P. and Ito, M. (2014) Development of nuclear and mitochondrial microsatellite markers for the relictual conifer genus *Athrotaxis* (Cupressaceae). Conservation Genetics Resources (DOI: 10.1007/s12686-014-0400-8)
- 3) Sakaguchi, S., Worth, J., Jordan, G., Thomas, P. and Ito, M. (2014) Development of

- nuclear microsatellite markers for the Tasmanian endemic conifer *Diselma archeri* Hook. F. (Cupressaceae). Conservation Genetics Resources (DOI: 10.1007/s12686-014-0368-4).
- 4) Ishikawa, N., Sakaguchi, S., Ito, M. (2016) Development and characterization of SSR Markers for *Aster savatieri* (Asteraceae). Appl. Plant Sci. 4 (6) apps.1500143.
- 5) 伊藤元己 2016. GBIFの問題点と今後の展望. 日本生態学会誌 66: 253-258.

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<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) 倉田正観・伊藤元己. 阿蘇・久住地域の絶滅危惧植物における系統地理と遺伝的構造. 日本植物分類学会第14回大会（福島） 2015年3月.
- 2) 石川直子, 森下洋子, 阪口翔太, 伊藤元己. 蛇紋岩植物の進化 - シュンジュギクとミヤマヨメナの遺伝構造解析. 日本植物分類学会第14回大会（福島） 2015年3月.
- 3) 阪口翔太・堀江健二・石川直子・永野惇・本庄三恵・工藤洋・伊藤元己. 北海道蛇紋岩地帯におけるアキノキリンソウ属植物の土壤エコタイプ形成. 日本植物分類学会第14回大会（福島） 2015年3月.
- 4) 石川直子, 森下洋子, 阪口翔太, 伊藤元己. 蛇紋岩植物シュンジュギクの遺伝構造解析. 日本生態学会鹿児島大会（鹿児島） 2015年3月
- 5) 伊藤元己. 希少植物域外保全管理用データベースとその活用. 日本植物学会第80回大会（2016.9.16. 宜野湾市）.
- 6) TAVARES VASQUES Diego・海老原淳・伊藤元己. コケシノブ属ホソバコケシノブ亜属およびホソバコケシノブ（コケシノブ科）の分子系統解析と分類の再検討. 日本植物分類学会第16回大会（京都） 2017年3月.
- 7) 倉田正観・伊藤元己. 湿地性大陸系遺存植物ヒゴシオン（*Aster maackii*）の遺伝構造と系統地理. 日本植物分類学会第16回大会（京都） 2017年3月.
- 8) 中川さやか・土畑重人・井鷲裕司・伊藤元己. キク科シオン属二年生草本におけるロゼットを持つ開花個体と生育環境. 日本植物分類学会第16回大会（京都） 2017年3月.
- 9) 伊藤元己・加藤俊英・森重剛志・上原浩一・海老原淳・綱本良啓・満行知花・陶山佳久. ゲノムワイド塩基配列多型検出のためのMIG-seq法試料として、さく葉標本から抽出したDNAは使用可能か？日本植物分類学会第16回大会（京都） 2017年3月.
- 10) 阪口翔太・堀江健二・石川直子・永野惇・本庄三恵・工藤洋・福島慶太郎・成田あゆ・山崎理正・井鷲裕司・伊藤元己. 北海道蛇紋岩地帯におけるアキノキリンソウの生態的種分化. 日本植物分類学会第16回大会（京都） 2017年3月.
- 11) 伊藤元己. 地球規模ネットワークによる生物多様性ビッグデータの集積・提供・利用. 日本生態学会東京大会（東京） 2017年3月.
- 12) 中川さやか・土畑重人・井鷲裕司・伊藤元己. 攪乱地適応か？ツツザキヤマジノギク・カワラノギク開花個体のロゼット. 日本生態学会東京大会（東京） 2017年3月.

(3) 出願特許

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

公開講演会「希少植物保全活動の最前線」(2017. 1. 28. 京都府立植物園)にてQRコードとネットワークについて概要を発表、研究成果を一般聴衆に紹介した。

(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

特に記載すべき事項はない。

Development of a Sustainable Network to Support Genetic Diversity in Rare and Endangered Japanese Plant Species through Ex-situ Conservation

Principal Investigator: Hiroaki SETOGUCHI

Institution: Graduate School of Human and Environmental Studies in Kyoto University

Yoshida Nihonmatsu-cho, Kyoto-City, Kyoto 606-8501,
JAPAN

Tel: +81-75-753-6858

E-mail: setoguchi.hiroaki.2c@kyoto-u.ac.jp

Cooperated by: Tokyo University, Chiba University

[Abstract]

Key Words: Ex-situ conservation, Genetic analysis, Reintroduction, Citizen participation

There are 1080 vascular plants in danger of extinction due to destruction of their habitat and over collection by human which listed on the 4th Red List of the Ministry of the Environment. Some plants are protected under the law and conserved in-situ, however if sudden environmental changes in the habitat, severe damages by herbivores or hybridization with alien species were the causes of endanger, ex-situ conservation in fully equipped facilities is the effective alternative and will be more needed in the future. However even in ex-situ conservation, plants are always facing a risk of loss due to circumstances such as changes of personnel in such facilities or changes of policies of the organization. Moreover, the bottleneck effects could reduce the genetic diversity of the ex-situ collection which leads to fertility problems during repeated generation changes.

In this research, as a countermeasure to the situation described above, we constructed a system that comprehensive database of ex-situ conservation stocks at the individual level, which includes information of their origin and genetic information, can be shared between botanical gardens and academia through the networking via internet. We engaged on the ex-situ conservations of seven species, *Patrinia triloba* var. *takeuchiana*, *Pieris amamioshimensis*, *Rumex nepalensis* subsp. *andreaeanus*, *Primula reinii* var. *rhodotricha*, *Asarum titaense*, *Tricyrtis macrantha* and *Veronicastrum noguchii* and demonstrated the database system to show its usefulness for the long term maintenance of plants. Especially for the former two species, we were able to achieve their reintroductions to the natural habitats considering genetic background of individual plants.

Regarding *Patrinia triloba*, in cooperation with local municipalities and the Board of Education, local residents and school children were involved in the conservation project. Through the activities, we were able to raise awareness not only of understanding of the *Patrinia* but also of nature around us, and we were able to achieve a shift from university-led conservation activities to locally led sustainable conservation activities.