Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費　終了研究成果報告書

トキの野生復帰のための放鳥個体群・里山の管理手法と持続可能な地域社会モデルの研究

(4-1606)

平成 28 年度～平成 30 年度

Studies on Population Management and Habitat Restoration of Socio-Ecological Production Landscapes for the Successful Reintroduction of Crested Ibis

〈研究代表機関〉
新潟大学

2019 年 5 月

目次

Ⅰ. 成果の概要 ・・・・・・・・ 1
1．はじめに（研究背景等） 1
2．研究開発目的 2
3．研究開発の方法 2
4．結果及び考察 4
5．本研究により得られた主な成果 8
6．研究成果の主な発表状況 9
7．研究者略歴 11

Ⅱ. 成果の詳細
Ⅱ－１　放鳥トキの繁殖失敗要因と環境収容力の推定 ・・・・・・・・ 12
（新潟大学）
要旨 12
1．はじめに 13
2．研究開発目的 14
3．研究開発方法 15
4．結果及び考察 16
5．本研究により得られた成果 23
6．国際共同研究等の状況 23
7．研究成果の発表状況 24
8．引用文献 26

Ⅱ－２　放鳥トキの遺伝的管理手法の開発 ・・・・・・・・ 28
（新潟大学）
要旨 28
1．はじめに 28
2．研究開発目的 30
3．研究開発方法 30
4．結果及び考察 34
5．本研究により得られた成果 41
6．国際共同研究等の状況 42
7．研究成果の発表状況 42
8．引用文献 43

Ⅱ－３　トキの野生復帰のための里地里山の管理手法の研究 ・・・・・・・・ 44
（新潟大学）
要旨 44
1．　はじめに 44

２．研究開発目的 45
３．研究開発方法 46
４．結果及び考察 50
５．本研究により得られた成果 59
６．国際共同研究等の状況 60
７．研究成果の発表状況 60
８．引用文献 62

Ⅱ－4 トキと共存可能な地域社会モデルの研究 ・・・・・・・ 63
（新潟大学）
要旨 63
９．はじめに 63
１０． 研究開発目的 64
１１． 研究開発方法 64
１２． 結果及び考察 66
１３． 本研究により得られた成果 78
１４． 国際共同研究等の状況 79
１５． 研究成果の発表状況 79
１６． 引用文献 80

Ⅲ．英文 Abstract ・・・・・・・ 81

Ⅰ. 成果の概要

課題名　4-1606　トキの野生復帰のための放鳥個体群・里山の管理手法と持続可能な地域社会モデルの研究

課題代表者名　永田　尚志　（新潟大学）

研究実施期間　平成28～30年度

累計予算額　　61,381千円
（うち平成28年度:20,807千円、平成29年度:20,807千円、平成30年度:19,767千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード トキ、再導入、個体群管理、里山管理、地域社会

研究体制
（1）放鳥トキの繁殖失敗要因と環境収容力の推定（新潟大学）
（2）放鳥トキの遺伝的管理手法の開発（新潟大学）
（3）トキの野生復帰のための里地里山の管理手法の研究（新潟大学）
（4）トキと共存可能な地域社会モデルの研究（新潟大学）

１．はじめに（研究背景等）

生物多様性を回復させるために、過去20年間に世界中で138種の希少鳥類の野生復帰が実施されているが、トキやコウノトリのように人間活動によって維持されている里地里山環境での再導入事例は少ない。2008年から環境省によって佐渡島ではトキの野生復帰が実施され、2018年にはトキの野生復帰10周年を迎え、2018年末には約350羽が生息している。毎年、トキを放鳥することで再導入個体群は着実に増加し、2003年に掲げた「2015年までに60羽の定着」という目標は2014年に達成し、新しいロードマップの「2020年までに220羽の定着」という目標も2年前倒しの2018年6月に達成された。再導入されたトキが野外で初めて繁殖したのは放鳥から4年後の2012年であり、本研究課題が提案された2015年末時点では野外での繁殖成功率は低く、放鳥によって再導入個体群は維持されている状態であった。しかし、本研究の実施期間である2016−2018年の3年間に野外生まれの個体数が増加するにつれて繁殖成績が改善し、再導入個体群が指数関数的に増加する兆しが見え始めている。野外生まれの個体が増加するにつれて足輪を装着できない個体も増加し、再導入個体群の遺伝学的構造の把握が難しくなってきている。また、トキの放鳥から10年が経過し、地域住民のトキへの関心が薄らぐとともに、野外の個体数の増加に伴い稲踏み等、農家との軋轢も増加してきている。しかし、佐渡島に生息可能なトキの個体数（環境収容力）は不明のままで、トキの再導入個体群を維持するのに必要な最小存続可能個体群サイズも明らかになっていない。佐渡島では、人口減少･高齢化の進行に伴い、中山間地の耕作地の放棄が急速に進行している。トキにとって農耕地は豊かな生物多様性を育む重要な採餌環境であるため、今後、トキの個体群を支える餌場環境も劣化していくと予想されている。佐渡島において自立可能なトキの再導入個体群を維持し、真のトキの野生復帰を実現するには、社会環境の変化にともなって環境収容力がどのように変化していくかを予測したうえで、人口学的･遺伝学的に健全な再導入個体群を管理していく必要がある。したがって、里地里山の生物多様性の維持管理方法、並びに、それを可能とする地域社会モデルを構築することは、トキの野生復帰の道筋を明確に示すことにもなる。これは、トキという代表種がいない地域での里地里山の生物多様性の維持管理手法にも応用可能であり、本州でトキの生息地を整備する際の指針にもなる。今後、世界中でも人間活動によって維持されているSATOYAMAのような身近な生態系での希少種の再導入の必要性は増加していくと予想されるので、トキの野生復帰の実

現は重要な先行事例となり、絶滅危惧種の絶滅を防ぐという愛知目標12の実現にも貢献すると考えられる。

２．研究開発目的

トキの自立個体群の確立という“真”の野生復帰を実現するために、佐渡島全体でのトキの環境収容力を推定し、集団の人口学的・遺伝学的構造をもとに放鳥個体群を管理する手法を確立し、トキの野生復帰に効果的な里地里山の管理手法、及び、高齢化・人口減少に伴う里地里山でのトキと共存可能な地域社会を明らかにすることが最終的な目的である。サブテーマ 1 では、繁殖成績を制限している要因を明らかにし、放鳥トキの環境収容力を推定するとともに、稲踏み等の人との軋轢を軽減する方法を提案する。サブテーマ2は、今後、増加する未標識個体の家系推定を行い、近親交配の影響を査定するのに必要となる遺伝子マーカーを開発し、放鳥集団の遺伝学的構造を把握できるようにする。サブテーマ 3 は、景観や土地の管理方法がドジョウや水田の土壌無脊椎動物等のトキの主要な餌生物に与える影響を評価し、将来の耕作環境の変化がトキの環境収容力に与える影響を推定すると同時に、侵入捕食者であるテンやカラス等の生息分布がトキの繁殖成功に与える影響も評価する。トキの野生復帰に重要と考えられるこれらの種を指標種として、トキの野生復帰に重要な里山の生物多様性を維持するのに効果的な管理手法を提案する。サブテーマ 4 では、トキの野生復帰に伴う住民の意識変化、地域の衰退とともに進む里の環境の劣化等、地域で生じている課題を整理しながら課題解決に向けた方向性を検討し、将来にわたってトキと共存可能な地域社会を提案する。最終的に、サブテーマ１〜４を統合して、今後の中山間地の水田の放棄シナリオをもとに、トキの個体群を維持するのに必要な里地里山の維持管理方法、並びに、それを可能とする地域社会モデルを検討する。佐渡島で実施されたトキの再導入手法を科学的に記述し、トキにとって好ましい里山の管理手法を提案することは、本州の里山で生物多様性を高めてトキが生息可能な環境を整備する際にも役立つと考えられる。

３．研究開発の方法

（1）放鳥トキの繁殖失敗要因と環境収容力の推定

繁殖失敗要因を解明するために、2010-2018 年に営巣記録のある、のべ 387 番いの繁殖失敗時期を特定した。繁殖失敗が最も生じる時期は抱卵期であったため、トキの抱卵行動を撮影したデジスコ映像を使って、親鳥の行動が長時間にわたって解析可能な20番いの 32 巣（126 日分、1,144時間）の親鳥の抱卵期間中の行動を解析した。抱卵期を便宜上、前期（1～10 日）、中期（11～20日）、後期（21～最終卵孵化日）の３つに分け、各時期における雌雄の交代頻度(抱卵時間)、親鳥のいない空巣の発生頻度、転卵・整巣等による親鳥の立ち上がり頻度を解析した。さらに、2010〜2018 年で繁殖記録の残っている全 364 巣を使って、親鳥の年齢、親鳥の出自や育雛形態等の履歴、繁殖時期を説明変数として、繁殖の成功に影響を与える要因をロジスティック回帰モデル（GLM）で解析した。次に、2008 年にトキが放鳥されてから 2018 年までの期間、各年の大晦日の個体数と生存率、および、繁殖成功率との関係から密度効果を解析し、密度効果から環境収容力が推定可能か検討した。また、野外での繁殖が成功した 2012 年以降の繁殖巣の分布変化を ArcGIS で解析し、地形 4 変数、気象 4 変数、植生 12 変数、空間1変数の計 21 変数を説明変数とし、サブメッシュ毎の最大営巣数を説明するポアソン回帰モデルを構築した。得られたベストモデルを使って佐渡島のトキの生息可能個体数（環境収容力）の推定を行うと同時に、農耕地の放棄に伴う生息可能個体数の変化を予測した。

さらに、トキの稲踏み被害の生じる範囲を推定するために、営巣林からどれくらいの距離まで採餌トリップにでかけているかを推定するために、長さ 500mのセンサスルートを国仲平野に 17 本を設置し、2016-2018 年の４月から６月中旬にかけてセンサス調査を合計 45 回（2016 年 13 回、2017 年17 回、2018 年 15 回）実施し、センサス時に識別できた個体の位置と営巣場所との距離を記録した。また、センサスルートごとのトキの相対密度と営巣林との距離の関係を解析した。センサス時に田植

え後の水田で採餌するトキを発見した場合は、3 分間追跡観察し踏みつけた稲株数も記録した。トキによる稲踏みが稲の生存率、収量に与える影響を評価するため、実験的に稲株を踏みつけ、その後の生存、生長、収穫量を調べた。

（2）放鳥トキの遺伝的管理手法の開発

最初に、32,157 個の一塩基多型（SNP）および 162 個のマイクロサテライト（MS）多型マーカー候補の中から遺伝的管理手法に有用な多型マーカー候補の選抜を行った。ゲノム上に 3～5Mbp 間隔で多型マーカーを均等に配置するためにトキゲノムの BLAST 検索を行い、始祖 5 個体から得られた 3 万超の多型性が高い遺伝子マーカー候補の中から多型マーカー候補を 300～500 個に絞り込んだ。この選出した多型マーカー候補の部位を増幅するためのプライマーペアの設計を行い、PCR により、PCR 産物の長さ・収量を評価しながら、PCR 増幅可能な多型マーカー候補を選出した。選出されたプライマーペアを用いて、multiplex PCR を実施し、multiplex PCR による反応条件を検討することで、multiplex-PCR と次世代シークエンサー（NGS）を用いたタイピング法を確立した。さらに、NGS によるタイピングを実施し、得られたタイピングデータを解析し、有用多型マーカー候補の選抜を行った。次に、有用多型マーカー候補によるタイピングの正確性を上げるためには、解析サンプル数を増やす必要がある。そこで、始祖 5 個体(友友、洋洋、美美、華陽、溢水)＋後代 19 個体の計 24 個体に検体を増やした。選出された 216 個のマーカーを用い、確立した反応条件で multiplex PCR を行い 24 個体のタイピングデータを用いて有用多型マーカー候補の絞り込み選抜を行った。さらに、選抜された有用多型マーカー候補が個体識別および家系推定の検定においても有用であるかどうかを検証するために、優優（友友と洋洋の子）と美美の子孫である B 系統 10 個体、C 系統 1 個体、E 系統 2 個体、F 系統 2 個体、G 系統 1 個体、I 系統 2 個体、J 系統 1 個体、の計 19 個体について選抜マーカーを用いたタイピングを行い、各組合せにおいて少なくとも1つ以上のマーカーにおいて遺伝子型が異なり、個体識別が可能かどうかを検証した。また、優優（友友と洋洋の子）と美美を親とする B 系統の教師家系を用いて、選抜された有用多型マーカー候補がメンデル遺伝に従い家系推定に利用可能かを検討した。つまり、教師家系において優優の父母である友友、洋洋を不明（ブラインド）とした時に、友友、洋洋の交配による家系に由来していることが推定できるか否かについて検討した。最終的に、個体識別できないトキの家系を推定し野外個体群の遺伝的管理手法を確立するために、さらに効率の良いものにするためには、有用多型マーカー候補の数を絞り込み、低コストでタイピングする手法を開発していく必要がある。そのために個体識別および家系推定が可能であるとされた有用多型マーカー候補を用い、ゲノムの位置による検討・ゲノム上間隔についての検討など、BLAST 検索を用いたマッピングに基づく有用多型マーカー候補の数の絞り込みについての検討を行った。

（3）トキの野生復帰のための里地里山の管理手法の研究

本サブテーマは、トキの潜在的な餌生物と捕食者の双方を対象に、それらの密度や行動、動態様式と、土地利用・農法との関係の現状を把握することで、これからの里地里山の変化が及ぼす影響を評価した。それらの結果と各サブテーマの結果を統合して、トキの環境収容力や繁殖に与える影響を評価するとともに（サブテーマ 1）、地域社会との共存可能な（サブテーマ 4）里地里山の管理手法の確立を目指した。餌生物として、重量・カロリーベースで重要な餌であることがわかっているドジョウ（魚類）とミミズ類（環形動物門貧毛綱）を対象にした。また、ミミズと同じく夏期にトキによる水田畦畔上での利用頻度が高まることが知られているゴミムシ類（節足動物門昆虫綱）や土壌動物（生活環の一部を地中・地表で過ごす無脊椎動物）も対象とした。捕食者はテンとカラス類を対象にした。テンは、飼育下のトキを捕食したことが報告されていること、樹上に登ることができるなどの特性から、トキの繁殖成功に影響を及ぼすと考えられている。カラスは野外でトキの巣から卵を持ち去ったことが確認されている。

今後佐渡で起こりうる里地里山の変化の中で特に注目すべき点として、中山間地での耕作放棄地の増大と、圃場整備の進行、畦畔管理手法の変化に着目して研究を進めた。ドジョウを対象にし

た研究では、2016 年～2018 年に水田に隣接する水路内でドジョウを定期的・定量的に捕獲し、出現頻度や各個体の体長および湿重量を平地と中山間地（谷津）とで比較した。また、圃場整備に関する項目として、灌漑様式、護岸状況、水理条件等も調査し、ドジョウ個体群との関係を評価した。2016 年～2017 年に、水田畦畔に生息するミミズ類とゴミムシ類を定期的・定量的に採集し、それらの個体数・生重量と、景観構造や圃場整備状況、微小環境との関係を分析した。テンを対象にした研究は、2016 年～2018 年に自動撮影カメラを複数地点設置し行動パターンを解析、それらと土地利用（樹林地、耕作地、果樹園、宅地等）との関係を分析した。また、繁殖期のトキの営巣情報をもとに（サブテーマ 1）、捕食者群（テン・カラス類）の生息密度との関係を解析した。畦畔管理は、労力がかかる草刈頻度と刈った草（刈草）の除去、草刈りの代替法として利用頻度が高まることが予想される除草剤散布の 3 つの管理作業が餌生物群にもたらす影響を 2018 年に実験的に調査した。

(4)トキと共存可能な地域社会モデルの研究

野生復帰事業が順調に進むためには、地域の人びとの関心や協力意識を高めていくことが極めて重要である。事業推進の過程で生じる課題は、新たな挑戦として人びとの意欲を引き出すこともあれば、逆に関心や協力意識の低下を招く場合もある。後者のような課題をリスクとして認識し、整理し、対応策を考えていくことが、トキの野生復帰事業のマネジメントにおいて不可欠である。そこで、本サブテーマでは、トキとの共存をめぐって地域社会で生じている、あるいは今後生じる可能性のある課題を明らかにし、課題に対応するためのアプローチを提示するために、トキとの共存をめぐって人びとが抱いている多彩なインタレストを①非構造化インタビュー調査、ならびに②アンケート調査を通して明らかにし、トキの野生復帰事業をめぐる課題（潜在的リスクを含む）を分析した。

非構造化インタビュー調査では、「トキとの共生を考える談義」と称した座談会形式の意見収集・交換の場を計 10 回開き、地域のインタレストを収集した。談義の開催地は、サブテーマ1からの情報提供をもとに、トキが頻繁に飛来している地域（高頻度飛来地）とその周辺域（中間）から 10 箇所選定した。談義では、野生下のトキについての情報提供を行った後、トキとの共生を通して感じていること、認識している課題などを、参加者に自由に話してもらい、その内容を IC レコーダーで録音し、テキスト化した。MaxQDA を用いてテキストデータをコーディングした後、多彩なインタレストをマップとして可視化し、課題の分析を行った。談義には、述べ 137 名が参加した。トキとの共存をめぐって特に重要なステークホルダーとされている農業者に対しては、別途インタビュー調査を実施した。朱鷺と暮らす郷づくり推進協議会が主催した「平成 28 年度第2回朱鷺と暮らす郷づくり推進フォーラム」で行われたグループディスカッションを通して、農業者のインタレストを収集した。録音した音声データをテキスト化し、発言のなかから課題を整理した。また、平成 30 年度「朱鷺と暮らす郷づくり認証制度」参加農家を対象にアンケート調査を行い、定性的調査と定量的調査を組み合わせることで、地域住民のインタレストを細かに把握しつつ、可視化されていない傾向を導き出すことを目指した。インタビュー調査とアンケート調査は、類似の事業であるコウノトリの野生復帰に取り組む兵庫県豊岡市でも実施した。

上記のインタビュー調査およびアンケート調査結果を踏まえて、課題の特性について考察を行い、トキと共存可能な地域社会モデルを検討した。

4．結果及び考察

（1）放鳥トキの繁殖失敗要因と環境収容力の推定

2010 年から 2018 年までの 8 年間に観察されたのべ 319 ペア、計 381 巣の繁殖状況を解析した。1 羽でも雛を巣立たせた繁殖成功例は 102 巣で全体の 26.7%にあたる。最近 3 年間の繁殖成功率は比較的高く、特に 2017 年の繁殖成功率は 43.7%に達している(表(1)-1)。繁殖失敗時期は、抱卵中期が 154 巣（55.2%）と最も多く、次が孵化予定日前後の 51 巣（18.3%）であった。孵化成功に影響を与えているのは、抱卵交代頻度と雄の出自（野生）の 2 変数であり、抱卵期の初期の交代頻度が高い巣ほど、繁殖を失敗する傾向が高かった（GLM, $P<0.05$）。一方、繁殖の成否が判明しているす

べての営巣データを用いた解析によると、雌が自然育雛で育ち、雄の年齢の高いつがいほど繁殖成功が高い傾向が認められた（GLM, P<0.05）。野外生まれの個体が繁殖に参加している巣の繁殖成績が有意に高く（図(1)-3b）、野外生まれの個体比率が増加するにつれて全体の繁殖成績が上昇してきていると考えられた。2008 年から 2018 年にかけて、各年末の個体群サイズと生存率、および、繁殖成功率の関係を解析した。2011 年以降は毎年 20〜38 羽が放鳥され、2012 年以降は毎年巣立ちが確認され、4〜77 羽の若鳥が再導入個体群に加入している。このため、トキの再導入個体群は順調に増加し、2018 年 12 月末現在、約 350 羽にまで増加した。しかし、新既放鳥個体、および、既放鳥個体の年生存率は、佐渡島内の生息数が増えても変化せず、繁殖つがい数が増加するにつれて繁殖成功率は増加しているため、密度効果は検出できなかった。そこで、2012 年から 2018 年にかけてのサブメッシュ（5km メッシュ）毎の最大営巣数をもとにハビタット選択モデル（GLM）を構築し、生息可能密度を推定した。ベストモデルから推定された生息可能な番数は 327〜442 番いと算出され、非繁殖個体を含めると 1006〜1360 羽が佐渡島に生息できると推定された。営巣林からの距離が離れるにしたがってトキの観察頻度は指数的に減少し、被害の起こり範囲は 1500m以内と推定された。また、田植え直後の 5 月から 6 月にかけて、水田での水田内での観察頻度は 2.18±0.48 個体/10ha/hr に過ぎなかった。トキの稲株の踏みつけ頻度は、平均 0.57±0.051 株/分（n=264）であったが、田面（内部）よりも畦際では踏付け頻度が低かった。

田植え後 2 週目までの処理区では生存率が低く、収量が対照区よりも低い傾向が見られたが、3 週目以降の処理区と対照区間で有意な差はなかった（図（1）-9）。しかし、枯死株の周囲の隣接株では収量が約 1.3 倍に増加するため、数株が枯死した程度であれば隣接株の収量増加で枯死株の収量の損失を補償できると考えられた。トキの個体数増加にともなうトキの稲踏みに対する農家の不安を取り除くには、稲踏みハザードマップを作成し、田植え後 2 週間以内の水田へのトキの侵入を防ぐ対策が必要と考えられた。

（2）放鳥トキの遺伝的管理手法の開発

最初に、multiplex-PCR とNGS を用いたタイピング法を確立し、多型マーカー候補の中から有用多型マーカーの選抜を行うことができた。3 万超の多型候補を BLAST 検索により、トキゲノム上に 3〜5Mbp 間隔に配置することを想定し、始祖 5 個体において、多型性が高い遺伝子座を選択することにより、SNP255 個、MS70 個合計 325 個の多型マーカー候補を選出することができた。また、選出した 325 個の多型マーカー候補の多型部位を増幅するためのプライマーペアの設計を行い、PCR により、PCR 産物の長さ・収量を評価することで、SNP170 個、MS46 個合計 216 個の多型マーカー候補を選出することができた。選出されたプライマーペアを用いて、multiplex PCR を実施し、multiplex PCR の条件検討を行った結果、電気泳動・Bioanalyzer による確認においては、約 20 個のプライマーペアを混合し増幅する multi20、約 40 個のプライマーペアを混合し増幅する multi40 ともに PCR プライマーの設計及び評価の際設計した、PCR 産物の長さが 200〜300bp の PCR 産物を増幅できていた。また Bioanalyzer では、1 個のプライマーペアのみで増幅する single と比較しても multi20、multi40 も増幅の正確性に相違がないことが判明した。Qubit での定量による確認においては、multi20、multi40 の両方においてNGS で利用できる十分なDNA 収量であるということがわかった。この結果をもとにNGS によるタイピングを行い、タイピングデータの解析により、タイピング法の確立・有用多型マーカー候補の選抜を行った。depth に基づくアリル判定の有用多型マーカー数は single で 196、multi20 で 150、multi40 で 179 であった。multi40 ではタイピングが容易に行うことができ、有用多型マーカー数も multi20 と比べ多数得ることができることから、multi40 の条件によるタイピング法が適当であると考えられた。また、multi40 で得られた 179 個は有用多型マーカー候補になると考えられた。

次に、選出された 216 個のマーカーを用い、multi40 の条件により multiplex PCR を行うことで、始祖 5 個体(友友、洋洋、美美、華陽、溢水)＋後代 19 個体の 24 個体のサンプルのタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜を行った。その結果、タイピング可能と判断されたマーカーは計 172 個であった。その内訳は、一多型座位のマーカー数 112 個、二多型座位のマーカー数 60 個であ

った。一方、タイピング不可能と判断されたマーカーは計 30 個であった。その内訳は、多型なし 6 個、一座位あたり 3 アリル以上 24 個であった。低増幅と判断されたマーカーは 14 個であった。 こうして、タイピング可能なマーカーである 172 個のマーカーが有用多型マーカー候補になると考えられた。

さらに、優優（友友と洋洋の子）と美美の子の全個体群 B 系統 10 個体、そして C 系統 1 個体、E 系統 2 個体、F 系統 2 個体、G 系統 1 個体、I 系統 2 個体、J 系統 1 個体、の計 19 個体について 172 個のマーカーを用いたタイピングを行い、各組合せにおいて少なくとも 1 つのマーカーにおける遺伝子型が異なり、個体識別が可能であるか否かを検証した結果、2 個体間のすべての組み合わせにおいて、少なくとも 1 つのマーカーにおける遺伝子型が異なり、172 個の有用多型マーカー候補が個体識別に有効であることが分かった。また、優優（友友と洋洋の子）と美美を親とする B 系統の教師家系を用いて、172 個の有用多型マーカー候補がメンデル遺伝に従い家系推定に有用か否かを検証した結果、172 個のマーカーすべてがメンデル遺伝性に従っており、真のとおり友友/洋洋の交配による家系に由来していることが推定されこと、つまり不適合遺伝子座がみられないことが分かった。よって、172 個の有用多型マーカー候補が家系推定に有効であることが判明した。

最終的に、172 個のマーカーを用い、マッピングに基づく多型マーカー候補の数の絞り込みについての検討を行った結果、ゲノムの位置による検討では 172 個のマーカーすべてを使用する必要があると考えられた。ゲノム上間隔についての検討では一多型座位で 99 個、二多型座位で 52 個の計 151 個のマーカーを使用すればよいと考えられた。今回開発した 151 個の有用多型マーカーを利用したタイピング手法により、佐渡島の再導入集団の未標識個体の家系推定が可能と考えられる。今後、近親交配による問題が生じた際に、問題の生じた家系を推定し個体を隔離する等の遺伝的管理を行うことが可能となると考えられた。

(3)トキの野生復帰のための里地里山の管理手法の研究

ドジョウの現存量の季節推移及び規定する環境要因の解明を目指した研究では、景観構造と現存量の季節推移は景観ごとに大きく異ならないことを示し、調査期間全体で水面面積あたりのドジョウの現存量は谷津で高くなる傾向を確認した（GLM, P <0.001）。また、水面面積あたりのドジョウ現存量を目的変数とし、各環境要因を説明変数とした GLM に基づく Model averaging の結果においては、景観と水温のみがドジョウ現存量と有意な関係を示した（P <0.001）。既往研究でドジョウの生息状況に大きな影響を及ぼす要因として灌漑方式が指摘されており、水田利用の可否に関わるものとして産卵環境の質や量に直結する要因であると考えられるものの、今回はドジョウ現存量との間に関連は認められなかった。2018 年 7 月及び 11 月に採集した 157 個体について胃内容物を確認した結果においては、谷津と平地で餌生物の組成に有意な違いは認められなかった一方で（MRPP, P >0.05）、胃充満度は谷津において有意に大きくなる傾向が確認された（GLM, P <0.001）。加えて、耳石輪紋を用いた解析から、谷津においてより高い成長率を示すことが明らかとなった（GLM, P <0.001）。これらの結果は、平地の水田水域に比べ谷津水域ではドジョウにとって利用可能な餌資源量が多く、これにより個体の成長率が高まっていることを示唆している。実際、2018 年に採集された全個体（n=1397）のドジョウについて全長と生重量を計測した結果、いずれも非灌漑期では谷津で有意に大きくなる傾向が確認された（GLM, P <0.001）。

また、ドジョウの出現頻度を比較すると、谷津では平地より出現率が低くなる傾向がみられた（GLM, P <0.001）。谷津では局所的な個体群絶滅が起こりやすく、加えて下流からの再移入が不可能となっており、これにより谷津におけるドジョウの出現頻度の低下が引き起こされていると考えられた。上記の通り谷津はドジョウにとって良好な生息環境であると考えられるものの、本研究結果は耕作放棄だけでなく圃場整備や河川改修にともなう水域ネットワークの分断によっても地域における良好な生息環境が消失しうることを示唆した。

水田畦畔に生息するミミズ類の現存量と分布を決める要因の解明を目指した研究においては、畦畔のミミズ類では、森林由来のリターを利用する表層性の大型ミミズは少なく、攪乱に強い 2 種の優

占が認められた。同時に、ミミズの個体数・生重量を目的変数とし、各環境要因を説明変数としたGLM に基づくModel averaging の結果においては、両指数とも中山間地の森林に隣接する畦畔（谷津）で平地より低いことがわかった（P <0.001）。体サイズ別に測定したカロリーの景観間の傾向を調べた結果、0.125m^2 あたりで得られるカロリーは平地で 24.74kcal、谷津で 11.74kcal で、ミミズの場合は平地でより高い効率で採餌できることが示唆された。また、トキが利用可能な地表から 10 cm 程度の浅層部のミミズについて季節性が認められた（GLM,　Model Averaging, P <0.01）。特に、トキの畦畔利用頻度が高まる 7・8 月のミミズ個体数・生重量は、6・9 月に比べて極端に低いことが明らかとなった。なお、景観構造間で季節推移に違いはなかった。調査時に調べた地表面の温度は、6・9 月に比べて 7・8 月は 8～10 度上昇しており、地温の上昇によって乾燥を嫌うミミズがより深い部分へ移動したと推測された。畦畔面積は田面に比べて小さく、夏期はトキの利用可能な採餌面積が狭まると予想されてきたが、本研究によって平地および谷津ともに夏期はミミズの捕獲獲得可能性の低下も指摘されることとなった。圃場の整備・未整備の効果はミミズでは認められなかったが、ゴミムシ類では未整備の圃場で個体数が多い傾向が見られた（GLM,　Model Averaging, P <0.01）。未整備圃場でゴミムシ類の個体数が多かったのは、整備に伴う餌生物の減少や植物相の変化が要因と推測された。

捕食者テンの生息状況と土地利用との関係を調べた研究では、落葉広葉樹林と果樹園の面積が大きいとテンの撮影頻度が高くなる傾向が認められた。テンは森林内の果実類や小動物、柿などの栽培果樹を食べることから餌資源が関係しているものと考えられた。また、人が生活する宅地周辺は、動物が警戒して避ける傾向にあると予想されてきたが、宅地面積とテンの撮影頻度に関連性は認められなかった。また、調査した空き家 4 軒のうち 3 軒でテンが撮影された。調査期間中に空き家の床下への侵入が 5 回、納屋への侵入が 1 回確認された。調査期間に対する空き家への侵入頻度が高くなかったことから、テンは一時的な休息場所として空き家を利用していることが示唆された。一方で、管理者からの聞き取りにより、調査期間中に空き家の屋根裏での繁殖も確認された。したがって、テンは休息場所や繁殖場所として空き家を利用することで宅地周辺での活動を可能にしているものと考えられた。さらに、敷地内に柿の木がある空き家では、放任果樹を持ち去るテンが確認された。このような果樹は空き家の敷地内だけでなく道路脇にも見られ、宅地周辺ではこうした放置された果樹がテンの餌資源になっていることが考察された。人口減少や高齢化にともなって空き家や放任果樹の問題はより一層深刻になることが予想され、それらがテンの個体数増加と生息エリア拡大につながる可能性を本研究は指摘した。

2017 年と 2018 年におけるトキの繁殖期間中のテンの撮影頻度とカメラ設置地点から営巣木までの距離との間に関係性は認められなかった。また、各年における営巣林内でのテンの相対密度にはばらつきはみられるものの、密度はトキの繁殖成否に影響しなかった（GLM, P >0.05）。現時点では、トキの繁殖期にテンが行動を変化させている様子はみられず、またトキもテンの存在によって繁殖の成否にかかわるほどの大きな影響は受けていないと考えられた。また、カラス類については、頻度は低いが繁殖巣からの卵の持ち去りが確認されている。そのため、今後トキの個体数が順調に増加すれば、これら捕食者との関係にも変化が生じていく可能性が示された。

高齢化に伴う局所スケールの農法の変化として畦畔管理に着目した研究では、草刈が低頻度と高頻度の実験区でミミズの個体数・生重量に差がないことが示された（二標本 t 検定, P >0.05）。同様に、ゴミムシ類を含む地表徘徊性の捕食者群の個体数・生重量を比較した結果においても草刈頻度の影響は認められなかった（GLM, P >0.05）。また、ゴミムシ類の個体数・生重量を決める局所レベルの環境要因として草丈が有意な正の相関を示すこともわかった。草丈が高いことで造網性のクモや植食性昆虫などゴミムシ類の餌となりうる小型の無脊椎動物が増えたためと考えられた。サブテーマ4の研究により、現状で畦畔の草刈りは年に4,5回の高頻度で行うことがわかった。本研究では、少なくとも草刈回数を減らしても餌生物量は維持できること、ある程度草丈を伸ばすほど放置することが餌生物量を増やすことにつながることを示した。また、刈草除去区と放置区間でミミズ類の個体数・生重量および地中性の土壌動物の生重量に有意な差は認められなかった一方で、表層性の土壌動

物の現存量は刈草除去区で有意に小さくなった（二標本 t 検定, $P < 0.01$）。刈草の除去は畦畔管理の中で負担になっている作業の一つだが、本調査によって刈草を除去するのではなくあえて放置することが餌生物の現存量増加につながることを示すことができた。同じく、除草剤の実験では表層性と地中性動物とでは効果が異なり、地中性のミミズでは影響が小さかった。平成 23 年度の佐渡市認証米制度に参加している農家へのアンケート調査の結果、高齢化で体力が続かないという理由から今後除草剤使用を考えている農家が少なくないことがわかってきた。本研究によって除草剤が少なくとも一部の分類群に負の影響をもたらすことが示唆され、除草剤使用の影響は今後も継続して調査を行う必要がある。畦畔管理は米の生産性と直結しないため技術的な発展が遅れているうえに、サブテーマ4の研究により畦畔管理にかかる時間と経費が全体に占める割合は小さくないことがわかった。本研究での一連の実験結果から、少なくともトキの餌生物の観点からは、労働力不足を補うために現状より粗放的な管理を継続していくことが望ましいと考えられた。

(4)トキと共存可能な地域社会モデルの研究

非構造化インタビューによる地域のインタレスト調査では、収集したインタレストを、環境省の「トキ野生復帰ロードマップ」が掲げる「生息環境の維持整備」「普及啓発」「地域づくり」という3つの取り組み項目に沿って整理し、インタレストマップを作成した。放鳥前と比べて、インタレストと課題は多彩化および具体化しており、複数の課題が連関している状況も確認された。また、発生している課題の中には、人びとの協力意識に負のインパクトをもたらすものがあることも明らかとなった。「地域づくり」に関するインタレストが、他と比べて顕著に少なく、トキの野生復帰事業を地域の発展つなげていく草の根的な取り組みが展開していない可能性が示唆された。

アンケート調査からは、環境保全農業を通してエコロジカルな関心が広がってきた可能性や、水田で生きものが増えているという実感を農業者がもつことができていることがわかった。一方で、農法に関する戸惑いやトキの苗踏みの影響に対する懸念など、課題も検出された。苗踏みの被害意識は、環境保全農業の継続に対してマイナスのインパクトを与えている可能性があり、影響の調査が急務だと認識された。その他、農地の後継や委託について、平場でも 50%以上の農家が目処なしと答えており、農地の放棄が急速に進み、トキとの共存に大きな影響を及ぼす可能性が示唆された。

非構造化インタビュー調査、およびアンケート調査からは急務の課題が多岐にわたることが明らかとなった。これらの課題を誰がどのように解決していくかということが、トキと共存する地域社会の実現において重要な論点となる。協力行動をいかに促進するかという観点からは、関与者の内発的動機づけが重要であり、内発的動機付けには、自己決定、貢献可能性、信頼関係などが作用する。こうした協力行動や動機の理論にもとづけば、トキとの共存をめぐる多様な課題について、方策を共に考えていくインクルーシブな探究のしくみを作ることが、協力行動のアクターを地域に育むことにつながる。本研究の成果として、「動機醸成型インクルーシブ探究モデル」というしくみを提案し、既存のしくみを生かして課題解決の力を強化する可能性を示した。

５．本研究により得られた主な成果

（１）科学的意義

トキの再導入個体群を確立し維持管理するには、繁殖成績を向上させると同時に、環境収容力を明らかにする必要がある。これまでの低い繁殖成功率は、飼育下での人工育雛が原因の一つであり、野外生まれ個体が卓越し繁殖に参加することで改善してきていることが明らかになった。トキの再導入個体群は野外生まれの個体が繁殖集団に参加することで爆発的な個体群増加の途上にあるため、個体群サイズの増加にともなう生存率や繁殖率の低下といった密度効果がまだ顕在化していないことが明らかになった。トキの営巣分布の拡散パターンから放鳥地からの距離と農耕地面積が営巣数を決定している営巣ハビタットモデルを開発し、佐渡島における生息可能個体数を 1006〜1360 羽と推定した。トキの再導入個体群は人口学的にみると増加期に入っていて、遺伝学的な問題が顕在化しない限り環境収容力に向かって増加し続けると考えられた。しかし、トキのようにボトルネック

を経験し小集団から回復した個体群では、集団の遺伝的多様性の把握と弱有害遺伝子の効果をモニタリングすることが重要である。日本のトキの飼育集団と再導入個体群は5羽の中国からの始祖個体に由来するため、現在のマイクロサテライトでは家系推定が困難であった。そこで、トキゲノム上に300～500kbsごとにSNP遺伝子座およびマイクロサテライト遺伝子座を配置し、家系情報を推定可能な151マーカーを開発し、マルチプレックスPCR/次世代シーケンスによるマーカータイピング法を確立した。このマーカーにより未標識の野外個体の家系情報の推定が可能となり、トキの再導入集団の正確な遺伝情報を知るツールを得た。今後、得られる再導入集団の遺伝学的知見は強いボトルネックを経験した希少種の再導入の保全遺伝学の問題解決に寄与すると考えられる。トキの再導入個体群を維持するためには、トキの主要な餌生物を含む里山の生物多様性を豊かにする景観や農地の管理手法を知る必要がある。トキの主要な餌生物であるドジョウは平場より谷津地形で生産性が高いが水路ネットワークの分断化で絶滅しやすいことが明らかになった。景観による餌条件の違いがドジョウの成長速度に影響を与えるが、谷津では水路ネットワークの分断化により絶滅しやすいことを証明した保全生物学上、画期的な研究といえる。また、生きものと共存する社会の構築は、環境倫理学的・環境社会学的研究において重要なテーマであり、本研究の成果は、こうした学術分野で議論されている「市民参加の意思決定・事業推進」「順応的ガバナンスの構築」などの論点をめぐる学術的関心に応えるものである。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

本研究は、環境省自然環境局野生生物課が実施しているトキの野生復帰事業に貢献している。トキ野生復帰検討会において、本研究成果にもとづいて繁殖成績の失敗要因および健全な再導入個体群のあり方について意見し、同トキ飼育繁殖小委員会では、放鳥後の生存・繁殖成功率を高めるために放鳥個体として親鳥が育てた個体（自然育雛個体）を選定することを提言し、飼育下の繁殖・放鳥計画に反映されている。また、本研究成果は、レッドリストカテゴリー2019においてトキのランクを野生絶滅から絶滅危惧IA類へとダウンリストする際の基礎資料として活用された。水田畦畔に生息しているミミズは撹乱に強く圃場整備の影響を受けにくいが、草刈りなど粗放的な畦畔管理によって高い現存量を維持できることが明らかになった。この高い生物多様性を維持できる粗放的畦畔管理手法を、新潟県ならびにトキの水辺づくり協議会（2018年3月28日）において提案し、2019年度のトキの餌場整備計画の作成に貢献した。また、人・トキ共生の島づくり協議会では、「トキの苗踏み調査プロジェクト」が立ち上がり、2019年度から農業者と研究者による苗踏みの影響の共同調査が開始した。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

本研究成果で得られた生息可能個体数、耕作放棄の影響、未標識個体の家系推定、畦畔の草刈りによる生物多様性の維持管理方法は、これからのトキの野生復帰目標となるロードマップ2025（仮称）の策定に反映される予定である。本研究のトキの稲踏み影響についての基礎資料を公開することで、トキの稲踏みに対する農家の不安を取り除き、トキ、および、生物多様性と共生する社会を推進していくことが可能となる。今後、稲踏み被害ハザードマップを用いることで、トキの稲踏みの重点対策地域を絞り込み対策を講じることが可能となる。

６．研究成果の主な発表状況

（１）主な誌上発表

＜査読付き論文＞

1） Y. WAJIKI, Y. KANEKO, T. SUGIYAMA, T. YAMADA and H. IWAISAKI: Journal of Poultry Science, 53, 1-7 (2016) Genetic analyses in the Japanese captive population of Japanese crested ibis (*Nipponia nippon*) using pedigree information

2）H. TSUJI, Y. TANIGUCHI, S. ISHIZUKA, H. MATSUDA, T. YAMADA, K. NAITO and H. IWAISAKI: Scientific Reports, 7, 42864 (2017) Structure and polymorphisms of the major histocompatibility complex in the Oriental stork, *Ciconia boyciana*

3）Y. WAJIKI, Y. KANEKO, T. SUGIYAMA, T. YAMADA and H. IWAISAKI: The Wilson Journal of Ornithology, 130, 874-880 (2019) An estimation of number of birds to be consecutively released in the reintroduction of Japanese Crested Ibises (*Nipponia nippon*)

4）岡久雄二,永田尚志, 尾崎清明: 山階鳥学雑誌, 48,51-63(2017)
「標識再観察法によるトキ *Nipponia nippon* の個体数推定」

5）Y.Okahisa,Y.Kaneko, K.Ozaki, K.Nagata: Ibis (in press)
"Phase sensitivity of sexual mal imprinting in reintroduced Crested Ibis *Nipponia nippon*"

＜査読付論文に準ずる成果発表＞

1）中津弘・豊田光世・永田尚志：野生復帰, 4, 103-110
「トキの野生復帰を地域づくり・環境保全の機会として活用する」

2）油田照秋：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考える～トキ保全の歴史と現在の生息状況」

3）江藤毅：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考える～トキの潜在的捕食者テンの現状」

4） 満尾世志人：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考える～ドジョウから見た里山の姿」

5）岸本圭子：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考える～水田畦畔のムシたち」

6）豊田光世・岸本圭子・満尾世志人・江藤毅・油田照秋：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考える～トキ野生復帰から見えてきた佐渡における里山保全の今後」

（2）主な口頭発表（学会等）

1）永田尚志, 中津弘, 油田照秋：第 64 回日本生態学会大会(2017)
「トキの繁殖成功を制限しているのは何か？」

2）池乗乃智、谷口幸雄、永田尚志、杉山稔恵、金子良則、祝前博明、山田宜永：日本畜産学会第122回大会 (2017)
「日本トキ集団における中規模多型マーカータイピング法の開発」

3）満尾世志人：「野生生物と社会」学会第23回大会(2017)
「景観構造が水田水域生態系に及ぼす影響」

4）依田澄香、谷口幸雄、金子良則、杉山稔恵、祝前博明、山田宜永：日本畜産学会第 124 回大会 (2018)
「日本産トキ集団における家系推定に有用な多型マーカー候補の選抜」

5）永田尚志, 中津弘, 油田照秋：第65回日本生態学会大会(2018)
「佐渡島におけるトキの環境収容力の推定」

6）H.Nagata, T.Yuta, H.Nakatsu, M.Takahashi: 27th International Ornithological Congress(2018)
"Which factors affect post-release survival of crested ibis on Sado Island, Japan? "

7）H.Nagata,T.Yuta, M.Takahashi, H.Nakatsu：2nd International Wildlife Reintroduction Conference (2018)
"Post-release survival and future population growth of re-introduced crested ibis in Japan."

8）岸本圭子、油田照秋、岸本年郎、南谷幸雄：第65回日本生態学会大会(2018)
「トキの餌生物群集の構造特性」

9）岸本圭子、南谷幸雄：日本土壌動物学会第41回大会(2018)
「佐渡島の水田畦畔に生息するミミズ群集の特性～ミミズはトキの餌として適しているか？～」

10）M. TOYODA: The 5th Conference of East Asia Research Association for Agricultural Heritage Systems (ERAHS), Wakayama, （2018）
“The analysis of local voices on the co-inhabitance with *toki*: emerging challenges after ten-year trial.”

11） 豊田光世：第24回「野生生物と社会」学会（2018）
「トキと共生する地域社会の価値構造分析」

12）永田尚志，中津弘，油田照秋：第66回日本生態学会大会（2019）
「佐渡島において再導入トキはどのくらい稲踏みにより被害を与えているのか」

7．研究者略歴

研究代表者
永田　尚志
九州大学理学部卒業、九州大学理学研究科修了、理学博士、環境庁国立環境研究所主任研究員、現在、新潟大学研究推進機構　朱鷺・自然再生学研究センター教授

研究分担者
1)山田　宜永
京都大学農学部卒業、医学博士、京都大学大学院農学研究科准教授、現在、新潟大学農学部教授

2)杉山　稔恵
新潟大学農学部卒業、博士（学術）、新潟大学農学部助教、現在、新潟大学農学部准教授

3)岸本　圭子
東京農業大学農学部卒業、名古屋大学生命農学研究科修了、京都大学人間・環境学研究科単位取得退学、博士（人間・環境学）、総合地球環境学研究所プロジェクト研究員、日本学術振興会特別研究員（PD）、東京大学大学院総合文化研究科特任研究員、現在、新潟大学研究推進機構　朱鷺・自然再生学研究センター准教授

4)満尾　世志人
東邦大学理学部卒業、東京農工大学大学院連合農学科修了、博士（農学）、東京農工大学農学府特別研究員、日本学術振興会特別研究員（PD）、現在、新潟大学研究推進機構　朱鷺・自然再生学研究センター准教授

5)江藤　毅
宮崎大学農学部卒業、宮崎大学大学院農学研究科修了、宮崎大学大学院農学工学総合研究科修了、博士（農学）、宮崎大学フロンティア科学実験総合センタープロジェクト研究員、現在、新潟大学研究推進機構　朱鷺・自然再生学研究センター特任助教

6)豊田　光世
東京工業大学大学院社会理工学研究科価値システム専攻卒業、博士（学術）、兵庫県立大学講師、東京工業大学特任准教授、現在、新潟大学研究推進機構　朱鷺・自然再生学研究センター准教授

II. 成果の詳細

Ⅱ－1　放鳥トキの繁殖失敗要因と環境収容力の推定

新潟大学
研究推進機構 朱鷺・自然再生学研究センター　　　永田　尚志

＜研究協力者＞
新潟大学朱鷺・自然再生学研究センター　　　中津　弘
新潟大学朱鷺・自然再生学研究センター　　　油田　照秋（平成28ー29年度）
環境省佐渡自然保護官事務所　　　岡久　雄二

平成28～30年度累計予算額：39,606千円
（うち平成28年度：12,877千円、平成29年度：13,527千円、平成30年度：13,202千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

［要旨］
生物多様性の減少を防止するには絶滅危惧種を絶滅の危機からを回復させることが喫緊の課題である。過去20年間に世界中で138種の絶滅危惧鳥類の野生復帰が実施されているが、トキやコウノトリのように人間活動によって維持されている里地里山環境での再導入事例は少ない。2018年に佐渡島で野生復帰が開始されてから10年が経過し、トキの再導入個体群も2018年末で350羽にまで増加している。しかし、本研究課題の開始時点では繁殖成績が低く、再導入個体群を維持するのに十分ではなかった。そこで、2010年から2018年までの繁殖結果が判明している319ペア、計381巣の繁殖状況を解析し、繁殖の失敗時期、および繁殖成功要因について検討した。過去9年間の繁殖成功率は26.7%にすぎないが、最近3年間の繁殖成功率は比較的高くなっていた。繁殖失敗の半数以上（55.2%）は、育雛中期に生じていて、雌親が親鳥に育雛されて巣立ち、雄の年齢の高いつがいほど繁殖成功が高くなる傾向が認められた。野外生まれの個体が繁殖に参加している巣の繁殖成績が有意に高いため、野外生まれの個体比率が増加するにつれて全体の繁殖成績が上昇してきていると考えられた。佐渡島内の生息数が増えても野外の個体の年生存率は変化せず、生息数が増加するにつれて繁殖成功率は増加しているため、密度効果はまだ検出できなかった。そこで、2012年から2018年にかけてのサブメッシュ（5kmメッシュ）毎の最大営巣数の分布を使って営巣ハビタット選択モデルを構築し、生息可能密度を推定した。推定された生息可能な番数は327ー442番いと算出され、非繁殖個体を含めると1006ー1360羽が佐渡島に生息できると推定された。今後トキの数が増加するに伴い、トキの稲踏みによる農家との軋轢が生じると予想される。トキの営巣林からどの範囲で稲踏み被害が生じるかを推定するために、採餌トリップ距離を調べた。トキの観察頻度は巣からが離れるにしたがって指数的に減少するため、営巣地から1500m以内で被害が生じると推定された。トキの稲踏みの影響が稲株の成長、収量にどう影響するかを評価するため、稲踏み実験を実施し、稲株の生存、収量を調べた。田植え後2週目までの稲踏み処理株は生存率が低く、収量も対照区よりも低かったが、3週目以降は影響がなかった。また、枯死株の周囲の隣接株では収量が約1.3倍に増加するため、枯死株が少なければ枯死株の収量の損失を隣接株の収量増加で補填できると考えられた。トキの個体数増加にともなうトキの稲踏みに対する農家の不安を取り除くには、稲踏みハザードマップを作成し、田植え後2週間以内の水田へのトキの侵入を防ぐ対策が必要と考えられた。

［キーワード］
トキ、再導入個体群、繁殖成功率、環境収容力、稲踏み被害

１．はじめに

生物多様性を回復させるために、過去20年間に世界中で138種の希少鳥類の野生復帰が実施されているが、トキやコウノトリのように人間活動によって維持されている里地里山環境での再導入事例は少ない。2008年から環境省によって佐渡島ではトキの野生復帰が実施され、2018年にはトキの野生復帰10周年を迎え、2018年末には約350羽が生息している。毎年、トキを放鳥することで再導入個体群は着実に増加し、2003年に掲げた「2015年までに60羽の定着」という目標は2014年に達成し、新しいロードマップの「2020年までに220羽の定着」という目標も2年前倒しの2018年6月に達成された[1)]。再導入されたトキが野外で初めて繁殖したのは放鳥から4年後の2012年であり、本研究課題が提案された2015年末時点では野外での繁殖成功率は低く、放鳥によって再導入個体群は維持されている状態であった。しかし、本研究の実施期間である2016-2018年の3年間に野外生まれの個体数が増加するにつれて繁殖成功率が改善し、再導入個体群が指数関数的に増加する兆しが見え始めている。野外生まれの個体数が増加するにつれて足輪で標識できない個体が増加し、再導入個体群の遺伝的構造の把握も難しくなってきている。また、トキの放鳥から10年が経過し、地域住民のトキへの関心が薄らぐとともに、野外の個体数の増加に伴い稲踏み等、農家との軋轢も増加してきている。しかし、佐渡島に生息可能なトキの個体数（環境収容力）は明らかになっていず、ときの再導入個体群を維持するのに必要な最小存続可能個体群サイズも明らかになっていない。また、佐渡島では、人口減少・高齢化の進行に伴い中山間地の耕作地が放棄され、今後、トキの生息可能な農地環境は減少していくと予想されている。佐渡島において自立可能なトキの再導入個体群を維持し、真のトキの野生復帰を実現するには、環境変化によって佐渡島の環境収容力がどのように変化していくかを予測し、人口学的・遺伝学的に健全な再導入個体群が維持できるように管理していく必要がある。トキの個体群を維持するのに必要な里地里山の維持管理方法、並びに、それを可能とする地域社会モデルを明らかにすることは、トキの野生復帰の道筋を明確に示すことにもなる。これは、佐渡と同じ問題を抱えている地域での里地里山の維持管理にも影響を及ぼし、本州での里山でのトキの野生復帰や希少種の保全の可能性をも示すことになり、絶滅危惧種の絶滅を防ぎ愛知目標12の実現に貢献すると考えられる。今後、世界中でも人間活動によって維持されているSATOYAMAのような生態系での再導入の必要性が増加すると予想されるので、トキの野生復帰は重要な先行事例となる。

２．研究開発目的

トキの自立個体群の確立という“真”の野生復帰を実現するために、佐渡島全体でのトキの環境収容力を推定し、集団構造をもとに放鳥個体群の管理手法を確立し、トキの野生復帰に効果的な里地里山の管理手法、及び、高齢化・人口減少に伴う里地里山でのトキと共存可能な地域社会を明らかにすることが最終的な目的である。サブテーマ1では、トキの繁殖成績に影響を与えている要因を明らかにし、再導入個体群を持続するのに必要となる要件を明らかにする。また、佐渡島におけるトキの環境収容力を明らかにし、再導入個体群を管理する目標を設定する必要がある。トキの個体群の管理目標が決まれば、目標個体数を維持するのに必要となる具体的な保全施策を計画が可能となる。今後、トキの個体数が増加するにつれて、トキによる稲踏み被害を心配する農家との軋轢も増加してくると考えられる。本サブテーマでは、トキの稲踏みの影響を評価するための基礎資料を得るために、トキの営巣林からの採餌トリップ距離、実験的に踏みつけた稲の生存や収量への影響を調査した。サブテーマ

２は、今後、増加する未標識個体の家系推定を行い、野外個体群の遺伝的多様性を把握し、近親交配の影響を査定する遺伝子マーカーを開発し、放鳥集団の遺伝的管理モデルを構築する。サブテーマ3は、景観や土地の管理方法がドジョウや水田の土壌無脊椎動物等のトキの主要な餌生物に与える影響を評価し、将来の耕作環境の変化がトキの環境収容力に与える影響を推定すると同時に、侵入捕食者であるテンやカラス等の生息分布がトキの繁殖成功に与える影響も評価する。トキの野生復帰に重要と考えられるこれらの種を指標種として、トキの野生復帰に重要な里山の生物多様性を維持するのに効果的な管理手法を提案する。サブテーマ4では、トキの野生復帰に伴う住民の意識変化、地域の衰退とともに進む里の環境の劣化等、地域で生じている課題を整理しながら課題解決に向けた方向性を検討し、将来にわたってトキと共存可能な地域社会モデルを明らかにする。最終的に、サブテーマ１ー４を統合して、今後の中山間地の水田の放棄シナリオをもとに、トキの個体群を維持するのに必要な里地里山の維持管理方法、並びに、それを可能とする地域社会モデルを明らかにする。佐渡島で実施された里山でのトキの再導入手法を科学的に記述することは、地域での里地里山の維持管理にも影響を及ぼし、本州での里山でのトキの野生復帰や希少種の保全にも役立つと考えられる。

３．研究開発方法

（１）繁殖成績を制限している要因解析

まず、繁殖失敗要因を解明するために、2010-2018年に営巣記録のある、のべ387番いの繁殖失敗時期を特定した。トキの抱卵期から育雛期にかけて、抱卵を確認した巣をスポッティングスコープ（Kowa TSN664）にビデオカメラ（Sony HDR-XR150）をセットしたデジスコ撮影もしくはテレコンバータ(Raynox HDP-7700ES)を装着したビデオカメラ（Sony HDR-CX485）を使って、抱卵期ー巣内育雛期にかけて週2回の頻度で日中８時間以上撮影した。本研究期間中に撮影した巣の数は2016年が23巣、1,523時間（183日）、2017年が21巣、1,957時間（243日）、2018年は18巣、795時間（99日）の合計62巣4,275時間（525日）であった。繁殖失敗が最も生じる時期は抱卵期であったため、親鳥の行動が長期間にわたって解析可能な20番いの32巣（126日分、1,144時間）の親鳥の抱卵期間中の行動を解析した。トキは隔日で産卵し、通常1卵目の産卵後に抱卵を開始するため、抱卵期間は30日（2卵）ー36日（5卵）におよび、雛は非同時孵化である。このため、抱卵期を便宜上、前期（1～10日)、中期（11～20日)、後期（21～最終卵孵化日)の３つに分け、各時期における雌雄の交代頻度(抱卵時間)、親鳥のいない空巣の発生頻度、転卵・整巣等による親鳥の立ち上がり頻度を解析した。さらに、2010ー2018年に繁殖を試みた364巣で、繁殖の成功（1, 0）を目的変数として、親鳥の年齢、親鳥の出自(飼育、野外)や育雛形態（自然、人工）等の履歴、繁殖時期を説明変数とするロジスティック回帰モデル（GLM、二項分布）を使って、繁殖の成功に影響を与える要因を解析した。

（２）佐渡島におけるトキの環境収容力の推定

まず、密度効果から解析的に環境収容力を推定可能か判定するために、2008年にトキが放鳥されてから2018年までの期間、各年の大晦日の個体数と生存率、および、繁殖成功率との関係を解析した。次に、野外での繁殖が成功した2012年以降の繁殖巣の分布変化をArcGIS上のメッシュで解析し、各メッシュ内での営巣数の変化を調べた。2012-2018年での各メッシュ内の最大営巣数を目的変数とし、地形4変数、気象4変数、植生12変数、空間１変数の計21変数を説明変数とし、統計パッケージR[2)]を用いて変数減少法によりモデル選択を行った（図(1)-1）。メッシュサイズとして３次メッシュ（1ｋｍメッシュ）、２倍メッシュ（2ｋｍメッシュ）、サブメッシュ（5ｋｍ）の３通りで各サブメッシュの最大営巣数

を説明する営巣数ハビタットモデルを GLM（ポアソン回帰モデル）により構築し、赤池情報指数（AIC）が最小となったサブメッシュ（5km メッシュ）単位でのモデルを採用した。

営巣数ハビタットモデル（GLM、リンク関数：Poisson分布）

目的変数：各メッシュの最大営巣数(2012-18)

説明変数（21変数）

地形変数(4変数)：50mDEMから作成

⇒平均標高、平均標高(SD) (m)、傾斜 (°)、傾斜方向

気象変数（4変数）：1kmメッシュ気候値から作成

⇒**平均降水量**、**降水量SD(mm)**、平均気温、温暖差SD (°C)

植生変数（12変数）：植生図（生物多様性センター）から作成

⇒市街地、**水田**、**畑**、**果樹園**、常緑広葉樹林、落葉広葉樹林、針葉樹林、**潅木林**、**竹林**、**市街地**、草原、裸地 の各植生面積(ha)

空間変数（1変数）：**放鳥場所からの距離**

図(1)-1 営巣数ハビタモデルの構築（太字はベストモデルに取り込まれた変数、赤字は負の効果を示す）

図(1)-1 において、太字で示された変数がベストモデルに取り込まれ、このベストモデルを使って佐渡島のトキの生息可能個体数（環境収容力）の推定を行った。

（３）トキによる稲踏み影響の予測

トキの稲踏み被害の生じる範囲を推定するために、営巣林からの採餌トリップ距離を推定するために、国仲平野に長さ 500m のセンサスルート 17 本を設置し、2016-2018 年の 4 月から 6 月中旬にかけて毎週、計 45 回（2016 年 13 回、2017 年 17 回、2018 年 15 回）のライントランセクトセンサスを実施した。センサス時に識別できた個体の位置との営巣場所との距離を計測した。センサスルートごとに最も近い接営巣林との距離を測定し、ルートを営巣林から 1500m 以遠と 1500m 以内の 2 つに分類し、各ルートで観察されたトキの相対密度を比較した。センサス時にトキの水田内での採餌位置を記録すると同時に、田植え後の水田で採餌するトキを発見した場合は、3 分間追跡し、水田内で採餌中の歩数と踏みつけた稲株数を記録した。

また、トキによる稲踏みが稲の生存率、収量にどう影響するかを評価するため、稲株を実験的に踏みつけ、その後の稲株の生存、生長、収穫量を調べた。2017 年と 2018 年に環境省野生復帰ステーションから約 1.5 km離れた佐渡市新穂瓜生屋の国指定鳥獣保護区管理員の所有する水田で実験を行った。実験に使用した水田は、1 筆 0.46ha の面積で、コシヒカリ苗を 1m^2 あたり 70 株の密度（約 16cm 間隔）で機械植えを行い、慣行栽培比農薬・化学肥料の 5 割減減で栽培されていた。田植え後 1 週目、2 周目、3 週目、および 4 週目にトキの足型模型を使って 2017 年はトキの体重の 2 倍の 3.2kg の、2018 年は等倍の 1.6kg の負荷を各稲株に 1 回 1 秒間かけた。トキが、直接、田面に着陸することを想定し、2017 年は体重の 2 倍荷重（3.2kg）で実験したが、実際の行動観察の結果、畦に着陸した後に歩いて水田に入ることが判明したため 2018 年は体重の等倍荷重（1.6kg）に変更した。2017 年、2018 年とも 5 月 7 日に田植えが行われ、2017 年には 3 日後、10 日後、17 日後、24 日後の 4 回、各 10 株ずつの稲株を、2018 年には田植えの 4 日後、9 日後、16 日後、22 日後に各 20 株を実験的に踏みつけた。また、対照株(コントロール)20 株を設定し、田植え後 2 か月間は毎週、その後は隔週で稲の生存と生長状況を記録した。また、稲刈り後に実験株と対照株の収量を比較した。また、2018 年には実験により死亡した株の隣接 4 株を刈り取り、収量を調べた。刈り取った株は、紙袋に入れて保管し、40℃の温度で 48 時間かけて乾燥機で乾燥し、株ごとの稲粒数および乾燥重量を計測した。

４．結果及び考察

（１）繁殖成績を制限している要因解析

①繁殖失敗時期の特定

再導入されたトキが野外で初めて営巣した 2010 年以降、2018 年の繁殖期までの 9 年間に 381 巣が確認され、279 巣（73.2%）で繁殖が失敗している（表(1)-1）。営巣数が増加した 2013 年以降、抱卵開始後に営巣ペアとして記録される繁殖登録システムになったため、抱卵開始前の失敗例は過小評価となっていると考えられる。抱卵確認後に失敗した 270 巣において繁殖失敗の大部分（91%）は抱卵期に生じている。繁殖中止が確認された時期を詳細に見てみると、抱卵中期までに中断し営巣失敗した巣が 154 巣（57%）と一番多く、次に孵化予定日前後が 51 巣（18.9%）、孵化予定日を超過した 1-2 週間後(未孵化)が 33 巣(12.2%）、育雛中が 24 巣（8.9%）となっている（表(1)-1）。

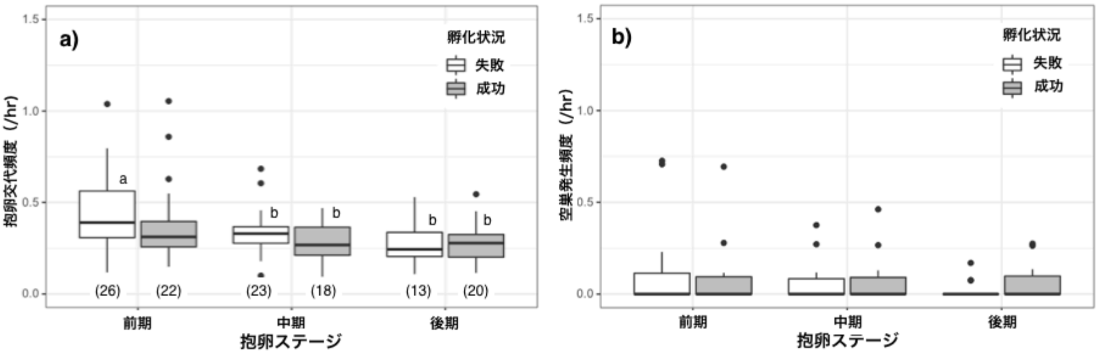
表(1)-1.過去9年間（2010-2018）の繁殖失敗時期

年	営巣数	失敗巣数	抱卵 開始前	抱卵前期 ～中期	孵化予定日 前後	孵化予定日 超過後	育雛中	不明
2010	8	8	2	3	1	2	0	0
2011	12	12	0	3	5	3	0	1
2012	23	20	1	7	6	4	0	2
2013	34	31	0	18	6	3	2	2
2014	36	25	0	16	2	2	3	2
2015	45	37	0	29	3	1	4	0
2016	58	39	0	20	7	8	4	0
2017	71	40	5	15	7	6	6	1
2018	94	67	1	43	14	4	5	0
Total	381	279	9	154	51	33	24	8

抱卵中期までの失敗要因の一部はハシブトガラスによる捕食が確認されている[3)]が、ほとんどの場合、繁殖失敗要因が特定できなかった。孵化予定日を過ぎても抱卵し続け、その後中断してしまった孵化失敗巣は、無精卵が原因と考えられた。また、孵化予定日前後に営巣中止が確認された巣では、孵化が確認された巣もあったが、多くは孵化がうまくいかなかったか、孵化後すぐに雛が死亡したと考えられた。育雛中の失敗は、雌親による繁殖放棄の生じた 1 例を除くと、状況証拠からカラスやテンによる捕食が主な原因であると考えられた。

②孵化成功に影響を与える親の抱卵行動

繁殖失敗の 9 割は抱卵期に生じるため、抱卵期間中の親鳥の抱卵行動が孵化の成否にどのような影響を与えるかを解析した。失敗巣では抱卵前期から中期にかけて交代頻度が成功巣よりも高い傾向があったが、有意差はなかった。失敗巣では、抱卵前期の交代頻度が有意に高くなる傾向が認められている（図(1)-2a, Tukey HSD, P<0.05）。

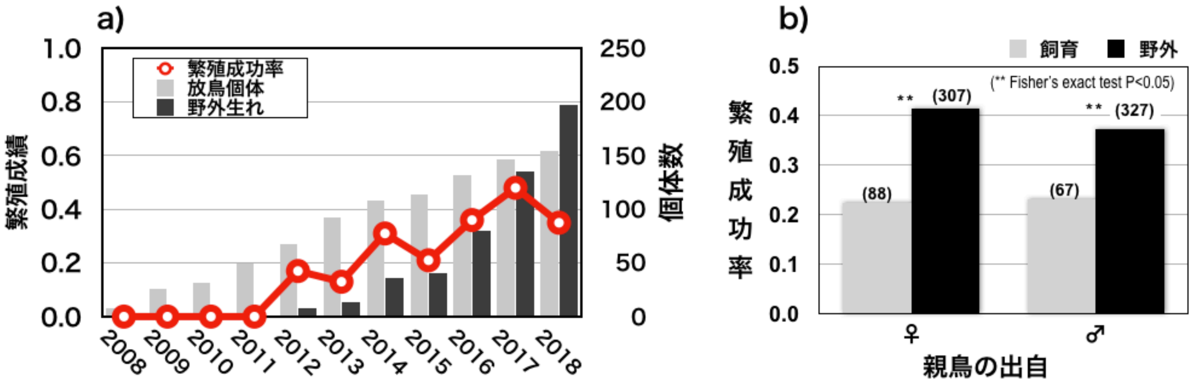


図(1)-2 孵化成功と抱卵期の親鳥の行動：（a）交代頻度、（b）空巣発生頻度。

抱卵前期には、成功巣では平均2.7時間に1回交代しているのに対して、失敗巣では2.2時間に1回交代している。抱卵初期に交代頻度が高いと胚発生に最適な発育温度から卵の温度が下がり、胚死亡が起こりやすくなる[4)]ため、孵化失敗が多くなると考えられる。そのため、抱卵開始時期の1個体の平均抱卵時間が2時間30分より短いかどうかを調べることで、孵化の成否を予測することが可能であろう。抱卵中の空巣の発生頻度（図(1)-2b）、および、抱卵中の立ち上がり頻度には、成功巣と失敗巣の間で有意な差は認められなかった。抱卵行動を観察できた122巣について、交代頻度、空巣発生頻度、立ち上がり頻度、親鳥の育雛形態のいずれが、孵化成功を高める要因をGLM解析したところ、低い交代頻度と雌雄双方の出自が野外生まれか自然育雛であることが、孵化成功を高めることが明らかになった（GLM、リンク関数：二項分布、P<0.05）。

③繁殖成績の改善

2008年の最初の放鳥から初めて野外で雛が巣立つまで4年を要したが、繁殖成績は徐々に改善してきている（図(1)-3a）。野外生まれの個体が繁殖に参加することで、放鳥個体で20%強だった繁殖成功率は40%近くまで改善している（図(1)-3b）。



図(1)-3 a)繁殖成功率の推移とb)親鳥の出自が繁殖成功率に与える影響

2010ー2018年に繁殖記録がある319つがいについて繁殖成功を高める要因についてGLM(二項分布）を使って解析したところ、雌が自然育雛で育った個体の場合、繁殖成績は高くなる（表(1)-2）。すべての野生生まれの親鳥は自然育雛であるため、再導入個体群中で野外生まれの個体の比率が放鳥個体より多くなったことにより、野外生まれ個体を含む番いの割合が増加したことで、この3年間で繁殖成績が劇的に改善してきたと考えられる。

表(1)-2　繁殖成功に影響を与える要因（GLM, リンク関数：2項分布）

変数	Coefficient	Z値	*P*	
切片	-3.464	-5.38	<0.00001	***
♂年齢	0.205	3.16	0.0016	**
♀年齢	-0.002	-0.43	0.669	ns
♀育雛：自然	1.029	2.21	0.027	*
♀出自：野生	0.683	1.49	0.134	ns

*best model :繁殖成功～♂年齢+♀年齢+♀育雛+♀出自

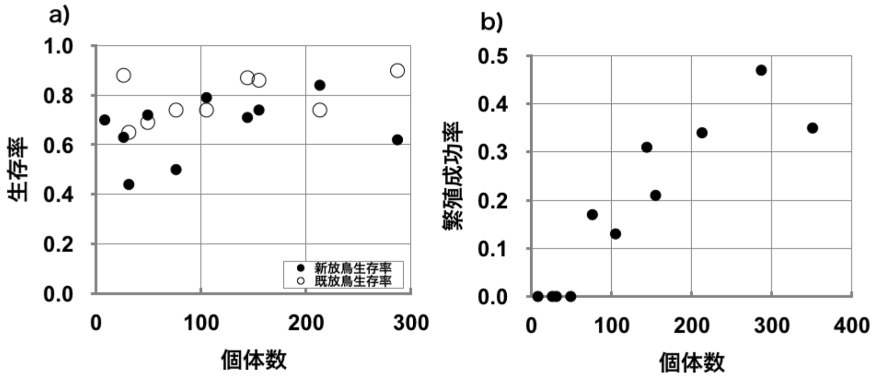
実際、繁殖期の野外生まれ個体比率と繁殖成績の間には正の相関があり（r^2=0.89, GLM, p<0.05）、野外で巣立った幼鳥が成熟して繁殖に参加するまで2年を要するため繁殖成功率の上昇には若干の遅れが生じていると考えられる。このように、野外生まれの個体が再導入個体群中で増加し繁殖に参加するようになったことで、繁殖成績の改善がもたらされるという正のフィードバックが働いていと考えられる。過去3年間の平均繁殖成功率は40%近く、

環境収容力を考慮していないトキの再導入個体群存続可能性モデル[5)]では、環境変動が30%あったとしても100年後の再導入個体群の存続確率は100%となり、再導入個体群は環境収容力に達するまで順調に増加していくことが予想される。しかし、再導入個体群は中国から来た5羽に由来しているため、今後、近交弱勢の影響が現れる可能性は否定できない。

（２）佐渡島におけるトキの環境収容力の推定

①密度効果の検出

佐渡島に生息可能なトキの個体数（＝環境収容力）を把握することは、再導入個体群を管理する上で最も重要な課題となってきている。毎年、環境省は40羽弱のトキを放鳥し、1年目は67%の個体が生存するため放鳥個体は毎年24-26羽ずつ増加し、野外生まれの個体も順調に増加しているため2018年末現在、再導入個体群は350羽に達している（図(1)-3）。個体群サイズが環境収容力に近づくにつれて繁殖率や生存率が低下し個体数が制御される密度効果が働くことが期待される。しかし、新規放鳥と既放鳥個体の年生存率は再導入個体群サイズが増加しても変化しなかった（図(2)-4a, GLM *NS*）。前節で示したように、野外生まれ個体が増加するにつれて繁殖成功率は改善していっているため、繁殖成功率と個体群サイズの間にも正の相関が認められる（図(1)-4b, r^2=0.89, GLM, P<0.05）。佐渡島のトキの再導入個体群サイズは環境収容力よりかなり小さいため、野外生まれ個体は指数的増加を示していて、まだ密度効果を検出できない状態と考えられる。

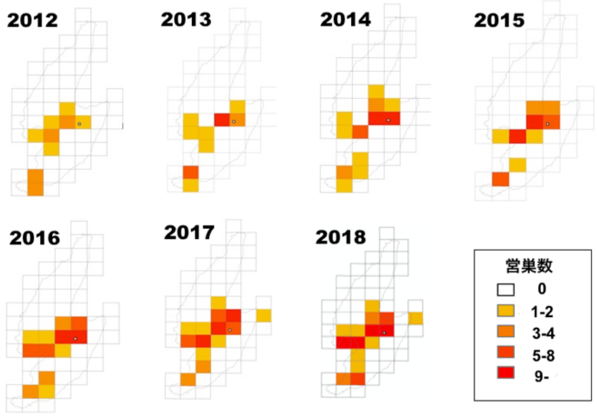


図(1)-4 再導入個体群サイズと生存率(a)および繁殖成功率(b)の関係

このため、個体群成長曲線（ロジスティックモデル）から解析的に環境収容力を求めることができない。

②トキの営巣ハビタットモデルの開発

密度効果からトキの環境収容力を解析的に推定できないため、トキの分布拡大、ハビタット選択から営巣ハビタットモデルを作成することを試みた。



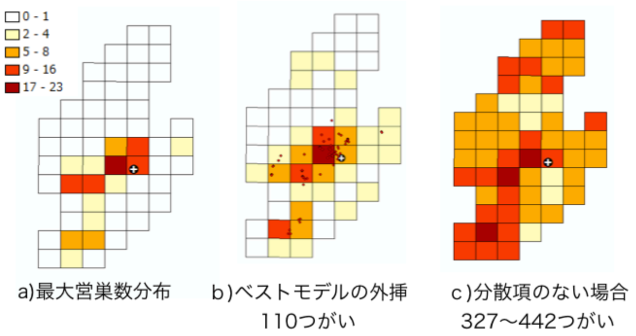
図(1)-5 サブメッシュ単位での営巣数分布（2012-2018）佐渡島中央付近の黒点は、放鳥場所を示す

最初に野外で繁殖が確認された2012年以降の営巣分布の拡大をサブメッシュ単位（３次メッシュ25個分、約5kmメッシュ）で示したのが図(1)-5である。放鳥場所である野生復帰ステーション周辺から分布を広げて営巣密度が増加していることがわかる。サブメッシュあたりの営巣数は､最初に営巣が確認された年から単調増加を示し最大23巣まで増加している。現時点でのサブメッシュごとの最大営巣数が、放鳥地からの分散過程と各メッシュの環境要因とによって決定されていると考えてハビタットモデルを構築した(図(1)-1)。トキのねぐらからの1日の移動距離が2km内外で1日の行動圏面積は80ー170haである[6)]ため、この範囲を抱合できるサブメッシュ（5kmメッシュ）スケールのモデルが選択されたと考えられる。植生変数が12変量と多いため、植生を主成分分析で5つの主成分に統合したモデルも検討したが、素の植生を使ったモデルのほうが植生の第1ー第5主成分を使ったモデルより、AICを最小化できたのと耕作地放棄の影響をモデルに反映させるのが簡単なため、変量は多くなるが素の植生データを使ったモデルを採用した。

表(1)-3　営巣数を決めるモデル（GLM, リンク関数：Poisson分布）

変数	Coefficient	Z値	*P*	
切片	-4.622	-0.191	0.8496	ns
放鳥場所からの距離（m）	-0.342	-3.995	0.0000	***
平均降水量(mm)	-0.013	-2.703	0.0097	**
降水量SD	-0.016	-1.702	0.0958	ns
水田（ha）	0.011	4.646	0.0000	***
果樹園（ha）	0.036	3.323	0.0018	**
畑 (ha)	0.028	2.613	0.0122	*
灌木林 (ha)	0.065	2.127	0.0391	*
竹林 (ha)	-0.044	-2.451	0.0180	*
市街地 (ha)	-0.021	-2.085	0.0429	*

サブメッシュ内の営巣数は、水田、果樹園、畑などの耕作地（表(1)-3網掛け部）や灌木林の面積が多いほど増加するが、市街地面積や竹林の面積が増えると減少していた。また、再導入されたトキは島内でも降水量が比較的少ないところを選択して営巣している（表(1)-3）。放鳥場所からの距離が離れると営巣数が減少するのは、放鳥地からの分散が現在進行中であることを示しているためと考えられる。現在の最大営巣数の分布をもとに、ベストモデルを外挿した結果、110つがいの分布が予測された（図(1)-6ab）。



図(1)-6 営巣ハビタットモデルの外挿。

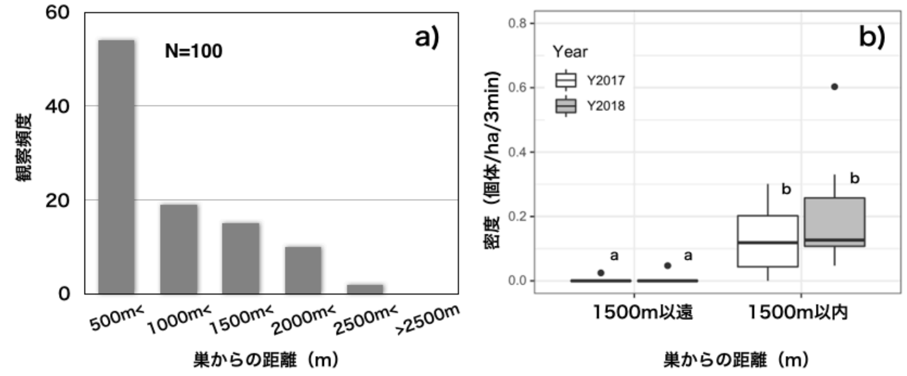
将来、環境収容力近くまで個体数が増加した場合、放鳥は終了し島内に広く分散するため放鳥場所からの距離は意味を持たなくなると考えられる。そこで、ベストモデルから放鳥場所からの距離の効果を除去した時の佐渡島内の営巣数を推定すると、327ー442つがいが営巣可能個体数と推定された（図(1)-6c）。トキは成熟まで2年を要するため、未成熟個体やあぶ

れ個体など繁殖に参加しない個体が存在し、現在の再導入個体群中の繁殖参加率は65%である。将来も現在の環境が維持され、繁殖参加率も変わらないとすれば、非繁殖個体まで含めた生息可能数は1,006羽ー1,360羽になると考えられる。

（３）トキによる稲踏み影響の予測

①稲踏み被害が生じる範囲

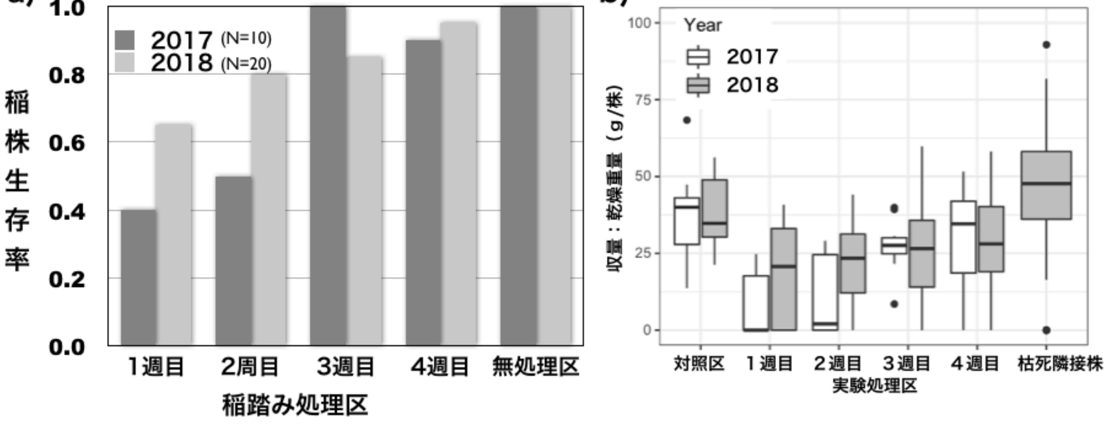
2016年ー2018年にかけて国仲平野で実施したルートセンサスで記録された採餌個体のうち、100個体について営巣林と採餌水田との距離を特定できた。採餌トリップ距離は巣から500m以内で半数以上が観察され、500ー2000mまで観察頻度が高いが2500m以遠ではほとんど記録されていない（図(1)-8a）。水田で観察されるトキの頻度は巣から離れるにしたがって指数的に減少している。このため、巣から1500m以遠にあるセンサスルートで観察されたトキの観察密度は、巣から1500m以内のルートより有意に低く（TukeyHSD P<0.02）、巣から1500m以内で観察されたトキの相対密度は2.18±0.48(SE)個体/10ha/hrであった（図(1)-8b）。このため、巣から1500m以内の水田で採餌する可能性が高いと考えられる。一方、田植えから6週間までの時期に水田で採餌中のトキが踏む稲の株数は、平均0.57±0.051(SE)株／分（N=264）であった。



図(1)-8 巣からの採餌トリップ距離(a)とセンサスルートでの相対密度(b)

②トキに踏まれた稲の影響評価

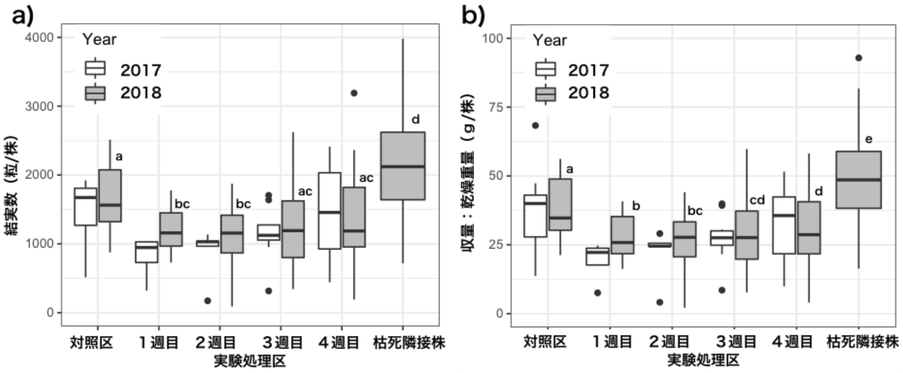
トキに踏まれた稲が収量に与える影響を評価するための基礎データを得る目的で、2017年-2018年にトキの足型模型を使って稲株を踏みつける実験を実施した。2017年は、対照区（無処理区）の生存率が100%であったのに対して、1週目、2週目に稲踏み処理した株では対照区と3-4週目処理区に比べて生存率が低かった（Fisher’s exact test, p<0.05）。負荷を



図(1)-9 稲踏み処理株の(a)生存率と(b)枯死個体を含めた収量の比較

半分にした2018年は1週目の処理区のみが対照区より生存率が低かったが、2週目以降の稲踏み処理区では対照区と差がなかった(図(1)-9a)。2倍の荷重がかかっていた2017年の1週目処理区(0.4)、２週目(0.5)は、等倍の荷重であった2018年の1週目(0.65)、2周目処理区(0.8)より生存率が低くなっていて相乗的に効いているので、複数回踏まれる影響は相乗的な処理により稲株の生存率の予測が可能と考えられた。枯死個体を含めると1-2週目に踏まれた場合、収量は激減していた(図(1)-9b)。稲丈は田植え後早い時期に踏まれた株のほうが少し低い傾向があったが、対照株と実験株、また実験株間での有意差はなかった。穂の数は実験株間では差がなかったが、対照株と実験株の間には有意な差が見られた(GLM、負の二項分布 $p<0.015$)。

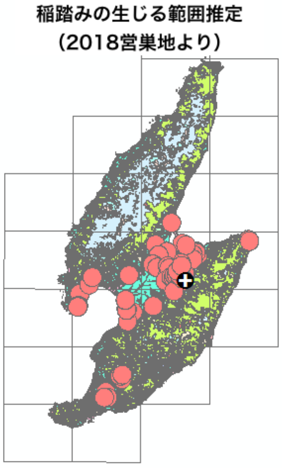
生存株のみの解析では、早く踏まれた稲株ほど結実数が少ない傾向があり、2017年は最初の2週間に踏まれた株は対照株と比べ半分近くまで収穫量が減った(図(1)-10a、GLM:負の二項分布、$p<0.01$)。生存株の1株あたりの収量は、2017年が2018年より収量が高い傾向がみられるが、稲踏み処理区は一貫して対照区より収量が低い傾向が認められ、特に田植え後1週-2週目処理区の1株あたり収量の落ち込みが大きかった(図(1)-10b、TukeyHSD、$P<0.05$)。



図(1)-10 生存個体の株あたりの結実数(a)および株あたりの収量 (b)

一方、枯死株の周りの生存株では収量の補償増加が認められ、平均すると対照株の1.3倍の収量が得られた。つまり、トキの稲株の踏みつけ頻度が低く1かたまりで3株以下しか枯死しない状況であれば、枯死株の隣接株の補償効果により収量の減少は生じないはずである。田植え機の欠株率14%までなら収量に影響しないという報告もある[7]。

トキの営巣地から1500m以内の範囲でイネ踏みの被害が出る可能性がある（図(1)-8）。また、田植えから2週間以内にトキに踏まれたイネの生存率は低下し、収量にも大きな影響があることがわかった（図(1)-9）。

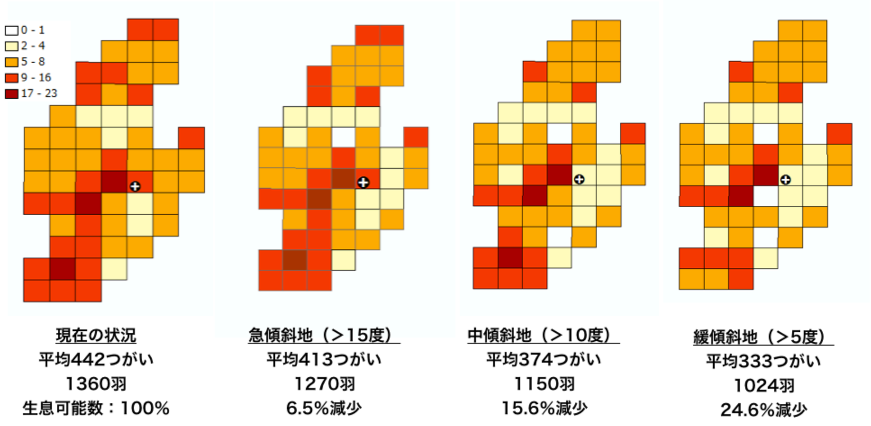


図(1)-11 トキの稲踏みハザードマップの例

現在、佐渡では水田に降りるトキに対し追い払うようなことはせずに見守ることを呼び掛けているが、今後トキの数が増加するに伴い、トキの稲踏みによる農家との軋轢は避けられない。そのため、前年の営巣分布をもとに稲踏みのハザードマップ（図(1)-11）を公開し、田植え直後の苗が根を張りある程度生長するまでの2週間定度を集中的にトキが水田に侵入しないような対策を取る必要がある。ハザードマップから巣の位置情報が特定されないようにするには、200-500m程度のメッシュに加工して公開するとよいだろう。また、トキの水田への侵入を防ぐ対策としては、既に一部の農家が行っているように畦に防鳥テープを張ることでトキの畦への着陸を妨げることが可能となるだろう。また、数株程度の踏みつけ強度が低い状況では隣接株が大きく育つことで全体的な収量には差がないこと積極的に公表して、トキの稲踏みに対する農家の不安を取り除く必要がある。しかし、稲踏みの被害が大きい水田では、非繁殖個体が小群で侵入し多くの稲が踏み倒されている例もあり、稲踏みの強度が大きい水田ではドローン等を使って被害推定を行うと同時に、防止対策を講じる必要があるかもしれない。今後は更にトキと人との共生を促進するには、田植え直後の苗が根を張りある程度生長するまでの期間は他の野生動物と同じようにトキを扱うなどの検討も必要になるかもしれない。しかし、サブテーマ4で提案しているように、トキの稲踏み問題を解決するには、地域の多様な立場の人びとと稲踏みへの課題意識や気づきを共有し、稲踏みの問題を解決に生かすしくみをつくることが重要である。

（4）耕作放棄によるトキの生息可能数の変化予測

トキの野生復帰が開始された時点の佐渡島の人口は6.2万人であったが、この10年間で8000人減少し、5.4万人になっていて、2045年までには半数以下の2.5万人まで減少することが予測されている。耕作水田面積も10年間で2008年当時の5,913haから4,988haへと900ha減少している。サブテーマ4(図(4)-19)で明らかになったように3分の2の農家では後継者が決まっていないうえに、農耕地の傾斜が急になるほど後継者がいない。佐渡島では今後のさらなる人口減少に伴って、労力のかかる割に終了の少ない傾斜地の水田を含む農耕地では耕作放棄が進行していくことが予測される。水田、果樹園、畑等の農耕地はトキに繁殖のための餌場を提供するため、農耕地面積が多いメッシュほどトキの営巣数も多くなることがハビタットモデル（表(1)-3)で明らかになった。今後、平均勾配が5度以上の緩傾斜地、10度以上の中傾斜地、15度以上の急傾斜地の農耕地がすべて放棄された場合、佐渡島に生息可能な個体数がどのように変化するか、営巣ハビタットモデルを用いて予測を行った。サブメッシュの平均勾配を用いて閾値勾配以上のサブメッシュですべての農耕地が放棄されると仮定して、営巣ハビタットモデルにより営巣数を推定している。



図(1)-7 傾斜農耕地が放棄された場合の環境収容力の変化予測

平均勾配15度以上の急傾斜地のみの耕作放棄であれば、生息可能個体数の減少は6.5%にすぎないが、平均勾配10度以上の中傾斜地以上の放棄で15.6%減少し、平均勾配5度以上の緩傾斜地から急傾斜地までのすべての耕作地が放棄されれば佐渡島に生息可能な個体数は現在より24.6%が減少し、生息可能個体数は1,024羽となると推定された（図(1)-7）。平場ではすべての耕作地が農業法人によって集約的に管理されて耕作放棄が生じないことを仮定しているが、現状では耕作余力のない法人が多く（サブテーマ４、図(4)-18）平場の農耕地での耕作放棄も増加する可能性がある。また、サブテーマ３で明らかになったようにトキの主要な餌であるドジョウは、中・緩傾斜地にある谷津地形で再生産力が高いため、耕作放棄による農耕地の消失以上の影響が生じる可能性があり、生息可能な個体数はさらに減少するかもしれない。

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

トキの再導入生物学の確立には、再導入個体群の定着確率を上げ、繁殖成績を向上させる道筋を明らかにする必要がある。本研究では、繁殖失敗に至るまでの抱卵行動が繁殖成功巣と異なることが明らかになり、自然育雛個体、特に野外生まれの個体が繁殖成績を押し上げていること個体の特性が繁殖失敗を引き起こしている可能性が考えられた。このように、トキの再導入における個体群の増加プロセスを詳細に記述することで、再導入生物学における個体群生態学的アプローチの重要性を明らかにすると同時に、繁殖成績に育雛履歴など行動学的要因を明らかになったことで、再導入生物学での行動学的アプローチの重要性が明らかになった。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

本研究は、環境省自然環境局野生生物課が実施しているトキの野生復帰事業に貢献している。本研究成果にもとづいてH28-30年度に開催されたトキ野生復帰検討会において、繁殖成績の失敗要因および健全な再導入個体群のあり方について意見を述べた。また、同トキ繁殖小委員会では、放鳥後の生存・繁殖成功を高めるには親鳥が育てた個体（自然育雛個体）を放鳥個体として選定すべきであることを助言し、飼育下の繁殖・放鳥計画にも反映されている。さらに、H28年12月に新潟市で開催された環境省主催日中韓トキ国際会議において本研究成果にもとづいて話題提供した。H30年10月に開催された環境省・新潟県・佐渡市主催のトキ野生復帰10周年記念式典においても研究成果から話題を提供した。本研究成果は、レッドリストカテゴリー2019においてトキのランクを野生絶滅から絶滅危惧IA類へとダウンリストする際の基礎資料として活用された。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

本研究成果で得られた生息可能個体数、および、耕作放棄の影響は、これからのトキの野生復帰目標となるロードマップ2025（仮称）の内容に反映される予定である。本研究のトキの稲踏み影響についての基礎資料を公開することで、トキの稲踏みに対する農家の不安を取り除き、トキ、および、生物多様性と共生する社会を推進していくことが可能となるだろう。今後、稲踏み被害ハザードマップを用いることで、トキの稲踏みの重点対策地域を絞り込み対策を講じることが可能となる。

６．国際共同研究等の状況

1）Dual Degree Program between Niigata and Kansas State Universities, Kansas State University, Prof.Fred Sundercock, U.S.A., Cooperative Research. （カンサス州立大学との共同研究）

2) IUCN SSC コウノトリ・トキ・ヘラサギ専門家グループの一員としてトキの情報提供を行っている。

3) 「 絶滅危惧鳥類トキの再導入地のハビタット適地モデルの開発と繁殖成功要因に関する研究」
北京林業大学自然保護区学院 教授 丁長青との文科省の２国間（日中）共同研究として申請中.

７．研究成果の発表状況

（１）誌上発表

＜論文（査読あり）＞

1) 岡久雄二,永田尚志, 尾崎清明: 山階鳥学雑誌, 48,51-63 (2017)
「標識再観察法によるトキ *Nipponia nippon* の個体数推定」

2) Y.Okahisa,Y.Kaneko, K.Ozaki, K.Nagata: Ibis (in press)
"Phase sensitivity of sexual mal imprinting in reintroduced Crested Ibis *Nipponia nippon*"

＜その他誌上発表（査読なし）＞

1) 中津弘・豊田光世・永田尚志：野生復帰, 4, 103-110
「トキの野生復帰を地域づくり・環境保全の機会として活用する」

2) 永田尚志：国立公園、No.770、8-11 (2019)「野生復帰から10年でみえてきた放鳥トキの生態」

3) 永田尚志：環境省レッドリスト2019補遺資料,14
「トキ」

4) 油田照秋：Wild Forum (印刷中)
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考えるートキ保全の歴史と現在の生息状況」

（２）口頭発表（学会等）

1) 永田尚志、中津弘、油田照秋：日本鳥学会２０１６年度大会 (2016)
「放鳥後，野外で生存できたトキは，どんな個体属性を持っていたのか？」,

2) 中津弘、油田照秋、永田尚志：日本鳥学会２０１６年度大会 (2016)
「佐渡島中部での広域センサスをとおしてみた，繁殖期のトキの農地利用（予報）」

3) 岡久雄二、永田尚志、尾崎清明：日本鳥学会２０１６年度大会 (2016)
「再導入されたトキの個体数増加とその推定」

4) 永田尚志：日中韓トキ国際会議 (2016)
「佐渡におけるトキの放鳥と再導入個体群の将来」

5) 永田尚志, 中津弘, 油田照秋：第64回日本生態学会大会 (2017)
「トキの繁殖成功を制限しているのは何か？」

6) 油田照秋、中津弘、永田尚志：第64回日本生態学会大会 (2017)
「再導入個体は何歳がいいか -野生復帰に向けたトキの放鳥時年齢と生存率-」

7) 永田尚志, 中津弘, 油田照秋：日本鳥学会2017年度大会 (2017)
「佐渡には何羽のトキが生息できるのか？（予報）」

8) 中津弘, 油田照秋, 永田尚志：日本鳥学会2017年度大会 (2017)
「放鳥トキは水田のどこで採餌するか？」

9) 岡久雄二, 金子良則, 永田尚志, 尾崎清明：日本鳥学会2017年度大会 (2017)
「再導入されたトキの個体数増加とその推定」

10) 永田尚志: システム農学会2017年度春季大会シンポジウム (2017)
「佐渡における放鳥トキの定着と再導入個体群の将来」

11) 永田尚志，池乗乃智，山田宜永，油田照秋，高橋雅雄：KOUDOU2017　日本動物行動関連学会・研究会合同大会（2017）
「トキのDRD4遺伝子多型が放鳥後の生存に与える影響について（予報）」
12) 永田尚志，中津弘，油田照秋：第６５回日本生態学会大会(2018)
「佐渡島におけるトキの環境収容力の推定」
13) 油田照秋，中津弘，岡久雄二，永田尚志：第65回日本生態学会大会(2018)
「トキにおける放鳥個体と野生生まれ個体の繁殖成績の比較」
14) H.Nagata, T.Yuta, H.Nakatsu, M.Takahashi: 27th International Ornithological Congress (2018)
"Which factors affect post-release survival of crested ibis on Sado Island, Japan? "
15) 岡久雄二・永田尚志：日本鳥学会2018年度大会
「統合個体群モデルおよびベイズ存続可能性分析によるトキ野生復帰の現状評価」
16) H.Nagata,T.Yuta, M.Takahashi, H.Nakatsu：2nd International Wildlife Reintroduction Conference (2018)
"Post-release survival and future population growth of re-introduced crested ibis in Japan."
17) 永田尚志，中津弘，油田照秋：第66回日本生態学会大会（2019）
「佐渡島において再導入トキはどのくらい稲踏みにより被害を与えているのか」

（３）知的財産権

「特に記載すべき事項はない」

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

1)五十嵐小学校大学訪問特別授業「佐渡におけるトキの野生復帰」（2016年9月15日、新潟大学B260講義室、150名）
2) 行動生物学サイエンスカフェ2016　-行動生物学への誘い-（2016年11月13日、ときめいと、参加者25名）
3)永田尚志.　トキが暮らす佐渡の自然と人間.　第23期（H29）にいがた市民大学「人間と動物のつながり-動物が私たちに教えてくれること-」公開講座，新潟市民プラザ，H29年8月26日(参加者約100名)
4) 永田尚志. トキの再導入はどこまで達成したのか？　2018年度日本鳥学会公開シンポジウム「トキの放鳥から10年：再導入による希少鳥類の保全」，朱鷺メッセ国際会議室，H29年9月17日(参加者約260名)
5) 永田尚志ほか.座談会「トキの未来を語る」、佐渡トキ野生復帰10周年記念式典，(H30年10月14日、両津文化会館、参加者約350名)

（５）マスコミ等への公表・報道等

1)新潟日報（2016年7月9日）「佐渡トキ・今季繁殖終了、純野生6羽が巣立ち　42年ぶり」
2)読売新聞（2016年8月28日，新潟版）「トキとの共生住民と対話ー研究者ら島内回り「談義」」
3)読売新聞（2016年11月8日、新潟版）「トキ野生へ、自然下に200羽：新大・永田教授に取り組みを聴く」
4)新潟日報（2017年4月29日）「2年連続純野生トキ誕生、餌場整備の市民「励みに」、専門家、繁殖成績に期待」

5）新潟日報（2017年5月27日）「野生下トキ1歳雌初抱卵　佐渡「2歳から」定説覆す」
6）新潟日報（2018年5月30日）「水田の苗踏み被害検証実験　新潟大野生下トキ増で本格化　足形押し当て影響調査」
7）産経新聞（2018年6月17日、日曜版）「トキ放鳥１０年　繁殖　新たなステージへ」
8）NHKニュースおはよう日本（2018年7月3日）「トキの“野生復帰”と農家の悩み」
9）NHK新潟ニュース610（2018年7月12日）「トキの“野生復帰”と農家の悩み」
10）新潟日報（2018年9月18日）「新潟、トキ放鳥10周年シンポ、繁殖率向上、1000羽も視野」
11）読売新聞（2018年9月19日、こども新聞）「〔理科子先生と学ぼう！〕トキ「絶滅」越え350羽に」
12）新潟日報（2018年9月26日）「〔社説〕トキ放鳥10年「共生の島」へ一層の力を」
13）NHKくらし☆解説（2018年9月27日）「放鳥10年、あなたの街にもトキが飛ぶ？」
14）新潟日報（2018年10月10日）トキと暮らす、佐渡・放鳥の10年<上>【活用】野生下増、繁殖進む、観察場所公表、観光支援へ
15）新潟日報（2018年10月12日）トキと暮らす、佐渡・放鳥の10年<下>【新たなテーマ】繁殖、数から質へ転換、遺伝的多様性、改善課題に

（６）その他

「特に記載すべき事項はない」

８．引用文献

1）番匠克二：国立公園、No.770, 4-7（2014）
「トキ野生復帰の 10 年とこれから」

2）R Core Team：R Foundation for Statistical Computing, Vienna.（2018）
“R: a language and environment for statistical computing.”

3）越田智恵子、上野裕介、中津弘、永田尚志、山岸哲：山階鳥学誌、46, 1-13（2014）
「放鳥されたトキの造巣・抱卵期における雌雄の繁殖行動」

4）Webb, D.R.:Condor 89:874-898.(1987)
“Thermal tolerance of avian embryos: a review.”

5）永田尚志、山岸哲：野生復帰、1,55-61(2011)
「新潟県佐渡島における再導入トキの個体群存続可能性分析」

6）中津弘、永田尚志、山岸哲：野生復帰、2,63-73(2012)
「新潟県佐渡島中部で非繁殖期に群れ生活を営む放鳥トキ *Nipponia nippon* の環境利用と日周行動」

7）北川 寿、小倉昭男、屋代幹雄：日本作物学会関東支部報 16:24-25（2001）
「水稲ロングマット水耕苗の欠株発生と収量」
https://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/narc/2002/narc02-33.html

Ⅱ－２　放鳥トキの遺伝的管理手法の開発

新潟大学 農学部　動物遺伝学研究室　　　　　山田　宜永
新潟大学 農学部　生体機構学研究室　　　　　杉山　稔恵

<研究協力者＞
新潟大学　朱鷺・自然再生学研究センター　祝前　博明

平成28～30年度累計予算額：10,010千円
（うち平成28年度：3,640千円、平成29年度：3,380千円、平成30年度：2,990千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

［要旨］
絶滅危惧種であるトキの日本集団を保全するために、当該集団の遺伝的多様性の維持と拡大、近親交配回避へ向けて、野生下での未標識個体の家系推定を行う必要がある。このため、日本産トキ集団において数百程度の多型マーカーを簡便かつ低コストでタイピングするゲノム情報を利用した遺伝的管理手法を構築する必要がある。日本のトキ集団の始祖５個体について、次世代シークエンサー（NGS）を利用した解析を行うことで、3万超の多型マーカー候補が得られている。本研究では、multiplex-PCRとNGSを用いたタイピング法を確立し、家系推定のための多型マーカー候補を選抜し、選抜マーカーの有用性について検討を行った。3万超の多型マーカー候補から325個を選出し、多型部位を増幅するPCRプライマーペアを設計し、シングルPCRによる評価で216個の多型マーカー候補を選出した。さらに、選抜されたプライマーペアと1個体のDNAを用いて、multiplex-PCRとNGSによるタイピングの条件を検討した結果、一度に約20組のマーカーを増幅するmulti20、同じく約40組を増幅するmulti40の条件で増幅が可能であると考えられた。multiplex-PCR/NGSによる中規模タイピング法の開発は可能であり、multi40の条件によるタイピング法が適当であると考えられた。次に、始祖5個体と後代20個体の合計25個体に、確立したmulti40の条件で多型部位のタイピングを行った。25個体のタイピングデータに基づき、172個の有用多型マーカー候補が選抜された。この172個のマーカにより後代20個体の個体識別が可能であったことから、家系識別に有効な多型マーカー候補であることが確認された。さらに、ゲノム上でのマッピング情報に基づき検討した結果、151個のマーカーに絞られた。この151マーカーを利用することで、日本のトキ集団の家系を識別し、再導入個体群を遺伝的に管理することが可能となる。

［キーワード］
トキ、遺伝的多様性、多型マーカー、タイピング、遺伝的管理

１．はじめに

現在、多くの生物種が絶滅の危機に瀕している。その原因の多くは、環境破壊や汚染などによる生息地の減少や乱獲といった、人間の活動によって引き起こされたものがほとんどである。国際自然保護連合のレッドリスト(2018年版）においては、動物種で13,482種、植物種で13,229種が「絶滅危惧種」として登録されている。こうした種を絶滅の危機から守ろうと、世界各国で様々な保護活動が行われている。特に個体数が激減し、自然下で集団を維持することが極めて困難であると判断された種については、野生集団のすべてまたは一部を人工飼育下に移し、そこで集団の維持、増殖を行い、再び野生下に復帰させるための取り組みが行われている。こういった取り組みにより、一度は野生下で絶滅したとされた数種が再び野生下での復帰を果たしている。例えば、トキもその内の一つである。トキは20世紀の初頭

には、中国、ロシア、朝鮮半島、台湾、日本など、東アジア一帯に広く分布していた鳥類であった。日本農業においては、トキは田畑を踏み荒らす害鳥とされ、明治時代に狩猟が解禁された後には肉や羽根を獲る目的で乱獲が始まり、その個体数は激減した。20 世紀前半に入ってからトキを保護していこうという動きが高まっていったが、年々生息数は減少していった。そして、平成 15 年 10 月 10 日に、佐渡島において国内産最後のトキであるキンが頭部挫傷で死亡したことにより、日本産のトキは絶滅した。

野生絶滅以降、現在の日本産トキ集団の始祖は、中国由来である友友、華陽の雄 2 個体および、洋洋、美美、溢水の雌 3 個体の計 5 個体からなっている。ミトコンドリア DNA による分析の結果、日本産のトキと中国産のトキでは塩基配列の差が 0.06%程度であり、亜種といえるだけの遺伝的差異はなく同一種に属することが判明している。また佐渡島には、現在繁殖・放鳥が進められている中国産のトキと同じミトコンドリア DNA のハプロタイプを持つ個体がいたことが判明し、日本と大陸間で遺伝的交流があったのではないかとも言われており、両者において外見から判断される形態的形質に差異もないことから、中国産のトキを日本において増殖させ、野生復帰させる計画にも問題がないとされている。最初に中国から供与された友友と洋洋においてペアリングが行われ、友友と洋洋の子供である優優と美美においてペアリングが行われるようになった。さらにその後、新しく溢水、華陽が供与され、それぞれ日本で誕生した後代個体とペアリングが行われている。

国内で飼育されているトキの個体数は、平成 30 年 10 月現在で 180 羽であり、野生下トキの推定個体数は、平成 30 年 10 月現在で 369 羽である。平成 30 年度の野生下におけるトキの繁殖は、77 ペアから 67 羽のヒナが誕生し、このうち 60 羽が巣立っており、繁殖成績は大きく向上している。また、野生下で誕生したトキ同士のペアによる営巣は 9 組確認し、そのうち８組から計 18 羽のヒナが誕生、７組から 15 羽が巣立ちしている。放鳥トキから数えて孫世代トキの誕生であり、野外のトキの世代交代も進行している。このように、順調にトキ野生復帰に向けた国家プロジェクトが進んでいる。しかしながら、上述した通り、現在の日本産トキ集団は中国由来の 5 個体のみを始祖としており、さらに多くの個体は友友、洋洋および美美の子孫にあたる。日本産トキの遺伝的多様性は、中国産トキよりも多少低いことが判明している。このようなことから、近親交配の回避および遺伝的多様性の最大化を目指し、未標識個体の家系推定や日本産トキ集団の遺伝的多様性維持へ向けて、ゲノム情報を利用した遺伝的管理手法を構築することが重要な課題となっている。

遺伝的多様性の評価には多くの DNA 多型マーカーが必要となる。トキはゲノム配列または多型マーカーに関する情報が希薄であり、26 個のマイクロサテライトのみが遺伝子マーカーとされていた。トキの遺伝子マーカーを多数得るためには、より多くのトキ個体から広範囲のゲノム情報を得ることが必要となる。リプレゼントライブラリー（RRL）、制限部位関連 DNA シーケンシング（RAD-seq）、CRoPS を用いた解析によりこの問題を解決できるとされている。こうして我々は、これまでの研究で、始祖５個体から作成したリプレゼントライブラリー（RRL）と次世代シークエンサー（NGS）を利用した解析を行った。このような解析において、NSG でのトリミング後総 Read 数は全体で 306,436,996 であった。Read-pair 数は全体で 153,218,498、そのうち両端が HaeIII（制限酵素）であるものは 85,131,252、 両端が MboI（制限酵素）であるものは 9,024,997、その他の Read-pair 数は 64,062,249 であった。総 Consensus 配列数は全体で 31,418,852、そのうち両端が HaeIII であるものは 4,175,097、両端が MboI であるものは 952,879、その他の総 Consensus 配列数は 26,290,876 であった。総 Consensus 配列数のうち clustering depth10 以上のものは全体で 1,754,793、そのうち両端が HaeIII であるものは 465,471、両端が MboI であるものは 249,515、その他の clustering depth10 以上の Consensus 配列数は 1,039,807 であった。同じく総 Consensus 配列数のうち始祖 5 個体全てのうち mapping depth100 以上のものは全体で 532,712、そのうち両端が HaeIII であるものは 294,989、両端が MboI であるものは 13,353、その他の mapping depth100 以上の Consensus

配列数は224,370であった。また、総SNP候補数は全体で52,512、そのうち両端がHaeIIIであるものは28,764、両端がMboIであるものは321、その他の総SNP候補数は23,427であった。始祖5個体それぞれ（In each of 5 founders）で20回以上読まれたSNP数は32,157また MS数は162であった。

２．研究開発目的

次世代シークエンサーを利用した解析の最終的な結果として､3万を超える多型マーカー候補(SNPマーカーおよびマイクロサテライトマーカー)を得ている｡そこで､本研究において､（１）multiplexPCR/次世代シークエンサーを用いたタイピング法の確立および遺伝的管理手法に有用な多型マーカー候補の選抜、（２）始祖5個体と後代19個体のサンプルのタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜、（３）個体識別に基づく有用多型マーカー候補の有用性についての検討、（４）家系推定に基づく有用多型マーカー候補の有効性についての検討、（５）マッピングに基づく有用多型マーカー候補の数の絞り込みを行い、日本のトキ集団において多型マーカーを簡便かつ低コストでタイピングするゲノム情報を利用した手法を開発することで、トキの再導入個体群を遺伝的に管理することが可能となるだろう。

３．研究開発方法

（１）multiplexPCR/次世代シークエンサーを用いたタイピング法の確立および遺伝的管理手法に有用な多型マーカー候補の選抜

①材料
佐渡トキセンターより、ID162の個体の血液の供与をうけ、DNA抽出に用いた。

②DNA抽出
血液からのDNA抽出にはWizard SV Genomic DNA Purification Kit (Promega社)を使用した。まず、Nuclei Lysis solution 200µl、EDTA 50µl 、RNase5µl 、ProteinaseK 20µlで調整したDigestion溶液に3µlの血液を加えた後、55℃で3時間から6時間インキュベーションを行った。この溶液をコレクションチューブに挿入したMinicolumnに移し、15,000rpmで3分間遠心分離を行った後､コレクションチューブ内の溶液を除去した｡次に､MinicolumnにWash solution 650µlを加え、15,000rpmで3分間遠心分離を行い、Minicolumnを乾燥させた。この操作を4回繰り返して、カラムを洗浄した後、15,000rpmで3分間遠心分離を行い、Minicolumnを乾燥させた。カラムを新しい1.5mlチューブに移し、55℃に温めておいたDDW 100µlを加え、室温で2分間静置した後、15,000rpmで3分間遠心分離を行い、DNA溶液を作成した。

③多型マーカー候補の選出
3万超の多型マーカー候補をBLAST検索により、トキゲノム上に3～5Mb間隔に配置することを想定し、日本トキ集団の始祖5個体において、多型性が高い遺伝子座を選択することにより、多型マーカー候補を300～500個選出した。

④PCRプライマーの設計及び評価
選出した325個の多型マーカー候補の多型部位を増幅するためのプライマーペアの設計を行い､PCRにより､PCR産物の長さおよび収量を評価することで､多型マーカー候補を選抜した。

⑤multiplexPCRの条件検討

multiplexPCR の条件検討として、選抜した 216 個の多型マーカー候補の多型部位を増幅するプライマーペアを用いて、multiplexPCR を実施した。プライマーペアの混合条件として、multi20、multi40 の 2 つのサンプルを作製した。

【multi20】216 組のプライマーペアを各 16～20 組混合し、11 反応系に分けた。

【multi40】216 組のプライマーペアを各 36～50 組混合し、5 反応系に分けた。

これらに加えて、single(216 組のプライマーペアをすべて混合)の条件を検討した。

multiplexPCR は 50μl 反応液で行い、各プライマーは、それぞれが最終濃度 0.2μM となるように加えた。その後、泳動 Buffer に TAE Buffer、泳動槽に Mupid、マーカーに 100bp DNA Ladder（Dye plus）を用いて、PCR 産物を 2.0％のアガロースゲルで電気泳動を行った。エチジウムブロマイドで DNA を染色することで、増幅産物の泳動像を確認した。また、電気泳動に加え、Qubit、Bioanalyzer を用いて、作製したサンプルの定量・定性を行った。なお Bioanalyzer については、single PCR 後の混合サンプルのデータとの比較を行なった。

⑥Qubit

Qubit を用いて以下のような手順でサンプル DNA の定量を行った。

・蛍光色素のワーキングソリューションをプラスチックチューブに以下のとおり調整した。すべてのサンプルとスタンダードに対し、バッファを 200μL 準備した。すべてのサンプルとスタンダードに対し、蛍光色素を 1μL 準備し、上記のバッファに加えた。その後、ボルテックスにより混合した。

・スタンダード用のワーキングソリューションを 190μL ずつ 2 本のアッセイチューブに分注した。

・各スタンダードをそれぞれ上記のアッセイチューブのうちの 1 本に 10μL 加え、ボルテックスして混合した。

・サンプル用のワーキングソリューションを 180～199μL ずつ新しいアッセイチューブに分注した。アッセイでは、1 本のチューブに付き 1～20μL のサンプルを使用した。サンプルを加えた後、各チューブの最終的な分量が 200μL となるようワーキングソリューションの量を調整した。

・各サンプルをそれぞれ上記のアッセイチューブのうち 1 本に 1～20μL 加え、ボルテックスして混合した。

・2 分間インキュベートした。

・Qubit2.0 Fluorometer で結果を読み取った。

⑦Bioanalyzer

Bioanalyzer（High sensibility DNA kit）を用いて以下のような手順でサンプル DNA の定性を行った。

・試薬キットの箱は室温（23-25℃前後）で 30 分以上放置。チップ調製は室温（23-25℃前後）で行った。保存条件（4℃）で Dye は凝固していることから、完全に融解させたのちボルテックスミキサーでよく撹拌し均一にした。1 時間以上使用しない場合、試薬は 4℃保管に戻した。

・電極クリーナーチップに Nuclease-free water を 350μl 入れた。電極クリーナーをバイオアナライザ゛にセットし蓋を閉め、10 秒後チップを取り出し、10 秒間蓋を開けて電極を乾燥させた。

・サンプルの DNA の総量の目安である定量範囲として 5-500pg/μl を設定するため、溶媒が Nuclease-free water の場合は 1xTE buffer で希釈し、サンプルを調整した。

・Gel1 バイアルに Dye 15μl を加え、ボルテックスでよく混合した。スピンフィルターで遠心ろ過するため、2240g で 10 分、室温で遠心分離にかけた。遠心ろ過した Gel-Dye Mix をボル

テックスミキサーでもう一度攪拌した。調製したGel-Dye Mixは6週間以内に使用することとした（遮光、4℃保存）。
・チップ調製スタンド(プライミングステーション)を準備した。
・チップにGel-Dye Mixを注入した。Gelは粘性が高いのでピペッティング作業はゆっくり行うこととした。 インバースピペッティングでアプライした。
・チップにマーカー、ラダ、サンプルを入れた。
・専用ミキサーで1分間サンプルをよく撹拌した。
・Assay: High Sensitivity DNAを選択し、バイオアナライザで分析した。
・バイオアナライザでの分析終了後 速やかにチップを取り出し、電極クリーナーチップで電極を洗浄した。

⑧NGSによるタイピング
illumina社の次世代シークエンサーMiSeqを利用し、選抜された216個の多型マーカー候補のタイピングを実施した。single、multi20、multi40の3つのタイピングデータの解析により、タイピング法の確立および有用多型マーカー候補の選抜を行った。

（２）始祖5個体と後代19個体のサンプルのタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜
始祖5個体に加え、後代19個体についてmulti40の条件でタイピングを行い、24個体のサンプルのタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜を行った。タイピングに用いた後代19個体の系統の内訳を以下に示した(表（2）-1)。

表(2)-1　タイピングに用いた後代19個体のSample Nameと系統の内訳

51	55	69	118	119
B	B	B	B	G
121	122	130	131	143
I	J	E	E	B
90	83	81	65	61
F	B	B	C	B
116	99	102	133	
I	B	B	F	

始祖5個体(友友、洋洋、美美、華陽、溢水)＋後代19個体の計24個体のゲノムDNAは京都大学農学研究科より供与された。タイピングデータについては、各マーカーについて、それぞれのアリルのdepthと、各アリルのdepthの合計であるallele total、エラーデータのdepthの合計であるerror data、allele totalとerror dataの合計であるtotal countを用い、各マーカーを一座位多型、二座位多型、多型なし、一座位あたり三アリル以上、各アリルについてdepthが25未満である低増幅の5つに判定した。

（３）個体識別に基づく有用多型マーカー候補の有用性についての検討
優優（友友と洋洋の子）と美美の子である個体群B系統10個体、そしてC系統1個体、E系統2個体、F系統2個体、G系統1個体、I系統2個体、J系統1個体、の計19個体について172個のマーカーを用いたタイピングを行い、各組合せにおいてそれぞれ少なくとも1つのマーカーにおける遺伝子型が異なり、個体識別が可能であるか否かを検証した。
タイピングの際、各マーカーについて、sum count(depthの合計)が10未満のアリルを除外した。各マーカーについて、各個体の最大depth(depth≧10)をアリルと判定し、次にdepth

が大きい(最大 depth の 1/2 以上)アリルを持つ場合、ヘテロと判定した。以下に個体識別における各マーカーについてのタイピング結果の例を示した(表 (2) -2)。

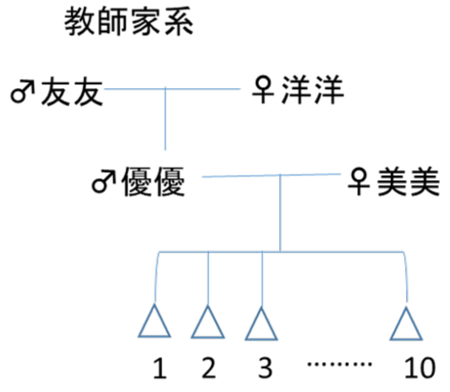
タイピングの結果得られた遺伝子型は、上記に示すような結果の例に従い判定した。2bp-STR-1 では、71 番、72 番の個体についてそれぞれホモの遺伝子型を示しており遺伝子型が同一であるとした。また、2bp-STR-22 では、71 番の個体にはヘテロ、72 番の個体にはホモの遺伝子座を示しており、遺伝子型が異なるとした。

表(2)-2　個体識別における各マーカーについてのタイピング例

マーカー名	７１	７２	Sum Count
2bp-STR-1	13	19	32
2bp-STR-22	28	340	368
2bp-STR-22	274	0	274
2bp-STR-22	220	6	226
2bp-STR-22	2	39	41
2bp-STR-22	22	0	22

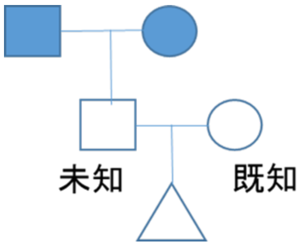
（４）家系推定に基づく有用多型マーカー候補の有効性についての検討

優優(友友と洋洋の子)と美美を親とする B 系統の教師家系(図(2)-1)を用いて、172 個の有用多型マーカー候補がメンデル遺伝に従い家系推定に有用か否かを検証した。具体的には、日本産トキ集団の始祖個体である友友(♂)、洋洋(♀)、美美(♀)、華陽(♂)、溢水(♀)の 5 個体と、B 系統 10 個体 (Sample Name: 51,52,54,55,61,63,64,66,70,71)のゲノム DNA を用いて、172 個の有用多型マーカー候補によるタイピングを行った。そして友友と洋洋、友友と美美、友友と溢水、華陽と洋洋、華陽と美美、華陽と溢水の 6 つの祖父母ペアのうち、教師家系とされている友友と洋洋のペアを、B 系統 10 個体のそれぞれが由来する家系として推定でき、メンデル遺伝性に従っているか否か判定した。



図(2)-1　優優(友友と洋洋の子)と美美を親とする B 系統の教師家系

タイピングの際、各マーカーについて、sum count(depth の合計)が 20 未満のアリルを除外した。マーカーについて、各個体の最大 depth(depth≧10)をアリルと判定し、次に depth が大きい(最大 depth の 1/2 以上)アリルを持つ場合、ヘテロと判定した。図 (2) -2 で示したように、△(サンプル)の遺伝子座について美美由来アリルの差し引きを行い、6 ペアのそれぞれについて残りのアリルを有しているか否かを調べることで、友友と洋洋のペアがそのアリルを有している可能性が高いか否かを検討した。



図(2)-2　家系推定において利用する家系図

表(2)-3　家系推定における各マーカーについてのタイピング例

マーカー名	アリル	55	美美	華陽	溢水	Sum count	メンデル
2bp-STR-12	a	254	302	25	108	689	○
2bp-STR-12	b	14	24	186	8	232	
2bp-STR-22	a	616	624	337	111	1688	×
2bp-STR-22	b	123	802	389	144	1458	
2bp-STR-22	c	806	10	4	2	822	

タイピングの結果得られた遺伝子型は、家系推定における各マーカーについてのタイピング例(表(2)-3)に従い判定した。2bp-STR-12 では、55 番、美美、溢水の遺伝子型は(aa)を示しており、華陽の遺伝子型は(bb)を示していた。上図の家系図に当てはめ、55 番の遺伝子座について美美由来アリルの差し引きを行った結果、華陽と溢水について残りのアリルを有していた。よって、メンデル遺伝性に従っていることが判明した。また、2bp-STR-22 では、美美、溢水、華陽の遺伝子型は(ab)を示しており、サンプル 55 番の遺伝子型は(ac)を示していた。上図の家系図に当てはめ、55 番の遺伝子座について美美由来アリルの差し引きを行った結果、華陽と溢水について残りのアリルを有していなかった。よってメンデル遺伝性に従っていないことが判明した。

（５）マッピングに基づく有用多型マーカー候補の数の絞り込み

172 個の有用多型マーカー候補について、depth に基づき対立遺伝子と判定された配列について BLAST 検索を用いてトキゲノムへのマッピングを行った。ヘテロと判定されたマーカーについて、対立遺伝子と考えられた配列のゲノム位置についての解析を行った。同一ゲノム位置にある配列は対立遺伝子であると判定し、同一ゲノム位置にある配列を持つマーカーは有用であると判定した。一方、同一ゲノム上にない配列は対立遺伝子ではないと判定し、同一ゲノム上にない配列を持つマーカーは有用でないと判定した。また、マーカーのゲノム上間隔についての検討も行った。contig interval について 0.5Mbp 未満の間隔を持つマーカーペアは重複していると考え、重複したマーカーの一方は有用でないと判定した。マーカーのゲノム上間隔の理論値は 1500Mbp÷172＝8.72Mbp とした。

４．結果及び考察

（１）multiplexPCR/次世代シークエンサーを用いたタイピング法の確立および遺伝的管理手法に有用な多型マーカー候補の選抜

① 多型マーカー候補の選出

SNP255 個、MS70 個、合計 325 個の多型マーカー候補を選出した。SNP、MS それぞれのマーカー候補の内訳を以下のように示した(表(2)-4)。SNP マーカー候補については、始祖 A 特異的 37 個、始祖 B 特異的 31 個、始祖 C 特異的 45 個、始祖 D 特異的 33 個、始祖 E 特異的 34 個、3 アリル以上が 75 個であった。MS マーカー候補については、始祖 A 特異的 4 個、始祖 B 特異的 1 個、始祖 C 特異的 4 個、始祖 D 特異的 3 個、始祖 E 特異的 1 個、3 アリル以上が 57 個であった。

表(2)-4　多型マーカー候補の選出における SNP、MS それぞれのマーカー候補の内訳

SNPマーカー候補					
A特異的	B特異的	C特異的	D特異的	E特異的	3アリル以上
37	31	45	33	34	75

MSマーカー候補					
A特異的	B特異的	C特異的	D特異的	E特異的	3アリル以上
4	1	4	3	1	57

② PCR プライマーの設計および評価

SNP170 個、MS46 個の合計 216 個の多型マーカー候補を選出することができた。SNP、MS それぞれのマーカー候補の内訳を、以下のように示した(表(2)-5)。SNP マーカー候補については、始祖 A 特異的 29 個、始祖 B 特異的 21 個、始祖 C 特異的 25 個、始祖 D 特異的 20 個、始祖 E 特異的 22 個、3 アリル以上が 53 個であった。MS マーカー候補については、始祖 A 特異的 2 個、始祖 B 特異的 1 個、始祖 C 特異的 3 個、始祖 D 特異的 3 個、始祖 E 特異的 0 個、3 アリル以上が 37 個であった。

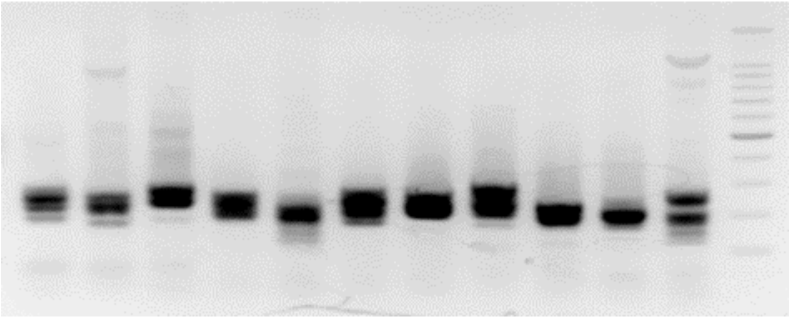
表(2)-5　PCR プライマーの設計および評価において選出された SNP、MS それぞれのマーカー候補の内訳

SNPマーカー候補					
A特異的	B特異的	C特異的	D特異的	E特異的	3アリル以上
29	21	25	20	22	53

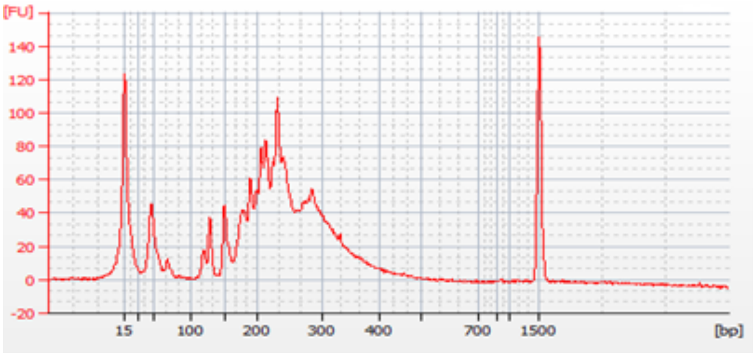
MSマーカー候補					
A特異的	B特異的	C特異的	D特異的	E特異的	3アリル以上
2	1	3	3	0	37

③ multiplexPCR の条件検討

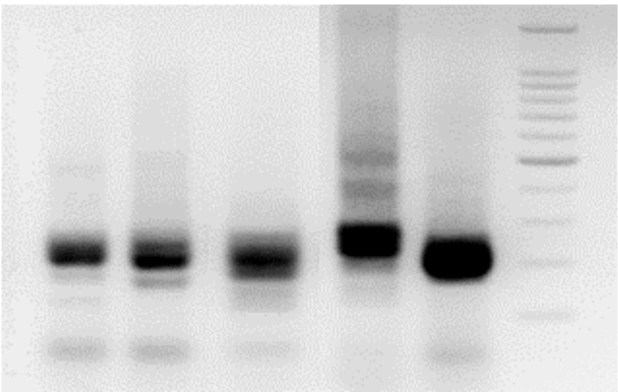
電気泳動・Bioanalyzer による確認においては、multi20、multi40 ともに PCA プライマーの設計及び評価の際設計した、PCR 産物長さが 200～300bp の PCR 産物を増幅できていた(図(2)-3,5)。また、Bioanalyzer では、single(図(2)-7))と比較しても multi20(図(2)-4))、multi40(図(2)-6))も増幅の正確性に相違がないことが判明した。Qubit での定量による確認においては、multi20、multi40 の両方において NGS で利用できる十分な DNA 収量(multi20 では 59.8ng/µl、multi40 では 55.8ng/µl)であるということがわかった。



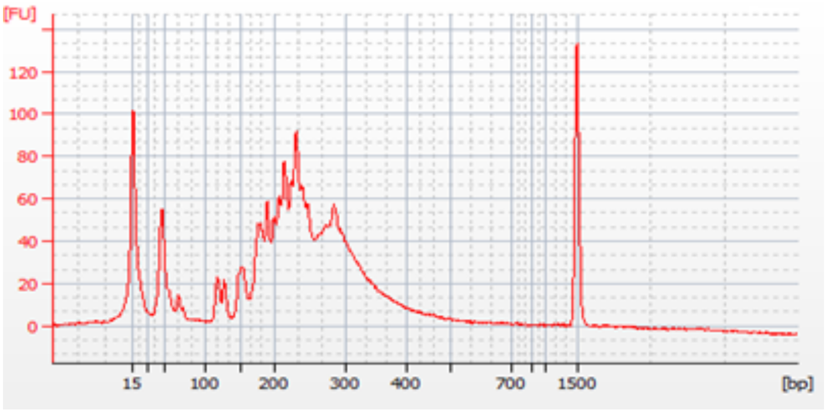
図(2)-3　multi20 の条件における電気泳動像



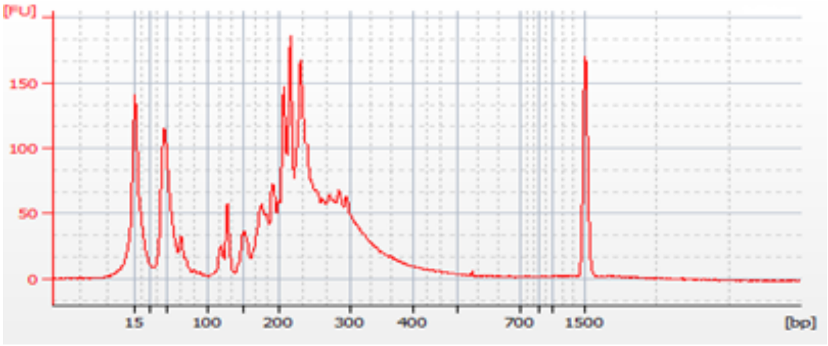
図(2)-4　multi20 の条件における Bioanalyzer の結果



図(2)-5　multi40 の条件における電気泳動像



図(2)-6　multi40 の条件における Bioanalyzer の結果



図(2)-7　Single の条件における Bioanalyzer の結果

④ NSG によるタイピング

Multiplex PCR/NGS を用いたタイピング法の確立および有用多型マーカー候補の選抜の結果を以下に示した(表(2)-6)。Read 数は single の条件で 301,108 回、multi20 の条件で 507,666 回、multi40 の条件で 565,534 回であった。Read-pair 数は single の条件で 150,554 回、multi20 の条件で 253,833 回、multi40 の条件で 282,767 回であった。総 Consensus 配列数は single の条件で 13,542、multi20 の条件で 50,775、multi40 の条件で 62,353 であった。

表(2)-6　multiplexPCR/NGS を用いたタイピング法の確立および有用多型マーカー候補の選抜

	single	multi20	multi40
Read数	301,108	507,666	565,534
Read-pair数	150,554	253,833	282,767
総Consensus配列数 (aligned to candidate marker sequence)	13,542	50,775	62,353
Consensus配列数 (depth > 10 in total of 3 samples)	1,205	1,616	1,682
Consensus配列数 (depth > 10 in each of 3 samples)	657	858	1,105
有用多型マーカー数 (depthに基づくアリル判定)	196	150	179

3 サンプルのトータル depth が 10 以上の Consensus 配列数は single の条件で 1,205、multi20 の条件で 1,616、multi40 の条件で 1,682 であった。3 サンプルそれぞれの depth が 10 以上の Consensus 配列数は single の条件で 657、multi20 の条件で 858、multi40 の条件で 1,105 であった。depth に基づくアリル判定の有用多型マーカー数は single の条件で 196、multi20 の条件で 150、multi40 の条件で 179 であった。こうして、有用多型マーカー数は、single の条件で 196、multi20 の条件で 150、multi40 の条件で 179 となった。multi40 ではタイピングが容易に行うことができ、有用多型マーカー数も multi20 と比べ多数得ることができることから、multi40 の条件によるタイピング法が適当であると考えられた。以下に、multi40 の条件によるタイピングで用いたプライマー一覧を示した(表(2)-7)。

表(2)-7　multi40 の条件によるタイピングで用いたプライマー一覧

1		2		3			4		5		
14823	38030	14850	27890	103576	13286	3bp-1	2bp-8	4bp-4	11218	26865	4bp-39
15072	25753	14946	65237	383445	13453	3bp-42	2bp-12	4bp-5	12039	27558	7739
15280	27997	15712	73591	1554	13624	3bp-43	2bp-14	4bp-6	13833	33386	25894
16961	109451	18601	73769	1675	15237	3bp-66	2bp-19	4bp-22	15778	49802	26336
30501	123778	1817	81596	2021	15323	4bp-1	2bp-22	4bp-29	17004	49942	37189
23258	3415	3525	61455	3471	16018	4bp-11	2bp-25	4bp-37	18460	15776	54769
28231	4208	19886	24631	3787	16135	4bp-12	2bp-32	4bp-44	19651	25751	25146
30952	5389	26266	25138	3851	16174	4bp-14	2bp-33	4bp-54	20607	27470	29974
53854	19600	29860	25336	4368	17799	4bp-27	2bp-37	4bp-58	22593	32564	33501
57800	20612	33926	28455	4414	18015	4bp-32	2bp-39	6852	26916	33000	
65323	22505	34820	31544	4786	19140		2bp-42	6924	29845	42528	
69462	23314	37640	33965	4878	19192		2bp-54	14819	29991	113805	
70936	24589	39545	34858	5062	19658		2bp-55	15481	29974	7014	
105567	25125	9108	37189	5334	20553		2bp-56	15933	31205	9764	
3129	25681	16556	38736	5641	21052		2bp-57	18112	33988	14037	
8652	26588	20386	40180	6852	21100		2bp-59	22073	36929	17297	
10361	31790	25921		8483	21415		2bp-61	24024	39999	2bp-20	
11217	42539	41394		9671	22073		3bp-59	31982	49986	2bp-31	
11597	46261	60504		10608	2bp-1		3bp-61	32535	56632	2bp-38	
12139	46359	96670		11853	2bp-3		3bp-64	36945	61625	4bp-38	

⑤ multi40 のタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜

NSG によるタイピングで有効であると判断された multi40 のタイピングデータを用い、有用多型マーカー候補の選抜を行った。選抜結果を以下に示した(表(2)-8)。Depth に基づくタイピングの結果、ヘテロのマーカー数が 56、ホモのマーカー数が 123、また多重アリルが 18、低増幅が 19 であった。これにより、179 個のマーカーが有用多型マーカー候補になると考えられた。

表(2)-8　multi40 のタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜結果

Depthに基づくタイピング	マーカー数
ヘテロ	56
ホモ	123
多重アリル	18
低増幅	19

（２）始祖 5 個体と後代 19 個体のサンプルのタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜

24 個体のサンプルのタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜を行った結果、タイピング可能と判断されたマーカーは計 172 個であった(表(2)-9)。その内訳は、一多型座位のマーカー数 112 個、二多型座位のマーカー数 60 個であった。一方、タイピング不可能と判断されたマーカーは計 30 個であった。その内訳は、多型なし 6 個、一座位あたり 3 アリル以上 24 個であった。また、低増幅と判断されたマーカーは 14 個であった。こうして、タイピング可能なマーカーである 172 個のマーカーが有用多型マーカー候補になると考えられた。172 個の有用多型マーカー候補が個体識別の検定においても有用であるかどうかを検証していく必要がある。

表(2)-9　24 個体のサンプルのタイピングデータを用いた有用多型マーカー候補の選抜結果

タイピング可能性	Depthに基づくタイピング	マーカー数
可能	一多型座位	112
	二多型座位	60
不可能	多型なし	6
	一座位あたり三アリル以上	24
	低増幅	14
	計	216

（３）個体識別に基づく有用多型マーカー候補の有用性についての検討
2 個体間のすべての組み合わせにおいて、少なくとも 1 つのマーカーにおける遺伝子型が異なり、個体識別が可能であることが分かった。また、172 個のマーカーを用い、家系推定に基づく多型マーカー候補の有効性についての検討を行っていく必要があると考えられた(表(2)-10)。

表(2)-10　個体識別に基づく有用多型マーカー候補の有効性についての検討の結果

	51	55	69	118	119	121	122	130	131	143	90	83	81	65	61	116	99	102	133
51		61	56	51	78	61	61	74	68	66	76	58	55	66	49	65	54	44	58
55	35		39	52	70	69	60	68	66	38	73	40	54	55	53	71	48	66	70
69	33	23		49	68	65	65	70	68	45	67	40	47	50	65	59	50	55	68
118	30	30	28		73	65	51	69	70	54	61	47	52	53	48	63	49	42	57
119	45	41	40	42		69	74	66	59	57	56	74	74	63	65	66	70	76	70
121	35	40	38	38	40		77	72	58	65	76	60	60	72	52	46	61	46	56
122	35	35	38	30	43	45		75	69	51	57	47	56	60	66	74	54	66	65
130	43	40	41	40	38	42	44		50	56	72	69	58	63	61	77	65	66	60
131	40	38	40	41	34	34	40	29		66	69	67	68	60	59	66	76	60	55
143	38	22	26	31	33	38	30	33	38		56	34	46	48	53	61	51	58	58
90	44	42	39	35	33	44	33	42	40	33		69	73	49	71	73	66	60	67
83	34	23	23	27	43	35	27	40	39	20	40		43	60	58	67	49	54	68
81	32	31	27	30	43	35	33	34	40	27	42	25		60	56	73	29	53	68
65	38	32	29	31	37	42	35	37	35	28	28	35	35		60	70	49	64	55
61	28	31	38	28	38	30	38	35	34	31	41	34	33	35		60	42	45	51
116	38	41	34	37	38	27	43	45	38	35	42	39	42	41	35		73	63	60
99	31	28	29	28	41	35	31	38	44	30	38	28	17	28	24	42		52	74
102	26	38	32	24	44	27	38	38	35	34	35	31	31	37	26	37	30		56
133	34	41	40	33	41	33	38	35	32	34	39	40	40	32	30	35	43	33	

斜線上：2 個体間の異なるマーカーの数　斜線下：2 個体間の異なるマーカーの割合

（４）家系推定に基づく有用多型マーカー候補の有効性についての検討
友友と洋洋、友友と美美、友友と溢水、華陽と洋洋、華陽と美美、華陽と溢水の 6 つのペアとサンプルとのそれぞれの組み合わせについて、不適合遺伝子座の実数と割合(%) を以下の表(2)-11 に示した。この結果より、教師家系である友友/洋洋の組み合わせでは、不適合遺伝子座がみられず、メンデル遺伝性に従っていることが分かった。よって、家系推定に基づく検討では 172 個の有用多型マーカー候補すべてが有用であると考えられた。

表(2)-11　家系推定に基づく有用多型マーカー候補の有効性の検討における不適合遺伝子座の実数と割合(%)

	友友/洋洋	友友/美美	友友/溢水	華陽/洋洋	華陽/美美	華陽/溢水
51	0(0%)	15(8.4%)	14(8.1%)	11(6.6%)	23(13.2%)	12(7%)
55	0(0%)	18(10%)	15(8.8%)	11(6.7%)	27(1.7%)	20(12.2%)
61	0(0%)	15(8%)	13(8%)	14(8%)	24(14%)	25(15%)
69	0(0%)	10(5.6%)	8(4.7%)	11(6.8%)	22(13%)	15(9.2%)
81	0(0%)	4(2%)	6(4%)	16(11%)	24(14%)	21(13%)
83	0(0%)	8(5%)	6(4%)	12(7%)	22(13%)	18(11%)
99	0(0%)	5(2.5%)	6(3.5%)	17(10%)	22(12%)	20(12%)
102	0(0%)	7(3.8%)	5(2.8%)	10(6%)	19(10.7%)	11(6.5%)
118	0(0%)	10(5.6%)	9(5.3%)	13(8%)	21(12.2%)	16(9%)
143	0(0%)	11(7%)	14(9%)	12(8%)	28(18%)	28(18%)

（５）マッピングに基づく有用多型マーカー候補の数の絞り込み
マッピングに基づく多型マーカー候補の有効性についての検討の結果を以下に示した(表(2)-12)。ゲノムの位置による検討では、172 個の有用多型マーカー候補すべてを使用する必

要があると考えられた。また、ゲノム上間隔についての検討では一多型座位で 99 個、二多型座位で 52 個の計 151 個のマーカーを使用すればよいと考えられた。

表(2)-12　マッピングに基づく多型マーカー候補の有効性についての検討の結果

タイピング可能性	Depthに基づくタイピング	マーカー数	ゲノムの位置による検討で有用とされたマーカー数		ゲノム上間隔についての検討で有用とされたマーカー数
			○(有用)	×(有用ではない)	有用
可能	一座位多型	112	112	0	99
	二座位多型	60	60	0	52
不可能	多型なし	6	—	—	—
	一座位あたり三アリル以上	24	—	—	—
	低増幅	14	—	—	—
	計	216	172	0	151

（６） 再導入個体群の遺伝的構造の管理にむけて

本サブテーマで開発した 151 マーカーのタイピング法を用いることで、再導入された未標識個体の家系、始祖個体（ファウンダー）の推定が可能になる。遺伝的多様性を最大化するには、各ファウンダーの遺伝子が均等に再導入個体群に広がることが最善と考えられる。しかし、飼育個体群への導入年代が遅い 2 ファウンダーの遺伝子を持つ個体の放鳥数は限られているうえ、5 羽のファウンダーから設立された個体群のため、放鳥個体の近交係数も 0.125 に達していて緩い近親交配も進んでいる。いまのところ近親交配による遺伝的な問題は顕在化していないが、育種家の経験則によると近交系では弱有害遺伝子の効果により 10ー20 世代を経過すると適応度の低下が発現することがあるので、今後、問題が生じないとは断言できない。このため、今回、開発した 151 マーカーにより未標識個体も含めて再導入個体群の遺伝的構造（各ファウンダーの寄与率）をモニタリングすることが可能となると考えられる。また、再導入個体群の遺伝的構造を把握するには、2018 年に新しく中国から来た 2 羽のファウンダーの子孫を放鳥する前に、151 マーカーを使って解析をする必要がある。近親交配による遺伝的な問題が顕在化した時に、問題のある家系を同定し個体を隔離する、あるいは、繁殖を妨害するなどして弱有害遺伝子が集団中に拡がるのを防ぐことが可能となるだろう。現在の次世代シークエンサー（NGS）では 1 回の解析で 96 試料を処理できるため、24 個体×151 マーカー=3,624 個体・マーカーの結果を得ることができる。NGS による 1 回の解析には約 60 万円の試薬がいるため、1 マーカーあたり 165 円、1 個体当たり約 2.5 万円の経費が必要である。新しい NGS 技術の発展により解析費用は、今後、さらに安くなっていくことが予想される。

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

トキの保全および野生復帰事業においては、集団の遺伝的多様性の維持は重要な課題であり、その実現のためには飼育下や放鳥個体のみならず野外で誕生した個体に対しても DNA 多型マーカーを利用した遺伝的管理を実施することが望ましい。これまでに日本産トキの始祖５個体について、NGS を利用した解析を行うことで、3 万超の多型マーカー候補が得られていた。そこで、3 万超の多型マーカー候補から 325 個の多型マーカー候補のプライマーペアを設

計し、シングル PCR により評価することで、216 個の多型マーカー候補を選出した。これらについて、multiplex-PCR の条件を検討した結果、multi20、multi40 の条件で増幅が可能であると判断され、さらに multiplex-PCR/NGS による中規模タイピング法の開発は可能であり、multi40 の条件によるタイピング法が適当であると考えられた。25 個体のタイピングデータに基づき、172 個の有用多型マーカー候補が選抜され、後代個体の個体識別が可能であったことから、172 個の有用多型マーカー候補が有効であることが確かめられた。家系推定に基づく有用多型マーカー候補の有用性についての検討では、教師家系において 172 個のすべてのマーカーがメンデル遺伝性に従っており、不適合遺伝子座がないことから、有用であるとされた。さらに、172 個のマーカーを用い、マッピングに基づく多型マーカー候補の数の絞り込みについての検討を行った結果、151 個のマーカーに絞られた。このような結果に基づき、日本産トキ集団において,151 個の多型マーカーを簡便かつ低コストでタイピングできる multi40 の条件による multiplex-PCR/NGS を利用した分子遺伝的解析手法を開発した。

（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＞

希少動物の保護のためには、その個体数を増加させるとともに、集団内の遺伝的多様性を維持する必要がある。この遺伝的多様性の維持は、繁殖性の維持や、環境の急激な変化や鳥インフルエンザなどの感染性病原体による疾病の流行に対して生存性を確保するためにも、きわめて重要であると考えられる。こうして、集団の遺伝的多様性の維持を目指した遺伝的管理を行うことが不可欠である。しかしながら、未標識個体の繁殖による家系不明個体が今後増えてくると考えられることから、血縁情報に基づいた統計遺伝学的手法に替わる DNA 多型マーカーを利用した分子遺伝学的手法を利用していく必要がある。トキについては、利用できる DNA 多型マーカーが少ないことから、200 程度の中規模の DNA 多型マーカーの開発、およびそのようなマーカーを効率よくタイピングする手法の確立することが、分子遺伝学的手法をトキの保全に応用するために必要である。本研究で、日本産トキ集団において,151 個の多型マーカーを簡便かつ低コストでタイピングできる multi40 の条件による multiplex-PCR/NGS を利用した分子遺伝的解析手法を開発した。今回、開発した手法によって、未標識個体の家系推定や未標識個体も含めたトキの再導入個体群の遺伝的多様性評価（各ファウンダーの寄与率等）を継続的に行っていくことが可能になると考えられる。

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) Y. WAJIKI, Y. KANEKO, T. SUGIYAMA, T. YAMADA and H. IWAISAKI: Journal of Poultry Science, 53, 1-7 (2016)
   Genetic analyses in the Japanese captive population of Japanese crested ibis (*Nipponia nippon*) using pedigree information
2) H. TSUJI, Y. TANIGUCHI, S. ISHIZUKA, H. MATSUDA, T. YAMADA, K. NAITO and H. IWAISAKI: Scientific Reports, 7, 42864 (2017)
   Structure and polymorphisms of the major histocompatibility complex in the Oriental stork, *Ciconia boyciana*

3)　Y. WAJIKI, Y. KANEKO, T. SUGIYAMA, T. YAMADA and H. IWAISAKI: The Wilson Journal of Ornithology, 130, 874-880 (2019)
An estimation of number of birds to be consecutively released in the reintroduction of Japanese Crested Ibises (*Nipponia nippon*)

＜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)　池乗乃智、谷口幸雄、永田尚志、杉山稔恵、金子良則、祝前博明、山田宜永：第65回北信越畜産学会大会　(2016)
「日本産トキ集団における家系推定のための遺伝子マーカータイピング法の開発」

2)　池乗乃智、谷口幸雄、永田尚志、杉山稔恵、金子良則、祝前博明、山田宜永：日本畜産学会第122回大会　(2017)
「日本トキ集団における中規模多型マーカータイピング法の開発」

3)　九冨　斉、小川伸一郎、松田洋和、谷口幸雄、杉山稔恵、金子良則、山田宜永、祝前博明：日本畜産学 会第123回大会　(2017)
「トキ国内飼育下個体群に関する集団遺伝学的パラメータの評価」

4)　依田澄香、谷口幸雄、金子良則、杉山稔恵、祝前博明、山田宜永：日本畜産学会第124回大会　(2018)
「日本産トキ集団における家系推定に有用な多型マーカー候補の選抜」

5)　九冨　斉、山田宜永、谷口幸雄、小川伸一郎、杉山稔恵、金子良則、祝前博明：日本畜産学会第124回　大会　(2018)
「トキ国内野生下個体群における遺伝的多様性の評価」

6)　九冨　斉、山田宜永、谷口幸雄、杉山稔恵、金子良則、祝前博明：北信越畜産学会第67回大会 (2018)
「トキ国内飼育下個体群における始祖個体の遺伝的寄与のジーンドロップ法による評価」

7)　九冨　斉、山田宜永、谷口幸雄、小川伸一郎、杉山稔恵、金子良則、祝前博明：日本動物遺伝育種学会　第19回大会　(2018)
「トキ国内飼育下個体群における始祖個体の遺伝的寄与のシミュレーションによる評価」

8)　兼村真由、依田澄香、祝前博明、山田宜永：第57回北信越畜産学会新潟県分会研究発表会　(2019)
「日本トキ集団の家系推定に用いるタイピング手法の再構築」

9)　九冨　斉、山田宜永、谷口幸雄、杉山稔恵、金子良則、祝前博明：日本畜産学会第125回大会　(2019)
「トキ国内野生下個体群における始祖個体の遺伝的寄与のシミュレーションによる評価」

10)　祝前博明、蟹澤翔太、山田宜永、谷口幸雄、杉山稔恵、金子良則：日本畜産学会第125回大会　(2019)
「トキ国内飼育下個体群の遺伝的多様性の近年における推移」

（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

特に記載すべき事項はない。

（５）マスコミ等への公表・報道等

1）トキの遺伝的多様性研究成果の記者発表（2017年3月22日、於新潟大学駅南キャンパス）

2） 新潟日報（2017 年 3 月 23 日、「トキ国内繁殖の「始祖」遺伝的多様性低く 3 タイプのみ確認」）

（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。

Ⅱ－３　トキの野生復帰のための里地里山の管理手法の研究

新潟大学 研究推進機構 朱鷺・自然再生学研究センター　　　岸本　圭子
新潟大学 研究推進機構 朱鷺・自然再生学研究センター　　　満尾　世志人
新潟大学 研究推進機構 朱鷺・自然再生学研究センター　　　江藤　毅

＜研究協力者＞
新潟大学朱鷺・自然再生学研究センター　　　中津　弘
新潟大学朱鷺・自然再生学研究センター　　　油田　照秋（平成 28ー29 年度）

平成 28～30 年度累計予算額：7,670 千円
（うち平成 28 年度：2,730 千円、平成 29 年度：2,600 千円、平成 30 年度：2,340 千円）
累計予算額は、間接経費を含む。

［要旨］

佐渡での人口減少や高齢化に伴う里地里山の変化は著しく、餌や天敵となる生物への影響を通してトキの生息状況をも左右すると予想される。それらの影響を把握し、トキの野生下の生息を支えるための具体的な里地里山の管理手法を構築することは、トキの野生復帰事業の継続に重要である。本研究では主に、餌生物のドジョウと土壌動物の現存量と景観構造や季節、地域的・局所的スケールの農法との関係、潜在的な天敵のテンやカラスの行動様式に関する研究を実施した。ドジョウを対象にした研究では、国仲平野全体の現存量のうち約 4 割が中山間地で生産されていることが示唆され、特に中山間地で加速する耕作放棄地の拡大がトキの採餌エリアを狭めるだけでなく、餌生物量を大きく減少させる可能性を示した。地域的スケールの農法として水田の基盤整備状況との関係を解析した研究では、分類群ごとに基盤整備に対する反応は異なり、トキが畦畔で利用する昆虫のゴミムシ類では未整備の圃場で著しく個体数が多かった一方で、ドジョウやミミズでは圃場整備の影響は小さかった。局所スケールの農法として畦畔管理（草刈頻度，刈草除去，除草剤散布）が土壌動物に与える影響を実験的に調べた結果、現状より粗放的な管理でも土壌動物の現存量は維持されることが実証された。潜在的な天敵であるテンやカラスの出現頻度は繁殖期のトキの営巣木からの距離とは相関関係がみられなかったことや、テンの活動は現在のトキの採餌エリアと重ならないことが解明された一方で、人が住む地域ではテンが放置された空き家を利用している実態も明らかにし、人口減少に伴い空き家が増加することでテンの生息エリアが拡大する可能性が懸念された。

［キーワード］
餌動物、潜在的捕食者、中山間の耕作放棄、圃場整備、空き家対策

１．はじめに

2008 年の環境省によるトキの放鳥が始まって以降、野外でのトキの個体数も増え、トキの行動に関する情報が蓄積されてきた。例えば、以前は山間部や河川も営巣・採餌場として利用されると予想されてきたが、現在ではトキの行動範囲の中心は平地から中山間の里山林、水田生態系（畦畔、水路を含む）であることがわかってきた[1)]。また、トキの主要な餌生物群や、採餌場所の季節変化などの特性も明らかにされてきた[2, 3)]。潜在的な餌生物や捕食者の生態情報はこれまで、先行プロジェクト（F-072, 「トキの野生復帰のための持続可能な自然再生計画の立案とその社会的手続き」）においても明らかにされてきたが、野生下のトキが

利用するエリア内の水田生態系やその他の土地利用における一部の餌生物群や天敵の生息状況に関する情報はまだ不足している。

また、全国的に問題となっている人口減少や高齢化に伴う里地里山の土地利用様式や人の利用様式の変化は、佐渡でも例外ではなく、それらの変化が餌や天敵となる生物に与える影響を通して、野生下のトキの生息状況を左右すると考えられる。しかしながら、それらの変化が餌生物や天敵に与える影響については十分に調べられてこなかった。例えば、全国的に土地利用様式や人の利用低減によって哺乳動物の生息地拡大が大きな問題になっているものの、佐渡では詳しく調べられていない。佐渡では哺乳動物の中でもニホンテン（以下、テン）がトキの潜在的な天敵として考えられている。本種は、造林木を食害するノウサギを駆除する目的で導入された国内外来種である。現在では、環境省および農林水産省により「我が国の生態系等に被害を及ぼすおそれのある外来種リスト（生態系被害防止外来種リスト）」の重点対策外来種に指定されており、トキの繁殖に影響を及ぼす可能性が懸念されている。そのため、テンの行動と土地利用様式との関係について調べ生息状況を把握し、トキとの関係の現状を明らかにしておくことはトキの野生復帰事業にとって重要である。また、地理的条件や農業生産的条件の不利な中山間地における農地の耕作放棄が全国的に大きな問題となっており、佐渡の耕作放棄率は全国平均より高くトキの野生復帰にも深刻な影響をもたらすことが懸念されている。景観構造の違いと餌生物の密度との関係を解明することで今後耕作放棄地の拡大によってどの程度、またはどのような影響が餌生物にもたらされるのかといった理解につながる。高齢化・人口減少による労働者不足は土地利用の変化だけでなく、農法も変化させる。特に地域スケールの農法の変化として、基盤整備がされた圃場は生産性も向上し労働時間の短縮にもつながっていることから耕作放棄率が低いことが知られており、担い手確保のためにも整備地の拡大が今後も続くと予想される一方で、植生や魚類、両生類、水生昆虫に対する負の影響も知られており、圃場整備と餌生物群との関係の解明が必要である。局所スケールの農法の変化としては、佐渡では草刈り頻度の低下や除草剤散布など畦畔管理の変化等が考えられる。佐渡では水田畦畔の管理に除草剤が使われることは少なく、水田１枚あたり年に4，5回の草刈りを行っている。しかし、平成23年度の佐渡市認証米制度に参加している農家へのアンケート調査の結果、高齢化で体力が続かないという理由から今後除草剤使用を考えている農家が少なくないことがわかってきた[4)]。本プロジェクトのサブテーマ４の調査の結果からも将来の草刈りにかかる労力に対して不安の声があがっていることが明らかになった。高齢化に伴って畦畔管理が変化すればトキの餌生物獲得可能性の低下にもつながると予想され、畦畔管理手法が土壌動物に与える影響を把握する必要がある。このように、里地里山の変化と餌生物や天敵の密度や行動、動態様式との関係を把握し、今後起こりうる変化に対する具体的な対策の構築が求められている。

２．研究開発目的

本サブテーマは、トキの潜在的な餌生物と捕食者の双方を対象に、それらの密度や行動、動態様式と、土地利用・農法との関係の現状を把握することで、これからの里地里山の変化が及ぼす影響を評価する。それらの結果と各サブテーマの結果を統合して、トキの環境収容力や繁殖に与える影響を評価するとともに（サブテーマ1）、地域社会との共存可能な（サブテーマ4）里地里山の管理手法の確立を目指す。

餌生物として、ドジョウ（魚類）とミミズ類（環形動物門貧毛綱）を対象にした。ドジョウは重量ベースや１年を通した利用頻度からみるともっとも重要な餌である[1)]。佐渡島で実施された先行プロジェクト（F-072）では河川におけるドジョウ現存量について評価がなされているものの、トキが主な採餌場とする水田周辺の水域を対象にドジョウ現存量とその規定要因について評価した研究はない。重量ベースでみるとドジョウの次に重要なのはミミズである[1)]。ミミズは１年を通じて利用されるが、特に稲丈が伸びトキが田面に侵入できなくな

る夏期に畦畔上での利用頻度が高まる[2)]。また、ミミズと同じく夏期にトキによる水田畦畔上での利用頻度が高まることが知られているゴミムシ類（節足動物門昆虫綱）や土壌動物（生活環の一部を地中・地表で過ごす無脊椎動物）も対象とした。ゴミムシ類はトキの糞中に残った被食者DNAを使った食性調査の中でも出現頻度が高く、昆虫の中では重要な餌生物群の一つである[3)]。

捕食者はテンとカラス類を対象にした。テンは、飼育下のトキを殺傷したことが報告されていること、樹上に登ることができるなどの特性から、トキの繁殖成功に影響を及ぼすと考えられている。カラスは野外でトキの巣から卵を持ち去ったことが確認されている[5)]。

また、今後佐渡で起こりうる変化の中で特に注目すべき点として、中山間地での耕作放棄地の増大と、圃場整備の進行、畦畔管理手法の変化などに着目した。ドジョウを対象にした研究では、景観構造の異なる水田水域における現存量の季節推移と、水田が立地する景観構造とドジョウの食性及び成長の関連性の把握を目指した。ミミズ類とゴミムシ類を対象にした研究では、景観構造の異なる水田畦畔における分布様式・現存量との関係の解明を目指した。なお、本研究では中山間地の水田として、森林に囲まれた谷津田を調査地として選んだ。捕食者テンを対象にした研究では、生息状況と土地利用の関係を調査した。また、繁殖期のトキと捕食者群（テン・カラス類）との関係の解明を目指した。畦畔管理は、労力がかかる草刈頻度と刈った草（刈草）の除去や、草刈りの代替法として利用頻度が高まることが予想される除草剤散布の3つの管理手法とミミズ類やゴミムシ類を含む土壌動物との関係を実験的に調べた。

３．研究開発方法

1) ドジョウの現存量の季節推移及び規定する環境要因の解明

景観構造の異なる水田水域におけるドジョウ現存量の季節推移について把握するため、谷津及び平地の水田それぞれ20地点を調査対象として選定した。この際、Strahler法による3次河川以下の流路に接する水田を谷津水田とした。選定された水田に隣接する水路に延長10mの調査区間を設定し、2017年4月から9月にかけて月に1回ドジョウの採集を行った。採集は調査区間内における手網を用いたキックサンプリングよって行い、1区間につき2名で5分間の採集努力量とした。採捕されたドジョウは区間ごとに個体数及び総生重量について計測を行った。合わせて、ドジョウの生息に影響を及ぼしうる環境要因として、魚類採捕に合わせ水温、水理条件（水深、流速）、護岸状況（土水路 or フリューム管）、灌漑様式（用排兼用 or 用排分離）、景観構造（谷津 or 平地）について記録を行った。ドジョウ現存量に影響を及ぼす環境要因について把握するため、単位水面面積当たりの現存量を目的変数、各環境要因を説明変数、調査月をランダム効果とした一般化線形混合モデル（GLMM）を構築し、ΔAIC（赤池情報量基準）<2のトップモデルを用いたModel averagingによって係数の推定を行った。

2) 景観構造がドジョウの食性・成長に及ぼす影響の解明

水田が立地する景観構造とドジョウの食性及び成長の関連について把握するため、灌漑期（2018年7月）及び非灌漑期（2018年11月）において、それぞれ108地点と102地点の水田地帯を対象に上記季節推移に関する調査と同様の方法でドジョウの採集を行い、胃内容物や耳石について解析を行った。採捕された個体はその場で速やかに冷凍保存のうえ実験室に持ち帰り、個体ごとに全長・生重量の計測を行った。また、食性について把握するため、採捕個体からランダムに抽出された個体から消化管を取り出し、胃内容物を得た。取り出された胃内容物は生重量を計測した後、顕微鏡下において同定を行った。確認された各餌項目（ハエ目、トビケラ目、カワゲラ目、カゲロウ目、動物プランクトン、水生貝類、ダニ類、アリ類、その他陸生動物）について出現の有無を記録した。次に、ドジョウの成長率について推

定するため、胃内容物調査に供した個体から耳石を取り出し、耳石輪紋による解析を行った。取り出された耳石は透明マニキュアを用いてスライドガラス上に封入し、日周輪が観察できるよう切削・研磨したのち顕微鏡下で写真撮影を行い、画像上で最外縁部から20本の輪紋を数えその輪幅を計測した。胃内容物は、景観ごとの餌項目の出現傾向をMultiple Response Permutation Procedure (MRPP)によって解析を行った。また、個体及び胃内容物の生重量から算出された個体ごとの胃充満度を一般化線形モデル（GLM）によって解析し、景観間に違いが認められるか確認した。同様に、耳石解析から推定された成長率についても景観間で比較を行った。

3）灌漑システムが外来魚類の分布に及ぼす影響の解明

佐渡島内の国仲平野及びその周辺地域を対象とし、灌漑システムの異なる水田地帯において10mの調査区間を43地点設定し調査を行った。魚類の採集は、2017年の8月に1区間につき2名で5分間のキックサンプリングによって実施した。また魚類の採捕に合わせ、魚類の生息に影響を及ぼしうる環境要因として、水温、水理条件（水深、流速）、護岸状況（土水路 or フリューム管）、灌漑様式（用排兼用 or 用排分離）、水田との接続性について記録を行った。さらに、水域ネットワークの発達度を示す指標として、調査区間が属する県営以上の送水網の数及びパイプ灌漑の有無についても記録した。灌漑システムを含む水田環境が外来魚類の分布状況に及ぼす影響を把握するため、各区間における外来魚の出現の有無を目的変数、各環境要因を説明変数としたGLMを構築し、ΔAIC<2のトップモデルを用いたModel averagingによって係数の推定を行った。

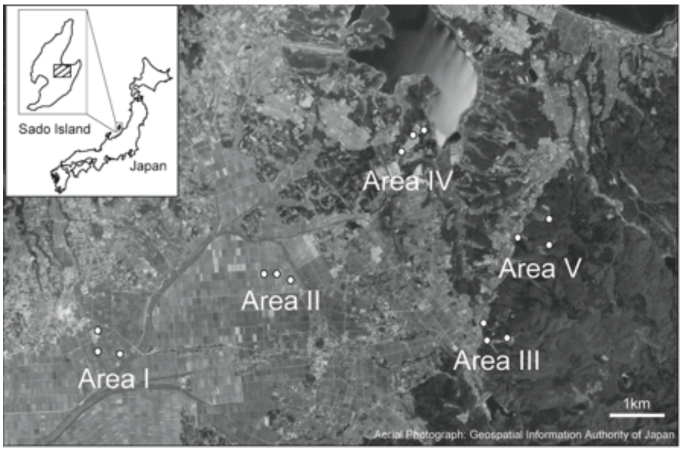
4）水田畦畔に生息するミミズ類の現存量と分布を決める要因の解明

2016年ー2017年にかけて小佐渡地域を中心に、周囲の環境が異なる15ー34箇所の水田を対象に定量的・定期的調査を実施した（図(3)-1，表(3)-1）。6ー9月に毎月、1枚の水田あたり2ー3本の畦畔を選び、各地点5m以上離れた3地点で25×50cmコドラートを設定した。深さ10cmまでの土壌塊をバットに移し、土壌表面および地中にいた全個体をすべて捕獲した。捕獲したミミズはすべて生重量を測定するとともに、先行研究[6)]によるミミズ類の体サイズ別のカロリー値を算出するために体サイズを3クラスに分類して個体数をカウントした。種の同定を行うため、種分類が可能な成体のみ実験室に持ち帰り、ホルマリン固定したのちエタノールで保存した。栃木県立博物館の南谷幸雄研究員に同定を依頼し、固定したすべてのミミズに種名がつけられた。ミミズの個体数と生重量を目的変数とし、10の説明変数との間の予測モデルをGLM(個体数:R, glm.nb function, negative binomial distribution, log link, 生重量:R, glm function, Gaussian and identity link)によって構築し、AIC、Model Averagingを用いてベストモデルを探索した。説明変数は、景観構造の違い（周囲の森林被覆率・圃場の整備状況）と季節、サンプリング時に測定した微小環境（土壌水分・森林および草地由来のリター量・Ph値・窒素含量・炭素含量，CN比）とした。

5）水田畦畔に生息するゴミムシ類の分布を決める要因の解明

ミミズ類の調査と同じ調査地で行われた（図(3)-1，表(3)-1）。5ー10月に毎月、1枚の水田あたり1本の畦畔を選び、畦畔上に5つのピットフォールトラップ（落とし穴式トラップ）を2m間隔で設置した。約48時間後にトラップの中のゴミムシ類を回収した。一部のゴミムシについては、ふじのくに地球環境史ミュージアムの岸本年郎教授に種同定を依頼した。同定結果をもとに参照標本を作製し、すべての個体の種分類を行い個体数をカウントした。ゴミムシの個体数を目的変数にし、6つの説明変数との関係を同様にGLM（個体数：R, glm.nb function, negative binomial distribution, log link）、AIC、Model Averagingを用いてベストモデルを探索した。説明変数は、景観構造の違い（周囲の森林被覆率・圃場の整備状

況）と季節、サンプリング時に測定した微小環境（森林および草地由来のリター量・草丈）とした。



図(3)-1　2017年のミミズ類・ゴミムシ類研究の調査地

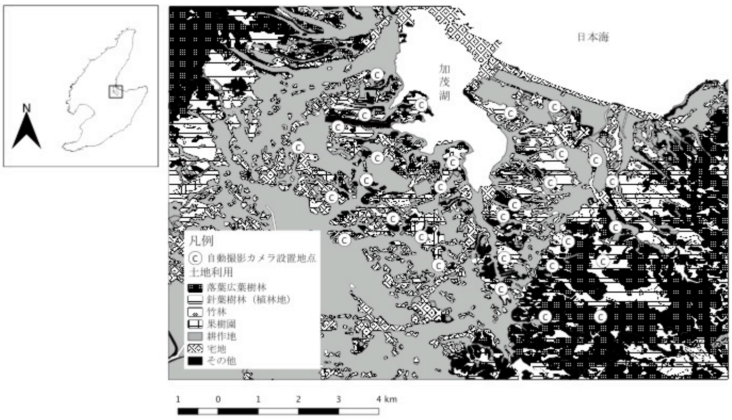
表(3)-1　調査地の概要

調査地	水田	面積 (m²)	圃場整備完了年	調査地周辺の半径100m内の土地利用様式	
				耕作地	森林
I	1	1,023	非整備	100.00	0.00
	2	613		80.19	0.00
	3	1,023		100.00	0.00
II	1	3,095	H16	100.00	0.00
	2	3,855		100.00	0.00
	3	4,983		100.00	0.00
III	1	762	未整備	39.94	60.33
	2	968		54.69	44.04
	3	2,980		66.88	32.68
IV	1	2,848	H14	63.87	18.71
	2	2,537		81.88	18.33
	3	1,047		61.54	25.50
V	1	399	S55	39.03	36.24
	2	847		25.56	74.76
	3	469		23.79	74.51

6）捕食者テンの生息状況と土地利用との関係の解明

狩猟による人為的なテンの個体数変動と行動パターンへの影響を避けるために、加茂湖鳥獣保護区、新穂鳥獣保護区、小佐渡東部鳥獣保護区を含む加茂湖周辺域および小佐渡東部を調査地に設定した。本調査地はトキの生息密度が高い地域でもある。調査地を1km×1kmメッシュで区切り、1メッシュあたりに1台の自動撮影カメラ（以下、カメラ）を計30地点に設置した（図(3)-2）。カメラは50ー150cmの高さで立木に設置した。カメラは動画撮影モード、撮影時間を15秒あるいは20秒にし、撮影間の最短インターバルを60秒に設定した。調査期間は2016年12月24日から2018年12月24日の730日間とし、撮影された動画から動物種を同定した。テンが撮影された時間帯を1時間毎に区切り、各時間帯における撮影回数をカウントした。また、撮影された時間帯について、日の出と日の入時刻を基準として日中と夜間に区別し、活動が集中する時間帯を調べた。土地利用がテンの行動パターンに与える影響を評価するために、調査地の土地利用様式を環境省の植生データを利用し、落葉広葉樹林、針葉樹林（植林地）、竹林、その他植生、耕作地（水田・畑）、果樹園、宅地、その他に分類した。佐渡島内におけるテンの行動範囲はこれまで明らかになっていない。そこで、カメラ設置地点を中心に半径50m，半径100m、半径200mのバッファーを発生させて、各バッフ

ァー内のそれぞれの土地利用面積の割合を求めた。各バッファーサイズにおける各土地利用の総面積割合を表(3)-2 に示した。



図(3)-2 自動撮影カメラ設置地点および調査地の土地利用様式

各土地利用の面積割合とテンの撮影頻度との関係を GLM で解析した。落葉広葉樹林と植林地との面積割合に相関関係が認められたため、植林地は説明変数から除いた。目的変数はカウントデータであるため、ポアソン分布に従うと仮定した。電池切れやカメラの故障により、各カメラの稼働日数が異なったため、offset 項にカメラ稼働日数の対数を指定することでこれを調整した。最もあてはまりのよいモデルを AIC により選択した。

また、地域住民への聞き取りにより、宅地周辺でのテンの目撃や民家に侵入したとの情報が得られた。調査地内には空き家が点在しており、テンの行動と関係している可能性が予想されたので、2018 年 9 月から 2019 年 2 月にかけて、調査エリア内にある空き家 4 軒を対象と

土地利用様式	バッファーサイズ		
	半径50m	半径100m	半径200m
落葉広葉樹林	29.2	26.7	22.9
植林地	39.1	32.6	27.2
竹林	7.6	4.3	3
その他植生	4.7	4.2	5.8
耕作地	14.8	26.7	34.7
果樹園	1.2	1.4	1.3
宅地	3.4	3.9	4.3
その他	0	0.2	0.8

表(3)-2　各バッファーサイズにおける土地利用面積の割合

して動画撮影モードに設定したカメラを敷地内に 2ー8 台設置し、テンの空き家利用と敷地内での行動を調べた。テンによる空き家へ侵入が確認された場合、その侵入口のサイズを計測した。

7）潜在的捕食者密度とトキの繁殖成功の関係

2017 年および 2018 年のトキの繁殖期にあたる 3 月から 6 月（抱卵期から育雛期）のテンの撮影頻度とカメラ設置地点からトキの営巣木までの距離との関係を GLM で解析した。さらに、営巣林内のテンの密度がトキの繁殖成功に及ぼす影響を調べるため、トキの繁殖期の 4ー7 月に営巣林内にセンサーカメラを設置した。2016 年は 6 ヵ所、2017 年は 13 ヵ所、2018 年は 13 ヵ所の営巣林で調査を行った。テンの撮影頻度から相対密度を算出し、営巣林内におけるテンの密度がトキの繁殖成功に及ぼす影響について GLM で解析した。

ハシブトガラスとハシボソガラスについては、各営巣林につき観察ポイントを周辺に 2-3 地点設けてポイントカウント法で記録した。各観察ポイントに 10 分間滞在し、半径 250m の範囲内に出現するカラス 2 種の個体数をカウントした。2016 年は 7 ヵ所、2017 年は 12 ヵ所、

2018年は8ヵ所の営巣林で調査を行った。2016年および2017年は3月下旬から6月下旬にかけて、2018年は3月下旬から5月下旬にかけて、それぞれ2週間に1度の頻度で調査を実施した。各調査地におけるカラス2種の相対密度（/10ha）を算出し、トキの繁殖成功との関係をGLMで解析した。

8）畦畔管理様式が土壌動物量に及ぼす影響評価

2018年6月~10月に、山間地と平地の耕作放棄地を利用して、異なる管理手法と土壌動物との関係を実験的に調査した。

草刈頻度の違いは、各調査地域に、草刈りを5月末から8月末にかけて毎月行う草刈4回区（以後、高頻度区）と、5月末と7月末にのみ行う草刈2回区（低頻度区）を2か所ずつ設け、コドラート法（25×50×10cm）によるミミズ類の採集とピットフォールトラップ法によるゴミムシ類を含む地表徘徊性土壌動物の採集を行った。両分類群とも生重量を測定し、二標本 t 検定（ミミズ類）やGLM解析（地表徘徊性土壌動物）によって影響を評価した。

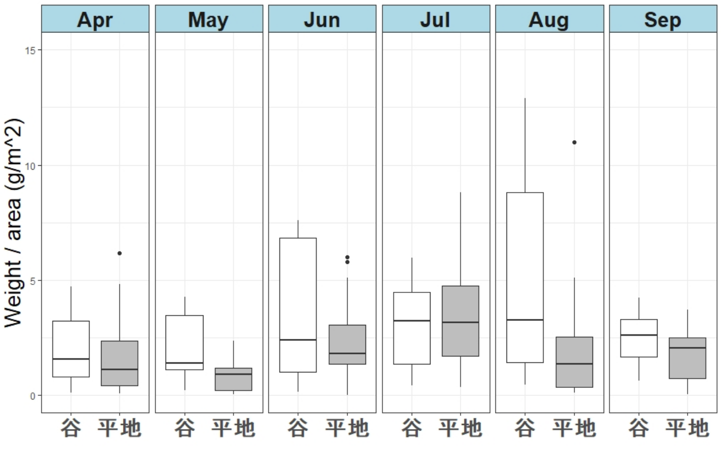
刈草除去は、草刈り後残った草（以後、刈草）を除去する区画（2m×2m）と放置した区画を設け、50×50×10cm方形区内の表層部と地中とにわけて土壌動物をすべて採集、生重量を測定した。二標本 t 検定を用いて両実験区の動物現存量を比較した。

除草剤散布実験は、2018年9~10月に山間地の耕作放棄地のみで実施した。5m間隔で5つの調査プロットを設定し、それぞれ25×25×10cm方形区内の土壌動物を採集し、その場でハンドソーティングし、分類群ごとに個体数をカウントしてもとに戻した。同じプロット内で除草剤散布前と、散布から10日後に同じ作業を行った。除草剤散布をしないコントロール区も同様の作業を行った。地中性の土壌動物（ミミズ類）と表層性の土壌動物（ワラジムシ類）を二標本 t 検定によって解析し、除草剤の影響を評価した。

４．結果及び考察

1）ドジョウの現存量の季節推移及び規定する環境要因の解明

谷津と平地それぞれ20地点において2017年4月から9月にかけてサンプリングを実施した結果、2939個体のドジョウが採捕された。景観構造と現存量の季節推移は景観ごとに大きく異ならなかったが、調査期間全体で水面面積あたりのドジョウ現存量は谷津で高くなる傾向が確認された（図(3)-3、GLM、P< 0.001）。北陸農政局による島内のドジョウ生息状況に関する報告書においても、谷津地形でより生息密度が高くなることがわかっており、本研究はこれを支持する結果となった。



図(3)-3 ドジョウ現存量の季節推移

また、水面面積あたりのドジョウ現存量を目的変数とし、各環境要因を説明変数としたGLMに基づくModel averagingの結果においては、景観と水温のみがドジョウ現存量と有意な関

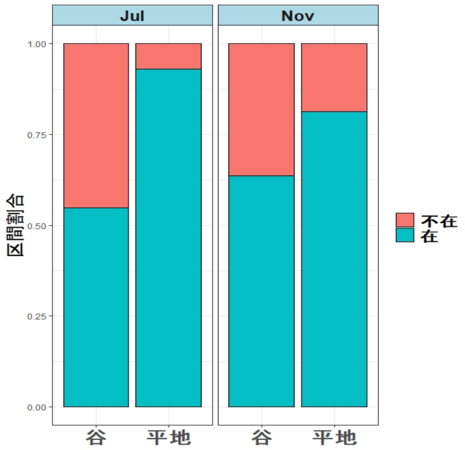
係を示した（表(3)-3）。既往研究でドジョウの生息状況に大きな影響を及ぼす要因として灌漑方式が指摘されており、水田利用の可否に関わるものとして産卵環境の質や量に直結する要因であると考えられるものの、ドジョウ現存量との間に関連は認められなかった。

表(3)-3　Model averagingによって推定された水面面積当たりのドジョウ現存量に影響を及ぼす要因。太字は有意（推定値の95%信頼区間に0を含まない）な関係を示す。

Variable	Estimate	Adjusted SE	z	p
(Intercept)	0.241	0.303	0.796	0.426
景観(平地)	**-0.513**	**0.148**	**3.463**	**0.001**
水温	**0.046**	**0.014**	**3.376**	**0.001**
流速	-0.003	0.005	0.629	0.529

水温は一般的に水生生物の代謝速度と強く関連していることから、高い水温条件は成長率の向上を介してドジョウ現存量の増大に寄与しているものと考えられた。一方で、谷津における水温は調査期間を通じて平地より低かった（GLM、P <0.01）。

また、ドジョウの出現頻度を比較すると、谷津では平地より出現率が低くなる傾向にあった（GLM, P <0.001; 図(3)-4）。水域ネットワークの分断は淡水魚類の生息に強い影響を及ぼすものであり、谷津水域においても水路内の積算落差高と魚類多様性に関連が認められている[7]。谷津上流部のような小規模な流域は集水域の小ささから水域の安定性が低く[8]、さらたに落差工などにより支線ごとに生息地が分断される状況にある。したがって、谷津では局所的な個体群絶滅が起こりやすく、加えて下流からの再移入が不可能となっており、これにより谷津におけるドジョウの出現頻度低下が引き起こされていると考えられた。上記の通り谷津はドジョウにとって良好な生息環境であると考えられるものの、本研究結果は耕作放棄だけでなく圃場整備や河川改修にともなう水域ネットワークの分断によっても地域における良好な生息環境が消失しうることを示唆している。

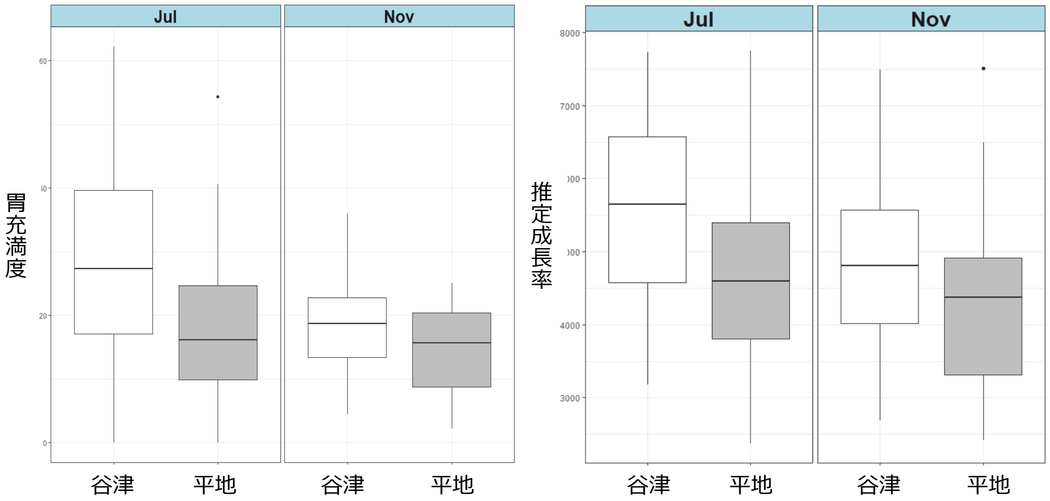


図(3)-4 景観ごとのドジョウの出現状況

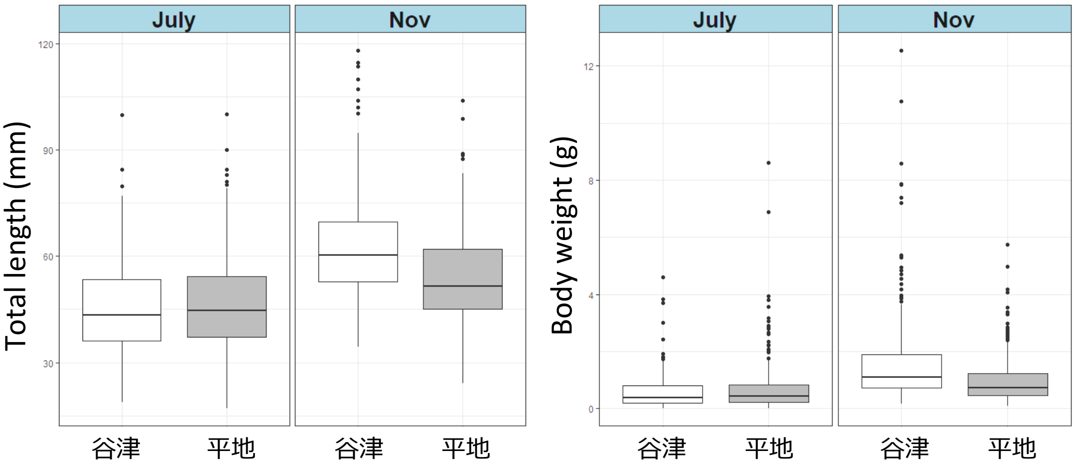
2) 景観構造がドジョウの食性・成長に及ぼす影響の解明

これまで、樹林に覆われた河川では落下昆虫など陸域由来の餌供給量が高まり、これにより魚類の現存量が高まる事例が確認されている[9]。本研究で確認された景観の違いによるドジョウ現存量の違いに関しても、樹林に接した谷津では樹木や斜面からの供給に起因して利用可能な餌資源が異なると予測された。しかしながら、2018年7月及び11月に採集した157個体について胃内容物を確認した結果においては、谷津と平地で餌項目の組成に有意な違いは認められなかった（Multiple Response Permutation Procedure, P >0.05）。一方で、胃充満度については谷津において有意に大きくなる傾向が確認された（GLM, P <0.001; 図(3)

-5）。加えて、耳石輪紋を用いた解析から、谷津においてより高い成長率を示すことが明らかとなった（GLM, P <0.001；図(3)-5）。これらの結果は、平地の水田水域に比べ谷津水域ではドジョウにとって利用可能な餌資源量が多く、これにより個体の成長率が高まっていることを示唆している。実際、2018年採集された全個体（n=1397）のドジョウについて全長と生重量を計測した結果、いずれも非灌漑期では谷津で有意に大きくなる傾向が確認された（GLM, P <0.001；図(3)-6）。



図(3)-5　胃充満度の比較（左）と耳石輪紋による推定成長率（右）



図(3)-6　ドジョウの全長の比較（左）と生重量の比較（右）

本研究結果は、耕作放棄に伴う生息地減少の影響は景観ごとに異なっており、谷津における耕作放棄はその面積以上の影響を地域のドジョウ現存量にもたらすことを示している。さらに、近年における耕作者の高齢化等に伴う耕作放棄は谷津などの条件不利地で顕著に進行していることが明らかになっていることから、地域におけるドジョウ現存量は今後急速に低下していくことが懸念される。

3）灌漑システムが外来魚類の分布に及ぼす影響の解明

調査の結果、13種の淡水魚類が採捕され、このうちタモロコ（*Gnathopogon elongatus*）、オイカワ（*Opsariichthys platypus*）、モツゴ（*Pseudorasbora parva*）の3種についてはいずれも自然分布域が新潟県外の地域であると考えられ、佐渡における国内外来種と判断された。また、国外外来種としては、環境省によって生態系被害防止外来種リストの重点対策外

来種に選定されているタイリクバラタナゴ（*Rhodeus ocellatus ocellatus*）の生息が確認された。GLM に基づく Model averaging の結果、外来種の出現状況に影響を及ぼす要因として送水網が抽出された（表(3)-4）。このことは、水田水域における外来種の分布に関しては水路構造や灌漑様式といった局所的環境要因に比べ水域ネットワークの発達度合いが重要な意味を持つことを示唆しており、送水網を介した移動分散が外来種の侵入・定着を促進させているものと推察された。

表(3)-4 Model averaging によって推定された外来魚類の出現状況に影響を及ぼす要因。太字は有意（推定値の 95%信頼区間に 0 を含まない）な関係を示す。

Variable	Estimate	Adjusted SE	z	p
(Intercept)	-1.532	0.932	1.643	0.100
送水網の数	**1.603**	**0.722**	**2.219**	**0.027**
非パイプライン	-0.316	0.670	0.471	0.637

4）水田畦畔に生息するミミズ類の現存量と分布を決める要因の解明

調査期間中計 1,292 個体、326.08g のミミズ類の出現が確認された。フトミミズ科 8 種、ツリミミズ科 2 種、ジュズイミミズ科 1 種が出現した。森林由来のリターを利用する表層性の大型ミミズは少なく、攪乱に強い 2 種の優占が認められた（ヘンイセイミミズ：全体の 40%、サクラミミズ：45%）。個体数・生重量ともに森林に隣接する畦畔（谷津）で平地より低いことがわかった（表(3)-5）。体サイズ別に測定したカロリーを景観ごとに割り出した結果、0.125m^2 あたりで得られるカロリーは平地で 24.74kcal、谷津で 11.74kcal で、平地でより高い効率で採餌できることが推測された。また、飼育下の健全なトキが 1 日に必要なカロリー（232kcal）と 1 年を通じてミミズが利用される割合（平均 10%程度）をもとに 1 年にそれぞれの景観で必要な採餌面積を算出した結果、平地で 43.8m^2、谷津で 91.3m^2 程度であると推測された。

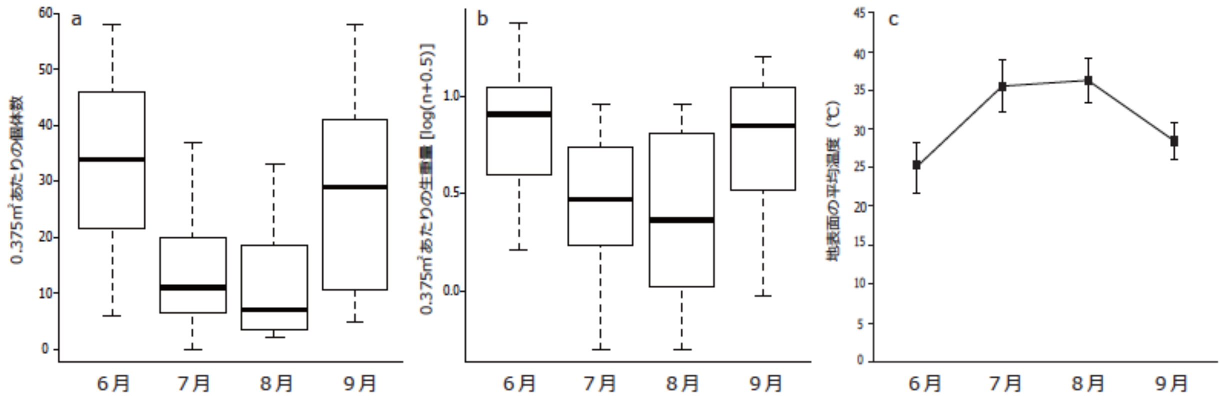
表(3)-5 AIC と Model averaging によって推定されたミミズ類個体数・生重量に影響を及ぼす要因

応答変数	個体数		生重量	
Variable	Best Model*	Model averaging	Best Model**	Model averaging
	Coefficient	Standardized Coefficient	Coefficient	Standardized Coefficient
Intercept	-3.0151		0.09983	
未整備地			0.09854	
平地	-0.73214	-0.688737 *1	-0.41342	-0.4076675 *1
季節（7月）	-0.90112	-0.918577 *1	-0.36262	-0.3480117 *1
季節（8月）	-0.82648	-0.876343 *1	-0.28009	-0.2603995 *3
季節（9月）	-0.10502		-0.08741	
土壌水分	5.3006	5.209891 *2	3.05925	3.2173922 *1
刈草リター				
森林由来のリター	0.01936			
pH (H_2O)	0.95615	0.979398 *3		
N %				
C %				
C/N ratio				

* Landscape condition+Season+GWC+Forest Litter+PH. ** Season+Forest+Consolidation+GWC.
*1: $P < 0.001$, *2: $P < 0.01$, *3: $P < 0.05$

また、トキが利用可能な地表から 10 cm 程度の浅層部のミミズについて季節性が認められた（表(3)-5）。特に、トキの畦畔利用頻度が高まる 7・8 月のミミズ個体数・生重量は、6・9 月に比べて極端に低いことが明らかとなった（図(3)-7a, b）。なお、景観構造間で季節推移に違いはなかった。調査時に調べた地表面の温度は、6・9 月に比べて 7・8 月は 8ー10 度上昇しており（図(3)-7c）、地温の上昇によって乾燥を嫌うミミズがより深い部分へ移動したと推測された。畦畔面積は田面に比べて小さく、夏期はトキの利用可能な採餌面積が狭まる

と予想されてきたが、本研究によって平地および谷津ともに夏期はミミズの捕獲獲得可能性の低下が指摘されることとなった。局所レベルの環境要因としては、土壌水分と有意な相関関係がみられた（表(3)-5）。圃場の整備・未整備の効果はミミズでは認められなかった（図(3)-8a）。



図(3)-7　ミミズ類の a) 個体数および b) 生重量の季節変化と c) 平均地温の変化

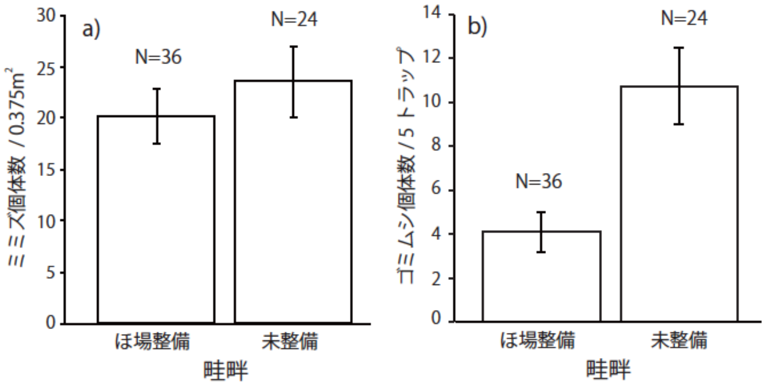
5) 水田畦畔に生息するゴミムシ類の分布を決める要因の解明

2016年~2017年の調査で39種608個体以上を採集した。景観レベルの環境要因として、平地または未整備でより個体数が多いことが示された（表(3)-6, 図(3)-8b）。ゴミムシ類は小型の無脊椎動物等を餌とする捕食性と植物の種子を摂食する植食性とで構成され、今回の結果から捕食性のゴミムシ類が未整備圃場で多いことがわかった。中でも幼虫時代に直翅目のケラを専食するミイデラゴミムシが平地の未整備圃場で特に多い傾向がみられた。ケラは畦畔の土壌中で生活しており、整備された圃場では表土の剥ぎ取りや基盤切盛り、畦畔築立、整地の過程

表(3)-6　AICとModel averagingによって推定されたゴミムシ類個体数に影響を及ぼす要因

Variable	Best Model*	Model averageing
	Coefficient	P<0.01
Intercept	0.4521	
平地	0.7908	0.819055
未整備地	0.8215	0.817267
季節6月～10月		
表面温度		
草丈	0.0233	0.022267
刈草の有無		

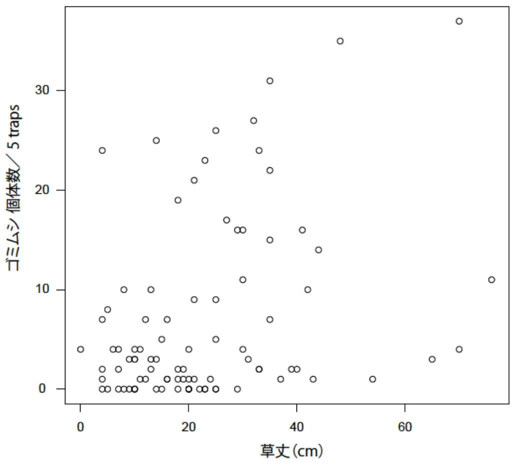
＊土地利用+圃場整備状況＋草丈



図(3)-8　圃場整備と a) ミミズ類および b) ゴミムシ類個体数との関係

で好適な環境が失われ個体数が減少した可能性が推測され、ひいては捕食者のミイデラゴミムシの整備地での減少をももたらしたと考えられる。また、整備に伴う餌生物の減少や植物相の変化も関係していると推察される。このように今回平地の未整備圃場でゴミムシ類の総個体数が最大になったが、当該地区では今後数年以内に基盤整備が行われることが決まっている。工事中は餌生物群の激減が予想され、トキは採餌場として利用しなくなるだろう。影響が一時的なものか事業完了後餌量は安定するのかなど今後も継続した調査が必要であると考えられた。

局所レベルの環境要因では草丈との間に有意な相関関係がみられた（表(3)-6, 図(3)-9）。同じく、7）の畦畔管理と土壌動物の関係についての実験においても、ゴミムシ類の個体数・生重量と草丈との間に強い正の相関がみられている（GLM, $P< 0.001$）。草丈が高いことで造網性のクモや植食性昆虫などゴミムシ類の餌となりうる小型の無脊椎動物が増えたためと考えられる。



図(3)-9　ゴミムシ類個体数と草丈の関係

6）捕食者テンの生息状況と土地利用との関係の解明

カメラ稼働延べ日数は 21,380 日であった。テンは設置したカメラ 30 台のうち 28 台で撮影され、調査期間中に 299 回撮影された。テンが撮影された時間帯は、日中が 27.8%、夜間が 72.2%であり、夜行性の行動パターンを示した。

調査地の土地利用様式と行動パターンとの関係については、半径 50m、半径 100m、半径 200m のいずれかのバッファーサイズにおいても落葉広葉樹林と果樹園の面積割合が大きいとテンの撮影頻度が高くなる傾向が認められた（表(3)-7）。佐渡のテンは、森林内の果実類や小動物、柿などの栽培果樹を食べることが糞分析の結果からわかっている[10)]。そのため、本結果は餌資源が関係しているものと考えられた。また、人が生活する宅地周辺は、動物が警戒して避ける傾向にあると予想されたが、宅地の面積割合はテンの撮影頻度に影響しなかった（表(3)-7）。

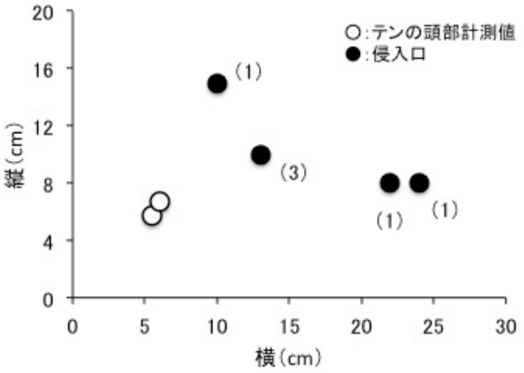
調査した空き家 4 軒のうち 3 軒でテンが撮影された。また、調査期間中に空き家の床下への侵入が 5 回、納屋への侵入が 1 回確認された。侵入口のサイズはいずれもテンの頭部より縦横ともに 1cm 以上大きかった（図(3)-10）。調査期間に対する空き家への侵入頻度が高くなかったことから、テンは一時的な休息場所として空き家を利用していると考えられた。管理者からの聞き取りにより、調査期間中に空き家の屋根裏での繁殖も確認された。これらのことから、テンは空き家を休息場所や繁殖場所として利用することで、宅地周辺での活動を可能にしているものと考えられた。また、テンによる屋根裏の利用は、糞尿による臭いや天

井への染みといった人への衛生面での被害をもたらした（図(3)-11）。さらに、敷地内に柿の木がある空き家では、放任果樹を持ち去るテンが確認された。このような果樹は空き家の敷地内だけでなく道路脇にも見られ、宅地周辺での餌資源として利用されている可能性が考えられた。

表(3)-7　テンの撮影頻度と各バッファーサイズにおける土地利用面積割合との関係

Buffer size	Variables	Estimate	SE	z	P
半径50m					
	切片	−4.643	0.096	−48.430	< 0.001
	落葉広葉樹林	0.009	0.001	6.084	< 0.001
	その他植生	−0.012	0.006	−1.945	0.051
	果樹園	0.051	0.007	7.388	< 0.001
	宅地	−0.018	0.009	−1.932	0.053
半径100m					
	切片	−4.629	0.105	−44.068	< 0.001
	落葉広葉樹林	0.011	0.002	6.062	< 0.001
	竹林	−0.009	0.007	−1.425	0.154
	果樹園	0.055	0.009	5.187	< 0.001
	宅地	−0.015	0.008	−1.861	0.063
	その他	−0.328	0.144	−2.270	0.023
半径200m					
	切片	−4.571	0.196	−23.267	< 0.001
	落葉広葉樹林	0.012	0.003	4.458	< 0.001
	竹林	−0.058	0.016	−3.622	< 0.001
	その他植生	0.023	0.006	4.095	< 0.001
	果樹園	0.057	0.013	4.358	< 0.001
	耕作地	−0.005	0.003	−1.472	0.141

人口減少や高齢化にともなって加速化すると予想される空き家や放任果樹の増加は、テンの個体数増加と生息エリア拡大につながることが懸念される。

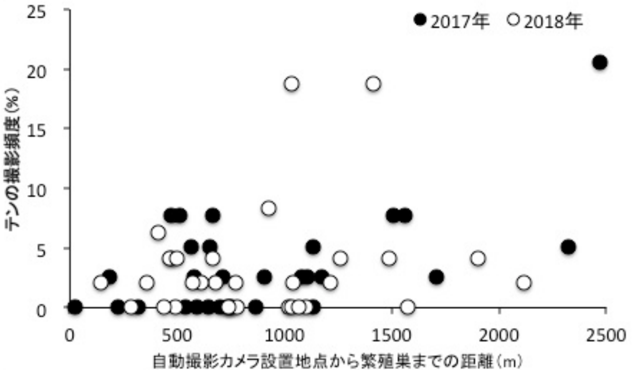


図(3)-10　空き家への侵入口のサイズ。（　）内の数字は侵入回数を示す。
白丸はテンの頭部計測値、黒丸は侵入口のサイズを示す。

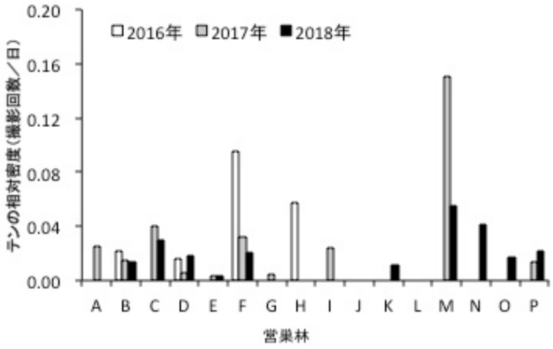
図(3)-11　テンが繁殖に利用した天井裏の様子（左）と糞尿による天井の染み（右：点線内）

7) 繁殖期のトキ営巣木と捕食者との関係

2017 年と 2018 年におけるトキの繁殖期間中のテンの撮影頻度とカメラ設置地点から営巣木までの距離との間に関係性は認められなかった（GLM, P >0.05; 図(3)-12）。また、営巣林内でのテンの相対密度には調査年と営巣林によってばらつきが見られたが（図(3)-13）、密度はトキの繁殖成否に影響しなかった（GLM, P >0.05）。そのため、現在のところトキの繁殖期にテンが営巣木を認識して行動を変化させていることはなく、またテンの存在がトキ

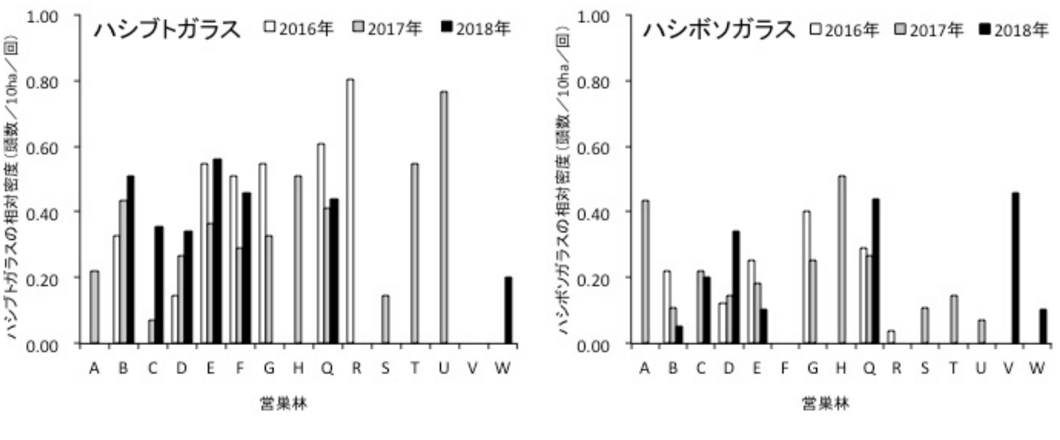


図(3)-12　2017 年と 2018 年のトキの繁殖期（3ー6 月）におけるテンの撮影頻度と自動撮影カメラ設置地点から繁殖巣までの距離との関係



図(3)-13　トキの各営巣林におけるニホンテンの生息密度

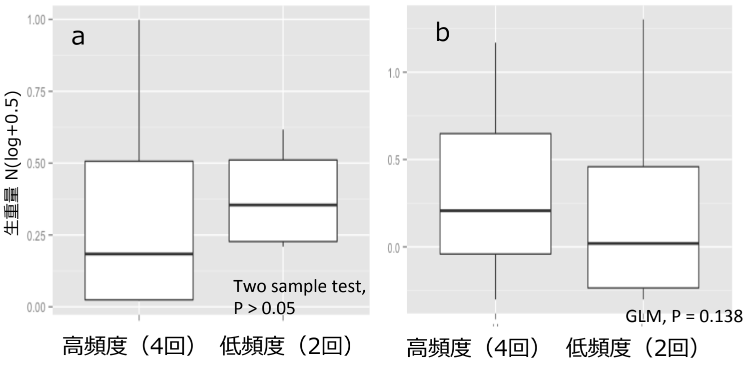
の繁殖の成否に大きな影響は与えていない。ハシボソガラスとハシブトガラスについても、相対密度は調査年や営巣林によってばらつきが見られたものの（図(3)-14）、カラスの相対密度自体はトキの繁殖の成否に影響しなかった（GLM, P >0.05）。現時点では捕食者密度とトキの繁殖成功に関連は認められないが、今後予測される人口減少にともなう空き家の増加は、テンの生息エリアが拡大し個体数の増加が生じることが予想される。また、頻度は低いがハシブトガラスによる繁殖巣からの卵の持ち去りが確認されている。そのため、今後トキの個体数が順調に増加し、ハシブトガラスがトキの巣を餌資源と認識する機能の反応が生じることで、捕食が増加する可能性もあると考えられた。



図(3)-14 トキの各営巣林におけるハシブトガラスとハシボソガラスの生息密度。トキの営巣林 A-H は図(3)-13 と同じである。カラスの相対密度は、10ha あたり 1 回の調査で観察された平均個体数（個体数/10ha/回）で示す。

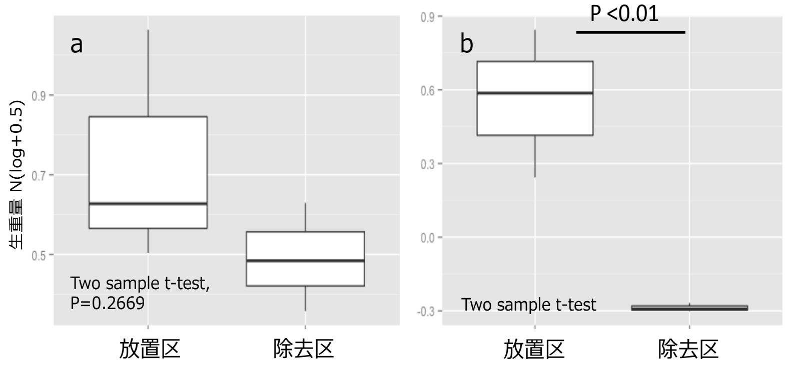
8）畦畔管理様式が土壌動物量に及ぼす影響評価

草刈が低頻度と高頻度の実験区でミミズの個体数・生重量に差はなかった（二標本 *t* 検定, 図(3)-15a）。同様に、ゴミムシ類を含む地表徘徊性の捕食者群の個体数・生重量を比較した結果においても草刈頻度の影響は認められなかった（GLM, P >0.05, 図(3)-15b）。



図(3)-15 草刈り頻度と a）ミミズ類と b）ゴミムシ等地表徘徊性動物現存量との関係

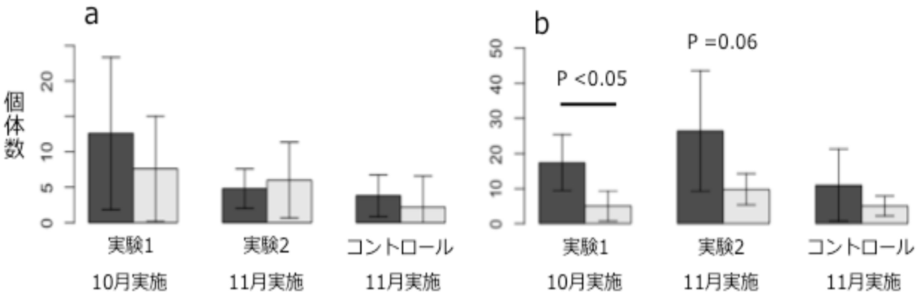
また、ゴミムシ類を含む地表徘徊性土壌動物の個体数・生重量を決める局所レベルの環境要因として草丈が有意な正の相関を示すこともわかった（5）に記述）。サブテーマ４の研究により、現状で畦畔の草刈りは年に４，５回の高頻度で行うことがわかっている。本研究では、少なくとも草刈回数を減らしても餌生物量は維持できること、ある程度草丈を伸ばすほど放置することが餌生物量を増やすことにつながることを示した。刈草除去区と放置区間でミミズ類の個体数・生重量および地中性の土壌動物の生重量に有意な差は認められなかった一方で、表層性の土壌動物は刈草除去区で有意に小さくなった（二標本 *t* 検定, P <0.01, 図(3)-16）。刈草の



図(3)-16 刈草除去と a）地中性土壌動物と b）表層性土壌動物現存量との関係

除去は畦畔管理の中で負担になっている作業の一つだが、本調査によって刈草を除去するのではなくあえて放置することが餌生物の増加につながることを示した。除草剤の実験では表層性と地中性動物とでは影響が異なり、前者の現存量は除草剤散布後著しく減少した（図(3)-17）。平成 23 年度の佐渡市認証米制度に参加している農家へのアンケート調査の結果、高

齢化で体力が続かないという理由から今後除草剤使用を考えている農家が少なくないことがわかってきた。本研究では除草剤が少なくとも一部の分類群に負の影響をもたらすことが示唆され、除草剤使用の影響については今後も継続して調査を行う必要がある。畦畔管理は米の生産性と直結しないため技術的な発展が遅れているうえに、サブテーマ４の研究により畦畔管理にかかる時間と経費はそれぞれ全体の 29.4%, 20.6%を占め労力のかかる作業の一つである。本研究の一連の実験結果から、少なくともトキの餌生物の観点からは、労働力不足を補うために現状より粗放的な管理を継続していくことが望ましいと考えられた。



図(3)-17 除草剤散布と a) ミミズ類と b) ワラジムシ類個体数との関係。 黒色のバーは除草剤散布前を示し、灰色のバーは散布してから 10 日経った調査日。コントロールも同じ間隔で行った。

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

水田が立地する景観の違いによってドジョウの現存量が異なり、谷津景観での高い現存量はドジョウ個体の高い成長率が起因していることを耳石輪紋解析により実証した。一般的に高齢化等に起因する耕作放棄の進行は谷津などの条件不利地においてその傾向が強いため、本研究結果は社会状況の変化に伴う生産環境の変化がドジョウ現存量を大きく低下させうることを示している。畦畔のミミズ類では撹乱の強い地中性の２種が優占し、全体の個体数は平地の水田畦畔で谷津に比べて約２倍程度高いことが示された。条件不利地での耕作放棄地の進行は少なくともミミズの利用獲得可能性には影響しないことが推測された一方で、ミミズの利用頻度が高くなる夏期にはトキの利用可能な層でのミミズの現存量が著しく低下することが今回始めて定量的に示され、どの景観でも夏期は餌資源獲得可能性の低下が懸念された。同時に、畦畔管理手法の違いが土壌動物に与える影響を評価した研究では、現在より粗放的な管理でも生物量を維持できることを明らかにした。また、佐渡島のテンの行動範囲はこれまで予想されていた行動範囲とは異なり、森林以外でも果樹園や人の生活エリア内での活動が明らかになった。現時点では潜在的な天敵によるトキの繁殖への負の影響は弱いことが本研究で示されたものの、高齢化・人口減少により空き家の増加や里地の人の利用が低減することでトキとの関係が変化することも予想された。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

新潟県とトキの水辺づくり協議会の役員会において（2018 年 3 月 28 日）、本研究成果である畦畔の草地管理手法を提案し、来年度のトキの餌場整備計画に貢献した。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞
ドジョウの現存量は谷津で高いことが明らかにされた一方、出現頻度は谷津で平地より低いことが示された。水域ネットワークの分断が要因と考えられ、谷津水域における水域ネットワークの改善が地域のドジョウ現存量上昇に有効であると考えられた。

水田地帯における基盤整備は、生産性の向上や担い手の確保などに直結するものであり、従事者の高齢化や耕作放棄が深刻化する中で極めて重要な意味を持つ。一方で、本研究では基盤整備に伴う送水網の発達が外来魚類の移動分散に影響を及ぼす可能性が示唆された。我が国の淡水魚類は環境省のレッドリストにおいて絶滅危惧種の割合が最も高い分類群であり、特に水田地帯を主な生息場とする種でリスクが高まっているとされている。今後送水網の変化を伴う基盤整備を計画する際には、すでに外来種が侵入している水系と水域ネットワークが形成されないよう配慮することで外来種の分散防止につながると考えられる。

テンの行動範囲と土地利用様式との関係を分析した結果から、トキの行動範囲とは重ならいことが示された一方で、空き家の利用が今回はじめて確認された。頭部よりも隙間サイズが1cm以上大きいとテンは屋内へ侵入し、糞尿による人への衛生面での被害をもたらす可能性が考えられた。また、敷地内に柿の木がある空き家では、放任果樹を持ち去るテンが確認された。人口減少や高齢化に伴って空き家や放任果樹の増加は社会的な問題として深刻である。佐渡ではトキの野生個体群への影響も今後大きくなる可能性があり、空き家や放任果樹の管理を行うことがテンの行動エリア拡大を抑制するのに有効ではないかと考えられた。

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）＞

特に記載すべき事項はない。

＜その他誌上発表（査読なし）＞

1) 江藤毅：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考えるートキの潜在的捕食者テンの現状」
2) 満尾世志人：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考えるードジョウから見た里山の姿」
3) 岸本圭子：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考えるー水田畦畔のムシたち」
4) 豊田光世・岸本圭子・満尾世志人・江藤毅・油田照秋：Wild Forum （印刷中）
「特集 トキ野生復帰の事例から里山を考えるートキ野生復帰から見えてきた佐渡における里山保全の今後」

（２）口頭発表（学会等）

1) 満尾世志人：日本生態学会第64回大会（2017）
「水田地帯における外来魚類の分布」
2) 満尾世志人:日本緑化工学会･日本景観生態学会･応用生態工学会3 学会合同大会(2017)
「農業用水路網における外来種の分布傾向」

3)　満尾世志人：「野生生物と社会」学会第 23 回大会（2017）
「景観構造が水田水域生態系に及ぼす影響」
4)　岸本圭子、油田照秋、岸本年郎、南谷幸雄：第 65 回日本生態学会大会（2018）
「トキの餌生物群集の構造特性」
5)　江藤毅、油田照秋、永田尚志：第 65 回日本生態学会大会（2018）
「佐渡島における国内外来種テンの行動パターンと土地利用の関係」
6)　岸本圭子、南谷幸雄：日本土壌動物学会第 41 回大会（2018）
「佐渡島の水田畦畔に生息するミミズ群集の特性ーミミズはトキの餌として適しているか？ー」
7)　岸本圭子、満尾世志人：「野生生物と社会」学会第 24 回大会（2018）
「餌場としての里山生態系の現状とこれから」
8)　江藤毅：「野生生物と社会」学会第 24 回大会（2018）
「トキの潜在的捕食者の現状」
9)　江藤毅、中津弘、永田尚志：第 66 回日本生態学会大会（2019）
「佐渡島におけるニホンテンの空き家利用」
10)　古郡憲洋、岸本圭子、本間航介：第 66 回日本生態学会大会（2019）
「農地における管理手法の違いが里山の景観移行部に生息する土壌動物に与える影響」
11)　岸本圭子、古郡憲洋、田中樹己：日本土壌動物学会第 42 回大会（2019）
「畦畔管理手法が土壌動物にもたらす影響について」（要旨提出済み）

（３）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

1)　市民大学講座（主催：佐渡市、2017 年 12 月 6 日、金井コミュニティセンター）にて成果紹介
江藤毅「佐渡の人里に生きる中型哺乳類：テン、タヌキ、ノウサギの話」
2)　一般公開シンポジウム「トキ再生と放鳥定着に向けた環境管理」（主催：システム農学会、2017 年 6 月 27 日、新潟大学五十嵐キャンパス図書館ライブラリーホール）にて講演
岸本圭子「トキの餌生物とそれらの生息環境」
3)　市民講座（主催：NPO 法人生きものがたり研究所、2018 年 3 月 1 日、トキ交流会館大ホール）にて成果紹介
岸本圭子「佐渡島の水田畦畔に生息するトキの餌生物ーミミズとゴミムシのはなしー」
4)　市民講座（主催：NPO 法人生きものがたり研究所、2018 年 3 月 1 日、トキ交流会館大ホール）にて成果紹介
5)　市民講座（主催：NPO 法人トキどき応援団、2018 年 8 月 6 日、トキ交流会館）にて成果紹介
岸本圭子「トキの餌生物の生態・生息状況について」
6)　夏休みイベント「ートキ放鳥 10 周年　夏休み特別企画ー親子でトキモニタリング体験！」（主催：環境省、2018 年 8 月 17 日、佐渡市新穂地区）にて本研究成果で得られた餌生物の生態について解説
講師：岸本圭子
7)　市民大学講座（主催：佐渡市、2018 年 12 月 4 日、金井コミュニティセンター）にて成果紹介
岸本圭子「トキから学ぶ食物連鎖」

8) 市民講座「外来生物セミナー2018 佐渡の外来生物を学ぶ」（主催：佐渡在来生物を守る会･生物多様性保全ネットワーク新潟･全国ブラックバス防除市民ネットワーク、2018年 12 月 15 日、トキ交流会館）にて成果紹介
江藤毅「佐渡の哺乳動物とそのルーツ」

（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) 永田尚志：環境研究、158, 1-6 (2010)
「佐渡島における放鳥トキの移動分散と採餌行動」

2) C. ENDO and H. NAGATA：Bird Conserv. Int., 23, 445-453 (2013)
「Seasonal changes of foraging habitats and prey species in the Japanese Crested Ibis, *Nipponia nippon*, reintroduced on Sado Island, Japan」

3) 田野井翔子：新潟大学修士論文 (2014)
「DNA バーコーディング法を用いた放鳥トキの食性解析」

4) 朱鷺と暮らす郷づくり推進協議会：平成 23 年度朱鷺と暮らす郷づくりに関するアンケート集計報告書、17-18 (2011)

5) 越田智恵子、上野裕介、中津弘、永田尚志、山岸哲：山階鳥学誌、46, 1-13 (2014)
「放鳥されたトキの造巣・抱卵期における雌雄の繁殖行動」

6) 早川友康、遠藤千尋、関島恒夫：保全生態学研究、21, 15-32 (2016)
「農閑期においてトキの採餌効率を高める農地管理手法としての秋耕起の有効性」

7) 柿野亘、 水谷正一、藤咲雅明、後藤章：農業土木学会論文集、246, 809-816 (2006)
「谷津内水路に生息する魚類の分布とそれを支配する要因の推定」

8) T.A. MCMAHON, B.L.FINLAYSON：Freshwater Biol., 48, 1147-1160 (2003)
「Droughts and anti-droughts: the low flow hydrology of Australian rivers」

9) Y. KAWAGUCHI, S.NAKANO：Freshwater Biol., 46, 303-316 (2001)
Contribution of terrestrial invertebrates to the annual resource budget for salmonids in forest and grassland reaches of a headwater stream」

10) 箕口秀夫、中島卓也、中村彰：平成 15 年度受託研究費(新潟県)成果報告書, 新潟県, 75pp. (2004)
「佐渡島におけるテンの生息に関する研究」

Ⅱ－４　トキと共存可能な地域社会モデルの研究

新潟大学　佐渡自然共生科学センター
　里山領域　　　豊田　光世

＜研究協力者＞
金沢大学　地域政策研究センター
　　　　　　　　菊地　直樹

平成28～30年度累計予算額：4,095千円
（うち平成28年度：1,560千円、平成29年度：1,300千円、平成30年度：1,235千円）

［要旨］
トキの野生復帰事業は、人びとの生業や暮らしの場である里の環境で展開している取り組みであり、地域住民らの関心や協力意識が事業の持続的な発展において不可欠である。本サブテーマでは、生息数を拡大しているトキとの共存をめぐって、地域社会にどのようなインタレスト（関心懸念）が生じているかを非構造化インタビュー調査およびアンケート調査を通して明らかにし、参加意欲や協力意識の低下を引き起こす可能性を抽出した。放鳥前と比べて、インタレストと課題は多彩化および具体化しており、複数の課題が連関している状況も確認された。また、発生している課題の中には、人びとの協力意識に負のインパクトをもたらすものがあることも明らかとなった。これまでトキとの共存をめぐる課題は、行政機関や研究者が構造的方略を模索し、解決を目指すことが多かったが、地域の多様な立場の人びとが得ている課題意識や気づきを共有し、課題解決に生かすしくみをつくることによってこそ、地域内のアクターによる協力や主体的関与が形成されていくことを論じた。調査結果の考察をもとに、トキと共存可能な地域社会のモデルとして、「動機醸成型インクルーシブ探究モデル」を提示した。

［キーワード］
環境共生社会、インタレスト分析、環境保全農業、アクター醸成、協力行動

１．はじめに

トキは「里の鳥」と呼ばれ、水田を主な採餌場所とし、人の生業や暮らしの場と重なる領域に生息する。このことは、放鳥後、生息数が増加するにつれ、徐々に明らかとなった。トキのエサ場、ねぐら、営巣地は、放鳥前に想定していた野生復帰のコアゾーン（小佐渡東部鳥獣保護区）よりもはるかに広い範囲に広がり、現在は、島内各地でトキが飛ぶ姿を見ることができるようになった。

では、生息域が拡大するトキとの共存をめぐって、地域の人びとはどのようなインタレスト（関心懸念）を抱いているだろうか。トキはかつて「害鳥」と呼ばれていたという。放鳥前の2007年には、トキによる水稲の苗踏み被害に対する懸念だけでなく、労力がかかる環境保全型農業の普及についての不安も、農業者の間で語られていた。コアゾーンの外では、トキの野生復帰事業への地域の関心は高くなく、生物多様性の保全といった環境理念も十分に地域に浸透していない状況であった[1)]。

しかしながら、2008年9月25日のトキの第一次試験放鳥後、トキへの関心は、徐々に変化していったと言われている。例えば、本田が実施したトキの野生復帰事業に関するアンケート調査によると、放鳥前の2008年、放鳥直後の2009年、さらには2014年の回答を比べてみ

ると、野生復帰事業について「大いに賛成」と答えた人の割合は2014年が最も高く、逆に野生復帰について「心配する」と答えた人の割合は、8割から5割に減少したという[2)]。放鳥後、トキを間近で見られるようになったことが、地域住民の事業に対する評価にプラスのインパクトを与えていると示唆される。ただし、本田は課題も指摘している。同じアンケートのなかで、トキの野生復帰が成功するために何かするという意思を示した人の割合が2014年で減少していた。また、住民の関心はトキの保護そのものよりも、トキとの共生がもたらす利益（経済効果など）に向きつつあるという。

トキの生息数が急速に増加するなか、人とトキの関係はより一層密接になり始めた。上述した点のほか、トキとの共存をめぐって地域社会ではどのような課題が生じているだろうか。人びとの地域住民の関心や協力意識の低下を招くような課題が生じているのであれば、事業の推進において大きな支障となる。トキが生息しやすい環境が維持されるか否かは、人びとのアクションに大きく左右される。アクションは、個人の価値観や考え方、さらには他者の評価、社会の状況、しくみ、制度などの社会的要因からも影響を受ける。トキの野生復帰事業に取り組んできた佐渡市では、人口減少や高齢化など、社会構造の変化によって生じているマンパワーの減少が深刻な状況にあり、今後人びとの環境への働きかけに大きな影響を及ぼすことが懸念されている。人的資源が減少しているからこそ、人びとの関心や協力意識が高まり、トキと共存する地域の形成に主体的・積極的に関わることが求められている。

２．研究開発目的

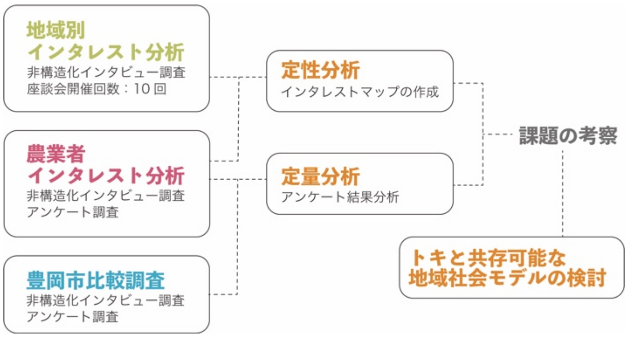
本サブテーマの目的は、トキとの共存をめぐって地域社会で生じている、あるいは今後生じる可能性のある課題を明らかにし、課題に対応するためのアプローチを提示することである。野生復帰事業が順調に進むためには、地域の人びとの関心や協力意識を高めていくことが極めて重要である。事業推進の過程で生じる課題は、新たな挑戦として人びとの意欲を引き出すこともあれば、逆に関心や協力意識の低下を招く場合もある。後者のような課題をリスクとして認識し、整理し、対応策を考えていくことが、トキの野生復帰事業のマネジメントにおいて不可欠である。

そこで、本サブテーマでは、トキとの共存をめぐって人びとが抱いている多彩なインタレストを①非構造化インタビュー調査、ならびに②アンケート調査を通して明らかにし、トキの野生復帰事業をめぐる課題（潜在的リスクを含む）を分析することを目的とした。②は、特に重要なステークホルダーとされている農業者（平成30年度「朱鷺と暮らす郷づくり認証制度」参加農家）を対象に実施した。定性的調査と定量的調査を組み合わせることで、地域住民のインタレストを細かに把握しつつ、可視化されていない傾向を導き出すことを目指した。

収集したインタレストや課題について、コウノトリ野生復帰事業に取り組む兵庫県豊岡市で実施した同様の調査、ならびにサブテーマ１およびサブテーマ３の結果も踏まえ、考察した。今後取り組むべき課題の整理を行い、特にアクター育成や意思決定プロセスという観点に着目し、トキと共存可能な地域社会の実現に向けて必要となるしくみを提示することを目指した。

３．研究開発方法

本サブテーマでは、以下の３項目について調査を進め、考察と提案の検討を行なった（図(4)-1）。



図(4)-1 研究の方法

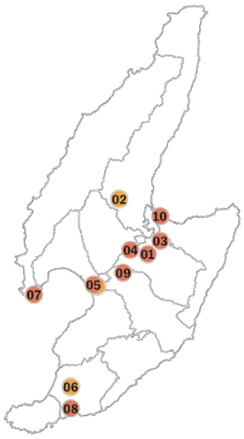
（１）地域のインタレスト分析

「トキとの共生を考える談義」と称した座談会形式の意見交換の場を計 10 回開き、地域のインタレストを収集した。談義では、野生下のトキについての情報提供を行った後、トキとの共生を通して感じていること、認識している課題などを、参加者に自由に話してもらった。個人インタビューではなく、座談会形式とした理由は、対話を通してさまざまな声を引き出しながら、異なる視点からのインタレストを整理するためである。他者の考えを聞くことで、記憶が呼び覚まされ、多彩な語りが展開する。

談義の開催地は、サブテーマ１からの情報提供をもとに、トキが頻繁に飛来している地域（高頻度飛来地）とその周辺域（中間）から 10 箇所選定した（図(4)-2, 表(4)-1）。参加者の招集は、開催チラシを作成し、集落内の回覧板や区長からの声がけを通して行った。談義には、述べ 137 名が参加した。

回	地域	開催日	参加者	主催者側	エリア区分
1	新穂正明寺	28.8.5	7	7	高頻度
2	上横山	28.8.10	14	7	中間
3	新穂潟上	28.11.25	16	8	高頻度
4	新穂瓜生屋	28.12.7	14	8	高頻度
5	真野	29.2.8	9	8	高頻度・中間
6	羽茂上山田	29.2.10	21	7	中間
7	二見	30.2.3	13	6	高頻度
8	羽茂	30.2.19	6	5	高頻度
9	畑野三宮	30.3.24	24	5	高頻度
10	原黒	30.6.23	13	5	高頻度

表(4)-1　座談会開催地とエリア区分



図(4)-2 座談会開催地マップ

談義の内容は、IC レコーダーで録音し、テキスト化した。MaxQDA を用いてテキストデータをコーディングした後、多彩なインタレストをマップとして可視化し、課題の分析を行った。

（２）農業者のインタレスト分析

トキとの共存において特に重要なステークホルダーである農業者のインタレストについては、非構造化インタビューと合わせて、アンケート調査を実施し、定性的および定量的に分析した。対象者は、佐渡市がトキとの共存を目的に進めてきた重要農業政策である「朱鷺と暮らす郷づくり認証制度」に参加している農家（平成 30 年度）とした。

①非構造化インタビュー調査

朱鷺と暮らす郷づくり推進協議会が主催した「平成28年度第2回朱鷺と暮らす郷づくり推進フォーラム」で行われたグループディスカッションを通して、農業者のインタレストを収集した。録音した音声データをテキスト化し、発言のなかから課題を整理した。収集したインタレストは、以下のアンケートの設計にも生かした。

実施日：2017年3月5日

場所：畑野農村環境改善センター

参加人数：75名

②アンケート調査

平成30年度朱鷺と暮らす郷づくり認証制度に参加している農家に対し質問用紙を郵送し、回答を依頼した。野生復帰事業に協力してきた農業者が、現在どのような関心と課題意識をもつかを調査した。

調査実施時期：平成30年3月ー4月

アンケート対象者：419名（うち法人25名）

アンケート回答者：301名（うち法人18名）

（３）豊岡市の状況調査

佐渡市のトキの野生復帰事業は、生息環境の類似性や放鳥実施時期の近さなどから、豊岡市のコウノトリの野生復帰事業と比較されることが多い。これまでの比較研究では、どちらの事業においても対象生物を地域活性化のための地域資源化として捉え始める傾向があることや[3)]、協働ガナバンスという観点においては豊岡市が効果的な成果を生み出したこと[4)]などが指摘されている。コウノトリの野生復帰事業に取り組む豊岡市の現況を明らかにし、トキの野生復帰事業の状況と比較するため、インタビュー調査、およびアンケート調査を以下の通り実施した。

①非構造化インタビュー調査

行政関係者および農業者に対してインタビューを実施し、コウノトリの野生復帰事業をめぐる状況を調査した。

インタビュー：平成29年3月15日、平成30年12月12日

対象者：個人農家１名、行政関係者２名、農業法人２名、コウノトリの郷公園関係者２名

②アンケート調査

JAたじま平成30年度コウノトリ育むお米生産部会のメンバーに対し、質問用紙を郵送し、回答を依頼した。佐渡市の認証米の事例と比較するために、共通の質問項目を設けたほか、コウノトリ育むお米の要件に合わせた項目も設定した。

調査実施時期：平成30年 3月ー4月

アンケート対象者：237名

アンケート回答者：109名

４．結果及び考察

本サブテーマの調査結果を、非構造化インタビュー調査とアンケート調査の結果に分けて、以下に示す。これらの調査結果をもとに、課題の特性について考察を行い、トキと共存可能な地域社会モデルを示す。

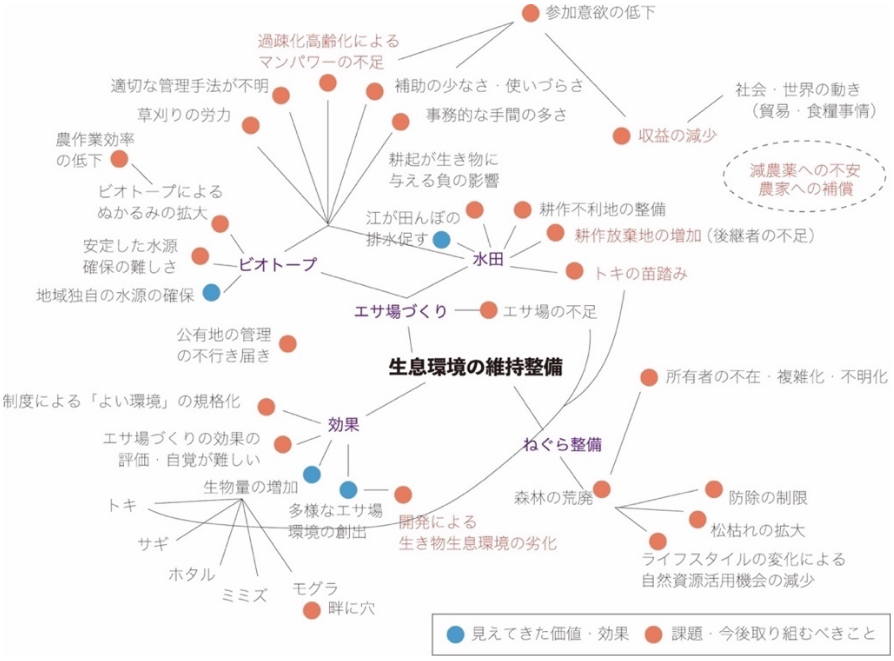
（１）非構造化インタビュー調査による地域のインタレスト分析

座談会で語られた地域の人びとのインタレストを、環境省の「トキ野生復帰ロードマップ」が掲げる「生息環境の維持整備」「普及啓発」「地域づくり」という３つの取り組み項目に沿って整理した。各座談会で話題に上がった項目を表(4)-2 に示す。各項目について「プラス」と「課題」に分類しているが、前者は地域に与えたポジティブな効果に関する発言、後者は地域で発生している問題、および今後取り組むべきことに関する発言を指す。表中の「放鳥前」は、2007 年ー2008 年に実施した「佐渡めぐりトキを語る移動談義所（全 43 回）」の中から、トキの野生復帰をテーマに実施した計６回の座談会において、どのようなインタレストが表明されたかを整理したものである。

表(4)-2：各回で共有された項

	放鳥前	新穂 正明寺	上横山	新穂 潟上	新穂 瓜生屋	真野	羽茂 上山田	二見	羽茂	畑野 三宮	原黒
生息環境 プラス		●	●	●	●	●					●
生息環境 課題	●	●	●	●	●	●	●		●	●	●
普及啓発 プラス		●	●		●	●	●	●		●	●
普及啓発 課題	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
地域づくり プラス	●	●		●							●
地域づくり 課題	●	●					●	●	●		●

全ての回で話題に上がったのは、普及啓発をめぐる課題であった。また生息環境の課題についての発言も、二見を除く全ての回で見られた。二見は農地が離れたところにある海沿いの集落であり、参加者に農家が含まれていなかったことが理由だと考えられる。この表から見えてくる傾向は、「地域づくり」に関する発言（破線枠内）が少ないことである。



図(4)-3：生息環境の維持整備にかかわるインタレスト

座談会で共有されたインタレストとその連関を、項目別に図(4)-3、5、6で示す。野生復帰事業を通して見えてきた価値や効果など、ポジティブなインタレストを青い丸で、課題や今後取り組むべきことなどを赤い丸で示している。どの項目においても赤い丸の方が多いが、座談会で課題を中心に聞き取りを行っているため、単純に量的な比較はできない。図中の赤字は、放鳥前の座談会でも共有されたインタレストを示す。また、破線の円内は、放鳥前の座談会でのみ共有され、本研究で実施した座談会においては顕在化しなかったインタレストである。放鳥前と比べて、インタレストが多様化・具体化していることが分かる。具体化というのは、未知なる不安から生じるインタレストではなく、経験に基づいたインタレストへと転換していることを指す。

①生息環境の維持整備

A) ビオトープづくりや環境保全農業などの取り組みを通して、生物の数が増えていることを実感しているという声が複数の座談会で聞かれた。効果はある程度認識されており、その結果、モグラによる畔の破壊やトキ・サギによる苗踏みなど、懸念も生じている。

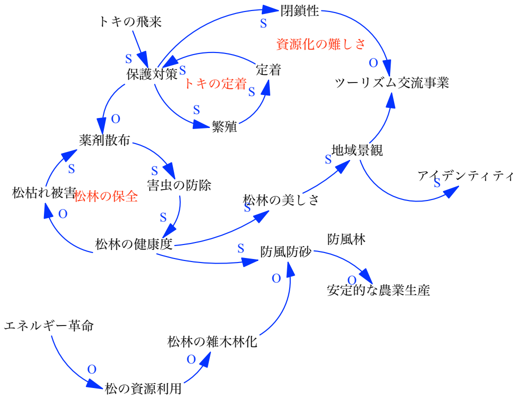
B) 放鳥前は、環境保全農業が推奨されていくことへの不安を述べる人もいたが、実際に減農薬・減化学肥料が普及する中でそうした指摘は聞かれなくなった。ただし、環境保全農業を継続するにあたっては、C)に示す通りさまざまな課題が指摘された。

C) エサ場づくりは、ビオトープ整備と水稲栽培の２つのアプローチで進められている。両方に共通した課題として、「適切な管理手法が不明」「マンパワーの不足」「草刈り労力」など実践に関わることのほか、「補助の少なさ・使いづらさ」「事務的な手間の多さ」など制度設計に関わることがある。どちらも参加者の意欲の低下につながることが指摘された。

D) ビオトープの維持管理については、安定した水源の確保が鍵となるという。独自の水源が確保できた地域では、ビオトープの面積を拡大することができているが、同時に、ビオトープによる田んぼのぬかるみ増大が発生しており、農作業効率の低下が指摘された。課題は連関しており、エサ場不足に対応することが別の問題を引き起こすという構造になっている。

E) トキの苗踏みについては、放鳥前は「トキは害鳥である」というイメージや言い伝えに起因する不安があったが、生息数の増加に伴い、実際の水田で生じている影響が語られ始めた。巣の近くの田んぼに繰り返し降りるため、深刻な影響が生じているという指摘と、畔の近くにしか入らないので大きな影響はないという指摘の両方があった。

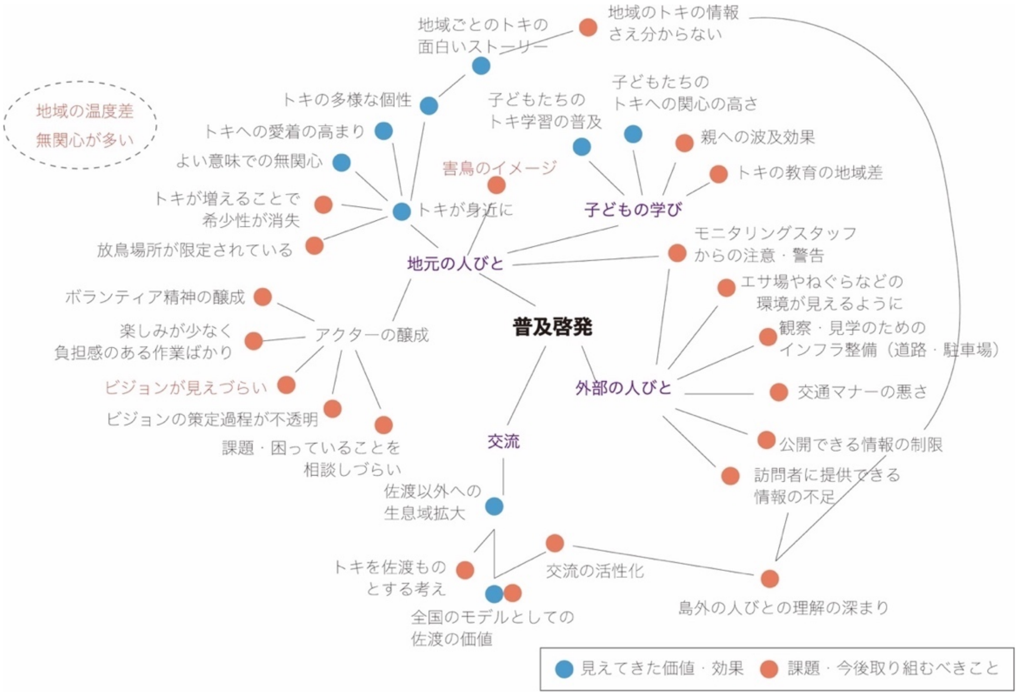
F) ねぐら・営巣地の整備に関する問題は、放鳥前には言及されていなかったが、今回の調査では指摘された。トキの営巣木としてマツが重要であることが放鳥前から言われていたが、実際にトキが活用するようになった松林では、マツ枯れ対策の薬剤散布に制限が発生し、トキの保護か松林の保護かというコンクリクトが生じつつある。一方で、ライフスタイルの変革により、松林の景観維持につながっていた生活行為（燃料として松葉を回収すること）が無くなり、土壌が肥沃化し、マツ以外の植生の定着による雑木林化が見られる。松林の景観は地域のアイデンティティにもつながっており、またマツが有する防風林としての機能を維持することが地域にとって重要であるため、マツの保全とともに雑木のコントロールが地域の課題となっている。人手が減少するなか、手間のかかる整備活動には限界があるが、取り組みを地域外に発信し、人と資金の外的支援を獲得する際には、保護鳥であるトキならではの「情報公開の制約」という課題がある（図(4)-4）。



図(4)-4 営巣林保全をめぐる課題の連関

G) 耕作放棄地や荒廃した森林の整備では、所有者とのコンタクトにハードルがあることが語られた。保全したいという意欲をもつ人がいても、所有者が不在の場合は整備が進まず、また総有という所有形態となっている場合はさらに難しく、整備への意欲があっても、手続きに時間と労力を要する。

②普及啓発



図(4)-5：普及啓発にかかわるインタレスト

H) 放鳥前は、トキの野生復帰事業の中心地である旧新穂村地域とそれ以外の地域では、事業に対する意識の差が顕著に見られ、地域差を解消することの重要性が指摘されていた。ただし、放鳥後、野生個体が広く分散したためか、意識の地域差が指摘されることはなかった。

I) 特徴的なトキ学習を実施している学校がある地域の住民からは、これまでのトキ学習の展開を評価する声があった。ただし、実施状況に地域差があること、保護者への波及効果が少ないなどの課題も指摘された。

J) 放鳥前はトキに対する無関心が課題として上がっていたが、放鳥後は、トキと人の自然なかかわりとして「無関心」を捉え、むしろ望ましい状況とする声もあった。

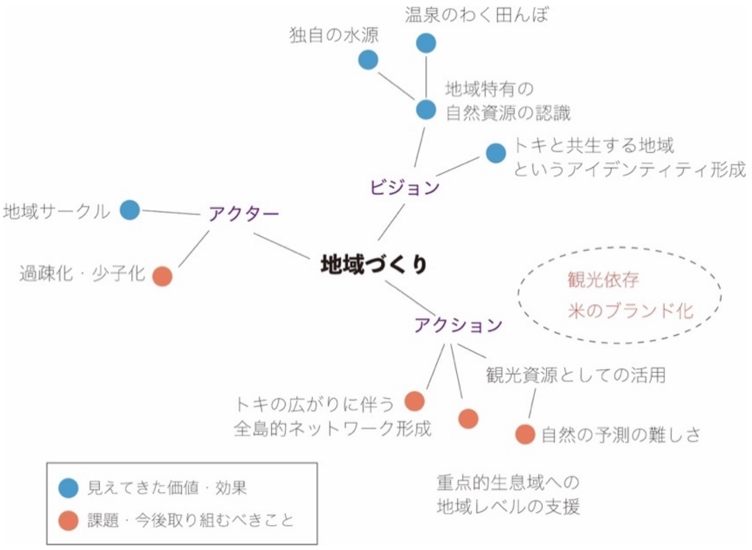
K) トキについての情報共有の難しさに関する意見があがった。トキの生息数は急速に増加しているものの、保護鳥であることに変わりないため、生息域に関する情報の公開には制限がある。トキには個性があり、地域ごとの面白いトキの話があるものの、島外からの訪問者に十分情報発信されていないだけでなく、トキが頻繁に飛来している地域の住民にさえも伝わっていないという課題が指摘された。

L) 地域外の人びとへの普及啓発については、近くで見たいという欲求から「トキのみかた」のルールが守られないという問題とともに、トキが頻繁に飛来している地域において観察見学のためのインフラが十分ではないこと、提供できる情報が限られていること（D参照）、モニタリングをしている人からの注意や警告がマイナスのイメージにつながることなどの課題も指摘された。

M) 地域のアクターの醸成という観点からは、ボランティア精神を高めることや、負担感のある作業に楽しめる側面を組み込むことの必要性が指摘された。また、トキの野生復帰事業が最終的に目指していること、将来のビジョンが見えづらいという指摘があった。ビジョンの策定過程が不透明で地域に共有されていないことが原因の一つとして語られた。

N) トキが増えることで希少性の価値が低下してきたことが指摘された。また、佐渡以外に生息域が拡大することを評価する声とともに、トキを佐渡のものとする考えを変えていかなければならないのという声もあがった。交流の活性化は今後の課題であり、全国のモデルとして佐渡の価値を発信していく必要性が指摘された。

③地域づくり



図(4)-6 地域づくりにかかわるインタレスト

O) 地域づくりに関する発言の数は、他の項目と比べて少ない。このことから、トキを地域づくりにつなげていくという観点からの取り組みが発展途上であることが示唆された。

P) いくつかの地域では、トキとの共存が地域特有の自然資源の価値を再認識する機会となっていた。

Q) トキを観光資源として活用することは、放鳥前からも関心として挙がっていたが、自然は予測が難しく、トキが見られるかどうかは保証できないため、観光資源としてトキを活用することが難しいという指摘があった。

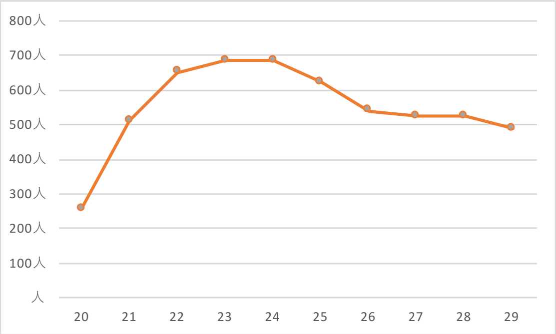
R) トキではなく人間の方が絶滅の危機に瀕しているという発言もあり、過疎化・少子化によるアクターの減少が懸念されていた。

インタレストを整理した結果見えてきたトキとの共存をめぐる課題の特徴を以下にまとめる。

- 放鳥前と比べ、インタレストが多彩化・具体化している。
- 複数のインタレストが連関しており、対立構造を含むケースもある。
- 人びとの協力意識の低下につながる状況も生じている。
- トキは地域の環境に広がりつつあるが、保護鳥であることから扱いの難しさが生じている。

（２）アンケート調査によるインタレスト分析

佐渡市はトキの野生復帰事業に向けた環境整備を支える要の施策として、平成20年より「朱鷺と暮らす郷づくり認証制度」を進めてきた。参加農家数は、２年目に倍増し、以降平成23年までは徐々に増加傾向にあった。しかしながら、その後は参加農家数が減少傾向にある（図(4)-7）。



図(4)-7：認証制度年度別参加農家数

座談会のなかでも生息環境の整備に関して、エサ場としての水田を維持していくうえで、多様な課題が語られた。トキとの共存において、環境保全農業の推進は根幹的な課題であることから、認証制度参加農家に対するアンケート調査を実施し、定量調査を通してインタレストを分析した。

アンケートでは、以下の内容に関して、計20の質問項目を設定した。

- 認証米制度に参加したきっかけ、やりがい、効果の実感
- 制度参加で生じた変化（農作業量・プラスの変化・戸惑い）
- 認証米栽培への参加継続意思と必要な支援
- トキによる苗踏みの影響
- 耕作継続可能性（余力・後継者の有無）

対象者には、個人と法人があり、異なる項目の設定も必要であったため、個人向けと法人向けの２種類の質問用紙を用意した。質問用紙は平成30年3月15日に発送し、4月10日までの返送を依頼した。

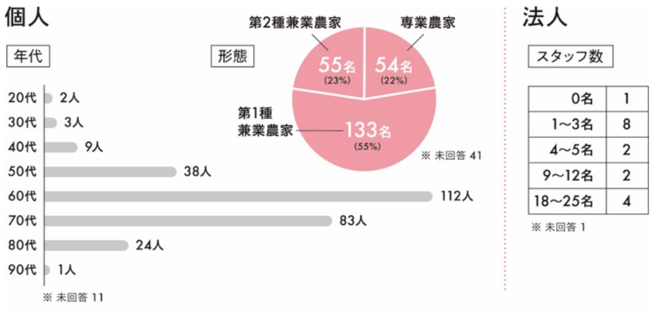
アンケートの実施要領

対象：平成30年度朱鷺と暮らす里づくり認証制度参加農家（平成30年3月15日までに申請した方）

対象者数：個人394名・法人25名　回答者数：個人283名・法人18名　回収率：71.9%

回答者の平均年齢　66歳

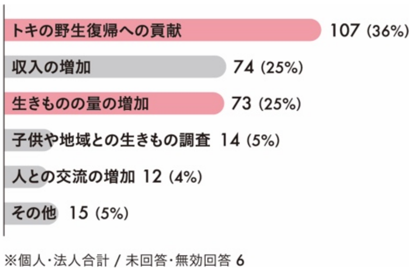
その他、回答者の基本情報は図(4)-8の通りである。

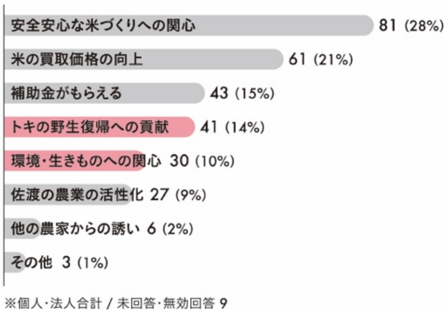


図(4)-8 アンケート回答者の基本情報

集計結果

① 認証米制度に参加したきっかけとやりがい





図(4)-9 認証米制度に参加したきっかけ　図(4)-10 認証米づくりで感じるやりがい

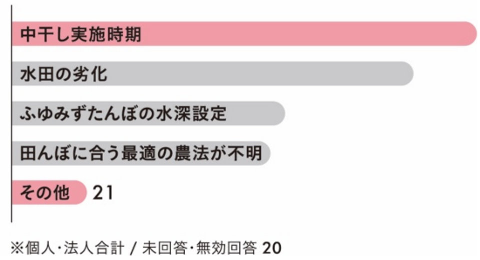
「トキの野生復帰への貢献」を認証米制度に参加したきっかけとして選んだ人は、個人で14%、法人で18%に留まるものの、やりがいとして「トキの野生復帰への貢献」を選んだ人は、36%にのぼる。生きものの保全に関わる項目（図中赤色）を選んだ人は、きっかけでは24%であったのに対し、やりがいでは61%に及んだ。経済的なインセンティブ（米の買取価格の向上・補助金がもらえる）が制度参加のきっかけと答えた97名の個人の回答者のうち、38名（39%）が、やりがいとして環境保全への貢献（トキの野生復帰への貢献・生きものの量の増加）を選択していることからも、認証米栽培を通してエコロジカルな関心が広がっていると推測できるが、経済的なインセンティブを感じづらいという可能性もある。

②取り組みを通して感じる効果と戸惑い

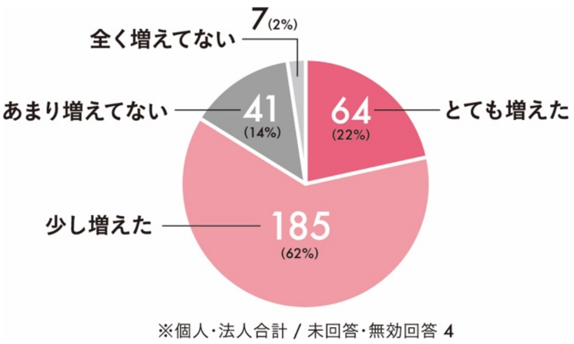
認証制度の重要な成果の一つは、8割以上の耕作者が水田で生きものが増えているという実感を得ていることである（図(4)-11）。一方で、取り組みが効果的に生かされていないのではないかという戸惑いも農業者は感じている（図(4)-12）。農業者を対象とした非構造化インタビュー調査では、以下のような指摘があった。

- 中干しを6月10日くらいにはやりなさいと農協から指導があって、2ー3日後には水を落とすようにしていますが、そこにはサドガエルのほかヤマアカガエルもいて、まだ足が十分に出ていない。どうしようかと悩みます。品質との両立をいかに図るかで苦しんでいます。
- 中干しすれば、ヤゴは干からびちゃう。ホタルも6月半ばくらいまで水が無いと羽化できない。

農業者は日々の耕作を通して、生きものへの気づきを得ている。その気づきが農法の改善に生かされるしくみが整っていない可能性がある。一方で、豊岡市のコウノトリ育むお米の場合は、「オタアマジャクシに足が生えてきたら中干しを始める」というように、生き物の成長を観察しながら耕作する工夫が組み込まれている。



図(4)-11 ほ場で生きものが増えた実感

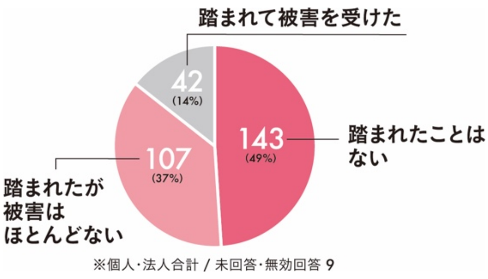


図(4)-12 認証米栽培に取り組むうえで感じる戸惑い

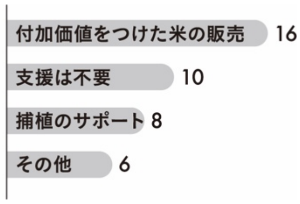
③トキの苗踏みの影響と認証米栽培継続の意思

トキとの共存において放鳥前から最も懸念されてきたことは、採餌中の苗踏みの影響である。生息数が増えるなか、影響が発生し始めていることは、非構造化インタビュー調査のなかでも指摘されていた。アンケート調査では、半数が苗踏みを経験していると回答しており、14%は被害を受けたと回答している（図(4)-13）。被害を受けたと回答した人には、必要と思われる対応策を聞いた（図(4)-14）。人によって求める策は異なり、支援は不要だとする人も 10 名いる。

トキの苗踏みの経験は、認証米の栽培継続の意思に影響を及ぼす可能性がある（表(4)-3）。これからも認証米栽培を続けていくつもりですかという問いに対して、「いいえ」と回答した人はいなかったが、苗踏みによる被害を受けたと回答した人の 46%が継続するかわからないと答えていた。「踏まれたことはない」、「踏まれたが被害はない」と回答した人のうち「わからない」と回答した人が 16-17%であることを踏まえると、割合が高いことがわかる。苗踏みの実態把握については、まだ十分な調査がなされていない。



図(4)-13 トキの苗踏みの経験の有無



図(4)-14 必要と思われる支援策

表(4)-3 苗踏みの経験と認証米耕作継続意思の関係

	継続の意思	はい	いいえ	わからない	わからないの割合
苗踏み	踏まれたことはない	118	0	19	16%
	踏まれたが被害はない	87	0	15	17%
	踏まれて被害をうけた	26	0	12	46%

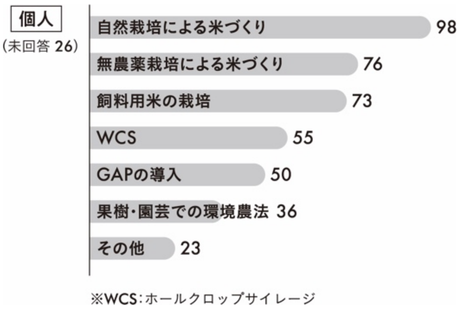
サブテーマ 1 が実施したトキの足型を使った収量影響調査では、欠株のまわりの株の生育が促され、収量に大きな変化がないことが報告されている。兵庫県豊岡市では、ほ場での調査を通して、コウノトリによる苗踏み被害は軽微であるという結論に至っている[5)]。ただし、今回実施した豊岡市の農業者へのインタビュー調査では、調査実施時に水田に入っていたコ

ウノトリは一羽であり、一枚の水田で何羽も見られた過去の状況とは異なるということであった。トキはコウノトリと比べて、群れを形成する傾向が強く、豊岡市の状況とは単純に比較できない。トキがどの程度苗を踏んでいるのか、踏みつけの度合いによって収量がどの程度変化するのかなど、実際のほ場における状況調査が急務である。

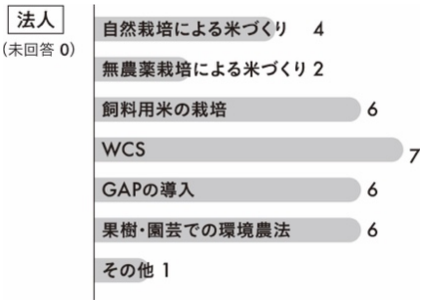
④農地の活用方法や新たな農業の取り組みへの関心

生産調整の政策の廃止や TPP への参加などの大きな農業政策の流れに応じて、水稲農業の従事者は新たな展開を模索していくことが求められている。そこで、農地の活用方法や新たな農業への取り組みとして、どのような関心をもっているか、選択肢から選んでもらった（2つまで選択可）。個人と法人を分けて集計をすると、違いが顕在化した。個人では、自然栽培や無農薬栽培による米づくりなど、さらに環境保全農業を追求することへの関心が高い（図(4)-15）。無農薬栽培が平成 30 年度より認証米基準に組み込まれたほか、JA 佐渡が自然栽培米研究会を設立するなど、個人の関心と呼応するような動きが生じつつある。

一方で、法人ではホールクロップサイレージ（WCS）の栽培への関心が最も高く、飼料用米の栽培、GAP の導入、果樹・園芸での環境農法がそれに次ぐ結果となった（図(4)-16）。WCS や飼料用米の栽培のための環境農法を開発することができれば、トキとの共存に向けた環境保全農業の深化の機会ともなりうる。



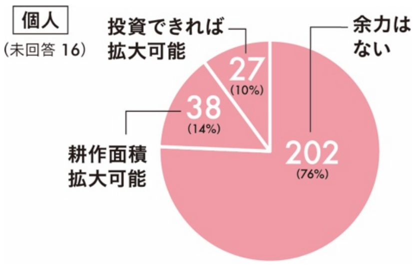
図(4)-15 新たな取り組みへの関心（個人



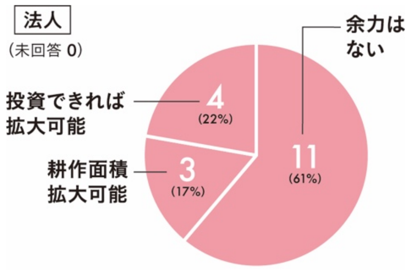
図(4)-16 新たな取り組みへの関心（法人）

⑤耕作余力と後継・委託の状況

高齢化や少子化は、非構造化インタビュー調査において繰り返し指摘されていた課題であり、特に農地の保全においては極めて重要な観点である。そこで、現在の耕作者の余力、リタイア後の後継や委託の目処について質問した。耕作余力については、個人では 76%、法人では 61%が「余力はない」と回答している（図(4)-17,18）。拡大可能と回答した人は、個人では 24%、法人では 39%であり、少ないながらも存在する。ただし、マッチングの機会がなければ、そうした人材が生かされない可能性がある。



図(4)-17 耕作余力の状況（個人）



図(4)-18 耕作余力の状況（法人）

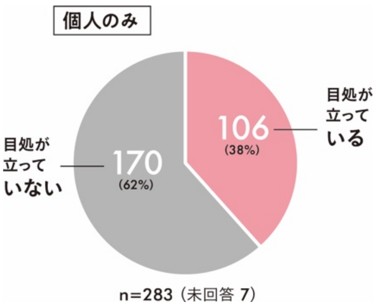
また、個人を対象に、現在耕作中の水田について、リタイア後の後継や委託の目処を聞いた。62%の回答者が「目処が立っていない」と答えている（図(4)-19）。目処なしと回答した

人の割合は、耕作地の種類によって異なる。所有している農地の種類が明確に区分可能な回答者 202 名について、後継者の目処を分析したところ、農地の傾斜が急になるほど後継者の目処がないと答えた人の割合が高くなる（表(4)-4）。サブテーマ３の調査では、ドジョウの生息・成長において谷津地形の水田の重要性が指摘されており、緩傾斜・急傾斜の水稲栽培の継続は、トキのエサ場の維持という観点からも重要な課題である。ただし、平場の農地を所有している人でも、54%が後継の目処がないと答えていることにも着目したい。今後、法人への委託の要望が増えることが推察されるが、余力はないと答えた法人が 61%であり、耕作を継続するうえで課題に感じていることはなんですかという問いに対して、半数の法人が「高齢化」と「後継者不足」と答えている（図(4)-20）。法人への農地集約は今後一層進むことが見込まれるため、体制強化が課題である。

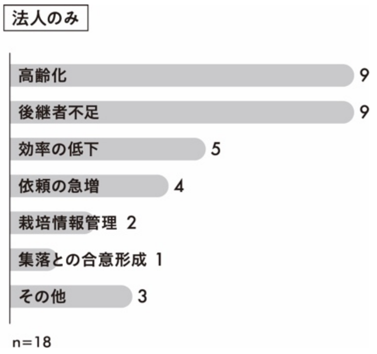
表(4)-4 耕作地種類と後継者

n=202

耕作地の種類	後継者の目処			目処なしの割合
	あり	なし	未回答	
平場	61	73	1	54%
緩傾斜	13	31	2	67%
急傾斜	3	18	ー	86%



図(4)-19 後継・委託の目処（個人）



図(4)-20 耕作継続の課題

（３）考察

（１）と（２）では、非構造化インタビュー調査、およびアンケート調査にもとづいて、トキとの共存をめぐって生じている課題を整理した。最後に、整理された課題をもとに、その課題がもつ性質について考察し、トキと共存可能な地域社会のモデルを検討する。

インタレストマップで示された通り、課題は多岐にわたる。課題には、技術的な解決策（構造的方略：例えば農法の確立や制度の設計など）を要するものと、人びとの協力意識に関わるもの（心理的方略）がある。前者には、「適切な管理手法が不明」「松枯れ防除の新たな方策が必要」「補助が少ない・使いづらい」「観察・見学のためのインフラ整備」などの課題が含まれる。一方後者には、「楽しみが少なく負担感がある作業ばかり」「ビジョンが見えづらい」「エサ場づくりの効果の自覚が難しい」などが含まれる。前者と後者は、全く性質の異なる課題のように見えるかもしれないが、前者には後者の要素も含まれていることに注意したい。例えば、適切な管理手法が不明なことで、効果の実感を感じることができず、環境整備の取り組みに対する意欲がなくなったり、補助の使いづらさが原因で環境活動へのやる気を消失したりする。また、どのようなプロセスを経て技術的解決策を生み出していくかということも、人びとの心理に大きく影響する。例えば、環境保全の取り組みは自然界のさまざまな要因に影響を受けるため、順応的に技術を検討しなければならないことが多いが、

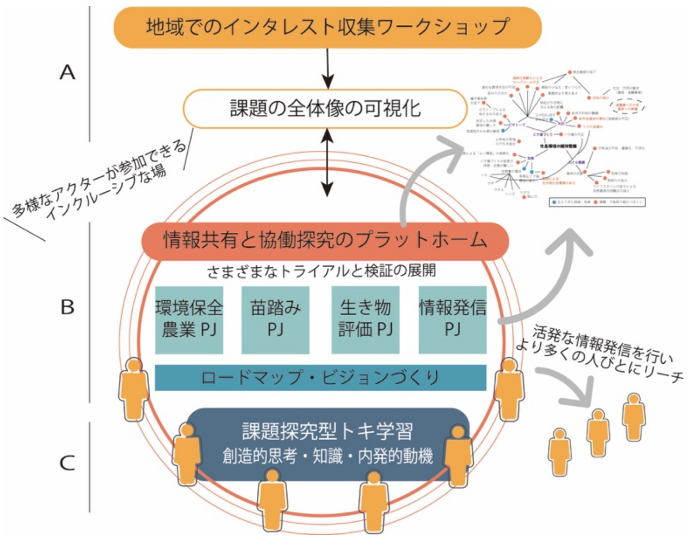
解決策が外部（行政機関や研究者など）から与えられた場合、それがうまくいかないと、不満や批判の噴出につながる可能性がある。

課題の技術的解決策と人びとの意識とのかかわりを踏まえると、多彩な課題の解決に向けたプロセスやしくみを設計するうえで、考慮すべき３つのポイントがある。第一に、課題を解決するアクターは誰であるべきかを限定的に考えないということである。課題の構造的方略を検討するうえで関係行政機関や専門家が大きな役割を果たすことは間違いない。ただし、トキは人びとの生活空間に生息する「里の鳥」であり、地域参加型で保全をしてきた鳥だということが、課題解決のアクターを考えていくうえで重要なポイントである。アクターが主体的に事業にかかわることが、すなわち協力行動が高まるということであり、そのためには、いろいろな立場の人の参加を促す「インクルーシブ」な課題探究・解決プロセスが求められる。

第二に、課題解決は人の行為であり、人の行為を大きく左右するのは「動機」だということである。解決したいという思いがなければ、解決策を生み出していくことはできないし、いくら解決策が見出されたとしても、実行しようと思わないかもしれない。動機をいかに醸成するかということが課題解決を実現していくうえで重要となる[6)]。

第三に、動機づけには、内発的動機づけと外発的動機づけの２種類がある[7)]。前者は、対象への興味関心から生まれてくる動機にもとづくものであり、活動することそれ自体が目的となるような行為の過程である。後者は、金銭的報酬や罰など外部から与えられるものによって、人の行動を導く動機づけである。人びとの協力的な行動は、外発的動機よりもむしろ内発的動機に強く規定され、協力行動を金銭などの報酬を使って得ようとすると、かえって協力行動が減少する[8)]。そのため、人びとを動機づける手段として報酬を位置づけないことが重要だと考えられている[7)]。協力意識についてこの２種類の区分に沿って考えてみると、外発的動機づけ（例えば金銭的メリット）によって生まれた協力意識は、必ずしも協力行動につながるとは限らないということである。行政的な課題解決は、補助金の支給などの外発的動機づけが中心となっており、内発的動機づけに焦点を当てたものはほとんどない。トキとの共存においても、本田が指摘するように、事業への共感よりも、共存がもたらす利益に意識が集まっている可能性がある[3)]。いかに内発的動機づけを醸成していくかが、今後の大きな課題となる。

これらのポイントを踏まえ、トキと共存可能な地域社会のモデルとして、「動機醸成型インクルーシブ探究モデル」の展開が必要だと考える（図(4)-21）。このモデルは３つのセクションからなる。(A)地域の多様なインタレストを収集・整理するワークショップ、(B)情報共有と協働探究を促進し課題解決の方法を共に探るためのプラットホーム、(C)協働探究に参画する次世代を育成するための課題探究型トキ学習である。(A)でトキとの共存をめぐって生じている多彩なインタレストを収集し、課題の全体像を可視化していく。可視化された課題について、多様なアクターが協働で課題解決の方法を探究するしくみを(B)は表している。課題は多彩であり、すぐに解決策が見えるものではなく、かつ複数の課題が複雑に連関している。そのため、課題の解決には、既存の考え方ややり方を逸脱する創造性やシステム的思考が必要となる。こうした力を醸成していくことが、トキとの共存を長期的に展開していくうえで重要となる。そこで、(C)の課題探究型の環境学習を通して、課題解決に取り組む将来世代を育成していく。課題解決のアイディアの源泉となる創造性は、創造的思考、知識やスキル、内発的動機という３つの要素が重なり合って高まっていくという[6)]。トキについて学ぶだけではなく、創造的思考や内発的動機の醸成に着目した学習の機会の創出が必要である。



図(4)-21 動機醸成型インクルーシブ探究モデル

このモデルでは、課題解決を開かれたインクルーシブな探究のプロセスとしてデザインし、多様な経験と知識を生かし、共同思考を通して解を見出すことを促す。例えば、トキによる苗踏みという課題に取り組む場合、行政担当者と研究者だけではなく、農業者自身が状況調査に参加し、どのような支援策が必要となるかを共に検討する場を設けていく。行政担当者が構造的方略を検討するのでは、人びとがこの課題に主体的に対峙することは難しく、方策に対しても創造的な思考を働かせることはできない。その結果、苗踏みという現象に対してだけではなく、トキの野生復帰事業に対する不満も拡大する可能性がある。同様に、ホールクロップサイレージや飼料用米の環境農法の検討、ビオトープで生きものを育む効果検証なども、多様なアクターの参加のもと探究し、積極的に情報発信をしていくことで、そうした技術を主体的に発展させていくことができるようになるのではないか。

事業の方向性を定めていくロードマップやビジョンの形成も、さまざまなアクターが参加可能なできる限り開かれた場で行われていくことが望ましい。本調査で実施した談義の場でも、「行政は何を目指そうとしているのか分からない。ビジョンが見えない」という声が聞かれた。トキの野生復帰事業が、外部の行政機関が持ち込んだ事業として捉えられていることが示唆される。その場合、事業をめぐって生じるさまざまな課題に対応する責任は、事業を持ち込んだ人にあるという思考に陥ってしまう。インタレストの分析において、地域づくりの項目に関わる言及が極めて少なかったことも、こうした考え方と連関している可能性がある。共にビジョンを描く過程を通して、人びとは事業の意義を再確認し、自分が実現したいことや地域の望ましい将来像を描き、そのためのアクションを模索する機会を得る。

内発的動機は、自律性（自己決定）、有能さ（自らが貢献できる状態にあること）、関係性（支援し支援される信頼関係）によって醸成されると言われている[9]。上述したような課題解決の探究のプロセスは、人びとが主体的に事業にかかわり、他者と共に多彩な経験と知識を生かす場であり、内発的動機を醸成することにもつながっていく。そうした動機が醸成されると、さらなる探究が展開し、課題に対する多彩なアプローチが生まれていく。個々の課題について対処療法的な策を検討するのではなく、アクターの育成という観点から課題解決を捉えることで、多彩な課題に対しトライアルと検証を積み重ねる好循環が生まれる可能性がある。

上述したようなしくみの構築を検討する際、既存のしくみをうまく活用することが重要である。佐渡市には、トキとの共存を検討する場として、「人・トキ共生の島づくり協議会」という組織がある。この組織には、農業と観光にかかわる民官学の多様な関係者が参加して

いる。トキとの共存をめぐる課題や取り組みについて情報交換を行い、テーマ別のワーキンググループ（例えば「ビオトープ・水田づくり」や「観光・普及啓発」など）で具体的な課題解決を検討する。このしくみは、あくまでも「協議会」であり、メンバーのみが参加可能であるため、自由な参加が制限されてしまい、インクルーシブという観点から若干課題がある。また、情報発信が十分に行われているとは限らず、メンバー以外の人たちが議論の内容について情報を得ることが難しい。ゆるやかな参加のしくみの導入と情報発信の方法の改善によって、インクルーシブな協働探究を促進する場へと発展させることが可能だと考える。

また、環境農法については、「朱鷺と暮らす郷づくり協議会」があり、年２回農業者を対象としたフォーラムを開催している。フォーラムでは、米の販売、生物多様性の保全、食育などをテーマにした講演が開かれるだけではなく、2016 年と 2017 年には、参加者が気づきや課題認識を共有するグループディスカッションを開催している。グループディスカッションには、50 名以上の農業者が参加しており、多彩な現場の声が共有される。2017 年のフォーラムでは、本研究を通してディスカッションの内容を分析し、参加者に課題分析の結果を伝える機会を作った。ただし、グループディスカッションで収集されるインタレストを、農法やしくみの改善に生かすしくみが構築されていないため、現段階では情報共有の場という位置づけにとどまっている。こうしたコミュニケーションの場に意思決定のしくみを組み込むことで、協働探究型の課題解決を促すプラットホームへと発展させていくことが可能である。

トキの学習については、島内の小中高校に対して実施状況を明らかにするためのアンケート調査を行ったところ（平成 29 年 3 月実施）、トキの生態、保護の歴史、生息環境整備の体験などをテーマに、23 校（67%）の学校が実施していることが明らかとなった。実施校は多いが、知識や技術の学びが中心となっている。ただし、トキに関連した学習で取り組んでみたいことについては、最も多かった回答が「トキを生かした地域づくり（17 校）」であり、こうしたテーマでトキの学習を展開していくことで、創造性を重視した課題解決型の学びを組み込むことが可能ではないかと考える。その場合、モデル校を選定し、学校と共同で創造的トキ学習プログラムを新たに構築していく体制づくりが必要となる。実践事例が蓄積されていけば、佐渡らしい人材育成のモデルの創出につながる。もちろん、こうした人材育成の取り組みが、協働探究の文化の醸成に効果的につながるかは、長期的な視点からの検証が必要である。

上述したように、本サブテーマが提示したトキと共存するための「動機醸成型インクルーシブ探究モデル」の具体化につながる取り組みがすでに存在する。こうした取り組みを発展させていくことで、トキとの共存をめぐって生じている多彩な課題、また今後も生じる可能性のある新たな課題に対して、主体的かつ創造的に取り組んでいく基盤が醸成される。本サブテーマで検討したしくみづくりは、トキとの共存に取り組む佐渡市だけではなく、生物の保全や自然再生など、順応的な対策を要するさまざまな事例に適用可能である。本研究で実施した座談会での意見交換においても、全国のモデルとして佐渡価値を発信していくことへの思いが語られていた。今後、学会だけでなく、市民向けフォーラムなどで積極的な情報発信を行い、本研究で示した成果と提案の共有、具体化の推進と検証に努めたい。

５．本研究により得られた成果

（１）科学的意義

生きものと共存する社会の構築は、環境倫理学的・環境社会学的研究において重要なテーマであり、本研究の成果は、こうした学術分野で議論されている「市民参加の意思決定・事業推進」「順応的ガバナンスの構築」などの論点をめぐる学術的関心に応えるものである。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

人・トキ共生の島づくり協議会では、本研究の成果をもとに、「トキの苗踏み調査プロジェクト」が立ち上がり、農業者と研究者による苗踏みの影響の共同調査がスタートした。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

本研究で示したインタレスト分析の方法や動機醸成型インクルーシブ探究モデルのしくみは、環境省、佐渡市にも共有され、課題解決のしくみづくりの検討において活用されることが見込まれる。

６．国際共同研究等の状況

本研究を進めるうえで、中国林科院森环森保所・全国鸟口环志中心（National Bird Banding Center of China）の刘冬平（Liu Dongping）氏を新潟県佐渡市に招聘し、トキの野生復帰事業をめぐる社会的課題について情報共有および意見交換を行った。

７．研究成果の発表状況

（１）誌上発表

＜論文（査読あり）＞

特に記載すべき事項はない。

＜査読付論文に準ずる成果発表＞

1)　中津弘・豊田光世・永田尚志：野生復帰, 4, 103-110
「トキの野生復帰を地域づくり・環境保全の機会として活用する」

＜その他誌上発表（査読なし）＞

1) 豊田光世：Wild Life Forum　(印刷中)
「トキとの共生をめぐる新たな挑戦ー生きものを育む農業を目指してー」

（２）口頭発表（学会等）

1) 豊田光世：第22回「野生生物と社会」学会大会（2016）
「トキとの共生を通して考える環境ガバナンスの包括性と創造性」

2) 豊田光世：第13回日本感性工学会春季大会（2018）
「トキとの共生をめぐるインタレストの分析と合意形成プロセスの設計に関する考察」

3) M. TOYODA: The 5th Conference of East Asia Research Association for Agricultural Heritage Systems (ERAHS), Wakayama, 2018
"The analysis of local voices on the co-inhabitance with *toki*: emerging challenges after ten-year trial."

4) 豊田光世：第24回「野生生物と社会」学会（2018）
「トキと共生する地域社会の価値構造分析」

（３）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（４）「国民との科学・技術対話」の実施

1) 人・トキ共生の島づくり協議会生息環境部会（2018年9月7日、トキ交流会館）にてトキの苗踏みに関する調査について報告
2) 東京女子大学現代教養学部国際社会学会コミュニティ専攻主催「クワコ塾第２回研究会・シンポジウムー風景と人間」（2018年10月27日、東京女子大学）にて「トキと佐渡地域社会」という題目で講演
3) 「トキとの共生を考える談義2016レポート」の作成（1000部）と一般配布
4) 「朱鷺と暮らす郷づくり認証制度の評価レポート」の作成（1000部）と一般配布・Facebook上での情報発信
5) 「コウノトリ育むお米農法の評価レポート」の作成（1000部）と一般配布・Facebook上での情報発信

（５）マスコミ等への公表・報道等

1) 読売新聞（2016年8月28日，地域版，29ページ）「トキとの共生住民と対話〜研究者ら島内回り「談義」」
2) 読売新聞（2016年12月17日，地域版，28ページ）「「田から温泉」トキ餌場に一住民証言新大に提案」

（６）その他

特に記載すべき事項はない。

８．引用文献

1) 豊田光世，山田潤史，桑子敏雄，島谷幸宏：自然環境復元研究，第４巻，51-60 (2008)
「佐渡めぐり移動談義所」によるトキとの共生に向けた社会環境整備の推進に関する研究
2) 本田裕子：農村計画学会誌，34巻，197-302 (2015)
トキの野生復帰事業の展開に伴う住民意識の変容
3) 本田裕子：環境情報科学学術研究論文集29，225-228 (2015)
野生復帰事業における住民意識の比較を通じたコウノトリやトキの地域資源化について
4) 岩田優子：環境情報科学学術研究論文集30，25-30 (2016)
協働ガバナンス・アプローチによるコウノトリ米とトキ米の普及プロセスの比較研究
5) 兵庫県教育委員会，兵庫県立コウノトリの郷公園：コウノトリ野生復帰グランドデザイン(2011)
6) T.M. AMABILE: Harvard Business Review, 76(5), 76-87 (1998)
How to Kill Creativity
7) エドワード・L・デシ，リチャード・フラスト：桜井茂男監訳，新曜社 (1999)
人を伸ばす力-内発と自律のすすめ
8) 藤井賢一郎，藤井聡，北村隆一：土木計画学研究，19(1)，137-144 (2002)
内発的動機に基づく協力行動：社会調査における報酬の功罪
9) R.M. RYAN, E.L. DECI: American Psychologist, 55(1), 68-78 (2000)
Self-Determination Theory and the Facilitation of Intrinsic Motivation, Social Development, and Well-Being

III. 英文 Abstract

Studies on Population Management and Habitat Restoration of Socio-Ecological Production Landscapes for the Successful Reintroduction of Crested Ibis

Principal Investigator: Hisashi NAGATA
Institution: Institute for Research Promotion, Niigata University
8050 Ikarashi-Ninocho, Niigata, Niigata 950-2181, JAPAN
Tel: +81-25-262-7639 / Fax: +81-25-262-7639
E-mail: hnagata@gs.niigata-u.ac.jp

[Abstract]

Key Words: Crested ibis, Reintroduction, Population management, Satoyama, Local residents

Reintroduced population of crested ibis, which program has been implemented on Sado Island since 2008, has increased to 369. Breeding success has been improved to support population for last 3 years as wild-born birds have occupied more than a half of breeding pairs, which have higher breeding success than captive-reared one. Carrying capacity was estimated between 1006 and 1360 by developing nesting habitat model. Based on 30,000 polymorphisms obtained from 5 founders of captive population in Japan, we developed 151 molecular markers, through utilization of genotyping with multiplex PCR and new generation sequencing method and of mapping onto the ibis genome. The low-cost genotyping method with the 151 markers are useful for genetic management to identify genetic diversity and to avoid inbreeding for reintroduced population.

Abandonment of farmlands have been progressed by declining and aging populations on Sado Island, which lead serious changes in environments of *satoyama*. We revealed that biomass of loaches was higher in waterways in *yatsu*, defined as paddies surrounded by secondary forests, than those in plain lands. Biomass of earthworms and carabid beetles was higher at the levees in plain lands than those in *yatsu*. Farmland abandonment has probably a serious impact on loaches but a weak impact on earthworms and carabid beetles. However, the consolidated conditions influenced the abundances of carabid beetles.

On the basis of the assumption that the success of the reintroduction program would largely depend on the enhancement of cooperative attitudes among local residents. Key issues elucidated include the manpower shortage for ecological conservation, the serious decline of successors of rice farming, the increasing worry about the ibises' influence on rice plants, and so on. Damage experiments on the seedlings revealed that they were vulnerable to reduce a yield of rice until 2 weeks after planting. Dilemmas and conflicts embedded in these problems were necessary to generate further challenges to problem-solving.

Reintroduced population of the ibis will increase close to carrying capacity, K. Developed molecular markers enable us to monitor genetic diversity and to manage population if genetic issues occur. Nesting habitat model predicted that K will decrease to three-fourth of current one by progressing abandonment of the low pitch of farmlands. Main goal of reintroduction program of crested ibis is to establish self-sustained population

coexisting with human being on Sado Island. It is important to mitigate any issues due to increase of ibises for the achievement the co-inhabitance with the ibis.