

Final Research Report of the Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

研究区分 : 環境問題対応型研究（ミディアムファンディング枠）

研究実施期間 : 2022（令和4）年度～2024（令和6）年度

課題番号 : 4MF-2202

体系的番号 : JPMEERF20224M02

研究課題名 : 保全ゲノミクスによる保護増殖事業対象種の存続可能性評価

Project Title : Assessment of Viability Based on Conservation Genomics for Species Subject to Protection and Propagation Under the Law for the Conservation of Species

研究代表者 : 井鷺 裕司

研究代表機関 : 京都大学

研究分担機関 : 兵庫県立大学

キーワード : 保全ゲノミクス、生物多様性保全、絶滅危惧種、種の保存法、個体群動態推定、将来予測

2025（令和7）年5月



目次

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書	1
研究課題情報	3
<基本情報>	3
<研究体制>	3
<研究経費>	4
<研究の全体概要図>	5
1. 研究成果	6
1. 1. 研究背景	6
1. 2. 研究目的	6
1. 3. 研究目標	6
1. 4. 研究内容・研究結果	9
1. 4. 1. 研究内容	9
1. 4. 2. 研究結果及び考察	10
1. 5. 研究成果及び自己評価	45
1. 5. 1. 研究成果の学術的意義と環境政策等への貢献	45
1. 5. 2. 研究成果に基づく研究目標の達成状況及び自己評価	47
1. 6. 研究成果発表状況の概要	50
1. 6. 1. 研究成果発表の件数	50
1. 6. 2. 主要な研究成果発表	51
1. 6. 3. 主要な研究成果普及活動	52
1. 7. 国際共同研究等の状況	52
1. 8. 研究者略歴	52
2. 研究成果発表の一覧	53
(1) 研究成果発表の件数	53
(2) 産業財産権	53
(3) 論文	53
(4) 著書	55
(5) 口頭発表・ポスター発表	56
(6) 「国民との科学・技術対話」の実施	57
(7) マスメディア等への公表・報道等	58
(8) 研究成果による受賞	59
(9) その他の成果発表	59
権利表示・義務記載	60

Abstract

研究課題情報

<基本情報>

研究区分 :	環境問題対応型研究（ミディアムファンディング枠）
研究実施期間 :	2022（令和4）年度～2024（令和6）年度
研究領域 :	自然共生領域
重点課題 :	【重点課題13】生物多様性の保全に資する科学的知見の充実や対策手法の技術開発に向けた研究
行政ニーズ :	
課題番号 :	4MF-2202
体系的番号 :	JPMEEERF20224M02
研究課題名 :	保全ゲノミクスによる保護増殖事業対象種の存続可能性評価
研究代表者 :	井鷺 裕司
研究代表機関 :	京都大学
研究分担機関 :	京都大学、兵庫県立大学
研究協力機関 :	

<研究体制>

サブテーマ1 「鳥類及び植物の保護増殖事業対象種の存続可能性評価と統合解析」

<サブテーマリーダー（STL）、研究分担者、及び研究協力者>

役割	機関名	部署名	役職名	氏名	一時参画期間
リーダー	京都大学	大学院農学研究科	教授	井鷺 裕司	

サブテーマ2 「魚類の保護増殖事業対象種の存続可能性評価」

<サブテーマリーダー（STL）、研究分担者、及び研究協力者>

役割	機関名	部署名	役職名	氏名	一時参画期間

リーダー	京都大学	大学院理学研究科	教授	渡辺勝敏	

サブテーマ3 「昆虫類の保護増殖事業対象種の存続可能性評価」

<サブテーマリーダー (STL)、研究分担者、及び研究協力者>

役割	機関名	部署名	役職名	氏名	一時参画期間
リーダー	兵庫県立大学	自然・環境科学研究所	准教授	中濱直之	

<研究経費>

<研究課題全体の研究経費（円）>

年度	直接経費	間接経費	経費合計	契約上限額
2022	15,270,000	4,581,000	19,851,000	19,851,000
2023	14,890,000	4,467,000	19,357,000	19,357,000
2024	14,630,001	4,388,999	19,019,000	19,019,000
全期間	44,790,001	13,436,999	58,227,000	58,227,000

<研究の全体概要図>

保全ゲノミクスによる保護増殖事業対象種の存続可能性評価(京都大学大学院農学研究科)

生物多様性の危機

- いわゆる「種の保存法」で指定された国内希少野生動植物種のうち
繁殖の促進、生息地の整備などが必要な64種について
我が国最重要生物多様性保全策の一つである**保護増殖事業**を実施
- しかし、2020年保護増殖事業対象種として初めてオガサワラシジミが絶滅

サブテーマ1 京都大学大学院 農学研究科 鳥類・植物	サブテーマ2 京都大学大学院 理学研究科 魚類	サブテーマ3 兵庫県立大学 昆虫類	■本研究の問いかけ 各対象種の状況は? 種は存続できるのか?
アカガシラカラスバト	アユモドキ	オガサワラシジミ	■本研究の目的 ゲノム解析で保護増殖事業 対象種の 存続可能性 を評価し 保護増殖事業に貢献する
ムニンノボタン	イタセンバラ	ウスイロヒヨウモンモドキ	■解析対象種 保護増殖事業対象種のうち 鳥類、植物、魚類、昆虫類から 幅広く 6種 を解析対象に選定 (写真は環境省HPより)

歴史的な個体数変動から希少種の脆弱性を知る(サブテーマ1~3)

多
個体数
少
種A
種B
10年前 100年前 1,000年前 1万年前 10万年前 100万年前
現在からの時間 (対数軸)

- 個体数が急減し希少種になった種Aは、その後の経過が種Bよりも悪化しやすい
- 人為インパクトより前の歴史的個体数が種の存続可能性評価に重要
- 過去数百万年に及ぶ個体数変動をゲノム情報により推定

現存する野生・生育域外保全集団のゲノム状態を知る(サブテーマ1~3)

野生集団1 	野生集団2 	生育域外保全集団 	<p><野生集団></p> <ul style="list-style-type: none"> ■集団ごとの遺伝的多様性や劣化 ■集団間の遺伝的分化を解析 →どの集団がより重要なか? 存続可能か? <p><生育域外保全集団></p> <ul style="list-style-type: none"> ■野生集団の多様性を保持? ■飼育環境への適応進化の有無 →遺伝的健全性の評価、異なった実体?
------------------	------------------	---------------------	--

統合解析(サブテーマ1)

- 保護増殖事業の対象種の存続可能性を評価
- 生物多様性保護政策への貢献

COP10 AICHI-NAGOYA

1. 研究成果

1. 1. 研究背景

生物多様性には多面的な価値が認められている反面、様々な生態系において生物多様性は危機的状況にある。日本では、1973年のワシントン条約、1992年の生物多様性条約などの国際条約を受けた国内法として、いわゆる「種の保存法」が1992年に制定され、生物多様性保全のための施策が行われてきた。「種の保存法」は2013年に意欲的な改正がなされ、「生物多様性の確保」を目的とすることや、「科学的知見の充実を図る」ことが国の責務とされ、更に、2017年の改正時に付帯決議として、2030年までに、国内希少野生動植物種を700種指定する目標がかかげられている。

種の保存法によって国内希少野生動植物種に指定されている種のうち、その個体の繁殖の促進、生息地等の整備等の事業推進が必要な場合は、保護増殖事業計画を策定し保護増殖事業が実施されている。保護増殖事業は我が国の生物多様性保全策として最も重要なものの一つであるが、2020年、指定種の中でオガサワラシジミの生息域外保全集団が消滅し、また、野生生息個体も確認されないような状況となり、絶滅危惧種の保護増殖の困難さが浮き彫りになった。

種の保存法に基づく保護増殖事業は、我が国における希少種保全を通じた生物多様性保全において重要な位置づけにあるものであるが、オガサワラシジミで起こった衰退を他の保護増殖事業対象種で繰り返さないためには、その種の保全状況の評価や残された個体群（野生個体と生息域外保全個体群）の将来予測を科学的に行うことが必要である。

1. 2. 研究目的

現在、種の保存法によって64種が保護増殖事業の対象種となっており、関係諸機関によって手厚い保護増殖事業が取り組まれている。これらの種は、我が国の希少種の保全を通じた生物多様性保全に関して最重要分類群といえるが、一部の種では保護増殖事業の成果が認められるものの、十分に増殖して指定が解除された種はない。

本研究は、「重点課題⑬生物多様性の保全に資する科学的知見の充実や対策手法の技術開発に向けた研究」に該当するものであり、近年発展が著しい全ゲノム解読技術を活用し、保護増殖事業対象種の中から多様な生物種を6種選定し、ゲノム情報を解析することで、保護増殖事業対象種が希少となった歴史から、種の本質的な脆弱性を推定し、また、現存する野生集団と生息域外保全集団のゲノムの状態をもとに、個体群の存続性について将来予測をすることを目的とする。

1. 3. 研究目標

<全体の研究目標>

研究課題名	保全ゲノミクスによる保護増殖事業対象種の存続可能性評価
全体目標	<p>■種の保存法に基づく保護増殖事業が行われている国内希少野生動植物から、鳥類、植物、魚類、昆虫類をカバーする多様な分類群の6種を対象に、全ゲノムレベルの遺伝解析を行う。</p> <p>■全ゲノム情報に基づいて、種の個体群動態に関する数百万年に及ぶ進化的歴史と人為インパクトが個体数減少に与えた影響、そして、現存する個体群をゲノムレベルで比較解析し、保護増殖事業対象種の存続可能性評価を行うことで、保護増殖事業による生物多様性保全施策に活用できる情報を提供する。</p>

<サブテーマ1の研究目標>

サブテーマ1名	鳥類及び植物の保護増殖事業対象種の存続可能性評価と統合解析
サブテーマ1実施機関	京都大学大学院農学研究科
サブテーマ1目標	<p>■保護増殖事業対象種のうち、鳥類としてアカガシラカラスバト、植物としてムニンノボタン、合計2種を選定し、ゲノム解析によって現在の保全状況評価と将来予測を行う。</p> <p>■既存の参照ゲノム情報が利用できるアカガシラカラスバトでは、リーシングによる全ゲノム解読を行う。既存の参照ゲノムが利用できないムニンノボタンでは、新規全ゲノム解読を行い、参照ゲノム情報を構築する。</p> <p>■対象2種について、参照ゲノム情報を活用して、コアレセント理論に基づくPSMCなどの手法によって過去数十万～数百万年に及ぶ歴史的個体群動態を推定し、人為インパクトを受ける前の個体数レベルを明らかにする。ゲノム解析で明らかになった過去の個体数と現在の個体数を比較することで、人為インパクトが個体群動態に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を明らかにする。また、保全ゲノム解析を行い、野生集団と域外保全集団の遺伝的な特徴を比較解析する。</p> <p>■アカガシラカラスバトとムニンノボタンの野生集団と生息域外集団について、それぞれ集団レベルでゲノム情報を解読し、遺伝的多様性、遺伝的分化などの点について比較解析し、野生集団の特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価する。</p> <p>■統合解析：サブテーマ1として解析担当するアカガシラカラスバト（鳥類）、ムニンノボタン（植物）の他に、サブテーマ2のイタセンパラ（魚類）とアユモドキ（魚類）、サブテーマ3のオガサワラシジミ（昆虫類）、ウスイロヒヨウモンモドキ（昆虫類）合計6種に関する解析結果を統合的に解析し、ゲノム情報と生物多様性保全状況について、分類群の特性を超えた、より一般的な理解を得る。</p>

<サブテーマ2の研究目標>

サブテーマ2名	魚類の保護増殖事業対象種の存続可能性評価
サブテーマ2実施機関	京都大学大学院理学研究科
サブテーマ2目標	<p>■保護増殖事業対象種のうち、魚類としてイタセンパラとアユモドキ、合計2種を選定し、ゲノム解析によって現在の保全状況評価と将来予測を行う。</p> <p>■アユモドキは既存の参照ゲノムが利用できないので、新規全ゲノム解読を行う。イタセンパラでは、既に解読されているドラフトゲノムに新規解読情報を加え、参照ゲノム情報を構築する。</p> <p>■イタセンパラとアユモドキ2種について参照ゲノム情報を活用して、コアレセント理論に基づくPSMCなどの手法で過去数十万～数百万年に及ぶ歴史的個体群動態を推定し、人為インパクトを受ける前の個体数レベルを明らかにする。ゲノム解析で明らかになった過去の個体数と現在の個体数を比較することで、人為インパクトが個体群動態に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を明らかにする。また、集団ゲノミクスによって、野生集団と域外保全集団の遺伝的な特徴を比較解析する。</p> <p>■それぞれ隔離した3つと2つの野生集団が存続しているイタセンパラとアユ</p>

	モドキについて、すべての野生集団と生息域外集団について、集団レベルで保全ゲノム解析を行い、遺伝的多様性、遺伝的分化などの点について比較解析し、野生集団の特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価する。また、域外保全集団における飼育環境への適応進化をゲノムレベルで明らかにし、域外保全集団の生物保全上の価値を評価する。
--	--

<サブテーマ3の研究目標>

サブテーマ3名	昆虫類の保護増殖事業対象種の存続可能性評価
サブテーマ3実施機関	兵庫県立大学自然・環境科学研究所
サブテーマ3目標	<p>■保護増殖事業対象種のうち、昆虫類としてオガサワラシジミとウスイロヒヨウモンモドキ、合計2種を選定し、ゲノム解析によって現在の保全状況と将来予測を行う。また、オガサワラシジミは繰り返してはならない絶滅に至った事例として解析対象とする。</p> <p>■絶滅したオガサワラシジミでは、新規全ゲノム解読が困難であるので、近縁種で解読されているゲノムを参照ゲノム情報とする。ウスイロヒヨウモンモドキは、近縁種が個体群動態の研究対象とされており、また、良質な全ゲノム情報が整備されているので、これを参照ゲノム情報として活用する。</p> <p>■絶滅したオガサワラシジミでは、崩壊した域外保全個体群の冷凍サンプルからDNAを抽出し、リシーケンシングによる全ゲノム解読を行う。ウスイロヒヨウモンモドキでは2ヶ所の隔離集団に生育する個体を対象にリシーケンシングによる全ゲノム解読を行う。</p> <p>■2種とも参照ゲノム情報を活用して、コアレセント理論に基づくPSMCなどの手法によって過去数十万～数百万年に及ぶ歴史的個体群動態を推定し、人為インパクトを受ける前の個体数レベルを明らかにする。ゲノム解析で明らかになった過去の個体数と現在の個体数を比較することで、人為インパクトが個体群動態に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を明らかにする。</p> <p>■絶滅したオガサワラシジミでは、域外保全集団として約20世代継代飼育された個体の冷凍サンプルを全世代において縮約ゲノム解析し、絶滅に至るまでの遺伝的変化を明らかにする。2ヶ所の隔離集団と生息域外集団が維持されているウスイロヒヨウモンモドキでは、集団レベルで保全ゲノム解析を行い、遺伝的多様性、遺伝的分化などの点について比較し、野生集団の特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価する。</p>

1. 4. 研究内容・研究結果

1. 4. 1. 研究内容

この研究課題では、保全ゲノミクスの解析手法を活用することで、保護増殖事業対象種の存続可能性評価を行うために、多様な生物種を対象にゲノム情報を解析し、希少種の歴史や脆弱性を推定し、野生集団と生息域外保全集団の将来予測を行うことを目指した。それぞれのサブテーマで2種、合計6種の解析を研究の当初目標としたが、研究期間を通して目標を大幅に超える種について解析を行うことができた（表1-1）。

表1-1 サブテーマごとの解析終了種

サブテーマ	希少種名	レッドリスト	保全状況
1	鳥類 アカガシラカラスバト	当初解析予定種 絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種 天然記念物
1	鳥類 ライチョウ	絶滅危惧IB(EN)	保護増殖事業対象種 特別天然記念物
1	植物 ムニンノボタン	当初解析予定種 絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種
1	植物 ハハジマノボタン	絶滅危惧IB(EN)	
1	植物 イオウノボタン	絶滅危惧II(VU)	
1	植物 ホシツルラン	絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種
1	植物 オオハマギキョウ	絶滅危惧II(VU)	
1	植物 タイワンホトトギス	絶滅危惧II(VU)	
2	魚類 イタセンパラ	当初解析予定種 絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種 天然記念物
2	魚類 アユモドキ	当初解析予定種 絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種 天然記念物
2	魚類 ネコギギ	絶滅危惧IB(EN)	天然記念物
2	魚類 ヒナモロコ	絶滅危惧IA(CR)	
3	昆虫 オガサワラシジミ	当初解析予定種 絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種 天然記念物
3	昆虫 ウスイロヒヨウモンモドキ	当初解析予定種 絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種
3	昆虫 フサヒゲルリカミキリ	絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種
3	昆虫 オガサワラハンミョウ	絶滅危惧IA(CR)	保護増殖事業対象種

サブテーマ1では、当初目標としていた鳥類のアカガシラカラスバトと植物のムニンノボタン加えて4種を追加し、合計6種でゲノム解析を実施した。

鳥類では、アカガシラカラスバトについて、小笠原諸島の野生個体と飼育個体、計16個体を対象に縮約ゲノム解読および全ゲノムシーケンシングを実施し、参照ゲノムへのマッピング、SNP検出、遺伝構造の解析、近交係数や有害変異の評価を行った。RNA-seqによるトランスクリプトーム解析もを行い、遺伝子機能のアノテーションに活用した。また、ライチョウについては中部山岳域の野生個体を対象にし、全ゲノムシーケンシングを実施した。データは近縁種の参照ゲノムにマッピングし、高品質なSNPを得た後、集団構造解析、系統解析、近交係数の推定、有害変異の評価を行った。

植物では、ムニンノボタンを含むノボタン属の解析で、小笠原諸島固有の3分類群（ムニンノボタンに加えて、ハハジマノボタンとイオウノボタン）および南西諸島に分布するノボタンから計23個体を対象に、全ゲノムショートリードを取得し、既存の参照ゲノムを用いてマッピングおよびSNP検出を行うとともに、有害変異の有害性評価を行った。系統解析では、核ゲノムSNPに基づく最大尤度法解析に加えて、葉緑体ゲノムを用いた解析も実施し、種間関係を多角的に評価した。また、PSMC (Pairwise Sequentially Markovian Coalescent)法を用いて個体群の歴史動態推定を行った。ホシツルランについては、現存するほぼすべての個体に相当する、栽培個体および再導入個体の81個体を解析対象とし、縮約ゲノム解読によるSNP検出を行った。得られたSNPは主成分分析やベイズ統計に基づく構造解析に用い、個体群構造や遺伝的多様性の評価を行った。オオハマギキョウについては、小笠原諸島内の複数の島嶼に自生する野生個体176個体および植栽個体12個体を対象とした。縮約ゲノム解読によってSNP検出を行い、集団間の遺伝構造を解析した。RNA-seqによるトランスクリプトーム解析も併用し、43個体について転写産物配列からSNVを検出し、遺伝的多様性や保全単位の解析を行った。タイワンホトトギスでは、西表島、沖縄本島、台湾本島、蘭嶼の個体群から計28個体を対象とし、縮約ゲノム解析に基づく系統解析や集団構造解析を行った。さらに、トランスクリプトーム解析では5集団19個体からRNAを抽出し、系統解析と有害変異の評価を行った。

サブテーマ2では、高精度の新規全ゲノム参照配列の構築、野生集団の解析に基づく自然史の解明、飼育集団の解析に基づく遺伝的診断と脆弱性評価を行った。対象種として、当初計画のイタセンパラとアユモド

キに加え、ネコギギとヒナモロコの2種も対象に加えた。

イタセンパラは大阪、濃尾、富山各平野に隔離分布する日本固有種である。秋に二枚貝に産卵寄生し、一年性で氾濫原環境に適応した生態をもつ。各平野の集団は絶滅の危機に瀕しており、生息域外保全が行われている。**アユモドキ**は琵琶湖-淀川水系と岡山平野にのみ分布する日本固有種である。梅雨時期の氾濫原が産卵場所として重要である。現在は桂川水系、旭川水系、吉井川水系の一部でのみ繁殖が確認されており、生息域外保全も実施されている。**ネコギギ**は伊勢湾・三河湾流入河川に分布する夜行性の日本固有種である。河川改修により生息地が点在するのみとなっている。三重県いなべ市では20年以上にわたり家系管理された飼育集団が維持されている。**ヒナモロコ**は筑紫平野に分布するコイ科小型種であり、1980年代までにはほぼ絶滅したが、小集団の発見後に生息域外保全が行われた。2000年代に台湾産のキクチヒナモロコとの交雑により、純粋な集団は消失している。

解析対象とした4種について、計20集団から191個体の全ゲノム配列を解読し、次の解析を行った。（1）高精度の新規全ゲノム参照配列の構築：イタセンパラ、アユモドキ、ネコギギについては、HiFi長鎖配列とHi-C法を組み合わせて染色体レベルの高品質参照ゲノムを構築した。ヒナモロコは、DNA品質の制約からNanoporeと短鎖配列によるアセンブリを実施した。リシーケンシングデータは標準的なパイプラインでマッピング・SNPコールを行った。（2）野生集団の解析に基づく自然史の解明：集団構造解析（Admixture、PCA）、neighbor-net法や最尤法による系統樹解析、fastsimcoal2による集団動態モデリング、PSMC・MSMC（Multiple Sequentially Markovian Coalescent）・SMC++・PopSizeABCによる歴史人口動態推定を実施した。世代時間はイタセンパラとヒナモロコで1年、アユモドキとネコギギで2年とし、突然変異率は 3.50×10^{-9} と仮定した。（3）飼育集団の解析に基づく遺伝的診断と脆弱性評価：イタセンパラ、アユモドキ、ネコギギについて実施・比較した。 π 値・ H_o 値・ROH（runs of homozygosity、染色体上のホモ接合が連続する領域）を指標として遺伝的多様性を評価し、ROHベースの近交係数（FROH）から近親交配の度合いを推定した。SIFT 4Gを用いて有害変異（LoF、deleterious）の頻度を飼育・野生集団間で比較し、突然変異負荷を解析した。また、飼育下で顕著に遺伝的多様性が失われた染色体領域を検出し、そこに含まれる遺伝子を同定した。

サブテーマ3では、保護増殖事業対象種のうち、昆虫を対象として研究を実施した。**オガサワラシジミ**と**ウスイロヒョウモンモドキ**について、当初の予定通り存続可能性を評価した。さらに、当初の研究計画には含まれていなかったが、保護増殖事業対象種であり、野生個体数が100個体に満たない**フサヒゲルリカミキリ**、また小笠原諸島兄島でのみ生息が確認されている**オガサワラハンミョウ**についても、種の保存の緊急性が高く、行政や保全団体から強い要望があったこと、また保護増殖検討委員会が実施されており、研究成果が迅速に保全施策に反映されることが期待されるために急遽解析対象に加えた。いずれの4種も、これまでに生息域外保全が実施され、生息域外保全個体が入手可能であった。

まず、同属近縁種で全ゲノム配列が決定されているオガサワラシジミを除いた3種で、高品質のドラフトゲノムを決定し、さらに遺伝子予測を行った。さらに、これらの全ゲノムを参考配列として、全ゲノムリシケンスを実施した。また、全種において、MIG-seq法による縮約ゲノム解析も併せて実施した。これらから、過去の集団動態（有効集団サイズの歴史的変遷）や遺伝的多様性、遺伝構造の推定による存続可能性の分析ほか、各種で独自の遺伝解析を実施した。

1. 4. 2. 研究結果及び考察

サブテーマ1

■アカガシラカラスバト

アカガシラカラスバト（*Columba janthina nitens*）は、ハト科の中型鳥類である。同属近縁分類群のカラスバト（*Columba janthina janthina*）が、日本本土や韓国近辺に広く分布するのに対して、アカガシラカラスバトは、小笠原諸島のみに生育するに固有亜種である。本種は1969年には天然記念物に指定されているが、生息環境の悪化と外来生物の影響により、2000年頃にはわずか40羽程度まで減少した。特に野生化したネコによる捕食は、本種が地上採餌という習性を持つこともあり、個体数減少の大きな要因となった。このような状況を受けて、アカガシラカラスバトは環境省レッドリストで絶滅危惧ⅠA類にとされており、また、1993年には国内希少野生動植物種に指定されている。2006年には種の保存法に基づく保護増殖事業計画が策定され、環境省や東京都などが連携して本格的な保全が開始してきた。対策には野ネコの捕獲や、生息地のサ

ンクチュアリー化などが含まれ、個体数の回復と生息環境の改善が図られてきた。また、東京都恩賜上野公園と東京都多摩動物公園では2001年以降、創始個体の導入と繁殖により飼育下個体群の形成が進められ、現在では100羽未満が安定的に飼育されて、世代交代がなされている。

分岐年代および個体群動態推定

MIG-seq (Suyama & Matsuki, 2015)により得られた1,592 SNPsに基づく系統解析によって、アカガシラカラスバトが近縁分類群カラスバトから67万年前に分岐したことが明らかになった(Tsujimoto et al. 2023)。

PSMCにより、アカガシラカラスバトおよび近縁種カラスバトの有効集団サイズ (N_e) の過去の変遷を推定した結果、カラスバトはおおむね約100万年前から現在に至るまで、有効集団サイズを10万羽以上に保つつゝ、氷期と間氷期の周期に応じて緩やかな増減を繰り返してきたが、アカガシラカラスバトは分岐以降、常に小さな集団サイズで維持されており、特に最終氷期には急激な減少が確認された(図1-1, Tsujimoto et al. 2023)。

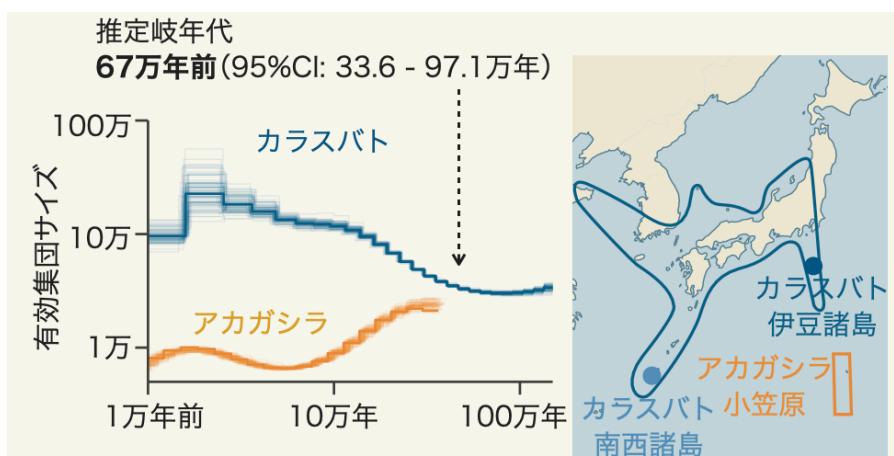


図1-1 アカガシラカラスバト（オレンジ色）およびカラスバト（青色）の過去100万年の個体群動態 突然変異率を $1.42 \times 10^{-9} \text{ 年}^{-1} \text{ 塩基}^{-1}$ 、1世代の時間を2年と仮定して PSMC (Li & Durbin 2011) で推定した。

PSMCは最低1個体の全ゲノムデータで過去数100万年の個体群動態を推定できる優れた手法であるが、およそ1万年以降については推定精度が著しく減少する。そこで、本研究では、連鎖不平衡に基づく個体群動態解析手法であるGONE (Santiago et al. 2020) を新たに取り入れ、今までに至る近年の個体群動態を推定した。その結果、小笠原における明治期以降の住民増加、戦争時の一時的人口増加、日本への復帰に伴う人口増と開発などの社会的情勢に応じて、アカガシラカラスバトの個体数が変化しており、本種の減少が、人為インパクトによるものであるということが明確に示された(図1-2)。生物多様性の危機的な状況をもたらす人為インパクトの影響は、進化的な時間スケールと比較すると、ごく最近の数10～100年の間に増大している。GONEはPSMCに比べるとより多くのサンプルの全ゲノム情報が必要であり、必ずしもすべての希少種において解析ができるわけではないが、このような短期的な時間スケールにおける希少種の個体群動態を明らかにできることから、希少種保護による生物多様性保全策の構築に有用な情報を提供する解析方法として活用できるだろう。

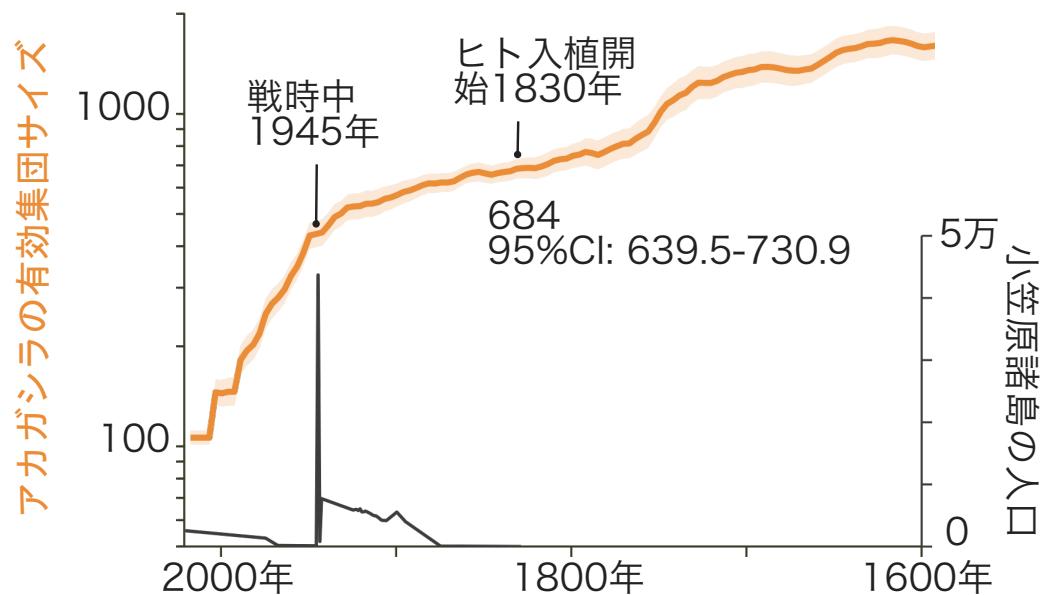


図1-2 全ゲノム情報に基づく過去60世代のアカガシラカラスバトの有効集団サイズの変遷

アカガシラカラスバトの世代時間は2~4年なので40世代前が明治初期に相当する。

ゲノムレベルの塩基多様度

アカガシラカラスバトの野生個体群および生息域外保全個体群は、ゲノム全体にわたっていすれも極めて低く、カラスバトと比較して約1/12にとどまった（図1-3）。多数の個体が広範囲に分布するカラスバトとは対照的に、アカガシラカラスバトは数十万年にわたって小規模かつ孤立した個体群として存続したために、ゲノム全体の遺伝的多様性が著しく低下したと考えられる。

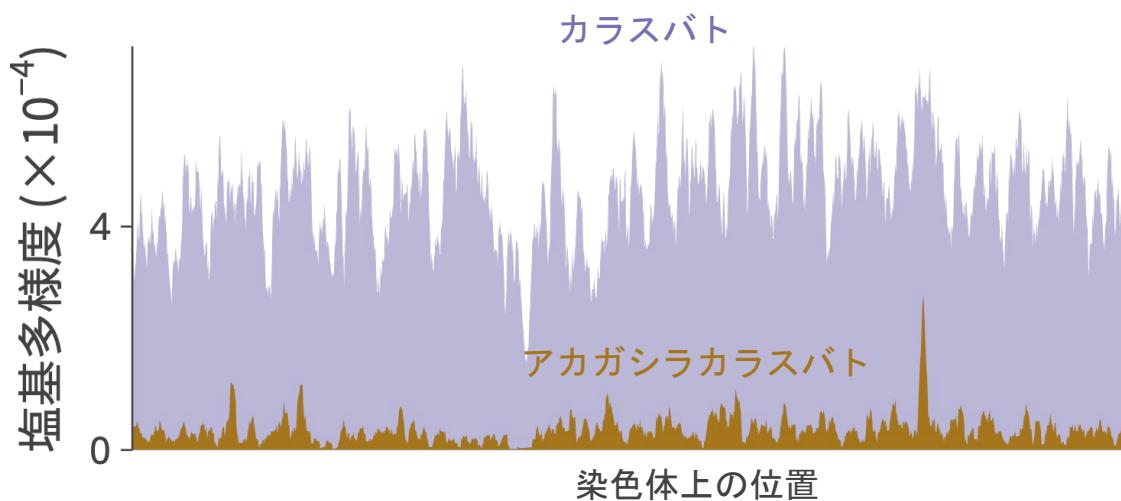


図1-3 普通種カラスバト及び小笠原固有希少亜種アカガシラカラスバトの塩基多様度 ゲノム全体にわたって塩基多様度を比較解析したが、ここでは第20番染色体の一部分について例示した。

ゲノム内のROHと有害変異量の分布

以下に記述した、ゲノム内のROHと有害変異量に関する解析結果は**研究成果論文14**として投稿している。ゲノム内で連続して存在するホモ接合領域であるROHの分布に関しては、個体数が多く維持してきた普通種のカラスバトではほとんど無いのに対して、アカガシラカラスバトのゲノムにはROH領域が高頻度で分布

していた。また、興味深いことに20年近く生息域外保全されてきた集団と、野生集団双方においてROH領域の蓄積が認められ、野生のカラスバト集団が歴史的に近親交配を繰り返してきたことが明らかになった。一例として、第6染色体の一部を詳しくみると、カラスバトでは0.5Mb(50万塩基)以上にわたってホモ接合している領域がほとんど無いのに対して、アカガシラカラスバトでは、飼育個体、野生個体いずれもゲノムの多くの領域がホモ接合していることがわかる(図1-4(a))。また、有害変異(ナンセンス変異)の数は、普通種カラスバトのほうがアカガシラカラスバトより多く、また、近親交配を繰り返してきたアカガシラカラスバトでは有害変異の多くがホモ接合となっていた(図1-4(a))。ROH領域の長さ毎にゲノム内に占める割合を見ると、ROH領域を10万塩基(0.1 Mb)長以上と短くしても、カラスバトの野生個体のゲノムにはROH領域が殆どないのに対して、アカガシラカラスバトでは、ゲノム内の9割が10万塩基長以上のROH領域に覆われていた(図1-4(b))。1,000万塩基(10 Mb)長以上のROH領域は、直近世代における近親交配によって増加するが、アカガシラカラスバトでは、飼育個体において、そのような領域の割合が増加しており(図1-4(b))、過去20年間の生息域外保全の影響がゲノム構造に反映されていた。

ゲノム内に蓄積された有害変異として、ナンセンス変異(タンパク質合成を停止させる変異)を指標として、アカガシラカラスバトとカラスバトのゲノム健全性を有害変異の割合(= ナンセンス変異数/サイレント変異数)で比較した結果、カラスバトよりもアカガシラカラスバトの方が有害変異の蓄積が少なかった(図1-4(c))。アカガシラカラスバトは図1-1に示したように、数十万年にわたり小集団として存続してきた歴史を持ち、その過程で様々なレベルの近親交配を経て、潜在的に有害な遺伝子が除去される「遺伝的浄化(purging)」が進行してきたと考えられる。これらの知見は、アカガシラカラスバトが極めて小規模な集団でありながらも、比較的良好なゲノム状態を保っていることを示しており、今後の生息域外保全や野生個体群の管理においても明るい展望を与えるものである。とくに、2010年以降に実施された小笠原父島でのノネコ捕獲事業によって個体数が顕著に回復した背景には、このようなゲノムの健全性が寄与していた可能性が高いと考えられる。

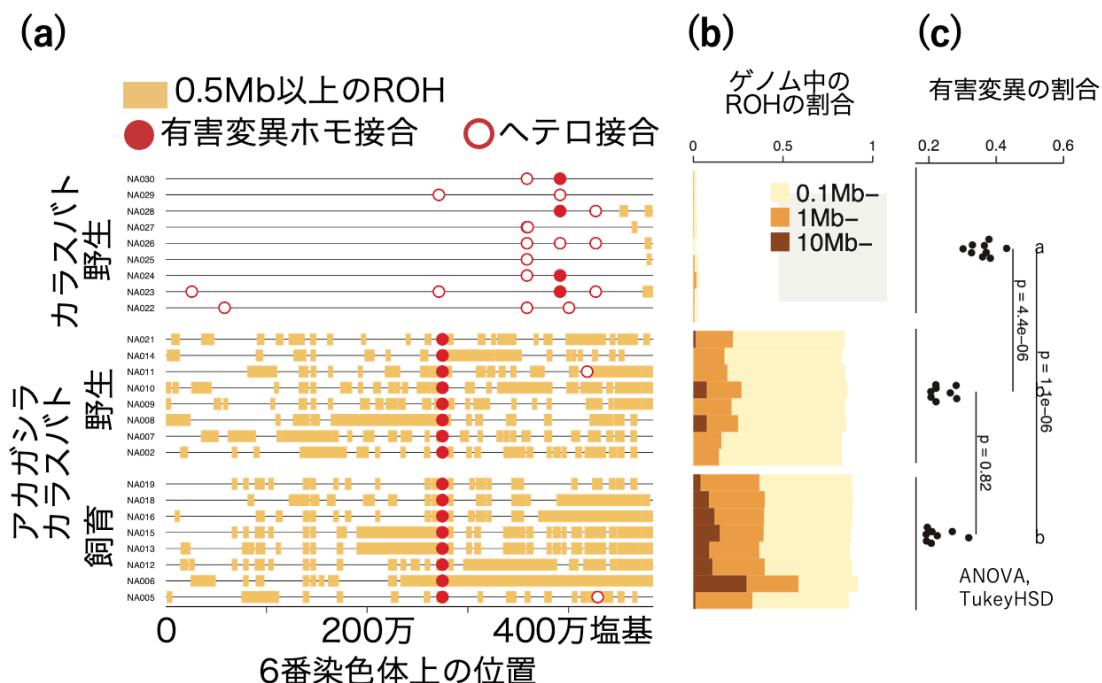


図1-4 カラスバトとアカガシラカラスバトのゲノムの遺伝構造の比較 (a)第6染色体の一部におけるROHと有害変異の分布。上段より野生のカラスバト、野生のアカガシラカラスバト、飼育されているアカガシラカラスバト、それぞれ8個体のゲノムに分布するROH(黄色い部分)と有害変異(ナンセンス変異、塗りつぶした赤丸がホモ接合している座位、中空の赤丸がヘテロ接合している座位)の分布を示している。有害変異(ナンセンス変異)の数は、普通種カラスバトのほうがアカガシラカラスバトより多い。また、アカガシラカラスバトでは有害変異の多くがホモ接合となっている。(b)ゲノム内における長さの異なるROHの割合。(c)ゲノム内の有害変異の蓄積量の指標としての有害変異の割合(= ナンセンス変異数/サイレント変異数)。

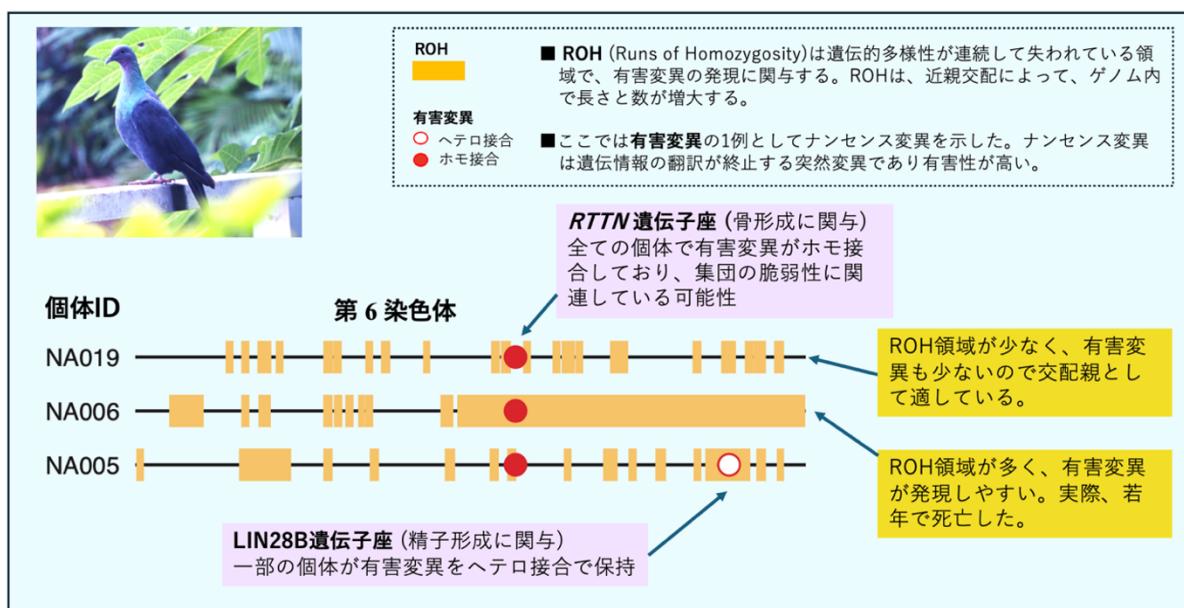
考察

アカガシラカラスバトは、近縁な普通種であるカラスバトと比較して遺伝的多様性が著しく低くなっていた。特に、ホモ接合が連続するROH (runs of homozygosity) 領域がゲノム全体にわたって広く分布しており、長期的な小集団での維持に起因する遺伝的影響が示唆された。一方で注目されるのは、このような極度に小規模な集団構造にもかかわらず、アカガシラカラスバトのゲノム内にはカラスバトと比較して有害変異（ナンセンス変異）の数が少ないという点である。このことは、数十万年にわたって小集団で維持されてきた過程において、浄化選択が有害変異を効果的に除去してきた可能性を示唆している。

こうした遺伝的背景は、2010年以降に父島で実施されたノネコ捕獲事業による個体数の急速な回復を理解する上で重要な要素である。一般に、小集団では近親交配によって有害変異が発現し集団の脆弱性を高めるとされるが、アカガシラカラスバトでは、長期にわたる遺伝的浄化が近交弱勢の発現を抑制し、結果として回復力の維持に寄与した可能性が高い。

更に、今回検出されたナンセンス変異に関しては、参考ゲノムのアノテーション（塩基配列の機能などに関する情報）から、遺伝子の機能を推定することが可能である。例えば、図1-5に示した生息域外保全されている個体の例ではすべての個体が神経・免疫発達に関与している遺伝子にホモ接合となっている有害変異があり、この機能が多少なりとも損なわれていることが推測される。また、NA006は他の個体と比べてROH領域が著しく多かったが、羽化後7日で死亡している。

今後、様々な絶滅危惧種を対象に網羅的な全ゲノム情報を整備しておくことは、保護増殖事業対象種の効果的かつ持続的な保全のために有益なことであろう。



■ムニンノボタン

ムニンノボタン (*Melastoma tetramerum*) は、小笠原諸島・父島にのみ自生する日本固有のノボタン科ノボタン属の常緑低木である。ノボタン属は熱帯を中心に約100種が知られており、その中でもムニンノボタンは、花弁が4枚というノボタン属植物としては極めて特異な花の形態を持つ唯一の種である。これらの特徴から、分類学的にも進化学的にも特異な位置づけにあり、注目してきた。また、小笠原諸島には、このムニンノボタンを含め、ノボタン属の固有分類群が3つ知られている。すなわち、父島のムニンノボタン (*M.*

tetramerum)、母島のハハジマノボタン (*M. tetramerum* var. *pentapetalum*)、北硫黄島のイオウノボタン (*M. candidum* var. *alessandrense*) である。これらはいずれも環境省レッドリストにおいて高い絶滅リスクが示されており、ムニンノボタンは絶滅危惧ⅠA類、ハハジマノボタンは絶滅危惧ⅠB類、イオウノボタンは絶滅危惧Ⅱ類に指定されている。これらの中でも、ムニンノボタンは発見当初より個体数が極めて少なく、1980年代には父島東平にて野生個体がわずか1株のみが確認され、絶滅寸前の状態であった。1993年には東海岸で200個体以上が確認され一時的な回復が見られたが、その後の減少傾向は著しく、2007年には成木の大半が枯死し、現在も野生状態での安定的な維持には至っていない。このような状況から、2004年には「種の保存法」に基づく国内希少野生動植物種に指定され、更に環境省による保護増殖事業計画が策定されている。その一方で、ハハジマノボタンおよびイオウノボタンについては、これまでに網羅的な遺伝的解析は行われておらず、個体間や個体内の遺伝的多様性、ゲノムの健全性などの定量的評価はなされてこなかった。また、これらの分類群がいかなる系統的背景をもって小笠原諸島へ分化・定着したのか、進化的起源についても明確ではなかった。

本研究では、これらの課題に対応するため、比較ゲノム解析を実施し、各分類群の系統的位置づけ、過去の個体群動態、ゲノムの健全性、個体間や個体内の遺伝的多様性などについて評価を行った。これらの知見は、絶滅リスクの適切な評価と、今後の保全計画策定に資する科学的基盤となりうるものである。以下に記述した、ムニンノボタン及び近縁種に関する解析結果は**研究成果論文8**で公表した。

近縁種との系統関係

全ゲノム情報に基づき系統関係を解析した結果(図1-6)、ムニンノボタンは同じく小笠原固有種であるハハジマノボタンと一つのクレードを形成していた。一方、同じく小笠原固有種であるイオウノボタンは、琉球から東南アジアに広く分布する普通種のノボタンのクレードに含まれており、小笠原の3分類群は、2回の独立した起源を持つ事が示唆された(図1-6 ポイント1)。イオウノボタンは普通種ノボタンのクレードに含まれており、ノボタンと系統的には同一とみなせることも判明した。

ハハジマノボタンに関しては、現存する個体群すべてを網羅するように解析試料を採集したのにもかかわらず、サンプル間の遺伝的変異がほとんど認められず、種内の変異が殆ど失われている深刻な状況が明らかになった。これは、種内に保持されている遺伝的多様性という観点から、これまで保護増殖事業が行われてきたムニンノボタンよりもハハジマノボタンがより深刻な状況にあることを示している(図1-6 ポイント2)。

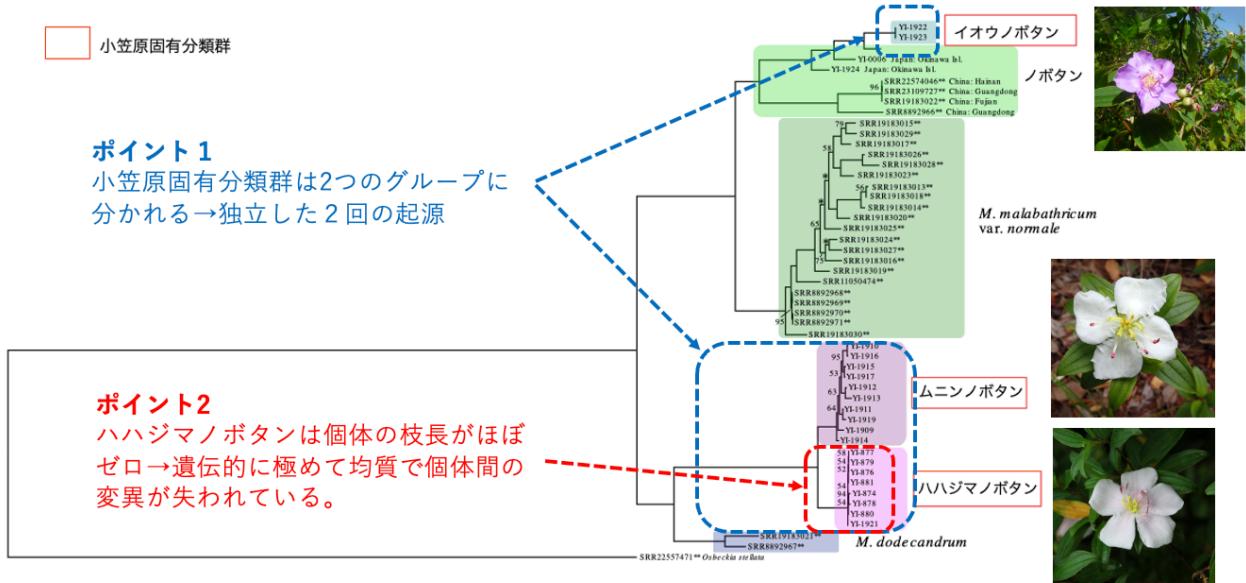


図1-6 全ゲノム情報に基づく小笠原固有ノボタン属3分類群と普通種ノボタンの系統関係

PSMC による個体群動態推定

PSMCにより、有効集団サイズ (N_e) の長期的推移を推定したところ、いずれの分類群も長期的には減少傾向にあった(図1-7)。保護増殖議場対象種であるムニンノボタンは10万年程度以前には大きな個体群として存在していたが、急速に減少したと推定された。系統解析において個体間の遺伝的差異が認められなかつたハハジマノボタンは数十万年前から一貫して個体数が少なく、かつ、減少傾向にあり、このような個体群動態が現在の危機的状況につながっていると思われる。イオウノボタンは系統的にはノボタンの一個体群として扱うのが妥当であることが判明したが、数十万年前におそらく琉球の個体群から別れ、硫黄島で小集団として存続し、有効集団サイズが縮小してきた歴史を反映した結果となった。

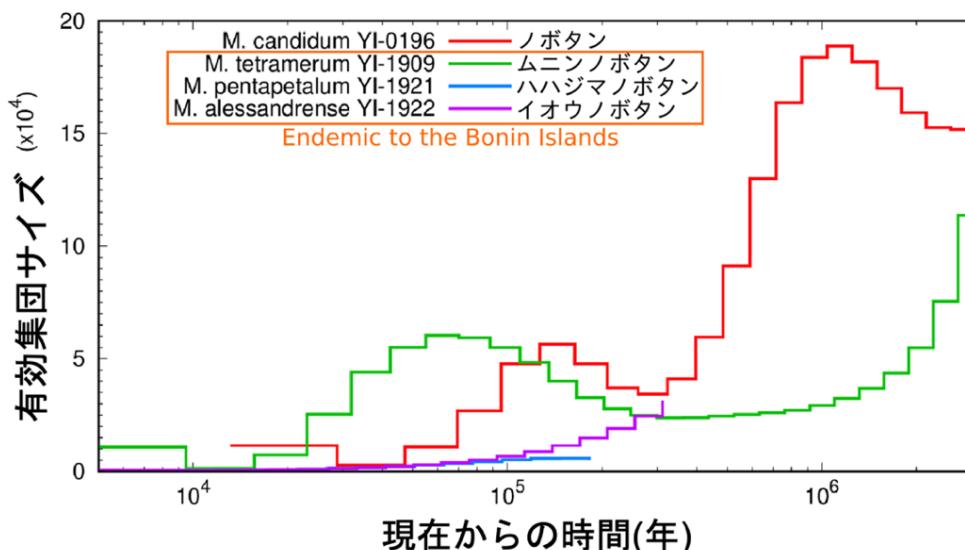


図1-7 PSMCによる小笠原産ノボタン属3固有分類群とノボタンの有効集団サイズ動態の推定

ROHからみたゲノム構造比較

ゲノム内の連続したホモ接合領域 (ROH: runs of homozygosity) の分布は種毎に特徴が認められた(図1-8)。ROHは、近親交配やボトルネックの影響を受けて拡大する傾向があるため、種・集団の遺伝的脆弱性や健全性を把握する上で極めて有効な指標である。沖縄本島および西表島で採集したノボタンは普通種であるにも関わらずROHの領域が広がっていた。本種は植生遷移初期の搅乱された場所に生育するので、そのような場所における局所集団内で近親交配が行われていたのかもしれない。

イオウノボタンとハハジマノボタンのゲノムは、殆どがROH領域で覆われていたのが特徴的であった。イオウノボタンはPMSCによる歴史的個体群動態解析でも明らかになったように、数十万年前に北硫黄島に渡来し、小集団として維持されてきたため、極度の近親交配が進み、ゲノム全体がROHに覆われるに至ったと考えられる。ハハジマノボタンはムニンノボタンより野生個体数は多いと考えられているが、歴史的にはより小さな集団サイズで近親交配が繰り返されてきた考えられる。

ムニンノボタンが発見時から数個体のみであったのに、ROH領域が比較的少いのは、発見以前には個体数が多く、任意交配が行われていた可能性が高い。ハハジマノボタンはムニンノボタンよりは個体数が多いと考えられてきたが、ROHの観点からは脆弱なゲノム構造である。

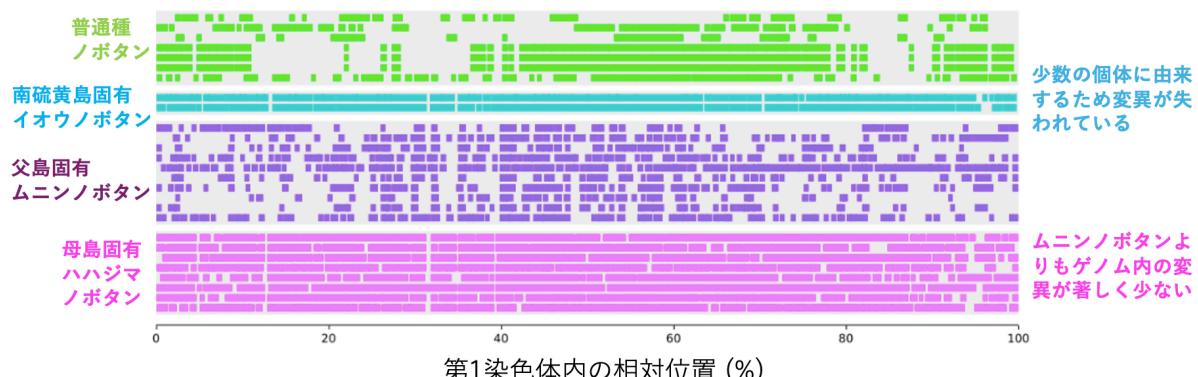


図1-8 ゲノム内に存在するROH(Runs of Homozygosity, 遺伝的多様性が失われた領域) 1本の横棒がサンプル1個体に対応し、各サンプルの第1染色体における長さ100 kb以上のROH領域が、横棒として各染色体にプロットされている。

遺伝的多様性（ヘテロ接合度）とゲノム内の有害変異量

遺伝的多様性（ヘテロ接合度）は、小笠原諸島に固有の3分類群が、南西諸島産のノボタンや外国産のノボタン属植物よりも有意に低い値を示した。特にハハジマノボタンはヘテロ接合度がほぼゼロであった。

ゲノム内の有害変異量は、ムニンノボタンとハハジマノボタンで有意に高く、ゲノムの脆弱性が認められた(図1-9)。この結果は、長期的な小集団サイズの維持によるボトルネック効果と遺伝的浮動の影響により、有害変異が効果的に除去されず、集団内に固定化してきた可能性を示唆している。これら2種に関しては、環境変化や病原体に対する適応能力が低下するなど、本質的な脆弱さを示すことが懸念される。

一方で、イオウノボタンは、ゲノム内の多様性は低いものの、有害変異の蓄積は普通種ノボタンと比べて優位な差がなく、保全上の緊急性は他の2分類群と比べて低いと考えられる。

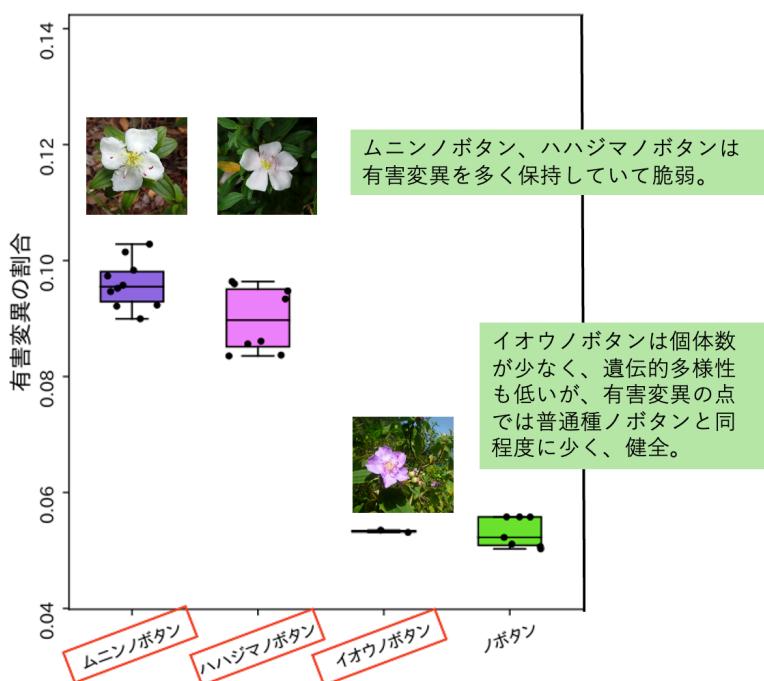


図1-9 小笠原固有のボタン属3種と近縁普通種のゲノム内有害変異の割合

考察

本研究では、小笠原諸島に固有の絶滅危惧種ムニンノボタン、ハハジマノボタン、イオウノボタン、および普通種ノボタンを対象に全ゲノム解析を行い、遺伝的多様性と有害変異の蓄積状況を評価した。その結果、ムニンノボタンでは、低いヘテロ接合度、ROH (Runs of Homozygosity) 領域の増加、ゲノム内の有害変異の蓄積などから、ゲノムの健全性が著しく損なわれていることが示唆された。さらに、これまで特段の保全上の配慮がなされていなかったハハジマノボタンではこれらの指標がムニンノボタンと比べて、同等、あるいはより深刻であることが見出された。これは、現行の保全評価が個体数やレッドリスト区分に依存し、ゲノムの実態を反映できていないことを示すものであり、これまで認識されてこなかった「隠れた危機」を明らかにした重要な知見と言える。今後は、ゲノムの健全性を加味した総合的な評価指標のもとで保全優先度を見直し、ハハジマノボタンに関しては実効性のある保全措置を講じる必要がある。

■ライチョウ

日本産ライチョウは、本州中部の飛騨山脈、木曽山脈および赤石山脈の標高2,000 m以上の高山帯に断片的

に生息しており、これらの地域における氷期遺存種の一例として、生物地理学的にも重要な存在である。国内では1955年に特別天然記念物に指定され、また、環境省レッドリストでは絶滅危惧IB類に分類されている。2012年には環境省により保護増殖事業が策定・開始された。2023年時点で、生息域外における飼育個体群は約60羽であり、一定の繁殖成功が確認されている。日本産ライチョウは氷期からの孤立的な進化過程を経ており、高山という特殊な環境への適応と同時に、外的要因への脆弱性も高い。近年ではシカの食害による植生破壊や、高山帯への捕食者の侵入による影響が指摘されており、個体群の孤立化とともに近交の進行や遺伝的多様性の低下が懸念されている。

本亜種の持続的な保全を進めるためには、これまでの形態的・生態的な知見に加えて、ゲノムレベルでの遺伝構造や多様性の把握が不可欠である。本研究では、5地域の野生個体群に由来するサンプルを用いて、全ゲノム解析を行い、個体群間の系統的関係、ゲノム内の遺伝的多様性、ならびに有害変異の蓄積状況を評価した。これにより、集団ごとの遺伝的特性と保全上のリスクを定量的に把握し、今後の域内・域外保全の方向性を科学的に裏付けることを目的とした。

集団構造と集団のゲノムの特徴

5山岳の野生個体群（M1-M5）を対象とした主成分分析（PCA）や系統解析の結果、本州中部地方に残存するライチョウの個体群は図1-10に示したように、個体群M1-M5からなる系統1と個体群M5が属する系統2という2つの保全集団として扱うことが妥当であることがわかった。

ゲノム中のROHの割合は、系統1のM1と系統2において有意に高くなっていた。ROHに基づく近交係数は、M5集団が最も高かった。有害変異（ナンセンス変異）は各個体あたり40～70個が検出され、その数およびサイレント変異との比率は、M5集団において最も低かった。これに対し、M1～M4の集団ではナンセンス変異の相対頻度が高く、特にM1でその傾向が顕著であった。また、ナンセンス変異およびROHのゲノム上の位置には、同じ個体群内であっても個体間差が見られた

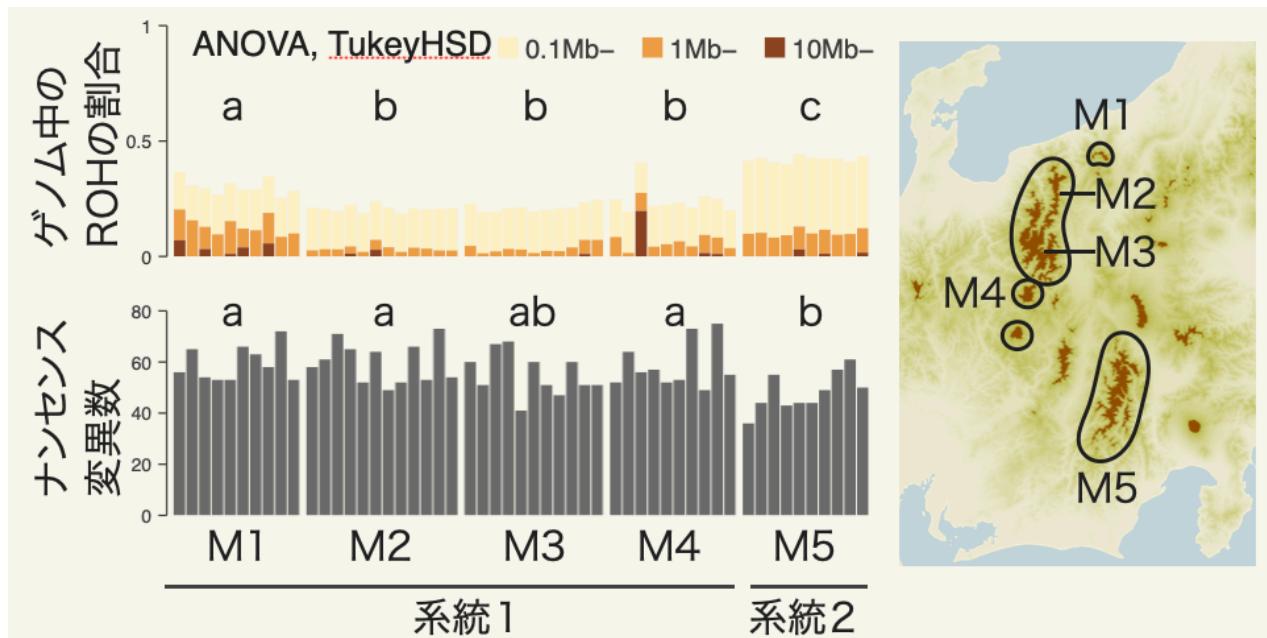


図1-10 各集団、各個体ごとのゲノム中のROHの割合と有害変異（ナンセンス変異）数 ROHはその長さによって0.1Mb～, 1Mb～, 10Mbに分け、ゲノム中の割合を色で示した。

考察

本研究では、ライチョウ日本亜種を対象に全ゲノムスケールでの解析を実施し、遺伝的構造の解明、保全単位の設定、および各集団のゲノム健全性の評価を行った。その結果、従来のマイクロサテライトや形態的情報では捉えきれなかった集団間の進化的独立性や遺伝的脆弱性の実態を明らかにすることができた。

特にM5集団は他集団と明確に遺伝的に分離し、単系統を形成していたことから、長期にわたって孤立し独立に進化してきた集団であると判断される。一方、M1～M4の集団は共通の遺伝的特徴を示しており、本州中部に残存するライチョウ個体群は、M5とそれ以外の2つの保全集団に分けて管理することが適切と考えら

れる（図1-21）。M5ではROH領域が最も顕著に確認されたが、ナンセンス変異の頻度が他より低く、長期的な孤立と集団サイズの小ささにより有害変異が効率的に淘汰された可能性が示唆された。これに対し、M1～M4の集団、特にM1では有害変異の蓄積が進行しており、将来的な個体数減少や遺伝的浮動によって適応度低下のリスクが高まる懸念がある。

これらの知見は、ライチョウの保全において、個体数の多寡や分布状況といった外形的な指標だけでは捉えきれない、ゲノムレベルのリスクや進化的独立性を可視化するものである。とくに、再導入や飼育繁殖に用いる個体の選定に際しては、ナンセンス変異の蓄積が少なく、近交の影響が軽微な個体を優先することで、将来の遺伝的リスクを軽減できる可能性がある。

■ホシツルラン

ホシツルラン (*Calanthe hoshii*) は小笠原諸島・母島に固有に固有のラン科エビネ属に属する多年生草本である。本種は1960年代末に初めて発見され、1983年に新種として記載された。発見当初から自生個体数が極めて少なく、また分布域もごく限られていた。野生状態では、母島の山地斜面や湿った岩場など、きわめて限られた環境に生育していたが、複合的な要因により個体数は急速に減少した。環境省レッドリストでは絶滅危惧IA類（CR）に分類されているが、近年、最後の野生個体の枯死が報告されたことから、事実上「野生絶滅」に近い状況にある。本種は2004年に「種の保存法」に基づく国内希少野生動植物種に指定され、保護増殖事業の対象にもなっている。これまでに、小石川植物園をはじめとする複数の植物園が連携し、生息域外保全に取り組んできた。分株などの栄養繁殖により、国内各地の植物園において栽培・保存が行われている。野生復帰を目的とした再導入も試みられてきたが、野外環境における定着率は極めて低く、特に発芽後の実生が十分に生育せず枯死する事が多く、再導入された個体群の世代交代は達成されていない。

現在、野外個体群は消滅したと見られ、現存する個体はすべて栽培個体およびそれに由来する再導入個体で構成されているが、このような状況において、栽培個体群の遺伝的特性の解明と、それに基づく適切な保全戦略の策定は、ホシツルランの種としての存続に直結する課題である。今後は、遺伝的多様性の維持を前提とした繁殖管理と、野外環境への適応性を踏まえた段階的な再導入が必要である。以下に記述したホシツルランに関する解析結果は、**研究成果論文3**で公表した。

系統解析および集団構造

分子系統解析の結果、ホシツルランは近縁種であるツルランと明確に分化していることが確認された。また、現存する個体には、3つの主要な遺伝的クラスターが認められた（図1-11）。クラスター1は全体の95%の個体を占め、主に母島島内の植栽または野生由来の個体に該当した。一方、クラスター2およびクラスター3は極めて限られた個体から構成され、いずれも小石川植物園の域外保全個体群のみに存在した。

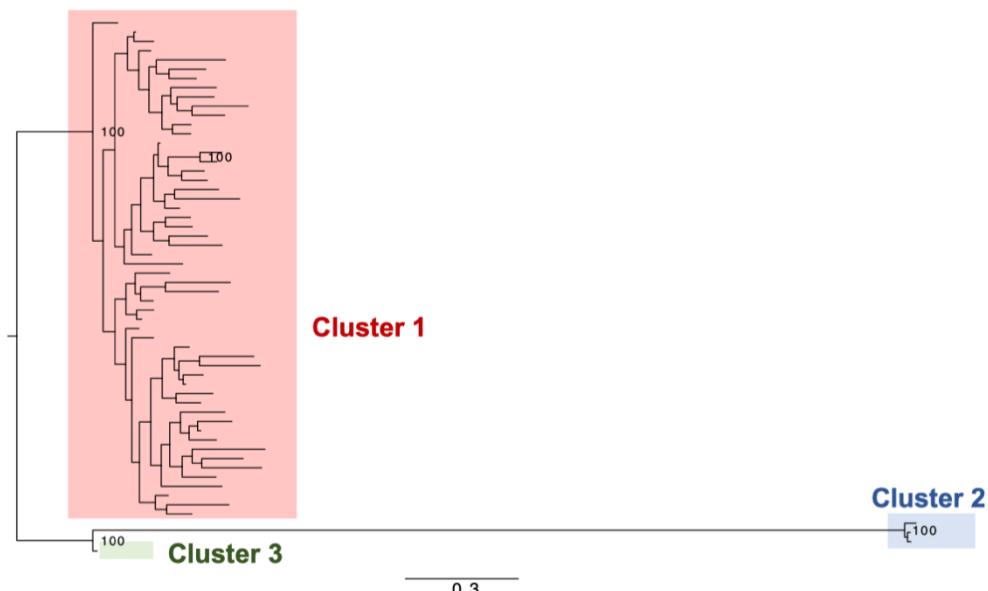


図1-11 ホシツルランの種内系統樹 4,470個の単一ヌクレオチド多型（SNPs）をRAxML-

ng (GRT+G4モデル)を用いて推定し、ブートストラップ500回を実施した結果をFigTreeバージョン1.4.4で可視化

さらに、STRUCTURE解析においても系統樹と一致する集団遺伝構造が支持された(図1-12)。特にクラスター2および3は系統樹上でもクラスター1と明瞭に分岐し、想定祖先集団からの遺伝的分化を示すF値は0.6728および0.8472と高く、独立した遺伝的背景を有することが示された。

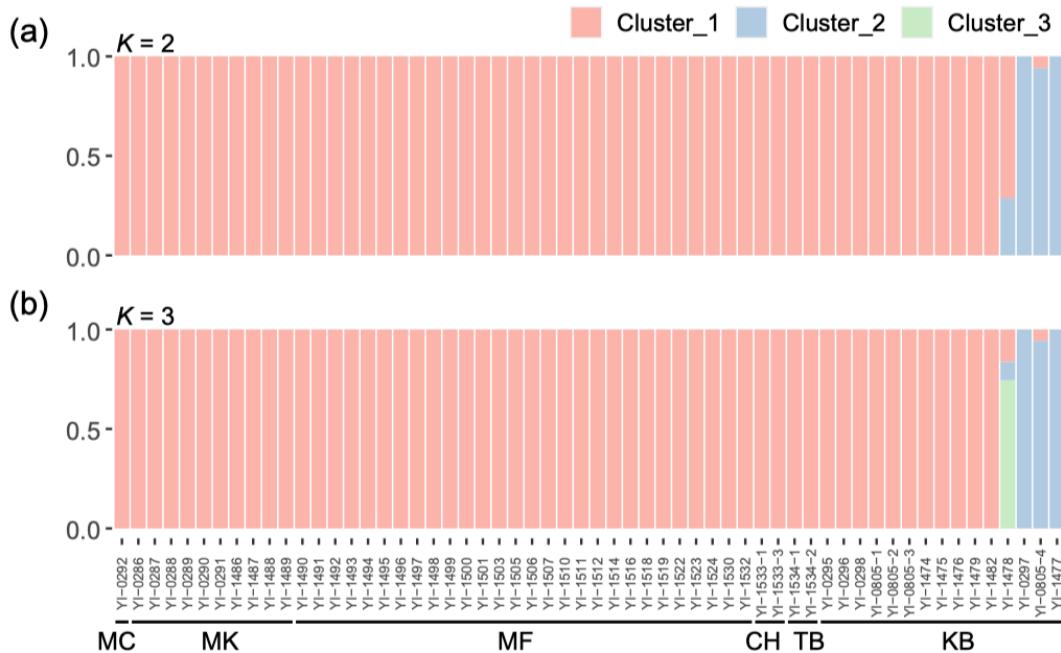


図1-12 STRUCTURE解析によるホシツルランの遺伝構造解析結果 (a) K = 2 および (b)

K = 3。下部の略語は現在の生育地を表し、すべて生息域外保全あるいは植栽個体である。

MK: 桑ノ木山, MC: 乳房山, MT: 舟木山, CH: 母島(採集地非公開), TB: 筑波実験植物園, KB: 小石川植物園

遺伝的多様性の評価

ホシツルランのゲノム全体における遺伝的多様性(ヘテロ接合度の観測値)は、 $0 \sim 3.0 \times 10^{-5}$ (平均 1.0×10^{-5})と、ツルランの平均値(1.5×10^{-4})と比較して著しく低かった。これは、ホシツルランが小笠原諸島内で長期間にわたって小集団で維持され、世代交代した結果、個体内および個体間の遺伝的変異が著しく失われたためと考えられる。野生個体および再導入地で自然更新された個体、双方において同様の低い遺伝的多様性の水準であった。

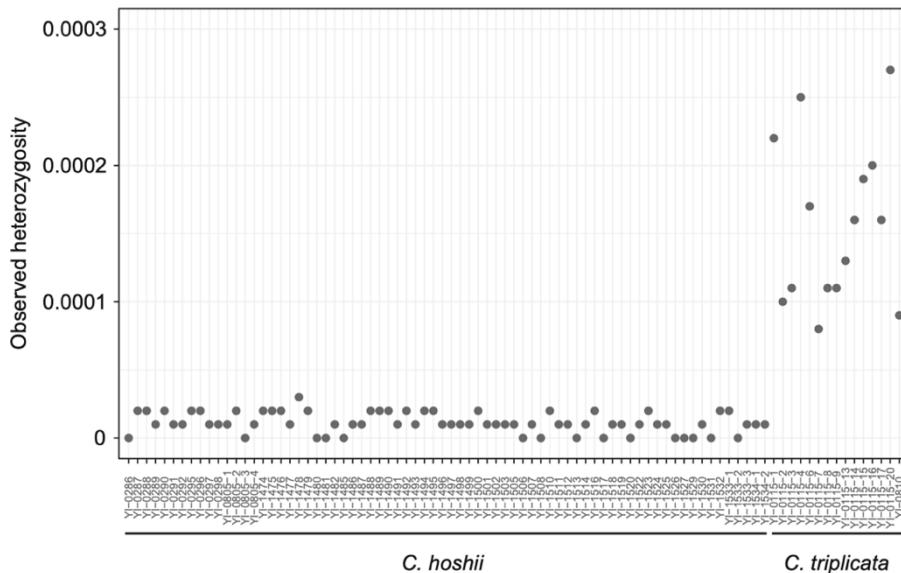


図1-13 ホシツルランとツルランの遺伝的多様性(ヘテロ接合度)

保全に向けた知見と今後の方向性

ホシツルランは種内および個体レベルの双方において、極めて低い遺伝的多様性を有することが明らかとなった。ヘテロ接合度の著しい低さに加え、系統解析および遺伝構造解析から識別されたクラスター構造は、本種が長期にわたって小規模な集団として存続し、世代交代とともに遺伝的多様性を喪失したものと考えられる。

ホシツルランの現存個体の網羅的な解析の結果、判明したことで注目すべきは、クラスター2およびクラスター3に属する個体が小石川植物園にのみ限定的に存在しており、母島島内の植栽個体群には含まれていない点である。これらの個体は、ホシツルランが有していた遺伝的多様性を保持している可能性が高く、今後の保全戦略において極めて貴重な遺伝資源と位置づけられる。例えば、現在ホシツルランは人工授粉を行っても苗の生存率が低いが、これは近交弱勢の弊害による可能性が高い。今回明らかになったクラスター2及び3の個体は、大多数を占めるクラスター1と異なった遺伝的背景を持つため、交配親として有効に機能する可能性がある。

本種は2021年に最後の野生個体が死亡したことにより、実質的に野生絶滅(EW)と評価されうる状況にある。現在母島の3地点で再導入が試みられており、一部では再導入個体に由来する自然実生も確認されているものの、それらも数年以内に枯死しており、安定的な定着には至っていない。このような状況の背景には、遺伝的脆弱性のみならず、母島における近年の気温上昇や乾燥化、さらにウイルス感染の影響といった複数の要因が複合的に関与していると考えられる。以上の知見を踏まえると、本種の持続的な保全に向けては、遺伝的クラスターの維持・拡張を目的とした系統保存的繁殖の実施、種子繁殖の導入による遺伝的多様性の回復、ウイルス感染リスクおよび気候耐性を考慮した親個体の選抜と個体群管理等、包括的アプローチが不可欠であると考えられる。

■オオハマギキョウ

オオハマギキョウ (*Lobelia boninensis*) は小笠原諸島にのみ分布するキキョウ科ミゾカクシ属の固有植物である。本種は、海岸近くの崖地や開けた草地を好み、かつては小笠原全体に広く見られたが、現在では著しく個体数が減少しており、環境省レッドリストでは絶滅危惧IB類(EN)に分類されている。この急激な減少の主因は野生化したヤギによる食害であり、特に父島ではこれにより野生個体がほぼ絶滅している。東島では一時、2個体まで減少したが、保全活動により現在は約200個体まで回復している。母島列島では比較的安定して数百個体が確認されている一方、媒島ではノヤギ駆除後も顕著な個体数の回復は見られていない。

これらの状況に対処するため、小笠原諸島森林生態系保護地域保全管理計画に基づき、東島ではネズミなど外来動物の排除が進められている。以下に記述したオオハマギキョウに関する解析結果は研究成果論文7で

公表した。

集団遺伝構造および系統関係

小笠原諸島全域に分布する個体群の包括的な遺伝構造および系統関係の把握のために、7,741座のSNPsに基づきSTRUCTURE解析を行った結果、K=2が最適なクラスタ数であり、北部（聟島列島の中ノ島および父島）と南部（母島とその属島群）に明瞭な遺伝的分化が存在することが明らかになった(図1-14)。

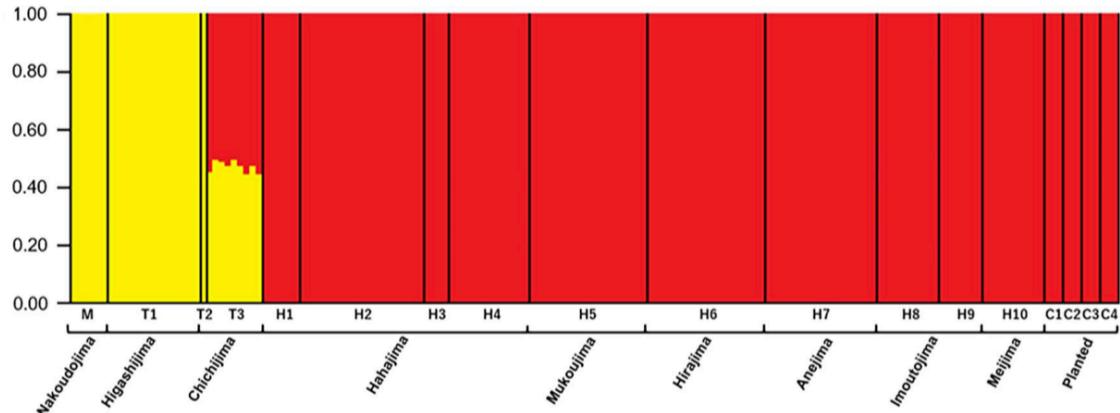


図1-14 2,394個のSNPsに基づくオオハマギキョウ全集団のSTRUCTURE解析の結果

ゲノム縮約解読に基づく系統樹解析(図1-15)においても、STRUCTURE解析の結果と一致する構造が認められ、2つの保全単位として管理することが妥当であると言える。

さらに、父島において保全目的で植栽された個体群(C1-C4)は、すべて南部クレードの一部である母島の属島である向島(H5)に由来しており、植栽個体が種内遺伝子汚染をもたらしうることが明らかになった。

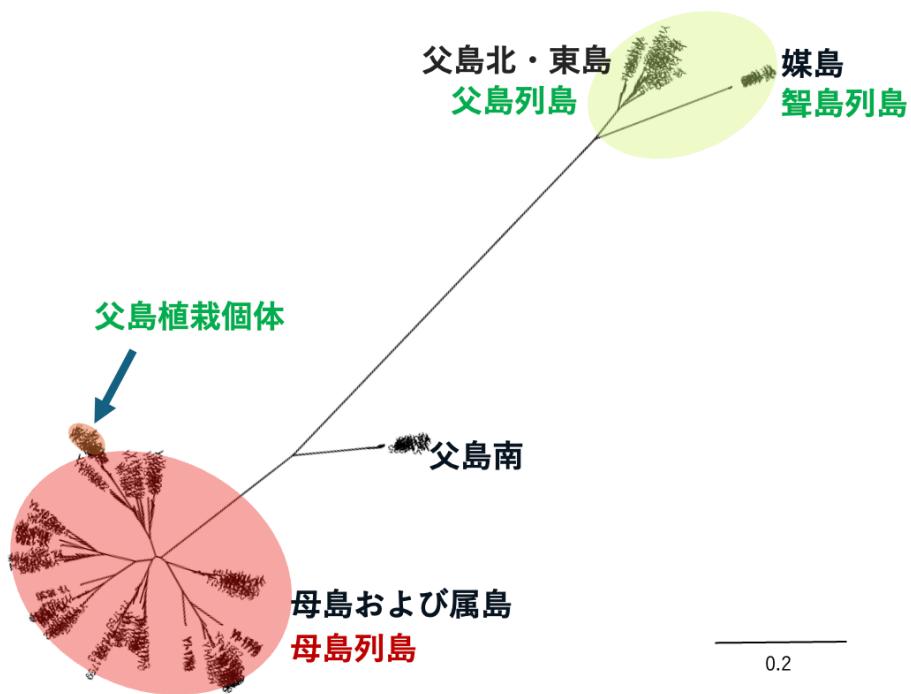


図1-15 オオハマギキョウの系統樹 父島列島・聰島列島のグループと母島列島のグループに2分されたが、父島に植栽されている個体は母島列島の1系統に由来しており、種内遺伝子汚染をもたらしうものであることがわかった。

考察と保全への提言

本研究の結果、オオハマギキョウの集団遺伝構造には明瞭な地理的パターンが存在し、2個の保全単位で管理することが妥当である。小笠原諸島が世界自然遺産として評価されているのは、進化のプロセスが保持されていることがある。オオハマギキョウが小笠原北部と南部で遺伝的に分化しているのは、そのような進化のプロセスを反映した構造であると言える。従って、今後の適切な保全策としては、北部（聟島・父島）および南部（母島島嶼群）の遺伝的系統をそれぞれ独立した保全単位として明確に位置づけ、両者間の遺伝子交流を回避することで、地域固有の遺伝的特性を保持する必要がある。また、植栽や再導入に際しては、導入候補個体の出自を遺伝子解析で明らかにし、導入地に固有の遺伝的背景と一致する個体のみを使用する事が必要である。

今回の解析では、すでに父島に植栽されている個体群が、父島近辺の保全単位とは異なる南部の保全単位に属するものであることが判明した。更にその由来は、母島属島の向島に生育する一系統であり、本種の遺伝構造に搅乱をもたらしうるので、早急な対処が必要である。現在、本研究で得られた知見を元に、父島北部に植栽されている個体を適切な保全単位に属する個体と置き換えるために、東京都及び環境省と協働して。東島で採集した種子を用いた育成が開始されており、小笠原諸島における希少植物の適切な保全に資する具体的な活用へつながっている。

■台湾ホトトギス

台湾ホトトギス (*Tricyrtis formosana*) は、台湾では森林内に広く分布する普通種であるが、日本では西表島と沖縄本島の限定された場所に生育するのみである。西表島では滝の飛沫がかかる環境のみに限られ、野生個体数は100個体程度と推定されている。このような状況から、西表島の個体群は環境省レッドリストにおいて絶滅危惧IA類 (CR) に分類されている。一方で、沖縄本島の個体群は、人里近くの用水路沿いなど比較的開放的な環境に生育することから人為的導入の可能性もあり、保全価値は定まっていない。以下に記述した台湾ホトトギスに関する解析結果は**研究成果論文10**で公表した。

系統解析

系統解析では、台湾ホトトギスは、近縁種である *T. lasiocarpa* や *T. ravenii* を介在して、2つのクレードに分かれた(図1-16)。西表島集団は台湾東部および蘭嶼集団と同一クレードであったのに対して、沖縄本島集団は台湾北部の別クレード内に位置付けられた。このことは日本の台湾ホトトギスが少なくとも2回別経路で台湾から渡来しており、西表島および沖縄本島に生育する台湾ホトトギスにそれぞれ保全価値が認められる。

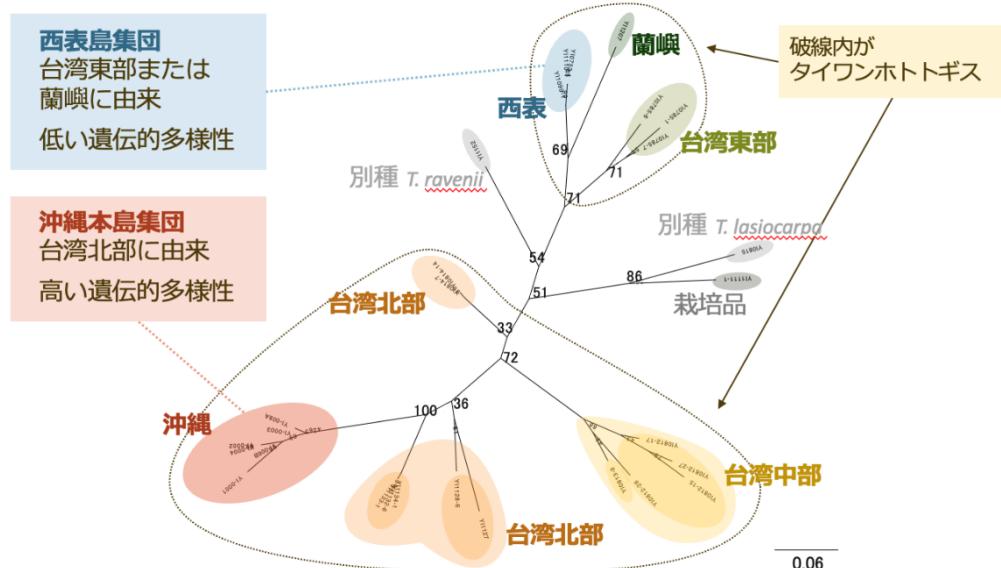


図1-16 核ゲノム情報に基づく台湾ホトトギスとその近縁種の最尤系統樹

集団ごとの遺伝的多様性とゲノム内の有害変異量

RNA-seqによって得られた高解像度のSNPデータに基づき、各集団の遺伝的多様性をヘテロ接合型同義SNVの頻度 (/kb) として定量的に評価した結果、台湾本島の集団に比べて日本国内の集団はいずれも有意に低い多様性を示した（図1-17 a, Kruskal-Wallis検定、 $p < 0.05$ ）。特に西表島集団は、対象集団の中で最も低い遺伝的多様性を示していた。これとは対照的に、沖縄本島集団は沖縄島中央部の1か所に限定されるものの、比較的広範囲にわたって断続的に分布しており、個体数も多く、一定の遺伝的多様性が保持されていた。

RNA-seqに基づいて同定されたアミノ酸変異のうち、SIFTスコアなどを用いた機能予測により、各集団の有害変異の蓄積を評価した結果、西表島集団では、他の集団に比して明確に高い有害変異率を示した（図1-17 b, c, d）。これは、西表島の集団が、小サイズで維持されてきた結果、遺伝的浮動によって有害変異が除去されず、集団内に蓄積されてきたことを示唆している。このような有害変異の蓄積は、繁殖成功率の低下や環境変動への適応力の減退といった実質的なリスクに直結する可能性があるため、保全において極めて重大な指標となる。

これに対して、沖縄本島や台湾本島の集団では、有害変異の蓄積は相対的に少なく、本質的に頑強な性質を維持していると考えられる。西表集団が滝飛沫のかかる場所にのみ存続しているのに対して、沖縄本島が農道沿いに活発に生育しているのもこのようなゲノムの健全性を反映していると考えられる。

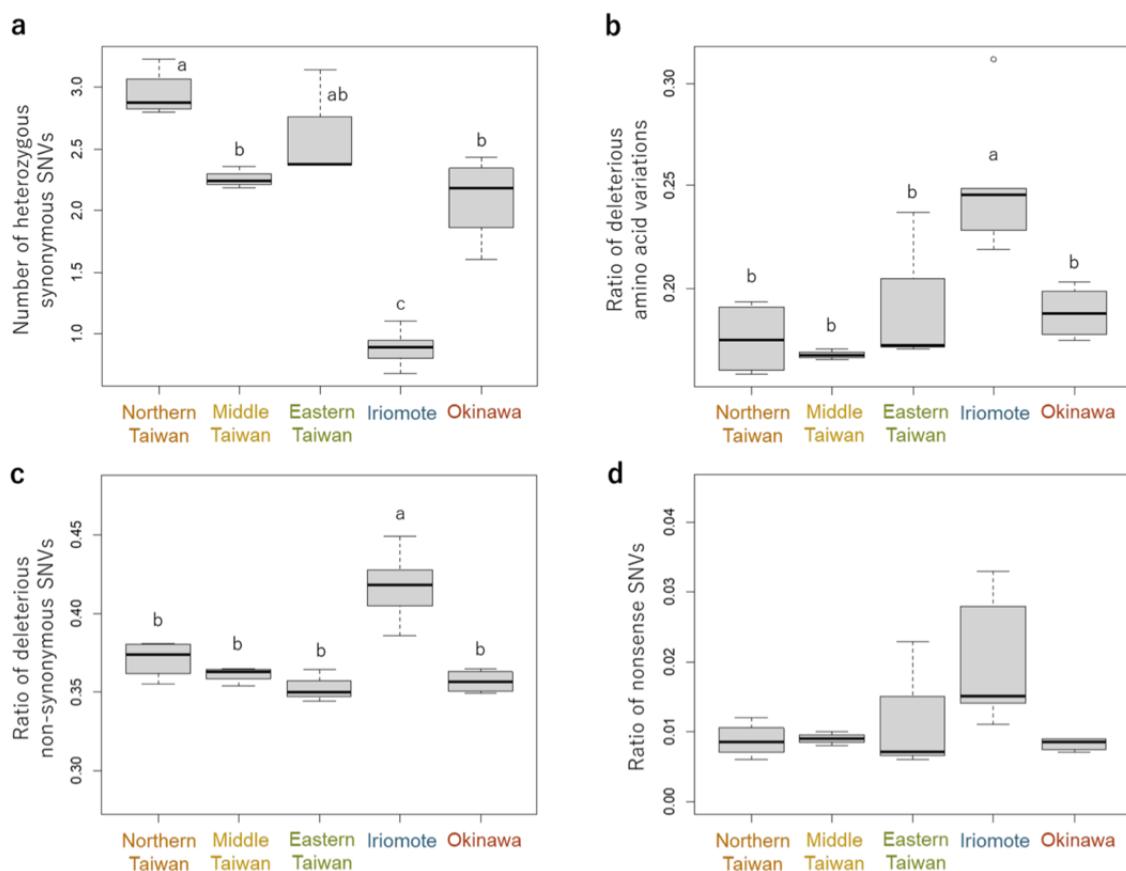


図1-17 トランスクリプトーム解析に基づく、台湾（北部、中部、東部）、西表、および沖縄の個体群の遺伝的特徴 異なるアルファベットは有意差を示す。(a)最長のコーディング配列における1 kbあたりのヘテロ接合体同義SNVの数に基づく遺伝的多様性、(b) PROVEANを用いて推定されたヘテロ接合体SNVにおける有害アミノ酸変異の比率、(c) 各遺伝子ごとに計算された非同義SNVの比率、(d) 非同義SNV全体におけるノンセンスSNVの比率。

考察と保全への提言

本研究により明らかとなった最も重要な知見は、台湾ホトトギスが台湾に存在する2つの異なるクレードから、それぞれ独立した移動によって、異なる起源を持つ2つの集団、すなわち西表島集団と沖縄本島集

団を形成し、更に、遺伝的多様性や有害変異の蓄積量も異なっているという事である(図1-18)。日本の2地域のみに生育するタイワンホトトギスはそれぞれ間違なく自然分布によるものであり、保全価値が認められる。また、これらの集団は、遺伝多様性や有害変異の蓄積の程度において著しい特徴があった。

西表島集団は、ゲノム内に有害変異が多く蓄積されていたが、このことが生育条件を選ぶ（滝の近くの飛沫のかかる場所のみに生育）脆弱な性質に関連しているものと考えられる。一方、沖縄本島集団については、遺伝的に安定した構造を維持していた。ヘテロ接合度や有害変異蓄積量も、台湾本島の野生集団と同等の水準にあり、現状では特段の危機的状況にはないと判断できる。

以上の知見は、タイワンホトトギスの保全計画において、地理的起源と遺伝的特性の両側面を重視する必要性を明確に示している。今後、同様のゲノム解析を他の絶滅危惧植物にも実施することにより、その進化的歴史や本質的な脆弱性などを評価することができ、より実効的な生物多様性の保全体制の構築が期待される。

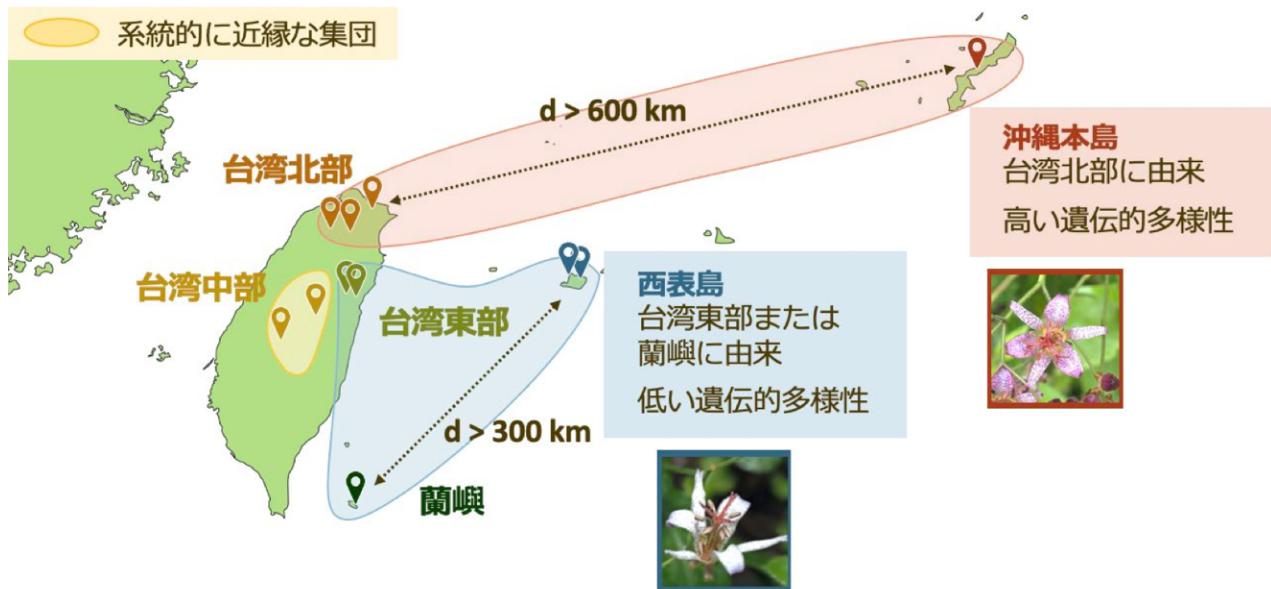


図1-18 沖縄本島と西表島に生育するタイワンホトトギスの由来と遺伝的特徴

■全サブテーマに関する統合的考察

サブテーマ1では他のサブテーマで対象とした分類群の解析結果も合わせて統合的解析・考察を行った。種の保存法に基づく保護増殖事業対象種はいずれも現存個体数は少ないが、その殆どは、過去において現在の集団よりも遙かに大きなサイズの集団として生存していたはずである。開発、汚染、採集、外来種など多様な要因で、これらの種の集団は孤立、縮小してきたと思われる。大集団が小集団に至るプロセスの速さや持続時間、そして現在存続している集団のサイズ、種特性、繁殖システムなどは、それぞれの保護増殖事業対象種において異なっており、その違いは個体や集団におけるゲノム構造や遺伝構造、すなわち、遺伝的多様性、ゲノム内に保持されている有害変異の質と量、ROH領域の長さと質など、に影響を与えるものである(図1-19)。本研究では個体群動態やゲノム構造について、保護増殖事業対象種など希少種について解析を行い、個別のケースにおいて特徴あるパターンを見出すことができた。

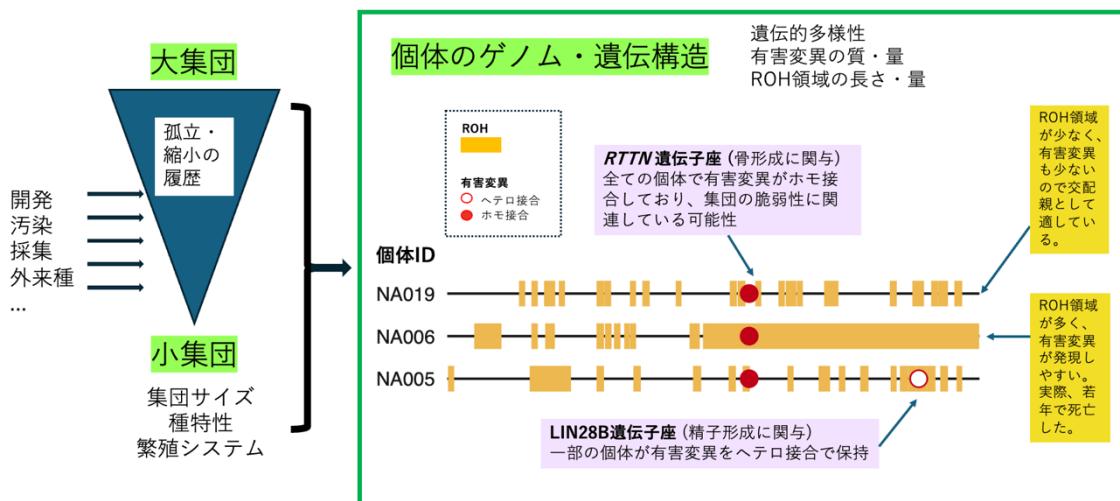


図1-19 大集団から小集団への変遷と個体のゲノム・遺伝構造

本研究では鳥類、植物、魚類、昆虫類の希少種を対象に詳細なゲノム解析を行ったが、これらの分類群は生存する個体数が著しく少ないという点で共通しているのにもかかわらず、ゲノムの状態は解析分類群や集団によって大きな違いが見出された。例えば、ゲノムの状態を示す要素の中で、生物保全上重要な要素である有害変位量と遺伝的多様性には、解析分類群ごとに大きな違いが認められた(図1-20)。そして、図1-20に示した平面上における位置づけによって、より効果的な保全策の構築を提案することも可能である。例えば、図1-20の右下に位置する分類群は、種内に保持されている遺伝的多様性が著しく低い上に、ゲノムに蓄積されている有害変異も多いものである。これらは、本質的に脆弱であり、今後の個体群の維持が懸念されるものであるため、野生状態での維持管理とともに、手厚い生息域外保全を行うことが求められる。実際にこのグループに含まれる保護増殖事業対象種ホシツルランは、近年ほぼ野生絶滅状態となっており、本研究で明らかになった生息域外保全集団内の僅かな遺伝的変異を活用した交配親の選定による人工繁殖を行うことが必要と考えられる。また、今回の解析までに保全価値や保全難易度が認識されていなかった、ハハジマノボタンや西表産タイワンホトトギスもこのグループに含まれるために、慎重な保全策の構築が必要なものである。また、イタセンパラでは集団ごとに危機的な状況が異なっていたが、管理方法を変えることで、有害変異に対して浄化選択を起こせることを示せたのも本研究の大きな成果と言える。

保護増殖事業対象種の多くは遺伝的多様性が低くなってしまっており、種の存続が懸念されるが、そのような種の中にも、アカガシラカラスバトのように、長期間にわたって浄化選択が自然に機能していたために、ゲノム内の有害変異蓄積量少ない分類群があることが判明した(図1-20左下)。アカガシラカラスバトは天敵であるノネコを防除することで著しく個体数が回復し、保護増殖事業対象種の中では、種の存続に関して明るい展望が示されているものであるが、そのような性質とゲノム構造が関連していることは学術的に興味深いだけでなく、保護増殖事業の成否予測や難易度予測にゲノム情報が有用に活用できることを示すものである。本研究のアプローチを他の保護増殖事業対象種にも適応すれば、より効率的かつ効果的な事業を推進できることが期待される。

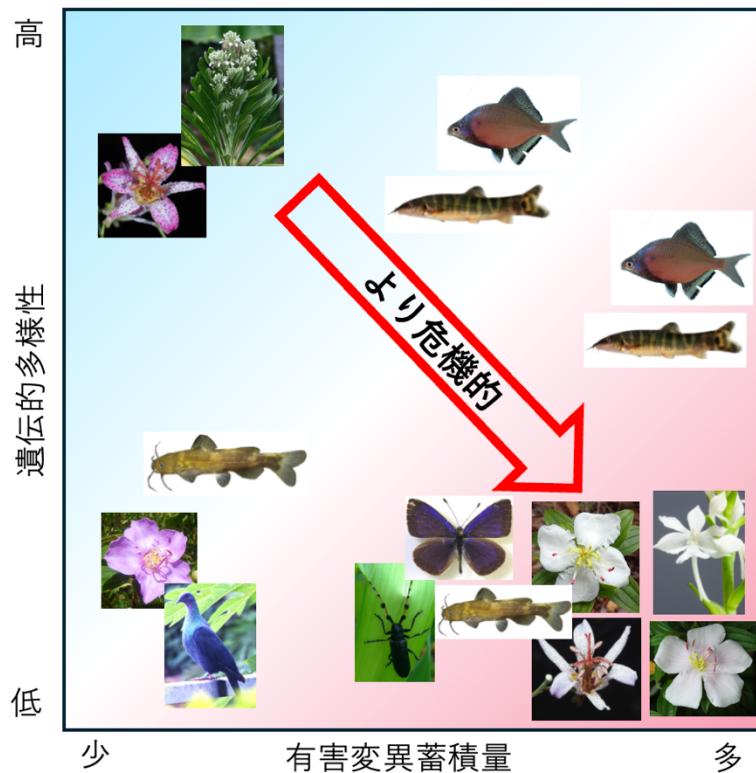


図1-20 希少種がゲノム内に保持する有害変異蓄積量と遺伝的多様性

遺伝的多様性が低くゲノム内の有害変異が高い分類群ほど危機的であり、慎重な保全が必要である。図示した魚種に関しては集団によってゲノムの状況が異なつており、適切な保護増殖事業には集団単位のゲノム解析が必須といえる。

サブテーマ2

(1) 新規全ゲノム配列解読とリシーケンシング

サブテーマ2（魚類）では、当初計画で選定した国内希少野生動植物種の淡水魚イタセンパラとアユモドキの2種（共に平野・氾濫原性の種）に加え、ネコギギ（河川中流域）とヒナモロコ（平野・氾濫原性）を対象として、新規全ゲノム配列解読を実施した（図1-21）。特にイタセンパラ、アユモドキ、ネコギギについては、高精度ロングリード（HiFi reads）とHi-C法の組み合わせにより（Kadota et al. 2020）、染色体レベルでまとまった良好な参照全ゲノム配列を得ることができた。高品質なDNAを得ることができなかったヒナモロコについても、一定程度の品質のドラフトゲノムを得ることができた。

これらの参照全ゲノム配列を利用して、各種の自然史（分布域形成や集団の歴史動態）、生息域外保全集団の遺伝学的評価の各種解析のために、野生および飼育集団の多個体についてリシーケンシングによる全ゲノム配列情報の取得が行われた（表1-2）。

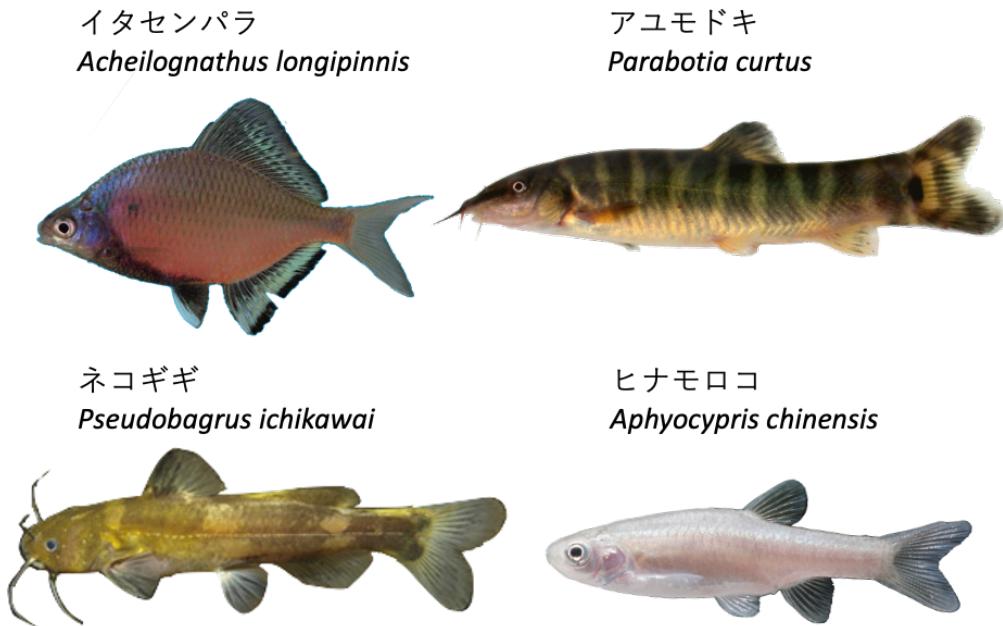


図1-21 サブテーマ2で対象とした絶滅危惧淡水魚4種

表 1-2. 全ゲノム配列を解読した野生・飼育集団数と個体数

標準和名	野生集団数 (合計個体数)	飼育集団数 (合計個体数)	合計
① イタセンパラ	3 (18)	2 (11)	5 (29)
② アユモドキ	4 (46)	1 (14)	5 (60)
③ ネコギギ	5 (58)	2 (32)	7 (90)
④ ヒナモロコ	1 (3)	2 (9)	3 (12)

(2) 野生集団の解析に基づく自然史の解明

■イタセンパラ

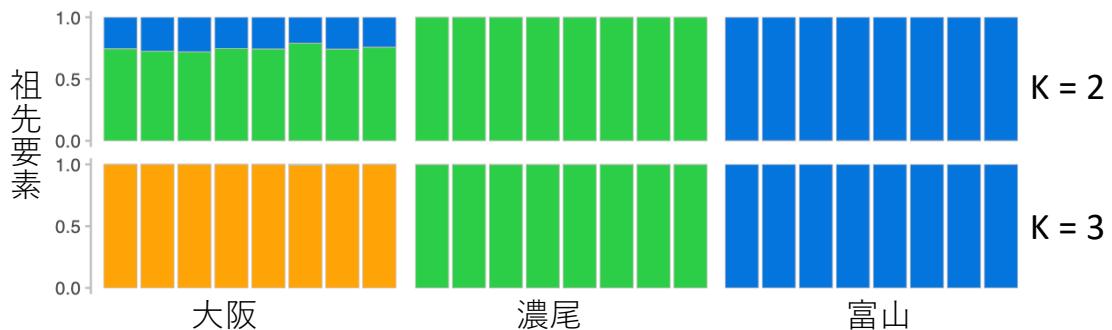
集団構造：Admixtureを用いた集団構造分析や主成分分析の結果、K = 3で大阪、濃尾、富山の個体が明確に分離した（図1-22；Onuki et al. 2024；研究成果論文12）。

系統関係：大阪、濃尾、富山の個体はそれぞれまとまり、集団の単系統性が支持された（図1-23b, c；研究成果論文12）。3集団間の関係については、濃尾集団と富山集団が単系統であり、大阪集団がその外側に付くことが高い統計的支持値によって支持された。これはミトコンドリアDNAの系統関係とは大きく異なっていた（図1-23d）。

集団動態モデリング：3集団の系統関係およびさまざまなタイミングでの遺伝子流動の有無に関する48の集団動態モデルを作成し、合祖シミュレーションにより、最適モデルの選択とバラメータの推定を行った。その結果、類似した支持を示すモデルも存在したが、最適モデルは、系統解析と同様、大阪集団が最初に分岐し、想定したすべてのタイミングで遺伝子流動があるモデルが選択された（研究成果論文12）。関連する山地形成（数百万年から150万年前；中央高地、鈴鹿・布引山地）による地理的分断による従来のシナリオよりも短い時間スケールで分布域形成が行われたと推定された。平野性のイタセンパラが、山地で隔てられた平野に山地形成よりも後の時代に分布を広げたメカニズムは明らかではないが、それを可能とするような地

史的要因が琵琶湖周辺地域などに存在した可能性がある。今後、他魚種との詳細な比較研究による解明が必要である。

a



b

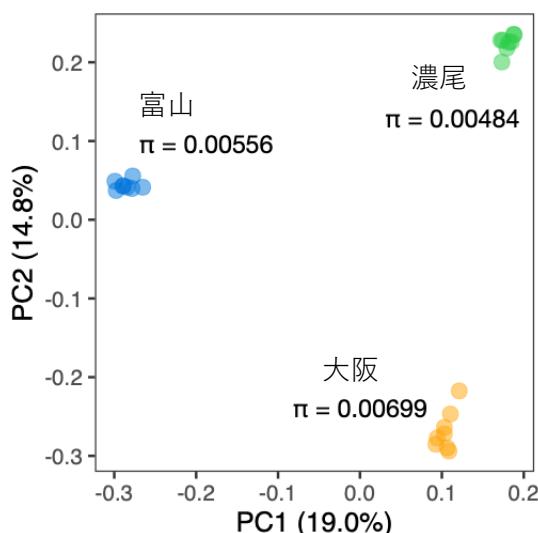


図1-22 イタセンパラの集団構造 (a) Admixtureによる混合分析。各地域集団の個体（それぞれのバー）において推定された祖先要素の割合を示す。K = 2で交差検証エラー値が最小だったが、K = 1～3でほぼ同等であり、K = 3で3集団の個体が完全に分離した。(b) 主成分分析の結果。研究成果論文12より引用

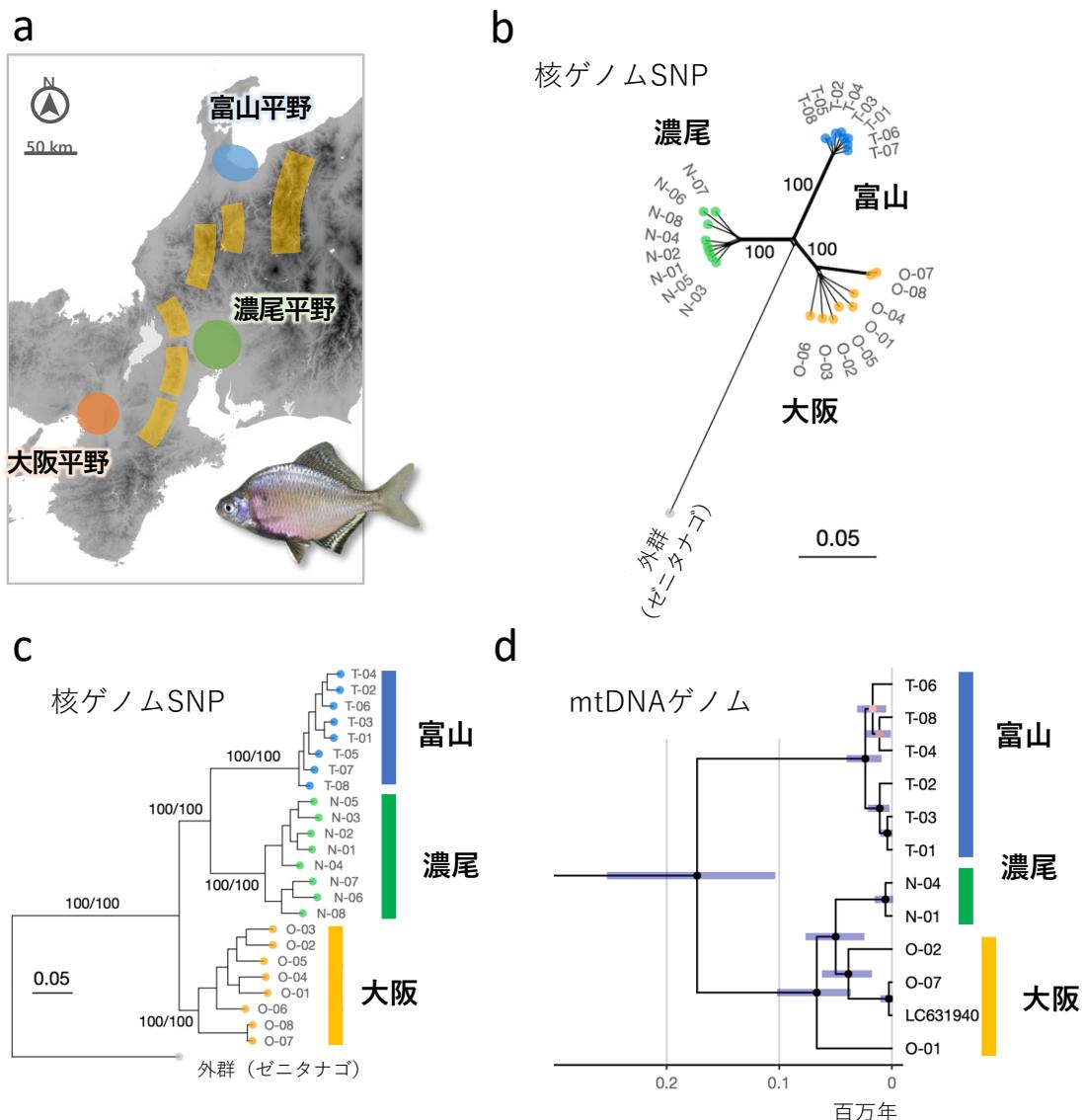


図1-23 イタセンパラの地域集団の類縁関係 (a) 3集団の分布、(b) 核ゲノムSNP（約97,000）に基づくneighbor-net。枝の数字はブートストラップ値、(c) 核ゲノムSNPに基づく最尤系統樹。枝の数字はShimodaira-Hasegawa近似尤度比検定による支持値およびウルトラブートストラップ値、(d) ミトコンドリアゲノムによる時間系統樹。詳細は**研究成果論文12**を参照

歴史集団動態分析：PSMC法（以下、各手法についてはNadachowska-Brzyska et al. 2022など）をそれぞれの集団の各個体について適用したところ、いずれも最終氷期中～後期（数万年～1.2万年前）における集団サイズの縮小を示した（**図1-24a；研究成果論文12**）。この傾向は、MSMC法による結果からも支持された（**図1-24b**）。氾濫原に適応した本種において、冷涼・乾燥的な氷期が、各集団で共通した集団サイズの減少をもたらした可能性がある。

MSMC法による結果において、富山集団と濃尾集団は後氷期に減少を続けたが、大阪集団は約10,000～3,000年前の期間に増加し、その後再び減少を示した（**図1-24b**）。PopSizeABC法の結果は、後氷期の濃尾平野での集団縮小の継続を示し、そして数百年前までにすべての地域集団において減少傾向が停滞、または増加、そして300～500年前から再び減少に転じたことを示した（**図1-24c**）。最終的な有効集団サイズは、富山集団が最も大きく、続いて濃尾集団、大阪集団の順であり、近世以降いずれの平野の集団も縮小したものと推定され、特に大阪集団において顕著であった。氷期の集団縮小、後氷期、特に近世以降の顕著な集団縮小を示す結果は、氾濫原性のイタセンパラの生態と密接に関わると考えられ、特に大阪平野において顕著な、

近世以降の人間活動の影響を反映している可能性も示唆する。

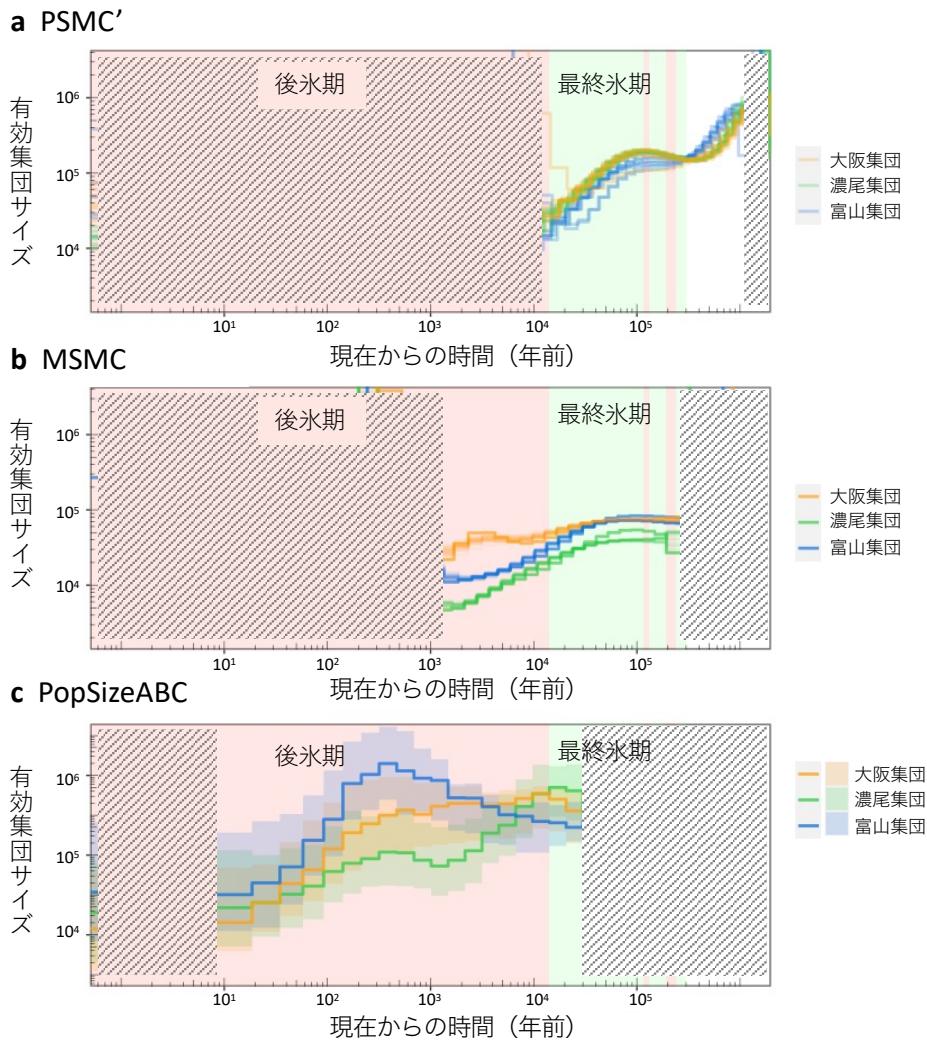


図1-24 イタセンバラの3地域集団の歴史的集団サイズ動態 突然変異率を 3.50×10^{-9} /年/塩基、世代時間を1年と仮定し、(a) PSMC (1集団8個体、各個体)、(b) MSMC (1集団4個体)、(c) PopSizeABC (1集団8個体)により推定した。方法上信頼性の低い年代範囲については、陰をつけて示している。研究成果論文12より改変

■アユモドキ

現存する近畿グループ (1野生集団、1飼育集団) と山陽集団 (3野生集団) に関して、全ゲノムデータに基づく集団解析を行った結果、近畿地方と山陽地方の集団は2万年前、あるいはそれより古い時期 (5万年～) に分かれ、わずかに遺伝子流動を保ちながらも、基本的に独立した地域グループとして存在してきたと考えられた (Ido, Watanabe et al. 未発表)。

近畿グループにおいて、数kmほど離れた地点で得られた個体に起源する飼育集団は、現在の野生集団とは遺伝的な差異がみられた。しかしこれは飼育下での遺伝的多様性の喪失と遺伝的浮動による結果だと考えられた。また、山陽地方の旭川水系集団と吉井川水系の一方の集団はそれぞれ遺伝的な独自性を示したが、吉井川水系の1つの集団はその両方の特徴を併せもっており、比較的近い過去に山陽地方の中で複雑な集団の隔離や混合の歴史があったことを示唆した。

PSMC法、MSMC法による歴史集団動態の解析の結果、近畿、山陽両グループの集団はいずれも、最終氷期後期に集団の縮小を示し、さらに後氷期にかけて集団の縮小が続いたものと推定された。これは氾濫原性の本種にとって、氷期の寒冷・乾燥気候が個体数の減少を引き起こしたこと、さらに後氷期の海水準上昇が特に山陽地方でのハビタットの縮小をもたらした結果である可能性を示唆している。今後、さらに近年の集

団動態の解析が望まれる。

■ネコギギ

ネコギギの全ゲノム配列およびそれを利用したMIG-seq法によるSNP解析から、これまでの方法では明らかにするのが難しかった近い過去に形成された集団構造を描き出すことに成功した(Onuki, Watanabe et al. 未発表)。17の地域集団を対象とした解析の結果、ネコギギの集団構造は、大きく南北に分かれ、南部集団グループは湾の東西を横断して分布していた。これらの結果は、湾状の地形と古水系から理解しやすいものであった。海水準が下がり、各水系を束ねる古水系が出現した最終氷期には、各水系の集団は遺伝的に交流したと推定され、その後の海水準上昇に伴って、現在の集団構造が形成されたと考えられる。また集団分化後の集団動態は各水系の集団で多様であった。

ネコギギでは複数の地域集団が絶滅の危機にあり、生息域外保全を含めた保全対策が進められている。その中には、遺伝的多様性の低下と近親交配が避けられにくい状況にあるものもある。将来的に他集団との交配により遺伝的多様性の回復を目指す場合(遺伝的救済策)にも、北部-南部集団グループ構造や遺伝的分化の程度を考慮し、できるだけ地域集団の独自性の保全を図りながら、計画、実施がなされていくことが望まれる。

■ヒナモロコ

事前のMIG-seq分析(Watanabe et al. 2020)により近縁種と交雑をしていないと考えられるヒナモロコと日本に導入された台湾産の近縁種キクチヒナモロコの全ゲノム配列データを用い、PSMC法で歴史集団動態を推定した(Katayama, Watanabe et al. 未発表)。ヒナモロコとキクチヒナモロコの集団動態パターンは、100万年レベルで異なっており、両種の分化が大きいことを示唆した。これはミトコンドリアDNAによる概算(200万年以上; Watanabe et al. 2020)と整合的であった。

ヒナモロコでは最終氷期の前半に集団の拡大がみられ、他種同様、末期(極大期)に野生集団では集団縮小がみられた。一方、飼育集団では個体間のばらつきが多く、詳細は不明であった。キクチヒナモロコは最終氷期の前半に集団の縮小がみられ、末期には拡大が認められるなど、台湾において、ヒナモロコとは明らかに異なる集団の歴史動態をもつことが示された。

近縁種との混合がどのように種の独自性を変質させ、また極端に低下した集団の遺伝的救済としてはたらくかを理解するためには、今回明らかにした全ゲノム配列を基盤に、今後、現存集団を含め、多くの試料が残っているキクチヒナモロコと混合した集団が、混入後、どのようにゲノムを変容させていったかを分析していく必要がある。

(3) 飼育集団の解析に基づく遺伝的診断と脆弱性評価

イタセンパラ、アユモドキ、ネコギギの3種について飼育集団の解析を実施した(Ido, Onuki, Watanabe et al. 未発表データ)。集団の遺伝的健全性に関して、遺伝的多様性と連続ホモ接合領域、有害突然変異負荷の蓄積と排除、および重要な遺伝的多様性の喪失に着目して、解析、比較を行った。

■遺伝的多様性と連続ホモ接合領域

種内の野生集団と飼育集団を比較したところ、イタセンパラの継代飼育集団は、野外管理池のソース集団と比べて平均塩基多様度やヘテロ接合率が低く、また F_{ROH} や最長ROHは大きく、急激な小集団化の影響が示唆された。一方、富山の野外集団でも多様性は低く、 F_{ROH} も大きかったが、最長ROHは短く、最近の集団縮小というより、歴史的に集団サイズが小さかったものと推定された。

アユモドキの飼育集団では、近縁の現存野生集団と比べて著しい多様性の低下とROH長の増加が観察され、最近の小集団化の影響が特に明瞭であった。

ネコギギでは、飼育集団における変化は小さかったが、創始野生集団の段階すでに多様性が低下していたことが確認された。一方、愛知の野生集団は、歴史的に集団縮小を経験した典型的パターンを示した。

種間で比較すると、平野部に分布するイタセンパラやアユモドキは山間部に生息するネコギギよりも高い多様性を示し、これらの違いは歴史的集団サイズの差を反映していた。一方で、 F_{ROH} やROH長は必ずしも多様性指標と同じ傾向を示さず、ネコギギの一部野生集団では、健全とみなせるレベルのゲノム状態も観察さ

れた。これらの結果は、集団の遺伝的評価には、従来一般に用いられてきた遺伝的多様性の大きさだけでなく、ROHなど全ゲノムレベルの情報を用いた多様性のパターンを把握することの重要性を強く示している。

■突然変異負荷の評価と飼育の影響

飼育下で小集団化が進行すると、近親交配により有害変異がホモ化し、近交弱勢が顕在化する可能性がある。一方、魚類のように多産的な生物では、緩やかな小集団化の過程で、適応度の低下を通じて有害アリルが自然選択により除去される「パージング」が短期間で生じやすい（図1-25）。全ゲノム解析により、有害変異の蓄積やそのホモ化の程度を定量化し、飼育管理の影響を評価することが可能である。

3種の魚類（イタセンパラ、アユモドキ、ネコギギ）で比較したところ、野生集団の推定有害変異の保有量は種や変異の性質（機能喪失変異かそこまでは達しない有害変異か）によって異なり、ネコギギでは機能喪失変異の蓄積が目立ち、イタセンパラでは軽度の有害変異の割合が著しく高かった。これは対象としたネコギギ野生集団がすでに野生絶滅の危機にあったこと、またイタセンパラが歴史集団動態や生息状況から大きな集団サイズをもつこと（軽度の有害変異が蓄積されやすい）と整合的であった。

飼育集団では、ホモ接合化した機能喪失変異はイタセンパラで減少しており、屋外で粗放的に繁殖されている飼育条件がパージングを促進していると推測された。他の種や集団でも、機能喪失変異およびその他の有害変異の数自体は減少傾向にあり、一定のパージングが生じている可能性が示された。一方、アユモドキではホモ接合化した有害変異の割合が上昇しており、近交弱勢の進行が推察された。これらの結果は、パージングが有害変異量の減少には寄与するが、ROH領域に固定された変異は除去されないため、速やかに除去されなかつた有害変異は、長期にわたる小集団において蓄積し、近交弱勢を発現する高いリスクをもつことを示す。

パージングが進む条件下では野生復帰の弊害となる飼育環境への適応も生じるリスクがある。このため、野生に近い環境下で選択がはたらくような飼育条件の設計が重要である。従来推奨されてきた遠縁交配は有害変異のホモ接合化の抑制には有効だが、それだけでは積極的にパージングを促す効果は乏しい。

本研究の事例は次のようにまとめられる。イタセンパラではパージングにより近交弱勢が軽減されている可能性が示され、管理方法の有効性が示唆された。一方、アユモドキでは創始個体数が少なく、長期にわたり人工授精による繁殖が行われてきたため、有害変異のホモ接合化が進行し、高い近交弱勢のリスクが懸念された。ネコギギでは飼育世代数が少なく、家系管理により近交化は抑制されているが、創始個体数の少なさにより今後のリスクが懸念されている。各種での有害変異のモニタリングと繁殖戦略の工夫が今後重要なとなる。

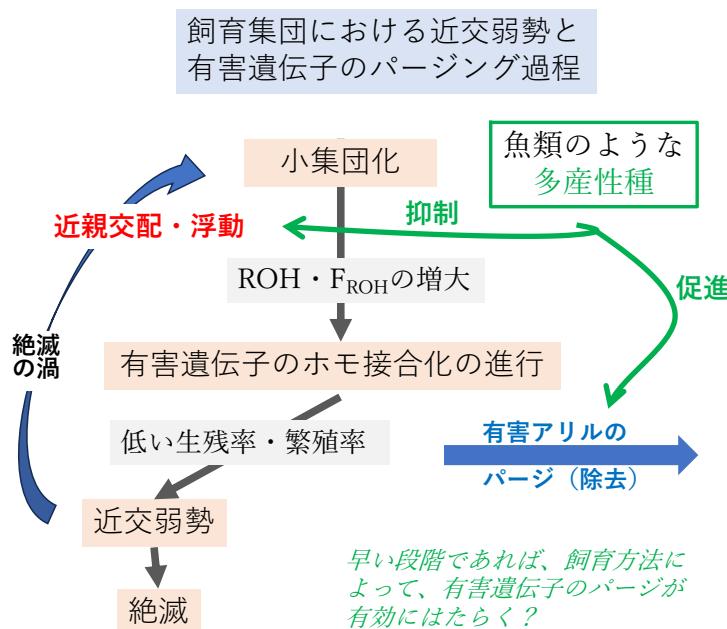


図1-25 飼育集団における近交弱勢と有害遺伝子のパージング過程の対立関係の概念図 小集団化による近親交配や浮動の影響で近交弱勢が生じやすくなり、正のフィードバック（絶滅の渦）で絶滅が促進される一方、選択により有効に有害アリルが除去（ページ）されると、この近交弱勢の顕在化が抑制される可能性がある。選択は集団サイズが大きいときに有効にはたらくので、魚類のような多産性の種の場合、出生時の一時的な集団サイズの拡大により、選択が有効にはたらく可能性がある

■飼育集団で喪失したと考えられる遺伝的多様性

いずれの野生集団でも顕著に多様性を有する領域であるにもかかわらず、飼育集団で遺伝的多様性を失っているゲノム領域に着目し、そこに含まれる遺伝子数と遺伝子を推定した。そのような遺伝子数は長期継代飼育集団であるアユモドキで最も多く、次にイタセンパラが多く、ネコギギで最も少なかった。そのような領域に含まれる遺伝子は多様であり、呼吸、免疫、代謝に関わる遺伝子が含まれていた。遺伝子機能や適応との関係に関するより詳細な検討は今後の課題である。

(4) 研究成果の学術的意義と環境政策等への貢献

本研究では、絶滅危惧淡水魚4種を対象に、最新のゲノム解析技術を用いて自然史と保全に関する多角的な研究を展開した。その学術的意義と環境政策等への貢献として、以下の4点を強調する。

第一に、Hi-Cライプラリの自前構築により、コストを抑えつつ染色体レベルの高精度な全ゲノム配列を作成した。世界的に急速に進められている全ゲノム配列情報基盤の整備において日本は大きく立ち遅れているが（Kryukov et al. 2024）、小規模研究体制による本成果は、今後その改善に貢献するだろう。

第二に、得られた全ゲノム情報を用いて、系統地理や歴史集団動態を詳細に解析し、種や地域集団ごとに共通、または異なる集団縮小の時期や規模を明らかにすることで、種の自然史、保全単位の明確化、自然や人為の環境変化への脆弱性などの解明に貢献した。

第三に、生息域外保全集団の遺伝的変化について、従来の遺伝的多様性指標に加え、ROHや有害変異の保有量・分布に着目し、ゲノムレベルでの近交弱勢やパージングの進行状況を明らかにした。これにより、飼育条件や繁殖方法によって有害変異の蓄積リスクが異なること、魚類の多産性が速やかな選択的除去を可能にしうること、さらには飼育環境での遺伝的変化が野生復帰に影響を及ぼしうることが示された。

最後に、こうした研究成果をもとに、日本固有種の進化史や危機の現状を市民と共有することで、保全意識の向上にもつなげられるものと考えられる。たとえば気候変動下における生物の応答過程の具体的理解は、危機感や対策意識を高める啓発に資すると考えられる。

以上のとおり、本研究は、非モデル魚類での全ゲノム解析の先駆けとして、科学的・社会的に重要な意義をもつものである。

サブテーマ3

■全ゲノム配列の決定

オガサワラシジミは研究開始当初からすでに生存個体が見つかっていなかったことから、ロングリードの配列決定に適した新鮮なサンプルを入手できなかった。そのため、同属近縁種であるルリシジミの全ゲノム情報で代用した。ウスイロヒヨウモンモドキ、フサヒゲルリカミキリ、オガサワラハンミョウについては、新鮮なサンプルを入手できたことから、Promethionによるロングリード、またDNBSEQを用いたショートリードを決定し、それらをもとに全ゲノム配列を決定した。また、ウスイロヒヨウモンモドキ、フサヒゲルリカミキリ、オガサワラハンミョウの3種については、同属近縁種のトランスクリプトームデータを用いて遺伝子予測を行った。いずれも染色体やT2Tレベルとまではいかないが、N50が1 Mbを超えた全ゲノム配列が得られており、保全ゲノミクスのための全ゲノム配列としては遜色のない品質のゲノム情報が得られた。

■対象種1：オガサワラシジミ

・集団動態推定

オガサワラシジミとともに、ルリシジミ及びスギタニルリシジミ（いずれも日本国内に広域に分布する同

属近縁種)について全ゲノムリシーケンスデータをもとにPSMCを用いて集団動態の推定を実施した(図1-26(a))。ルリシジミ及びスギタニルリシジミとともに、過去3万年間、特に最終氷期の終了した1万2千年前以降は有効集団サイズが大幅に増加傾向にあった。ルリシジミは日本本土の草原や都市郊外に、スギタニルリシジミは日本本土の温帯林に広く生息している。最終氷期の終了後に、気候変動や人為的搅乱によって両種の生息環境は国内で面積を増大させたと考えられることから、両種ともに個体数を増加させたと考えられる。一方でオガサワラシジミは過去5-2万年前には有効集団サイズが増加傾向にあったが過去2万年間は減少傾向にあった。1万年前の時点でのオガサワラシジミの有効集団サイズは、ルリシジミ及びスギタニルリシジミと比較して非常に小さい値であった。オガサワラシジミの分布する小笠原諸島は日本本土と比較して非常に面積が小さいことから、有効集団サイズがルリシジミとスギタニルリシジミと比較して歴史的に小さい状態が続いていると考えられる。次に、オガサワラシジミのMIG-seqにより得られたSNPsデータを用いて、Stair-way Plot2による過去1万年の有効集団サイズについても同様に推定した(図1-26(b))。その結果、1万年前から1000年前でさらに有効集団サイズは減少傾向にあった。小笠原諸島は19世紀ごろに定住が開始されている。原因は不明であるものの、オガサワラシジミは人類の入植前から有効集団サイズが減少傾向にあったことが示された。

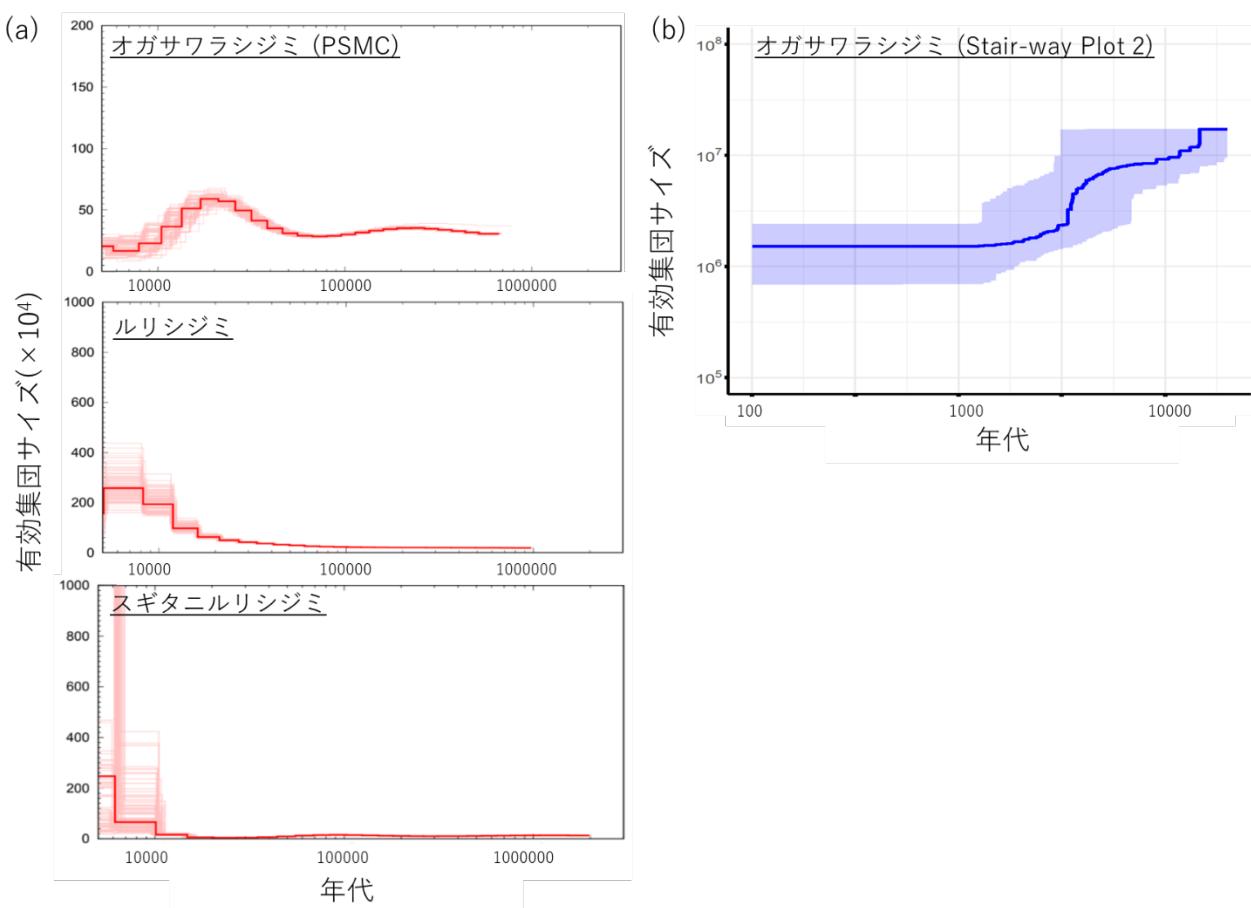


図1-26 (a)PSMC法によるオガサワラシジミ、ルリシジミ、スギタニルリシジミの過去100万年間の集団動態。(b)Stair-way Plot2法によるオガサワラシジミの過去1万年間の集団動態。

・ゲノム縮約解析に基づく遺伝的多様性の変化

2001-2015年までの野生集団(一部に、多摩動物公園での生息域外保全個体を含む)における生息域外保全集団の遺伝的多様性(個体あたりのヘテロ接合度観察値)については、ゆるやかな減少傾向であった(図1-27)。一方で、累代飼育の始まった2016年以降(多摩動物公園1-19世代目(T01-T19)及び新宿御苑0-3世代目(S00-S03))については、世代を重ねるにつれて遺伝的多様性は急激に減少した(図1-27)。特に多摩動物公園12世代目(T12)以降、ほとんどのヘテロ接合度観察値は0.1を下回っていることが明らかとなった。多摩動物公園の累代飼育におけるファウンダーは交尾済みのメス成虫2個体にとどまっていたことから、創始者効果が生じたと考えられる。また、オガサワラシジミの繁殖が困難であるとともに世代時間が短く(生息域外保全集団

において1年間でおよそ6世代交代)、継続的に多数のペアを交尾・産卵させることができることから、世代経過に連れて遺伝的多様性が低下したと考えられる。

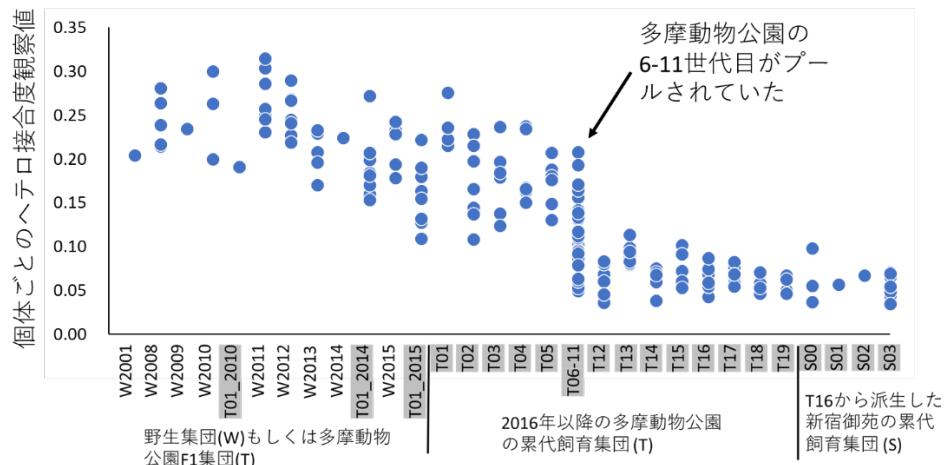


図1-27 オガサワラシジミの野生集団、生息域外保全集団における遺伝的多様性(個体あたりのヘテロ接合度観察値)の時間的変化

・生息域外保全集団における遺伝的多様性の低下と繁殖形質の関係

多摩動物公園の生息域外保全個体における繁殖形質と遺伝的多様性(ヘテロ接合度期待値)の関係について、図1-28に示す。有核精子数、無核精子数については、ヘテロ接合度観察値が高い個体ほど多い傾向が示された。一方で、全精子数における無核精子数の割合と射精管の長さについては、ヘテロ接合度観察値と有意な関係は観察されなかった。

また、多摩動物公園の1世代目では孵化率が90%を超えていたものの、世代が経過するにつれて遺伝的多様性とともに孵化率は顕著に減少し、19世代目では孵化率が約2%となっていた(図1-28)。一連の結果から、遺伝的多様性が減少するにつれ、有核精子数及び無核精子数が減少したことで未受精卵が増加し、孵化率が減少したことが示された。一般的に、遺伝的多様性が減少すると有害突然変異が発現することで、成長や繁殖に悪影響が生じる「近交弱勢」が起こるリスクが高まることが知られている。オガサワラシジミの生息域外保全集団においても、近交弱勢によって孵化率が激減し、結果的に繁殖途絶に至った可能性が高い(研究成果論文4)。

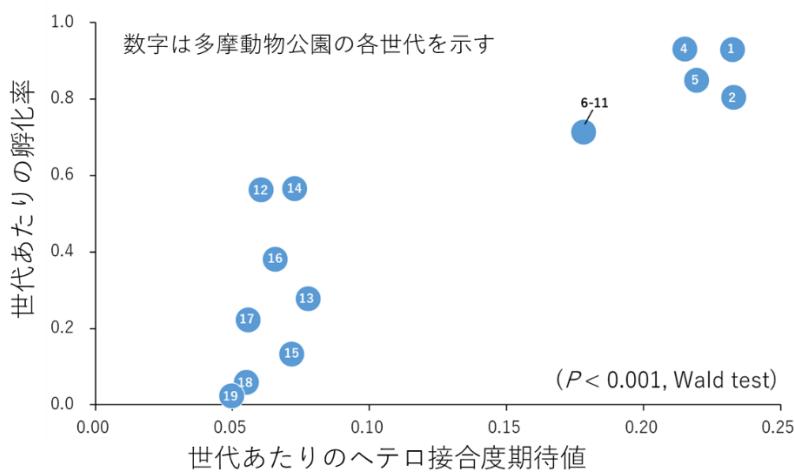


図1-28 オガサワラシジミの多摩動物公園生息域外保全集団における遺伝的多様性(世代あたりのヘテロ接合度期待値)と世代あたりの孵化率。

・野生集団及び生息域外保全集団の遺伝的負荷

全ゲノムリシーケンスを実施し、2015年以前の野生集団(2008-2013年採集)、生息域外保全集団初期(多摩動物公園3-5世代目)、生息域外保全集団後期(多摩動物公園16-19世代目)、ルリシジミ、スギタニルリシジミの遺伝的負荷量を推定した。まず、全機能喪失遺伝子の割合については、オガサワラシジミよりもルリシ

ジミやスギタニルリシジミで高い傾向にあった。これは、ルリシジミやスギタニルリシジミが歴史的により大きい有効集団サイズを保持していたことから、多くの有害突然変異がルリシジミやスギタニルリシジミのゲノム中に蓄積していたためと考えられる。一方で、オガサワラシジミは小笠原諸島にのみ分布し、また長期的に有効集団サイズが小さい状態で保たれてきた。そのため、ゲノム中に占める有害突然変異が適宜除去されたことから、相対的に遺伝的負荷量が小さかったと考えられる。また、オガサワラシジミの遺伝的負荷量は2000年代後半から生息域外保全集団の終了まで変化はなかった。これは、生息域外保全の世代が経過しても機能喪失を起こす突然変異が新たに起きるようなことは少なかったと考えられる。

一方で、ホモ接合の機能喪失遺伝子の割合は、ルリシジミやスギタニルリシジミよりもオガサワラシジミで高い傾向にあった。ルリシジミやスギタニルリシジミは有効集団サイズが大きいことから、保持している有害突然変異がホモ接合になりにくかったためと考えられる。また、オガサワラシジミは2000年代から生息域外保全初期、生息域外保全後期にかけてホモ接合の機能喪失遺伝子の割合が高くなる傾向にあった。また、全機能喪失遺伝子数に占めるホモ接合の機能喪失遺伝子数の割合はオガサワラシジミで世代を経るごとに高くなる傾向にあった。これは、生息域外保全事業による創始者効果や、各世代の繁殖における遺伝的浮動によって、ゲノム中でより多くの有害突然変異がホモ接合となった可能性が考えられる。このように、オガサワラシジミは生息域外保全において、新たに多数の有害突然変異を獲得したとは言えないものの、もともと保持していた有害突然変異が創始者効果や遺伝的浮動によって発現してしまった結果、有核精子数の減少などといった近交弱勢を引き起こしたことが示された。

・生息域外保全集団の創始や存続に必要な個体数の推定

ゲノム縮約解析に供試した個体を5つのグループ（2001–2015年、多摩動物公園1–5世代目、多摩動物公園6–11世代目、多摩動物公園12–15世代目、多摩動物公園16–19世代目及び新宿御苑0–3世代目）に分け、Valbuena-Ureña et al. (2017) に従って、生息域外保全集団の創始や存続に必要な個体数を推定した。生息域外保全の開始される前の2001–2015年の遺伝的多様性（対立遺伝子数）の97.5%を保持するためには、少なくとも26個体が繁殖に関わるようにする必要があることが示された（図1-29）。一方で、多摩動物公園の生息域外保全が開始された初期の段階であっても、遺伝的多様性は2015年以前よりはるかに低く、その後の世代においてはどれだけの個体数を繁殖に参加させても、生息域外保全当初の遺伝的多様性に遠く及ばないことが明らかとなった。

また、遺伝的多様性の97.5%を保持して次の世代の生息域外保全集団が存続するためには、14–22個体が繁殖に関わる必要があることも示された。（研究成果論文4）

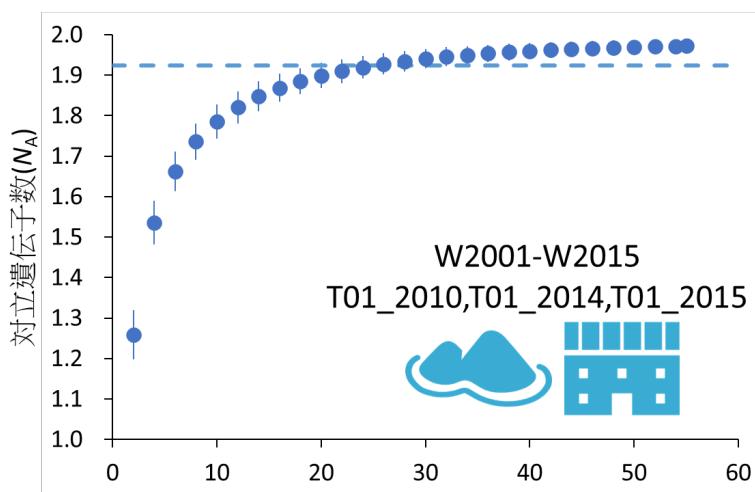


図1-29 生息域外保全集団の創始や存続に必要な個体数（平均値±95%信頼区間）2001–2015年に発生した個体(W2001–2015, T01_2010, T01_2014, T01_2015)のうち、特定の個体をランダムに得た場合にどれだけ対立遺伝子数を保持しているかを示している。点線は2001–2015年の集団の遺伝的多様性の97.5%である。平均値がこの点線を超える個体数が、2001–2015年の集団の遺伝的多様性の97.5%以上を維持する個体数である。2001–2015年の個体では、遺伝的多様性の97.5%を超えるのは26個体を生息域外保全の創立に用いればよい。

■対象種2：ウスイロヒョウモンモドキ

・全ゲノムリシーケンス及びMIG-seqによる集団動態

決定した全ゲノムを参照配列として、PSMC法を用いてウスイロヒョウモンモドキの過去100万年間の有効集団サイズの推定を行った(図1-30a)。さらに、MIG-seq法から得たSNP情報をもとにしたStair-way Plot2法により、ウスイロヒョウモンモドキの過去10万年間の有効集団サイズの推定を行った(図1-30b)(研究成果口頭発表36)。その結果、最終氷期の始まったおよそ7万年前に急激に個体数が減少しており、最終氷期の終了した1万2千年前から3千年ほど前にかけてもやや減少傾向にあった。本種の主な食草はカノコソウやオミナエシであり、特にカノコソウは希少な植物であることから、個体数を増加させることが困難だったのかもしれない。

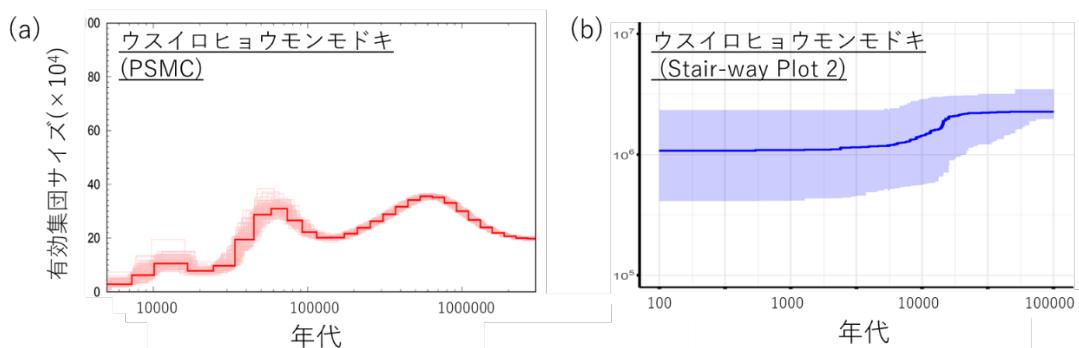


図1-30 (a) PSMC法によるウスイロヒョウモンモドキの過去100万年間の集団動態。(b)Stair-way Plot2法によるウスイロヒョウモンモドキの過去10万年間の集団動態。

・野生集団及び生息域外保全集団における縮約ゲノム縮約解析

MIG-seqによるゲノム縮約解析の結果を図に示す。岡山県草間台地集団は個体の小型化や未受精卵の増加などの症状を経て2017年頃に繁殖途絶していることから、近交弱勢を起こした可能性が高い。そのため、繁殖途絶前の草間集団の遺伝的多様性を、遺伝的多様性の危険水準と定義した(図1-31の灰色部分)。兵庫県ハチ高原集団では、2009年から2021年までは遺伝的多様性(対立遺伝子多様度)の低下は見られなかった(図1-31)。ただし、各施設における個別の飼育集団では、2020-2022年にかけて危険水準まで減少しているものが認められた。2023年については遺伝的多様性が回復していたが、これらは各集団間の個体の移動によって、遺伝的多様性が一時的に回復したものと考えられる。そのため、複数施設における分散飼育と定期的な混合は、遺伝的多様性を維持するために重要な手法といえる。ただし、ハチ高原集団の遺伝的多様性は危険水準に近いことから、近交弱勢の発生リスクは小さくないといえる。今後、遺伝的多様性がさらに低下しないように配慮すべきといえる。岡山の恩原集団も同様に2006年から2023年まで遺伝的多様性の低下は見られなかった(研究成果口頭発表36)。

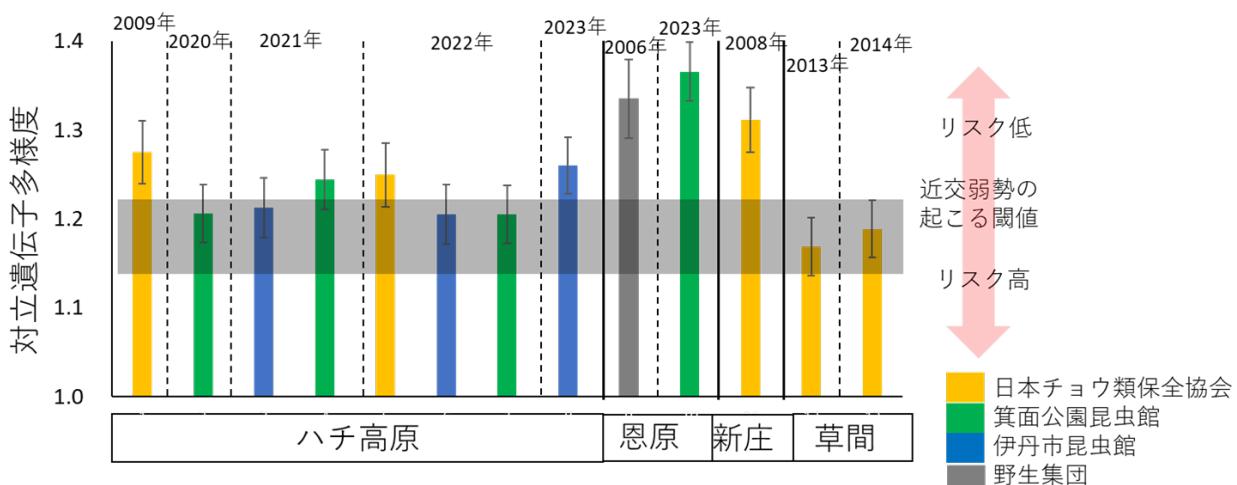


図1-31 ウスイロヒョウモンモドキ各集団の遺伝的多様性の比較 各色は生息域外保全の施設を示す。

・現存個体及び標本個体の全ゲノムリシーケンスによる遺伝構造の推定

兵庫県ハチ高原由来の生息域外保全集団（3個体、2020年代）、1990年代に採集された兵庫県ハチ高原産標本（4個体）、岡山県恩原高原由来の生息域外保全集団（2個体、2020年代）、1980年代に採集された岡山県恩原高原産標本（3個体）について、全ゲノムリシーケンスを実施した。標本を含むことから、通常の全ゲノムリシーケンスよりも得られた遺伝子座数が少なかったものの、1585SNPsを得ることができた。

解析の結果、兵庫県ハチ高原の個体、岡山県恩原高原の個体は、1980－90年代はPC1軸の負の値であったにもかかわらず、2020年代はどちらも多くの正の値をとっていた。なお、2020年代では遺伝的多様性の低い兵庫県ハチ高原のほうがよりP1軸の値が大きかった。また、集団間の遺伝的な距離は1990年代以前と比べて2020年代でより大きくなっていた。両集団ともに個体数の減少や孤立化に伴い遺伝的浮動が生じ、対立遺伝子頻度が過去30-40年間で大きく変化したと考えられる。本研究の結果から、ウスイロヒョウモンモドキの保全単位の設定の際には、現存集団だけでなく標本集団の結果も考慮する必要があると考えられた。

■対象種3：フサヒゲルリカミキリ

・集団動態推定

フサヒゲルリカミキリ、*Agapanthia amurensis*、*A. pilicornis*（いずれもユーラシア大陸の極東アジアに分布するフサヒゲルリカミキリの同属近縁種、本研究では韓国集団を使用）の全ゲノムリシーケンスを行い、決定した全ゲノム情報を用いてPSMCによる過去100万年間の集団動態解析を実施した（図1-32a）。また、フサヒゲルリカミキリについてはMIG-seq法により得られたSNP情報を用いて、Stair-way Plot2法による集団動態解析も併せて実施した（図1-32b）。その結果、*A. amurensis*および*A. pilicornis*は1-10万年間に一定程度の有効集団サイズを維持していた後に、過去1万年前後に有効集団サイズを減少させていた、一方でフサヒゲルリカミキリは、最終氷期初期である過去7万年前に個体数を減少させた後、長期的に有効集団サイズが非常に少ない状況で維持されていた（図1-32a）。また、Stair-way Plot2法による推定ではおよそ4万年前に有効集団サイズの減少を経験したことが示された（図1-32b）。*A. amurensis*および*A. pilicornis*についてはどちらもユーラシア大陸の極東アジアに広く分布していることから、大きな有効集団サイズを維持できたと考えられる。一方で、フサヒゲルリカミキリはユウスゲを食草としており、集団の維持にはユウスゲが多数生育している草原が必要となる。実際にフサヒゲルリカミキリは非常に局地的な分布を示しており、過去の記録においても北海道、岩手県、群馬県、神奈川県、山梨県、長野県、鳥取県、岡山県、広島県など、限られた地域でしか見つかっていない。このように、草原の中でもごく一部にして生息できないことからフサヒゲルリカミキリの有効集団サイズは長期的に小さかったと考えられる（研究成果口頭発表36）。

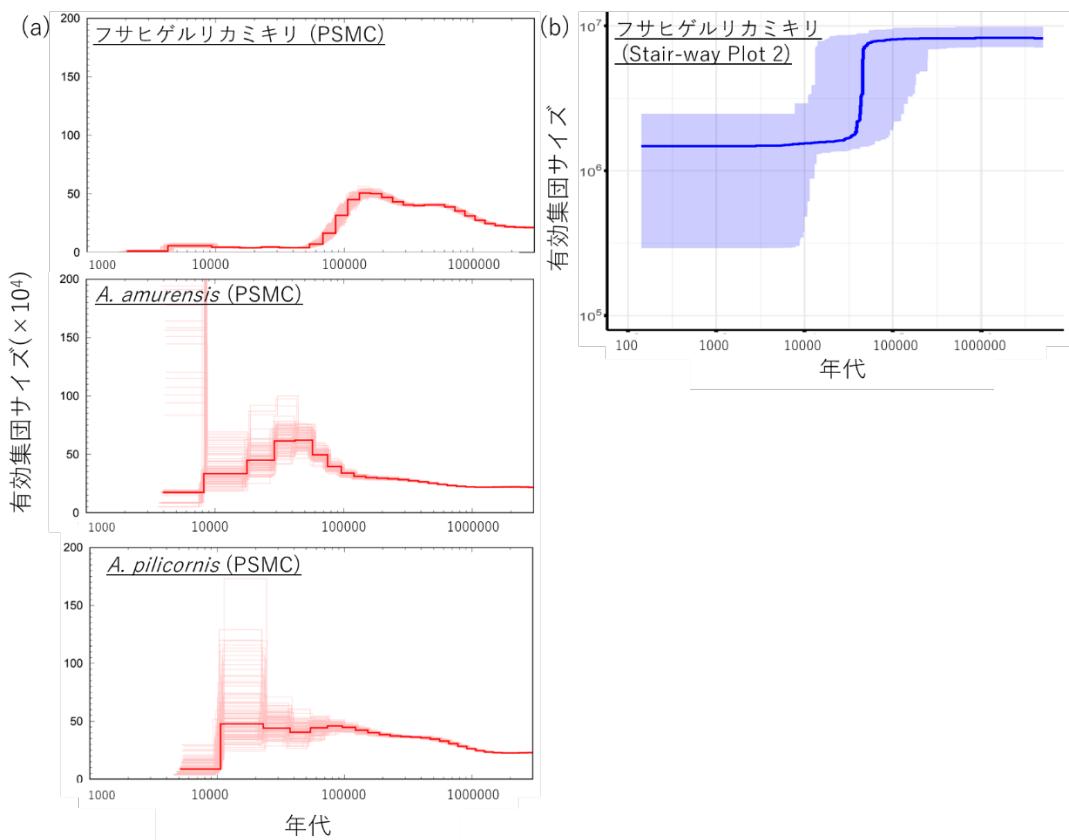


図1-32 (a) PSMC法によるフサヒゲルリカミキリ、*A. amurensis*、*A. pilicornis*の過去100万年間の集団動態。(b)Stair-way Plot2法によるフサヒゲルリカミキリの過去100万年間の集団動態。

・フサヒゲルリカミキリ及び近縁種における遺伝的負荷量

全ゲノムリシーケンスを実施し、*A. amurensis*、*A. pilicornis*、フサヒゲルリカミキリ（長野集団）、フサヒゲルリカミキリ（岡山集団）の遺伝的負荷量を推定した。その結果を図3-22に示す。*A. amurensis*、*A. pilicornis*、フサヒゲルリカミキリ（長野集団）についてはそれぞれ1個体のみの解析結果であるが、*A. amurensis*、*A. pilicornis*については遺伝的負荷量が小さい傾向にあった。一方で、フサヒゲルリカミキリの遺伝的負荷量は大きい傾向にあり、特に長野集団の個体が大きかった。このことから、フサヒゲルリカミキリは近縁2種と比べて有害突然変異を多く保持しており、小集団化した場合の近交弱勢のリスクは大きいことが示された。

・現存する野生集団及び生息域外保全集団における遺伝的多様性と遺伝構造

MIG-seqによる縮約ゲノム解読によって、韓国に生息する同属近縁種の*A. amurensis*及び*A. pilicornis*と比較遺伝解析を行ったところ、*A. amurensis* および *A. pilicornis* いずれと比べてもフサヒゲルリカミキリの遺伝的多様性(ヘテロ接合度期待値)は顕著に低かった(図1-33)。フサヒゲルリカミキリにおいては先述の通り、ほかの2種と比較すると長期的に有効集団サイズが低い状態が維持されてきた。そのため、人間による影響がまた長野集団及び岡山集団においては、長野集団で遺伝的多様性が顕著に低い結果となった。岡山集団においては、野生集団の遺伝的多様性は相対的に高い一方で、生息域外保全集団は2つともやや低い結果となった。これらの生息域外保全集団は集団の創立から間もないが、生息域外保全の開始時のファウンダーが少ないとから、野生集団の遺伝的多様性を十分に確保できていない可能性が考えられる。そのため、野生集団と同程度の遺伝的多様性を確保するためには、生息域外保全集団にさらにファウンダーを追加したほうが良いだろう(研究成果口頭発表36)。

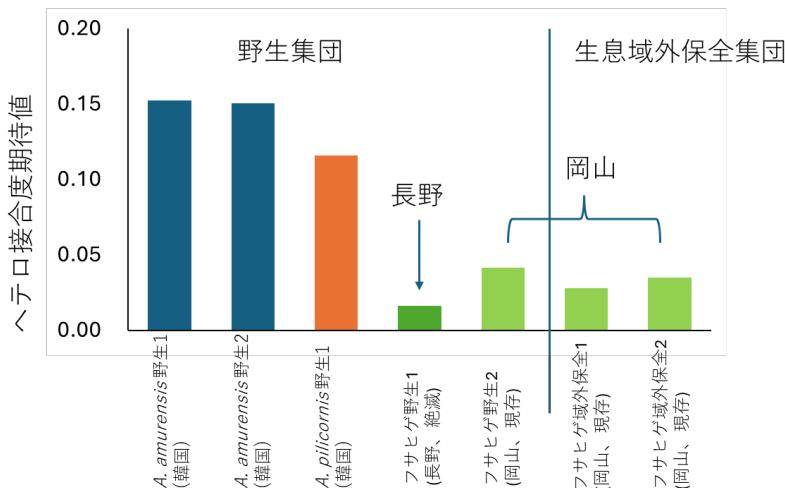


図1-33 近縁2種とフサヒゲルリカミキリの遺伝的多様性（ヘテロ接合度期待値）の比較

また、各種の遺伝構造について、近縁2種を含めたネットワーク図を図に示す。*A. amurensis*についてはやや遺伝的な距離が大きい一方で、*A. pilicornis*についてはフサヒゲルリカミキリと遺伝的距離が小さかった（研究成果口頭発表36）。フサヒゲルリカミキリの種内においても長野集団においてはやや岡山集団と離れているものの、絶滅寸前の集団においてはしばしば遺伝的浮動などによって遺伝距離が急速に大きくなることはしばしば生じる（Nakahama and Isagi 2018）。ただしMIG-seq法による縮約ゲノム解析については残念ながら過去の標本を推定できない。そのため、より人為的な影響の少ない過去の遺伝構造を比較するために、博物館標本を用いた全ゲノムリシーケンスを実施した（後述）。

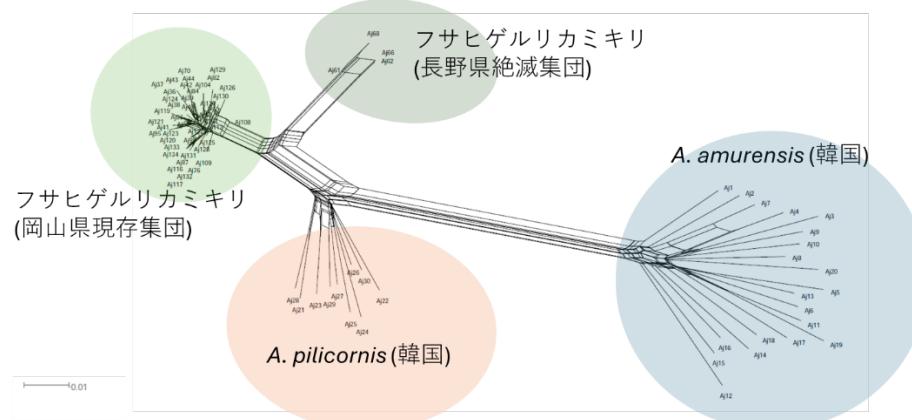


図1-34 近縁2種とフサヒゲルリカミキリの現存集団におけるネットワーク図

・現存個体及び標本個体の全ゲノムリシーケンスによる遺伝構造の推定

岡山県のフサヒゲルリカミキリ現存個体（8個体）、1980年代に岡山県で採集されたフサヒゲルリカミキリ標本（4個体）、長野県のフサヒゲルリカミキリ絶滅個体（2010年代、1個体）、1950-60年代に長野県で採集されたフサヒゲルリカミキリ標本（2個体）、韓国の*A. pilicornis*（2020年代、1個体）、韓国の*A. amurensis*（2020年代、1個体）について、全ゲノムリシーケンスを実施した。乾燥標本は一般的にDNAの断片化が激しいことから解析が困難であり、通常の全ゲノムリシーケンスよりも得られた遺伝子座数が少なかったものの、4484SNPsを得ることができた。

主成分分析の結果、フサヒゲルリカミキリの2020年代の岡山県蒜山高原集団は、2010年代の長野県集団、*A. pilicornis*、*A. amurensis*と大きく遺伝的に離れていた。一方で、フサヒゲルリカミキリの1980年代の岡山県蒜山高原集団と1950-60年代の長野集団ではより遺伝的に近いことが明らかになった。つまり、フサヒゲルリカミキリは過去数十年間に遺伝構造を急激に変化させたと考えられる。本研究の結果から、フサヒゲルリカミキリの保全単位の設定の際には、現存集団だけでなく標本集団の結果も考慮する必要があると考えられる。

○対象種4: オガサワラハンミョウ

・集団動態推定

オガサワラハンミョウ(兄島集団)と最近縁種エリザハンミョウ(茨城県集団)について、全ゲノムリシーケンスを行った後に決定した全ゲノムを用いてPSMC法による過去100万年間の有効集団サイズを推定した(図1-35a)。また、オガサワラハンミョウ及びエリザハンミョウについてMIG-seq法により得られたSNP情報を用いて、Stair-way Plot2法による集団動態解析も併せて実施した(図1-35b)。その結果、オガサワラハンミョウについては過去から一貫して有効集団サイズが小さく、過去7万年前からはゆるやかな減少傾向が続いていた。また、エリザハンミョウについては過去7万年前までは増加傾向にあったものの、その後は有効集団サイズが減少傾向にあった(図1-35a)。また、Stair-way Plot2法の結果では、オガサワラハンミョウとエリザハンミョウともに3万年前から1000年前まで有効集団サイズは減少傾向にあり、有効集団サイズ自体はエリザハンミョウのほうが大きかった。オガサワラハンミョウは海洋島であり面積の小さい小笠原諸島のみに分布していたことから、有効集団サイズが維持できなかったと考えられる。また原因は不明であるものの、3万年前から1000年前にかけて有効集団サイズは減少傾向にあり、人類の小笠原諸島定住前からも有効集団サイズは少ない状態にあったことが示された。エリザハンミョウについても3万年前からの有効集団サイズの減少理由は不明であるが、海岸や河原の湿った砂地という、かなり限られた生態系を生息地としていることから、あまり大きな有効集団サイズが維持できなかったのかもしれない。

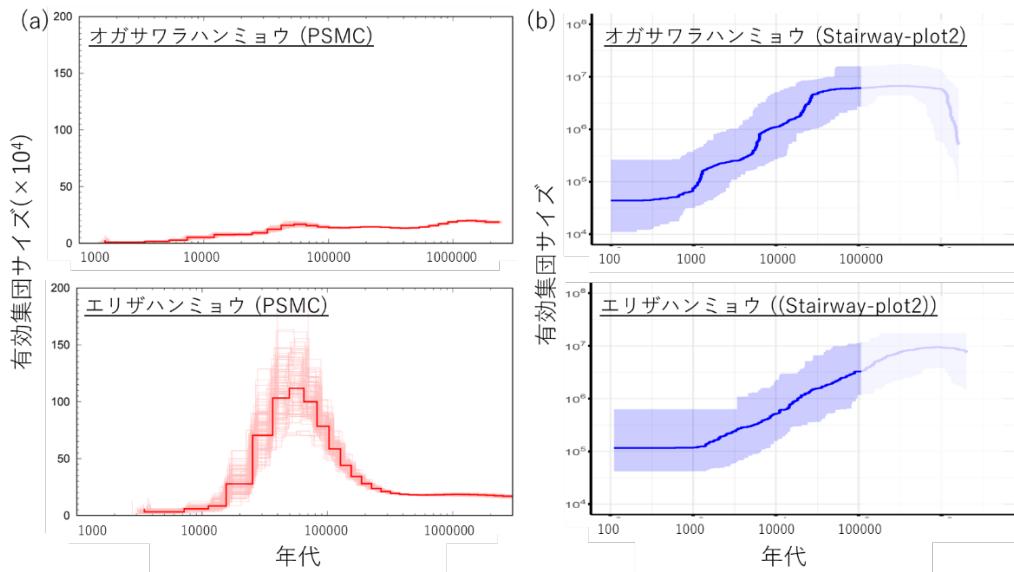


図1-35 (a) PSMC法によるオガサワラハンミョウ及びエリザハンミョウの過去100万年間の集団動態。
(b)Stair-way Plot2法によるオガサワラハンミョウ及びエリザハンミョウの過去10万年間の集団動態。過去10万年よりも前の年代は結果の信頼性が高いことから、半透明にして示している。

・野生集団及び生息域外保全集団における縮約ゲノム縮約解析

エリザハンミョウ茨城県集団を含めたMIG-seqの結果を図1-36に示す。エリザハンミョウと比較して、オガサワラハンミョウはいずれの集団でも遺伝的多様性が低く、エリザハンミョウのヘテロ接合度観察値の平均がおよそ0.07に比べ、オガサワラハンミョウのヘテロ接合度観察値の平均は0.025-0.040程度であった(図1-36)。一方で、野生集団においては2010年以降遺伝的多様性の顕著な減少は見られていない。また、生息域外保全集団(世界遺産センター及び伊丹市昆虫館)のヘテロ接合度観察値は野生集団と同程度の水準を維持していた(図1-36,37)。このことから、オガサワラハンミョウは同属近縁種エリザハンミョウと比較して遺伝的多様性は低いものの、過去14年間は少なくとも遺伝的多様性が減少しておらず、安定的に推移していると考えられる。

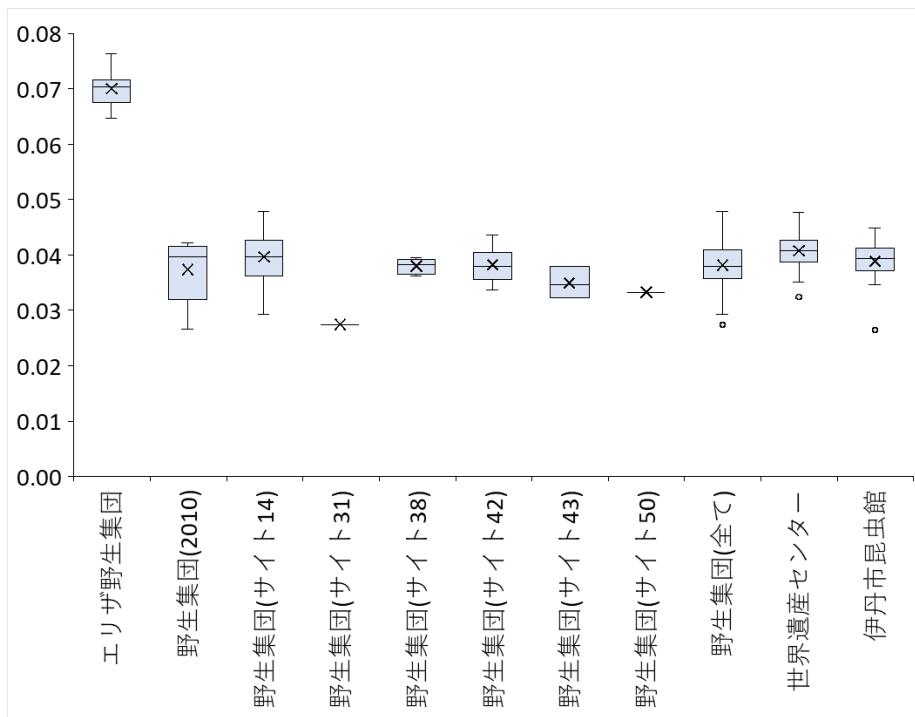


図1-36 オガサワラハンミョウのMIG-seq (9967 SNPs)に基づく遺伝的多様性。縦軸はヘテロ接合度観察値を表す。伊丹市昆虫館及び世界遺産センターの個体は2024年の生息域外保全集団を表す。野生集団(2010)は2010年に採集された兄島の野生集団を表し、他の野生集団(サイト14–50)は2016–2024年に採集された兄島の野生集団を表す。

また、オガサワラハンミョウの野生集団及び生息域外保全集団（伊丹市昆虫館及び世界遺産センター）の遺伝構造について、主成分分析の結果を図1-37に示す。結果としては、野生集団と生息域外保全集団において対立遺伝子頻度に違いがみられた。生息域外保全集団は野生集団の個体をカバーしていることから、遺伝的に多様な個体が維持されていることが示された。一方で、野生集団は生息域外保全集団の一部しかカバーできていない（図1-37）。これについては、近年のボトルネックなどの影響によって野生集団の対立遺伝子頻度が変化した可能性、もしくは野生集団は本来より多様な対立遺伝子頻度を持つ個体が保持されているが、サンプリングの際に十分に確保できなかった可能性の2つが考えられる。いずれにしても、生息域外保全集団の個体は現在の野生集団ではあまり保持されていない対立遺伝子を持つ可能性があることから、今後の再導入や補強をすることで、より遺伝的多様性を高めることができると期待できる。なお、野生集団のサイト14のみ、ほかの野生集団とやや異なる対立遺伝子頻度を維持していた（図1-37）。兄島集団のうちサイト14についてはいつ頃から独自の対立遺伝子頻度を保持していたかは不明であるが、現状サイト14はほかの野生集団と比べても高い遺伝的多様性を保持することから、近年ボトルネックを受けたのではなく、もともとから独自の対立遺伝子頻度を保持していた可能性がある。

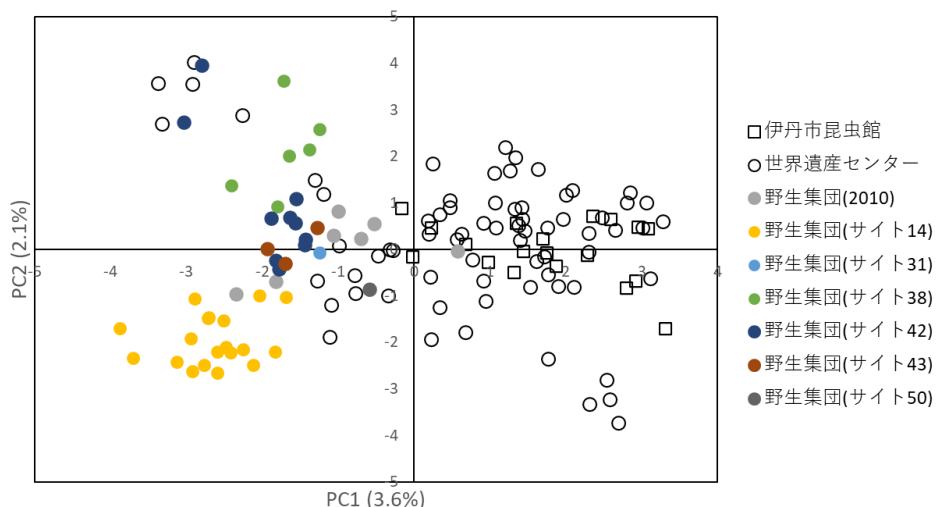


図1-37 オガサワラハンミョウのMIG-seq (4363 SNPs)に基づく主成分分析 (PCA)。横軸は第一主成分を、縦軸は第二主成分を示す。伊丹市昆虫館及び世界遺産センターの個体は2022年以降の生息域外保全集団を表す。野生集団(2010)は2010年に採集された兄島の野生集団を表し、他の野生集団(サイト14–50)は2016–2024年に採集された兄島の野生集団を表す。

引用文献

- Kadota, M., O. Nishimura, H. Miura, K. Tanaka, I. Hiratani and S. Kuraku, S. 2020. Multifaceted Hi-C benchmarking: What makes a difference in chromosome-scale genome scaffolding? *GigaScience*, 9: giz158. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz158>
- Kryukov, K, N. Nakahama and S. Kuraku. 2024. Genome assembly catalog for species in the Japanese Red List: unlocking endangered biodiversity through genomic inventory. *F1000Research*, 13: 583. <https://doi.org/10.12688/f1000research.149793.2>
- Li, H. and Durbin, R. 2011. Inference of human population history from individual whole-genome sequences. *Nature*, 475(7357), 493-496.
- Liu X, Fu YX. 2020. Stairway Plot 2: demographic history inference with folded SNP frequency spectra. *Genome Biology*, No.21, pp. 280.
- Nadachowska-Brzyska, K., M. Konczal and W. Babik. 2022. Navigating the temporal continuum of effective population size. *Methods in Ecology and Evolution*, 13: 22–41. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13740>
- Nakahama N, Isagi Y. 2018. Recent transitions in genetic diversity and structure in the endangered semi-natural grassland butterfly, *Melitaea protomedia*, in Japan. *Insect Conservation and Diversity*, No.11, pp. 330-340.
- Onuki, K., R. K. Ito, T. Mishina, Y. Hashiguchi, K. Ikeya, K. Uehara, M. Nishio, R. Tabata, S. Mori, K. Watanabe. 2024. Next-generation phylogeography reveals unanticipated population history and climate and human impacts on the endangered floodplain bitterling (*Acheilognathus longipinnis*). *BMC Ecology and Evolution* 24:141. <https://doi.org/10.1186/s12862-024-02326-y>
- Pritchard, J. K., Stephens, M. and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Santiago, E., Novo, I., Pardiñas, A. F., Saura, M., Wang, J. and Caballero, A. 2020. Recent demographic history inferred by high-resolution analysis of linkage disequilibrium. *Molecular Biology and Evolution*, 37(12), 3642-3653.
- Shibabayashi, M., T. Shimizu, C. Tokuhiro, Y. Suyama et al. 2023 The contrary conservation situations of two local critically endangered species, *Vaccinium emarginatum* (Ericaceae) and *Elatostema platyphyllum* (Urticaceae), growing on the eastern edge of the distribution. *Frontiers in Ecology and Evolution* 11, 1093321 (doi.org/10.3389/fevo.2023.1093321)
- Suyama, Y. and Matsuki, Y. 2015. MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Scientific reports*, 5(1), 16963.
- Tsujimoto, D., H. Ando, H. Suzuki, K. Horikoshi et al. 2023 Has long - distance flight ability been maintained by pigeons in highly insular habitats? *Journal of Biogeography*, 50, 235-246
- Valbuena-Ureña E, Soler-Membrives A, Steinfartz S, Alonso M, Carbonell F, Larios-Martín R, ... Carranza S. 2017. Getting off to a good start? Genetic evaluation of the ex situ conservation project of the Critically Endangered Montseny brook newt (*Calotriton arnoldi*). *PeerJ*, No.5, pp. e3447.
- Watanabe, K., R. Tabata, J. Nakajima, M. Kobayakawa, M. Matsuda, K. Takaku, K. Hosoya, K. Ohara, M. Takagi, N.-H. Jang-Liaw. 2020. Large-scale hybridization of Japanese populations of Hinamoroko, *Aphyocyparis chinensis*, with *A. kikuchii* introduced from Taiwan. *Ichthyological Research*, 67: 361–374. <https://doi.org/10.1007/s10228-019-00730-9>

1. 5. 研究成果及び自己評価

1. 5. 1. 研究成果の学術的意義と環境政策等への貢献

<得られた研究成果の学術的意義>

■希少種のゲノム構造に基づく頑強性の解明を達成した。アカガシラカラスバトの個体群では、絶滅寸前にまで減少したにもかかわらず、近年、個体数が顕著に回復したことが注目されている。本研究ではその背景として、長期間の孤立を経てゲノム内の有害変異が浄化選択により除去されていたことをゲノム解析により明らかにした。絶滅危惧種の個体数回復におけるゲノムの健全性の役割を具体的に示した点は、保全遺伝学・保全ゲノミクスに新たな指標をもたらすものである。

■比較ゲノム解析によって、これまで認識されていなかった危機的状況の検出を行った。個体数や分布域が保全判断の主たる根拠とされてきた中で、本研究では比較ゲノム解析に基づいて、これまで見過ごされていた保全上の重要課題を明らかにした。例えば、保護増殖事業対象種であるムニンノボタンよりも近縁種のハハジマノボタンの方が、ゲノム構造上、はるかに深刻な脆弱性を持つことを検出したことなどは、外見や分布情報だけでは捉えられなかった実質的な保全リスクの検出に道を開き、希少種のより効果的な保全策構築に貢献しうるものである。

■希少種を対象としたゲノム情報について高度な基盤形成を達成した。Hi-Cライブラリを構築することで、3種の絶滅危惧種で染色体レベルの全ゲノム配列を整備したことは、コストと技術的課題を克服し、日本の生物多様性研究におけるゲノム基盤形成の先駆けとなる成果である。全ゲノム配列と縮約ゲノム解析の統合により、遺伝子マーカーの選定精度とデータ解釈の信頼性が向上し、自然史や保全生物学研究の新たな標準を提示した。本研究は、コスト面で困難だった小規模研究体制下でのHi-Cライブラリ構築を実現し、日本が世界的なゲノム研究の遅れを解消する一歩となり、また、絶滅危惧種ゲノムデータベース (<https://biokirr.com/Japanese-Red-List-Genomes/>) の整備にも貢献した。

■生息域外保全集団では、有害変異の蓄積、連続ホモ接合領域、近交係数を評価し、遺伝的劣化を総合的かつ定量的に可視化した。これらを基に、種ごとの特性に応じた個別管理の重要性を実証した。魚類・昆虫類・植物を横断する統合解析により、分類群を超えた絶滅リスクを評価した。このようなアプローチは経験則的な保全政策を科学的・予測的な意思決定に転換する基盤となる。

<環境政策等へ既に貢献した研究成果>

■アカガシラカラスバトに関する東京都および環境省の保護増殖政策に直接的な情報提供を行った。特に、個体ごとのゲノム情報に基づいて、有害変異の蓄積状況やROH領域の長短を把握することで、繁殖ペアの選定や個体移動の際の判断に、新たな指針を提供することが可能となった。

■ムニンノボタン、ハハジマノボタン、ホシツルランに関するゲノム解析結果は、小笠原希少野生植物保護増殖事業検討会において報告され、実際の保全方針の再検討に反映されつつある。特にハハジマノボタンについては、指定種以上の保全緊急性を有する可能性を指摘した。また、ホシツルランでは、異なる遺伝背景を持つ個体の導入によって人工繁殖が改善される可能性を示し、保全活動に対する応用が期待されている。

■オオハマギキョウに関しては、父島での植栽によって種内遺伝子汚染が引き起こされうることを現東京都および環境省の関連機関に情報提供を行った。この知見をもとに、同一保全単位内の個体による植替えにむけて、すでに種子の採集と育苗が進められている。植栽による保全活動に遺伝的裏付けを加えることで、より精緻かつ持続可能な保全管理の実施が可能になっている。

■オガサワラシジミでは、創立個体数の少なさと遺伝的多様性欠如による近交弱勢が繁殖途絶の主因であることを示し、最低26個体の創設と14~22個体の繁殖関与を提言した。この結果は環境省に報告し、保全施策の再構築に寄与し、マスコミ報道を通じて遺伝的多様性の重要性が広く認識された。

■ウスイロヒヨウモンモドキの岡山県草間高原集団では、2013～2014年標本のゲノム解析により、近交弱勢リスクの危険水準を定量化し、2017年の繁殖途絶との関連を示した。この成果は2023年8月23日の中国山地草原性希少昆虫保護増殖事業検討会で報告した。繁殖方法やペア数、生存率ごとの遺伝的多様性変化をシミュレーションし、2025年1月23日の令和6年度検討会で長期的な遺伝的健全性確保の方策が議論した。伊丹市昆虫館等による複数施設での分散飼育は、2014～2022年に遺伝的多様性の低下を防ぎ、分散飼育の有効性を行政に報告した。

■フサヒゲルリカミキリ、ウスイロヒヨウモンモドキ、オガサワラハンミョウでは、過去標本を用いた縮約ゲノム解析で時間的・空間的遺伝構造変化を明らかにし、2023年・2024年の行政検討会で報告され、野生復帰の実施地選定に貢献した。これらの昆虫類の遺伝的多様性や空間遺伝構造データは環境省に提供され、ウスイロヒヨウモンモドキ及びフサヒゲルリカミキリのファウンダー数の決定やフサヒゲルリカミキリの再導入実験など、具体的な政策立案に活用されている。

<環境政策等へ貢献することが見込まれる研究成果>

■アカガシラカラスバトの遺伝的系譜やゲノム情報を活用した繁殖管理の高度化は、安定した生息域外個体群の維持に直結する見込みである。東京都多摩動物公園等での保護増殖事業に情報提供を継続し、適切な交配親選定を支援する。これまで多摩多摩動物公園等で管理されてきた生息域外保全集団では、全個体のDNA抽出が行われているので、このサンプルをゲノム解読することで、個体ごとのゲノムの健全性や望ましい交配ペアの設定などが可能になる。保護増殖事業対象種において、ゲノム情報を基軸により効果的な保全の実施が見込まれる初の事例といえる。

■台湾ホトトギスに代表される「国外では普通だが国内では希少」といった種の保全的取り扱いについて、国内集団の由来や遺伝的独自性、保全困難性などを明示した。この成果は、限られた保全リソースを効果的に配分するための合理的かつ客観的な指針を提供するものであり、今後の保全優先順位の設定や指定種見直し等の行政判断において、広く活用されることが期待される。

■イタセンパラ等の淡水魚類では、有効集団サイズの歴史的变化や減少要因が明らかとなり、保全対象種の選定や地域ごとの保全方針策定の指標となる。生息域外保全集団のゲノム変化に関する知見は、野生復帰の可否判断や繁殖管理の精緻化に寄与し、有害変異動態や近交弱勢の最適化に活用されることが見込まれる。

■ゲノム情報に基づく自然史の復元や絶滅リスクの可視化は、市民の保全意識向上、関係者間の情報共有、保全の社会的合意形成に強力なツールとなり、保全基盤の整備に繋がる。オガサワラシジミの繁殖途絶原因の解明と必要個体数の提示は、他の類似した状況にある希少種の繁殖計画に活用が見込まれる。ウスイロヒヨウモンモドキの複数施設分散飼育の成果は、繁殖途絶リスクや遺伝的多様性低下の防止に有効であり、野生復帰候補地の選定にも活用できる。

<環境産業等への活用見通し>

現時点では、得られた研究成果を環境産業等に活用する具体的な見通しは明らかではない。しかし、保護増殖事業対象種等の希少種を適切に保全することで、希少種が生息する地域の環境産業に以下のような好適な影響を与えることが期待される。

■エコツーリズム：小笠原諸島は、世界自然遺産にも登録された極めて高い生物多様性を有する地域であり、固有種や絶滅危惧種が数多く分布している。本プロジェクトで解析対象とした、アカガシラカラスバト、ムニンノボタン、オガサワラシジミ、オガサワラハンミョウなどの島嶼固有種はそのものが観光資源であり、その保全状況も含めて観光の魅力となっており、ガイド付きエコツアーや自然観察プログラムなどに組み込まれている。この点は他の解析対象種、ライチョウ、アユモドキ、イタセンパラなどでも同様である。

■環境ブランドの形成と価値の向上：希少種の保全はその生育地の環境ブランドを形成するとともに価値も

向上させる。小笠原では多くの希少種が適切に保全され、存続すること自体が世界自然遺産地域としてのブランド価値を高めるものである。

1. 5. 2. 研究成果に基づく研究目標の達成状況及び自己評価

<全体達成状況の自己評価> · · · · ·

2. 目標を上回る成果をあげた

「保全ゲノミクスによる保護増殖事業対象種の存続可能性評価」（京都大学、井鷺 裕司）

全体目標	全体達成状況
<p>■種の保存法に基づく保護増殖事業が行われている国内希少野生動植物から、鳥類、植物、魚類、昆蟲類をカバーする多様な分類群の6種を対象に、全ゲノムレベルの遺伝解析を行う。</p>	<p>■種の保存法に基づく保護増殖事業が行われている国内希少野生動植物から多様な分類群の6種を対象に、全ゲノムレベルの遺伝解析を行うという目標に対して、当初目標としていた6種を大きく超える、16種（このうち保護増殖事業対象種は10種）を対象に解析を達成できた。</p>
<p>■全ゲノム情報に基づいて、種の個体群動態に関する数百万年に及ぶ進化的歴史と人為インパクトが個体数減少に与えた影響、そして、現存する個体群をゲノムレベルで比較解析し、保護増殖事業対象種の存続可能性評価を行うことで、保護増殖事業による生物多様性保全施策に活用できる情報を提供する。</p>	<p>■全ゲノム情報に基づいて、数百万年に及ぶ進化的歴史と人為インパクトが個体数減少に与えた影響を明らかにし、個体群の存続可能性評価を行うことで、保護増殖事業による生物多様性保全施策に活用できる情報を提供できた。研究開始時には想定していなかった連鎖不平衡情報を利用した新たな解析手法を取り入れ、より近年までの個体群動態を明らかにする事できた。成果は、保護増殖事業を含む多くの生物保全活動に活用された。</p>

<サブテーマ1達成状況の自己評価> · · · · ·

1. 目標を大きく上回る成果をあげた

「鳥類及び植物の保護増殖事業対象種の存続可能性評価と統合解析」（京都大学、井鷺裕司）

サブテーマ1目標	サブテーマ1達成状況
<p>■保護増殖事業対象種のうち、鳥類としてアカガシラカラスバト、植物としてムニンノボタン、合計2種を選定し、ゲノム解析によって現在の保全状況評価と将来予測を行う。</p>	<p>■鳥類としてアカガシラカラスバト、植物としてムニンノボタンの2種を解析対象とする目標に対して、更に、保護増殖事業対象種として指定されているライチョウ、ホシツルランについても追加解析した。また、オオハマギキョウ、タイワンホトトギスなどの希少種についても追加解析し、ゲノム解析によって現在の保全状況評価と将来予測を行った。この過程において、従来、認識されていなかった保全上の危機の検出や、保全価値の定まっていなかった分類群の評価を行うこともできた。</p>
<p>■既存の参照ゲノム情報が利用できるアカガシラカラスバトでは、リシーケンシングによる全ゲノム解読を行う。既存の参照ゲノムが利用できないムニンノボタンでは、新規全ゲノム解読を行い、参照ゲノム情報を構築する。</p>	<p>■全ゲノム解読は目標通り遂行した。また、参照ゲノム情報は公的なデータベース上で更新されるゲノム情報も活用して、より高品位なものを構築した。新たに解読したゲノム情報はDDBJ/GenBankなどの公的なデータベースにも登録した。</p>

<p>■対象2種について、参照ゲノム情報を活用して、コアレセント理論に基づくPSMCなどの手法によって過去数十万～数百万年に及ぶ歴史的個体群動態を推定し、人為インパクトを受ける前の個体数レベルを明らかにする。ゲノム解析で明らかになった過去の個体数と現在の個体数を比較することで、人為インパクトが個体群動態に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を明らかにする。また、保全ゲノム解析を行い、野生集団と域外保全集団の遺伝的な特徴を比較解析する。</p> <p>■アカガシラカラスバトとムニンノボタンの野生集団と生息域外集団について、それぞれ集団レベルでゲノム情報を解読し、遺伝的多様性、遺伝的分化などの点について比較解析し、野生集団の特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価する。</p> <p>■統合解析：サブテーマ1として解析担当するアカガシラカラスバト（鳥類）、ムニンノボタン（植物）の他に、サブテーマ2のイタセンバラ（魚類）とアユモドキ（魚類）、サブテーマ3のオガサワラシジミ（昆虫類）、ウスイロヒヨウモンモドキ（昆虫類）合計6種に関する解析結果を統合的に解析し、ゲノム情報と生物多様性保全状況について、分類群の特性を超えた、より一般的な理解を得る。</p>	<p>■当初対象としていた2種についてはコアレセント理論に基づくPSMCなどの手法によって、過去数十万～数百万年に及ぶ歴史的個体群動態を推定し、人為インパクトを受ける前の個体数レベルを明らかにした。また、新たに連鎖不平衡を利用して、染色体レベルの組換え情報を利用して、PSMCでは解析が難しい最近数世代から数百世代前の個体群動態を推定した。この結果、人類が個体群に及ぼした影響をより紹介に理解することができた。保全ゲノム解析によって、野生集団と域外保全集団の遺伝的特徴を明らかにすることことができた。</p> <p>■アカガシラカラスバトとムニンノボタンの野生集団と生息域外集団について、それぞれ集団レベルでゲノム情報を解読し、遺伝的多様性、遺伝的分化などの点について比較解析し、野生集団の特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価した。アカガシラカラスバトに関しては、外敵の駆除によって個体群が急速に回復した現象とゲノム構造との関係を明らかにした。ムニンノボタンに関しては小笠原産近縁2固有分類群との比較解析によって、ムニンノボタン以上に保全上の危機にある分類群の存在を突き止めた。この成果はこれら分類群の危機評価や予防的保全策の構築に活用できる。</p> <p>■当初計画の6種（アカガシラカラスバト、ムニンノボタン、イタセンバラ、アユモドキ、オガサワラシジミ、ウスイロヒヨウモンモドキ）に加えて、他の追加解析対象種に関する解析結果をもとに、集団動態がゲノム構造に及ぼす影響や、保全難易度、個体群存続可能性、より効果的な生物多様性保全策などについて統合的な解析・考察を行った。</p>
--	--

<サブテーマ2達成状況の自己評価> ······

1. 目標を大きく上回る成果をあげた

「魚類の保護増殖事業対象種の存続可能性評価」（京都大学、渡辺勝敏）

サブテーマ2目標	サブテーマ2達成状況
■保護増殖事業対象種のうち、魚類としてイタセンバラとアユモドキ、合計2種を選定し、ゲノム解析によって現在の保全状況評価と将来予測を行う。	■下記のとおり、目標に上げたすべての項目について達成するとともに、追加として絶滅危惧種2種の全ゲノム配列を決定、解析し、それについても成果を得た。
■アユモドキは既存の参照ゲノムが利用できないので、新規全ゲノム解読を行う。イタセンバラでは、既に解読されているドラフトゲノムに新規解読情報を加え、参照ゲノム情報を構築する。	■イタセンバラ、アユモドキの全ゲノム配列を、長鎖解析（合成長鎖、HiFi read、PromethION）、染色体立体配座捕捉法（Hi-C）、短鎖解析をそれぞれの種において組み合わせて解読し、新規全ゲノム参

<p>■イタセンパラとアユモドキ2種について参照ゲノム情報を活用して、コアレセント理論に基づくPSMCなどの手法で過去数十万～数百万年に及ぶ歴史的個体群動態を推定し、人為インパクトを受ける前の個体数レベルを明らかにする。ゲノム解析で明らかになった過去の個体数と現在の個体数を比較することで、人為インパクトが個体群動態に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を明らかにする。また、集団ゲノミクスによって、野生集団と域外保全集団の遺伝的な特徴を比較解析する。</p> <p>■それぞれ隔離した3つと2つの野生集団が存続しているイタセンパラとアユモドキについて、すべての野生集団と生息域外集団について、集団レベルで保全ゲノム解析を行い、遺伝的多様性、遺伝的分化などの点について比較解析し、野生集団の特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価する。また、域外保全集団における飼育環境への適応進化をゲノムレベルで明らかにし、域外保全集団の生物保全上の価値を評価する。</p>	<p>照配列データを構築した。これら2種について、野外・飼育集団から多数個体の全ゲノム配列をリシーケンシング法により取得し、以下の解析に供した(イタセンパラ29個体、アユモドキ60個体；各解析はこのうち一部を使用)。当初対象としていた2種に加えて、ネコギギ、ヒナモロコについても同様に解析し、参照配列データとリシーケンシングデータ(ネコギギ90個体、ヒナモロコ12個体)を取得し、解析に供した。</p> <p>■当初計画の2種を含め、計4種の絶滅危惧種について、全ゲノムデータに基づくPSMC法および関連手法を用いて、歴史的集団動態を10万年～100年のオーダーで推定した。その結果、各種は共通して最終氷期に集団縮小を示したが、その後の増減は、種間、また種内集団間で多様であった。これは生息地の地理的条件や人為的な影響によると推察された。また野生集団間の遺伝的類縁関係や分化過程の推定を行い、絶滅危惧種の分布域形成史など自然史に関する新たな視座を得た。</p> <p>■当初計画の2種に加え、異なる管理方法がなされている絶滅危惧種3種の生息域外集団のゲノム特性を精査し、飼育集団における遺伝的多様性の低下、連續ホモ接合領域の長大化、有害遺伝子の蓄積や選択的除去(バージング)の影響等を観測・比較した。種や集団の自然史や人為影響に関連して初期の有害遺伝子保有量が異なること、また飼育集団で有害遺伝子の除去が生じているが、飼育状況によってその影響が異なることが示唆された。種の自然史や繁殖生態に応じた遺伝的負荷を軽減する継代飼育方法について考察した。</p>
--	---

<サブテーマ3達成状況の自己評価> ······

1. 目標を大きく上回る成果をあげた

「昆虫類の保護増殖事業対象種の存続可能性評価」(兵庫県立大学、中濱直之)

サブテーマ3目標	サブテーマ3達成状況
<p>■保護増殖事業対象種のうち、昆虫類としてオガサワラシジミとウスイロヒョウモンモドキ、合計2種を選定し、ゲノム解析によって現在の保全状況と将来予測を行う。また、オガサワラシジミは繰り返してはならない絶滅に至った事例として解析対象とする。</p>	<p>■オガサワラシジミとウスイロヒョウモンモドキについて、ゲノム解析を実施して目標を達成した。またそれに加えて、新たにフサヒゲルリカミキリとオガサワラハンミョウについてもゲノム解析を実施した。</p>
<p>■絶滅したオガサワラシジミでは、新規全ゲノム解読が困難であるので、近縁種で解読されているゲノムを参照ゲノム情報とする。ウスイロヒョウモンモドキは、近縁種が個体群動態の研究対象とされており、また、良質な全ゲノム情報が整備されているの</p>	<p>■オガサワラシジミでは予定通り、近縁種であるルリシジミを参照ゲノムとして用いた。ウスイロヒョウモンモドキについては、新規に全ゲノム配列を決定して、ゲノム解析に活用した。当初計画の2種に加えて、フサヒゲルリカミキリ、オガサワラハンミョウ</p>

<p>で、これを参考ゲノム情報として活用する。</p> <p>■絶滅したオガサワラシジミでは、崩壊した域外保全個体群の冷凍サンプルからDNAを抽出し、リシーケンシングによる全ゲノム解読を行う。ウスイロヒヨウモンモドキでは2ヶ所の隔離集団に生育する個体を対象にリシーケンシングによる全ゲノム解読を行う。</p> <p>■2種とも参考ゲノム情報を活用して、コアレント理論に基づくPSMCなどの手法によって過去数十万～数百万年に及ぶ歴史的個体群動態を推定し、人為インパクトを受ける前の個体数レベルを明らかにする。ゲノム解析で明らかになった過去の個体数と現在の個体数を比較することで、人為インパクトが個体群動態に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を明らかにする。</p> <p>■絶滅したオガサワラシジミでは、域外保全集団として約20世代継代飼育された個体の冷凍サンプルを全世代において縮約ゲノム解析し、絶滅に至るまでの遺伝的变化を明らかにする。2ヶ所の隔離集団と生息域外集団が維持されているウスイロヒヨウモンモドキでは、集団レベルで保全ゲノム解析を行い、遺伝的多様性、遺伝的分化などの点について比較し、野生集団の特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価する。</p>	<p>ウについても、新規に全ゲノム配列を決定し解析に供することで目標を大きく上回る成果を上げた。</p> <p>■オガサワラシジミ、ウスイロヒヨウモンモドキの目標集団において全ゲノム解読を実施した。これら当初計画の2種に加えて、フサヒゲルリカミキリ、オガサワラハンミョウについても全ゲノム解読を実施し、目標を上回る成果をあげた。</p> <p>■目標としていた種に更に2種を加え、全4種でPSMCによる過去1万～100万年単位の、またstairway-plot2による過去1千～10万年単位の歴史的個体群動態を明らかにした。これらの結果や縮約ゲノム解析による遺伝的多様性の変遷から、人為インパクトが個体群動態に与えた影響と集団の脆弱／頑健性について議論した。目標を大きく上回る成果を上げた。</p> <p>■MIG-seq法による縮約ゲノム解析を目標としていた2種で実施し、オガサワラシジミでは絶滅に至るまでの遺伝的变化を、ウスイロヒヨウモンモドキについては野生集団の特徴や生息域外保全集団の保全上の価値を評価した。また、当初計画の2種に加えて、フサヒゲルリカミキリ及びオガサワラハンミョウについてもMIG-seq法を実施し、野生集団及び生息域外保全集団における遺伝的多様性や遺伝構造を解明することで目標を大きく上回る成果を上げた。</p>
---	--

1. 6. 研究成果発表状況の概要

1. 6. 1. 研究成果発表の件数

成果発表の種別	件数
産業財産権	0
査読付き論文	14
査読無し論文	0
著書	1
「国民との科学・技術対話」の実施	9
口頭発表・ポスター発表	22

マスコミ等への公表・報道等	15
成果による受賞	4
その他の成果発表	7

1. 6. 2. 主要な研究成果発表

成果番号	主要な研究成果発表 (「研究成果発表の一覧」の査読付き論文又は著書から10件まで抜粋)
1	D. Tsujimoto, H. Ando, H. Suzuki, K. Horikoshi et al. Has long - distance flight ability been maintained by pigeons in highly insular habitats? <i>Journal of Biogeography</i> (2023) 50, 235-246
4	N. Nakahama, S. Kurata, A. Ushimaru. Contribution of genetic analyses to semi-natural grassland biodiversity conservation in Japan. <i>Plant Species Biology</i> (2023) 38, 158-170
5	M. Katafuchi, S. Narita, Y. Komaki, A.J. Nagano, T. Yukawa, Y. Suyama, S.K. Hirota, M. Yamasaki, Y. Isagi. Comprehensive genetic analysis reveals the genetic structure and diversity of <i>Calanthe hoshii</i> (Orchidaceae), an endemic species of the Ogasawara Islands: Implications for appropriate conservation of a critically endangered species. <i>Plant Species Biology</i> (2024) 39(5), 297–305 (doi.org/10.1111/1442-1984.12479)
6	N. Nakahama N, T. Konagaya, S. Ueda, N. Hirai, M Yago, YA Yaida, A Ushimaru, Y Isagi. Road to extinction: archival samples unveiled the process of inbreeding depression during artificial breeding in an almost extinct butterfly species. <i>Biological Conservation</i> (2024) 296, 110686 (https://doi.org/10.1016/j.biocon.2024.110686)
7	中濱直之, 井鷺裕司.保全遺伝学に基づいた絶滅危惧種の生息域外保全及び野生復帰に関する推奨事項. 保全生態学研究 (2024) 29, 25-35 (https://doi.org/10.18960/hozen.2328)
9	C. Hata, C. Endo, H. Tanaka, M. Hiruma, M. Kumamoto, I. Takenaka, T. Makino, K. Niinaka, Y. Suyama, S. K. Hirota, M. Yamasaki & Y. Isagi. Conservation units and the origin of planted individuals of an endangered endemic species <i>Lobelia boninensis</i> in the Ogasawara Islands. <i>Scientific Reports</i> (2024) 14, 11331 (https://doi.org/10.1038/s41598-024-62071-1)
10	Y. Kobayashi, Y. Komaki & Y. Isagi. Exploring phylogeny and genomic vulnerability of <i>Melastoma</i> (Melastomataceae) endemic to a World Natural Heritage site, the Bonin Islands. <i>Scientific Reports</i> (2024) 14, 15567 (https://doi.org/10.1038/s41598-024-66304-w)
12	K. Tsunenari, T. Ito, M. Yokota, M. Shibabayashi, C. Endo, K. -F. Chung, Y. Suyama, A. Matsuo, A. Abe, A. Naiki, H. Setoguchi, T. Makino & Y. Isagi. Double migration of the endangered <i>Tricyrtis formosana</i> (Liliaceae) in Japan. <i>Scientific Reports</i> (2024) 14, 16020 (https://doi.org/10.1038/s41598-024-66599-w)
14	Onuki, K., R. K. Ito, T. Mishina, Y. Hashiguchi, K. Ikeya, K. Uehara, M. Nishio, R. Tabata, S. Mori, K. Watanabe. (2024). Next-generation phylogeography reveals unanticipated population history and climate and human impacts on the endangered floodplain bitterling (<i>Acheilognathus longipinnis</i>). <i>BMC Ecology and Evolution</i> , 24, 141. https://doi.org/10.1186/s12862-024-02326-y

注：この欄の成果番号は「研究成果発表の一覧」と共通です。

1. 6. 3. 主要な研究成果普及活動

本研究課題での成果普及活動は、「国民との科学・技術対話」を9件、「マスメディア等への公表・報道等」を15件行った。この中では特に、保護増殖事業対象種でありながら生息域外保全集団が壊滅したオガサカラシジミのゲノム解析に関わる報道が大きな関心を集めた（マスメディア等への公表・報道等成果番号9~15）。

1. 7. 国際共同研究等の状況

<国際共同研究の概要>

特に記載する事項はない。

<相手機関・国・地域名>

機関名（正式名称）	(本部所在地等の)国・地域名

注：国・地域名は公的な表記に準じます。

1. 8. 研究者略歴

<研究者（研究代表者及びサブテーマリーダー）略歴>

研究者氏名	略歴（学歴、学位、経歴、現職、研究テーマ等）
井鷺裕司	研究代表者及びサブテーマ1リーダー 広島大学大学院理学研究科博士課程前期修了、博士(学術)、森林総合研究所主任研究員、広島大学大学院総合科学研究科助教授、現在、京都大学大学院農学研究科教授
渡辺勝敏	サブテーマ2リーダー 東京水産大学大学院水産学研究科修了、博士（水産）、現在、京都大学大学院理学研究科教授
中濱直之	サブテーマ3リーダー 京都大学大学院農学研究科博士後期課程修了、博士(農学)、日本学術振興会特別研究員PD、現在、兵庫県立大学自然・環境科学研究所准教授 兼 兵庫県立人と自然の博物館主任研究員

2. 研究成果発表の一覧

注：この項目の成果番号は通し番号です。

(1) 研究成果発表の件数

成果発表の種別	件数
産業財産権	0
査読付き論文	14
査読無し論文	0
著書	1
「国民との科学・技術対話」の実施	9
口頭発表・ポスター発表	22
マスコミ等への公表・報道等	15
成果による受賞	4
その他の成果発表	9

(2) 産業財産権

成果番号	出願年月日	発明者	出願者	名称	出願以降の番号
	特に記載する事項はない。				

(3) 論文

<論文>

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
1	2023	N. Nakahama, R. Okano, Y. Nishimoto, Y. Nakatani et al. The second phantom aquatic leaf beetle in Japan: <i>Macroplea mutica</i> rediscovery in the wetlands (Coleoptera; Chrysomelidae).	3	有

		Entomological Science (2023) 26, e12545 (doi.org/10.1111/ens.12545)		
2	2023	N. Nakahama, S. Kurata, A. Ushimaru. Contribution of genetic analyses to semi-natural grassland biodiversity conservation in Japan. <i>Plant Species Biology</i> (2023) 38, 158-170	3	有
3	2024	M. Katafuchi, S. Narita, Y. Komaki, A.J. Nagano, T. Yukawa, Y. Suyama, S.K. Hirota, M. Yamasaki, Y. Isagi. Comprehensive genetic analysis reveals the genetic structure and diversity of <i>Calanthe hoshii</i> (Orchidaceae), an endemic species of the Ogasawara Islands: Implications for appropriate conservation of a critically endangered species. <i>Plant Species Biology</i> (2024) 39(5), 297–305 (doi.org/10.1111/1442-1984.12479)	1	有
4	2024	N. Nakahama N, T. Konagaya, S. Ueda, N. Hirai, M Yago, YA Yaida, A Ushimaru, Y Isagi. Road to extinction: archival samples unveiled the process of inbreeding depression during artificial breeding in an almost extinct butterfly species. <i>Biological Conservation</i> (2024) 296,110686 (https://doi.org/10.1016/j.biocon.2024.110686)	3	有
5	2024	中濱直之, 井鷺裕司.保全遺伝学に基づいた絶滅危惧種の生息域外保全及び野生復帰に関する推奨事項. <i>保全生態学研究</i> (2024) 29, 25-35 (https://doi.org/10.18960/hozen.2328)	3	有
6	2024	M. Hayamizu, N. Nakahama, A. Ohwaki, G. Kinoshita, Y. Uchida, N Koyama, K. Kida. (Equal Contribution) Effect of mowing on population maintenance of the endangered silver-studded blue butterfly, <i>Plebejus subsolanus</i> (Lepidoptera: Lycaenidae), throughout its life cycle in Japan. <i>Journal of Insect Conservation</i> (2024) 28, 437-448. (https://doi.org/10.1007/s10841-024-00552-9)	3	有
7	2024	C. Hata, C. Endo, H. Tanaka, M. Hiruma, M. Kumamoto, I. Takenaka, T. Makino, K. Niinaka, Y. Suyama, S. K. Hirota, M. Yamasaki & Y. Isagi. Conservation units and the origin of planted individuals of an endangered endemic species <i>Lobelia boninensis</i> in the Ogasawara Islands. <i>Scientific Reports</i> (2024) 14, 11331 (https://doi.org/10.1038/s41598-024-78452-w)	1	有
8	2024	Y. Kobayashi, Y. Komaki & Y. Isagi. Exploring phylogeny and genomic vulnerability of <i>Melastoma</i> (Melastomataceae) endemic to a World Natural Heritage site, the Bonin Islands. <i>Scientific Reports</i> (2024) 14, 15567 (https://doi.org/10.1038/s41598-024-65726-6)	1	有

9	2024	S. Setsuko, S. Narita, I. Tamaki, K. Sugai, A. J. Nagano, T. Ujino-Ihara, H. Kato & Y. Isagi. Adaptive radiation of the <i>Callicarpa</i> genus in the Bonin Islands revealed through double-digest restriction site-associated DNA sequencing analysis. <i>Ecology and Evolution</i> (2024) 14, e70216 (https://doi.org/10.1002/ece3.70216)	1	有
10	2024	K. Tsunenari, T. Ito, M. Yokota, M. Shibabayashi, C. Endo, K. F. Chung, Y. Suyama, A. Matsuo, A. Abe, A. Naiki, H. Setoguchi, T. Makino & Y. Isagi. Double migration of the endangered <i>Tricyrtis formosana</i> (Liliaceae) in Japan. <i>Scientific Reports</i> (2024) 14, 16020 (https://doi.org/10.1038/s41598-024-51431-x)	1	有
11	2024	井鷺裕司、辻本大地. ゲノムの健全性に基づく小笠原産保護増殖事業対象種の保全. 東京都立大学小笠原研究年報 (2024) 47, 1-10.	1	有
12	2024	Onuki, K., R. K. Ito, T. Mishina, Y. Hashiguchi, K. Ikeya, K. Uehara, M. Nishio, R. Tabata, S. Mori, K. Watanabe. (2024). Next-generation phylogeography reveals unanticipated population history and climate and human impacts on the endangered floodplain bitterling (<i>Acheilognathus longipinnis</i>). <i>BMC Ecology and Evolution</i> , 24, 141. https://doi.org/10.1186/s12862-024-02326-y	2	有
13	2025	Isagi, Y., Shimizu, T., Kobayashi, Y., Suyama, Y., Tokuhiro, C., Kokubugata, G., Ito, T., Chung, K.-F., Abe, A., Makino, T., Yamasaki, M. Genomic analysis highlights the conservation significance of <i>Torenia concolor</i> (Linderniaceae) from the periphery of its distribution range. <i>Journal of Plant Research</i> . 138: 805-801	1	有
14	2025	Tsujimoto, D., Takayanagi, M., Horikoshi, K., Suzuki, H., Isagi, Y. Genetic purging in an island-endemic pigeon recovering from the brink of extinction. <i>Communications Biology</i> . 8:1051	1	有

(4) 著書

<著書>

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
15	印刷中	大貫渓介・渡辺勝敏. 全ゲノム集団解析に基づく氾濫原性淡水魚イタセンパラの自然史. 森誠一編集「河川ダイナミクスの生態学」朝倉書店	2

(5) 口頭発表・ポスター発表

<口頭発表・ポスター発表>

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
16	2022	Y. Isagi, Y. Suyama and T. Makino. Tailor-made biological conservation of endangered plant species with genomic information. The 20th International Symposium on Integrated Field Science, Sendai, Japan (2022) (招待講演)	1	無
17	2022	井戸啓太、阿部司、岩田明久、伊藤僚祐、田畠諒一、渡辺勝敏：日本魚類学会年会（2022）全ゲノムデータから推定されたアユモドキ (<i>Parabotia curtus</i>) の歴史的集団動態と集団構造	2	無
18	2022	中濱直之、上田昇平、平井規央、矢後勝也ほか。遺伝情報を用いて絶滅危惧種を守ろう：国内希少野生動植物種における遺伝情報の蓄積と事例研究。バーチャル研究会 生物多様性のDNA情報学（2022）(招待講演)	3	無
19	2023	小林千浩、井鷺裕司、小牧義輝、小笠原固有ノボタン属の系統と集団ゲノム解析。第22回日本植物分類学会大会（2023）	1	無
20	2023	蕪木史弦、伊東拓朗、高橋大樹、游旨介ほか。東アジアで隔離分布する希少種ハコベマンネングサの種内系統解析。第22回日本植物分類学会大会（2023）	1	無
21	2023	井戸啓太、阿部司、岩田明久、田畠諒一ほか。氾濫原依存性淡水魚アユモドキの集団形成史：全ゲノムデータによる再構築。日本生態学会第70回全国大会（2023）	2	無
22	2023	大貫渕介、田畠諒一、西田睦、渡辺勝敏。ゲノムワイドデータに基づく絶滅危惧淡水魚ネコギギの遺伝的集団構造と歴史集団動態。第70回日本生態学会	2	無
23	2023	井戸啓太、三品達平・田畠諒一・岩田明久・阿部司・渡辺勝敏。ゲノムワイドSNPデータから推定されたアユモドキ (<i>Parabotia curtus</i>) の野生・飼育集団の遺伝的特性。2023年度日本魚類学会年会	2	無
24	2023	大貫渕介、田畠諒一、三品達平、西田睦、渡辺勝敏。ゲノムワイドデータから推定された周伊勢湾域固有種ネコギギの集団形成史。2023年度日本魚類学会	2	無
25	2023	中濱直之、上田昇平、矢後勝也、矢井田友暉ほか。オガサワラシジミ生息域外保全集団における繁殖途絶の遺伝的背景。第70回日本生態学会（2023）	3	無
26	2023	中濱直之、小長谷達郎、上田昇平、平井規央ほか。MIG-seq 法を用いた国内希少野生動植物種オガサワラシジミの保全ゲノミクス。日本昆虫学会第83回大会（2023）	3	無
27	2023	鈴木結子、中濱直之、矢後勝也、遠藤千晴ほか。絶	3	無

		滅が疑われるオガサワラシジミの系統的由来. 日本生態学会第71回大会 (2024)		
28	2024	井戸啓太、大貫渕介、三品達平、渡辺勝敏. 絶滅危惧淡水魚類の危機診断：ゲノム景観から予測される小集団化の影響とその種間比較. 第71回日本生態学会	2	無
29	2024	井鷺裕司、渡辺勝敏、中濱直之. 保護増殖事業対象種の状況をゲノム情報でどのように理解するか. 第71回日本生態学会	1, 2, 3	無
30	2024	片山優太、井戸啓太、大貫渕介、田畠諒一、伊藤僚祐、渡辺勝敏. 全ゲノム解析から推測された遺伝的搅乱前のヒナモロコの遺伝的多様性. 2024年度日本魚類学会	2	無
31	2024	渡辺勝敏、田畠諒一、辻冴月、三品達平. ゲノム時代の魚類自然史：“次世代+eDNA”系統地理と保全ゲノミクス. 2024年度日本魚類学会	2	無
32	2024	井戸啓太、大貫渕介、三品達平、田畠諒一、後藤健宏、山本義彦、渡辺勝敏. 生息域外保存集団における遺伝的リスクの実態：全ゲノム解析による絶滅危惧魚類の種間比較. 2024年度日本魚類学会	2	無
33	2024	中濱直之、小長谷達郎、佐藤光彦、上田昇平ほか. 絶滅危惧チョウ類2種の生息域外保全集団における繁殖途絶及び減少プロセス. 日本生態学会第71回大会. (2024)	3	無
34	2024	中濱直之. 博物館標本の遺伝情報から過去を知り、未来の生物多様性保全につなげる. 日本動物学会第95回長崎大会. (2024)	3	無
35	2024	中濱直之、小長谷達郎、上田昇平、平井規央ほか. 国内希少野生動植物種オガサワラシジミが繁殖途絶に至った集団遺伝学的背景. 第56回種生物学シンポジウム (2024)	3	無
36	2024	Nakahama N, Ueda S, Sato P.M. Matsuo A et al. Conservation genomics of two semi-natural grassland endangered insects in Japan. XXVII International Congress of Entomology (2024)	3	有
37	2025	中濱直之. やっぱり実物が大事 -ミュゼオミクスが拓く博物館標本の可能性-. 日本生態学会第72回大会. (2025)	3	無

(6) 「国民との科学・技術対話」の実施

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
38	2022	樹木医実践技術講座（主催：日本樹木医会、2022年9月3日、京都大学大学院農学研究科、聴衆約50名）にて研究成果を「ゲノムを調べて生物多様性をまもる」の演題で紹介	1
39	2022	一般公開講演会 「遺伝子を調べてまもる絶滅危惧植物」（主催：KYOTO ENDEMICA、2022年10月22日、宇治市植物公園、聴衆約30名）にて講演	1

40	2022	大阪明星学園生物部研究会(主催:大阪明星学園、2022年11月18日、聴衆約20名)にて研究成果を「絶滅危惧種における遺伝情報の蓄積状況」の演題で紹介	3
41	2023	日本樹木医会神奈川県支部技術研修会（主催：日本樹木医会神奈川県支部、2023年4月15日、Web開催、聴衆約30名）にて研究成果を「ゲノムを調べて生物多様性をまもる」の演題で紹介	1
42	2023	若手で語ろう！生態学「はじまりの生態学～研究者のルーツを探る～」（2023年5月4日、Web開催、聴衆約50名）にて講演（タイトル：標本が語る生物多様性の危機と保全）	3
43	2023	「研究員による研究ばなし～ひとはくが目指す研究の最前線～」兵庫県立人と自然の博物館オープンセミナー（2023年6月4日、Web開催、聴衆約100名）にて講演（タイトル：ゲノム情報の利用した絶滅危惧種の保全研究）	3
44	2024	「研究員による研究ばなし～ひとはくが目指す研究の最前線～」兵庫県立人と自然の博物館一般セミナー（2024年11月3日、Web開催、聴衆約30名）にて研究成果を「新しい生物標本の活用方法-標本の遺伝子を用いた最新研究-」の演題で紹介	3
45	2024	ミニ企画展ひとはく研究員展2025(主催:兵庫県立人と自然の博物館、2025年2月11日～4月13日)にて研究成果を オガサワラシジミの研究成果を展示)	3
46	2024	「地域自然史と保全研究発表会」 関西自然保護機構2025年度大会(主催: 関西自然保護機構、2025年3月2日、大阪市立自然史博物館及びウェブ開催、聴衆約100名)にて「遺伝情報からひととく草原性絶滅危惧昆虫の歴史と保全」の演題で紹介	3

(7) マスメディア等への公表・報道等

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
47	2023	成果の記者発表（2023年4月18日 於兵庫県立大学自然・環境科学研究所「2種目の幻の水生ハムシ～キタキイロネクイハムシを青森県から再発見～」）	3
48	2023	神戸新聞（2023年4月19日ウェブ版 「本州で初発見、幻の水生昆虫「キタキイロネクイハムシ」県立大講師ら青森県で確認」） https://www.kobe-np.co.jp/news/sougou/202304/0016261551.shtml	3
49	2023	朝日新聞デジタル（2023年4月19日「これ、幼虫だよね」変わらぬ友情が生んだ、幻の水生昆虫の再発見」） https://www.asahi.com/articles/ASR4M54VPR4LPLBJ008.html	3
50	2024	日本経済新聞（2024年1月26日「タイワンホトトギスは台湾の2つの系統から個別に西表島と沖縄本島へ渡来したことを解明」） https://www.nikkei.com/article/DGXZRSP667605_W4A120C2000000/	1
51	2024	Tii生命科学（2024年1月26日「別経路で二度来訪していた絶滅危惧植物～世界遺産地域における生物多様性の成立過程～」） https://medibio.tiisys.com/121856/	1

52	2024	文教速報デジタル版(2024年1月31日「絶滅危惧種「タイワンホトトギス」 西表島と台湾本島で性質が違う? 京大などが調査」) https://bunkyodezi.com/research/8007/	
53	2024	沖縄タイムス(2024年2月3日「タイワンホトトギス 別々に渡来か」) https://www.okinawatimes.co.jp/articles/-/1302450	1
54	2024	神戸新聞(2024年4月26日「絶滅危惧アサマシジミ守れ 北海道のチョウ、ひとはく研究員が調査 生息地で草刈り個体数増加」) https://www.kobe-np.co.jp/news/sanda/202404/0017583902.shtml	3
55	2024	朝日新聞(2024年7月12日「26匹いたら違う未来も オガサワラシジミ、飼育途絶えた要因を解明」) https://www.asahi.com/articles/ASS7C3SB8S7CULBH001M.html	3
56	2024	NHKニュース(2024年7月14日「小笠原諸島固有のチョウ 繁殖も途絶 “遺伝的多様性が失われ”」) https://www3.nhk.or.jp/news/html/20240714/k10014510891000.html	3
57	2024	日本経済新聞(2024年7月21日「保護・飼育のチョウ 近親交配が繁殖の壁」) https://www.nikkei.com/article/DGKKZO82217060Q4A720C2TYC000/	3
58	2024	産経新聞(2024年7月27日「絶滅危惧チョウのオガサワラシジミ、人工繁殖失敗の意外な原因判明 種の保全の難しさ浮上」) https://www.sankei.com/article/20240727-CZX4Q6YV7JNURIPZSMQ2JAEJCM/	3
59	2024	神戸新聞(2024年8月19日「絶滅に近いチョウ「オガサワラシジミ」、人工繁殖なぜ失敗? ひとはく研究員らが解明」) https://www.kobe-np.co.jp/news/sanda/202408/0018022668.shtml	3
60	2024	東京新聞(2024年8月25日「遺伝的多様性失い 途絶えた繁殖 小笠原諸島固有のチョウ、オガサワラシジミ 限られた個体数 近親交配繰り返す」) https://www.tokyo-np.co.jp/article/349560	3
61	2024	共同通信(2024年8月27日「チョウ繁殖失敗は近親交配 遺伝的多様性減、小笠原」) https://nordot.app/1201040892876407654?c=39550187727945729	3

(8) 研究成果による受賞

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
62	2022	魚類学会最優秀ポスター発表賞(日本魚類学会年会)	2
63	2023	魚類学会優秀ポスター発表賞(日本魚類学会年会)	2
64	2024	若手奨励賞(日本昆虫学会)	3
65	2024	松下幸之助記念奨励賞(財団法人松下幸之助記念志財団)	3

(9) 他の成果発表

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
66	2023	ランダイミズの縮約ゲノム配列データ BioProject PRJNA921842	1
67	2023	タイワンホトトギスのゲノムデータ BioProject PRJDB15490	1
68	2023	アカガシラカラスバトのゲノムデータ BioProject PRJDB12565	1
69	2024	オオハマギキョウのゲノムデータ BioProject PRJDB17688	1
70	2024	小笠原固有ノボタン属のゲノムデータ BioProject PRJNA1101173	1
71	2024	ホシツルランのゲノムデータ BioProject PSJDB17223、PSJDB17870	1
72	2024	イタセンバラの全ゲノムデータ DDBJ Sequence Read Archive (DRA) BioProject PRJDB15958	2
73	2024	オガサワラシジミの縮約ゲノム配列データ DRA: DRA017311	3
74	2024	ツルウリクサのゲノムデータ BioProject PRJNA1117523	1

権利表示・義務記載

特に記載する事項は無い。

この研究成果報告書の文責は、研究課題に参画した研究者にあります。

この研究成果報告書の著作権は、引用部分及びERCAのロゴマークを除いて、原則的に著作者に属します。

独立行政法人環境再生保全機構（ERCA）は、この文書の複製及び公衆送信について許諾されています。

Abstract**[Project Information]**

Project Title : Assessment of Viability Based on Conservation Genomics for Species Subject to Protection and Propagation Under the Law for the Conservation of Species

Project Number : JPMEERF20224M02

Project Period (FY) : 2022-2024

Principal Investigator : Isagi Yuji

(PI ORCID) : ORCiD000000029777076X

Principal Institution : Kyoto University

Kyoto, 606-8502, JAPAN

Tel: +81-(0)75-753-6422

E-mail: isagi.yuji.5n@kyoto-u.ac.jp

Cooperated by : University of Hyogo

Keywords : Conservation genomics, Biodiversity conservation, Endangered species, Act on Conservation of Endangered Species of Wild Fauna and Flora, Population dynamics estimation, Future projection

[Abstract]

Under the Law for the Conservation of Species, 64 species have been designated for Conservation and Propagation Programmes led by the Ministry of the Environment. Nevertheless, no species has demonstrated sufficient recovery to be removed from the list. This project applied conservation genomics to endangered species to assess genetic health and provide a scientific basis for more effective conservation strategies. The study commenced with a focus on six species: *Columba janthina nitens*, *Melastoma tetramerum*, *Acheilognathus longipinnis*, *Parabotia curtus*, *Celastrina ogasawaraensis*, and *Melitaea protomedia*. Subsequently, the scope was expanded to encompass a total of 16 species, encompassing birds, plants, fish, and insects. The construction of high-quality reference genomes was undertaken, and population genomic data were obtained using whole-genome resequencing, MIG-seq, RAD-seq, and RNA-seq. In *C. janthina nitens*, genomic data has revealed a long-term population decline that has been exacerbated by anthropogenic impacts since the Meiji era. Analyses of both wild and ex situ populations revealed indications of inbreeding and the accumulation of deleterious mutations, while concomitantly identifying genomic features that may have facilitated this species' rare population recovery. In *M. tetramerum*, the presence of extremely low genetic diversity, extensive runs of homozygosity (ROH), and a high frequency of nonsense mutations are indicative of advanced genomic

degradation, a common pattern observed in small island populations. It was a surprising finding that closely related taxa, such as *Melastoma pentapetalum*, exhibited even greater levels of genetic risk. In the context of freshwater fishes, the utilisation of high-resolution genome assemblies, employing techniques such as Hi-C, has facilitated the reconstruction of historical population dynamics and the assessment of genetic structure. Captive populations were analysed for inbreeding and mutation load, providing essential data for the design of breeding programmes. In insects, *C. ogasawaraensis*—a species targeted under the Conservation and Propagation Programmes—was found to be undergoing long-term genetic decline, and simulations were used to estimate the minimum founding size necessary for sustainable ex situ conservation. The present study demonstrated the value of genomics in identifying hidden extinction risks, redefining conservation units and evaluating management practices. The results of the study were disseminated to the Ministry of the Environment and the relevant working groups, thereby providing a direct contribution to the formulation of national conservation policies. The integration of genomic approaches into the project established a foundation for genetic monitoring, recovery planning, and prioritization of threatened taxa.

[References]

- Kobayashi, Y. et al. (2024) 'Exploring phylogeny and genomic vulnerability of *Melastoma* (Melastomataceae) endemic to a World Natural Heritage site, the Bonin Islands', *Scientific Reports*, 14, p.15567. DOI: [10.1038/s41598-024-66304-w](https://doi.org/10.1038/s41598-024-66304-w)
- Onuki, K. et al. (2024) 'Next-generation phylogeography reveals unanticipated population history and climate and human impacts on the endangered floodplain bitterling (*Acheilognathus longipinnis*)', *BMC Ecology and Evolution*, 24, p.141. DOI: 10.1186/s12862-024-02326-y
- Nakahama et al. (2024) 'Road to extinction: archival samples unveiled the process of inbreeding depression during artificial breeding in an almost extinct butterfly species' *Biological Conservation* 296,110686. DOI: 10.1016/j.biocon.2024.110686

This research was performed by the Environment Research and Technology Development Fund (JPMEERF20224M02) of the Environmental Restoration and Conservation Agency provided by Ministry of the Environment of Japan.