課題番号：4MF-2202

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
研究代表者名：井鷺裕司（京都大学）

体系的番号：JPMEERF20224M02
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：非該当
研究実施期間：2023年度～2025年度

【研究体制】
サブテーマ１：
井鷺裕司、遠藤千晴、小林千浩（京都大学）

サブテーマ２：
渡辺勝敏（京都大学）

サブテーマ３：
中濱直之（兵庫県立大学）

1. 研究背景、研究開発目的及び研究目標

【研究背景】

■生物多様性は様々な生態系において危機的状況にある。

■「種の保存法」では、「生物多様性の確保」や、「科学的知見の充実を図る」ことを国の責務とし、保護増殖事業を行っている。

■「種の保存法」に基づく保護増殖事業は我が国の生物多様性保全策として最重要なものであるが、2020年、保護増殖事業対象種のオガサワラシジミの生息域外保全集団が消滅し、保護増殖の困難さが浮き彫りになった。

■このような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、種や個体群ごとの保全状況の客観的評価や将来予測が必要である。

【研究開発目的】

■現在、種の保存法に基づいて保護増殖事業の対象種となっている64種の一部では、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、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履歴や、種の本質的な脆弱性を解析し、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、個体群の存続性の将来予測を行う。

保護増殖事業対象種イタセンパラとアユモドキ　生息域外保全集団は維持されているが飼育環境への過剰な適応や奇形個体の発生などゲノム情報に基づく個体群存続性の評価が必要である。

1. 研究背景、研究開発目的及び研究目標

【研究目標（全体目標）】
■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。

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？

■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

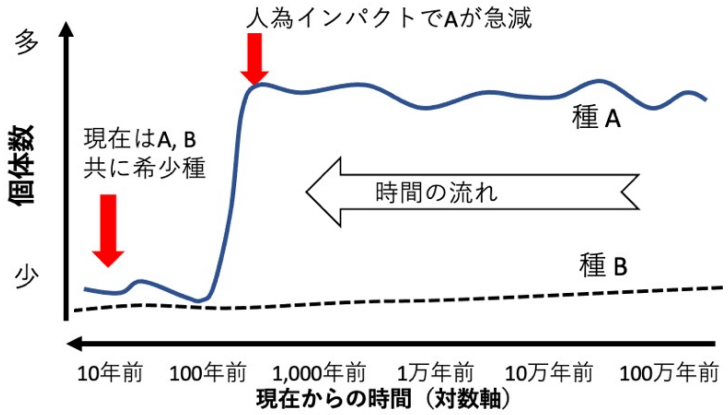
■解析対象種
保護増殖事業対象種のうち
鳥類、植物、魚類、昆虫類から
幅広く６種を解析対象に選定
(写真は環境省HPより)

1. 研究背景、研究開発目的及び研究目標

【研究目標（全体目標）】

■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。

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)

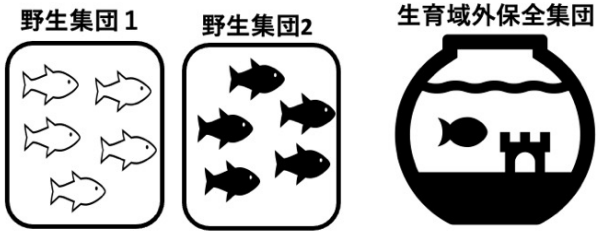


■個体数が急減し希少種になった種Aは、その後の経過が種Bよりも悪化しやすい

■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＞

■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か？存続可能か？

＜生育域外保全集団＞

■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

2. 研究目標の進捗状況
（1）進捗状況に対する自己評価（サブテーマ1）

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１の研究目標】
鳥類：アカガシラカラスバト、植物：ムニンノボタン、合計2種を対象とし、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。

【令和4年度研究計画】
アカガシラカラスバトのゲノム解析を行う。人為影響を受ける前の個体群動態を推定し、現存個体数と比較解析することで人為インパクトが本種に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を解明する。
【令和5年度研究計画】
ムニンノボタンのゲノム解析を行う。人為影響を受ける前の個体群動態を推定し、現存個体数と比較することで人為インパクトが本種に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を解明する。
【令和6年度研究計画】
アカガシラカラスバトおよびムニンノボタンを対象に保全ゲノミクス解析を行い、現存する野生集団と生息域外集団について、比較遺伝解析を行う。また、本研究で解析対象とする6種について統合的解析を行う。

【自己評価】計画以上の進展がある

【目標達成の見通し】現時点までに想定していた目標を達成した上に、計画以上の解析を行うことができた。プロジェクト全体を通しても当初目標以上の成果が達成できる見通し。

サブテーマ１
京都大・院・農
井鷺裕司
鳥類・植物

2. 研究目標の進捗状況
（2）自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し（サブテーマ1）

【具体的な理由・根拠】
■令和4年度解析予定のアカガシラカラスバト：予定以上の通りのゲノム解読を実施。

■計画していたPSMC解析による長期間の個体群動態推定(図1-1)に加え、新たな解析(GONE)によって僅か数世代前までの個体数変動を解明し、明治期以降の人為インパクトが個体群動態に及ぼした影響を明示した。

PSMCによる解析

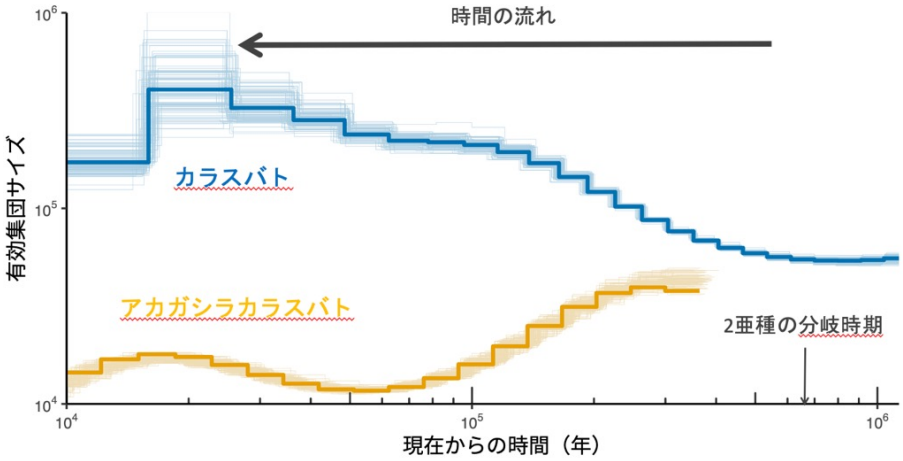


図1-1　アカガシラカラスバト（オレンジ色）およびカラスバト（青色）の (a) 分布域と(b) 過去100万年の個体群動態　突然変異率を1.42×10^{-9}年$^{-1}$塩基$^{-1}$、1世代の時間を2年と仮定してPSMC (Li & Durbin 2011) で推定した。

2. 研究目標の進捗状況
（2）自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し（サブテーマ1）

【具体的な理由・根拠】

■遺伝的多様性の分布様式をゲノム全体にわたって評価(図1-3)。

■有害変異蓄積量を解析し、アカガシラカラスバトのゲノム全体にわたって遺伝的浄化が起こっており、有害変異の蓄積が少ないことを突き止めた→<u>アカガシラカラスバトの安定的な個体群維持にとって極めて意味のある</u>情報。

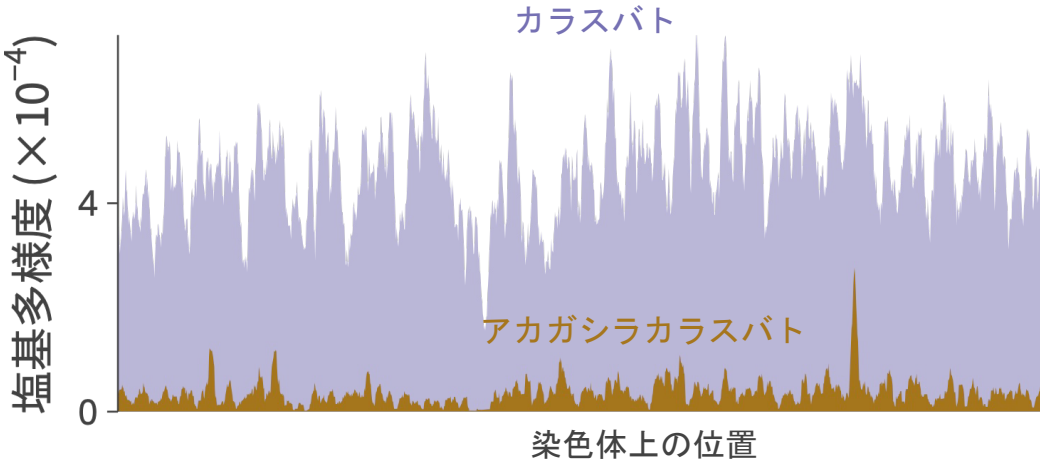


図1-3　普通種カラスバト及び小笠原固有希少亜種アカガシラカラスバトの塩基多様度　ゲノム全体にわたって塩基多様度を比較解析したが、ここでは20番染色体の一部分について例示した。アカガシラカラスバトの遺伝的多様性（塩基多様度）はカラスバトに比べて著しく低い。

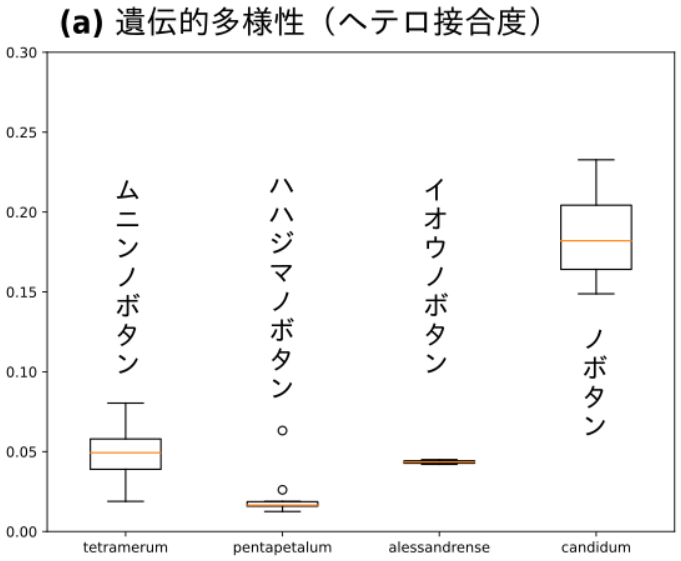
2. 研究目標の進捗状況
（2）自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し（サブテーマ1）

【具体的な理由・根拠】

■平成5年度対象種ムニンノボタンに加えて、小笠原固有分類群のハハジマノボタン、イオウノボタンと比較ゲノム解析を実施。

■ムニンノボタンのゲノムが脆弱であることに加えて、これまで特段の保全策がとられていなかったハハジマノボタンがゲノムの特徴から危機的な状況であることを明らかにした(図1-6)。

■野生個体数だけでなく、ゲノムの健全度という観点に基づいて、適切な予備的保全策の実施の必要性を示すものであり、今後の保護対象種の選定において、<u>新しい評価基準を提示</u>。



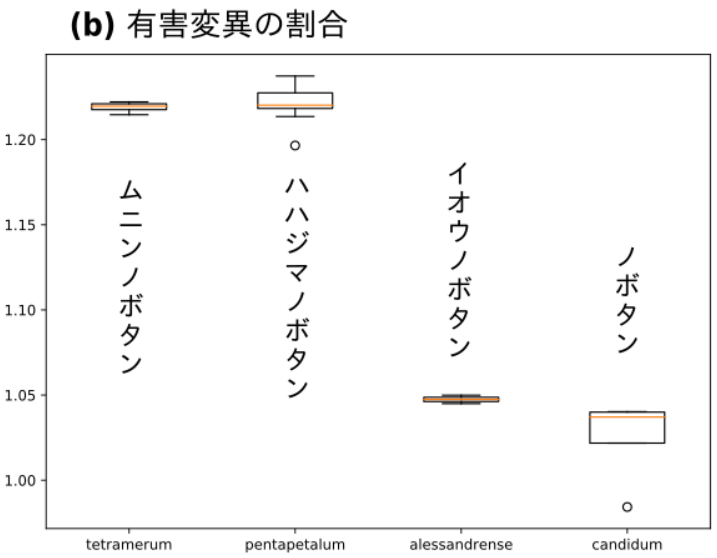


図1-6　小笠原固有のボタン属3種と近縁普通種の比較ゲノム解析　遺伝的多様性は小笠原に生育するイオウノボタン、ムニンノボタン、ハハジマノボタンは普通種ノボタンよりも著しく低い(a)。<u>有害変異はムニンノボタンとハハジマノボタンで高く、これら種のゲノムが脆弱</u>である事を示している。

2. 研究目標の進捗状況
（1）進捗状況に対する自己評価（サブテーマ2）

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２の研究目標】
魚類：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。

【令和4年度研究計画】
富山、濃尾、大阪のみに隔離分布するイタセンパラ3集団について、人為影響を受ける前の集団動態を推定し、人為インパクトの影響と集団の脆弱／頑強性を解明する。野生集団と生息域外集団について、ゲノムの特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価する。
【令和5年度研究計画】
京都府および岡山県のみに隔離分布するアユモドキについて、人為影響を受ける前のアユモドキ個体群動態を推定し、人為インパクトが本種に与えた影響を解明する。孤立した3つの集団と生息域外集団について、ゲノムの特徴や生息域外集団の保全上の価値を評価する。
【令和6年度研究計画】
イタセンパラおよびアユモドキを対象に集団レベルのゲノム解析を行い、現存する野生集団と生息域外集団について、遺伝的多様性や遺伝的差異の解析を行う。

【自己評価】計画以上の進展がある

【目標達成の見通し】現時点までに想定していた目標を達成した上に、計画以上の解析を行うことができた。プロジェクト全体を通しても当初目標以上の成果が達成できる見通し。

サブテーマ２
京都大・院・理
渡辺勝敏
魚類

2. 研究目標の進捗状況
（2）自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し（サブテーマ2）

【具体的な理由・根拠】

■令和4年度に予定していたイタセンパラ：予定通り3つの地域集団で全ゲノム解読を実施した。

■ゲノム情報をもとに、3地域集団の分岐や遺伝子流動量を推定するとともに、PSMC、MSMC、およびPopSizeABCを組み合わせた解析によって、百万年前から現代までの個体群動態を詳細に解明した。

2. 研究目標の進捗状況
（2）自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し（サブテーマ2）

【具体的な理由・根拠】

■最新の全ゲノム解読技術を取り入れることで、より高精度な遺伝子レベルの分析が可能となり、イタセンパラおよび、第2年度目以降の解析対象となるアユモドキについて染色体レベルの全ゲノム決定を行った。

■さらにアユモドキについては計画に先行して計50個体を超えるリシーケンスデータを各集団から取得しており、染色体レベルの全ゲノムデータを基盤に解析を推進中。

■野生生物を対象とした全ゲノム解読としては極めて高精度！
■プロジェクト後半における高度な解析へ活用

2. 研究目標の進捗状況
（1）進捗状況に対する自己評価（サブテーマ3）

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３の研究目標】
昆虫類：オガサワラシジミとウスイロヒョウモンモドキ、合計2種を対象とし、ゲノム解析によって現在の保全状況と将来予測を行う。

【令和4年度研究計画】
2020年に絶滅したオガサワラシジミを解析対象とする。人為影響を受ける前の個体群動態を推定し、人為インパクトが本種に与えた影響を解明する。
【令和5年度研究計画】
兵庫県と岡山県のみに隔離分布するウスイロヒョウモンモドキを対象とする。人為影響を受ける前の個体群動態を推定し、人為インパクトが本種に与えた影響と集団の脆弱／頑強性を解明する。孤立した2集団と生息域外集団について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。
【令和6年度研究計画】
絶滅したオガサワラシジミでは、約20世代継代飼育された集団と野生集団の標本について、ウスイロヒョウモンモドキでは、現存する野生集団と生息域外集団について、集団ゲノミクス解析を行い、遺伝的多様性や遺伝的差異を明らかにする。

【自己評価】計画以上の進展がある

【目標達成の見通し】現時点までに想定していた目標を達成した上に、計画以上の解析を行うことができた。プロジェクト全体を通しても当初目標以上の成果が達成できる見通し。

サブテーマ３
兵庫県立大
中濱直之
昆虫類

オガサワラシジミ

ウスイロ
ヒョウモンモドキ

2. 研究目標の進捗状況
（2）自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し（サブテーマ3）

【具体的な理由・根拠】

■プロジェクト全体の対象種オガサワラシジミとウスイロヒョウモンモドキに加えて、保護増殖事業対象種フサヒゲルリカミキリも追加解析した。

■近縁種の全ゲノム情報を参照して解析する予定であったが、ウスイロヒョウモンモドキとフサヒゲルリカミキリでは新規ゲノムを決定できた。

■これらのゲノム情報をもとにオガサワラシジミ、ウスイロヒョウモンモドキ、フサヒゲルリカミキリ3種の歴史的集団動態解析が完了した。

2. 研究目標の進捗状況
（2）自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し（サブテーマ3）

【具体的な理由・根拠】

■オガサワラシジミ生息域外保全集団の崩壊過程を縮約ゲノム解読で詳細に解析し、遺伝的多様性の経時変化と孵化率の関係を明らかにするとともに、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(図3-4)。

■ウスイロヒョウモンモドキやフサヒゲルリカミキリでは残存集団ごとの遺伝的特徴を明らかにするなど、当初解析対象の2種類と追加解析対象1種について、予定よりも早い段階で新規ゲノム決定や集団解析を進めた。

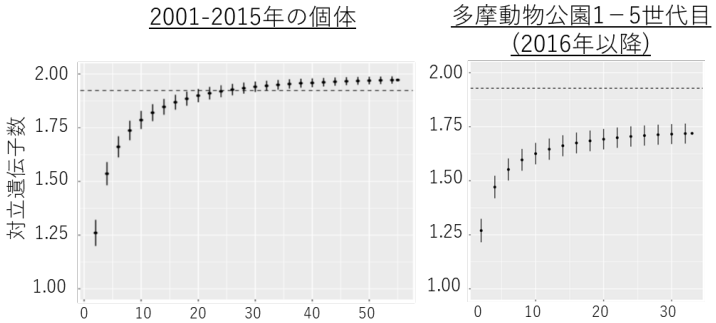


図3-4　生息域外保全集団の創立創始や存続に必要な個体数
水平点線を超える個体数が、2001–2015年の集団の遺伝的多様性の97.5%以上を維持する個体数。2001–2015年の個体では、26個体を生息域外保全の創立に用いればよいが、多摩動物公園の生息域外保全集団では遺伝的多様性の97.5%を確保することは不可能。

3. 研究成果のアウトカム（環境政策等への貢献）
サブテーマ１

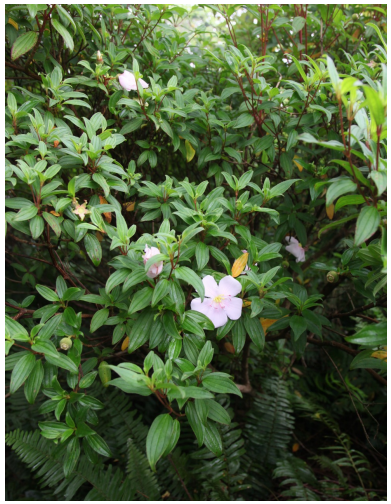
【行政等が活用することが見込まれる成果】

■アカガシラカラスバトは2000年以降、種の保存法に基づく保護増殖事業の一環として、東京都多摩動物公園、恩賜上野動物園で生息域外保全が行われてきた。野生から導入された個体や飼育下で繁殖した個体は延べ200個体に達するが、本研究ではこれらの全個体の家系関係や近交係数を明らかにした。今後はより安定的な個体群の保全ができるような交配親の選定などをゲノム情報に基づいて行う予定。

■小笠原諸島に生育するノボタン類4分類群の比較ゲノム解析を行うことで、一見個体数が多いためにこれまで見過ごされていたハハジマノボタンの危機的な脆弱性が明らかになった。ゲノム状況を参照することで、深刻化する前に予防的に効果的な保全策の構築が可能になり、より効果的な生物多様性保全施策に貢献が見込まれる。

母島に生育するハハジマノボタン

ムニンノボタンほどの危機的状況は認識されてこなかったが、ゲノム状況はムニンノボタン以上に悪いことが判明した。状況が深刻化する前に予防的な保全策の構築が望まれる。



3. 研究成果のアウトカム（環境政策等への貢献）
サブテーマ２

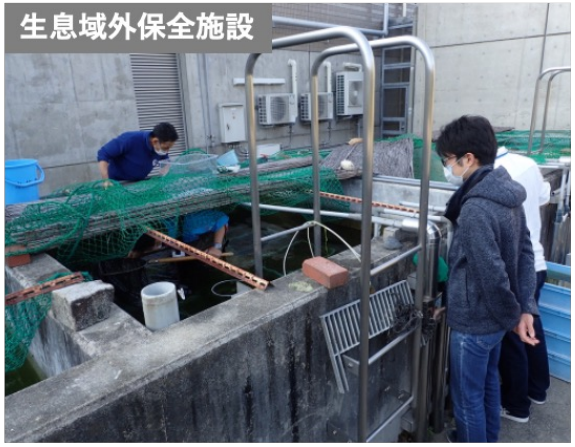
【行政等が活用することが見込まれる成果】

■自然史の解明に基づいて、各集団を個別に保全し、野生および飼育集団の遺伝的モニタリング・管理の必要性を指摘。

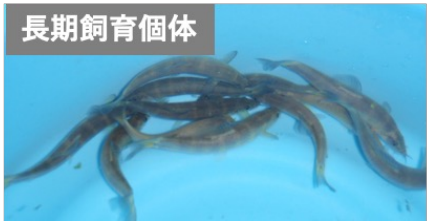
■今後解析予定の、遺伝子レベルの多様性の評価により、(1) 有害突然変異の蓄積の有無と発現リスク、(2) 飼育への適応の進行の有無、および (3) 免疫系など重要な適応形質の維持等を評価し、保護増殖事業対象種の効果的な保全に役立てられる見込み。

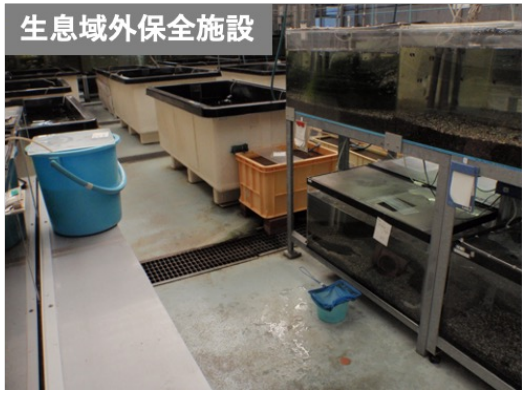
■ゲノム情報に基づき明らかにされた種の自然史や危機状況は、保全対象の生物学的リアリティを増し、効果的に啓発に用いることで、市民の保全意識の向上につながることが期待される。

イタセンパラ



アユモドキ





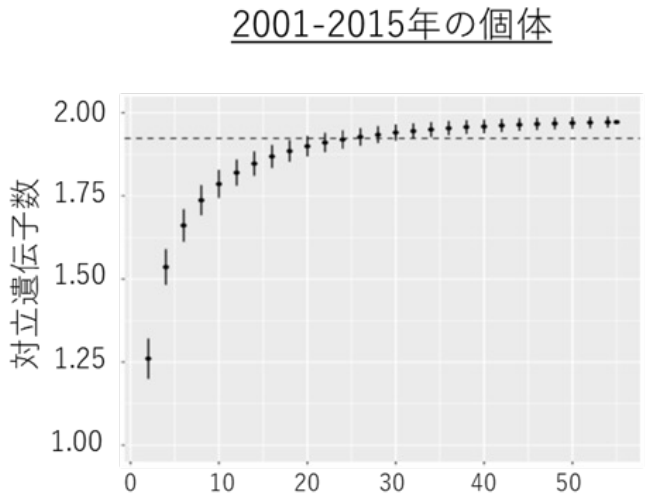
3. 研究成果のアウトカム（環境政策等への貢献）
サブテーマ３

【行政等が活用することが見込まれる成果】
行政が有効な保護増殖事業を実施するために必要な、創始個体数、保全施設数、野生復帰候補地について、下記の通り明らかにした。

■オガサワラシジミの生息域外保全集団の繋殖途絶の原因を遺伝的解析により明らかにし、また、本種の生息域外保全集団に必要な創始個体数を具体的に示した。

■複数の生息域外保全施設による遺伝的多様性保持の有効性について、複数施設の生息域外保全は、繁殖途絶のリスク回避だけでなく、遺伝的多様性の低下や近交弱勢の防止にも効果的であることを示した。

■ウスイロヒョウモンモドキ及びフサヒゲルリカミキリの絶滅集団を含めた遺伝的多様性や空間遺伝構造を明らかにし、野生復帰を実施しても遺伝的撹乱の生じるリスクの小さい野生復帰候補地を明らかにした。



生息域外保全集団の創始や維持に必要な個体数
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ことを示している。

4. 研究成果の発表状況（サブテーマ１）

【誌上発表（査読あり）：２件】

1. D. Tsujimoto, H. Ando, H. Suzuki, K. Horikoshi, N. Nakajima, Y. Suyama, A. Matsuo, C. Fujii and Y. Isagi: J. Biogeogr., 50, 235–246 (2023) (IF: 4.8) Has long - distance flight ability been maintained by pigeons in highly insular habitats?
2. M. Shibabayashi, T. Shimizu, C. Tokuhiro, Y. Suyama, S. Sakaguchi, T. Ito, C. C. Yu, K. F. Chung, J. Nagasawa, T. Shiuchi, G. Kokubugata, A. Abe, A. Naiki, A. J. Nagano and Y. Isagi: Front. Ecol. Evol., 11, 1093321 (2023) (IF: 4.5) 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.

【口頭発表（学会等）：３件】

1. Y. Isagi, Y. Suyama and T. Makino: The 20th International Symposium on Integrated Field Science, Sendai, Japan (2022) Tailor-made biological conservation of endangered plant species with genomic information（招待講演）
2. 小林千浩、井鷺裕司、小牧義輝：第22回日本植物分類学会大会（2023）小笠原固有ノボタン属の系統と集団ゲノム解析
3. 蕪木史弦、伊東拓朗、高橋大樹、游旨价、陶山佳久、井鷺裕司：第22回日本植物分類学会大会（2023）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

【知的財産権：なし】

【国民との科学・技術対話：３件】

1. 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
2. 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
3. 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

4. 研究成果の発表状況（サブテーマ２）

【誌上発表（査読あり）：なし】

【口頭発表（学会等）：２件】

1. 井戸啓太、阿部司、岩田明久、田畑諒一、伊藤僚祐、渡辺勝敏：日本生態学会第70回全国大会（2023）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
2. 井戸啓太、阿部司、岩田明久、伊藤僚祐、田畑諒一、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（*Parabotia curtus*）の歴史的集団動態と集団構造＜魚類学会最優秀ポスター発表賞受賞＞

【知的財産権：なし】

【国民との科学・技術対話：なし】

4. 研究成果の発表状況（サブテーマ３）

【誌上発表（査読あり）：２件】

1. N. Nakahama, R. Okano, Y. Nishimoto, Y. Nakatani, A. Noishiki and N. Ogawa: Entomol. Sci., 26, e12545 (2023) (IF: 1.3) The second phantom aquatic leaf beetle in Japan: *Macroplea mutica* rediscovery in the wetlands (Coleoptera; Chrysomelidae).
2. N. Nakahama, S. Kurata and A. Ushimaru: Plant Species Biol. (2023) (IF: 1.8) Contribution of genetic analyses to semi-natural grassland biodiversity conservation in Japan. (in press)

【口頭発表（学会等）：２件】

1. 中濵直之、上田昇平、平井規央、矢後勝也、小長谷達郎、井鷺裕司：バーチャル研究会　生物多様性のDNA情報学（2022）遺伝情報を使っ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（招待講演）
2. 中濵直之、上田昇平、矢後勝也、矢井田友暉、小長谷達郎、平井規央、丑丸敦史、井鷺裕司：第70回日本生態学会（2023）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

【知的財産権：なし】

【国民との科学・技術対話：２件】

1. 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）
2. 「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: ゲノム情報を利用した絶滅危惧種の保全研究）

5. 研究の効率性

■野生生物ゲノムのサイズや構造の複雑さは種ごとに異なっており、ゲノム解読・解析はすべての種でルーチン的に容易に行えるわけではないが、本プロジェクトでは研究開始後も、常に最新の解読・解析方法に関する情報を取り入れ、各種のゲノム状況に対応した有用な手法を模索・採用することで、想定以上のスピードで研究が進捗している。

【サブテーマ１】

■解析対象分類群

計画：期間全体で２種

実施：中間報告時にアカガシラカラスバト、ムニンノボタンの近縁種を含む６分類群を解析

■計画以上の解析成果

PSMCによる個体群動態推定に加えGONEを採用 ▶ 数世代前までの動態から明治期以降の人為インパクトを解明

有害変異蓄積量の解析 ▶ アカガシラカラスバトの頑強性とハハジマノボタンの脆弱性を新たに検出

【サブテーマ２】

■解析対象分類群

計画：期間全体で２種

実施：中間報告時にイタセンパラ、アユモドキの２種について計画解析内容を終了

■計画以上の解析成果

アユモドキについて染色体レベルのゲノム解読を完了 ▶ 野生生物としては例外的な高精度ゲノム情報を獲得を活用して、より効果的な保全策構築へ

【サブテーマ３】

■解析対象分類群

計画：期間全体で２種

実施：中間報告時にオガサワラシジミ、ウスイロヒョウモンモドキ、フサヒゲルリカミキリの３種を解析

■計画以上の解析成果

近縁種の全ゲノム情報を参照予定であったが、ウスイロヒョウモンモドキとフサヒゲルリカミキリでは新規ゲノムを決定

3種の歴史的集団動態解析が完了