

E - 4 熱帯域におけるエコシステムマネジメントに関する研究

(2)多様性評価のためのラピッドアセスメント開発に関する研究

熱帯雨林の遺伝的多様性の指標化に関する研究

独立行政法人森林総合研究所

津村義彦・谷 尚樹

<研究協力者> 新潟大学 大学院自然科学研究科 小沼明弘

平成14～16年度合計予算額(予定)17,443千円  
(うち、平成14年度予算額 5,998千円)

[要旨]森林管理の評価を適正に行うためには、生態学的根拠に基づき、簡便、かつ信頼性の高い生態指標の導入が必要である。近年、遺伝学的技術の進歩に伴い、森林断片化や劣化の指標として遺伝的多様性が注目されつつある。本研究では、森林伐採により急激に個体群が減少しているフタバガキ科の *Neobalanocarpus heimii* を対象に、交配距離、自殖率の推定および種子重が発芽率に与える影響の推定し、殖個体密度の低い植物の交配距離、交配相手数および近交弱勢の程度を定量化を行った。調査区内における平均交配距離は、開花個体密度によって異なり、低開花密度期が高開花密度期よりも有意に長かった。また、種子段階では観察された自殖由来の個体は実生段階ではその個体数が大幅に減少した。種子サイズを自殖由来種子と他殖由来種子で比較したところ、自殖由来の種子は他殖由来の種子よりも有意に軽かった。さらに、発芽率を比較したところ、軽い種子は重い種子よりも有意に発芽率が低かった。これら二つの結果より、*N. heimii* には近交弱勢があり、繁殖個体数の減少は本種の集団の維持にとって脅威である可能性が示唆された。今後はこれらの結果を用いて、遺伝的多様性評価を標準化して、指標として利用することが可能になると期待される。また、今後の研究の精度を高め、発展させてゆくためには、(1)高い精度での種同定、(2)樹冠における開花・訪花昆虫・結実過程の観察および試料採取の方法の開発および(3)小径木も含む全ての開花可能個体の位置決定が必要とされる。そのため、森林の相観的要素を更に詳細に評価する技術開発との連携が必要不可欠である。

[キーワード]遺伝的多様性、遺伝子流動、森林劣化、花粉分散、近交弱勢

## 1. はじめに

森林管理の評価を適正に行うためには、生態学的根拠に基づき、簡便、かつ信頼性の高い生態指標の導入が必要である。近年、遺伝学的技術の進歩に伴い、森林断片化や劣化の指標として遺伝的多様性が注目されつつある。多くの植物は、一個体の中に雄の機能と雌の機能を合わせもつ雌雄同株であり、自らの花粉を受粉(自殖)して子孫(種子)を作ることが出来る。しかしながら、植物の中にはもっぱら他個体からの花粉によって種子を残す(他殖性)のものがある。通常、主に他殖で繁殖している植物が受粉に必要な花粉を制限された場合、種子生産量が低下すること(花粉制約)、また自殖あるいは近縁な個体と交配した

場合はその子孫の生存率が著しく低下すること(近交弱勢)が知られている。他殖を中心に繁殖している植物は、花粉の供給が制約された場合や交配が制限され遺伝的に近縁な個体との交配や自殖しか出来ない環境に置かれた場合(遺伝子流動の制限)、その植物の集団では、種子生産量の低下や近交弱勢によって集団の存続そのものが脅かされることになる<sup>1), 2)</sup>。

熱帯雨林の樹木、特に高木となる種の多くは他殖性であり昆虫を中心とする動物によって花粉が媒介されることが知られている<sup>3)</sup>。熱帯雨林の多くでは伐採が進んでおり、残された森林では、択伐により繁殖に参加できる個体密度の低下がおこっている。さらに森林そのものの断片化により本来の花粉媒介動物の種構成が変化、あるいは消失している場合もある<sup>4), 5)</sup>。このように繁殖個体密度の低下や花粉媒介動物の減少による遺伝子流動の制限は自殖の増加や種子生産量の減少を引き起こし、遺伝的多様性を減少させる。その結果として森林の更新が阻害される可能性がある。例えば、ニュージーランド固有のヤドリギの一種は個体数が大幅に減少しており、その原因として花粉媒介者の減少に伴う種子生産量の減少が示唆されている<sup>6)</sup>。

このように、断片化、孤立化した森林では交配相手が限定されることは明らかである。この十数年間熱帯雨林の急速な消滅が指摘されてきているにも関わらず、東南アジア熱帯雨林の主要構成要素であるフタバガキ科(Dipterocarpaceae)の樹種についてさえも、その繁殖様式や遺伝子流動の範囲、そして近交弱勢の程度についての情報は断片的である。しかし、木材として価値が高く、伐採圧の特に高いフタバガキ科の樹木などは様々な遺伝的効果による遺伝的交流キャパシティーの劣化している可能性が高い。本研究が注目するフタバガキ科樹種の一つである *Neobalanocarpus heimii* (King) Ashton は、マレー半島低地熱帯林に分布し、樹高60m、胸高直径1m以上(板根部分は含まず)の大径木となる。現地では高価な木材として利用されるため、伐採を受けた二次林で特に個体密度が低くなっている。例えば、繁殖可能と考えられる個体(胸高直径30cm以上)密度については、天然林では1.5本/haであったのに対して、1950年代にMUS方式(Malaysian Uniform System)による択伐を受けた二次林では0.8本/haであった。また、胸高直径1cm以上の個体密度は、伐採をうけていない天然林において63.0本/haであったのに対して、二次林では10.3本/haと1/6以下に低下していた。これらの結果は、二次林においてはこのような伐採対象種の個体密度は低く、次世代を担う小径木が減少していることを示すものである。本研究では、この *N. heimii* に注目し、交配範囲と近交弱勢の推定を行うことにより、繁殖個体数の減少が遺伝的多様性及び森林の更新に対して与える影響を予測することを目的とした。

## 2. 研究目的

フタバガキ科の *Neobalanocarpus heimii* を用いて、林冠構成種の交配、繁殖および実生の定着過程を明らかにし、繁殖個体密度の低い植物の交配距離、交配相手数および近交弱勢の程度を定量化することを目的とする。検討したのは開花密度と交配距離との関係及び発育段階における近交弱性の2点についてである。

- (1) 開花密度と交配距離との関係: 一般に、他殖性の植物では、個体の種子生産量および自殖率には集団中の開花個体密度、最近接個体までの距離および他の集団からの距離などと相関があることが知られている。そして種子生産量および自殖率の変動は、ポリネータの採餌行動がそれらの要因により変化することによってもたらされていると考えられている。そのため、開花個体密度と交配距離の関係性を明らかにすることが重要である。この観点から、*N. heimii* の開花個体密度の異なる2時期の発芽直後の実生を用いて交配距離の比較を行った。

- (2) 発育段階における近交弱性: 交配から実生の定着までの過程は、樹木の一生の中で唯一移動可能でかつ最も死亡率の高い時期である。このことは、この期間に起こることが樹木集団の動態および存続可能性に重要な役割を担っていることを意味する。そこで、種子の発芽および実生の定着に大きな影響を与える果実/種子段階における自殖/近親交配と発芽率との関連の解明を行った。

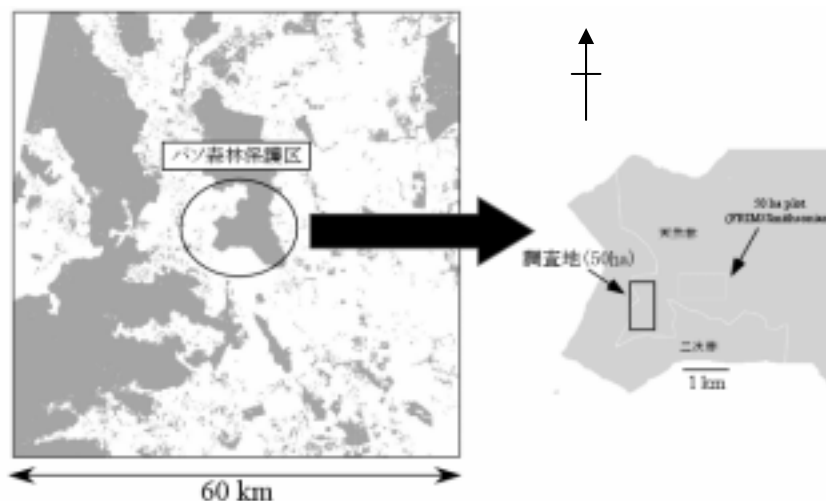


図1 パソ森林保護区。天然林(一次林)が択伐林(二次林: MUS方式による択伐後、約50年が経過)の中に半島状につきだした部分の先端に50haの調査区を新たに設置した。なお、天然林の中央に位置する50haプロットは1985年に設置されたものである。

### 3. 研究方法

本研究の調査はマレーシアのパソ森林保護区(ネグリスンビラン州)の天然林(一次林)が択伐林(二次林: MUS方式による択伐後、約50年が経過)の中に半島状につきだした部分の先端に約50haの調査区を設置し行った(図1)。交配距離および自殖率の推定は、ともにマイクロサテライト遺伝マーカーを用いた親子分析に基づいて行った。解析に用いたマイクロサテライト遺伝子座は、7遺伝子座<sup>7)</sup>、74対立遺伝子で平均ヘテロ接合頻度は0.748、父性排他確率は0.9989であり、親子分析を行うのに十分な多型性を有していた(表1)。

表1 本研究で使用したマイクロサテライトマーカーの多型性

Locus	No. of alleles	Allele range	$H_o$	$H_e$	$Q$
<i>Nhe</i> 004	12	254-298	0.723	0.777	0.596
<i>Nhe</i> 005	7	101-139	0.766	0.787	0.575
<i>Nhe</i> 015	14	132-184	0.936	0.892	0.766
<i>Nhe</i> 018	13	127-178	0.766	0.845	0.687
<i>Nhe</i> 115	9	262-300	0.830	0.787	0.586
<i>Nhe</i> 117	12	259-294	0.851	0.834	0.661
<i>Nhe</i> 123	7	129-163	0.660	0.675	0.438
Average	10.57		0.790	0.800	
Total	74				0.999

#### 4. 結果・考察

##### (1) 開花密度と交配距離との関係

実生段階における分析の結果、調査区内における平均交配距離は低開花密度期(結実個体密度: 0.04/ha以上)が高開花密度期(結実個体密度: 0.14/ha以上)よりも有意に長かった(192m対130m、 $z = 5.276$ 、 $p < 0.0001$ 、Mann-Whitney's  $U$ -test)。低開花密度期では高開花密度期よりも調査区内における交配相手数が少なかった。このことは、開花個体密度が低下した場合、花粉媒介昆虫は比較的長距離を移動するようになるが、交配相手数が限られてしまうことを意味する。しかしながら自殖率に差はなかったため、発芽時に既に自殖由来の個体が、死亡している可能性も示唆された。

##### (2) 発育段階における近交弱性

種子、実生段階を比較した親子分析の結果、自殖由来の個体が種子段階では観察された(52/310)が実生段階では自殖由来の個体数が大幅に減少した(11/311)(表2)。種子サイズを自殖由来種子と他殖由来種子で比較したところ、自殖由来の種子は他殖由来の種子よりも有意に軽かった(自殖:他殖 = 5.80g: 6.68g、 $F = 6.15$ 、 $p = 0.0142$ 、2元配置分散分析)。自殖種子が他殖種子よりも軽いという現象は、新熱帯のマメ科樹木でも最近報告されていた<sup>8)</sup>。また、発芽率を比較したところ軽い種子は重い種子より有意に発芽率が低かった( $\chi^2 = 10.282$ 、 $p < 0.001$ 、名義ロジスティック回帰分析)。このことは、*N. heimii* には近交弱勢があり、自殖種子は生存上不利であることを示している。

表2 *Neobalanocarpus heimii* の7母樹の種子発育段階及び実生における自殖個体の割合。

Mother tree	Percentage of the selfed progeny		
	Seed		Seedling
	Early dispersal	Late dispersal	
C3	11.5 (6/52)	31.8 (14/44)	6.52 (3/46)
C4	6.38 (3/47)	17.4 (8/46)	2.56 (1/39)
C7	0.00 (0/40)	8.57 (3/35)	5.00 (2/40)
C8	8.57 (3/35)	7.84 (4/51)	0.00 (0/42)
RP346	50.0 (10/20)	44.7 (21/47)	10.4 (5/48)
WGY307	0.00 (0/40)	5.13 (2/39)	0.00 (0/40)
YG17	2.17 (1/46)	0.00 (0/48)	0.00 (0/46)
Mean	8.21 (23/280)	16.77 (52/310)	3.65 (11/301)

#### 5. 本研究により得られた成果

本研究の交配距離に関する結果は、森林伐採等による繁殖個体数の減少が交配相手数の減少をもたらし、長期的には近親交配あるいは自殖の増加を招くことを示唆している。また自殖率および発芽率に関する結果は、自殖あるいは近親交配が増加した場合、近交弱勢によって*N. heimii* では次世代の更新が阻害されることを示唆している。このことから、自立的に更新可能な集団を維持するためには、ある一定数以上の繁殖個体数を維持し、持続的な森林管理を行うためには繁殖可能個体数を把握することが重要であ

ると提言できる。繁殖可能個体数の把握は、現在のところ全個体調査(毎木調査)が必要であり、それには長い時間と費用がかかる。今後、本研究から得られた結果を応用し、集団の維持が可能な最低面積や最大伐採強度等を簡便に評価する方法を開発するためには、さらに、異なった種類の送粉者や開花特性を持った樹種における同様なデータの蓄積および短時間でできる樹種の判別・個体位置決定の手法が必要である。

現在本研究では、2001年および2002年の一斉開花によって得られた種子および実生を用いて他のフタバガキ科の樹木でも同様の調査、研究を行っている。今後伐採により個体群の減少が危惧されているフタバガキ科樹木における開花個体密度と花粉散布距離、花粉親数および近交弱勢との関係を包括的に明らかにすることで、遺伝的多様性評価を標準化して、指標として利用することが可能になると期待される。一方で、今後の研究の精度を高め、発展させてゆくためには、(1)高い精度での種同定、(2)樹冠における開花・訪花昆虫・結実過程の観察および試料採取の方法の開発および(3)小径木も含む全ての開花可能個体の位置決定が必要であると考えられた。そのため、森林の外形や内部構造の要素を更に詳細かつ迅速に評価する技術開発が必要不可欠であり、この研究事項に関してはE-4(2) 生態系観測のスケールアップに関する研究で同時並行的に進めている。

## 6. 引用文献

- 1) Levin D. (1995) Plant outliers: an ecogenetic perspective. *American Naturalist*, 145, 109-118.
- 2) Alvarets-Buylla ER, Gracia-Barrios R, Lara-Moreno C, Martinez-Ramos M (1996) Demographic and genetic models in conservation biology: applications and perspectives for tropical rain forest tree species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 387-421.
- 3) Bawa KS (1990) Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 399-422.
- 4) Dick CW (2001) Genetic rescue of remnant tropical trees by an alien pollinator. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 268, 2391-2396.
- 5) Dick CW, Etchelecu G, Austerlitz F (2003) Pollen dispersal of tropical tree (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. *Molecular Ecology*, 12, 753-764.
- 6) Robertson AW, Kelly D, Ladley JJ, Sparrow AD (1999) Effects of pollinator loss on endemic New Zealand mistletoes (Loranthaceae). *Conservation Biology*, 13, 499-508.
- 7) Iwata, H., A. Konuma, and Y. Tsumura 2000. Development of microsatellite markers in the tropical tree *Neobalanocarpus heimii* (Dipterocarpaceae). *Molecular Ecology* 9:1684-1685
- 8) Hufford KM, Hamrick JL (2003) Viability selection at three early life stages of the tropical tree *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae). *Evolution*, 57, 518-526.

## 7. 国際共同研究等の状況

この研究はすべてマレーシア森林研究所との共同研究により行なわれた。  
カウンタパート: Norwati Muhammad, Lee Soon Leong (マレーシア森林研究所)

## 8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表(学術誌・書籍)

<学術誌(査読あり)>

津村義彦(2002)熱帯林の遺伝的多様性と保全 Tropics 11:241-247.

Tsumura, Y., Ujino-Ihara, T., Obayashi, K., Konuma, A., and Nagamitsu, T. (2003). Mating system and gene flow of dipterocarps revealed by genetic markers. In Okuda T, Niiyama K., Thomas, S. C. and Ashton, P.S. (eds.). Pasoh: Ecology of a Rainforest in South East Asia, Springer, Tokyo, pp. 285-292.

<学術誌(査読なし)>

津村義彦:Tropics, 11(4):241-247(2002)

「熱帯林の遺伝的多様性と保全」

<書籍>

津村義彦:熱帯の遺伝子資源 地球環境ハンドブック, p.570-577(2002)

<報告書類等>

なし

(2) 口頭発表

内藤洋子・小沼明弘・沼田真也・西村千・津村義彦・奥田敏統・Lee,S.L., Norwati, M., 神崎譲、太田誠一(2003) *Shorea acuminata*(フタバガキ科)における繁殖生態-開花個体密度と食害が結実率に及ぼす影響- 第50回日本生態学会大会講演要旨集, p.265

小沼明弘:日本熱帯生態学会ワークショップ(2003)「*Neobalanocarpus heimii* (Dipterocarpaceae)の繁殖過程研究におけるマイクロサテライトマーカーの利用」

小沼明弘 (2003)「熱帯雨林の樹種における遺伝構造と動態」日本生態学会第50会大会 つくば.

西村千,小沼明弘,沼田真也,内藤洋子,奥田敏統 (2003)人為攪乱がサラノキ属の開花に及ぼす影響-2001年と2002年に観察した開花が示唆すること-日本生態学会第50会大会 つくば.

(3) 出願特許

なし

(4) 受賞等

なし

(5) 一般への公表・報道等

なし

9. 成果の政策的な寄与・貢献について

本研究の結果は、これまで熱帯域の機能を、遺伝学的手法を用いて評価するための手法を確立した点において重要な成果をもたらした。今後は、森林の外形や内部構造の要素を更に詳細かつ迅速に評価する技術開発を同時並行的に進め、様々な関係機関を通じ、成果の広報・普及に努める。