

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2012～2015

課題番号：24405034

研究課題名(和文) 東南アジア熱帯林の遺伝的保全のためのガイドラインの作成

研究課題名(英文) Establishment of genetic guideline for conservation of tropical forests in Southeast Asia

研究代表者

津村 義彦 (TSUMURA, Yoshihiko)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：20353774

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：東南アジアの熱帯林を保全するために生態学的にも林業的にも重要なフタバガキ科について複数年にわたって交配様式(他殖率)や遺伝子流動(花粉の散布範囲)の調査を行った。フタバガキ科のうち重要な *Shorea acuminata*, *S. macroptera*などを調査対象種とした。得られた他殖率や遺伝子流動結果からこれらの保全のための繁殖単位を算出した。*Shorea*属の多く種が100ha以上の繁殖単位が必要であることが明らかになった。十分な遺伝的多様性を保持して持続的な択伐林業を行なうためには森林ごとに少なくとも100ha以上の健全な森林を多数維持する必要がある。

研究成果の概要(英文)：We have investigated mating system and gene flow of dipterocarp species for multiple flowering year, which are forestry and ecologically important tree species in Southeast Asia. Among various dipterocarp species, we have studies *Shorea acuminata*, *S. macroptera* and so on. We have estimated the breeding unit size using the obtained data such as gene flow and mating system. Mostly *Shorea* species required 100 ha for breeding unit. To maintain high genetic diversity of tropical forest and conduct sustainable selective logging in this region, at least 100 ha of multiple forests should be maintained for each species.

研究分野：森林遺伝学

キーワード：フタバガキ科 遺伝子流動 遺伝的保全 熱帯林 遺伝的多様性 択伐 持続的林業 東南アジア

の調査体制を整備しておいた。

(2) 研究材料の収集

パソ森林保護区 40ha プロットでは調査地内に比較的母樹数がある 5 種を研究対象とした (*Shorea leprosula*, *S. parvifolia*, *S. acuminata*, *S. maxwelliana*, *S. macroptera*)。これらの母樹から DNA 抽出用の材料を採取した。生育しているほとんどの個体の樹高が高いため根元から内樹皮を採取した。これらの母樹の DNA は採取済みであるが、一部、未採取の個体について DNA の抽出を行った。

(3) 交配様式と遺伝子流動の解析 (母樹の解析)

パソで収集した母樹の材料から DNA の抽出を行う。*S. leprosula*, *S. curtisii*, *N. heimii* ではマイクロサテライトマーカーが開発済みである (Ujino et al. 1998, Lee et al. 2004, Iwata et al. 2000)。マイクロサテライトマーカーは近縁種には適応可能であるため、現在開発されているマーカーでかなりのフタバガキ科樹種が分析可能である。これらのマーカーを用いて、採取した母樹の内、パソの *S. leprosula*, *S. parvifolia*, *S. acuminata*, *S. maxwelliana* について開発されているマーカーを用いて遺伝子型の決定を行った。*S. leprosula* についてはこれらの種でマイクロサテライトマーカーが開発されているので、開発されているマーカーを直接利用する。それら以外の 3 種については *S. leprosula*, *S. curtisii* などの近縁種で開発されているマーカーを応用し利用できるマーカーをスクリーニング後に用いる。どの種についてもほぼ花粉親が決定できる高い確率を持ったマーカーのセットで分析を行った。

(種子の解析)

すでに開花が起こった 2001 年、2002 年、2005 年に収集した種子の遺伝子型の解析を行った。いずれの種も 10 母樹程度の母樹から 50 粒以上の種子を収集してある。そのため 1 種で 10 母樹 × 50 種子 = 500 種子以上の分析を目標として行った。解析データから、母樹ごとの他殖率を算出し、他殖種子についてはそれぞれの花粉親の特定を行う。プロットの外から花粉流動を除いて、全ての花粉親の特定ができたもので、花粉散布曲線を推定した。

4. 研究成果

一斉開花が起こったのは 2015 年であったため、基本的にはこれまでの一斉開花が起こった 2001 年、2002 年、2005 年の種子や実生のサンプルから DNA を抽出し、遺伝子型解析を行った。2015 年にはいくつかの樹種について材料の採取を行ったが、研究期間内での遺伝子解析はできなかった。

フタバガキ科の *S. maxwelliana* の一斉開花での平均他殖率は 91.8%(2002 年)、86.1%(2005 年)となり、他のフタバガキ科樹種と同じく他殖が優占していた。それに 2002 年と 2005 年の開花個体密度はそれぞれ 1.925 tree/ha、2.675 tree/ha と異なっていたが、他殖率はほとんど変わらなかった。また、本調査地の *S. maxwelliana* は 2 回の一斉開花を通して遺伝的に多様な花粉を開花個体間で交換していることが分かった (pollen richness=3.799~4.897(2002 年)、3.241~4.586(2005 年)。遺伝子多様度=0.596~0.712(2002 年)、0.595~0.723(2005 年))。また、2005 年では近距離交配が多く、母樹間が遠いほど、各母樹が受け取る花粉プールの遺伝的組成は異なっていたが、2002 年ではそのような関係はみられなかった。

これらのことから、他種に比べてプロット内の成木数が多い本種は、一斉開花時の開花個体密度が変わっても高い他殖率を維持していることが分かった。また、2 回の一斉開花を通して遺伝的に多様な花粉を交換しているが、同種の開花規模によって花粉流動パターンは異なっていることが分かった。

S. acuminata については 2001 年、2002 年、2005 年の 3 回の一斉開花時の花粉流動をマイクロサテライトマーカーを用いた父性解析によって明らかにした。更に他殖率、交配様式と開花個体密度の関係、一斉開花の規模による違いについて、種内および種間で比較・検証することを目的とした。その結果、3 回の一斉開花にわたる *S. acuminata* の平均他殖率は 2001 年で 59.0%、2002 年で 59.0%、2005 年で 85.0%となり、他のフタバガキ科樹種と同じく他殖が優占していた。開花個体密度が 2002 年、2005 年で一定して高かった一方で、他殖率は 2005 年の方が高くなったことより、2002 年の開花イベントでは個体レベルでの開花強度が低かったことが示唆された。先行研究や本研究を通して、胸高直径がより大きな個体、及び開花規模と開花個体密度が個体の繁殖成功に大きく関わっていることが明らかになっている。また、その傾向は開花イベントごと、種ごとに変化する。本研究より、択伐予定エリアの *S. acuminata* の集団の森林の持続性に関する指標として、2005 年時程度の開花強度および開花個体密度を維持することが、他殖率の安定と任意交配による遺伝的多様性の安定性につながるという。

S. macroptera は 2002 年と 2005 年の平均他殖率はそれぞれ 70%と 56%であった。他殖種子が受け取った花粉親の平均数は 2002 年と 2005 年でそれぞれ 8.75 と 4.89 と大きな違いが見られた。平均花粉散布距離はそれぞれ 142.9m と 304.9m であった。開花率は *S. acuminata* と同様に 2002 年よりも 2005 年が高いが、他殖率や遺伝的多様性などは 2005 年で低くなるという、*S. acuminata* とは異なる結果であった。本来、開花率が高い年は他殖率及び種子が受け取る遺伝的多様性も高

くなることが一般的である。しかし、*S. macroptera* はフタバガキ科の中で最初に開花する樹種として知られており、2002年の前年の2001年にも開花しているために、200年にはある程度の花粉媒介者が維持されていたために相対的に高い他殖率などが維持されたのではないかと推測される。

この研究で得られた結果をもとに遺伝的多様性を十分に保持できる Breeding Unit (繁殖単位 (面積)) を求めた。また樹種の開花年ごとに Breeding Unit Size を求めた。その結果、*Shorea* 属の多く種が 100ha 以上の Breeding Unit Size が必要であることが明らかになった。*S. maxwellina* では 130-200ha、*S. acuminata* では 200-266ha、*S. macroptera* では 122-133ha であった。既報の *S. leprosula* では 277-375ha で、*S. parvifolia* では 202-256ha であった。一方、極端に個体密度が高い *S. curtisii* では 5-6ha と小さな値となった。この *S. curtisii* を除くと、十分な遺伝的多様性を保持して持続的な林業を行なうためには森林ごとに少なくとも 100ha 以上の健全な森林を多数維持する必要がある。また一斉開花の際に開花がほぼ起こる胸高直径 60-80cm の個体を残して択伐を行う新たな択伐基準の策定が望まれる。

<引用文献>

Iwata, H., A. Konuma, and Y. Tsumura (2000) Development of microsatellite markers in the tropical tree *Neobalanocarpus heimii* (Dipterocarpaceae). *Molecular Ecology* 9:1684-1685

Konuma, A., Y. Tsumura C.-T. Lee S. L. Lee and T. Okuda (2000) Estimation of gene flow inferred from paternity analysis in tropical rain forest tree: *Neobalanocarpus heimii* (Dipterocarpaceae). *Molecular Ecology* 9: 1843-1852

Lee, S. L., N. Tani, K. K. S. Ng and Y. Tsumura (2004) Isolation and characterization of 20 microsatellite loci for an important tropical tree *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae) and their applicability to *S. parvifolia*. *Molecular Ecology Note* 4: 222-225

Naito, Y., A. Konuma, H. Iwata, Y. Suyama, K. Seiwa, T. Okuda, S. L. Lee, Norwati M. and Y. Tsumura (2005) Selfing and inbreeding depression in seeds and seedlings of *Neobalanocarpus heimii*. (Dipterocarpaceae). *Journal of Plant Research* 118: 423-430

Naito, Y., M. Kanzaki, S. Numata, K.

Obayashi, A. Konuma, S. Nishimura, S. Ohta, Y. Tsumura, T. Okuda, Lee S. L. and N. Muhammad (2008) Size-related flowering and fecundity in the tropical canopy tree species, *Shorea acuminata* (Dipterocarpaceae) during two consecutive general flowerings. *Journal of Plant Research* 121:33-42

Obayashi, K., Y. Tsumura, T. Ihara-Ujino, K. Niiyama, H. Tanouchi, Y. Suyama, I. Washitani, C.-T. Lee, S. L. Lee and N. Muhammad (2002) Genetic diversity and outcrossing rate between undisturbed and selectively logged forests of *Shorea curtisii* (Dipterocarpaceae) using microsatellite DNA analysis. *International Journal of Plant Science* 163: 151-158.

Ujino, T., T. Kawahara, Y. Tsumura, T. Nagamitsu, Wickneswari R. and H. Yoshimaru (1998) Development and polymorphism of simple sequence repeat DNA markers for *Shorea curtisii* and other Dipterocarpaceae species. *Heredity* 81: 422-428.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

Tani N., Y. Tsumura, K. ta Fukasawa, T. Kado, Y. Taguchi, S. L. Lee, C. T. Lee, N. Muhammad, K. Niiyama, T. Otani, T. Yagihashi, H. Tanouchi, A. Ripin, A. R. Kassim (2015) Mixed mating system are regulated by fecundity in *Shorea curtisii* (Dipterocarpaceae) as revealed by comparison under different pollen limited conditions. *PLoS ONE* 10: e0123445 (査読有り)

Ohtani M., T. Kondo, N. Tani, S. Ueno, L. S. Lee, K. K. S. Ng, N. Muhammad, R. Finkeldey, M. Na'iem, S. Indrioko, K. Kamiya, K. Harada, B. Diway, E. Khoo, K. Kawamura, Y. Tsumura (2013) Nuclear and chloroplast DNA phylogeography reveals Pleistocene divergence and subsequent secondary contact of two genetic lineages of the tropical rainforest tree species *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae) in Southeast Asia. *Molecular Ecology* 22: 2264-2279 (査読有り)

Masuda S., N. Tani, S. Ueno, S. L. Lee, N. Muhammad, T. Kondo, S. Numata, Y. Tsumura (2013) Non-density dependent

pollen dispersal of *Shorea maxwelliana* (Dipterocarpaceae) revealed by a Bayesian mating model based on paternity analysis in two synchronized flowering seasons. PLoS ONE 8: e82039 (査読有り)

〔学会発表〕(計 9件)

谷尚樹・近藤俊明・Lee, Soon Leong・Ng, Chin Hong・Lee, Chai Ting・Norwati Muhammad・津村義彦・新山馨・星野大介・Abd Rahman Kassim (2016) フタバガキ科樹種における異なる遺伝的クラスターに属する両親間の交配による実生の高い生存力. 日本森林学会、日本大学 神奈川県藤沢市 2016年3月

Numata, S., T. Hosaka, M. Hashim, T. Yamada, N. Tani, Y. Tsumura, S. K. Lee, and N. Muhammad. Dipterocarp flora of Peninsular Malaysia: their floristic region and environmental correlates. 日本生態学会 宮城県仙台市 2016年3月

Widiyatno, M. Naiem, Jatmoko, S. Purnomo, T. Hosaka, S. Numata. The performance of offspring from different mother trees of *Shorea parvifolia* in Central Kalimantan, Indonesia. 日本熱帯生態学会 京都府京都市 2015年6月

森本彩夏、沼田真也、保坂哲朗、M. Hashim、佐竹暁子、谷尚樹、市栄智明、N. Alias, N. Z. Noor Azman. フタバガキ科樹木の繁殖フェノロジーは種によって応答する気象条件が異なるか? 日本森林学会 北海道札幌市 2015年3月

Widiyatno, A. Matsumoto, S. Numata, T. Hosaka, Y. Tsumura. The impact of harvesting rotation on the genetic diversity of *Shorea parvifolia* (Dipterocarpaceae) in central Kalimantan, Indonesia 日本生態学会 鹿児島県鹿児島市 2015年3月

Morimoto, A., S. Numata, T. Hosaka, M. Hashim, N. Tani, A. Satake, T. Ichie, N. Alias, N. Z. Noor Azman. Interspecific comparison in reproductive phenology of dipterocarps using long-term flowering and fruiting data at FRIM. ATBC2014, Cairns Australia. July 2014.

Numata, S., T. Hosaka, N. Amemiya, M. Hashim, T. Yamada, N. Tani, Y. Tsumura, S. K. Lee, and N. Muhammad. Dipterocarp flora of Peninsular Malaysia: A preliminary analysis. ATBC2014, Cairns Australia. July 2014.

Widiyatno, S. Numata, T. Hosaka, Budiadi, E. Priyo Vegetation succession after sifting cultivation in central Kalimantan, Indonesia 日本生態学会 広島県広島市 2014年3月

Khairul A. A. R., N. Tani, G. Pakkad, S. Ueno, S. L. Lee, N. Muhammad, Y. Tsumura (2013) The Study of Gene Flow and Genetic Diversity in *Shorea macroptera* (Dipterocarpaceae) 日本森林学会、岩手大学 岩手県盛岡市 2013年3月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

津村 義彦 (TSUMURA, Yoshihiko)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号: 20353774

(2) 研究分担者

沼田 真也 (NUMATA, Shinya)

首都大学東京・都市環境科学研究科・准教授

研究者番号: 20391138

(3) 研究分担者

谷 尚樹 (TANI, Naoki)

独立行政法人国際農林水産業研究センター・林業領域・主任研究員

研究者番号: 90343798

(4) 研究分担者

内山 憲太郎 (UCHIYAMA, Kentaro)

独立行政法人森林総合研究所・森林遺伝研究領域・研究員

研究者番号: 40501937