

## 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

## ②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

森林遺伝研究領域 樹木遺伝研究室

津村義

谷 尚樹

上野真義

角 友之

〈研究協力者〉

独立行政法人国立環境研究所

生物圏環境研究領域 熱帯生態系保全研究室

奥田敏統

近藤俊明

京都大学大学院農学研究科

内藤洋子

(財)自然環境研究センター

西村千

平成 14～18 年度合計予算額 26,421 千円

(平成 18 年度合計予算額 4,389 千円)

[要旨] フタバガキ科の *Neobalanocarpus heimii* を用いて、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。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。また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。この二つの結果より、*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。

また同じく、フタバガキ科林冠木である *Shorea leprosula* を対象に、複数回起こった一斉開花間の他殖率を比較したところ、変化がないことが分かった。しかしながら種子段階よりも実生段階で他殖率が高くなることが分かった。これは実生段階に至るまでの近交弱勢が起こったことによると考えられた。また、*S. leprosula* の交配様式と遺伝子流動は開花個体密度と密接に関連していることが明らかになった。調査は約 100ha という大きなプロットを設置して行ったが、プロット外からの花粉の流入が多く見られた。このように実際の花粉流動はプロット外からが多いため、これまで行ってきた直接推定だけでなく、間接推定も併用してフタバガキ科樹木の遺伝子流動を把握していく必要があること考えられた。こうした背景から花粉流動のモデルを構築した。

[キーワード] 遺伝子流動、フタバガキ科、マイクロサテライトマーカー、保全、遺伝的多様性

## 1. はじめに

種多様性及び遺伝子資源の宝庫であると言われている熱帯林も急速な開発とともに、その森林面積は減少の一途をたどってきた。熱帯林では種多様性の減少にとどまらず、種が長い時間をかけて蓄積してきた遺伝的多様性の消失も引き起こしている可能性がある。現在でも残った森林はその断片化により、種多様性の減少が起こり生態系としての十分な機能さえもなくしている可能性がある。このような森林生態系は遺伝的な多様性も減少し、容易に衰退するため、健全な森林が失われてしまうことが危惧される。遺伝子資源としても貴重な熱帯林の質の低下をこれ以上引き起こさないためにも、また将来にわたって進化する可能性を含んだ遺伝的多様性を維持するためにも適切な保全方法が望まれている。

一方で、東南アジア熱帯林を構成する林冠木、突出木の多く一斉開花・結実という現象を通して世代交代する。一斉開花とは隔年周期で多くの樹種、個体が同調的に開花、結実を行う現象であり、東南アジアにおいては、マレー半島からスマトラ、ボルネオ島が含まれる一年中降水の多い非季節性熱帯と呼ばれる地域で、フタバガキ科を中心に様々な種が同調的に開花、結実を行う。フタバガキ科などの樹木の多くは一斉開花の時のみ開花、結実を行うため、この一斉開花が遺伝的多様性を決定するものと考えられるが、一斉開花の開花、結実、及びその遺伝子流動に関する情報は非常に限られている。そのため、開花個体密度の異なる場所またはイベント間で、遺伝子流動及び遺伝的多様性の違いを集積し、開花個体密度とこれらの関係を明らかにできれば、広域な地域でのラピッドアセスメントにも繋がる重要な知見となり得る。

## 2. 研究目的

上記の背景を踏まえ、一斉開花における東南アジア熱帯林の主要構成樹種であるフタバガキ科樹木の遺伝子流動範囲をマイクロサテライトマーカーにより把握し、保全のための遺伝的ガイドライン作りの基礎データの収集を行うことを目的とする。また、一斉開花が発生している森林を広域的に評価するための方法を検討する。

## 3. 研究方法

### (1) フタバガキ科 *Neobalanocarpus heimii* の交配様式と近交弱勢

*Neobalanocarpus heimii* (King) Ashton (Dipterocarpaceae)はマレー半島低地に分布し、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、主要な伐採対象となっている。そのため、まとまった自然集団は多くない。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）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。交配距離および自殖率の推定は、ともに 7 遺伝子座の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。

### (2) 大規模調査地の設定と開花結実

遺伝子流動を正確に把握するためには大規模な調査プロットが必要である。このためマレー半島パソ森林保護区に 40ha の調査地の構築を行った（図 1）。この調査地では胸高直径 30cm 以上の母樹全てにラベルを付け、フタバガキ科については樹種の同定及び位置を落とした。



図1 マレー半島パソ森林保護区に構築した40haプロット

### (3) 遺伝子流動用のマイクロサテライトマーカー開発とそれらの近縁種への応用

これまでに *Shorea curtisii*, *eobalanocarpus heimii*, *Shorea leprosula*, *Shorea lumutensis*, *Hopea bilitonensis* の5種でマイクロサテライトマーカーの開発を行ってきた。これらのマーカーがどれほど他種への応用が可能かを調査した。これは開発したマイクロサテライトマーカーを他種の花バガキ科樹種のDNAを鋳型としてPCR増幅を試みた。PCR条件は以下のもので行った。10 mM Tris-HCl、pH 8.0、50 mM KCl、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、0.16 mM 各 dNTP、0.128 μM 各プライマー、12.5 ng の鋳型 DNA と 0.5 units の *Taq* ポリメラーゼ。94°Cで3分に続いて94°Cで45秒、50-60°C (プライマー組ごとに異なる) で30秒、その後72°Cで45秒を35サイクル行った後、72°Cで3分を行った。これらは GeneAmp PCR System Model 9600 または 9700(Perkin-Elmer ABI Co. Ltd)を用いて行った。

### (4) 一斉開花に伴う遺伝子流動研究用材料収集

2001年、2002年及び2005年にパソ森林保護区で一斉開花が起きた。この開花に伴い多くの花バガキ樹木も開花し、結実が見られた。この際にパソ40ha固定試験地内で開花結実が起こった複数種の花バガキ樹木から、遺伝子流動解析用の種子の収集を行った。2005年は特に開花密度が高かったためにまとまった種子を収集することができた。2005年に対象とした樹種は *Shorea parvifolia*, *Shorea maxwelliana*, *Shorea lepidota*, *Shorea acuminata*, *Shorea multiflora*, *Shorea leprosula*, *Shorea pauciflora*, *Shorea macroptera*, *Dipterocarpus cornutus* の9種である。種子の収集は母樹別に行い、十分な数が収集できた樹種についてはDNA抽出用と発芽試験用に分けてマレーシア森林研究所に移送した。DNA抽出はマレーシア森林研究所に委託し、発芽試験もマレーシア森林研究所の苗畑で行った。その際に収集した種子の大きさ、重さも測定した。

### (5) パソ森林保護区40haプロットでの *Shorea leprosula* の遺伝子流動

2001年と2002年の一斉開花で収集した種子のDNAが整理されたため、マイクロサテライトマーカー10遺伝子座(Ujino et al. 1998, Lee et al. 2004)を用いて父性解析を行って花粉親の特定を行い、40haプロット内での遺伝子流動の実態を調査した。PCR条件は

以下のもので行った。10 mM Tris-HCl、 pH 8.0、 50 mM KCl、 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、 0.16 mM 各 dNTP、 0.128 μM 各プライマー、 12.5 ng の鋳型 DNA と 0.5 units の Taq ポリメラーゼ。94°C で 3 分に続いて 94°C で 45 秒、 55-60°C で 30 秒、 の後 72°C で 45 秒を 35 サイクル行った後、 72°C で 3 分を行った。これらは GeneAmp PCR System Model 9600 または 9700(Perkin-Elmer ABI Co. Ltd)を用いて行った。その後、ハイダイホルムアミド 10μl とサイズマーカー ROX400HD (Applied Biosystems) 0.15μl をよく混合した液に、各マイクロサテライト遺伝子座の PCR 産物 0.5μl を加えた。それを 95°C で 2 分熱変性を行った後、氷上で急冷しヒートショックを行った。PCR 産物の断片長の決定はオートシーケンサー ABI PRISM. 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いた。検出された PCR 産物は Gene Scan Analysis Ver.3.7 (Applied Biosystems)、Genotyper Ver.3.7 (Applied Biosystems) により解析を行い、遺伝子型を決定した。

#### (6) 開花個体密度の違いが交配様式と遺伝子流動に与える影響

アンパン森林保護区の約 100ha の調査地で *Shorea leprosula* の母樹をマップし、母樹の周辺に実生がある個体については実生も採取した。母樹は 55 個体で、実生はそのうち 19 個体の母樹からそれぞれ約 30 個体を集めることができた。これらを 9 遺伝子座のマイクロサテライトマーカーで解析し遺伝子型を明らかにした。これらのデータを用いてそれぞれの母樹の交配様式及び遺伝子流動について母樹の密度の関係を調査した。

#### (7) 遺伝的多様性評価のためのラピッドアセスメント手法の開発

得られたデータの広域での適用のために遺伝子流動のモデルを構築した。このモデルは本研究を通して得られた花粉飛散データをもとに構築した。

### 4. 結果・考察

#### (1) フタバガキ科 *Neobalanocarpus heimii* の交配様式と近交弱勢

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 (Iwata et al. 2000)、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。

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が高開花密度期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。これは発芽時に既に自殖由来の個体が、死亡していたためと思われる。

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 1)。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極最近報告された (Hufford and Hamrick 2003)。また、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 ( $\chi^2 = 10.282$ 、 $p < 0.001$ 、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 1 *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) |

## (2) 大規模調査地の設定と開花結実

構築した 40ha プロットは図 2 の通り 800m×500m の 40m グリッドで構築した。また胸高直径 30cm 以上の全個体について標識をつけた。その総個体数は 3389 個体であり、その内フタバガキ科樹木は 849 個体であった。これらについて樹種の同定及び位置を地図上に落とした。

2001 年と 2002 年と続けて起きた一斉開花で、開花の有無及びフェノロジーをフタバガキ科樹種について行った。その結果、2001 年の開花は 20 種のフタバガキ科で 232 個体が開花した。2002 年に起きた開花では 21 種 461 個体となり、2002 年の開花の規模が大きかったことを示している。このため二度の開花イベントで開花量が遺伝子流動にどの様に影響するかを調べることができる。また近くに構築してある 12ha の択伐林でも開花結実があったため、これとの比較も可能である。

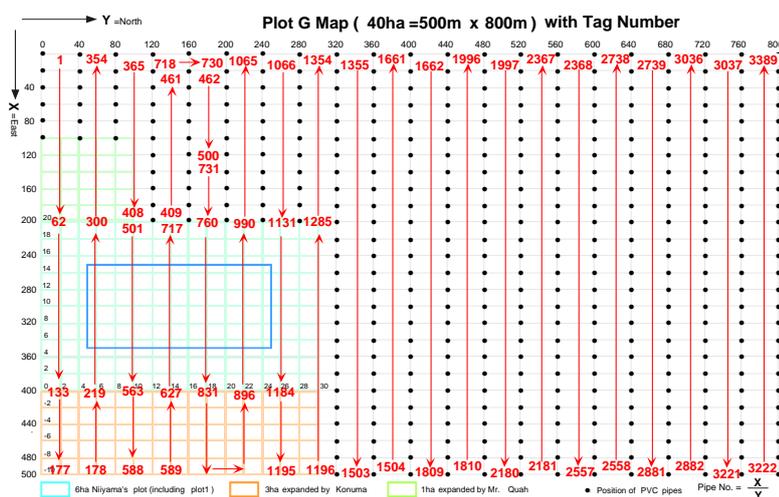


図 2 パソ森林保護区に構築した 40ha プロット

## (3) 遺伝子流動用のマイクロサテライトマーカー開発とそれらの近縁種への応用

フタバガキ科 5 樹種で開発したマイクロサテライトマーカーを近縁種のフタバガキ科樹種に応用するために行った (表 2、3)。今回対象とするのは *Shorea* 属の樹種が主体

であるため *S. lepurosula* で開発したマーカーを他種へ応用を試みた。この場合、null 対立遺伝子が存在し、正確な遺伝子型の決定ができない遺伝子座は使用できないこととした。*S. lepurosula* で開発した 18 遺伝子座を、*S. lepurosula* を含め、*S. parvifolia*、*S. maxwelliana*、*S. lepidota* に応用した。その結果、*S. lepurosula* の 7 遺伝子座で null 対立遺伝子の存在が疑われた。また *S. parvifolia* では 8 遺伝子座が利用可能であることが明らかとなった。また *S. maxwelliana* と *S. lepidota* ではそれぞれ 7 遺伝子座、13 遺伝子座が利用可能であると明らかとなった。4 種共通して利用可能なものは 18 遺伝子座中、わずかに 4 遺伝子座であった。これは null 遺伝子座の存在等により、共通で利用可能な遺伝子座が少なくなったものと考えられる。また系統的には *S. lepurosula*、*S. parvifolia*、*S. lepidota* の 3 種が red meranti グループに属し、*S. maxwelliana* だけが Balau グループに属す。そのため、*S. maxwelliana* で利用可能な遺伝子座数が、他の 3 種に比較して少ないものであった。*S. maxwelliana* を除いた 3 種で共通に使用できる遺伝子座は 7 座もあり、やはり系統的に近縁な種ほど利用可能なものが多い傾向であった。

表 2 *Hopea bilitonensis* で開発したマイクロサテライトマーカー

| Locus          | Primer sequence (5'-3')                        | Repeat                                | T  | Size | H <sub>o</sub> | H <sub>e</sub> | Accessno. |          |
|----------------|--|---------------------------------------|----|------|----------------|----------------|-----------|----------|
| <i>Hi 016</i>  | F:TTCCATCCATTACCAAAAG<br>R:TAGACAAACATCCCACATC | (GA) <sub>7</sub>                     | 52 | 2    | 116-120        | 0.167          | 0.337     | A.582737 |
| <i>Hi 019</i>  | F:GCTCTTCTCAACCATAG<br>R:CAAAGTGTGATTAITGTAC   | (GA) <sub>7</sub>                     | 52 | 5    | 99-123         | 1.000          | 0.756*    | A.582738 |
| <i>Hi 022</i>  | F:CTTTTACGCTTCAGTCC<br>R:TGCCTCGACCCATCA       | (CT) <sub>6</sub>                     | 52 | 2    | 133-135        | 0.208          | 0.361     | A.582739 |
| <i>Hi 055</i>  | F:CCGAGAGATTTTGTTC<br>R:TCGCCACTACCACC         | (GA) <sub>11</sub>                    | 52 | 3    | 160-166        | 0.583          | 0.547     | A.582740 |
| <i>Hi 116</i>  | F:GTAGATTTGTGGTGGT<br>R:ATCCAGATGGIAATAGTG     | (CT) <sub>6</sub> T <sub>5</sub>      | 52 | 2    | 118-120        | 0.417          | 0.337     | A.582741 |
| <i>Hi 159a</i> | F:TGTCCGTCCTCACCAATC<br>R:CCACACTTCCCTTGTATC   | (GT) <sub>10</sub> T <sub>12</sub>    | 52 | 2    | 125-127        | 0.273          | 0.406     | A.582742 |
| <i>Hi 160</i>  | F:TCTACTATTCTTTACAGGA<br>R:TAACCTTAGACGACCCATT | (GA) <sub>10</sub>                    | 52 | 3    | 119-123        | 0.667          | 0.531     | A.582743 |
| <i>Hi 161</i>  | F:ATGAGTATCTGTGAAAGG<br>R:TCGCTACACTGTCTCGTC   | (GG) <sub>8</sub>                     | 52 | 4    | 110-128        | 0.875          | 0.614*    | A.582744 |
| <i>Hi 204</i>  | F:AAACCAACAGAGGATAG<br>R:ATAACACTCACAAATCA     | (CT) <sub>30</sub>                    | 50 | 5    | 100-142        | 0.042          | 0.561*    | A.582745 |
| <i>Hi 221</i>  | F:TGTTCATGACAAAATG<br>R:CAAGTGTGAGAGGTTAG      | (CT) <sub>10</sub> (TCT) <sub>3</sub> | 50 | 4    | 173-187        | 0.870          | 0.610*    | A.582746 |
| <i>Hi 247</i>  | F:CAAAATCACAATCAAATAAC<br>R:CGAGTCTGTGGGTTIC   | (GA) <sub>7</sub>                     | 52 | 4    | 131-145        | 0.833          | 0.723     | A.582747 |
| <i>Hi 303a</i> | F:TAAAATCAAAGAAGAAC<br>R:CCGCATATCTGAGC        | (CT) <sub>17</sub>                    | 50 | 5    | 122-136        | 0.875          | 0.774*    | A.582748 |
| <i>Hi 316</i>  | F:TGGAGTTGTACCTATG<br>R:CAATTAGTCCATATCACA     | (GA) <sub>9</sub>                     | 50 | 8    | 165-198        | 0.250          | 0.757*    | A.582749 |
| <i>Hi 325a</i> | F:ACCGTCTTCAGTCC<br>R:ATTAGTGTATCCCTTTATC      | (GT) <sub>17</sub>                    | 50 | 6    | 165-184        | 0.667          | 0.796*    | A.582750 |
| <i>Hi 329</i>  | F:AACCGGGAACTGTGG<br>R:AGCAAGATGCGAGGTGG       | (CT) <sub>4</sub>                     | 58 | 6    | 137-157        | 0.875          | 0.769*    | A.582751 |

表3 *Shorea leprosula* で開発したマイクロサテライトマーカー

| Locus           | Sequence (5' - 3')   | Repeat   | T  | A  | Size <sup>a</sup> | H <sub>o</sub> | H <sub>e</sub> | P <sub>e</sub> | Acc |
|-----------------|--|--|----|----|-------------------|----------------|----------------|----------------|-----|
| <i>Sle 074a</i> | F: ATCACCAAGTACCTATCATCA<br>R: GCAATGGCACACAGTCTATC            | (CT) <sub>11</sub>   | 52 | 11 | 110-130           | 0.792          | 0.824          | 0.650          | A.6 |
| <i>Sle 079</i>  | F: GTTGTCTGTCTTACAGGGAAG<br>R: GCATAAGTATCGTCGCCA              | (CT) <sub>11</sub>   | 52 | 13 | 155-198           | 0.625          | 0.830          | 0.662          | A.6 |
| <i>Sle 105</i>  | F: CTGTGC AAAATCAGTTAGGACTACGAG<br>R: GAGTCGATTGCTTGTCTTACCC   | (GA) <sub>2</sub>  | 55 | 7  | 132-146           | 0.652          | 0.734          | 0.485          | A.6 |
| <i>Sle 111a</i> | F: GGAACTACTGGACCAGAGAC<br>R: GGTGGTATGGAGAATGAG               | (GA) <sub>4</sub>  | 52 | 12 | 138-154           | 0.792          | 0.855          | 0.689          | A.6 |
| <i>Sle 118</i>  | F: AAAGGTACAAAATTCATCA<br>R: CTATGTGTGGGTCAGAAAG               | (GA) <sub>6</sub>  | 52 | 15 | 145-176           | 0.833          | 0.892          | 0.750          | A.6 |
| <i>Sle 216</i>  | F: AGAAGCCAGACCCAGAC<br>R: TTTGAGAAAGACCCAGAAC                 | T <sub>12</sub> (CT) <sub>6</sub>                                      | 50 | 7  | 93-112            | 0.565          | 0.834*         | 0.635          | A.6 |
| <i>Sle 267</i>  | F: CTTAATGTGATGCCGTGTG<br>R: TCTGTATTATGCTTCTCC                | (GA) <sub>7</sub>  | 50 | 7  | 106-128           | 0.792          | 0.746          | 0.521          | A.6 |
| <i>Sle 271a</i> | F: CAGGAACCGACTATCTGC<br>R: TCATTC AAA TCAAAC TAATTC           | (GA) <sub>7</sub>  | 50 | 5  | 122-132           | 0.636          | 0.507          | 0.285          | A.6 |
| <i>Sle 280</i>  | F: GCACTAAAATGGACAGAG<br>R: GAGTAAAGTGGCAGATAGAG               | (CT) <sub>7</sub>  | 52 | 11 | 107-137           | 0.833          | 0.851          | 0.681          | A.6 |
| <i>Sle 290</i>  | F: TTTTCTCTTCTTCTGTGTGCA<br>R: ATTTGGCTGTTTGGTGGAT             | A <sub>27</sub> N <sub>5</sub> (GAA) <sub>6</sub><br>(GA) <sub>8</sub> | 52 | 14 | 195-211           | 0.571          | 0.912*         | 0.784          | A.6 |
| <i>Sle 291a</i> | F: GTC CAGATGATGTTCTCTGTGTG<br>R: TTGCATCTCTGATTCATGTG         | (GA) <sub>8</sub>  | 55 | 8  | 157-183           | 0.333          | 0.732*         | 0.487          | A.6 |
| <i>Sle 294</i>  | F: AACTAAATGAAAATCTTCC<br>R: CTTTGAAGATATATGTTGA               | (GA) <sub>2</sub>  | 50 | 6  | 107-118           | 0.667          | 0.653          | 0.410          | A.6 |
| <i>Sle 303a</i> | F: TCCTTACATGGACTGAGATTACC<br>R: GTTCAATATGAGGGAACTGATTTAC     | (GA) <sub>2</sub>  | 55 | 11 | 145-169           | 0.783          | 0.909*         | 0.776          | A.6 |
| <i>Sle 384</i>  | F: CCAAGACAATCAATCCTCA<br>R: AGATGAAGGTGTCTGTG                 | (CT) <sub>13</sub>   | 58 | 14 | 191-219           | 0.625          | 0.657          | 0.473          | A.6 |
| <i>Sle 392</i>  | F: ATGTCCTTGAAGATGAAAAGTGGGTG<br>R: AAT AATGGAAGT GAGACGAGGCTG | (GA) <sub>11</sub>   | 55 | 15 | 161-231           | 0.789          | 0.899          | 0.759          | A.6 |
| <i>Sle 465</i>  | F: CAAAGTGAACC TGAATCT<br>R: ATTTAGAAAGCCGTCCACC               | (CT) <sub>14</sub>   | 50 | 6  | 64-76             | 0.652          | 0.790          | 0.558          | A.6 |
| <i>Sle 475</i>  | F: ACCGAAACCCTTGTGGAGA<br>R: GAGACTACGTGGCGACGA                | (GA) <sub>10</sub>   | 50 | 9  | 129-139           | 0.875          | 0.848          | 0.668          | A.6 |
| <i>Sle 562</i>  | F: TGATTTGGTGGTGTG TAG<br>R: TAT TAC ATTTTCAAAGTCAAGTC         | (GT) <sub>5</sub>  | 52 | 12 | 154-180           | 0.750          | 0.883          | 0.737          | A.6 |
| <i>Sle 566</i>  | F: TGA GTAACAAGT AATGAGGG<br>R: GCAGAGATTGAAACAGAAAG           | (GA) <sub>3</sub>  | 52 | 15 | 59-104            | 0.727          | 0.878*         | 0.729          | A.6 |
| <i>Sle 605</i>  | F: GTGCATTTATGCTGAGTAAAGGTGG<br>R: CAACTAAAATGGACCAGACCCGGATG  | (GA) <sub>3</sub>  | 55 | 8  | 125-147           | 0.739          | 0.833          | 0.641          | A.6 |

<sup>a</sup> Allele size range of all loci were determined using ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), except for *Sle 105*, *Sle 291a*, *Sle 303a*, *Sle 392*, and *Sle 605*, which were determined using ABI PRISM 377 DNA Sequencer (Applied Biosystems)

表4 2005年の一斉開花及び結実時に収集できたフタバガキ科の種、母樹数及び種子数

| 樹種                   | DNA抽出用 |      | 発芽試験用 |      |
|----------------------|--------|------|-------|------|
|                      | 母樹数    | 全種子数 | 母樹数   | 全種子数 |
| <i>D.cornutus</i>    | 6      | 371  | 2     | 160  |
| <i>S.acuminata</i>   | 10     | 1000 | 10    | 955  |
| <i>S.lepidota</i>    | 10     | 1000 | 10    | 1000 |
| <i>S.leprosula</i>   | 11     | 1074 | 10    | 984  |
| <i>S.macroptera</i>  | 11     | 1035 | 10    | 1000 |
| <i>S.maxwelliana</i> | 11     | 1100 | 11    | 1100 |
| <i>S.multiflora</i>  | 10     | 1000 | 10    | 1000 |
| <i>S.parvifolia</i>  | 10     | 1000 | 10    | 993  |
| <i>S.pauciflora</i>  | 4      | 350  | 4     | 310  |

## (4) 一斉開花に伴う遺伝子流動研究用材料収集

対象とした *Shorea parvifolia*, *Shorea maxwelliana*, *Shorea lepidota*, *Shorea acuminata*, *Shorea multiflora*, *Shorea leprosula*, *Shorea pauciflora*, *Shorea macroptera*, *Dipterocarpus cornutus* の 9 種からは遺伝子流動調査に十分な数の種子を収集することができた(表 4)。また発芽試験を行った結果、樹種ごとに平均発芽率はばらつき、樹種内でも発芽率は母樹ごとで大きなばらつきが見られた(表 5)。発芽試験を行った種子は健全な種子を選んで行った。しかし実際に発芽率は母樹ごとに大きくばらついたため、その原因を調べるために発芽しなかった種子を割って内部の観察を行った。その結果、発芽しなかった種子の多くは虫食いであることが明らかになった。しかし、母樹によっては虫食いの被害もないのも見られたため、原因が他にあるものも少なからず見られた。これらの原因を特定するためにも、種子の交配様式を調査する必要がある。これは DNA 抽出後にマイクロサテライトマーカーを用いて遺伝子型を決定後、自殖または他殖かを調査することによって、発芽しなかった種子の原因が近交弱勢かどうかを特定することができる。また発芽後の実生は生育試験を継続しており、母樹ごとの交配様式を明らかにした後、発芽実生も自殖または他殖の調査を行って実生段階での近交弱勢を調査する予定である。また 2001 年及び 2002 年の開花率の異なる開花イベント間の遺伝子流動と比較することにより、開花個体密度と交配様式の関係の関係を明らかにできると考えている。

表 5 2005 年の一斉開花及び結実時に収集できたフタバガキ科種子の種及び母樹の発芽率

| 樹種            | 母樹数 | 発芽率の範囲(%) | 平均発芽率(%) |
|---------------|-----|-----------|----------|
| D.cornutus    | 2   | 36-74     | 55.0     |
| S.acuminata   | 10  | 0-100     | 28.9     |
| S.lepidota    | 10  | 0-89      | 42.1     |
| S.leprosula   | 10  | 26-90     | 60.9     |
| S.macroptera  | 10  | 19-91     | 64.9     |
| S.maxwelliana | 11  | 1-84      | 41.1     |
| S.multiflora  | 10  | 0-90      | 64.0     |
| S.parvifolia  | 10  | 30-96     | 74.0     |
| S.pauciflora  | 4   | 38-83     | 53.8     |

(5) パソ森林保護区 40ha プロットでの *Shorea leprosula* の遺伝子流動

2001 年と 2002 年の一斉開花で収集した種子の DNA を用いて遺伝子流動の調査を行った。用いた 10 遺伝子座のマイクロサテライトマーカーの多型性は表 6 に示す通りである。平均対立遺伝子数は 17.4 個、平均ヘテロ接合率は 0.823 と高く、10 座合計での父性排斥率は 0.999775 と極めて高く、十分に花粉親を決定できると考えられる。また 2001 年と 2002 年の平均自殖率は似た値で、それぞれ 25.1% と 29.9% であった(表-7)。2002 年の実生の平均自殖率は 16.6% で、種子の段階と比べると約 13% も自殖由来の個体が減少していた。これは近交弱勢により種子の一部が発芽できなかったのが原因であることが明らかになった。また同時に *Shorea parvifolia* の母樹も解析したところ、2001 年及び 2002 年のそれぞれ 1 母樹で *S. leprosula* と *S. parvifolia* 間で雑種が形成されていることが明らかになった。

表6 遺伝子流動解析に用いた10遺伝子座のマイクロサテライトマーカーの多型性

| 遺伝子座名  | n  | 対立遺伝子数 | He    | Fis      | 父性排斥率 |
|--------|----|--------|-------|----------|-------|
| sle079 | 67 | 19     | 0.893 | 0.007    | 0.633 |
| sle105 | 70 | 9      | 0.798 | 0.108    | 0.428 |
| sle111 | 69 | 20     | 0.888 | 0.078    | 0.629 |
| sle290 | 69 | 37     | 0.958 | 0.166    | 0.822 |
| sle294 | 66 | 12     | 0.696 | 0.089    | 0.304 |
| sle303 | 62 | 16     | 0.871 | 0.033    | 0.586 |
| sle392 | 67 | 17     | 0.855 | 0.030    | 0.550 |
| sle475 | 70 | 19     | 0.883 | 0.077    | 0.609 |
| shc03  | 64 | 6      | 0.496 | 0.074    | 0.130 |
| shc07  | 65 | 19     | 0.892 | 0.052    | 0.633 |
|        |    | 17.4   | 0.823 | 0.999775 |       |

この雑種形成は低頻度であるが、一般的に起こっている現象であると考えられる。また推定された花粉親数は2001年と2002年及び母樹間で大きく異なっていた。これはプロット外からの花粉の流入が多く、種子を採取した母樹の位置にもよるが40haプロットを用いても遺伝子流動の全体像の把握はこの直接推定法だけでは難しいようである。プロット外の遺伝子流動も把握できる間接推定法と併せて遺伝子流動の実態を把握する必要がある。しかしながら、開花個体密度と交配様式の関係は40haほどのプロットがないと正確に分析できないと思われるため、本プロットはこの関係を調査して行くには不可欠なプロットであると考えられる。

表7 パソ40haプロットの *Shorea leprosula* の2001年と2002年の交配様式と推定された花粉親数

| 結実年   | 母樹名    | 分析個体数 |       | 自殖率   |       | 花粉親数 |    | 交雑<br>S. parvifoli |
|-------|--------|-------|-------|-------|-------|------|----|--------------------|
|       |        | 種子    | 実生    | 種子    | 実生    | 種子   | 実生 |                    |
| 2001年 | G0142  | 40    |       | 0.625 |       | 3    |    |                    |
|       | G0147  | 21    |       | 0.047 |       | 3    |    |                    |
|       | G0260  | 10    |       | 0.300 |       | 3    |    | G0101              |
|       | G0269  | 30    |       | 0.100 |       | 3    |    |                    |
|       | G2952  | 33    |       | 0.181 |       |      |    |                    |
|       | 平均     |       |       | 0.251 |       |      |    |                    |
| 2002年 | G0005  | 63    | 37    | 0.159 | 0.027 | 7    | 7  |                    |
|       | G0351  | 20    | 26    | 0.000 | 0.000 | 1    | 1  |                    |
|       | G0371  | 65    | 48    | 0.215 | 0.250 | 7    | 4  |                    |
|       | G0530  | 11    | 39    | 0.545 | 0.461 | 0    | 2  |                    |
|       | G1423a | 14    | 31    | 0.214 | 0.096 | 7    | 7  | G2085              |
|       | G1437  | 15    | 47    | 0.266 | 0.106 | 4    | 12 |                    |
|       | G1470  | 4     | 18    | 0.250 | 0.222 | 0    | 2  |                    |
|       | G1716  | 39    |       | 0.744 |       | 2    |    |                    |
| 平均    |        |       | 0.299 | 0.166 |       |      |    |                    |

直接推定で花粉親を決定できた個体について、40haプロット内での遺伝子流動距離を調査した。その結果、2001年ではプロット外からの花粉流入が多く、どの母樹でも少数の種子の花粉親しか同定できていない。一方、2002年では母樹にもよるが、比較的多くの

種子の花粉親を同定できた(表8)。両年とも平均の花粉流動距離はそれぞれ172.2mと199.3mで同じような値を示した。また母樹によっては700m以上の花粉流動もあった。実際はプロット外からの花粉流動が多くなったので、これ以上の花粉流動距離があるのは明らかである。今後解析を進めて、間接推定も含めた解析を行ってフタバガキ科樹木の遺伝子流動の全体像を明らかにしていく予定である。

表8 パソ40haプロットの *Shorea leprosula* の2001年と2002年での母樹ごとの花粉流動距離

| 結実年   | 母樹名    | 分析個体数 | 遺伝子流動距離(m) |     |       |
|-------|--------|-------|------------|-----|-------|
|       |        |       | 最小         | 最大  | 平均    |
| 2001年 | G0142  | 4     | 22         | 470 | 136   |
|       | G0147  | 5     | 11         | 64  | 26    |
|       | G0260  | 3     | 34         | 659 | 243   |
|       | G0269  | 4     | 34         | 231 | 117   |
|       | G2952  | 3     | 92         | 659 | 339   |
|       |        |       |            |     | 172.2 |
| 2002年 | G0005  | 43    | 39         | 724 | 142   |
|       | G0351  | 18    | 40         | 40  | 40    |
|       | G0371  | 47    | 39         | 505 | 118   |
|       | G0530  | 3     | 323        | 740 | 462   |
|       | G1423a | 18    | 57         | 376 | 224   |
|       | G1437  | 22    | 57         | 505 | 210   |
|       | G1470  | 7     | 302        | 405 | 354   |
|       | G1716  | 3     | 9          | 113 | 44    |
|       |        |       |            |     |       |

(6) 開花個体密度の違いが交配様式と遺伝子流動に与える影響

アンパン森林保護区での約100haプロットでの *S. leprosula* の遺伝子流動及び交配様式は周辺の開花個体密度と密接な関連があることが明らかとなった。平均他殖率はここでも高く80%以上は他殖であった。*Shorea leprosula* は半径200mくらいの開花母樹から約半数の花粉を受け取っている。周囲に開花母樹がないと自殖率が高くなる傾向がある、遠距離からの花粉流動も増加する傾向があった(図3、4)。

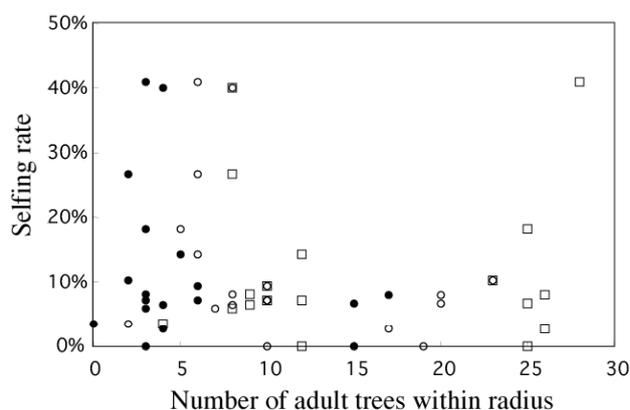


図3 *Shorea leprosula* の周囲の母樹密度と自殖率との関係

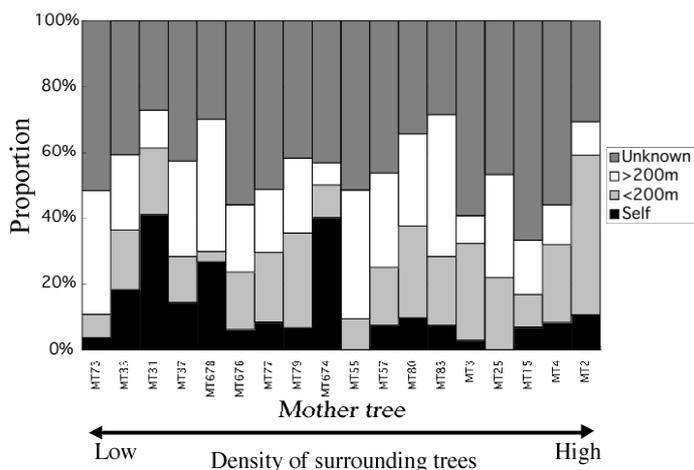


図4 *Shorea leprusula* の周囲の母樹密度と自殖率及び花粉流動との関係

1 母樹でアポミクシスが確認された。この種でのアポミクシスの報告はこれまでにはない。このように遺伝的多様性を維持するためには個体密度が重要な要因であることが明らかとなった。これらの結果からマイクロサテライトマーカーを指標とした解析は、森林の遺伝的劣化現象を調査するのに有効であることが明らかとなった。

#### (7) 遺伝的多様性評価のためのラピッドアセスメント手法の開発

成木（母樹および花粉親となる）が  $N$  個体ある状況を考える。この成木のうち  $M$  個体から種子（実生）を得る。母樹  $j$  からサンプルする実生の数を  $m_j$  とする（ただし、この  $m_j$  個の実生の花粉親は、 $N$  個体の成木のどれか1つである。 $N$  個体以外の花粉親がいる場合は、サンプルには含めない。）。この場合、データの個数は、 $N \times M$  である。

成木のペア  $(i, j)$  間の距離を  $d_{ij}$  とする。例えば、各成木の位置情報が緯度と経度で与えられていれば、 $d_{ij} = \sqrt{(x_i - x_j)^2 + (y_i - y_j)^2}$ （2次元のユークリッド距離）を考えれば良い。データの個数は、 $N$  個である。

成木  $j$  の相対的な花粉生産量を  $\alpha_j$  とする。このとき、 $\sum_{j=1}^N \alpha_j = N$  とする。（パラメータの個数は、 $N-1$  である。）

成木からの距離  $d$  に依存する花粉量を  $e^{-\beta d}$  と仮定する。花粉が半減する距離は、 $e^{-\beta d_{half}} = 1/2$  から、 $d_{half} = \frac{\ln 2}{\beta}$  である。（パラメータ数 1）。このモデルの特別な場合として、花粉量が距離に依存しない場合も考えられる。これは、 $\beta = 0$  とおいた場合である（パラメータ数 0）。

さらに、パラメータを1つ増やして、散布曲線を  $\exp(-\beta d^X)$  とする。このパラメータ  $X$  は散布曲線の裾の厚さを決める。 $X$  を推定する問題にしてもよいが、ここでは、 $X = 1$ ,

$X=1/2$ ,  $X=2$ の3通りのみを考える事にする。ちなみに、 $X=1/2$ のとき  $d_{half} = \left(\frac{\ln 2}{\beta}\right)^2$ 、 $X=2$ のとき  $d_{half} = \sqrt{\frac{\ln 2}{\beta}}$ である。

母樹  $i$  が成木  $j$  から受け取る相対的な花粉量は、 $\alpha_j \exp(-\beta d_{ij}^X)$  となる。母樹  $i$  が成木  $j$  から受け取った花粉のうち、 $\sigma_{ij}$  の割合で受粉し、種子の花粉親として貢献するとする。

ここでは、他家受粉 ( $i \neq j$ ) のとき  $\sigma_{ij}=1$  とし、自家受粉の割合を  $\sigma_{ii}=\sigma_i$  とする (パラメータ数は、 $N$ )。また、この自殖の効果に関するパラメータが、一定である場合 ( $\sigma_{ii}=\sigma$ ) も考える (パラメータ数は、1)。さらに、自殖の効果がない場合 ( $\sigma_{ii}=1$ ) も考える (パラメータ数は、0)。

個体間の相互作用などの効果は、 $\sigma_{ij}$  の与えかたによって決める事ができるかもしれない。

母樹  $i$  の種子 (実生) で、真の花粉親が  $N$  個体の成木候補の内にいるもので、成木  $j$  が真の花粉親である割合は、
$$p_{ij} = \frac{\sigma_{ij} \alpha_j \exp(-\beta d_{ij}^X)}{\sum_{k=1}^N \sigma_{ik} \alpha_k \exp(-\beta d_{ik}^X)}$$
 である。ただし、 $\sum_{j=1}^N p_{ij} = 1$ °

尤度関数は、次のように書ける。

$$L = C \times \prod_{i=1}^M \prod_{j=1}^N \left\{ \frac{\sigma_{ij} \alpha_j \exp(-\beta d_{ij}^X)}{\sum_{k=1}^N \sigma_{ik} \alpha_k \exp(-\beta d_{ik}^X)} \right\}^{n_{ij}}$$

ただし、

また、 $C = \prod_{i=1}^M \left( \frac{n_i!}{\prod_{j=1}^N n_{ij}!} \right)$  は、パラメータによらない定数である。

対数尤度を考える方が、計算は容易になる。対数尤度は、以下のようになる。

$$\ln L = \ln C + \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N n_{ij} \beta d_{ij}^X + \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N n_{ij} \ln(\alpha_j \sigma_{ij}) - \sum_{i=1}^M n_i \ln \left\{ \sum_{j=1}^N \alpha_j \sigma_{ij} \exp(-\beta d_{ij}^X) \right\}$$

対数尤度  $\ln L$  (あるいは、 $\ln L' = \ln L - \ln C$ ) を最大にするパラメータを推定する。

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

本研究ではフタバガキ科樹木の遺伝子流動研究と交配様式の研究のための3回の開花イベント (2001年、2002年、2005年) の研究材料が収集できた。これらの分析結果を比較することにより、より詳細に開花個体密度と交配様式及び花粉流動との関係が明らかになると思われる。2001年及び2002年の *Shorea leprosula* の遺伝子流動から、やはりどの年度でも自殖種子は近交弱勢を受けているようで、実生段階になると明らかに自殖個体が減少していた。これは *Neobalanocarpus heimii* (Naito et al. 2005) で得られ結果と類似しており、フタバガキ科だけで他殖性の植物では一般的な現象だと考えられる。ま

た低頻度であるが、近縁種との雑種が形成されていることも明らかになった。これらはフタバガキ科樹木の進化を考える上でも貴重な知見である。

## (2) 地球環境政策への貢献

本研究ではフタバガキ科の個体密度が集団の遺伝的多様性を保持する上で重要であることが示された。これは将来にわたって遺伝的劣化がなく集団が健全に維持されるために重要な知見となりうる。東南アジアの林業の施行として行なわれている択伐方式での残すべき個体密度が本研究からある程度明らかになってきた。これによって、東南アジアフタバガキ森林の保全のための遺伝的ガイドラインの策定に必要な貴重な情報を与えることができた。本研究成果はカウンターパートであるマレーシア森林研究所に渡し、マレーシアのフタバガキ林の保全のために活用する予定である。

## 6. 引用文献

- 1) Alvarets-Buylla ER, Gracia-Barrios R, Lara-Moreno C, Martinez-Ramos M. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 387-421 (1996)  
“Demographic and genetic models in conservation biology: applications and perspectives for tropical rain forest tree species”
- 2) Armour, J. A. L., Neumann, R., Gobert, S., and Jeffreys, A. J. (1994) Isolation of human simple repeat loci by hybridization selection. *Hum. Mol. Genet.* 3, 599-605.
- 3) Bawa KS. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 399-422 (1990) “Plant-pollinator interactions in tropical rain forests”
- 4) Dick CW. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 268, 2391-2396 (2001)  
“Genetic rescue of remnant tropical trees by an alien pollinator”
- 5) Dick CW, Etchelecu G, Austerlitz F. *Molecular Ecology*, 12, 753-764 (2003)  
“Pollen dispersal of tropical tree (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest”
- 6) Fischer, D., and Bachmann, K. *Biotechniques* 24, 796-802 (1998)  
“Microsatellite enrichment in organisms with large genomes (*Allium cepa* L.)”
- 7) Fleischer, R. C., and Loew, S. In: *Molecular Zoology: Advances, Strategies and Protocols* (eds. Ferraris J, Palumbi S), pp. 459-468. Wiley-Liss, New York. (1995) “Construction and screening of microsatellite-enriched genomic libraries”
- 8) Hufford KM, Hamrick JL. *Evolution*, 57, 518-526. (2003)  
“Viability selection at three early life stages of the tropical tree *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae)”
- 9) Iwata, H., A. Konuma, and Y. Tsumura. *Molecular Ecology* 9:1684-1685 (2000) “Development of microsatellite markers in the tropical tree *Neobalanocarpus heimii* (Dipterocarpaceae)”
- 10) Lee, S. L., N. Tani, K. K. S. Ng and Y. Tsumura. *Molecular Ecology Note* 4: 222-225 (2004)  
“Isolation and characterization of 20 microsatellite loci for an important tropical tree *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae) and their applicability to *S. parvifolia*”
- 11) Lee, S. L., N. Tani, K. K. S. Ng and Y. Tsumura. *Molecular Ecology Note* 4:147-149 (2004)  
“Characterization of 15 polymorphic microsatellite loci in an endangered tropical tree *Hopea biltonensis* (Dipterocarpaceae) in Peninsular Malaysia”

- 12) Levin D. *American Naturalist*, 145, 109-118 (1995)  
“Plant outliers: an ecogenetic perspective”
- 13) Robertson AW, Kelly D, Ladley JJ, Sparrow AD. *Conservation Biology*, 13, 499-508 (1999)  
“Effects of pollinator loss on endemic New Zealand mistletoes (Loranthaceae)”
- 14) Ujino, T., T. Kawahara, Y. Tsumura, T. Nagamitsu, Wickneswari R. and H. Yoshimaru. *Heredity* 81: 422-428. (1998)  
“Development and polymorphism of simple sequence repeat DNA markers for *Shorea curtisii* and other Dipterocarpaceae species”

## 7. 国際共同研究の状況

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。

カウンターパート： Norwat Muhammad、L. C. Ting、L. S. Leong、K. K. S. Ng

## 8. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) Y. Tsumura, Ujino-Ihara, T., Obayashi, K., Konuma, A., and Nagamitsu, T. In T. Okuda, N. Manokaran, Y. Matsumoto, K. Niiyama, S.C. Thomas and P.S. Ashton [eds.], Pasoh -Ecology of a Lowland Rain Forest in Southeast Asia, 285-292. Springer-Verlag, Tokyo. (2003)  
“Mating system and gene flow of Dipterocarps revealed by genetic markers”
- 2) T. Kajita, and Y. Tsumura. In: T. Okuda, N. Manokaran, Y. Matsumoto, K. Niiyama, S.C. Thomas and P.S. Ashton [eds.], Pasoh -Ecology of a Lowland Rain Forest in Southeast Asia, 261-272. Springer-Verlag, Tokyo. (2003)  
“Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae”
- 3) Y. Naito, A. Konuma, H. Iwata, Y. Suyama, K. Seiwa, T. Okuda, S. L. Lee, Norwati M. and Y. Tsumura. *Journal of Plant Research* 118: 423-430 (2005)  
“Selfing and inbreeding depression in seeds and seedlings of *Neobalanocarpus heimii*. (Dipterocarpaceae)”

<その他誌上発表>

- 1) 津村義彦 *Tropics* 11:241-247 (2002)  
「熱帯林の遺伝的多様性と保全」
- 2) 津村義彦 地球環境ハンドブック, p.570-577、朝倉書店、東京 (2002)  
「熱帯の遺伝子資源」
- 3) Y. Takeuchi, S. Ichikawa, A. Konuma, N. Tomaru, K. Niiyama, S. L. Lee, N. Muhammad and Y. Tsumura. *Heredity* 92: 323-328 (2004)  
“Comparison of the fine-scale genetic structure of three dipterocarp species”
- 4) S. L. Lee, N. Tani, K. K. S. Ng and Y. Tsumura. *Molecular Ecology Note* 4:147-149 (2004)  
“Characterization of 15 polymorphic microsatellite loci in an endangered tropical tree *Hopea bilitonensis* (Dipterocarpaceae) in Peninsular Malaysia”
- 5) S. L. Lee, N. Tani, K. K. S. Ng and Y. Tsumura. *Molecular Ecology Note* 4: 222-225 (2004)  
“Isolation and characterization of 20 microsatellite loci for an important tropical tree *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae) and their applicability to *S. parvifolia*”
- 6) S. L. Lee, K. K.S. Ng, L. G. Sawa, C. T. Lee, N. Muhammada, N. Tani, Y. Tsumura, J. Koskela. *Biological*

Conservation 131:72-92 (2006)

“Linking the gaps between conservation research and conservation management of rare dipterocarps: A case study of *Shorea lumutensis*”

- 7) Y. Fukue, T. Kado, S. L. Lee, K. K.S. Ng, N. Muhammad and Y. Tsumura. Journal of Plant Research (印刷中) (2007)

“Effects of flowering tree-density on mating system and gene flow in *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae) in Peninsular Malaysia”

( 2 ) 口頭発表

- 1) 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.、神崎護、太田誠一 第50回日本生態学会大会講演要旨集、p.265 (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」
- 2) Y. Naito, Mamoru Kanzaki, Shinya Numata, Akihiro Konuma, Sen Nishimura, Seiichi Ohta, Yoshihiko Tsumura, Toshinori Okuda, Soon Leong Lee, and Norwati Muhammad. 種生物学会発表要旨(2003)  
“Reproductive ecology of *Shorea acuminata* (Dipterocarpaceae): Comparisons of intra-specific variation and factors affecting fruit set between two mass fruiting seasons”
- 3) 内藤洋子、神崎護、沼田真也、小沼明弘、西村千、太田誠一、津村義彦、奥田敏統、S. L. Lee, Norwati, M. 日本生態学会大会講演要旨集、51 : 145 (2004)  
「*Shorea acuminata* の繁殖戦略：不定期に大量開花結実することの適応的意義」
- 4) 福江陽子、Lee S. L.、K.K.S.Ng、Norwati M.、津村義彦 日本生態学会大会講演要旨集、51 : 236 (2004)  
「森林断片化による *Shorea leprosula* の遺伝的多様性に与える影響」
- 5) 福江陽子、Lee S.L.、K.K.S.NG、Norwati M.、津村義彦 日本生態学会大会講演要旨集、52 : 776 (2005)  
「半島マレーシアにおける *Shorea leprosula* の遺伝的多様性に対する林縁部の影響」
- 6) 内藤洋子、神崎護、大林恭子、Lee, S.L., Norwati,M.、奥田敏統、津村義彦 日本生態学会大会講演要旨集、54 (2007)  
「開花密度の違いが熱帯高木 *Shorea acuminata* (フタバガキ科) の交配パターンに与える影響」

( 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