

課題名 S-9-2 アジアの森林における遺伝子・種多様性アセスメント

課題代表者名 館田 英典 (九州大学大学院理学研究院 生物科学部門進化遺伝学研究室 教授)

研究実施期間 平成23～27年度

累計予算額 302,802千円 (うち平成27年度: 56,218千円)  
予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード 種多様性、遺伝子多様性、レッドデータブック、ホットスポット、適応力評価、ベルトトランセクト調査、森林プロット樹木図鑑、MIG-seq法、ユビキタスジェノタイピング、生態ゲノムニッチモデリング

#### 研究体制

- (1) 遺伝子・種多様性の指標開発とアジアの植物への適用 (九州大学)
- (2) アジアの森林プロットデータを統合した植物分布解析と絶滅リスク評価 (人間環境大学)
- (3) インドシナ・マレーシアの森林プロットにおける植物多様性変動の評価 (京都大学)
- (4) インドネシアの森林プロットにおける植物多様性変動の評価 (鹿児島大学)
- (5) アジアの標本データと分子系統解析を統合した植物分布解析と絶滅リスク評価 (首都大学東京)
- (6) アジア産マメ科植物の種・系統多様性評価 (琉球大学)
- (7) アジア産シダ植物の種・系統多様性評価 (独立行政法人国立科学博物館)
- (8) 日本およびアジア地域の送粉ハナバチ類の種多様性とその減少評価 (九州大学)
- (9) 遺伝子データと個体の空間分布データを統合した多様性変動の解析 (東北大学)
- (10) アジア産絶滅危惧植物の全個体ジェノタイピング (京都大学)
- (11) 気候変動に対する植物の適応力評価 (日本大学)

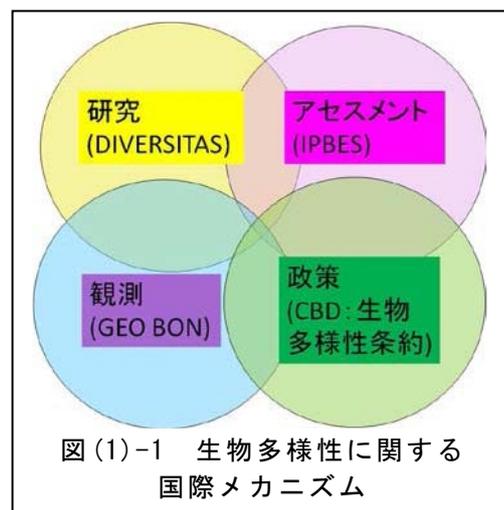
#### 研究概要

##### 1. はじめに (研究背景等)

「2010年までに生物多様性損失を有意に減らす」という国際的に合意された「2010年目標」に関して、「生物多様性概況第3版」(2010年5月22日発表)では「目標達成が実現できず、生物多様性損失はさらに深刻化している」という結論を下した。このため、第10回生物多様性条約締約国会議(COP10)では「2020年目標」(愛知ターゲット)を含む新たな戦略計画を策定した。COP10が我が国で開催されたこともあり、生物多様性に関する国内の関心が高まり、今日に至っている。

国際的には、生物多様性科学の推進を目的とするDIVERSITAS(生物多様性科学に関する国際プログラム)、GEO(地球観測に関する政府間会合)の下での地球規模の生物多様性観測ネットワーク(GEO BON)、CBD(生物多様性条約)に加えて、国際アセスメントをになうメカニズムとして、IPBES(生物多様性・生態系サービスに関する政府間プラットフォーム)が2011年に設立された(図(1)-1)。

このメカニズムは国連ミレニアム生態系アセスメントのフォローアップを行い、気候変動におけるIPCCに相当する役割をになうことが期待されている。このような国際的な動きの下で、アジア地域における遺伝子・種多様性の観測・アセスメントに関する科学的基盤の強化を目標とする本プロジェクトへの期待が国内外で高まっていた。



図(1)-1 生物多様性に関する国際メカニズム

##### 2. 研究開発目的

###### (1) レッドデータブックとホットスポット地図

我が国は、生物多様性条約議長国として、とくにアジア地域における生物多様性保全に具体的な貢献を行うことが期待されている。しかし、保全対策を具体化するうえで、アジア各国の中でどこ

が保全上とくに重要な地域なのかについて判断する科学的根拠が弱いことが大きな障害となっていた。この判断を行うには、レッドデータブック（絶滅危惧種のリストと分布情報）、およびホットスポット（種多様性が高く、かつ絶滅リスクが高い地域）の地図を整備することが必要である。本研究の第一の目的・達成目標は、アジア地域におけるレッドデータブック、およびホットスポット地図を編集・作成することである。しかしながら、アジアには、種子植物だけでも約5万種があり、これら全種について5年間で評価を行うことは困難である。そこで、植物ではマメ科・熱帯林樹木の代表群・シダ植物に、動物ではハナバチを対象をしぼり、レッドデータブック、およびホットスポット地図を編集・作成する。

## （２）森林プロット樹木図鑑

熱帯林の調査研究、および森林管理においてとりわけ困難な問題が、種の同定である。アジア熱帯林には多くの森林プロットが作られているが、樹木の同定については多くの場合、属レベルしか信頼できないし、属レベルの同定すら困難な例も少なくない。この問題を解決するために、アジアの代表的地域に設置されている森林プロットの樹種のDNA配列を決定し、相同性検索結果と分類学的文献・標本資料を比較参照することにより同定作業を進め、アジア森林プロット樹木図鑑を作成する。森林プロットの中にはすでに農地転換されている場合、皆伐や間伐により樹種構成が大きく変化している場合がある。これらの情報をレッドデータブック編集に活用する。

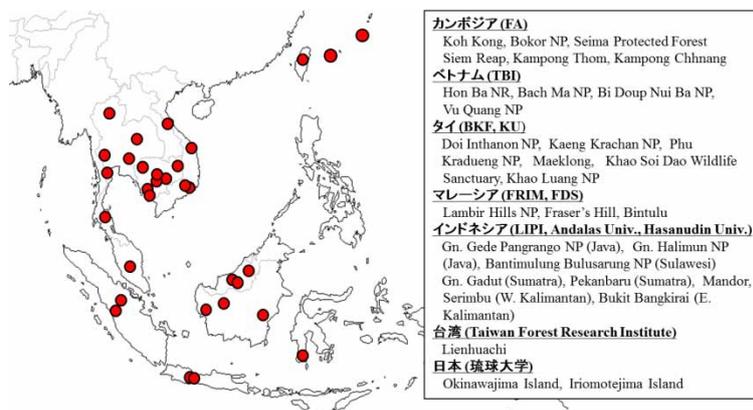
## （３）遺伝子多様性アセスメント

GEO BON ワーキンググループ 1（遺伝子・系統多様性）と連携し、①ユビキタスジェノタイピング（絶滅危惧種の全個体遺伝子型決定）、②ゲノム情報を利用した気候変動への適応力評価、③遺伝子データと個体分布データの統合、という3つのアプローチによる遺伝子多様性アセスメントを実施する。遺伝子多様性アセスメントに関する国際的に標準となる手法を確立し、その手法による最初の報告を公表する。

## 3. 研究開発の方法

### （１）遺伝子・種多様性の指標開発とアジアの植物への適用

サブテーマ2～11の研究成果を統合し、レッドデータブック・ホットスポット地図、森林プロット樹木図鑑、遺伝子多様性アセスメントという3つの成果物をまとめるために、サブテーマ2～11と共同研究を進めた。また、遺伝子多様性指標に関して、集団の縮小・分断化後の動態から将来の遺伝子多様性を予測する手法を数理モデルにもとづいて検討した。東南アジア地域における種多様性ホットスポット地図作成のために、サブテーマ2～4と協力して、図(1)-2に示すカンボジア、ベトナム、タイ、マレーシア、インドネシアにて、標準化された100x5mのベルトランセクト法を用いて標高24-3,031mの様々なタイプの森林にて植生調査を実施し、植物の種多様性を評価した。調査で確認された植物種については現場で写真を撮影し、証拠標本の作製、およびDNA解析用の葉断片の収集を行った。得られた資料を基にDNA配列・分類学的文献・ハーバリウム標本にもとづいて同定作業を進めた。また、森林プロット樹木図鑑作成のために、撮影した写真を基に図鑑のドラフトとなるパワーポイントファイルを作成した。更に、Dalbergia属に属する二樹種 *D. cochinchinensis* (ホンシタン) と *D. nigrescens* をカンボジア及びタイの集団からそれぞれ複数個体をサンプルし、葉緑体及び核の複数遺伝子座で塩基配列を決定し、集団遺伝学的解析を行った。



図(1)-2 2011-2015年にかけて東南アジアの植物多様性評価のため、現地調査を実施した地点

## (2) アジアの森林プロットデータを統合した植物分布解析と絶滅リスク評価

インドネシア科学院生物多様性センター（ボゴール植物標本館）においてブナ科およびフタバガキ科についての標本調査を行い、ブナ科樹種の分類学的検討と平行して各種の分布情報を収集した。また、GBIFデータベースからブナ科標本のデータをダウンロードし、東南アジアの種群についてのデータマイニングを行った。またサブテーマ1およびサブテーマ3と協力してスマトラ島ガドゥ山域およびシピサン村での森林プロット調査を行った。森林プロットでは、ブナ科樹種の生育環境についての情報を収集した。標高の違いに応じた種多様性の評価を行うため、標高270m、550-600m、1,650m、1,850m付近において森林プロット内でのベルトトランセクト調査を実施した。本研究および他のサブテーマとの共同調査で得た情報（文献およびデータベース調査を含む）に基づき、分類群別の伐採リスクと標高に応じた伐採リスクの評価を行った。

## (3) インドシナ・マレーシアの森林プロットにおける植物多様性変動の評価

調査地のさまざまな環境に複数のベルトトランセクト(100 m x 5 m)を設置し、10 mごとに区切った10の小区画毎に全種調査を行った。小区画ごとに樹高4 m以上の木について種名、樹高、胸高周囲長を測定した。山地ではほぼ標高300 mごとにベルトトランセクトを設置した。一つのベルトトランセクトに出現した種ごとにさく葉標本を作製し、さらに葉または植物体の一部をシリカゲルで乾燥してDNA抽出用のサンプルを採取した。すべての種について生態写真と、同定に重要な部分を撮影し、PowerPointを用いて写真を組み合わせたスライドを作製した。ベルトトランセクトの外であっても、花や実のついたよい状態の植物があれば標本とし、ベルトトランセクト内の植物と同じ方法でデータを収集した。ベルトトランセクトに出現する植物の同定に有用であるうえ、調査地の全体的な植物相解明のために重要である。文献および各地の植物標本館の植物標本（Web上で公開されているデータベースも利用）により植物の同定を行った。ベルトトランセクトで得られた標本は多くは花も実もない標本であるため、DNA barcodingを利用して科や属の位置を決定し、種の同定を行った。

## (4) インドネシアの森林プロットにおける植物多様性変動の評価

インドネシアのジャワ島、ボルネオ島、スマトラ島の6地域、合計12haの面積で、以前作成した調査区の再測定、新規調査区の設定を行った。各調査区内で、胸高周囲15cm以上の樹木について、樹種、直径を調べ、一部の個体については樹高も調べた。

## (5) アジアの標本データと分子系統解析を統合した植物分布解析と絶滅リスク評価

サブテーマ7と共同でアジアにおけるシダ植物の種多様性、系統的多様性の高いホットスポット地域を明らかにした。それをサブテーマ6と8がそれぞれ明らかにしたマメ科植物、ハナバチ類のアジアにおけるホットスポット地域を比較することによって、生態的特性が大きく異なる生物群間で共通するホットスポット地域を明らかにした。

## (6) アジア産マメ科植物の種・系統多様性評価

種分布モデルを用いたホットスポット解析では、まず、アジア産マメ科植物の中でも、様々なハビタットに分布する植物からのデータを得るために、*Dalbergia*, *Mucuna*, *Desmodium*, *Vigna* 等を対象にハーバリウム標本データを収集し、主要標本館の未公開の電子情報と、ハーバリウム標本そのものから取得した。これらのデータについて、重複や、分類学的取り扱いの違い、位置情報の精度の違いなど、様々なノイズを取り除き、種分布モデルの解析用のデータセットを準備した。また、系統多様性情報の収集に必要なDNAサンプルは、海外の共同研究者がフィールドワークで蓄積してきたものに加え、世界各地の主要ハーバリウムに保管されているハーバリウム標本のうち、比較的新しく、状態の良いものから得た。これらのうち、*Dalbergia*属、*Mucuna*属、*Desmodium*属の3属については、テーマ1メンバーと共同でホットスポット解析を実施した。また、*Dalbergia*属については系統多様性としてMPD (Mean phylogenetic distance) を用いた解析を行うことで、種多様性から推定されたホットスポットマップが、系統多様性を反映しているかどうかもテストした。

## (7) アジア産シダ植物の種・系統多様性評価

専門家を集めたワークショップにおいて議論の後、「アジア産狭分布シダ植物リスト」と稀少種の集中する「アジアのシダ植物ホットスポット候補地リスト」を作成した。一方、分類群の網羅性を高めるためにアジア産全種のチェックリストを作成し、そのリストを元にして各種について絶滅リスク

のアセスメントを行った。その中で地球規模の絶滅危惧種に該当すると判断された種を抽出して、「アジア産シダ植物レッドリスト」を作成した。さらに、レッドリストに収録された種について地理的分布情報を収集し、絶滅危惧種の分布密度を地図化した「絶滅危惧シダ植物のホットスポット地図」を作成した。

#### (8) 日本及びアジア地域の送粉ハナバチ類の種多様性とその減少評価

ハナバチ類の国内外の現地調査、国外研究機関での標本調査、現地調査で得られた標本に基づくDNAバーコードの分析、得られたデータに基づくハナバチ図鑑の執筆出版、標本データベース・画像データベース・DNAバーコードデータベースの構築、データベースの分析による分布図とホットスポット地図の作成を行った。

#### (9) 遺伝子データと個体の空間分布データを統合した多様性変動の解析

アジアに分布する絶滅危惧種について遺伝子データと個体の空間分布データを統合した現状評価の実例とするため、現存する全個体数とその空間分布を把握するための現地探索調査を行った。そのほか、国内希少植物およびインドネシア等のアジア地域における絶滅危惧植物の遺伝子データ分析を分担し、それらの保全遺伝学的解析を行った。また遺伝子多様性維持政策上の情報提供として、日本産主要樹木の遺伝的地域性の保全に注目し、そのために必要な遺伝的集団構造データを取りまとめた。更に遺伝子多様性評価のための分析手法開発として、ゲノム内に数多く存在する単純反復配列に挟まれた数千以上の領域をマルチプレックスPCRによって同時に増幅し、それらをライブラリーとして次世代DNAシーケンサーで同時に読み取って一塩基多型を検出し、さらにそれらを遺伝マーカーとして集団遺伝学的解析等の遺伝子多様性評価を行うための手法を開発した。また生物多様性変動解析の新たなアプローチ法の提案と、遺伝子データと個体の空間分布データを統合した新たな解析法を開発・提案した。特に古代花粉DNA試料や氷河・湖底堆積物のメタジェノミクス解析によって、過去から現在までの比較的長い期間の遺伝子多様性変動の解析が可能であることを提案した、そのための具体的なデータ取得事例として、湖底堆積物中の花粉および山岳氷河のアイスコア中の花粉のDNA分析法に関する基礎技術開発を行った。

#### (10) アジア産絶滅危惧植物の全個体ジェノタイピング

アジア産絶滅危惧種で野生個体数が著しく減少した植物について、1年間あたり2種を解析対象とした。野生に生育する全個体を対象に遺伝解析用の試料を採集し、新たに開発したマイクロサテライトマーカー、あるいは次世代シーケンサーを利用したゲノム情報の縮約解読によって、遺伝子型の解読と解析を行った。

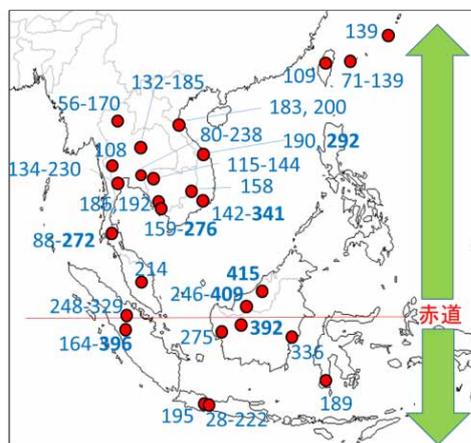
#### (11) 気候変動に対する植物の適応力評価

アブラナ科シロイヌナズナ属植物のハクサンハタザオを対象に、複数個体の全ゲノム解析により、適応遺伝子に基づく遺伝的多様性および適応力を加味した上での将来予測手法の確立を目指した。ゲノム比較は様々な時空間スケールで実施し、気候変動による影響が予想される標高差に着目した標高適応に関連する遺伝子、100年前から採取されてきた標本を利用した過去100年間の環境変化に関連する遺伝子、日本全域を網羅する多様な地理的環境変異に関連する遺伝子の探索を行った。さらに、得られた適応遺伝子を単位とした生態ゲノムニッチモデリングから、気候変動に対する野生集団の分布変化予測を行った。これら一連の研究開発により、適応遺伝子に基づく遺伝的な評価手法と気候変動に対する将来予測手法を確立することを目指した。

### 4. 結果及び考察

#### (1) 遺伝子・種多様性の指標開発とアジアの植物への適用

東南アジア、台湾、日本の23地域114地点において標準化された100×5mのトランセクト法による植生調査を実施した結果、東南アジアを俯瞰する植物の種多様性のデータが蓄積され、植物種の多様性は従来知られていたように、概観して赤道付近で高く、高緯度になるにつれて減少する傾向を示した。その一方で、インドシナ半島のベトナム中部～南部、カンボジア南部でも高い多様性を示すことが明らかとなり、植物種多様性のホットスポットを特定することができた(図(1)-3)。



図(1)-3 500m<sup>2</sup>の調査区で確認された植物種数

また、調査は各地域で標高勾配に沿って実施したことで、細かいスケールでの種多様性の変化パターンを明らかにした。これらの結果は保護区の選定やさらに重点的に調査が必要な地域の選定に役立つことが期待される。

調査を通じて計25,654点の証拠標本を作製し、これらに基づいて分類学的研究を進めた。カンボジアのボコー国立公園の植物相を精査した例では、収集した木本性植物770種のうち、約15%に相当する120種（新種24種を含む）がカンボジアに記録のない植物であることを明らかにした。未記載であった種については、現在までに29種を新種として発表した。東南アジア地域の種多様性は未だに過小評価されており、より正確に種多様性を評価するためには植物インベントリーと標本資料に基づく分類学的研究がまだまだ必要不可欠である。同定を完全に終えたカンボジアの3地域の森林プロットの植物について、図鑑を編集し、発行、およびインターネット上にて無償で公開した。

マメ科 *Dalbergia* 属に属する *D. cochinchinensis* と *D. nigrescens* の遺伝的多様性を調べた。その結果、中立だと考えられるサイレントサイトでの塩基多様度はそれぞれ0.57、0.70%、カンボジア集団間での分化の程度を表す  $F_{ST}$  はそれぞれ0.4、0.13程度で、前者が後者の種に比べて集団内変異は低いが集団間変異は高いという結果が得られた。両種とも幾つかの地域集団で適応分化した遺伝子も見つかっており、遺伝的変異を保持しながら保全を行うためには、出来るだけ多くの地域集団を維持して行くことが必要であることが明らかになった。

## (2) アジアの森林プロットデータを統合した植物分布解析と絶滅リスク評価

標本点数に基づいた評価では約8割の種類が希少種候補と判断されたが、プロット調査によってこれらの希少種候補のなかには普通種も含まれていることが明らかとなった。リスク評価においては、不十分な標本情報をプロット調査データによって補完し、過大評価を修正することが重要であると考えられた。

西スマトラでは、アクセスの困難な600m以上の山岳地においてもフタバガキ科は選択的な伐採（12～27%）を受けていた。このことは、フタバガキ科の減少リスクは標高とは無関係にその場所に生育する個体密度に依存することが示唆された。

二次林が卓越する丘陵地～低山地では、キョウチクトウ科（Apocynaceae）、ジンチョウゲ科（Thymelaceae）、ブナ科（Fagaceae）への伐採圧の高いことが明らかになった。また、ブナ科とアカテツ科（Sapotaceae）では大径木への選択的伐採が顕著であった。これらの事実は、森林がおかれている地域的な要因と嗜好性によって、減少リスクが樹種によって大きく異なることを示唆している。

## (3) インドシナ・マレーシアの森林プロットにおける植物多様性変動の評価

7カ国（ベトナム、カンボジア、タイ、マレーシア、インドネシア、台湾、日本）32地域111地点でベルトトランセクトを設置した。それぞれの地点で出現した1トランセクト(500 m<sup>2</sup>)あたりの出現種数は、赤道付近の低地で最も高く、赤道から離れるに従って減少した。同じ緯度で見ると、インドシナ半島ではベトナム、カンボジアの沿岸部でまわりよりも高い種多様性を示した（図(1)-3）。各地での標高と出現種数の関係を見ると、湿潤環境域では屋久島で観察されたのと同様に、標高とともに出現種数は直線的に減少した。もっとも出現種数が多かったのはほぼ赤道に近いマレーシア・ランビル国立公園（標高約140 m）の415種であった。一方、乾季により植物の生育が妨げられる地域では、乾燥による落葉樹林（季節林）が発達する標高の低い地点で多様性が低下し、標高500～1300 mの季節林

から常緑樹林に移行する付近で最も高い多様性を示すことがわかった。

各調査地点で作製した全種スライドは、科ごとに配置し、仮同定の種名を加えることで簡易なフィールド図鑑として活用できることがわかった。DNA barcoding（サブテーマ1と共同）を活用することで、同定できない分類群を大きく減少させることができ、また未記載種をみつけることが容易になった。本研究により発見された未記載種は多く、本研究の資料に基づいた新種は今後も継続して研究発表される予定である。

本研究により、ベルトトランセクト法を用いた種多様性調査法は、種多様性が高い熱帯域においても十分な成果を上げることが確認できた。同一の定量的な手法であるため、標高の違いを含む、広い範囲で種多様性の比較をすることができ、客観的に種多様性が高い地域を検出することが可能である。この方法だけでは直ちに種の同定を完了することは難しいが、DNA barcodingおよび標本を用いた伝統的な解析法とあわせることで迅速に多様性研究を進めることが可能であることがわかった。

#### （４）インドネシアの森林プロットにおける植物多様性変動の評価

西ジャワ州のハリムン-サラック国立公園内に1996～1997年に設定した2haの調査区では、公園の管理が比較的行き届いていることもあり、ほぼ自然状態で推移していた。西スマトラ州のパダン近くのGadut山地域では前回調査の2008年にくらべ違法伐採は一層拡大し、標高1,200m以下ではまとまった成熟林はすでに消失していた。西カリマンタンのマンドール保護区とニウツ山保護区近くのスリンブでも、1980～1990年代にはよい森林があったが、伐採、金の採掘、焼き畑などでほとんどが消滅していた。東カリマンタンのブキットバンキライでは1998年に山火事の被害を受けた。その後はよく管理された状態にあり、森林が再生しつつあった。特に樹木本数、胸高断面積合計の回復は著しいが、本来の極相林の植物相の回復にはその後のかく乱がなくとも長い年月がかかると予測された。スマトラ北部のレウサー山国立公園はかつて政治的理由で立ち入ることも困難な地域であったが、調査ができるようになってきたので、3調査区合計2.5haを設定して植物相と森林構造を調べた。公園の境界付近ではかつての違法伐採の影響で森林構造と種類相も内部より劣っていた。内部では非常に多様性の高い地域とそれほどでもない地域があったが、それは土壌の違いによるものと考えられた。低地林でも土壌の違いにより樹種組成が異なり、全体としての多様性を高めていると考えられた。

#### （５）アジアの標本データと分子系統解析を統合した植物分布解析と絶滅リスク評価

サブテーマ6, 7, 8によって主として標本データに基づいてそれぞれ推定されたアジアにおけるマメ科植物、シダ植物、ならびにハナバチ類の生物多様性ホットスポット地域（シダ植物とマメ科植物については分子系統樹に基づく系統的多様性を考慮したホットスポット解析も行われたが、結果は種多様性に基づくものとほとんど変わらなかった）を比較した。湿った環境を好むシダ植物と比較的乾燥した草原等の環境を好むマメ科植物とハナバチ類では、種多様性の高い地域は大きく異なっていた。しかし、インド南部とフィリピン・ルソン島は、これらの生物群に共通して生物多様性の高い地域であることがわかった。生態的特性が大きく異なる3群の生物に共通して見られたこれらのホットスポット地域は、保全上も最重視すべき地域であると考えられる。

#### （６）アジア産マメ科植物の種・系統多様性評価

ハーバリウム標本からのデータ収集では、世界各地の主要ハーバリウムからデータを取得することで、対象属のうち5属について、ホットスポット解析に用いることが可能なデータセットを得た。また、テーマ1のメンバーと共同で、ハーバリウム標本を用いたデータ収集から、ホットスポット解析までの実施手順の汎用ワークフローをフローチャートとしてまとめた。このワークフローは、本サブテーマで対象としたマメ科植物以外でも、標本データを用いてホットスポット解析を行う研究一般に用いることができる、汎用的な手順である。また、世界各地の標本館や共同研究者と連携することで、研究対象のうち5属（*Dalbergia*, *Mucuna*, *Desmodium*, *Vigna*, *Canavalia*）について、系統多様性の解析に使用できるDNAサンプルを収集できた。これらのDNAサンプルについて、複数の遺伝子領域の塩基配列データを収集し、系統解析を行った。テーマ1メンバーと共同で行ったホットスポット解析では、*Dalbergia*, *Mucuna*, *Desmodium*について、種多様性のホットスポットマップを作成できた。これら、ハビタットの異なる属のホットスポットは、必ずしも同じ地域を示さなかった。また、*Dalbergia*について、分布情報で推定されたホットスポットと、系統多様性をあわせたホットスポット解析の結果を比較したところ、非常に強い相関が検出された。このことは、アジアの*Dalbergia*属植物においては、種分布モデルより得た種数の多様性のホットスポットマップでも、系統多様性も含めた多様性情報を十分反映されていることを示している。

### (7) アジア産シダ植物の種・系統多様性評価

「アジア産狭分布シダ植物リスト」には全885分類群（亜種・変種51分類群含む）が含まれた。全6,078分類群を含む「アジア産全シダ植物のチェックリスト」が作成され、ニューギニア産を除く全種・亜種・変種を対象にアセスメントを行ったところ2,185種が地球規模での絶滅危惧種に該当すると判断された。それらの種の分布情報を緯度・経度1度単位のグリッドで集計したところ、ボルネオ島のキナバル山周辺がアジアで最も多くの絶滅危惧種が集中している地点であることが判明し、アジア全体の状況がホットスポット地図としてまとめられた。

### (8) 日本及びアジア地域の送粉ハナバチ類の種多様性とその減少評価

日本産ハナバチ図鑑」を出版し、熱帯アジアについては、オランダ国立生物多様性センター（ライデン）および大英自然史博物館（ロンドン）所蔵の標本に基づく「熱帯アジア産ハナバチ類画像データベース (TAB)を構築し公開し、アジアでのハナバチ類の情報基盤を整えた。熱帯アジアで森林の送粉者として重要な役割を果たしているクマバチを選び、アジア産クマバチ類標本データベース (BeeAXylo)を構築し、このデータを基に解析を行い、種の分布図とホットスポット地図を作製した。さらに各種データベースから得られたアジア産ハナバチ類全体について、国・地域・島ごとの種数、固有種数を検討した結果、インド南部・西北部とフィリピン（ルソン、ミンダナオ）で多様性と固有性が高いことが明らかになった。ハナバチ類は乾燥地に適応した分類群であるため、アジア熱帯では多様性はあまり高くないと考えられた。

### (9) 遺伝子データと個体の空間分布データを統合した多様性変動の解析

アジアに分布する絶滅危惧種について、その分布実態を把握するための現地探索調査を行い、特に韓国における絶滅危惧種6種について現存するほぼ全個体の分布実態を記録した。また、その他の種に関する遺伝子データと個体の空間分布データを統合した研究の成果は論文発表した。このようなデータにより、そのほかの絶滅危惧種集団を対象としたケースにおいても、生物多様性を保全するために必要な、より適切な対策を講じることができることを示した。

日本産主要樹木の遺伝的多様性維持のための情報提供を目的として、『地図でわかる樹木の種苗移動ガイドライン』と題する書籍を出版した。この書籍では、遺伝子多様性維持対策の1つとして日本産主要樹木の遺伝的地域性の保全に注目し、そのために必要な遺伝的集団構造（遺伝的地域性）データを取りまとめた。これらの情報を用いて、日本産主要樹木について種苗移動制限ガイドラインの提言を行うことで、遺伝子多様性維持政策上の情報提供として貢献できる。

遺伝子多様性アセスメント手法として広く利用できる次世代シーケンサーを用いた分析方法を開発し、「MIG-seq法」として論文発表した。この手法は、簡便かつ低コストで広い範囲の生物種・サンプルに対して迅速な遺伝子多様性評価が可能のため、国際的な標準的手法として幅広い利用が期待できる。また、空間分布データを取得したサンプルについてこの手法による遺伝子データを取得して両者を統合することで、その生物の地域集団に関して遺伝的地域性を明らかにすることができる。さらにこのデータを用いて集団動態履歴の解析を行えば、集団サイズの変動や集団分化パターンなど、多様性変動についても解析することができるため、遺伝子多様性の観測・評価・予測研究のための利用価値が高い。

過去における植物の遺伝子多様性変動解析を目的として、古代花粉DNA試料や湖底堆積物のメタジェノミクス分析が可能であることを示し、そのアプローチ法について提案した。また、そのための具体的なデータ取得事例として、湖底堆積物中の花粉)や、山岳氷河のアイスコア中の花粉のDNA分析法に関する基礎技術開発を進め、その成果を論文発表した。さらに、地理情報システム技術を用いて遺伝子データと個体の空間分布データを統合した解析法が可能であることを示した。これらの手法開発・提案により、特に生物多様性（遺伝子多様性）の将来予測のために有効な情報源となりうる、過去における多様性変動に関する情報取得の道が拓けた。

### (10) アジア産絶滅危惧植物の全個体ジェノタイピング

アジアに生育する絶滅危惧種10種を対象に野生に生育する全個体の遺伝子型を明らかにする事で、現存するクローン数、遺伝的多様性、遺伝構造、ジーンフロー、集団の遺伝的分化、交配様式等を解析して、遺伝子型の包括的モニタリングに基づく生物多様性保全を行った。その結果、アジアに生育する複数の絶滅危惧種について、遺伝的見地から見た種の状況、遺伝情報に基づく未知の野生個体の存在予測、遺伝的タグ付けによる盗掘防止、域外保全すべき個体の適切な選択、域外保全集団の保全

的価値の評価などが可能になった。

従来、絶滅危惧種の状況は、種ごとの外部的特徴、すなわち、個体数の多寡や増減にもとづいて評価され、絶滅危惧カテゴリーが決定されてきた。この方法は比較的個体数の多い種においては有効である。これに対して本研究では野生に現存するすべての個体を対象に遺伝子型解析を行うことで、種の保全状況を個体レベルで正しく評価し、より有効かつ適切な生物保全策の実施が可能であることを実証した。

### (11) 気候変動に対する植物の適応力評価

気候変動の影響が大きいと予想される標高差に着目し、伊吹山と藤原岳の二つの山の8集団などから採取した合計56個体を対象に全ゲノム解析を行い、適応遺伝子を探索した。どちらの山でも共通して関与する適応遺伝子はわずかで、全体的に見ると山間で適応遺伝子が異なることが明らかとなった。このことから、それぞれの山では異なる遺伝子を利用して適応を果たしている可能性が高いことが示された。

さらに、植物標本におけるゲノムの年代間比較を通じて、時間的な環境変化の影響により過去100年間に自然選択を受けた適応遺伝子を探索した。伊吹山と藤原岳を含む6集団計199個体について全ゲノム解析を行った結果、多数のストレス応答性遺伝子が自然選択を受けて100年間で変化していることが明らかになった。また、集団間で共通して変化した遺伝子は検出されなかったため、過去100年間の環境変化に対し、それぞれの集団は異なる遺伝子で応答したと予想される。

多様な地理的環境変異に関連する遺伝子の探索では、日本全域80地点に由来する個体をゲノム解析し、ゲノム情報と環境情報を統合したゲノムワイド関連解析から適応遺伝子の探索を行った。その結果、降水量や気温などに応答する適応遺伝子を複数検出し、これらの適応遺伝子を元に野生集団の適応力評価を進めた。まず、一つの種を画一的に捉える従来の生態ニッチモデリングを行ったところ、気候変動に伴い現在よりも高緯度・高標高に移動することが示された。一方で、適応遺伝子の対立遺伝子を単位とした生態ゲノムニッチモデリングでは、祖先型と派生型の対立遺伝子間で気候変動に対する応答に差が生じることが示された。この結果は、同一種内であっても適応遺伝子の遺伝的多様性によって気候変動に対する応答が異なることを示唆している。

これらの一連の研究によって、適応遺伝子に基づく遺伝的評価手法および将来予測手法が確立された。また、適応遺伝子に着目して遺伝的多様性の把握を行うことの重要性も示され、気候変動に対する分布変化予測や絶滅リスク評価の精度向上にも大きく寄与すると考えられる。今後、これまで以上に遺伝子解析コストが低下することが予想されており、近い将来、様々な生物種において、本研究により確立した評価手法や予測手法が適用できるようになることが期待される。

## 5. 本研究により得られた主な成果

### (1) 科学的意義

- 1) 熱帯雨林と言っても地域そのおかれた環境によりその変動は様々であり、同じようには扱えないことを示した点で科学的意義がある。
- 2) アジアにおいて、生態的特性の大きく異なるシダ植物、マメ科植物、ハナバチ類の多様性ホットスポット地域が初めて詳しく比較された。その結果、これまでアジアにおいて保全上特に最重視すべき地域とは考えられてこなかったインド南部とフィリピン・ルソン島が重要な地域であることが示された。
- 3) アジア地域というような広い地域を対象とした場合、種多様性のホットスポットマップを作成することは、これまで困難であり、また、統一的な手法も無かった。本研究により、研究者が蓄積してきたハーバリウム標本のデータを利用するホットスポット解析の手順が標準化されたことにより、十分に広い範囲を持ち、かつ、様々なハビタットにある植物種群を選定すれば、客観的な手法でホットスポットマップを作成できるようになった。今後、世界各国のハーバリウムから、十分な精度をもったハーバリウム標本データが、オンラインデータベースに登録されれば、分類群を選定するだけで、目的とする範囲におけるホットスポットを推定できるよう、一連の解析を自動化することも可能になる。また、季候変動の将来予測を分布モデル推定に取り入れることにより、それぞれの種の分布域が、どのように変化するかを予測することも可能になる。また、*Dalbergia*属で行った系統多様性と種多様性のホットスポットの解析では、両者は非常に強い相関を示したことは、注目すべきであろう。もし、この傾向が一般的なものであれば、多く手間と労力のかかる系統多様性解析を行わなくとも、標本情報のみを用いた解析のみで、十分に系統情報を反映したホットスポットマップが得られることになる。生物多様性保

全のための研究にけるエフォートの適正配分を考えるためには、この傾向がマメ科一般、あるいは、植物一般について言えるものかについて、今後十分に検討する必要がある。

- 4) オランダ生物多様性センター（ライデン）およびロンドン自然史博物館所蔵のアジア産クマバチ類の標本データベースを構築し公開し、アジア熱帯植物の送粉に大きな役割をはたすクマバチ類の分布、希少性等が明らかになり、ホットスポットの推定および今後の保全の有用な資料となった。日本産ハナバチ類図鑑の出版およびアジア産ハナバチ類画像データベースの構築公開により、アジアのハナバチ類の情報基盤を整え、今後の多様性研究、生態研究および森林保全に貢献することが期待される。
- 5) 遺伝子多様性観測のための新たな分析手法を開発した。これまで、ある特定の生物種の遺伝子多様性を評価するためには、まず当該対象種に対応する遺伝マーカーを開発する作業から始める必要があり、その作業には時間と労力がかかるだけでなく、しばしば遺伝子多様性の評価が思うように進まない理由の一つとなっていた。本手法ではこれらの問題を解決し、簡便かつ低コストで、広い範囲の生物種・サンプルに対して迅速な遺伝的多様性評価が可能のため、今後の国際的な標準手法として幅広い利用が期待できる。
- 6) 従来、絶滅危惧種の保全上の状況は、個体数が少なく減少率が高いことや、生育範囲が狭く縮小していることなど、デモグラフィックの特徴によって評価されてきたが、個体数が著しく少なくなった絶滅危惧種においては、遺伝的特徴は種ごとに著しく異なり、個体レベルの遺伝解析を行うことで、保全上の状況を正しく評価でき、生物多様性保全の効率を著しく向上させることが可能であることが明らかになった。
- 7) シロイヌナズナ属野生種ハクサンハタザオを対象に、様々な時空間スケールでの複数個体の全ゲノム解析を通じて、適応遺伝子に基づく遺伝的な評価手法と気候変動に対する将来予測手法を確立した。

## (2) 環境政策への貢献

### <行政が既に活用した成果>

- 1) 環境省が平成26年度に実施した国内希少野生動植物種の候補種リストの検討に関する調査、意見交換会において、本研究の知見の一部が利用された。
- 2) 本事業の成果を反映させて、環境省レッドデータブックおよび福岡県レッドデータブックのハチ目の執筆を行い、日本および福岡県の絶滅のおそれのあるハチ類について解説した。
- 3) 絶滅危惧植物種では野生生育個体の盗掘が絶滅リスクを高めている。絶滅危惧種の全野生個体の遺伝子型を解読するという本プロジェクトのアプローチは、「絶滅の恐れのある野生動植物の種の保存に関する法律」が指定する国内希少野生動植物種の保全に活用された。具体的には群馬県に数十クローンのみが生育するカッコソウの違法売買に関してその同定を遺伝情報を元に行うことで捜査協力し、2015年12月に10名の書類送検に至った。

### <行政が活用することが見込まれる成果>

- 1) インドネシアの保護区には日本の環境省もJICAプロジェクトなどで深くかかわってきたが、保護に力を注いできたハリムンなどでは森林が残っており、放置状態であったところは森林が消滅したことを示せたことは、環境政策へも貢献となる。
- 2) 国際的にアジア地域における生物多様性保全政策を策定する、あるいはそのための経済援助等を日本政府が行う際に、優先すべき地域を判断する上で非常に重要な情報を提供できる。
- 3) 提案した汎用ワークフローによる種多様性のホットスポットマップの推定方法は、今後、様々な植物群において、ホットスポット推定や、分布域の将来予測において活用が見込まれる。
- 4) アジアの生物多様性保全のための国際貢献（知識面・財政面での援助）にあたって、優先的に資源を投入すべき地域を判断する材料となる。また、地球規模での絶滅危惧種が把握されたことにより、日本産種の保全施策（レッドリスト作成、特定希少野生動植物種の指定等）において優先すべき対象種が把握しやすくなることが期待される。
- 5) 「絶滅の恐れのある野生動植物の種の保存に関する法律」は2013年6月に改正され、2020年までに300種を国内希少野生動植物種として追加指定することが目的とされている。2015年より、本プロジェクトで開発・改良した手法により野生全個体の遺伝子型を解読することを始めた。2015年は5種の国内希少野生動物種について解析を行ったが、今後も継続する。本プロジェクトのアプローチを国内希少野生動植物種に適用することで、これらの国内希少野生動物種の適切かつ効果的な保全策の構築が期待できる。

- 6) 適応遺伝子の解析に基づく、a) 保全対象種や保全地域の選定、b) 絶滅危惧種などでの他地域からの移植時における適合度の判定、c) 遺伝的多様性の重要性の理解促進などに活用されることが見込まれる。

## 6. 研究成果の主な発表状況

### (1) 主な誌上発表

#### <査読付き論文>

- 1) A. EBIHARA, C. R. FRASER-JENKINS, B. S. PARRIS, X.-C. ZHANG, Y.-H. YANG, W.-L. CHIOU, H.-M. CHANG, S. LINDSAY, D. MIDDLETON, M. KATO, T. N. PRAPTOSUWIRYO, V. B. AMOROSO, J. F. BARCELONA, R. H. G. RANIL, C.-H. PARK, N. MURAKAMI and A. HOYA: Bull. Natn. Mus. Nat. Sci. B, 38: 93-119 (2012), Rare and threatened pteridophytes of Asia 1. An enumeration of narrowly distributed taxa.
- 2) E. THIAM, T. YONEDA: Tropics 21, 11-20. (2012), Recent degradation process of a tropical secondary forest in West Sumatra.
- 3) T. YAHARA, F. JAVADI, Y. ONODA, L. P. de QUEIROZ, D. P. FAITH, D. E. PRADO, M. AKASAKA, T. KADOYA, F. ISHIHAMA, S. DAVIES, J. W. F. SLIK, T. YI, K. MA, C. BIN, D. DARNAEDI, R. T. PENNINGTON, M. TUDA, M. SHIMADA, M. ITO, A. N. EGAN, S. BUERKI, N. RAES, T. KAJITA, M. VATANPARAST, M. MIMURA, H. TACHIDA, Y. IWASA, G. F. SMITH, J. E. VICTOR and T. NKONKI: TAXON 62, 249-266 (2013), Global legume diversity assessment: Concepts, key indicators and strategies.
- 4) O. TADAUCHI, R. MURAO, N. TAKAHASHI, H. INOUE and F. KAMITOMO: Esakia, 53, 17-19, (2013), Construction of Asian *Xylocopa* specimen database BeeAXylo.
- 5) CHOI HJ, KANEKO S, YOKOGAWA M, SONG G-P, KIN D-S, KANG S-H, SUYAMA Y, ISAGI Y: Journal of Plant Biology, 56, 251-257 (2013), Population and genetic status of a critically endangered species in Korea, *Euchresta japonica* (Leguminosae), and their implications for conservation.
- 6) K. HORI, A. TONO, K. FUJIMOTO, J. KATO, A. EBIHARA, Y. WATANO and N. MURAKAMI: J. Plant Res. 127, 661-684, (2014), Reticulate evolution in the apogamous *Dryopteris varia* complex (Dryopteridaceae, subg. *Erythrovariae*, sect. *Variae*) and its related sexual species in Japan.
- 7) T. YOSHIDA, M. TAMEKUNI, T. YAHARA, N. INOMATA and H. TACHIDA: Tree Genetics & Genomes 10, 1213-1222 (2014), Demographic history of a common pioneer tree, *Zanthoxylum ailanthoides*, reconstructed using isolation-with-migration model.
- 8) S. MORINAGA S, T. IWASAKI and Y. SUYAMA: In: S.-i. Nakano et al. (eds.) Integrative Observations and Assessments, Ecological Research Monographs. 327-337 (2014), Eco-evolutionary genomic observation for local and global environmental changes.
- 9) H. TOMIMATSU, K. NAKANO, N. YAMAMOTO and Y. SUYAMA: Oecologia, 175, 1, 163-172 (2014), Effects of genotypic diversity of *Phragmites australis* on primary productivity and water quality in an experimental wetland.
- 10) H. TOYAMA, T. KAJISA, S. TAGANE, K. MASE, P. CHHANG, V. SAMREH, V. MA, H. SOKH., R. ICHIHASHI, Y. ONODA, N. MIZOUE and T. YAHARA: Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 370(1662): 20140008. (2015), Effects of logging and recruitment on community phylogenetic structure in 32 permanent forest plots of Kampong Thom, Cambodia.
- 11) S. KUBOTA, T. IWASAKI, K. HANADA, A. J. NAGANO, A. TOYODA, A. FUJIYAMA, S. SUGANO, Y. SUZUKI, K. HIKOSAKA, M. ITO and S.-I. MORINAGA: PLOS Genetics, 11, e1005361 (2015), A genome scan for genes underlying microgeographic-scale local adaptation in a wild *Arabidopsis* species.
- 12) R. MURAO, O. TADAUCHI and H.-S. LEE: European Journal of Taxonomy, 137, 1-50 (2015), Synopsis of *Lasioglossum (Dialictus) Robertsoni*, 1902 (Hymenoptera, Apoidea, Halictidae) in Japan,
- 13) S. TAGANE, H. TOYAMA, P. CHHANG, H. NAGAMASU and T. YAHARA: Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 66(2), 95-135 (2015), Flora of Bokor National Park, Cambodia I: Thirteen new species and one change in status.
- 14) H. NAGAMASU, S. RUEANGRUEA, S. SUDDEE and S. TAGANE: Thai Forest Bulletin (Botany) 43,

- 43-45 (2015). *Prunus kaengkrachanensis* (Rosaceae), a new species from Southwestern Thailand.
- 15) A. NAIKI, S. TAGANE, P. CHHANG, H. TOYAMA, H. ZHU, V. S. DANG and T. YAHARA: Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 66(3), 153-179 (2015), Flora of Bokor National Park, Cambodia II: four new species and nine new records of *Lasianthus* (Rubiaceae) from Cambodia.
- 16) L. PARDUCCI, M. VÄLIRANTA, J. S. SALONEN, T. RONKAINEN, I. MATETOVICI, S. L. FONTANA, T. ESKOLA, P. SARALA and Y. SUYAMA: Phil. Trans. R. Soc. B, 370, 1660, 20130382 (2015), Proxy comparison in ancient peat sediments: pollen, microfossil and plant DNA.
- 17) Y. SUYAMA and Y. MATSUKI: Sci. Rep, 5, 16963 (2015), MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform.
- 18) C. SNAK, M. VATANPARAST, C. SILVA, G. P. LEWIS, M. LAVIN, T. KAJITA and L. P. QUEIROZ: Molecular Phylogenetics and Evolution, 98, 133-146. (2016), A dated phylogeny of the papilionoid legume genus *Canavalia* reveals recent diversification by a pantropical liana lineage.
- 19) S. FUJII: Acta Phytotax. et Geobot. (2016), A new variety of *Cyperus pacificus* (Ohwi) Ohwi (Cyperaceae) (in press)

#### <査読付論文に準ずる成果発表>

- 1) TOYAMA et al. 2012. A picture guide of forest trees in Cambodia I: Kampong Chhnang. 108 pp.
- 2) TOYAMA et al. 2013. A picture guide of forest trees in Cambodia II: Kampong Thom. 274 pp.
- 3) TAGANE et al. 2015. A picture guide of forest trees in Cambodia III: Kratie. 104 pp.

#### (2) 主な口頭発表 (学会等)

- 1) E. SUZUKI : 5th EAFES Special Symposium, Japan, 2012, "Vegetation Science of Tropical Forest in Indonesia."
- 2) O. TADAUCHI: 24th International Congress of Entomology, Daegu, Korea, 2012, "Asian species information databases KONCHU and AIIIC based on Asian insects"

## 7. 研究者略歴

課題代表者：館田 英典

大阪大学基礎工学部卒業、理学博士、国立遺伝学研究所助手、現在、九州大学大学院理学研究院教授

研究分担者

- 1) 矢原 徹一  
京都大学理学部卒業、理学博士、東京大学教養学部助教授、現在、九州大学大学院理学研究院教授
- 2) 藤井 伸二  
京都大学理学部卒、理学修士、大阪市立自然史博物館学芸員、現在、人間環境大学人間環境学部准教授
- 3) 永益 英敏  
京都大学理学部卒業、博士（理学）、京都大学総合人間学部助手、現在、京都大学総合博物館准教授
- 4) 鈴木 英治  
千葉大学理学部卒業、理学博士、鹿児島大学教養部講師、現在、鹿児島大学学術研究院理工学域理学系教授
- 5) 米田 健  
大阪市立大学理学部卒業、理学博士、鹿児島大学農学部教授、現在、鹿児島大学名誉教授
- 6) 村上 哲明  
東京大学理学部卒業、理学博士、京都大学大学院理学研究科助教授、現在、首都大学東京大学院理工学研究科教授

- 7) 梶田 忠  
東北大学理学部卒業、博士（理学）、千葉大学大学院理学研究科准教授、現在、琉球大学熱帯生物圏研究センター教授
- 8) 海老原 淳  
千葉大学理学部卒業、博士（学術）、現在、独立行政法人国立科学博物館植物研究部研究主幹
- 9) 多田内 修  
横浜国立大学教育学部卒業、農学博士、九州大学農学研究院教授、現在、九州大学理学研究院特任教授
- 10) 陶山佳久  
筑波大学大学院農学研究科修了、博士（農学）、筑波大学生物科学系助手、現在、東北大学大学院農学研究科准教授
- 11) 井鷲 裕司  
広島大学理学部卒業、博士（学術）、森林総合研究所主任研究官、現在、京都大学大学院農学研究科教授
- 12) 森長 真一  
富山大学理学部卒業、博士（生命科学）、東京大学大学院総合文化研究科助教、現在、日本大学生物資源科学部助教

## 2. アジアの森林における遺伝子・種多様性アセスメント

### (1) 遺伝子・種多様性の指標開発とアジアの植物への適用

九州大学大学院理学研究院

生物科学部門進化遺伝研究室

舘田 英典

生物科学部門生態科学研究

矢原 徹一

<研究協力者>

九州大学大学院理学研究院

生物科学部門生態科学研究室

田金 秀一郎

平成23～27年度累計予算額：104,687千円（うち平成27年度：20,143千円）

予算額は、間接経費を含む。

#### [要旨]

東南アジアの植物種多様性の評価に際しては、科学的根拠に基づき、より正確に地域レベルでの種多様性の実態を把握することが重要である。本研究では標本情報、森林プロット、標準化されたベルトトランセクト法を用いることで、これらの情報を統括し、科学的根拠に基づいたレッドデータブックと、ホットスポット地図を編集・作成した。さらに同定を完全に終えたカンボジアの3地域の森林プロットの植物について、森林プロット樹木図鑑を編集し発行した。またマメ科*Dalbergia*属の絶滅危惧種*Dalbergia cochinchinensis*（本紫檀）及びその近縁種*D. nigrescens*の遺伝的変異および集団の歴史を明らかにし、遺伝的多様性の保全法を提案した。

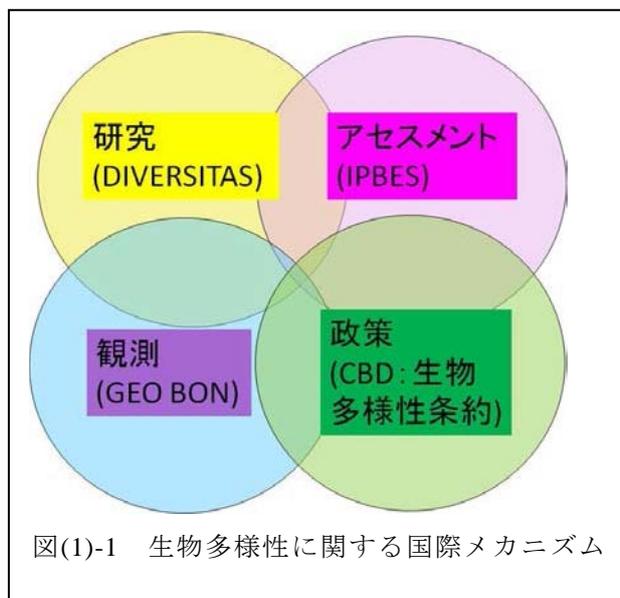
#### [キーワード]

種多様性、遺伝的多様性、東南アジア、ベルトトランセクト法、ホットスポット、レッドデータブック、集団の遺伝的分化

### 1. はじめに

「2010年までに生物多様性損失を有意に減らす」という国際的に合意された「2010年目標」に関して、「生物多様性概況第3版」（2010年5月22日発表）では「目標達成が実現できず、生物多様性損失はさらに深刻化している」という結論を下した。このため、第10回生物多様性条約締約国会議（COP10）では「2020年目標」（愛知ターゲット）を含む新たな戦略計画を策定した。COP10が我が国で開催されたこともあり、生物多様性に関する国内の関心が高まり、今日に至っている。

国際的には、生物多様性科学の推進を目的とするDIVERSITAS（生物多様性科学に関する国際プログラム）、GEO（地球観測に関する政府間会合）の下での地球規模の生物多様性観測ネットワーク（GEO BON）、CBD（生物多様性条約）に加えて、国際アセスメントをになうメカニズムとして、IPBES（生物多様性・生態系サービスに関する政府間プラットフォーム）が2011年に設立された（図(1)-1）。このメカニズムは国連ミレニアム生態系アセスメントのフォローアップを行い、気候変動におけるIPCCに相当する役割をになうことが期待されている。このような国際的な動きの下で、アジア地域における遺伝子・種多様性の観測・アセスメントに関する科学的基盤の強化を目標とする本プロジェクトへの期待が国内外で高まっていた。



## 2. 研究開発目的

### (1) レッドデータブックとホットスポット地図

我が国は、生物多様性条約議長国として、とくにアジア地域における生物多様性保全に具体的な貢献を行うことが期待されている。しかし、保全対策を具体化するうえで、アジア各国の中でどこが保全上とくに重要な地域なのかについて判断する科学的根拠が弱いことが大きな障害となっている。この判断を行うには、レッドデータブック（絶滅危惧種のリストと分布情報）、およびホットスポット（種多様性が高く、かつ絶滅リスクが高い地域）の地図を整備することが必要である。本研究の第一の目的・達成目標は、アジア地域におけるレッドデータブック、およびホットスポット地図を編集・作成することである。しかしながら、アジアには、種子植物だけでも約5万種があり、これら全種について5年間で評価を行うことは困難である。そこで、植物ではマメ科・熱帯林樹木の代表群・シダ植物に、動物ではハナバチを対象をしぼり、レッドデータブック、およびホットスポット地図を編集・作成する。

### (2) 森林プロット樹木図鑑

熱帯林の調査研究、および森林管理においてとりわけ困難な問題が、種の同定である。アジア熱帯林には多くの森林プロットが作られているが、樹木の同定については多くの場合、属レベルしか信頼できないし、属レベルの同定すら困難な例も少なくない。この問題を解決するために、アジアの代表的地域に設置されている森林プロットの樹種のDNA配列を決定し、相同性検索結果と分類学的文献・標本資料を比較参照することにより同定作業を進め、アジア森林プロット樹木図鑑を作成する。森林プロットの中にはすでに農地転換されている場合、皆伐や間伐により樹種構成が大きく変化している場合がある。これらの情報をレッドデータブック編集に活用する。

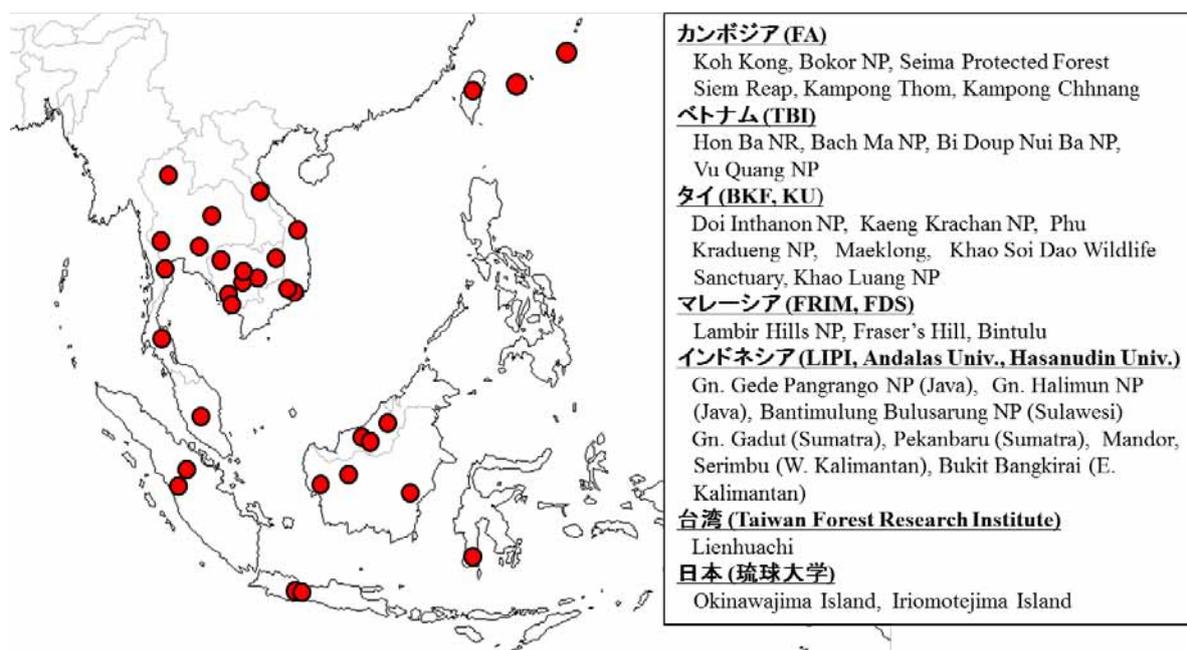
### (3) 遺伝子多様性アセスメント

GEO BON ワーキンググループ1（遺伝子・系統多様性）と連携し、1）ユビキタスジェノタイピング（絶滅危惧種の全個体遺伝子型決定）、2）ゲノム情報を利用した気候変動への適応力評価、3）遺伝子データと個体分布データの統合、という3つのアプローチによる遺伝子多様性アセスメントを実施する。遺伝子多様性アセスメントに関する国際的に標準となる手法を確立し、その手法による最初の報告を公表する。

### 3. 研究開発方法

サブテーマ2～11の研究成果を統合し、レッドデータブック・ホットスポット地図、森林プロット樹木図鑑、遺伝子多様性アセスメントという3つの成果物をまとめるために、サブテーマ2～11と共同研究を進めた。また、*Dalbergia*属に属する二樹種*D. cochinchinensis*(ホンシタン)と*D. nigrescens*をカンボジア及びタイの集団からそれぞれ複数個体をサンプルし、葉緑体及び核の複数遺伝子座で塩基配列を決定し、集団遺伝学的解析を行った。

サブテーマ2～4と協力して、図(1)-2に示すカンボジア、ベトナム、タイ、マレーシア、インドネシアにて、標準化された100×5mのベルトトランセクト法を用いて様々な森林にて植生調査を実施し、植物の種多様性を評価した。調査で確認された植物種については現場で写真を撮影し、証拠標本の作製、およびDNA解析用の葉断片の収集を行った。得られた資料を基にDNA配列・分類学的文献・ハーバリウム標本にもとづいて同定作業を進めた。また、森林プロット樹木図鑑作成のために、撮影した写真を基に図鑑のドラフトとなるパワーポイントファイルを作成した。



図(1)-2 2011-2015年にかけて東南アジアの植物多様性評価のため、現地調査を実施した地点

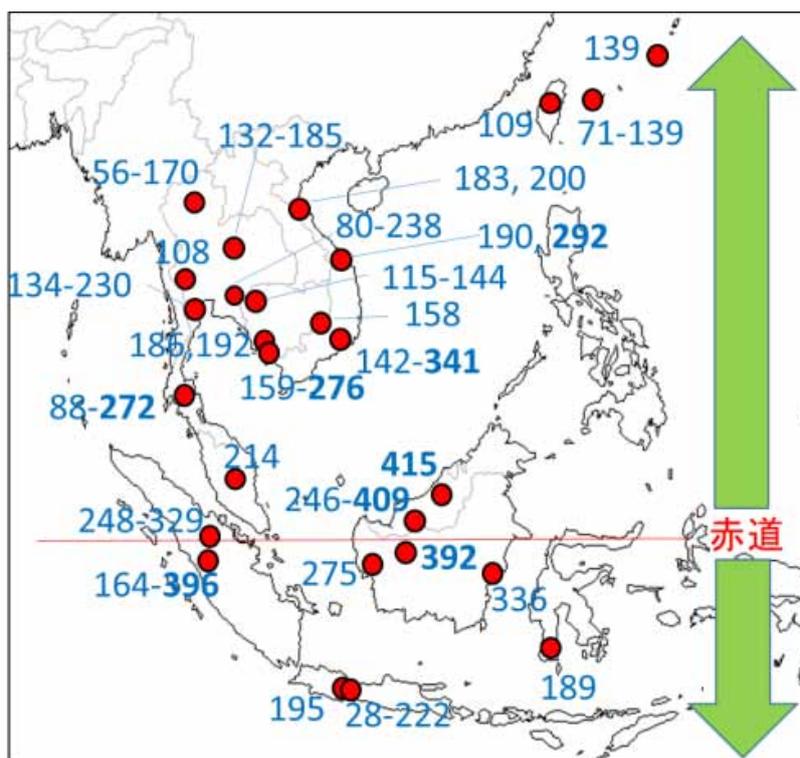
また、東南アジアの植物標本を多数保有し、標本採集地点のデータベースを構築しているオランダ国立植物標本館と共同研究を進め、マメ科、ブナ科、フタバガキ科、クスノキ科などについて主要樹木種の分布モデルを構築し、東南アジアにおける種多様性の地図を作成した。

更に、*Dalbergia*属に属する二樹種、高級家具等に利用される絶滅危惧種の*D. cochinchinensis*(ホンシタン)と、商業利用はされず広く見られる*D. nigrescens*をカンボジア及びタイの集団からそれぞれ複数個体をサンプルし、葉緑体及び核の複数遺伝子座で塩基配列を決定し、集団遺伝学的解析を行った。

#### 4. 結果及び考察

2011-2015年にかけて、東南アジア、台湾、日本の標高24-3,031mの様々なタイプの森林、合計114地点において計57回の現地調査を実施し、植物多様性のデータ・サンプルを得た。標準化された手法（トランセクト調査）を用いて広域的に、かつ標高勾配に沿ってローカルなスケールで植生調査を実施することにより、東南アジアを俯瞰する植物多様性の情報を集積することができた。

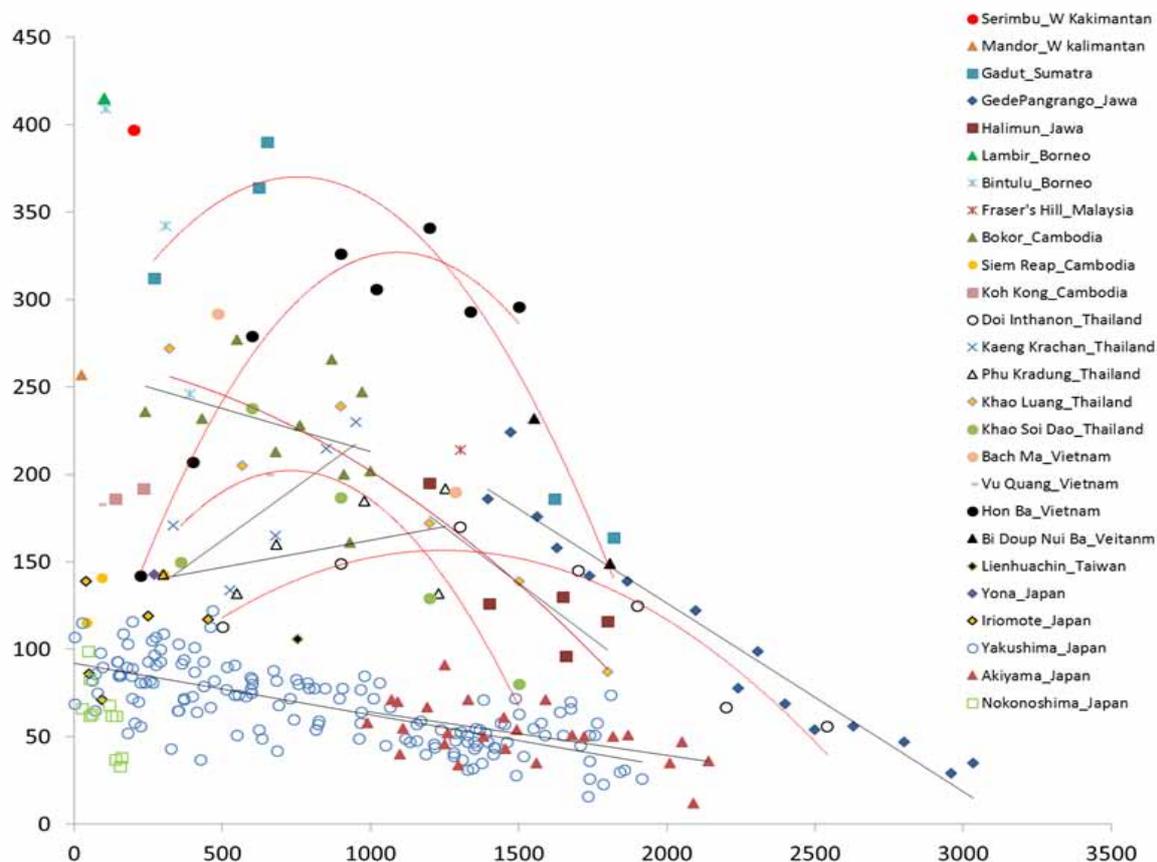
標準化された100×5mのトランセクト法を用いた調査の結果、種多様性は概観して赤道付近で高く、高緯度になるにつれて減少する傾向を示した。調査区に出現した種数はボルネオ島北西部とスマトラ島にて392-396種の高い植物多様性が確認された。インドシナ半島では、ベトナム中部～南部で292-341種、カンボジア南部で276種を記録し、これらの地域が植物種多様性のホットスポットであることが明らかとなった（図(1)-3）。



図(1)-3 500m<sup>2</sup>の調査区で確認された植物種数

各地域における標高と植物種数の関係を図(1)-4に記す。地域によって標高の変化とともに種多様性の変化のパターンが異なり、大きく①標高に沿って直線的に減少する（インドネシアのGede山など）、②中標高域で最大となる（ベトナムのHon Ba、タイのDoi Inthanonなど）、③標高によってあまり変化しない（カンボジアのBokorやタイのPhu Kradueng）、④標高に沿って増加する（タイのKaeng Krachanなど）という4つのパターンが確認された。これは地域により低標高域が長い乾

季に晒されることや、高標高による土地面積、気温の減少などに起因していると考えられる。各地域におけるローカルなスケールでの種多様性の変化を把握することで、周辺地域の保護区や重点的に調査が必要な地域の選定に役立つことが期待される。



図(1)-4 500m<sup>2</sup>の調査区で確認された植物種と各調査地の標高との関係

これまでの各地の調査を通じ、合計25,654点の証拠標本を作製し（表(1)-1）。全サンプルについて現地での生態写真の撮影、DNA解析用の葉断片の収集、標本のスキャナ画像化を行い、同定、および分類学的研究を進めた。これらの資料を基にカンボジアのボコー国立公園の植物相を精査した結果、収集した木本性植物770種のうち、約15%に相当する120種（新種24種を含む）がカンボジア新産の植物であった。ベトナムやタイなど、他の地域でも類似する傾向を示し、このことは東南アジア地域の種多様性がこれまで過小評価されてきたこと、そしてより正確に種多様性を評価するためには植物インベントリーと標本資料に基づく分類学的研究がまだまだ必要不可欠であることを意味している。今回確認された未記載種については表(1)-2に示す通り、新種記載を順次進め、東南アジアの植物種多様性の解明に貢献した。

国	地域	標本点数	推定種数
カンボジア		6968	3500
タイ		5314	4000
ベトナム		4339	4700
マレーシア	Peninsula	411	400
	Borneo	1892	1500
インドネシア	Sumatra	2240	2150
	Java	1181	900
	Sulawesi	433	400
	Kalimantan	1614	1600
台湾		111	110
日本		448	440
<b>合計</b>		<b>25654</b>	<b>19000</b>

表(1)-2 S-9の調査により発見され、H27年度までに発表された新種

カンボジア	ヤブコウジ科	<i>Ardisia smaragdinoidea</i> Yahara & Tagane
	トウダイグサ科	<i>Croton phourinii</i> H. Toyama & Tagane, <i>Euphorbia bokorensis</i> H. Toyama & Tagane
	オトギリソウ科	<i>Garcinia bokorensis</i> H. Toyama & Yahara
	ショウガ科	<i>Globba bokorensis</i> Nob. Tanaka & Tagane
	グミ科	<i>Elaeagnus elongatus</i> Tagane & V. S. Dang
	ウコギ科	<i>Heteropanax bokorensis</i> Tagane & Nagam. <i>Schefflera cambodiana</i> Yahara & Tagane
	ディチャペタルム科	<i>Dichapetalum cambodianum</i> Tagane & Nagam.
	グミ科	<i>Elaeocarpus bokorensis</i> Tagane
	ブナ科	<i>Lithocarpus eriobotryifolius</i> Yahara
	クスノキ科	<i>Cinnamomum bokorense</i> Tagane & Yahara <i>Cinnamomum dimorphandrum</i> Yahara & Tagane <i>Lindera bokorensis</i> Tagane & Yahara
	ノボタン科	<i>Memecylon bokorense</i> Tagane
	フトモモ科	<i>Syzygium elephantinum</i> Tagane
	コミカンソウ科	<i>Phyllanthus bokorensis</i> Tagane
	アカネ科	<i>Lasianthus bokorensis</i> Naiki <i>Lasianthus giganteus</i> Naiki <i>Lasianthus oblanceolatus</i> Naiki, Tagane & Yahara <i>Lasianthus stephanocalycinus</i> Naiki, Tagane & Yahara <i>Lasianthus viridiramulis</i> Tagane
ベトナム	コミカンソウ科	<i>Aporosa tetragona</i> Tagane & V. S. Dang
	シソ科	<i>Callicarpa bachmaensis</i> Soejima & Tagane
	ヤナギ科	<i>Homalium glandulosum</i> Tagane & V. H. Nguyen
	アカネ科	<i>Lasianthus yaharae</i> V. S. Dang, Tagane, H. Tran
	バンレイシ科	<i>Goniothalamus flagellistylus</i> Tagane & V. S. Dang
タイ	バラ科	<i>Prunus kaengkrachanensis</i> Nagam., Tagane & Suddee
	センダン科	<i>Toona calcicola</i> Rueangr., Tagane & Suddee

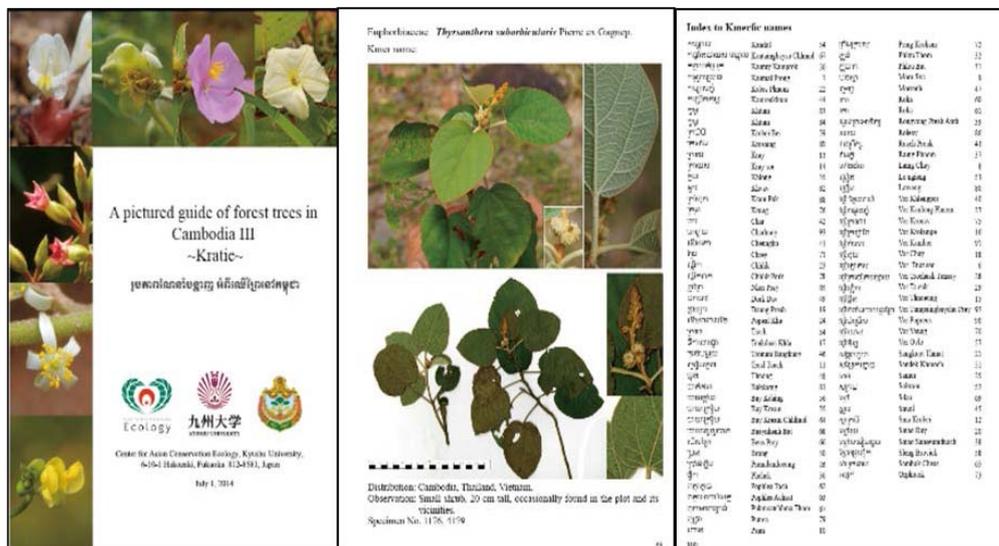
同定を完全に終えたカンボジアの森林プロットの植物について、以下の図鑑を編集し、発行、およびインターネット上にて無償で公開した（図(1)-5）。

- Toyama et al. 2012. A picture guide of forest trees in Cambodia I: Kampong Chhnang. 108 pp.  
[http://ffish.asia/pdfs/PicturedGuide\\_KgChhnang.pdf](http://ffish.asia/pdfs/PicturedGuide_KgChhnang.pdf)
- Toyama et al. 2013. A picture guide of forest trees in Cambodia II: Kampong Thom. 274 pp.

[http://ffish.asia/pdfs/PicturedGuide\\_KgThom.pdf](http://ffish.asia/pdfs/PicturedGuide_KgThom.pdf)

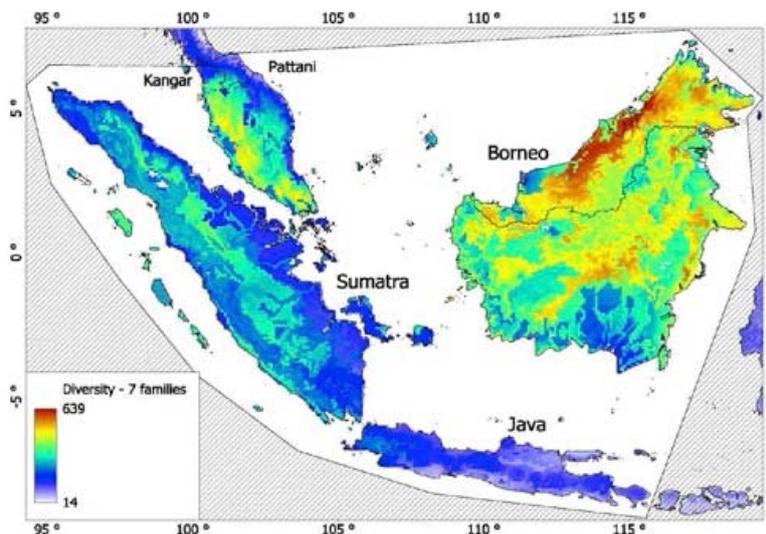
- Tagane et al. 2015. A picture guide of forest trees in Cambodia III: Kratie. 104 pp.

[http://ffish.asia/pdfs/PicturedGuide\\_Kratie.pdf](http://ffish.asia/pdfs/PicturedGuide_Kratie.pdf)



図(1-5) カンボジアの植物図鑑のサンプルページ<sup>2)</sup>

オランダ国立植物標本室・マレーシア森林研究所・シンガポール植物園の植物標本データベースにもとづき、熱帯林の主要構成種を含む木本性の7つの科（フタバガキ科、ブナ科、クスノキ科、クワ科、ニクヅク科、ムクロジ科、ツツジ科）の2,262種、および木本と草本の両方を含むマメ科の742種について分布モデルを構築した（オランダ国立植物標本室Raes博士、マレーシア森林研究所Guan博士らとの共同研究）。このモデルを重ねあわせ、東南アジア湿潤熱帯（スンダランドと呼ばれる地域）における種多様性地図を作成した（図(1-6)）。その結果、ボルネオ島の種多様性がスマトラ島・ジャワ島やマレー半島に比べて顕著に高く、またボルネオ島内では北部の低地熱帯林における種多様性がもっとも高いことが明らかになった。



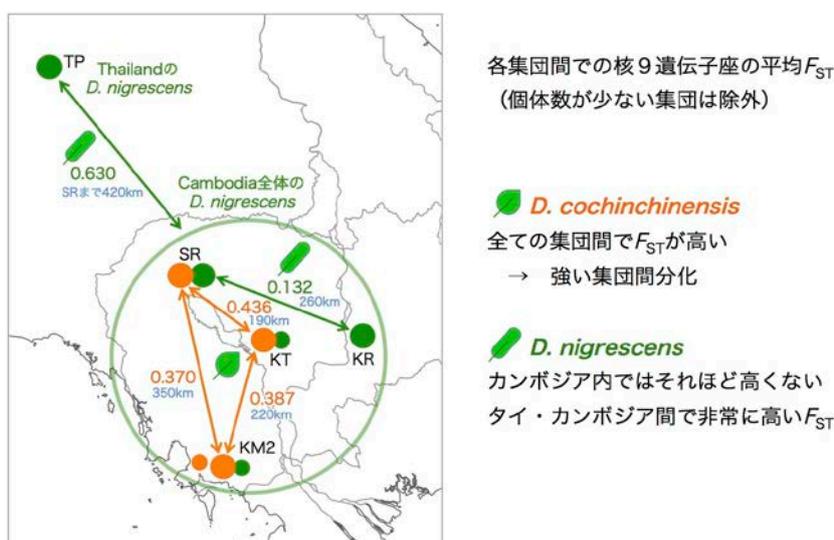
図(1-6) 東南アジア湿潤熱帯における樹木の種多様性の地図

*Dalbergia cochinchinensis*ではカンボジア4集団 (SR, KT, KM1, KM2) から合計48個体16遺伝子座、*D. nigrescens*はカンボジアで3集団 (SR, KT, KM2)、タイで1集団 (KT) から合計34個体15遺伝子座での塩基配列を得た(集団の位置関係については図(1)-7参照)。葉緑体6遺伝子座(約4,000塩基)の配列に基づいてハプロタイプネットワークを構築したところ、*D. cochinchinensis*では各集団がほぼ単型的になっておりそれぞれ異なるハプロタイプを持つことがわかった。一方*D. nigrescens*ではタイ集団 (KT) がカンボジア集団と非常に異なるハプロタイプを持つが、カンボジア集団間ではハプロタイプの共有が見られた。これらのことから集団間の種子の移動は*D. cochinchinensis*では殆どないが、*D. nigrescens*ではある程度あることが推測された。次に核の遺伝子座の集団遺伝学的解析を行った。各集団での塩基多様度を全サイト ( $\pi_{total}$ ) 及びアミノ酸置換を引き起こさないサイレントサイト ( $\pi_{silent}$ ) で推定した結果を表(1)-3に示す。全集団、あるいは各集団ごとに見ても、*D. nigrescens*の方が*D. cochinchinensis*より塩基多様度が高いことがわかる。しかし*D. cochinchinensis*でも他樹種と較べて塩基多様度は中程度の値を取っており、伐採による個体数の減少が著しいにもかかわらず、現在の集団は遺伝的変異を保っていることがわかった。

表(1)-3 *D. cochinchinensis*及び*D. nigrescens*の核遺伝子座の塩基多様度 ( $n$ : サンプル遺伝子数)

Population	<i>D. cochinchinensis</i>				<i>D. nigrescens</i>			
	$n$	number of haplotypes	$\pi_{total}$	$\pi_{silent}$	$n$	number of haplotypes	$\pi_{total}$	$\pi_{silent}$
whole population	96	8.1	0.0045	0.0057	68	7.8	0.0053	0.0070
SR (Cambodia)	26	4.6	0.0043	0.0050	22	4.8	0.0063	0.0084
KT (Cambodia)	30	3.0	0.0022	0.0027	8	3.1	0.0031	0.0039
KM 1 (Cambodia)	14	3.2	0.0033	0.0042	0	-	-	-
KM 2 (Cambodia)	26	2.6	0.0025	0.0031	8	2.8	0.0039	0.0049
KR (Thai)	0	-	-	-	30	4.8	0.0044	0.0057

次に集団間分化の程度を、核遺伝子座での固定指数 ( $F_{ST}$ ) を使って推定した。その結果を図(1)-7に示す。



図(1)-7 カンボジア及びタイでの集団の遺伝的分化 ( $F_{ST}$ )

塩基配列を決定した個体数が少なかった集団での $F_{ST}$ の推定値は信頼性が低いため、二種で同じ集団間での値を比較することは出来なかったが、各集団で実個体数が少ない*D. cochinchinensis*の方が*D. nigrescens*より分化の程度が高い、つまり集団内での遺伝的変異に加えて集団間での遺伝的変異も高いレベルで保たれている事がわかった。また葉緑体遺伝子で強い分化が見られた*D. nigrescens*のタイ集団とカンボジア集団間では、核遺伝子でも強い分化が見られた。今回*D. cochinchinensis*のタイ集団のサンプルを調べることは出来なかったが、おそらくこの種でもタイ集団との間にはカンボジア集団間より更に大きい遺伝的変異が保たれていると考えられる。

遺伝的分化が高くなる原因を調べるために、それぞれの種で集団の分岐がいつ起こり、その後集団間での遺伝子流動がどの程度起こったか等過去の集団史を、カンボジア集団の核遺伝子座のデータを用いてベイズ法を使ったプログラムIMa2<sup>1)</sup>を使って推定した。その結果、両種とも祖先集団のサイズが現在の集団より大きく、*D. cochinchinensis*では分岐は7～14万年前でその後に集団間の遺伝子流動は殆どなく、*D. nigrescens*では分岐は約27万年前で分岐後もある程度の集団間での遺伝子流動が有ることがわかった。

まとめると個体数が商用伐採等で急減している*D. cochinchinensis*でも集団内および集団間に遺伝的変異を保持しており、これは最終氷期初期あるいは前の温暖期に集団が分断化されその後遺伝子流動が集団間で行っていないことによることがわかった。各集団、各遺伝子座ごとに中立性の検定も行ったが、両種とも幾つかの集団で適応分化した遺伝子が見つかったので、各地域集団は地域適応的変異も保持していると考えられる。このため遺伝的変異を保持しながら保全を行っていくためには、出来るだけ多くの地域集団を維持する事が必要であるが、現在種子を作ることのできる大径木は殆ど見られずこれからの地域集団維持が懸念される。*D. cochinchinensis*のような地理的構造の強い絶滅危惧種では、次世代を残しうる集団を各地域で保全していくことが重要である。

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

広域かつ植物種の多様性が著しく高いために多様性研究が十分でない東南アジア地域において、統一された手法を用いて植物種数の多様性を明らかにした。本プロジェクトで確立した100m×5mを単位とした植生調査法は、時間や予算等の限られた海外調査において、短期間で地域の植物相を把握できるという点で非常に優れており、今後さらに広範な地域で用いることで、相対的な評価が容易に可能である。また、DNA barcodingを用いることで同定の時間を短縮させ、全標本について写真撮影を行い、図鑑を作成していくというアプローチは、教育普及や国立公園管理などに貢献できる成果をすみやかに達成する方法として優れている。実際に、これらの手法を駆使し、カンボジア、ベトナム、タイにおいて新種を30種以上発見し、100種以上の新分布記録を見出しており、これらの手法は高い種多様性を示す熱帯における標準的な植物種多様性調査方法として、今後、広く用いられると期待される。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない

### <行政が活用することが見込まれる成果>

- 1) 国際的にアジア地域における生物多様性保全政策を策定する、あるいはそのための経済援助等を日本政府が行う際に、作成されたホットスポットマップや種数の多い地域の情報は優先すべき地域を判断する上で非常に重要な情報を提供できる。
- 2) 遺伝的多様性を保持しながら種を保全していくために、集団間の遺伝的分化の程度に関する情報に基づいて、維持すべき地域集団を判断する必要性を明らかにした。

## 6. 国際共同研究等の状況

東南アジア各地域での植生調査を実施するため、以下の国・研究機関に所属する研究者と緊密に連携し（MOU締結、調査許可・サンプル輸出許可の取得等）、現地調査の実施、および植物種多様性に関する共同研究を行った。

表(1)-4 国際共同研究のカウンターパート氏名と所属・国名

カウンターパート氏名	所属・国名
Phourin Chhang	The Institute of Forest and Wildlife Research and Development, Forest Administration, Cambodia
Sokh Heng	The Institute of Forest and Wildlife Research and Development, Forest Administration, Cambodia
Somran Suddee	Forest Herbarium, Department of National Park, Wildlife and Plant Conservation, Thailand
Sukid Rueangruea	Forest Herbarium, Department of National Park, Wildlife and Plant Conservation, Thailand
Dokrak Marod	Kasesart University, Thailand
Son Van Dang	Institution of Tropical Biology, Vietnam
Ngoc Va Ngyuen	Dalat University, Vietnam
Hop Tran	University of Ho Chi Minh, Vietnam
Dokrak Marod	Kasesart University, Thailand
Dedy Darnaedi	Research Center for Biology-LIPI, Indonesia
Marlina Ardiyani	Research Center for Biology-LIPI, Indonesia
Arief Hidayat	Research Center for Biology-LIPI, Indonesia
Anes Syamsuardi	Andalas University, Indonesia
Ngakan Putu Oka	Hasanudin University, Undonesia
Saw Leng Guan	Forest Research Institute Malaysia
Lim Chung Lu	Forest Research Institute Malaysia
Chou Cin Lin	Taiwan Forest Research Institute, Taiwan

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文（査読あり）>

- 1) H. TACHIDA: Genes Genet. Syst., 87, 125–135 (2012), Linkage disequilibrium in a population undergoing periodic fragmentation and admixture.
- 2) T. YAHARA, F. JAVADI, Y. ONODA, L. P. de QUEIROZ, D. P. FAITH, D. E. PRADO, M.

- AKASAKA, T. KADOYA, F. ISHIHAMA, S. DAVIES, J. W. F. SLIK, T. YI, K. MA, C. BIN, D. DARNAEDI, R. T. PENNINGTON, M. TUDA, M. SHIMADA, M. ITO, A N. EGAN, S. BUERKI, N. RAES, T KAJITA, M VATANPARAST, M. MIMURA, H. TACHIDA, Y. IWASA, G. F. SMITH, J. E. VICTOR and T. NKONKI: *TAXON* 62: 249-266 (2013), Global legume diversity assessment: Concepts, key indicators and strategies.
- 3) T. MATSUMOTO, Y. TERAII, N. OKADA and H. TACHIDA: *Evolutionary Ecology* 28, 591-609 (2014), Sensory drive speciation and patterns of variation at selectively neutral genes.
  - 4) T. YOSHIDA, M. TAMEKUNI, T. YAHARA, N. INOMATA and H. TACHIDA: *Tree Genetics & Genomes* 10, 1213-1222 (2014), Demographic history of a common pioneer tree, *Zanthoxylum ailanthoides*, reconstructed using isolation-with-migration model.
  - 5) H. TOYAMA, T. KAJISA, S. TAGANE, K. MASE, P. CHHANG, V. SAMREH, V MA, H. SOKH., R. ICHIHASHI, Y. ONODA, N. MIZOUE and T. YAHARA: *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1662): 20140008. (2015), Effects of logging and recruitment on community phylogenetic structure in 32 permanent forest plots of Kampong Thom, Cambodia.
  - 6) S. TAGANE, V.S. DANG, T. YAHARA, H. TOYAMA and H. TRAN: *PhytoKeys*, 50, 1-8 (2015), *Goniothalamus flagellistylus* Tagane & V. S. Dang (Annonaceae), a new species from Mt. Hon Ba, Vietnam.
  - 7) S. TAGANE, H. TOYAMA, P. CHHANG, H. NAGAMASU and T. YAHARA: *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 66(2), 95-135 (2015), Flora of Bokor National Park, Cambodia I: Thirteen new species and one change in status.
  - 8) T. MATSUMOTO, A. YASUMOTO, K. NITTA, S. K HIROTA, T. YAHARA, H. TACHIDA: *S. Journal of Theoretical Biology*, 370, 61-71 (2015), Difference in flowering time can initiate speciation of nocturnally flowering species.
  - 9) A. NAIKI, S. TAGANE, P. CHHANG, H. TOYAMA, H. ZHU, V. S. DANG and T. YAHARA: *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 66(3), 153-179 (2015), Flora of Bokor National Park, Cambodia II: four new species and nine new records of *Lasianthus* (Rubiaceae) from Cambodia.
  - 10) V. S. DANG, S. TAGANE, H. TOYAMA and H. TRAN: *Annales Botanici Fennici* 52, 352-354 (2015), *Lasianthus yaharae* (Rubiaceae), a new species from Hon Ba Nature Reserve, Southern Vietnam.
  - 11) S. TAGANE, T. YUKAWA, P. CHHANG, Y. OGURA-TSUJITA, H. TOYAMA and T. YAHARAT. 2015. *Cambodian Journal of Natural History*, 2015, 128-130 (2015), A new record of *Aphyllorchis pallida* (Orchidaceae) from Cambodia.
  - 12) V. S. DANG, S. TAGANE, H. TOYAMA, T. YAHARA, A. NAIKI, H. Q. NGUYEN and H. TRAN: *Journal of biotechnology*, 13(4A), 1393-1396 (2015). A new record of *Burmannia championii* Thwaites (Burmanniaceae) from Southern Vietnam.
  - 13) S. TAGANE, L. S. WIJEDASA, P. CHHANG, H. TOYAMA and T. YAHARA: *Cambodian Journal of Natural History*, 2015, 139-143 (2015), Two new records of *Memecylon corticosum* var. *kratense* and *M. paniculatum* (Melastomataceae) from Cambodia.

- 14) N. TANAKA, S. TAGANE, P. CHHANG and T. YAHARA: Bulletin of the National Museum of Nature and Science Series B (Botany) 41(4), 155-159 (2015), A purple flowered new *Globba* (Zingiberaceae), *G. bokorensis*, from southern Cambodia.
- 15) S. TAGANE, V. S. DANG, S. RUEANGRUEA, S. SUDDEE, P. CHHANG, H. TOYAMA and T. YAHARA: Thai Forest Bulletin (Botany) 43, 30-35 (2015), *Elaeagnus elongatus* Tagane & V. S. Dang (Elaeagnaceae), a new species from Cambodia and Thailand.
- 16) H. NAGAMASU, S. RUEANGRUEA, S. SUDDEE and S. TAGANE: Thai Forest Bulletin (Botany) 43, 43-45 (2015). *Prunus kaengkrachanensis* (Rosaceae), a new species from Southwestern Thailand.
- 17) S. RUEANGRUEA, S. TAGANE, S. SUDDEE, N. TETSNA, M. POOPATH, H. NAGAMASU and A. NAIKI: Thai Forest Bulletin (Botany) 43, 79-86 (2015), *Toona calcicola*, a new species and *Reinwardtiidendron humile*, a new record to Thailand.
- 18) S. TAGANE, V. S. DANG, H. TOYAMA, A. NAIKI, H. NAGAMASU, T. YAHARA and H. TRAN: PhytoKeys 57, 51-60 (2015), *Aporosa tetragona* Tagane & V. S. Dang (Phyllanthaceae), a new species from Mt. Hon Ba, Vietnam.
- 19) S. TAGANE, V. H. Nguyen, N. V. Ngoc, H. T. Son, H. TOYAMA, C.-J. YANG and T. YAHARA: PhytoKeys 58, 97-104 (2016), *Homalium glandulosum* (Salicaceae), a new species from Vu Quang National Park, North Central Vietnam.
- 20) H. TOYAMA, S. TAGANE, P. CHHANG, H. NAGAMASU and T. YAHARA: Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 67(1), 47-53 (2016), Flora of Bokor National Park, Cambodia III: A new species, *Garcinia bokorensis* (Clusiaceae).
- 21) SOEJIMA, S. TAGANE, N. V. NGUYEN, C. N. DUY, N. T. T. HUONG and T. YAHARA: PhytoKeys 62, 33-39 (2016), *Callicarpa bachmaensis* Soejima & Tagane (Lamiaceae), a new species from Bach Ma National Park in Thua Thien Hue Province, Central Vietnam.
- 22) H. TOYAMA, S. TAGANE, P. CHHANG, H. NAGAMASU and T. YAHARA: Acta Phytotax. Geobot. (in press), Flora of Bokor National Park, Cambodia IV: A new section and species of *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*.
- 23) S. TAGANE, A. NAIKI, V. S. DANG, H. TRAN and T. YAHARA: Acta Phytotax. Geobot., (in press), A new record of *Gaertnera junghuhniana* Miq. (Rubiaceae) from southern Vietnam.
- 24) T. YAHARA, M. ZHANG, S. TAGANE, H. TOYAMA, T. KAJISA, P. CHHANG: Ecological Research (in press), Constantly tree species richness along an altitudinal gradient of Mt. Bokor, a table shaped mountain in southwestern Cambodia.

<査読付論文に準ずる成果発表>

- 1) H. TOYAMA, S. TAGANE, T. KAJISA, P. CHHNANG, R. ICHIHASHI and T. YAHARA: A pictured guide of forest trees in Cambodia I: Kampong Chhnang. Published by Center for Asian Conservation Ecology, Kyushu University, 108 pp (2012).
- 2) H. TOYAMA, S. TAGANE, T. KAJISA, P. CHHNANG, R. ICHIHASHI and T. YAHARA: A pictured guide of forest trees in Cambodia II Kampong Thom. Published by Center for Asian Conservation Ecology, Kyushu University, 273 pages. (2013).

- 3) Tagane S., Fuse K., Toyama H., Chhang P. and Yahara T. A picture guide of forest trees in Cambodia III: Kratie. Published by Center for Asian Conservation Ecology, Kyushu University, 104 pp (2015.).
- 4) M. AKASAKA, A. TAKENAKA., F. ISHIHAMA, T. KADOYA, M. OGAWA, T. OSAWA, T. YAMAKITA., S. TAGANE, R. ISHII, S. NAGAI, H. TAKI, T. AKASAKA, H. OGUMA, T. SUZUKI, H. YAMANO. In: S. NAKANO, T. YAHARA, T. NAKASHIZUKA (eds.) The biodiversity observation network in the Asia-Pacific region: Integrative observations and assessments of Asian biodiversity. pp. 209-229. Springer. (2014), Development of a national land-use/cover dataset to estimate biodiversity and ecosystem services.

## (2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 田金秀一郎、P. Chhang、矢原徹一：第23回日本熱帯生態学会 (2013)  
「カンボジアのボコー国立公園における植物多様性インベントリー」
- 2) S. TAGANE, A. J. ASHARI, H. TOYAMA, H. NAGAMASU, A. NAIKI, R. ICHIHASHI, I. DJAMALUDDIN, A. HIDAYAT, A. SADILI, M. ARDIYANI, D. DARNAEDI and T. YAHARA : 9th Flora Malesiana Symposium, Bogor, Indonesia, 2013.  
“Botanical survey in the Taman National Gunung Gede-Pangrango, W Java, Indonesia”
- 3) T. YAHARA, S. TAGANE, H. TOYAMA, K. FUSE, H. NAGAMASU, E. SUZUKI, S. FUJII, A. NAIKI, P. CHHANG, D. DARNAEDI, M. ARDIYANI, A. SYAMSUARDI, S. L. GUAN, L.C. LU, S. SUDDEE, S. RUEANGRUEA, D. MAROD and S. V. DANG : 9th Flora Malesiana Symposium, Bogor, Indonesia, 2013.  
“Plant diversity assessments using a standardized transect method in Cambodia, Indonesia, Malaysia, Thailand and Vietnam”
- 4) 森塚絵津子、田金秀一郎、遠山弘法、矢原徹一、館田英典：日本遺伝学会第85回大会。慶応大学 (2013)  
「ホンシタン (*Dalbergia cochinchinensis*) のカンボジア集団における集団遺伝学的解析」
- 5) S. TAGANE : AP-Bon satellite workshop, October, Inchon, Korea, 2014.  
“Plant diversity observations in Southeast Asia”
- 6) 田金秀一郎、遠山弘法、矢原徹一：日本植物分類学会第14回大会。福島大学 (2015)  
「2011-2015年の東南アジアの植物インベントリーで得られた標本について」
- 7) S. TAGANE and T. YAHARA: Botanical research in Tropical Asia. National University of Laos, Vientiane, 2015.  
“Plant diversity inventory in Southeast Asia based on a standardized transect method”
- 8) 田金秀一郎・矢原徹一：日本植物分類学会第15回大会、富山大学 (2016)  
「トランセクトによる東南アジアの植物多様性インベントリー」
- 9) 満行知花・田金秀一郎・遠山弘法・間瀬慶子・矢原徹一：第63回日本生態学会、仙台市国際センター (2016)  
「東南アジア熱帯林の多様性指標としての新種比率 ～クスノキ科シロダモ属の事例～

### (3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

### (4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 一般公開シンポジウム：「生物多様性観測・評価・予測研究の最前線2 ～愛知目標達成に向けての第一歩～」(主催：環境省 環境研究総合推進費 新規戦略型課題S-9「アジア規模での生物多様性観測・評価・予測に関する総合的研究」、2013年1月6日、東京大学農学部、聴講者約100名)にて「アジアの熱帯林と植物の多様性」という演題で講演(鈴木英治・田金秀一郎)
- 2) 九州大学・高校教員リカレント教育：(主催：九州大学理学研究院、2013年8月19日、九州大学、聴講者約50名)「植物の遺伝子・種多様性」という演題で講演(舘田英典)
- 3) 一般公開シンポジウム：第15回日本分類学会連合 公開シンポジウム「東南アジアにおける生物多様性研究最前線 ～現在、そして未来～」(主催：日本分類学会連合)2016年1月9日、国立科学博物館、東京、聴講者約100名)にて「東南アジアにおけるトランセクト法を用いた植物多様性インベントリー」という演題で講演(田金秀一郎)

### (5) マスコミ等への公表・報道等

2016年3月に実施したスマトラでの調査の様子は、下記のインドネシアのニュースサイトでリリースされた。

- 1) <http://www.jakartashimbun.com/free/detail/29295.html>
- 2) <http://www.antarafoto.com/peristiwa/v1458123013/jepang-teliti-hutan-riau>
- 3) <http://www.antarariau.com/berita/70312/ilmuwan-jepang-teliti-kawasan-konservasi-appsinar-mas-di-temukan-spesies-baru>
- 4) <http://m.jpnn.com/read/2016/03/16/363865/Ilmuwan-Jepang-Temukan-20-Spesies-Tanaman-Baru-di-Siak->
- 5) <http://www.tribunnews.com/nasional/2016/03/16/ilmuwan-jepang-lakukan-penelitian-di-kawasan-konservasi-app-sinar-mas-di-siak>
- 6) <http://m.republika.co.id/berita/nasional/daerah/16/03/16/o44vhs334-peneliti-jepang-teliti-kawasan-konservasi-di-siak>
- 7) <http://m.suarakarya.id/2016/03/17/ilmuwan-kyushu-teliti-kawasan-konservasi.html>
- 8) <http://mediaindonesia.com/news/read/34668/ilmuwan-jepang-teliti-kawasan-konservasi-di-siak/2016-03-19>
- 9) [http://m.okezone.com/read/2016/03/17/65/1338195/ilmuwan-jepang-teliti-kekayaan-hutan-tropis-indonesia?utm\\_source=wp\\_bt](http://m.okezone.com/read/2016/03/17/65/1338195/ilmuwan-jepang-teliti-kekayaan-hutan-tropis-indonesia?utm_source=wp_bt)
- 10) <http://sp.beritasatu.com/nasional/peneliti-jepang-meneliti-di-kawasan-konservasi-app-sinar-mas/111280>
- 11) <http://m.detik.com/news/berita/3166920/ilmuwan-jepang-teliti-hutan-di-riau-ini-temuan-mereka-soal-keragaman-flora>
- 12) <http://m.detik.com/news/berita/3167032/belajar-dari-ilmuwan-jepang-yang-tak-buang-sampah-saat-t>

eliti-hutan-riau

#### (6) その他

S. TAGANE, H. TOYAMA, P. CHHANG, H. NAGAMASU and T. YAHARA: *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 66(2): 95-135 (2015), *Flora of Bokor National Park, Cambodia I: Thirteen new species and one change in status.* の論文が、「カンボジアのボコー国立公園における3年間のフロラ調査の成果の一部であるが、その間採集した約3100点の標本に基づき、DNA バーコーディングの手法も併用して、13の新種を見出し、記載している。カンボジアのフロラの解明に大きく貢献しており、高く評価できる。」という選考理由により、2016年度第10回日本植物分類学会論文賞を受賞。

#### 8. 引用文献

- 1) J. HEY: *Mol. Biol. Evol.* 27(4), 921-933, (2010), The divergence of chimpanzee species and subspecies as revealed in multipopulation Isolation-with-Migration analyses.
- 2) S. TAGANE, K. FUSE, H. TOYAMA, P. CHHANG and T. YAHARA: *A picture guide of forest trees in Cambodia III: Kratie.* Published by Center for Asian Conservation Ecology, Kyushu University, 104 pp (2015.).

## (2) アジアの森林プロットデータを統合した植物分布解析と絶滅リスク評価

人間環境大学

人間環境学部

藤井 伸二

平成23～27年度累計予算額：3,729千円（うち平成27年度：681千円）

予算額は、間接経費を含む。

### [要旨]

東南アジア地域を対象に、森林の種多様性と各分類群の減少リスクの評価を行った。ブナ科の標本調査の結果、その標本量から約8割の分類群が希少種候補となった。しかし、野外プロットの調査結果との比較から、十分な標本が収集されていない地域では、集積標本量に大きな偏りがあり、情報量の少ない地域や分類群についてはプロット調査データによって補完・補正を行うことが不可欠である。既存のプロットデータを再解析した結果、山地原生林のフタバガキ科樹種では標高とは無関係に常に高い選択的伐採圧を被っていた。一方、フタバガキ科が伐採枯渇したと考えられる丘陵二次林～低山地林では、沈香に利用されるジンチョウゲ科樹種が非常に高い選択的伐採を受けていた。また、ブナ科樹種の大径木個体がやや高い選択的伐採を受けており、二次林ではすでに資源枯渇したと考えられるフタバガキ科樹種の代替え材として伐採圧が高まっていることが推測された。ホットスポットと絶滅リスクの評価においては、1) 標高差に応じた種多様性を加味すること、2) 分類群別の伐採圧の違いを考慮すること、とくに有用性の高い樹種についてはその選択性の高さが無視できないこと、3) 特定有用樹種の資源枯渇による代替え利用によって別の分類群の伐採圧が高まる場合のあること、などを考慮することが重要と考えられた。

### [キーワード]

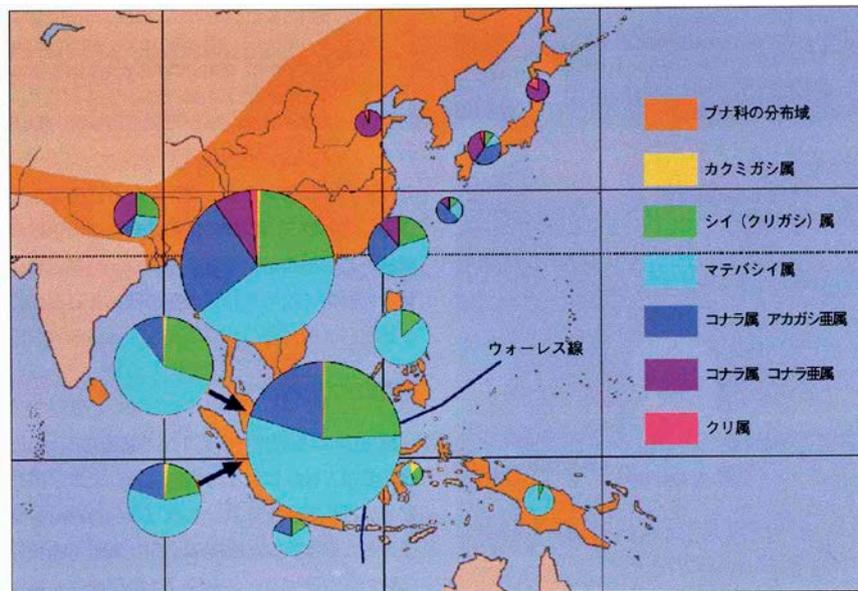
減少リスク、標高、分類群、選択的伐採、ブナ科、フタバガキ科

### 1. はじめに

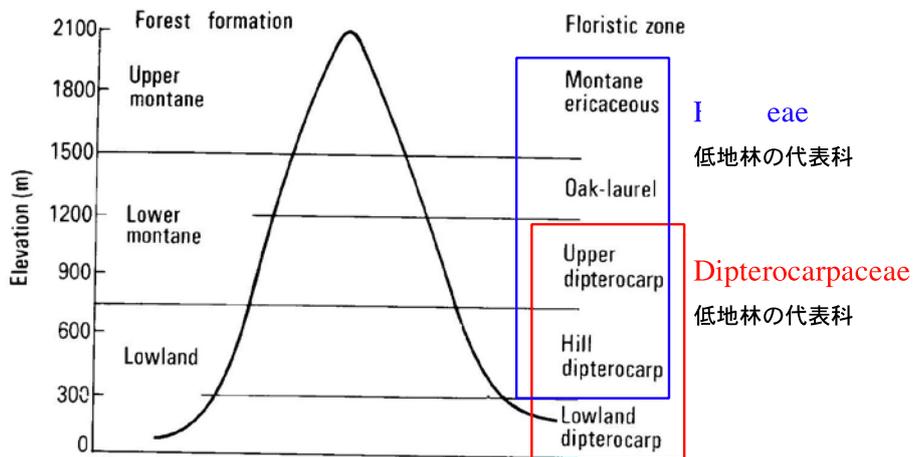
東南アジアの湿潤熱帯地域は高い生物多様性を有しており、保全の重要度がとくに高い地域である。しかし、あまりにも膨大な生物種が生息することや高温多湿という調査上での悪条件を有するため、その全貌は明らかではない。生物多様性の保全を行うにあたっては、費用対効果の面から、対象とすべき地域と分類群について科学的な根拠に基づいた優先順位を与えることが不可欠である。ホットスポットマップとレッドリストと呼ばれるものがその指針である。

東南アジア地域の森林ではブナ科とフタバガキ科が優占するだけでなく、その種多様性も高い（図(2)-1）。低標高域でフタバガキ科が、高標高域でブナ科が、それぞれ優占した植生となる（図(2)-2）。樹木種の多様性は標高に応じて変化することが知られており（図(2)-3）、低標高域でフタバガキ科が、中標高域でブナ科の種多様性が高い（図(2)-4、5）。また、フタバガキ科は有用材としての伐採圧が非常に強く（表(2)-1）、減少リスクが高い分類群の一つと想定される。一方、ブナ科はその材が堅いことから、材利用は敬遠されるのが普通である。これら2科については、定量的な伐採情報に乏しいのが現状である。

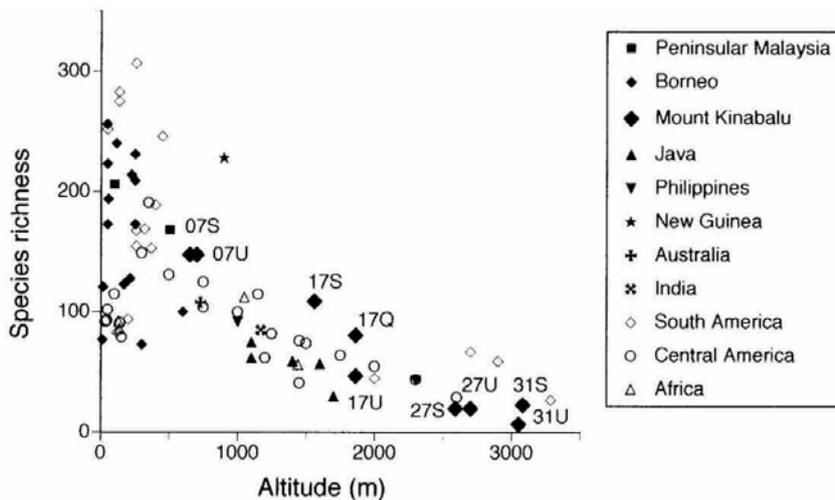
東南アジアの森林植生の種多様性とその減少リスクを把握し、ホットスポットマップとレッドリストの作成に寄与することは、熱帯地域の生物多様性解明という研究上の意義だけでなく、生物多様性保全における指針という点で重要な国際貢献となることが期待される。



図(2)-1 東南アジア地域におけるブナ科植物の種多様性の分布<sup>3)</sup>  
中国南部からボルネオにかけての範囲に高い種多様性が認められる。

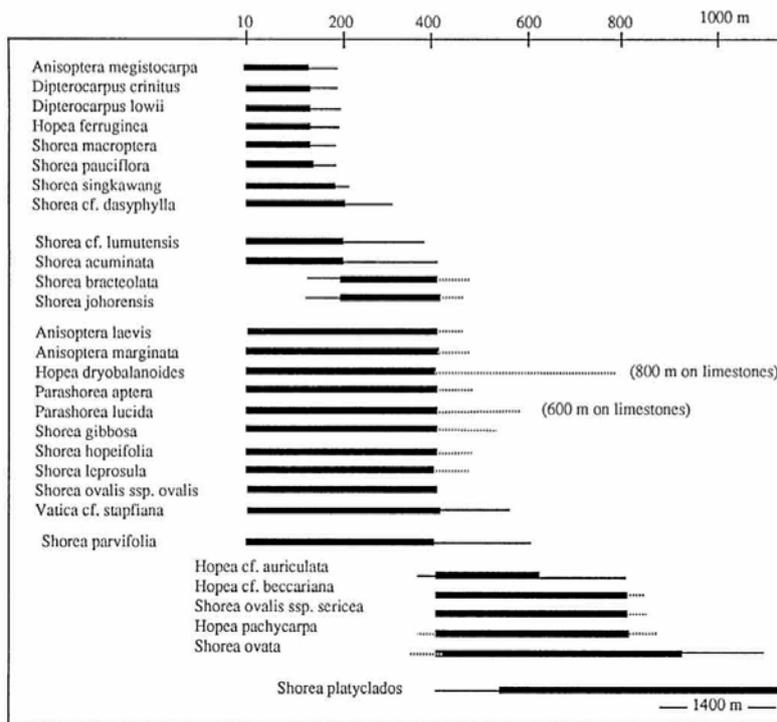


図(2)-2 マレー半島における標高と植生帯<sup>6)</sup>  
低標高域はフタバガキ科 (Dipterocarpaceae)、高標高域はブナ科 (Fagaceae) が優占する。



図(2)-3 湿潤熱帯林の標高による樹木種の多様性の変化<sup>1)</sup>  
 高標高になるにつれ、10cm以上の樹種の種多様性が低下する。

Table 6. Altitudinal zonation of the main dipterocarp species occurring in Central Sumatra (after Laumonier, 1990).



図(2)-4 中央スマトラにおける代表的フタバガキ科樹種の標高分布<sup>4)</sup>  
 低地（400m以下）での種多様性が高い。

altitude (m)	0-400	400-700	700-1100	1100-1400	1400-1800	1800-2500	2500-
<i>Castanopsis costata</i>	■	■					
<i>C. inermis</i>	■	■					
<i>C. megacarpa</i>		■					
<i>C. rhamnifolia</i>			□	■			
<i>C. tungurrut</i>		■			■	■	
<i>C. argentea</i>		■	■			■	
<i>C. cf. fulva</i>			□	□			
<i>C. javanica</i>		■	■	■	■		
<i>Quercus gemelliflora</i>	■	■	■				
<i>Q. odocarpa</i>	■	■	■				
<i>Q. argentata</i>		■			■	■	
<i>Q. gaharuensis</i>		■					
<i>Q. cf. subsericea</i>		■					
<i>Q. subsericea</i>			□	□	□		
<i>Q. elmeri</i>			■	■	■		
<i>Q. lineata</i>						□	
<i>Lithocarpus gracilis</i>	■	■	■				
<i>L. conocarpa</i>	■	■	■				
<i>L. encleisacarpa</i>	■	■	■				
<i>L. javensis</i>	■	■	■				
<i>L. mejeri</i>	■	■	■				
<i>L. urceolaris</i>	■	■	■				
<i>L. hystrix</i>	■	■	■				
<i>L. lucida</i>	■	■	■				
<i>L. bennettii</i>	■	■	■				
<i>L. daphnoidea</i>	■	■	■				
<i>L. reinwardtii</i>	■	■	■				
<i>L. elegans</i>	■	■	■				
<i>L. cantleyana</i>	■	■	■				
<i>L. crassinervia</i>	■	■	■				
<i>L. cyclophora</i>	■	■	■				
<i>L. ewyckii</i>	■	■	■				
<i>L. macphailii</i>	■	■	■				
<i>L. cf. mejeri</i>	■	■	■				
<i>L. induta</i>	■	■	■				
<i>L. korthalsii</i>	■	■	■				
<i>L. sp.1</i>	■	■	■				
<i>L. sp.2</i>	■	■	■				
<i>L. havilandii</i>	■	■	■				
<i>L. cf. lampadaria</i>	■	■	■				
<i>L. oreophila</i>	■	■	■				
<i>Trigonbalanus verticillata</i>			■				

図(2)-5 西スマトラにおけるブナ科樹種の標高分布<sup>2)</sup>

中標高（400-1000m）での種多様性が高い。

表(2)-1 聞き取り調査によるスマトラ島シピサン村での樹種の利用順位<sup>7)</sup>

材有用樹種であるフタバガキ科 (*Shorea* spp.) の利用順位が高い。

利用順位	種名 (利用)
1	<i>Shorea platyclados</i> (材) <i>Aquilaria</i> spp. (沈香)
2	<i>Shorea guiso</i> (材) <i>S. ovalis</i> (材) <i>S. lepidota</i> (材) , <i>S. cf.palembanica</i> (材) <i>Dipterocarpus</i> spp. (材) , <i>Santiria</i> spp. (材) <i>Canarium</i> spp. (材)
3	<i>Shorea retioides</i> (ダマール, 材) <i>S. hopeifolia</i> (材, ダマール)
4	<i>Swintonia schwenkii</i> (材)

2. 研究開発目的

本研究は、東南アジアの森林植生の種多様性とその減少リスクを把握し、ホットスポットマップとレッドリストの作成に寄与することを目的としている。具体的には（1）標高と種多様性の関係、（2）ブナ科とフタバガキ科をモデルとした減少リスク評価、（3）分類群による伐採リスクの違いを明らかにすることを目指した。研究目的達成のために、植物標本館（ハーバリウム）における標本調査とインドネシア共和国における森林プロット調査を他のサブテーマと協力して行った。

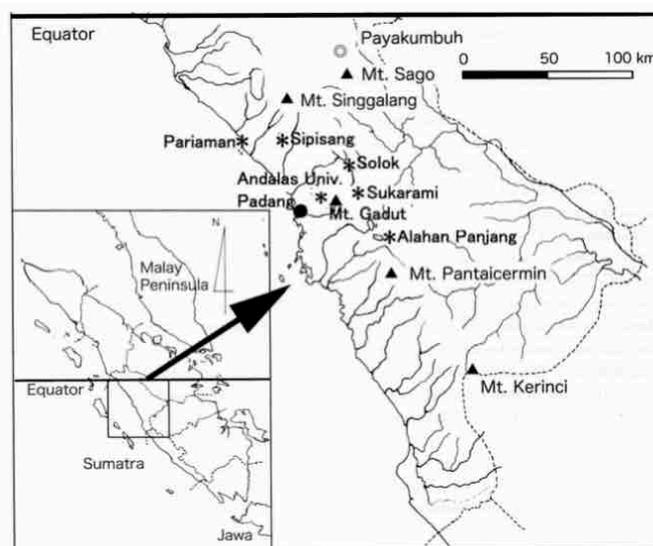
### 3. 研究開発方法

#### (1) 分布情報の収集

インドネシア科学院生物多様性センター（ボゴール植物標本館）においてブナ科およびフタバガキ科についての標本調査を行い、ブナ科樹種の分類学的検討と平行して各種の分布情報を収集した。また、GBIFデータベースからブナ科標本のデータをダウンロードし、東南アジアの種群についてのデータマイニングを行った。

#### (2) プロット調査

サブテーマ1およびサブテーマ3と協力してスマトラ島ガドゥ山域およびシピサン村での森林プロット調査を行った（図(2)-6）。森林プロットでは、ブナ科樹種の生育環境についての情報を収集した。標高の違いに応じた種多様性の評価を行うため、標高270m、550-600m、1650m、1850m付近において森林プロット内でのベルトトランセクト調査を実施した。



図(2)-6 インドネシア共和国スマトラ島における調査地（Mt. Gadut & Sipisang）の位置

#### (3) リスク評価

本研究および他のサブテーマとの共同調査で得た情報（文献およびデータベース調査を含む）に基づき、分類群別の伐採リスクと標高に応じた伐採リスクの評価を行った。

### 4. 結果及び考察

#### (1) ブナ科樹種の同定とインドネシアにおける概要

インドネシア科学生物多様性センター植物標本館のブナ科標本について同定作業を進め、シイ属、マテバシイ属、コナラ属（アカガシ亜属）の標本情報を得た。再同定作業により、多くの誤同定を見だし、それらを修正した（図(2)-7）。その結果、インドネシアにおけるブナ科の概要を明らかにすることができた。

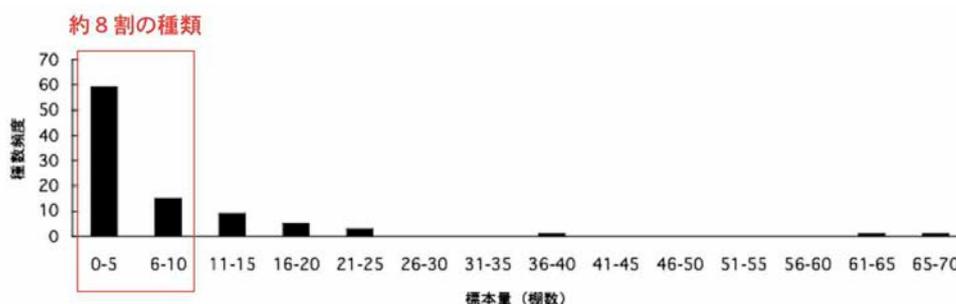


図(2)-7 再同定されたブナ科標本の例

左：*Quercus gemmelliflora* とされていたが、検討の結果*Q. elmeri*であることが判明。

右：*Q. oidocarpa* とされていたが、検討の結果*Q. gaharuensis*であることが判明。

標本収蔵点数に基づき、約8割の種類が希少種候補と判断された（図(2)-8）。一方、過去のスマトラ島でのプロット調査からは、これらの標本情報による希少種候補は必ずしもすべてが希少ではなく、なかにはごく普通種も含まれていることが明らかとなった。この原因としては、標本収集が行われた地域、標高、環境などに偏りがあり、とくにスマトラ島地域での調査密度の低いことがその理由と推測された。プロット調査データによって情報を補完し、過大評価を修正することが重要であると考えられた。



図(2)-8 インドネシア科学生物多様性センター植物標本館(BO)における  
ブナ科植物の標本量と種数

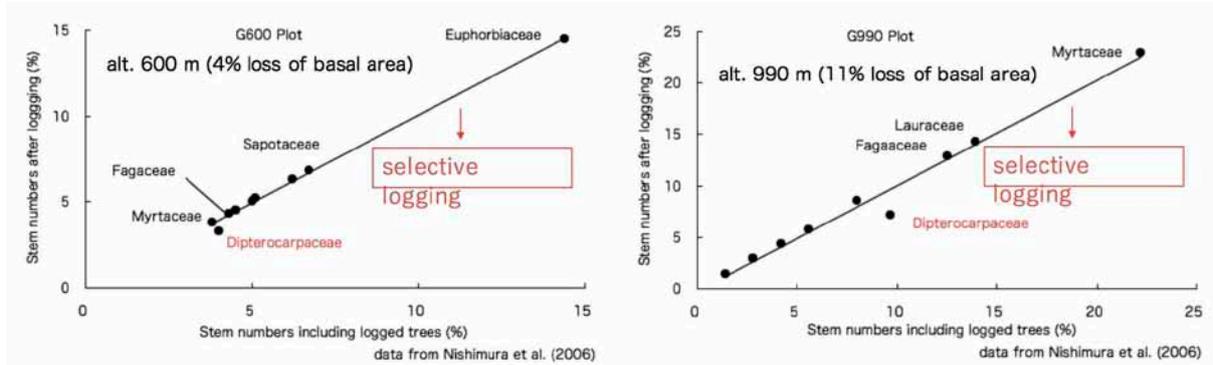
約8割の種が希少種候補とみなされた。

## (2) 標高による種多様性の評価

サブテーマ1と共同で行ったので、結果はサブテーマ1で述べる（ここでは割愛）。

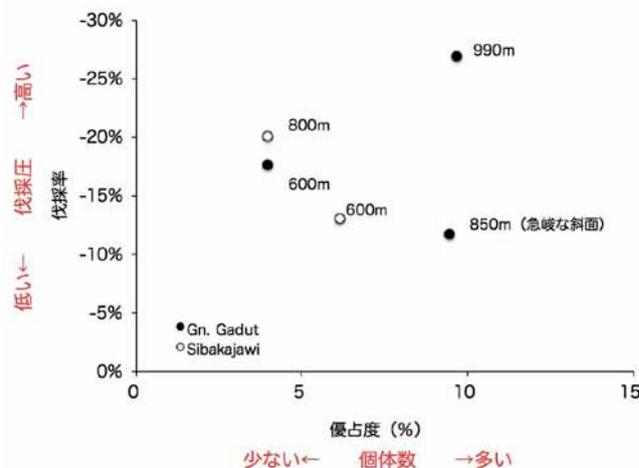
## (3) 原生林における標高と分類群による選択的伐採（択抜）圧の評価

スマトラ島でのプロット調査の既存データを解析することで、原生状態の森林についての標高別および分類群別の伐採圧を明らかにした。その結果、600m以上の山地においては、フタバガキ科の選択的伐採（12～27%、他の分類群ではいずれもほぼ0%）が明らかとなった（図(2)-9、10）。アクセスに苦勞する高標高域においても選択的伐採が行われるのは、材の高い有用性に起因していると推察される。フタバガキ科の伐採率は標高とは無関係であることから、その場所に生育する個体密度が低いほど減少リスクが高いと考えられた（図(2)-10）。



図(2)-9 スマトラ島ガドゥ山の原生林における分類群（科）別の伐採圧例

直線より下の領域が選択的伐採を受けていることを示す。西村らのデータ<sup>5)</sup>を解析した結果。



図(2)-10 スマトラ島におけるフタバガキ科の減少リスクの評価

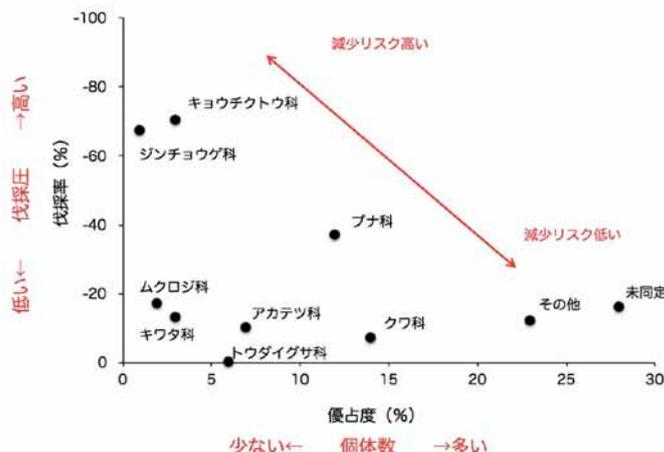
グラフの左上の領域で減少リスクが高い（＝個体数が少なくて伐採圧が高い）。フタバガキ科では、個体数や標高とは無関係に選択的な伐採を受けている。

#### （4）二次林～低山地林における分類群別の選択的伐採（択抜）圧の評価

人里に近い二次林が卓越する丘陵地～低山地について、既存データを解析した結果、キョウチクトウ科（Apocynaceae、）ジンチョウゲ科（Thymelaceae）、ブナ科（Fagaceae）への伐採圧の高いことが明らかになった（図(2)-11）。また、ブナ科とアカテツ科（Sapotaceae）では大径木への選択的伐採が顕著であるが、キョウチクトウ科とジンチョウゲ科では小径木を含めたすべてのサイズが伐採されていることが示唆された（図(2)-12）。一方、トウダイグサ科

（Euphorbiaceae）の伐採率は低く、伐採の忌避が示唆された。これらの事実は、森林がおかれ

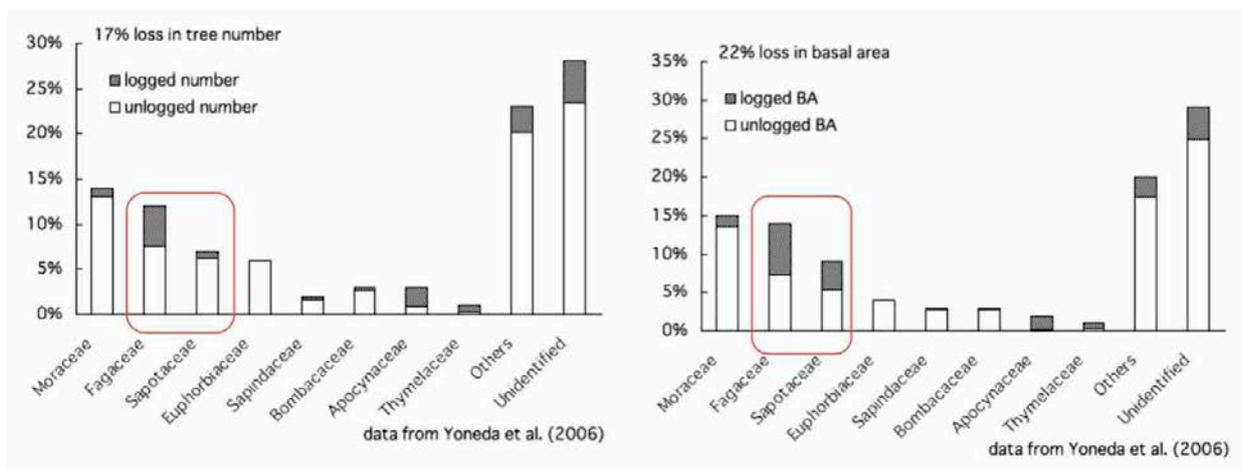
ている地域的な要因（人為影響の強さ）と樹種に応じた選択的伐採によって、減少リスクは樹種によって大きく異なることを示唆している。



図(2)-11 スマトラ島の丘陵二次林～低山地林における分類群別の優占度と伐採圧  
左上の領域が減少リスクの高いことを示している。

聞き取り調査からはジンチョウゲ科の沈香利用の需要が明らかになっており（表(2)-1）、ジンチョウゲ科のすべてのサイズの個体が伐採されるのはこうした特殊用途によると考えられる。一方、聞き取り調査ではブナ科は材が堅いためその利用を避けるという情報であったが、実際の伐採圧はブナ科の大径木において顕著であった（図(2)-12）。この理由としては、材の有用資源であるフタバガキ科 (Dipterocarpaceae) がこの地域ではすでに資源枯渇を起こしており（調査地にフタバガキ科の大径木はまったく観察されなかった）、伐採対象がブナ科 (Fagaceae) に移った可能性が考えられる。

以上のことから、低標高域に出現するキョウチクトウ科とジンチョウゲ科での減少リスクは非常に高く、ブナ科の大径木でやや高く、その他の分類群については顕著な減少リスクは見られないことが明らかになった。



図(2)-12 スマトラ島の丘陵二次林～低山地林における伐採圧  
本数（左）と胸高断面積（右）。ブナ科とアカテツ科（赤枠内）では、伐採本数（左）にくらべて胸高断面積（右）の減少が大きいことから、大径木の選択的伐採が示唆される。

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

インドネシア共和国スマトラ島のブナ科植物の分類学的検討を行い、3種類の新分類群を見いだした。植物標本館での調査の結果、これらはガドゥ山のみで見いだされる分類群であることが判明し、この地域の独自性を示唆する。記載論文を準備中。

標本情報には大きな偏りのあることから、リスク評価への標本情報の利用には補完と補正を行う必要のあることが明らかとなった。

スマトラ島のガドゥ山城の種多様性は、ボルネオ島のランビルやセリンブと並んで最も種多様性の高い3ヶ所の一つであることが明らかになった（サブテーマ1および3との共同調査）。東南アジアの種多様性のホットスポットの最有力候補の一つを明らかにした意義は大きい。また、スマトラ島における標高-種多様性曲線を得ることができ、湿潤熱帯における種多様性の分布様式の重要な事例となった。

材有用性の高いフタバガキ科樹種への選択的伐採圧は、標高とは無関係に高いことが判明した。一方、低標高域の丘陵二次林～低山地林では、ジンチョウゲ科の特定用途（沈香）による強い伐採圧が示唆され、ブナ科ではフタバガキ科枯渇による代替伐採が推察された。また、トウダイグサ科では伐採が忌避されていることが示唆された。選択的伐採による減少リスクの評価は、分類群の用途と資源状態に応じた評価の必要なことが示された。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

環境省の「国内希少野生動植物種（維管束植物）の候補種選定のための意見交換会」において、本研究の成果である「レッドリスト改訂に向けた課題整理：メーカーとユーザーの相克」（藤井, 2014）の内容に基づいて第5次レッドリスト見直し調査の進め方に対する意見を述べた。環境省委託事業の「愛知目標達成のための侵略的外来種リストの作成に向けた植物WG会合」検討委員会における侵略的外来種の選定において、本研究の東南アジア熱帯地域における調査知見に基づいた意見を述べた（*Cecropia*、*Mikania*、*Wedlia*などが採用されている）。環境省委託事業の「特定外来生物等分類群専門家グループ会合(植物)」において、本研究の成果である *Vallisneria* の侵略性（藤井ほか、印刷中）について意見を述べた。種の保存法および特定外来生物関連の環境省委託調査事業のヒアリングを受け、本研究の成果の一部をコメントした。

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

他のサブテーマと共同で得た東南アジア熱帯域の種多様性の標高分布および種多様性マップの保全事業の指針としての利活用。樹種別の伐採リスク、とくに伐採圧の高い特定分類群についての取引規制指針としての利活用。

## 6. 国際共同研究等の状況

本研究プロジェクトの一環として、インドネシア共和国西スマトラ州アンダラス大学理学部生物学科のAnes教授、Erizal講師、Nas講師らと共同で、ガドゥ山城における植物の種多様性調査を行った。現地調査にあたっては、日本人研究者とアンダラス大学理学部研究者の共同研究

プロジェクトであったSumatra nature Study Project (1987～1989)、Field biology research and training project(1994～1997)、鹿児島大学農学部の米田健教授の科研費プロジェクト(1998～2001)によって設置・維持されてきた調査区を活用した。当該地域の調査は1980年代から日本の研究者が現地研究者と共同で取り組んでおり、この地域の生物に関して日本人研究者が世界をリードする研究成果をあげてきた実績がある。本調査の種多様性に関する成果については、サブテーマ1でとりまとめている。

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文(査読あり)>

- 1) 藤井伸二: 地域自然史と保全, 36,27-35 (2014), レッドリスト改訂に向けた課題整理: メーカーとユーザーの相克
- 2) 藤井伸二、木下 覺、永益英敏・成田愛治: 分類, 15,199-202 (2015), ナタオレノキ(モクセイ科)を徳島県津島から記録する
- 3) 藤井伸二、海老原 淳: 分類, 15,203-205 (2015), 四国におけるヨロイグサの新産記録

#### <その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 藤井伸二. 2012. 戸部 博・田村 実(編):新しい植物分類学 II, 講談社, 249-254 (2012) 「生物多様性からみた植物の現状と植物分類学が持つ市民科学の側面(執筆担当:藤井伸二)」
- 2) 矢原徹一・藤井伸二・伊藤元巳・海老原淳(監修):絶滅危惧植物図鑑レッドデータプランツ増補改訂新版. 山と溪谷社(2015)
- 3) 三重県農林水産部みどり共生推進課(編):三重県レッドデータブック2015～三重県の絶滅のおそれのある野生生物～. 三重県農林水産部みどり共生推進課(2015) <維管束植物の監修を分担した>
- 4) 環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室(編):レッドデータブック2014-日本の絶滅のおそれのある野生生物—8 植物I(維管束植物). ぎょうせい(2015)<監修を担当した>
- 5) 藤井伸二、牧 雅之、志賀隆:水草研究会誌, 103,8-12 (2016), 新外来水草コウガイセキショウモおよびオーストラリアセキショウモの同定(印刷中)
- 6) S. FUJII: Acta Phytotax. et Geobot.(2016), A new variety of *Cyperus pacificus* (Ohwi) Ohwi (Cyperaceae) (in press)

### (2) 口頭発表(学会等)

特に記載すべき事項はない。

### (3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

### (4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 大阪市立自然史博物館における関西自然保護機構シンポジウム「レッドリストの諸問題」

(2013年12月14日、聴講者約80名)

- 2) 京都大学総合博物館におけるスゲの会近畿支部講座「レッドリスト改訂の課題・問題点」(2014年2月23日、聴講者約10名)
- 3) 国立科学博物館筑波植物園における講演会「広域分布と狭域分布からみえる絶滅危惧植物の特徴」(2014年5月24日、聴講者約50名)
- 4) 手賀沼水の館における手賀沼フォーラム「特定外来生物の防除とそこから学ぶこと」(2015年3月13日、聴講者約50名)
- 5) 愛知県立南陽高等学校における特別授業「生物多様性について」(2015年6月3日、聴講者約20名)
- 6) 三重県教育センターにおける高校教員向け研修会「生物多様性について」(2016年1月29日、聴講者約20名)

#### (5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

#### (6) その他

特に記載すべき事項はない。

### 8. 引用文献

- 1) S. Aiba, K. KITAYAMA, and R. REPIN.: Sabah Parks Nature Journal, 5, 7-69 (2002), Species composition and species-area relationships of trees in nine permanent plots in altitudinal sequences on different geological substrates of Mount Kinabalu.
- 2) S. FUJII, S. NAKAMURA and T. YONEDA: TROPICS 15, 2, 153-163 (2006), Altitudinal distribution of Fagaceae in West Sumatra.
- 3) 堀田満：植物の世界, 59, 149-152(1995), 東アジアの照葉樹林と種の多様性.
- 4) Y. LAUMONIER: The vegetation and Physiography of Sumatra. Kluwer Academic Publishers (1997)
- 5) S. NISHIMURA, T. YONEDA, S. FUJII, E. MUKHTAR, H. ABE, D. KUBOTA, R. TAMIN and H. WATANABE: TROPICS, 15, 2, 137-152 (2006), Altitudinal zonation of vegetation in the Padang region, West Sumatra, Indonesia.
- 6) T. C. WHITMORE: An Introduction to Tropical Rain Forests. Oxford University Press (1990)
- 7) 米田健：JCAS連携研究成果報告3, 49-83 (2000), 西スマトラ州におけるミナンカバウ族農村の植生構造-シピサン村の事例-

### (3) インドシナ・マレーシアの森林プロットにおける植物多様性変動の評価

京都大学総合博物館

永益 英敏

<研究協力者>

琉球大学熱帯生物圏研究センター

内貴 章世

平成23～27年度累計予算額：23,278千円（うち平成27年度：4,241千円）

予算額は、間接経費を含む。

#### [要旨]

インドシナ・マレーシア地域はほぼ全域が生物多様性ホットスポットとして位置づけられている。このことは高い生物多様性を有するこの地域の全域がすべて、同時に高い絶滅危惧リスクにさらされていることを示している。この地域の森林において植物多様性変動を評価するためには、短期間に植物多様性を定量的に評価できる方法を開発する必要がある。しかしながら、植物相自体の解明が未だ十分ではないため、同定された種名による比較は困難である。そこで本研究においては、ベルトトランセクトを用いて全種調査を基本とする調査法を導入し、定量的に評価することで様々な環境下における森林の植物多様性評価を試みた。1地点100 m x 5 mのベルトトランセクトを7カ国33地域111地点に設置した結果、出現種数は明らかに赤道付近の低地で最も高く、赤道から離れるにつれて減少した。また同地域では標高が高くなるほど出現種数が低下する傾向を示したが、季節性が明瞭な地域では低標高地に季節林が成立し、そこでは逆に出現種数が低下するため中程度の標高で出現種数が最も高くなった。インドシナ半島ではベトナムおよびカンボジアの沿岸域で周囲の地域よりも種多様性が明らかに高いことが示された。このようにベルトトランセクト法による多様性評価はインドシナ・マレーシア地域でも十分に有効な手法であることが示された。絶滅の危険性と併せて評価することでホットスポットの検出にも有効である。全種調査と同時に、全種の生態写真および特徴的な器官を伴う写真を撮影して種毎にスライドを作製した。また、全種DNA抽出用サンプルを採取し、DNA barcodingを利用して同定の助けとした。このようにして新しく得られたデータと伝統的な標本による解析を合わせて行うことで、迅速に地域ごとの植物相の解明が進めることができる。本研究によってもたくさんの未記載種が発見された。

#### [キーワード]

植物多様性、東南アジア、ベルトトランセクト法、ホットスポット

#### 1. はじめに

東南アジア地域は熱帯から亜熱帯域に位置し、高い生物多様性を有していることで知られている。保全を優先すべき世界の生物多様性ホットスポットをまとめたMyersらの論文<sup>4)</sup>では、インドシナおよびマレーシアが位置する東南アジアほぼ全域がIndo-Burma、 Sundaland、 Wallacea、 Philippinesなどの、それぞれユニークな特徴をもったホットスポットとして位置づけられている。全世界の維管束植物のほぼ10%にあたる約3万種がこの地域に固有であると推定されているが、維

管束植物相の実態はそれほど明らかになっているわけではない。多くが植民地とされた歴史をもつ東南アジア諸国の植物相調査はそれぞれの宗主国によって進められてきたが、その後の戦争と政治的分断によって植物相調査は長らく滞り、いまだ完成をみていない。近年では伐採等を含む近年の急速な環境破壊により、この地域では数多くの植物がその存在を知られないままに絶滅に瀕しているものと考えられている。

植物多様性評価の基礎となる伝統的な調査法は、植物を採集して標本を作り、それを植物標本庫に集約して研究を進めるといったものである。しかしこの方法で維管束植物相の全体像を把握するためには、広い地域から大量の標本を集めなくてはならず、長い時間が必要である。また調査密度がまちまちで、地域ごとの違いを客観的に評価することが難しい。そのため、一定地域の植物多様性を、短期間で客観的に評価するための、統一的で簡便な手法を開発することが期待されていた。

## 2. 研究開発目的

維管束植物相の伝統的な調査法では、植物標本庫に集積した植物標本を用いて研究を行う。しかし標本の蓄積には長い時間がかかるため、より効率的に標本の収集を行うための方法が議論されてきた。熱帯地域の多様性調査の現状を整理し<sup>2)</sup>、ローカルな多様性の中核地域をリストアップすることで<sup>3)</sup>、重点的に調査を行うことが試みられている。しかし、この方法は、すでに調査がある程度行われている地域にのみ適用できる経験的な多様性評価法である。これとは別に、これまで調査が行われていなくても、短期間で客観的な多様性評価を行うことができれば、多様性の高い地域を新たに見出し、多様性の保全に貢献することができる。ほぼ全域がホットスポットと評価される東南アジア地域では、短期間に評価できることが何より重要である。また、短期間でできる評価法であれば、多様性がどのように変動しているかを客観的に評価することが可能となる。

秋山ら<sup>1)</sup>は、屋久島において、多様な環境下にある全長32 kmにおよぶライン上に64のベルトトランセクトを設置して蘚苔類の全種調査を行い、この手法が多様性評価に非常に有効であることを示した。この調査プランを立案・設定した矢原ら（未発表）による維管束植物の多様性評価では、標高と種多様性との間に明瞭な相関関係があることも示されている。一定面積を全種調査するという定量的な評価法であるために他の地点との比較が容易に行えるのである。本研究では、この調査法が、日本に比べて植物多様性が格段に高い東南アジア熱帯地域でも有効な方法であるかどうかを評価し、その上でこの方法によるインドシナ・マレーシア地域での植物多様性を調査した。

## 3. 研究開発方法

### (1) ベルトトランセクト

調査地のさまざまな環境に複数のベルトトランセクト(100 m x 5 m)を設置し、10 mごとに区切った10の小区画毎に全種調査を行った（図(3)-1）。小区画ごとに樹高4 m以上の木について種名、樹高、胸高周囲長を測定した。山地ではほぼ標高300 mごとにベルトトランセクトを設置した。

### (2) 全種調査

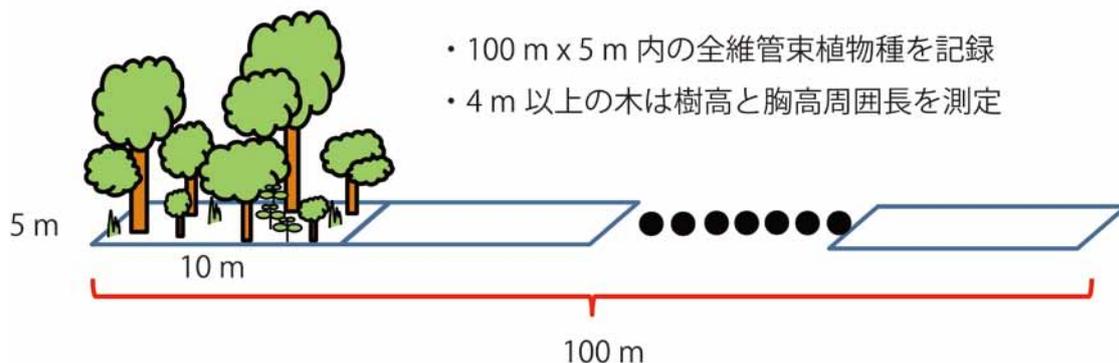
一つのベルトトランセクトに出現した種ごとにさく葉標本を作製し、さらに葉または植物体の一部をシリカゲルで乾燥してDNA抽出用のサンプルを採取した。すべての種について生態写真と、同定に重要な部分を撮影し、PowerPointを用いて写真を組み合わせたスライドを作製した。

### (3) 全般的な採集

ベルトトランセクトの外であっても、花や実のついたよい状態の植物があれば標本とし、ベルトトランセクト内の植物と同じ方法でデータを収集した。ベルトトランセクトに出現する植物の同定に有用であるうえ、調査地の全体的な植物相解明のために重要である。

### (4) 同定

文献および各地の植物標本館の植物標本（Web上で公開されているデータベースも利用）により植物の同定を行った。ベルトトランセクトで得られた標本は多くは花も実もない標本であるため、DNA barcodingを利用して科や属の位置を決定し、種の同定を行った。



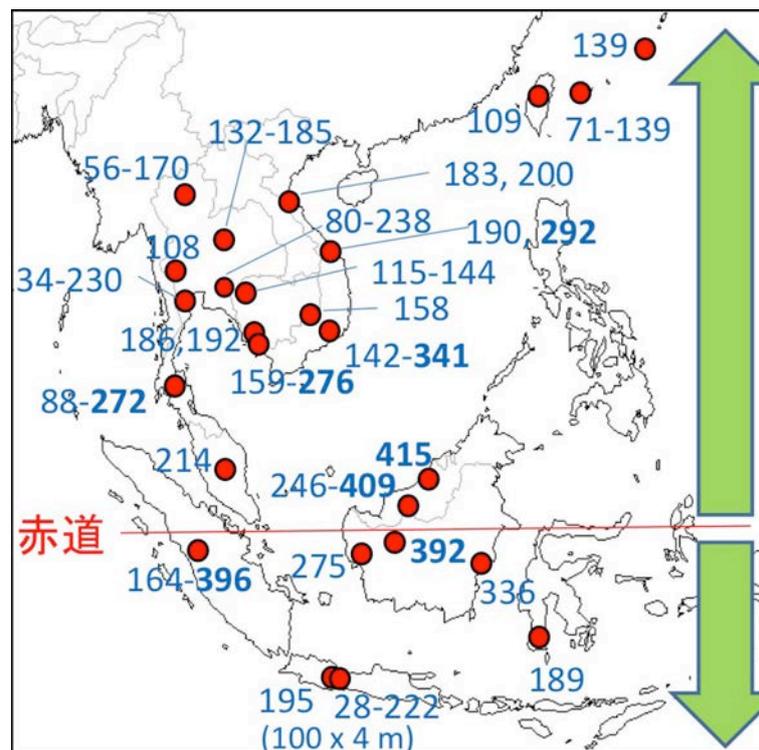
図(3)-1 ベルトトランセクト法

## 4. 結果および考察

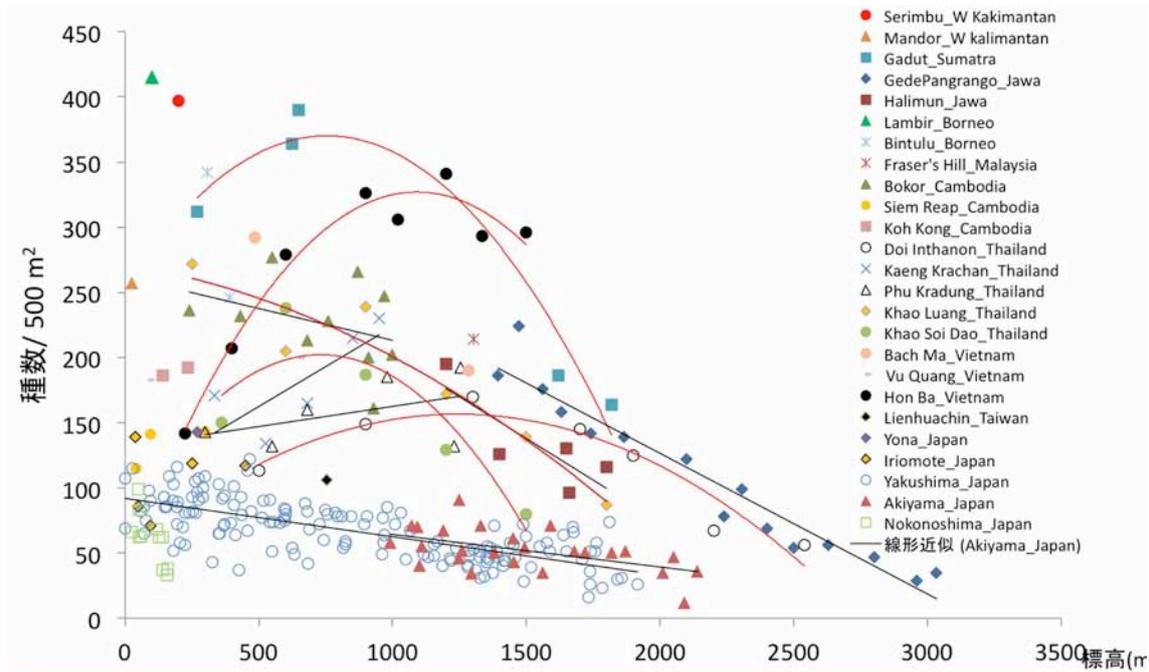
図(3)-2に示した7カ国（ベトナム、カンボジア、タイ、マレーシア、インドネシア、台湾、日本）32地域111地点でベルトトランセクトを設置した。それぞれの地点で出現した1トランセクト(500 m<sup>2</sup>)あたりの出現種数は、赤道付近の低地で最も高く、赤道から離れるに従って減少した。同じ緯度でみると、インドシナ半島ではベトナム、カンボジアの沿岸部でまわりよりも高い種多様性を示した（図(3)-2）。各地での標高と出現種数の関係を見ると、湿潤環境域では屋久島で観察されたのと同様に、標高とともに出現種数は直線的に減少した。もっとも出現種数が多かったのはほぼ赤道に近いマレーシア・ランビル国立公園（標高約140 m）の415種であった。一方、乾季により植物の生育が妨げられる地域では、乾燥による落葉樹林（季節林）が発達する標高の低い地点で多様性が低下し、標高500～1300 mの季節林から常緑樹林に移行する付近で最も高い多様性を示すことがわかった（図(3)-3）。

各調査地点で作製した全種スライドは、科ごとに配置し、仮同定の種名を加えることで簡易なフィールド図鑑として活用できることがわかった。種の同定をさらに進めることで、ある地域の図鑑として発表することは困難ではないだろう。DNA barcoding（サブテーマ1と共同）を活用す

ることで、同定できない分類群を大きく減少させることができ、また未記載種をみつけることが容易になった。本研究により発見された未記載種は多く、本研究の資料に基づいた新種は今後も継続して研究発表される予定である。ベルトトランセクト法を用いた種多様性調査法は、種多様性が高い熱帯域においても十分な成果を上げることができた。同一の定量的な手法であるため、標高の違いを含む、広い範囲で種多様性の比較をすることができるため、客観的に種多様性が高い地域を検出することが可能である。この方法だけでは直ちに種の同定を完了することは難しいが、DNA barcodingおよび標本を用いた伝統的な解析法とあわせることで迅速に多様性研究を進めることが可能であることがわかった。



図(3)-2 1トランセクト(500 m<sup>2</sup>)あたりの出現種数



図(3)-3 各地域における標高と出現種数の関係

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

種多様性が高いために維管束植物相の解明を進めることが困難な熱帯地域でも、本研究で採用した簡便なベルトトランセクト法を用いることにより、迅速に調査を進めることが可能であることが示された。この方法は定量的なデータを得ることができるため、さまざまな環境・地域での多様性の比較が容易に行うことができ、多様性評価の方法として優れている。絶滅の危険性と併せて評価することでホットスポットの検出に有効である。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政がすでに活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

特に記載すべき事項はない。

## 6. 国際共同研究等の状況

現地調査はすべて当該国の研究者との共同研究として進めている（表(3)-1）。九州大学を窓口として海外研究機関とMOUを締結し、現地調査、標本の持ち出し等の取り決めを行っている。また、研究成果の発表も国際共同研究の成果として、共同で行っている。

表(3)-1 国際共同研究のカウンターパート氏名と所属・国名

カウンターパート氏名	所属・国名
Phourin Chhang	Forest Administration of Cambodia
Somran Suddee	Forest Herbarium, Thailand
Sukid Rueangruea	Forest Herbarium, Thailand
Son Van Dang	Institution of Tropical Biology, Vietnam
Hop Tran	University of Ho Chi Minh, Vietnam
Dokrak Marod	Kasesart University, Thailand
Dedy Darnaedi	Research Center for Biology-LIPI, Indonesia
Marlina Ardiyani	Research Center for Biology-LIPI, Indonesia
Arief Hidayat	Research Center for Biology-LIPI, Indonesia
Anes Syamsuardi	Andalas University, Indonesia
Ngakan Putu Oka	Hasanudin University, Indonesia
Saw Leng Guan	Forest Research Institute Malaysia
Lim Chung Lu	Forest Research Institute Malaysia

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### < 論文 (査読あり) >

- 1) V. S. DANG, S. TAGANE, H. TOYAMA, T. YAHARA, A. NAIKI, H. Q. NGUYEN and H. TRAN: Journal of biotechnology, 13(4A), 1393-1396 (2015). A new record of *Burmannia championii* Thwaites (Burmanniaceae) from Southern Vietnam.
- 2) H. NAGAMASU, S. RUEANGRUEA, S. SUDDEE and S. TAGANE: Thai Forest Bulletin (Botany) 43, 43-45 (2015). *Prunus kaengkrachanensis* (Rosaceae), a new species from Southwestern Thailand.
- 3) A. NAIKI, S. TAGANE, P. CHHANG, H. TOYAMA, H. ZHU, V. S. DANG and T. YAHARA: Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 66(3), 153-179 (2015), Flora of Bokor National Park, Cambodia II: four new species and nine new records of *Lasianthus* (Rubiaceae) from Cambodia.
- 4) S. RUEANGRUEA, S. TAGANE, S. SUDDEE, N. TETSNA, M. POOPATH, H. NAGAMASU and A. NAIKI: Thai Forest Bulletin (Botany) 43, 79-86 (2015), *Toona calcicola*, a new species and *Reinwardtiadendron humile*, a new record to Thailand.
- 5) S. TAGANE, V. S. DANG, H. TOYAMA, A. NAIKI, H. NAGAMASU, T. YAHARA and H. TRAN: PhytoKeys 57, 51-60 (2015), *Aporosa tetragona* Tagane & V. S. Dang (Phyllanthaceae), a new species from Mt. Hon Ba, Vietnam.
- 6) S. TAGANE, H. TOYAMA, P. CHHANG, H. NAGAMASU and T. YAHARA: Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 66(2), 95-135 (2015), Flora of Bokor National Park, Cambodia I: Thirteen new species and one change in status.
- 7) H. TOYAMA, S. TAGANE, P. CHHANG, H. NAGAMASU and T. YAHARA: Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 67(1), 47-53 (2016), Flora of Bokor National Park, Cambodia III: A new species, *Garcinia bokorensis* (Clusiaceae).

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) Nagamasu, H. Documenting plant species distributions in tropical Asia. Earth and Biodiversity Observing Workshop, PRAGMA 24. (invited, 2013年3月24日, Kasetsart University, Bangkok, Thailand)

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

特に記載すべき事項はない

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない

(6) その他

2016年度第10回日本植物分類学会論文賞

S. TAGANE, H. TOYAMA, P. CHHANG, H. NAGAMASU and T. YAHARA: *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 66(2): 95-135 (2015), Flora of Bokor National Park, Cambodia I: Thirteen new species and one change in status..

8. 引用文献

- 1) 秋山弘之・横山勇人・田中敦司・古木達郎・山口富美夫. 2013. 多様な環境を有する島嶼における蘚苔類の種多様性調査: 32 km 長距離ベルトトランセクト法を活用した屋久島での事例. 人と自然 *Humans and Nature* 24: 21-31 (2013)
- 2) D. G. CAMBELL and H. D. HAMMOND. 1989. *Floristic Inventory of Tropical Countries*. The New York Botanical Garden.
- 3) S. D. DAVIS, V. H. HEYWOOD and A. C. HAMILTON. 1995. *Centres of Plant Diversity: A guide and strategy for their conservation*. Vol. 2. Asia, Australasia and the Pacific. The World Wide Fund For Nature.
- 4) N. MYERS, N., R. A. MITTERMEIER, C. G. MITTERMEIER, G. A. B. Da FONSECA and J. KENT 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.

#### (4) インドネシアの森林プロットにおける植物多様性変動の評価

鹿児島大学学術研究院理工学域理学系

鈴木 英治

鹿児島大学農学部生物環境学科

米田 健 (H23～H26年度)

平成23～27年度累計予算額：13,736千円（うち平成27年度：2,394千円）

予算額は、間接経費を含む。

##### [要旨]

インドネシアのジャワ島、ボルネオ島、スマトラ島の6地域、合計12haの面積で、以前作成した調査区の再測定、新規調査区の設定を行った。

西ジャワ州のハリムン-サラック国立公園内に1996～1997年に設定した2haの調査区では、公園の管理が比較的行き届いていることもあり、ほぼ自然状態で推移していた。西スマトラ州のパダン近くのGadut山地域では前回調査の2008年にくらべ違法伐採は一層拡大し、標高1200m以下ではまとまった成熟林はすでに消失していた。西カリマンタンのマンドール保護区とニウット山保護区近くのスリンブでも、1980～1990年代にはよい森林があったが、伐採、金の採掘、焼き畑などでほとんどが消滅していた。東カリマンタンのブキットバンキライでは1998年に山火事の被害を受けた。その後はよく管理された状態にあり、森林が再生しつつあった。特に樹木本数、胸高断面積合計の回復は著しいが、本来の極相林の植物相の回復にはその後のかく乱がなくとも長い年月がかかると予測された。スマトラ北部のレウサー山国立公園はかつて政治的理由で立ち入ることも困難な地域であったが、調査ができるようになってきたので、3調査区合計2.5haを設定して植物相と森林構造を調べた。公園の境界付近ではかつての違法伐採の影響で森林構造と種類相も内部より劣っていた。内部では非常に多様性の高い地域とそれほどでもない地域があったが、それは土壌の違いによるものと考えられた。低地林でも土壌の違いにより樹種組成が異なり、全体としての多様性を高めていると考えられた。

違法伐採などによる森林減少が依然続いているが、適正な管理が行われるようになった地域もあり、そこでは森林の保全や再生が進んでいた。

##### [キーワード]

森林減少, 種多様性, 継続調査区, 違法伐採, 保護区, フタバガキ科,

#### 1. はじめに

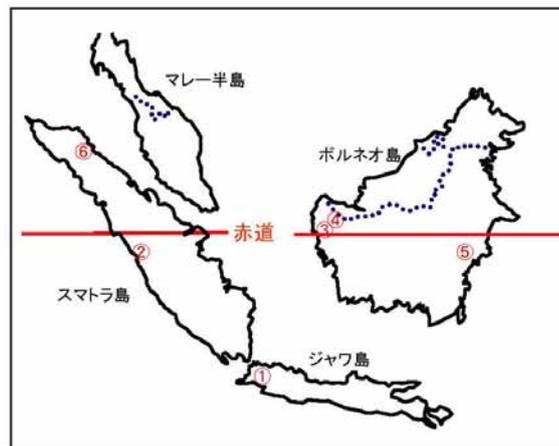
アジア熱帯林の大部分を占めるインドネシアでは近年森林減少が著しい。そのマクロな変化は衛星画像などによって把握される。しかし衛星画像では森林の有無はわかっても、その内容までの解析はほとんどできない。先駆種が茂った二次林と原生状態の森林では、現存量も生物多様性も大きく異なるが、衛星画像では判別が困難であり、特に種組成の違いを知ることは不可能と言える。また森林が減少しているにしても、その原因の解明には現地調査が必要である。そこで衛星画像ではとらえられないような変化を知り、変化を引き起こす要因を明らかにするために、以前調査区が作られた地域を訪れ近年の変化を調べることにした。

## 2. 研究開発目的

本研究は、インドネシアの熱帯林における植物の多様性の変動を評価することを目的としている。人為などの影響が異なる場所を同時に調べて、人為の影響でどのように多様性が変化するかといった間接的な手法ではなく、同一の場所で実際に起きた経年変化を種レベルまで明らかにする。そのためにインドネシアにかつて設置した調査区とその周辺で、樹木を中心として植物の再調査を行って森林植物の種多様性の変化を把握する。今までの管理状況、人為の影響を聞き込みで調べ、森林の多様性に变化が生じた原因について解析し、今後の保全策を考えることを目的とする。

## 3. 研究開発方法

インドネシアの森林プロットにおける植物多様性変動を評価するために、図(4)-1に示す6地域で樹木の再測定などの調査を行った。基本的には各調査区内で、胸高周囲15cm以上の樹木について、樹種、直径を調べ、一部の個体については樹高も調べた。



図(4)-1 調査地の位置

- ①ハリムン山国立公園、②西スマトラ州パダン周辺、③マンドール保護区、④スリンブ、  
⑤ブキットバンキライ、⑥レウサー山国立公園。

### (1) ハリムン-サラック山国立公園

西ジャワ州にある国立公園で、1996年に緯度経度S6 28' E106 43' 標高1700m地点にP1、1997年にS6 45' E106 33' 標高1100m地点にP2を設定した。それぞれ1haの面積で、2001年まで数回の調査を行っていたが、その後調査が途絶えていたところを、2011年に再測定を行った。また最近かく乱されている場所の植生を調べた。

### (2) パダン

西スマトラ州の州都であるパダン近郊の森林地帯では既設の3か所（HPPB, PIN, AIR）の調査区において2011年に毎木調査を行った。HPPBは標高400mの二次林、PINとAIRはともに成熟林で、標高は600mと1130mに位置する。

### (3) マンドール自然保護区

西カリマンタンの州都のポンティアナクから車で数時間の距離にある3080haの小さな保護区であるが、1987年に0.6haの調査区を設けた地域の再調査を行った。

### (4) スリンブ

ニウット山自然保護区の境界付近にあるスリンブという村のブルイ山は村の水源林として保護されていたが1992年に1haの調査区を2つ設定した。およそ元の調査区と思われる場所に小調査区を設定して調査した。

### (5) ブキットバンキライ

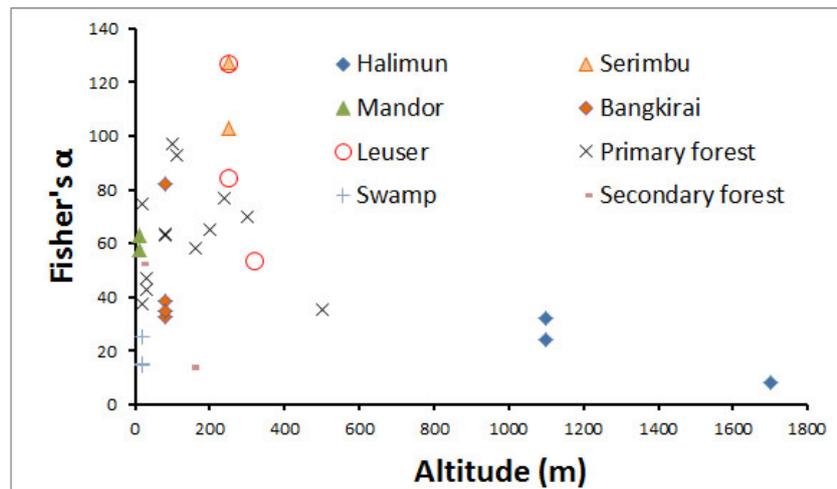
東カリマンタンのBukit Bangkirai地区は1998年に火災にあったが、*Shorea laevis*などの低地フタバガキ林の残存林分もある。熱帯低地林の森林再生過程を明らかにするために、2001年に3個(重度被害区HD1、軽度被害区LD1、無被害区K1)、2005~2006年に3個(HD2,LD2,K2)の1ha区を設定し2007年まで幹周囲15cm以上の樹木の継続調査を行っていたが、その後放置されていた。そこで2013年に6年ぶりの再測定を行った。

### (6) レウサー山国立公園

インドネシア国内では比較的森林が残っているスマトラ島北部にあるレウサー山国立公園は、面積10,947 km<sup>2</sup>と鹿児島県の約1.2倍の広さを持つが、スマトラ最北端のアチェ州が長く内戦状態にあったので、ほとんど植物生態的な研究はなされてこなかった。しかしスマトラ沖の大地震以後内戦が収まり、調査ができるようになったので、レウサー山国立公園内のタンカハン地区で調査を行うことにした。2014年にはN3 40' E98 04', 標高250m地点付近に公園境界から約500m離れたところにL1、約1km離れたところにL2各1haの調査区、2015年にN3° 42.9 ', E98° 3.5' 標高320mで公園境界から約2km離れた地点に、0.5haの調査区(L3)を設定した。

## 4. 結果及び考察

図(4)-2に、調査したハリムン(Halimun) スリンブ(Serimbu)、マンドール(Mandor)、バンキライ(Bangkirai)、レウサー(Leuser)及び、今回の調査対象ではないが、鈴木らが調べた調査地の多様性と標高の関係を示す。全体的な傾向としては、標高がゼロに近い地域は湿地か湿地に近い土壌が多く、若干多様性は低く、標高200m前後の所が最も多様性が高くなる。後に述べる西カリマンタンのスリンブと北スマトラ州のレウサーで最も多様性が高く、1-ha当り300種近い種が出現した。それ以後は標高が高くなるほど多様性は低下する。なお、日本のよく発達した照葉樹林でもFisherの $\alpha$ は6前後であり、図(4)-2に示したいずれの調査区よりも多様性は低い。



図(4)-2 調査地の多様性(Fisher's  $\alpha$ )と標高の関係

鈴木らによるボルネオ島、スマトラ島、ジャワ島の調査区（MandorとLeuserの1箇所以外の面積は1ha）。

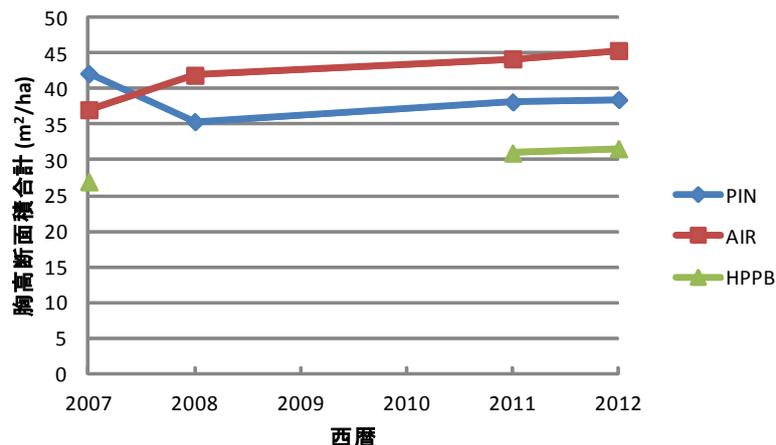
次に個別の調査地について述べる。

### (1) ハリムン

ジャワのハリムンのP1では、2001年にP1の中で行われた金の違法採掘とそれに伴う伐採でかなり森林が破壊されていたが、2000年と比較して、胸高断面積合計（BA）は11年間で8%減り、本数は3%増えた。これは違法な伐採が影響しているだろう。種数は5種増えたが、先駆種が多い。自然状態に保たれていたP3では、BAは11年間で12%増え、本数は3%減った。極相に近いがまだ完全には極相に至らず、現存量が増加していた。種数は、4、5種入れ替わっているがあまり変わらなかった。ハリムン山国立公園は、1990年代末から日本も環境省とJICAが中心になって公園管理の技術指導等を行ってきたが、ジャカルタに近いこともありエコツーリズムなどで利用されることも多く注目される地域であり、よく管理されているので一部に違法伐採の影響があったが全体としては、良い状態に保たれているといえよう。

### (2) パダン

西スマトラ州のGadut山地域では前回調査の2008年にくらべ違法伐採は一層拡大し、標高1200m以下ではまとまった成熟林はすでに消失していた。3か所の固定調査区の樹木の断面積合計は2008年から微増傾向を示した(図(4)-3)。当該地域では90年代後半から2002年まで異常乾燥気象が頻繁に発生し、それと並行して林冠木の枯死率が増大し2005年まで現存量が低下し、種構成にも変化がみられた。今回得られた結果は、2008年以降バイオマスが回復傾向にあることを示した。国立公園でないこともあり、住民らによる違法伐採が進んでおり、森林は劣化の一途にある。



図(4)-3 Padang近郊での3か所の森林固定調査区における胸高断面積合計の経年変化  
 PIN：標高600mの丘陵性多雨林。AIR：標高1130mの低山地多雨林。HPPB：アンダラス大学構内の二次林。

### (3) マンドール保護区

西カリマンタンのマンドールは熱帯ヒース林とも呼ばれるケランガス植生地帯であるが、そこは白い砂質土壌からなる。その砂は砂金を含んでいるために、保護区の大部分が砂金採掘のために掘り返され、チガヤなどがわずかに茂る荒原になっていた。残存林も大径木が切り倒されていた。もとは直径1mクラスの樹木があったが、択伐林は直径50cmを越す樹木がほとんどなかった。しかし火入れはなされていないので、種多様性は元の森林に近い状態を維持していた。サブテーマ1との共同で100m×5mの植生調査を行った結果、森林が残されているところでは257種が確認されたが、砂金採掘後の荒原では29種しか確認されなかった。3000haほどの小面積の保護区の大部分の森林が消滅した。しかし100haほどの面積で伐採が激しいとはいえ森林が残っており、この地域にはほとんど天然林が残っていないので、このような森林でも地域の種を絶滅させないためには、保護することが重要であろう。

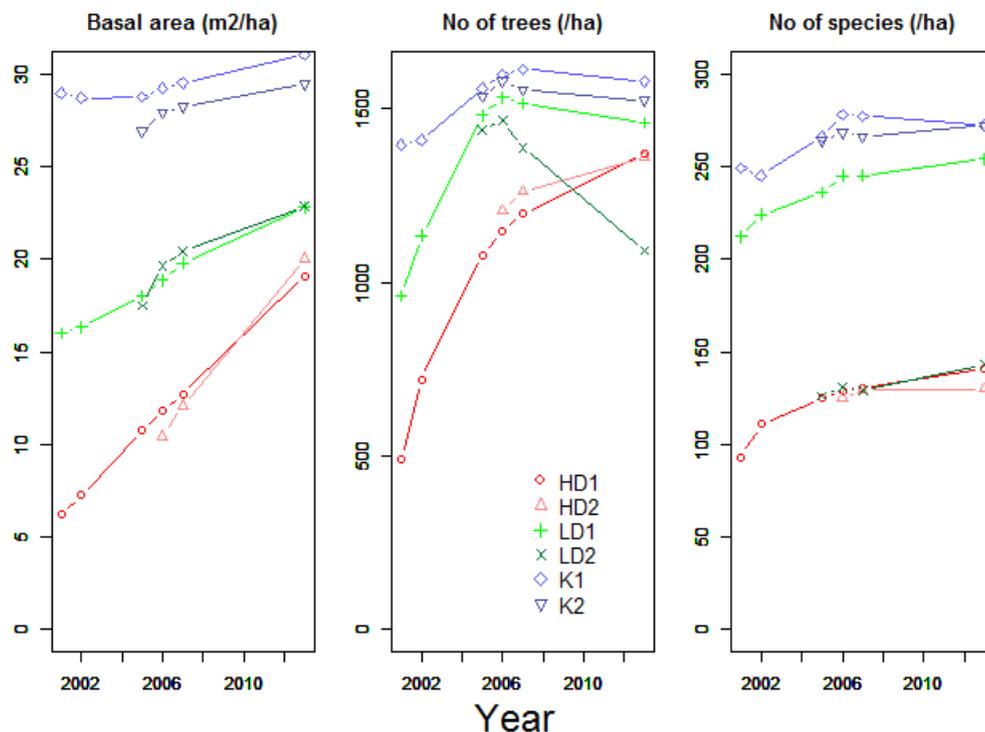
### (4) スリンブ

Niut山自然保護区のBerui山は村の水源林として数百haが保護されていたが、ほとんどが焼き畑後の数年生の二次林に変わっていた。そこには元の天然林に生育していた樹種はほとんどなかった。わずかに水源の沢に沿って数haが残されており、そこでも大径木は抜き切りされていたが、種多様性は高かった。100m×5mの植生調査では、森林が残されている水源林では392種もの植物種が確認された一方、焼き畑後の二次林では90種しか確認されなかった。また、焼き畑後の二次林では広域に分布するパイオニア植物が多く確認され、元来生育していたであろう水源林に確認された植物種と共通する種はほとんど存在しなかった。

### (5) ブキットバンキライ

6つの調査区における胸高断面積合計 (BA)、本数、種数の変化を図(4)-4に示す。2013年には幹周囲15cm以上の樹木が6haの調査区内に8524本あったが、無被害区のK1では2001~2013年に、種数は249種が272種、胸高断面積合計 (BA, m<sup>2</sup>/ha) は29.0が31.0、本数は1395が1578本といずれも1.1倍になり、燃えなかったが乾燥害にあった森林が回復過程にあるようだ。重度被害区のHD1では

図(4)-4のような変化が見られたが、2001~2013年に93種が141種と1.5倍になり、BAは6.2が19.1と3.1倍に直線的に増加した。本数も491本が1371本と2.8倍になったが増加傾向は2005年以降鈍っていた。軽度被害区は中間的傾向であるが、2006年から本数が減少した。*Macaranga*等の先駆種の多くが枯死したため、LD2では2006年の先駆種1109本が615本とほぼ半減した。ただし残った先駆種はよく成長しBAは増えた。先駆種の減少を補うほどには極相樹種が増加せず、特にフタバガキ科は萌芽性の*Cotylelobium*属以外の再生はほとんどなかった。先駆種が枯死しても*Cotylelobium*、*Schima wallichii*、*Listea firma*などが多い森林が成立し、バイオマスの回復は比較的容易だが、天然林本来の種組成を持った林ができるまでには長い年月がかかるだろう



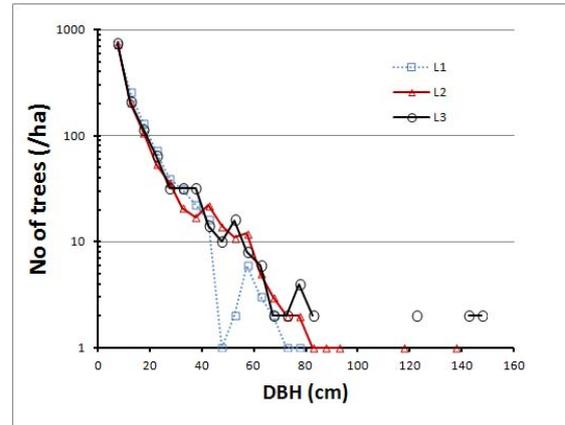
図(4)-4 6調査区の胸高断面積合計(BA)、本数、種数の変化  
強度被害区 (HD1, HD2)、軽度被害区 (LD1, LD2)、無被害区 (K1, K2)。

#### (6) レウサー山国立公園

表(4)-1に3調査区の出現種数、樹木本数などを示す。ヘクタール当たりでは3調査区とも約1300本でありあまり変わらない。出現種数は、L3が0.5ha、L1,L2が1ha調査区なので、単純に比較できない。そこでL1,L2ではそれぞれ0.5ha2つに分けた場合の出現種数を示した。それでみるとL1,L2では164~217種であるのに対して、L3では141種と少なかった。多様性指数の1種であるFisher's  $\alpha$ を計算すると、やはりL3が最も低かった。一方、胸高断面積合計 (BA)、出現した個体の最大直径ではL3が最も大きかった。

表(4)-1 3つの調査区のみとめ

	L3	L1	L2
Number of trees	1380	1376	1332
Number of species		235	289
species(/0.5ha)	141	164	189
species(/0.5ha)		176	217
Number of families	40	50	49
Fishers' $\alpha$	53.6	84.08	126.97
BA (m <sup>2</sup> /ha)	42.86	25.91	35.56
Max diameter (cm)	146.9	79	139
Max height (m)		48	54



図(4)-5 3調査区の全種のDBH頻度分布

出現科数はL1,L2,L3でそれぞれ51科, 49科, 40科であった。すべての調査区でフタバガキ科がもっとも優占していた。とくにL3でフタバガキ科の優占度が高かった。

図(4)-5に胸高直径の頻度分布を示す。全体としては3調査区とも似たような分布を持っているが、最大直径を見ると、L1,L2,L3の順に大きくなっていった。

これらの結果を見ると、森林の構造としては明らかにL1,L2,L3の順に大きな森林になっている。この順に人家から遠ざかり、L1では過去の違法伐採による切り株が残されており、そのような影響が少ないL3で、最もよく発達したフタバガキ科が見られた。表(4)-1に示したように、種数で見るとL1よりL2が多く、L2のヘクタール当たり300種近い種数はインドネシア熱帯低地林でも最大級のものである。L2でもわずかながら伐採の影響が見られたので、L2よりさらに奥地で伐採の影響が低いL3でより高い多様性が期待された。実際森林構造としてはL3が最も大きく伐採の影響は皆無と判断されたが、意外とL3の出現種数は少なかった。L3で最も本数が多かったのはトウダイグサ科の*Agrostistachys sessilifolia*で102本/haであった。この種はL1,L2には全く出現しなかったが、ケランガス林などの湿った土地に出現する種であり、土地が湿っていることを示しているだろう。ボルネオ島の泥炭湿地林でも、森林構造は適湿な土地にあるフタバガキ林と同じであっても多様性はずっと低いことが見られているが、過湿の影響は森林構造以上に多様性に影響するようだ。タンカハン地域では、人為以外にも土壌の違いが多様性や種組成に影響していると考えられる。過湿がL3の $\alpha$ 多様性を下げているが、適湿な場所、過湿な場所など様々な立地があることは、タンカハン地域全体の $\beta$ 多様性を高めていると考えられる。

この国立公園でもスハルト政権が倒れた1990年代末から2000年代初めに違法伐採がひどく、森林が荒らされ、その影響がL1などの植生に残っている。しかしその後今まで伐採に従事していた住民と協定を結びエコツーリズムにガイドとして働いてもらうなどして、住民の生活と森林保護を両立させようとしている。この地域は州都のメダンから近いこともあり観光客も多く、現在は比較的順調にいつているように見えた。

インドネシア全体としては森林減少が進んでいるが、地域によっては森林が良く保護されるようになっている地域も出現しつつある。インドネシアも経済が発展してきており、逆説的だがジャカルタやメダンなどの大都市に近い国立公園の方が、エコツーリズムなどの利用も増え、保護区を管理するスタッフも多く、保護されるようになってきているようだ。観光客が行くことがほとんどないような地域では、違法伐採などの問題が相変わらず続いている。

## 5. 本研究開発により得られた成果

### (1) 科学的意義

ジャワ島のインドネシア国内としては例外的によく管理されている国立公園内では、部分的にかく乱を受けても、周囲にいい森林が残っている場合にはかなり森林が回復することが分かった。しかし10年程度ではまだ明らかにかく乱の影響が残っていた。一方スマトラ島では違法伐採がまだ止まらず、森林は減少の一途にあった。またブキットバンイライの火災跡調査地では、遷移の一般的モデルでは、最初に侵入した*Macacanga*等の先駆種と置き換わるようにして極相種が侵入すると言われるが、今回の調査では先駆種が衰退しても、極相種がすぐに増えるとは限らないことを示しており、従来のような単純なモデルのように遷移が進まないことを示した点で科学的意義がある。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

1980年代からインドネシアを中心として森林火災が頻発するようになり、生物多様性の減少や二酸化炭素濃度の上昇を引き起こす主要因の一つになってきた。その回復には火災跡の森林再生が重要であるが本研究は森林再生が容易には進まないことを示しており、今後の熱帯林の再生を進める上で一つの指針になるだろう。レウサー国立公園では、エコツーリズムによって公園の保全と地域住民の生活を両立させようとしている。そのような活動を行うときに、基本となる自然に関する科学的知識は不可欠であるが、植物生態的な情報はほとんどなかった。今回の植物生態学的データによって、インドネシアにおける環境保護活動に貢献することができた。

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

インドネシアの保護区には日本の環境省もJICAプロジェクトなどで深くかかわってきたが、保護に力を注いできたハリムンなどでは森林が残っており、放置状態であったところは森林が消滅したことを示せたことは、環境政策へも貢献となる。

## 6. 国際共同研究等の状況

今回の5年間の調査はすべてインドネシア科学院（LIPI）生物学研究センターとの共同研究として行われた。毎回LIPIの研究者と技官が同行して共同で研究を行い、植物標本も同一個体から2点採取して、1点はLIPI、1点は鹿児島大学に持ち帰ることにした。国立公園のスタッフとも良好な関係を持っており、現地でスタッフを教育するワークショップを開くこともあった。2015年にはLIPIの研究者を鹿児島大学に招へいし、生態学会で共同で研究成果を発表した。生物多様性条約の名古屋議定書の取り決めにより生物遺伝資源の海外からの持ち込みが難しくなりつつあるが、相手国との良好な関係を築き、規則に従って持ち込んでいる。

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文（査読あり）>

- 1) E. THIAM and T. YONEDA: Tropics 21,11-20, (2012), Recent degradation process of a tropical secondary forest in West Sumatra.

- 2) E. THIAM, R. KARDIMAN, T. YONEDA and E.MUKHTAR: Tropics 21, 105-117, (2012),  
Post-logging regeneration in a mature tropical rainforest stand, Gajabuih, Ulu Gadut,

## (2) 口頭発表 (学会等)

- 1) E. SUZUKI : 5th EAFES Special Symposium, Japan, 2012.  
“Vegetation Science of Tropical Forest in Indonesia.”
- 2) T. YONEDA: International symposium as anniversary of Dept of Biology (50th), Andalas University, Padang, INDONESIA, (Keynote Speech), 2012.  
“Impacts of Natural and Anthropogenic Disturbance on Biodiversity of the Tropical Rain Forest in West Sumatra.”
- 3) 鈴木英治・EDI SAMBAS: 日本生態学会静岡大会 (2013)  
「西カリマンタンの保護区における森林劣化の現状」
- 4) 鈴木英治, R. SUSANTI, D. ROSLE, 清水英幸, H. SIMBOLON: 日本生態学会広島大会 (ITB) (2014)  
「火災から15年目のインドネシア東カリマンタンの熱帯低地林」
- 5) EIJI SUZUKI, RULIYANA SUSANTI: 日本生態学会大62回鹿児島大会 (2015)  
“Tropical rainforest vegetation in Tangkahan area, Mt. Leuser National Park, North Sumatra”
- 6) 鈴木英治, 川原大基, BAYU ARIEF PRATAMA, KUSMA RAHWAWAT: 日本生態学会大63回仙台大会 (2016)  
「北スマトラ・レウサー山国立公園の植生」

## (3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

## (4) 「国民と科学・技術対話」の実施

特に記載すべき事項はない。

## (5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

## (6) その他

特に記載すべき事項はない。

## 8. 引用文献

特に記載すべき事項はない。

## (5) アジアの標本データと分子系統解析を統合した植物分布解析と絶滅リスク評価

首都大学東京 理工学研究科

村上 哲明

平成23～27年度累計予算額：5,095千円（うち平成27年度：930千円）

予算額は、間接経費を含む。

### [要旨]

保全上重要な地域を特定するためには、多様な生物群についてそれぞれの生物多様性が高いホットスポット地域を明らかにし、それらの情報を比較・統合する必要がある。本研究では、サブテーマ6～8と連携して、湿った環境を好むシダ植物、乾燥した環境を好むマメ科植物、そして多くの被子植物群と共生関係にあるハナバチ類の3群のホットスポット地域を比較することによって、アジアにおいて保全上特に重要な地域の特定を試みた。その結果、インドシナ北部、中国・海南島、インド南部、フィリピン・ルソン島は、生育環境が最も異なるシダ植物とマメ科植物における共通ホットスポット地域であることが明らかになった。さらに、その中でも、インド南部とフィリピン・ルソン島は、ハナバチ類も含めてこれら3群の生物に共通するホットスポット地域であった。生態的特性が大きく異なる3群の生物の間で共通するホットスポット地域であったこれらの地域は、他の様々な生物群にとっても生物多様性の高い地域である可能性高いと考えられる。一方で、これらの地域はこれまで、アジアにおいて保全上特に重要な地域とは考えられていなかった。このような地域の重要性を科学的に示せたことは、本研究の大きな研究成果である。

### [キーワード]

シダ植物、マメ科植物、ハナバチ類、生物多様性、共通ホットスポット地域

### 1. はじめに

アジア地域において生物の多様性の高い地域（ホットスポット）を把握し、保全上重要な地域を特定することは、近年、無秩序な開発が行われて急速な環境破壊が進みつつあるこの地域で喫緊の課題である。ホットスポットを特定できれば、保全活動を効率的に行えると考えられるからである<sup>1)</sup>。一方、アジア地域の中でも特に東南アジアは地球上で生物多様性が最も高い地域の一つと考えられているが、その生物相の解明は中南米やアフリカの熱帯地域と比べても遅れている。したがって、全生物を対象にしてアジアで生物多様性が特に高い地域を特定しようとしても、それは不可能である。そのため、アジアにおいて生物相の研究が既にある程度進んでおり、しかも他の多くの生物群の多様度も高い相関があると考えられるような生物群で代表させて生物多様性のホットスポット地域を特定することが現実的である。

本サブテーマではサブテーマ6、7、8と連携して、湿った環境を好むシダ植物、乾燥した環境を好むマメ科植物、そして多くの被子植物群と共生関係にあるハナバチ類の3群を生物の代表として扱い、それぞれのアジアにおける生物多様性ホットスポット地域を比較することで、保全上特に重要な地域の特定を試みた。

## 2. 研究開発目的

一般的に湿った環境を好み山地雲霧帯などで種多様性が高いシダ植物、比較的乾燥した季節林や草原などで種多様性が高くなるマメ科植物、さらには多くの被子植物と密接な共生関係にあり、その生殖にも大きく関与しているハナバチ類の3群について、サブテーマの6、7、8がそれぞれ明らかにしたアジアにおける種・系統的多様性の高い地域を比較し、これらの生物群に共通する生物多様性ホットスポット地域を特定することを本サブテーマの目的とした。もし、これら生態的特性の大きく異なる生物群間で共通するホットスポット地域が存在すれば、それは保全上も特に重視すべき地域となると考えられるからである。多様な環境を好む様々な生物群にとって多様性が高い地域が、万一、広く破壊されれば、生物多様性が一気に失われることが予想されるからである。

## 3. 研究開発方法

サブテーマ6-8ではそれぞれ、シダ植物、マメ科植物、ハナバチ類についてアジア各地で採集された標本のデータ等を集約することによって、アジアの地域ごとに種多様性の高低が評価された。同時に狭分布種をリストアップし、それらが集中分布しているホットスポット地域も明らかにされている。サブテーマ5では、サブテーマ7と共同でシダ植物のアジアにおけるホットスポット地域を特定した。さらに、サブテーマ6と8で提示されたマメ科植物とハナバチ類のホットスポット地域とも比較をしてアジアの生物多様性ホットスポット地域の解析を進めた。

植物と密接に共生関係にあるハナバチについても、湿った環境を好む植物と乾いた環境を好む植物のどちらの種多様性が高い地域でその多様性が高いか、植物の種多様性や希少種の多様性が高い地域と、ハナバチ類の種多様性が高い地域がどの程度一致するのかを検討した。

さらに、これらの情報を総合して多様な生物間で共通するホットスポット地域、すなわちアジアにおいて優先的に保全すべき地域を提示して、野生生物の絶滅リスクの低減をはかる。

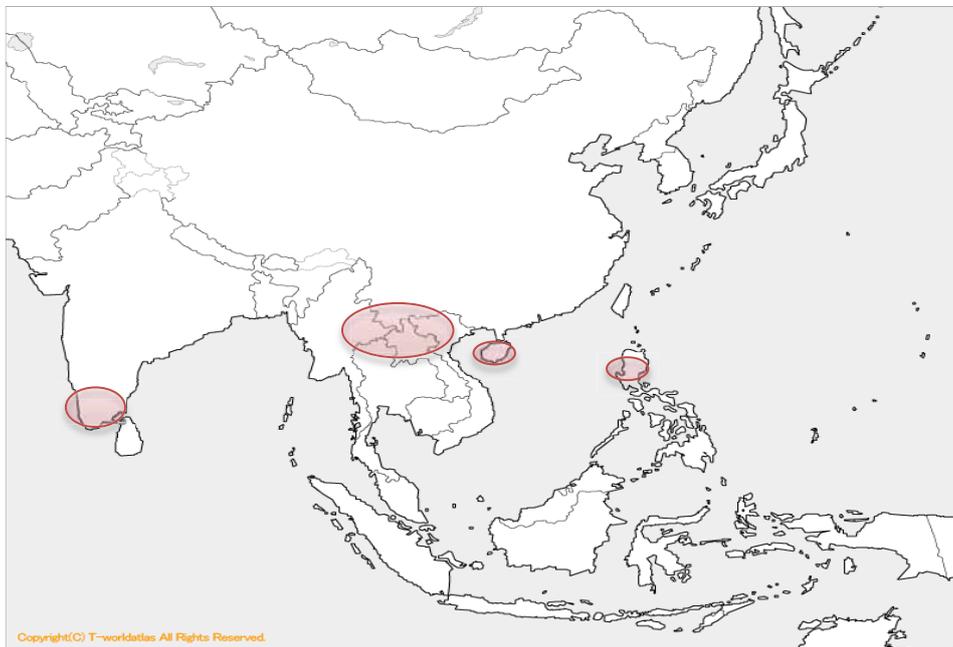
## 4. 結果及び考察

サブテーマ7と共同で、アジアにおけるシダ植物の種多様性の特に高い地域を特定して、後述する図(7)-3のホットスポット地図として示すことができた。分子系統樹に基づく系統的多様性を考慮した解析も行ったが、結果は種多様性のみに基づくものと変わらなかった。微細な孢子で繁殖するシダ植物は移動能力が高く、ある場所で特定の系統群の種多様性のみが高いことはほとんどなく、種多様性が高い地域はそれに比例する形で系統的多様性も高くなるからであろう。さて、シダ植物の種多様性が高い地域をみると、マレーシア・サバ州キナバル山周辺、中国・雲南省、インドシナ北部（ベトナム北部～雲南省最南部）、フィリピン・ルソン島、インドネシア・ボルネオ島とセラム島、スリランカ～インド最南部、中国・四川省峨眉山周辺、中国・海南島などがシダ植物のホットスポット地域であることが示されている。これらの地域は、アジアのシダ植物相に詳しい専門家が多くの狭分布種が生育すると考えていた地域ともきわめて良く一致していたので、これらはシダ植物のアジアにおけるホットスポット地域として妥当と考えられる。上述したように、シダ植物は山地雲霧林など一年中湿潤な環境下で種多様性が最も高くなると考えられているが、上記のホットスポット地域はまさにそのような環境を多く含む場所でもあった。

一方で、サブテーマ6が明らかにしたマメ科植物のホットスポット地域（図(6)-3）を見ると、

インドシナ南部（カンボジア、ベトナム南部、タイ中部～東北部）、インドシナ北部（タイ北部、ベトナム北部、中国・雲南省最南部）、中国・海南島、インド・アンダマン諸島、インド最南部、フィリピン・ルソン島などがホットスポット地域となっている。こちらも、分子系統樹に基づく系統的多様性を考慮しても結果はほとんど変わらなかった。マメ科植物は、乾燥した林や草原などで種多様性が高くなると考えられているが、マメ科植物のホットスポット地域が最も密集して存在していたインドシナ南部の平野部はまさにそのような地域である。一方、湿潤な環境下で種多様性が高くなったシダ植物では、インドシナ南部の平野部は種多様性の非常に低い地域となっている。逆に、シダ植物で最も種多様性が高かったマレーシア・キナバル山周辺は、マメ科植物では特に種多様性の高い地域になっていない（そもそも、ボルネオ島には特に種多様性の高い地域が認められない）。このように、生態的特性が大きく異なるマメ科植物とシダ植物では、アジア地域内で最も種多様性の高くなる地域が異なっていた。これは予想されたことである。

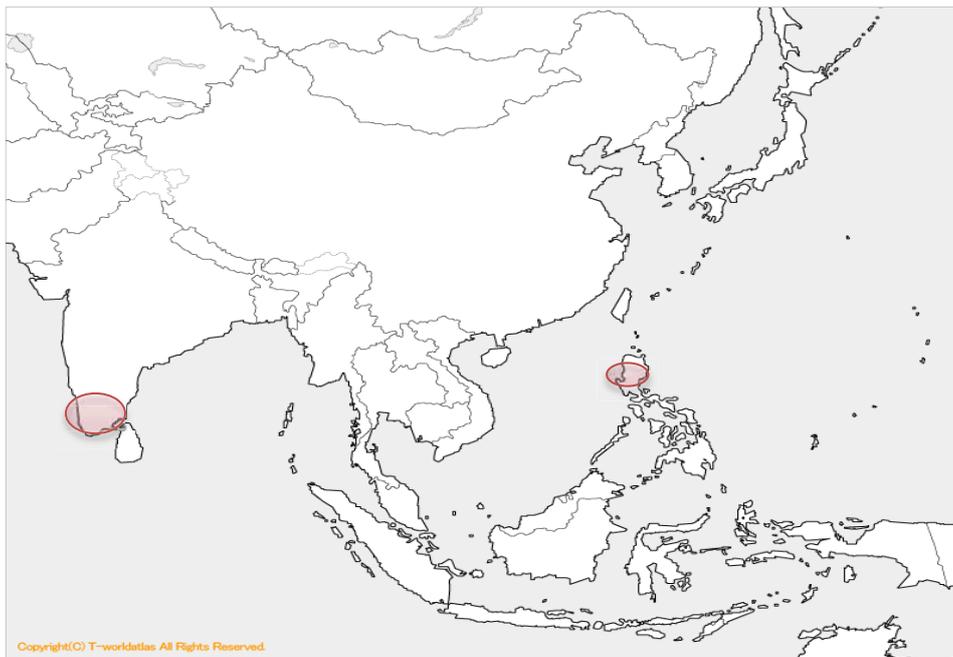
ところが、シダ植物とマメ科植物の両方で種多様性の高い地域となっている場所もいくつか見出された（図(5)-1）。それは、インドシナ北部、中国・海南島、インド南部、フィリピン・ルソン島などである。その中でも特にインドシナ北部は、両者ともかなり種多様性の高い地域となっている。その理由としては、通年通じて湿潤な熱帯山地林と乾期に大部分の高木種が落葉する熱帯季節林の両方が近接して分布していることが考えられる。いずれにしても、シダ植物とマメ科植物の両方で共通するホットスポット地域となっているこれらの地域は、保全上、非常に重視すべき地域であると言えるだろう。



図(5)-1 シダ類とマメ科植物に共通するアジアのホットスポット地域

次にハナバチ類のホットスポット地域（図(8)-4）を見ると、最も種多様性の高い地域は、インドの西北部となっている。この地域はシダ植物でもマメ科植物でも、特にホットスポットとはなっていないところなので、ハナバチ類独自のものである。とはいえ、ハナバチ類は多くの被子植物の花粉媒介を担っている生物なので、ハナバチ類の生物多様性が特に高い地域は保全を考える上で十分に考慮に値する地域ではある。

その他のハナバチ類のホットスポット地域としては、インド南部、フィリピンのルソン島とミンダナオ島などが明確に示されている。さらに標本情報がまだ十分でないものの、インドシナの北部と南部、中国・海南島も、その種多様性が高くなっている可能性が示された。これを、シダ植物、マメ科植物のホットスポット地域と比較してみると、シダ植物よりもマメ科植物のホットスポット地域とよく似ていることがわかる。ハナバチ類も、マメ科植物と同様に湿潤な森林ではなく草原や比較的乾燥した林で種多様性が高くなる生物だからであろう。しかしながら、シダ植物とマメ科植物で共通して種多様性が高いホットスポット地域であったインド南部、フィリピン・ルソン島は、ハナバチ類まで含めても共通するホットスポット地域であることが明らかになった（図(5)-2）。



図(5)-2 シダ類、マメ科植物、ハナバチ類に共通するアジアのホットスポット地域

最初に述べたように、シダ植物、マメ科植物、ハナバチ類という生態特性が大きく異なる生物群に共通して多様性のホットスポットになっている地域は、これら3群の生物以外にとってもホットスポット地域になっていることが十分に期待できる。したがって、図(5)-2に示された地域は、アジアにおいて最優先で保全をするべき地域と言えるだろう。これら3群の生物のアジアにおける種多様性ホットスポット地域を見ると、湿潤な環境を好むシダ植物の種多様性が特に高いマレーシア・キナバル山周辺や中国雲南省・横断山脈などは、これまででも保全上重要な場所であることが十分に認識されていて、国立公園などに指定されている。一方、マメ科植物とハナバチ類の種

多様性がそれぞれ最も高かったインドシナ南部の平野地帯とインド西北部などは、必ずしもそうではない。比較的乾燥した環境を好む生物群の種多様性が高い地域の保全には今後、特に留意する必要があるだろう。

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

サブテーマ5では、サブテーマ6～8の研究により標本情報に基づいて明らかにされたアジアにおけるシダ植物、マメ科植物、ハナバチ類のホットスポット地域を比較した。その結果、インド南部とフィリピンのルソン島がこれら3群の生物に共通するホットスポット地域であることが明らかになった。湿潤な環境を好むシダ植物と比較的乾燥した草原を好むマメ科植物とハナバチ類に共通するホットスポット地域は、まさに多様な生態的特性をもつ生物に共通するホットスポット地域である可能性が高いと考えられる。しかし、インド南部やフィリピンのルソン島は、アジアにおいて最優先で保全すべき地域とはこれまで考えられてはいなかった。これらの地域の重要性を科学的に示せたことは、大きな研究成果である。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

国際的にアジア地域における生物多様性保全政策を策定する、あるいはそのための経済援助等を日本政府が行う際に、優先すべき地域を判断する上で非常に重要な情報を提供できる。

## 6. 国際共同研究等の状況

サブテーマ7と連携してアジアにおけるシダ植物の種多様性ホットスポット地域の解明するために以下の研究者と共同研究を行った。

Xian-Chung Zhang (中国・国立標本館)、Wen-Liang Chiou (台湾・林業試験所)、

Titien Ngatinem Praptosuwiryo (インドネシア・ボゴール植物園)、

Christopher Roy Fraser-Jenkins (ネパール)、Barbara S. Parris(ニュージーランド)

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文(査読あり)>

- 1) A. EBIHARA, C. R. FRASER-JENKINS, B. S. PARRIS, X.-C. ZHANG, Y.-H. YANG, W.-L. CHIOU, H.-M. CHANG, S. LINDSAY, D. MIDDLETON, M. KATO, T. N. PRAPTOSUWIRYO, V. B. AMOROSO, J. F. BARCELONA, R. H. G. RANIL, C.-H. PARK, N. MURAKAMI and A. HOYA: Bull. Natn. Mus. Nat. Sci. B, 38: 93-119 (2012), Rare and threatened pteridophytes of Asia 1. An enumeration of narrowly distributed taxa.
- 2) K. HORI, A. TONO, K. FUJIMOTO, J. KATO, A. EBIHARA, Y. WATANO and N. MURAKAMI: J.

Plant Res. 127: 661-684 (2014), Reticulate evolution in the apogamous *Dryopteris varia* complex (Dryopteridaceae, subg. *Erythrovariae*, sect. *Variae*) and its related sexual species in Japan.

- 3) K. HORI, A. EBIHARA, N. NAKATO and N. MURAKAMI: Acta Phytotax. Geobot. 66: 47-57 (2015), *Dryopteris protobissetiana* (Dryopteridaceae), a new diploid sexual species of the *Dryopteris varia* complex (subg. *Erythrovariae*, sect. *Variae*) from Yakushima Island, Kagoshima, Japan.
- 4) K. HORI, M. MATSUMOTO, N. NAKATO, A. EBIHARA and N. MURAKAMI: Acta Phytotax. Geobot. 66: 35-45 (2015), Geographical distribution of sexual and apogamous types of *Dryopteris chinensis* (Dryopteridaceae) in Japan.

## (2) 口頭発表 (学会等)

- 1) N. MURAKAMI: The 6th Asian Fern Symposium, Bali Botanic Garden, Indonesia. 2014. “Genetic diversification of apogamous ferns through hybridization with sexual relatives.”
- 2) K. HORI, A. TONO, K. FUJIMOTO, J. KATO, A. EBIHARA, Y. WATANO and N. MURAKAMI: The 6th Asian Fern Symposium, Bali Botanic Garden, Indonesia. 2014. “Reticulate evolution in the apogamous *Dryopteris varia* complex (Dryopteridaceae, subg. *Erthrovariae*, sect. *Variae*) and its related sexual species in Japan.”
- 3) K. HORI, A. TONO, K. FUJIMOTO, J. KATO, A. EBIHARA, Y. WATANO and N. MURAKAMI: Next Generation Pteridology, 12th Symposium of the International Organization of Plant Biosystematists, Washington DC, USA. 2015. “Reticulate evolution in the apogamous *Dryopteris varia* complex and its sexual relatives.”
- 4) 堀清鷹・奥山雄大・綿野泰行・村上哲明: 日本植物学会第79回大会 (新潟) 平成27年「5種類の核マーカーを用いた無配生殖種複合体イタチシダ類における網状進化の解析」
- 5) 堀清鷹・綿野泰行・村上哲明: 日本植物分類学会第14回大会 (福島) 平成27年「無配生殖種オオベニシダの雑種起源」
- 6) 堀清鷹・奥山雄大・海老原淳・綿野泰行・村上哲明: 日本植物分類学会第15回大会 (富山) 平成28年「複数の核マーカーを用いたイタチシダ類の分子分類」

## (3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

## (4) 「国民との科学・技術対話」の実施

特に記載すべき事項はない。

## (5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

## (6) その他

特に記載すべき事項はない。

## 8. 引用文献

- 1) N. MYERS, R. A. MITTERMEIER, C. G. MITTERMEIER, G. A. B. DA FONSECA and J. KENT:  
Nature 403: 853-858 (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities recognize it in working  
on the spot, which will lower the administrative cost.

## (6) アジア産マメ科植物の種・系統多様性評価

琉球大学熱帯生物圏研究センター

梶田 忠

平成23年度～27年度累計予算額：29,355千円（うち平成27年度：5,363千円）

予算額は、間接経費を含む。

### [要旨]

アジア地域の複数属のマメ科植物について、ハーバリウム標本から得られた分布情報をデータベース化して、種ごとの分布モデルを作成した。得られた分布モデルを、属単位で重ね合わせることで、グリッドごとに分布が推定される種数を推定し、種多様性のホットスポットマップを作成した。また、汎用化を目指して推定方法をワークフローにまとめた。この方法を用いることで、理論上は他のどの陸上植物においても、世界中の標本館に蓄積されている情報を有効に活用して、種多様性のホットスポット解析が行えることになる。また、系統多様性評価のための遺伝情報を収集して、系統多様性のホットスポットマップも作成したところ、種多様性のホットスポットマップと強い相関を示した。

### [キーワード]

マメ科植物、種分布モデル、ホットスポット、種多様性、系統多様性

### 1. はじめに

どの植物がどこに分布しているかは、植物を利用してきた人類にとって、生存に必要な基本情報であり、自然科学がはじまって以来の根源的な疑問である。この疑問に答えるものとして発展した植物分類学は、300年にもおよぶ自然界の探求の成果として、文献や植物標本の形で、地球上の植物多様性を記録にとどめてきた。特に、ハーバリウム（植物標本庫）は、植物分類学の基盤として存在するもので、研究者によって採集された世界各地の植物標本を保存してきた。ハーバリウムに保管されたハーバリウム標本は、生育地で実際に採集された植物を圧縮・乾燥した標本であり、どの植物がどこに生育していたかの直接的証拠である。植物研究者は、世界各地で調査・研究を行うことで、地球上の植物多様性に関する証拠を植物標本の形で蓄積してきたのである。また、このようにして世界各地から得られたハーバリウム標本が蓄積されることによって初めて、分類体系が整備され、また、植物の地球上における分布域が明らかになった。論文や、植物誌や、モノグラフなどの文献で発表される植物の分布情報は、極論するならば、ハーバリウム標本から得られた情報に、研究者の自身の観察や、知識や、経験による推測を加えて得られた、二次的投影であると言える。しかし、分布域の推定方法には研究者の経験や知識に頼るところも多くある。また、植物の分布域は地図上のある範囲を線で囲って示されることが多いが、分布域の範囲内でどのように集中分布しているか、あるいは、分布が集中する場所が複数の種で共通しているか等、分布の詳細情報については統一的には解析されて来なかった。

1990年代後半になって、ハーバリウム標本のデータの電子化が進み、また、それを解析する手法に飛躍的な発展があった。まず、世界各地のハーバリウムが、ハーバリウム標本のラベルデー

タや、標本画像そのものを電子化し、データベースとして保管するようになった。特に、標本が採集された場所が位置情報として電子化されれば、それを地図上にプロットすることで、分布図として表示することができるようになった。しかし、植物標本全てが電子化されているわけではないことや、電子化された情報の確からしさには問題は残る。次に、地球上の気温や降水量などの環境データのデータベースが整備されたおかげで、生物の分布地点における環境データを得ることが容易になった。これにより、植物標本が採集された地点の環境データを取得して、種分布モデル解析という手法で解析することにより、その植物の潜在的な分布域を推定できるようになった。この手法を用いて推定された分布域を重ね合わせることで、多くの種が集中的に分布している地域（ホットスポット）を推定することが可能になる。さらに、近年の分子系統学的研究の発展により、外部形態で区別された種の多様性の解析に、系統多様性を加えた解析を行うことも可能になった。

以上のように、歴史的に蓄積された植物の標本情報と、近年発達してきた解析方法を組み合わせることで、従来では為し得なかったホットスポットの推定が可能になる。本サブテーマでは、アジアに広く分布する植物を対象に、ホットスポット解析手法の汎用ワークフローの作成を目指した。

## 2. 研究開発目的

ホットスポット地図の整備は、S9全体の研究開発目的の一つであり、本サブテーマは、それをマメ科植物について行ったものである。本サブテーマの目的は、（1）ハーバリウム標本に基づくホットスポット解析を、アジア地域のマメ科植物の複数の属について用いることで、解析手法の標準化を行うこと。また、（2）対象とする植物群について系統多様性を推定し、従来の外部形態で認識された種について得られたホットスポットが、系統の多様性を反映しているかどうかをテストすることである。

まず、本サブテーマでマメ科植物に注目した理由は、有用植物が多く汎世界的に分布すること、ハビタットが多様であること、送粉動物の損失の影響を大きく受ける種が多いこと、モデル植物2種を含む3種について全ゲノムが決定されていること等、全球レベルの生物多様性評価を行う上で、モデルグループとして適した植物群であるためである。本研究では、マメ科植物のうち、森林樹木、つる性植物、海岸から内陸まで分布する草本など、多様なハビタットを代表するようなグループについて解析を行った。

次に、ハーバリウム標本に基づくホットスポット解析では、分布情報の解析に種分布モデルを導入し、複数の種から得られた種分布モデルを重ね合わせる事で、種多様性のホットスポット解析を行った。また、そのための標準的手法を確立した。ハーバリウム標本は植物研究者が蓄積してきたもので、使用にあたっては方法の項で述べるようなノイズに注意する必要がある。本サブテーマでは、それらのノイズを取り除き、対象とする分類群についてのホットスポット解析を実施できるまでの、データを準備した。得られたデータの解析は、テーマ1のメンバーと協力して行った。

また、対象とする分類群について系統多様性を推定して、従来の外部形態で認識された種について得られたホットスポットが、系統（すなわち、進化の歴史）の多様性を反映しているかどうかをテストした。ハーバリウムに保存されている植物標本は、外部形態で認識される種ごとに分

類されているため、種の違いが、どれほどの系統の多様性を反映しているかは分からない。本研究では、対象とするグループから可能な限りDNAの塩基配列情報を得て、種間の系統関係を推定して、系統多様性 (PD) を得た。得られたデータの解析は、テーマ1のメンバーと協力して行った。

### 3. 研究開発方法

本サブテーマで実施した研究は、(1) ハーバリウム標本からのデータ収集・解析と、(2) 系統多様性データの収集・解析の2つに大きく分けられる。いずれの場合においても、種分布モデルを用いた解析は、テーマ1のメンバーと協力して行った。

#### (1) ハーバリウム標本からのデータ収集

アジア産マメ科植物の中でも、様々なハビタットに分布する植物からのデータを得るために、木本の*Dalbergia*, つる植物の*Mucuna*, 草本や灌木の*Desmodium*, つる性草本の*Vigna*, *Canavalia*, 木本性つる植物の*Bauhinia*の6属を対象にハーバリウム標本データを収集した。このうち、*Bauhinia*属については、サブテーマ1のメンバーによって、収集・解析が行われた。

現在、世界の多くのハーバリウムが、保有するハーバリウム標本のデータを電子化しようとしている。また、電子化されたデータが、データベースとして、すでに研究者に提供されている場合もある。その一方で、例えば、電子化のプロジェクトが実施されていても、必ずしも収蔵されている標本の全てが電子化されていない場合も多くある。例えば、英国王立Kew植物園のハーバリウムのマメ科植物標本のコレクションは世界最大規模であるが、標本情報の電子化進行状況は10%に満たない。そこで、本研究では、電子化されたデータベースからデータを収集すると同時に、世界の主要ハーバリウムから標本の電子画像を独自に収集することで、網羅的なデータを得ることを目指した。データベースおよびハーバリウム標本から抽出したデータは、重複レコードの削除、ILDISデータベースに基づく異名の標準名への変換、標本ラベルの採集地データに基づく緯度・経度情報の追加、採集地点データの精度の追加という、一連の標本データのクリーニング作業を行った後、テーマ1メンバーと協力して、種分布モデルによる解析を行った。

#### (2) 系統多様性情報の収集

系統多様性情報の収集に必要なDNAサンプルは、海外の共同研究者がフィールドワークで蓄積してきたものに加え、世界各地の主要ハーバリウムに保管されているハーバリウム標本のうち、比較的新しく、状態の良いものから得た。ハーバリウム標本からのデータ収集で対象とした6属 (*Dalbergia*, *Mucuna*, *Desmodium*, *Vigna*, *Canavalia*) を対象として、葉緑体DNAの複数の遺伝子間領域 (trnS-trnG, atpB-rbcL, 他) や、核DNAのrDNA ITS領域などをマーカーとして使い、主にサンガー法によって塩基配列を決定した。また、次世代シーケンサーを用いたアンプリコンシーケンシングによって、効率的にデータを収集する方法の開発も行った。

#### (3) ホットスポット解析系統多様性情報の収集

上記の方法で得られたハーバリウム標本からのデータ、及び、系統多様性のデータを用いたホットスポット解析は、テーマ1のメンバーと協力して行った。種分布モデルの解析では、標本の採集地点のデータをMaxentで解析し、種毎に得られた種分布モデルを重ね合わせて、属毎のホッ

トスポットマップとした。また、土地利用データを合わせて解析することで、種毎の絶滅リスクの推定も行った。系統多様性としてMPD (Mean phylogenetic distance) を用いた解析を行うことで、種多様性から推定されたホットスポットマップが、系統多様性を反映しているかどうかもテストした。

#### 4. 結果及び考察

##### (1) ハーバリウム標本からのデータ収集と解析方法の標準化

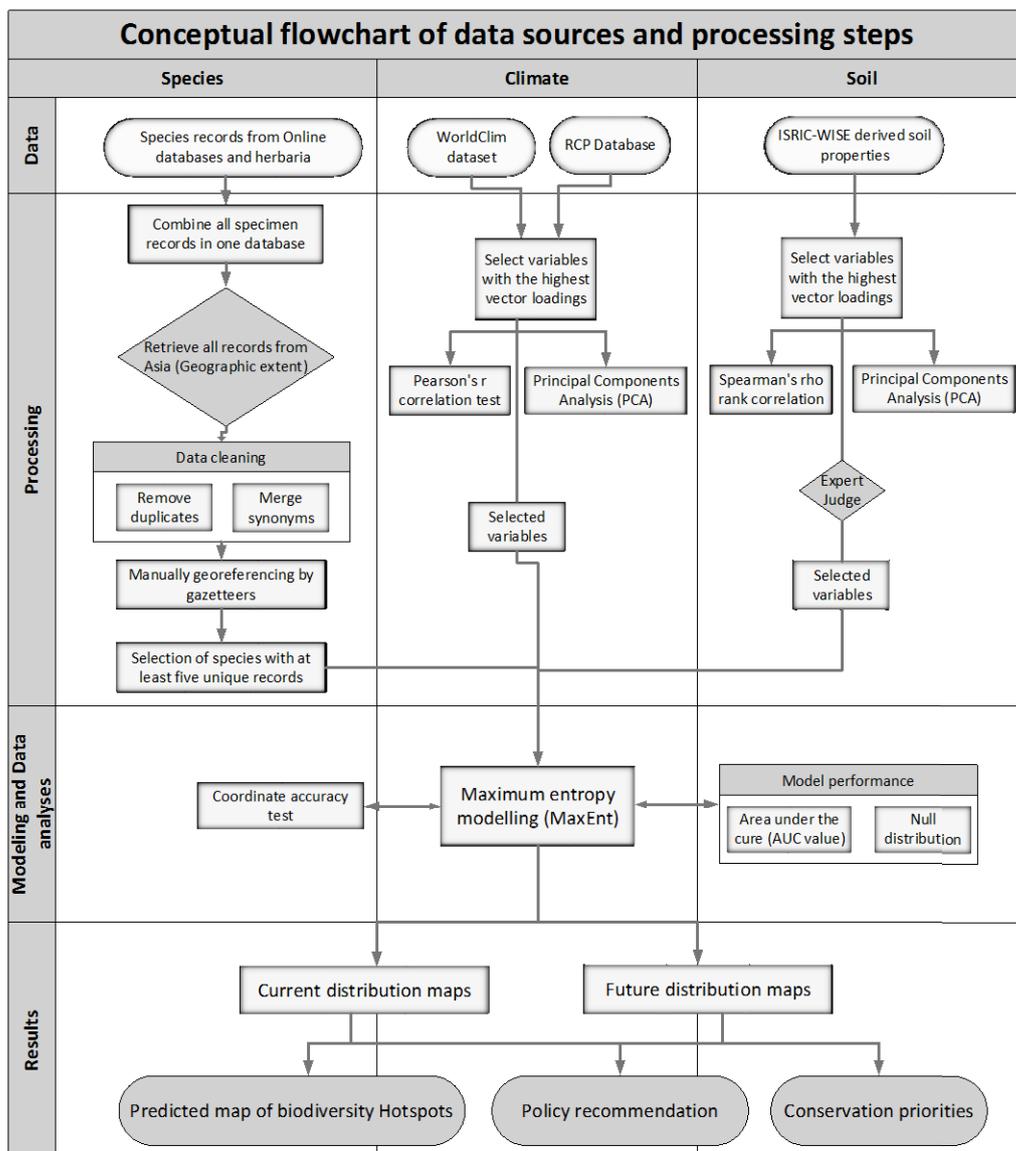
ハーバリウム標本からのデータ収集では、英国王立Kew植物園およびEdinburgh植物園、オランダ自然史博物館、フランス国立自然史博物館、Missouri植物園、Uppsala大学およびStockholm大学植物標本館から、対象とするマメ科植物の標本データを収集した。また、GBIF,TROPICOS等のオンラインで公開されている標本データベースからデータを取得すると共に、オランダ国立標本館(NHN)やタイ植物標本庫、エジンバラ植物園等で保有している標本データベースからもデータの提供を受けた。これらの標本データについては、同じ標本 (duplicate) が複数のハーバリウムや複数のデータベースに保存されているなど、重複データとなっている場合がある。また、分類学的扱いが変わることで、同じ標本が別の名前で登録されている場合もあり、いずれも、ホットスポット解析を行う上でのノイズを生み出す原因となる。これらの問題点を整理して標本データをクリーニングして、対象属のうち5属からは、ホットスポット解析に用いることのできるデータセットを得た (表(6)-1)。また、テーマ1のメンバーと共同で、ハーバリウム標本を用いたデータ収集から、ホットスポット解析までの実施手順の汎用ワークフローをフローチャートとしてまとめた (図(6)-1)。このワークフローは、本サブテーマで対象としたマメ科植物以外でも、標本データを用いてホットスポット解析を行う研究一般に用いることができる、汎用的な手順である。

##### (2) 系統多様性解析のためのデータ収集

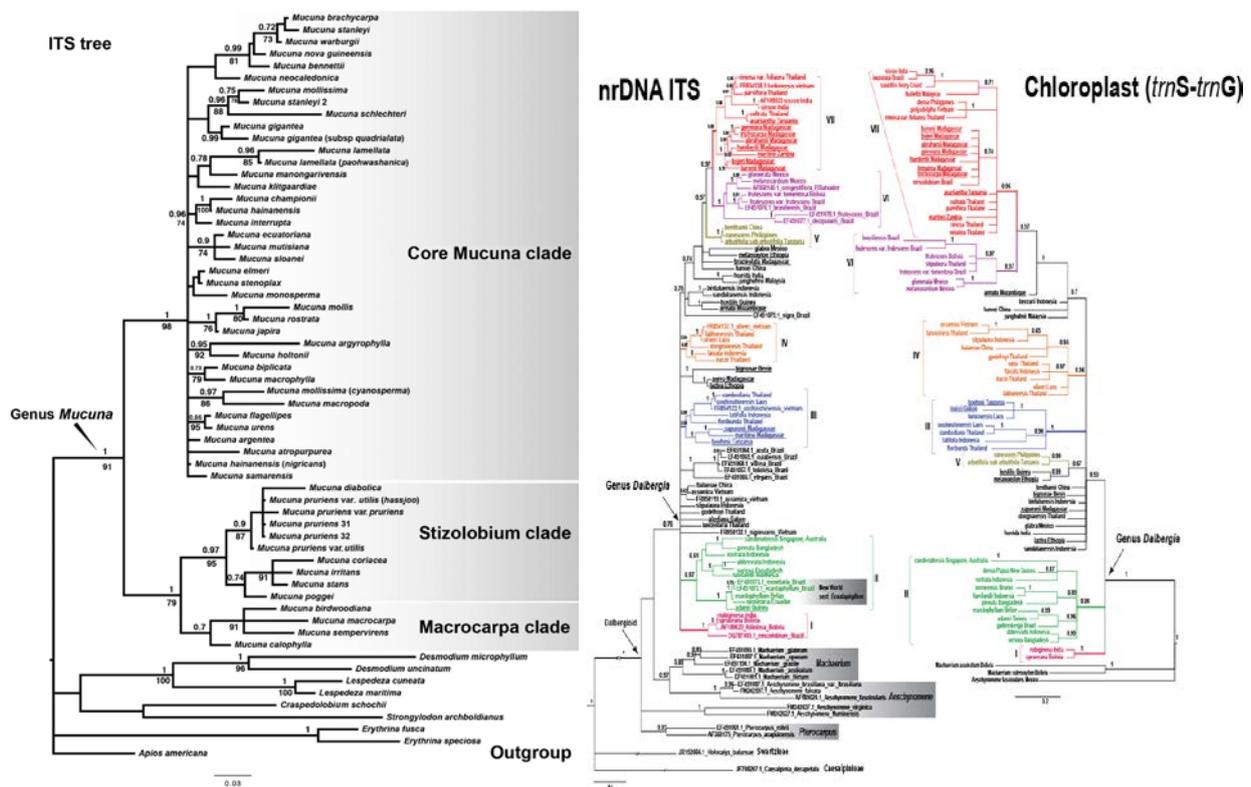
上記ハーバリウムで研究を実施した際、研究対象のうち5属 (*Dalbergia*, *Mucuna*, *Desmodium*, *Vigna*, *Canavalia*) については、比較的新しい標本が保存されており、かつ、そのハーバリウムから許可が得られる場合には、標本の一部の提供を受けてDNA抽出実験に用いた。また、海外の複数の研究者と共同研究体制を構築し、海外で収集されたDNAサンプルの提供を受けた。これらのDNAサンプルについて、複数の遺伝子領域の塩基配列データを収集し、系統解析を行った (図(6)-2)。また、いくつかの広域分布種については、種内の系統多様性を見積もるために、分布域を広くカバーするような複数のサンプルを用いた解析も行った。これまでに、*Dalbergia*属、*Mucuna*属、*Canavalia*属、*Desmodium*属については、系統多様性の計算に用いることができる系統解析の結果が得られた。これらはいずれも、マメ科植物の中で十分に系統関係が分かっていたグループであり、本研究で明らかになった種間の系統関係が、今後の様々な研究に用いられることが期待できる。また、*Vigna*属と*Canavalia*属の一部については、広域分布種の種内に大きな地域的変異が存在することを示すデータが得られた。この結果は、今後、広域分布種を含めた解析を行う場合、種内変異を考慮した解析に用いることができる。

表(6)-1 本サブテーマで対象5属のアジア産標本データの集計

属	標本点数 位置情報有り	標本点数 位置情報無し	データを得た アジア産種数	属内全種数 (ILDIS)
<i>Dalbergia</i>	3054	978	118	317
<i>Mucuna</i>	935	1100	68	102
<i>Desmodium</i>	13441	4926	222	389
<i>Vigna</i>	1287	8551	105	140
<i>Bauhinia</i>	2094	2282	319	415



図(6)-1 標本データを用いたホットスポット地図作成と将来予測解析のフローチャート



図(6-2) 核rDNA ITS領域を用いた系統樹

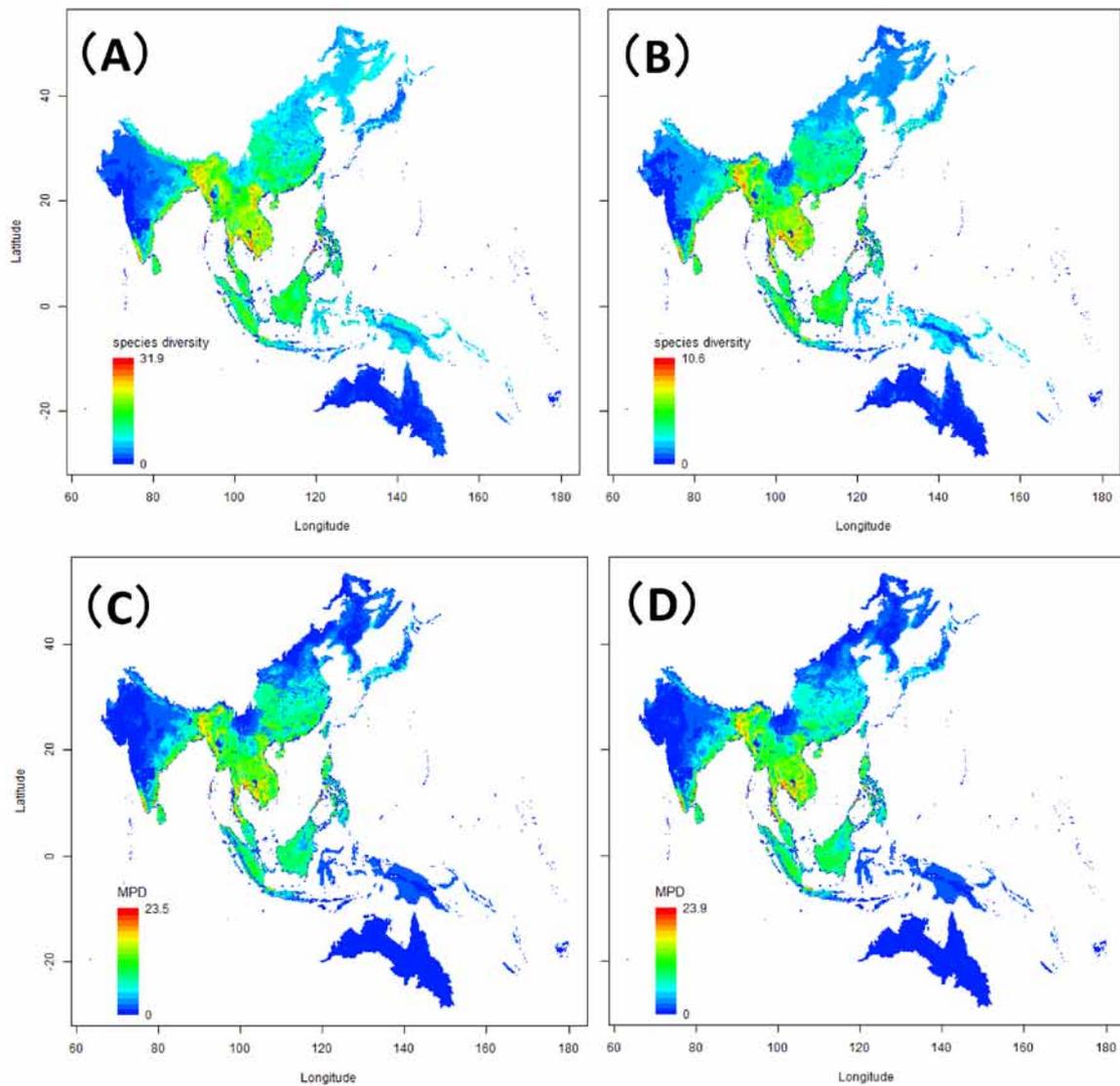
*Mucuna*属の系統樹（左）と核rDNA ITS及びETS領域を用いた*Dalbergia*属の系統樹（右）。

### (3) 種多様性および系統多様性のホットスポット解析

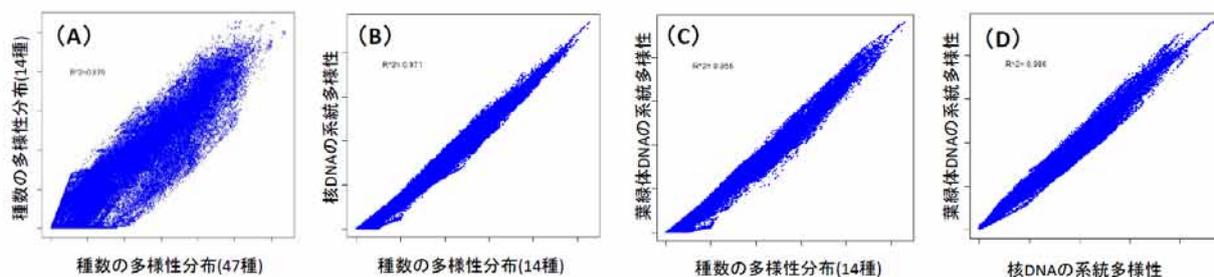
ホットスポットの解析は、本サブテーマで準備したデータを用いて、テーマ1メンバーと協力して行った(図(6-3))。*Dalbergia*の例では、アジア産118種のうち47種について、種毎の分布モデルを推定し、分布モデルを重ね合わせることで、多様性のホットスポットマップを作成した(図(6-3A))。残りの71種については、標本情報が5点未満の、いわゆる希少種である。また、土地利用の変化マップとあわせて解析することで絶滅リスクを評価した(図(6-3B))。一部の種についてIUCNの絶滅リスク評価と比較したところ、*Dalbergia parviflora*は今回の結果で高いリスクを示しているが、IUCNではleast concern (LC) になっており、今回用いた方法によって、絶滅リスクの高い種を新た抽出できた可能性がある。また、*Dalbergia*においては、インドシナ半島およびボルネオ島に、ホットスポットがあることが示された。また、*Mucuna*属と*Desmodium*属についても、それぞれ、22種、42種のデータを用いたホットスポットマップを作成した(それぞれ図(6-3CとD))。以上3属から得られたホットスポットは必ずしも同じ地域を示さなかった。このことは、それぞれの属が分布するハビタットの違いと考えられる。

種の分布情報と系統多様性をあわせたホットスポット解析については、テーマ1のメンバーと協力して、*Dalbergia*をモデルケースとして行った。アジアのこれら47種の分布をもとに種数の多様性ホットスポットマップを作製した(図(6-3A、4A))。さらに核rDNA ITS領域(728bp)および葉緑体DNA *trnS-trnG*遺伝子間領域(665bp)の両方から遺伝子配列を取得することができた14種を対象に、種数の多様性の分布を再度推定し(図(6-4B))、これに種間の遺伝的距離を重みづけした系統





図(6)-4 *Dalbergia*属47種の分布情報から得られた種数の多様性を示すホットスポットマップ(A)、核DNAおよび葉緑体DNAから遺伝情報を得ることができた14種のみに着目した種数の多様性の分布を示すホットスポットマップ(B)、核DNAでみた14種の系統多様性の分布を示すホットスポットマップ(C)、葉緑体DNAでみた14種の系統多様性の分布を示すホットスポットマップ(D)



図(6)-5 図(6)-4で示した種数の多様性、核DNAでみた系統多様性、葉緑体DNAでみた系統多様性の分布のデータ間の相関

いずれの相関も有意であった( $P < 0.05$ )。

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

アジア地域というような広い地域を対象とした場合、種多様性のホットスポットマップを作成することは、これまで困難であり、また、統一的な手法も無かった。本研究により、研究者が蓄積してきたハーバリウム標本のデータを利用するホットスポット解析の手順が標準化されたことにより、十分に広い範囲を持ち、かつ、様々なハビタットにある植物種群を選定すれば、客観的な手法でホットスポットマップを作成できるようになった。今後、世界各国のハーバリウムから、十分な精度をもったハーバリウム標本データが、オンラインデータベースに登録されれば、分類群を選定するだけで、目的とする範囲におけるホットスポットを推定できるよう、一連の解析を自動化することも可能になる。また、季候変動の将来予測を分布モデル推定に取り入れることにより、それぞれの種の分布域が、どのように変化するかを予測することも可能になった。また、*Dalbergia*属で行った系統多様性と種多様性のホットスポットの解析では、両者は非常に強い相関を示したことは、注目すべきであろう。もし、この傾向が一般的なものであれば、多く手間と労力のかかる系統多様性解析を行わなくとも、標本情報のみを用いた解析のみで、十分に系統情報を反映したホットスポットマップが得られることになる。生物多様性保全のための研究にけるエフォートの適正配分を考えるためには、この傾向がマメ科一般、あるいは、植物一般について言えるものかについて、今後十分に検討したい。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

今回提出した汎用ワークフローによる種多様性のホットスポットマップの推定方法は、今後、様々な植物群において、ホットスポット推定や、分布域の将来予測において活用が見込まれる。

## 6. 国際共同研究等の状況

マメ科植物を指標とした国際的なマメ科多様性観測計画であるGlobal Legume Diversity Assessment (GLDA)を実施するため、以下の国・研究機関に所属する研究者と緊密に連携し(サ

ンプル共有、データ共有、サンプル輸出許可の取得等)、複数の対象群を策定して、共同研究を実施した。

- ・ Mohammad Vatanparast, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, USA
- ・ Luciano Paganucci de Queiroz, Department of Biological Sciences, Feira de Santana State University, BRAZIL
- ・ Frits Adema, Naturalis Biodiversity Center (section NHN), NETHERLANDS
- ・ Bente Klitgaard, Royal Botanic Gardens, Kew, UK
- ・ Tania Moura, Royal Botanic Gardens, Kew, UK
- ・ Gwilym P. Lewis, Royal Botanic Gardens, Kew, UK
- ・ Toby Pennington, Royal Botanic Garden Edinburgh, UK
- ・ Daniel P. Faith, The Australian Museum, AUSTRALIA
- ・ Darién E. Prado, Cátedra de Botánica, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, ARGENTINA
- ・ Stuart Davies, CTFS-SIGEO, Smithsonian Institution, USA
- ・ J. W. Ferry Slik, Plant Geography Lab, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, CHINA
- ・ Tingshuang Yi, Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, CHINA
- ・ Keping Ma, Institute of Botany, Chinese Academy of Science, CHINA
- ・ Chen Bin, Reference and Information Services Centre, Institute of Botany, Chinese Academy of Science, CHINA
- ・ Dedy Darnaedi, Research Center for Biology, Indonesian Institute of Sciences, INDONESIA
- ・ Ashley N. Egan, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, USA
- ・ Sven Buerki, Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, UK
- ・ Niels Raes, Naturalis Biodiversity Center (section NHN), NETHERLANDS
- ・ Gideon F. Smith, Biosystematics Research and Biodiversity Collections Division, South African National Biodiversity Institute, SOUTH AFRICA
- ・ Janine E. Victor, Biosystematics Research and Biodiversity Collections Division, South African National Biodiversity Institute, SOUTH AFRICA
- ・ Tandiwe Nkonki, Biosystematics Research and Biodiversity Collections Division, South African National Biodiversity Institute, SOUTH AFRICA

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文(査読あり)>

- 1) T. YAHARA, F. JAVADI, Y. ONODA, L. P. de QUEIROZ, D. P. FAITH, D. E. PRADO, M. AKASAKA, T. KADOYA, F. ISHIHAMA, S. DAVIES, J. W. F. SLIK, T. YI, K. MA, C. BIN, D. DARNAEDI, R. T. PENNINGTON, M. TUDA, M. SHIMADA, M. ITO, A. N. EGAN, S. BUERKI, N. RAES, T. KAJITA, M. MIMURA, H. TACHIDA, YOH IWASA, G. F. SMITH, J. E. VICTOR and T. NKONKI: *Taxon*, 62 (2), 249–266 (2013), Global legume diversity assessment: Concepts, key indicators, and strategies.

- 2) M. VATANPARAST, B. B. LLINGARDB, F. A. C. B. ADEMAC, R. T. PENNINGTON, T. YAHARA and T. KAJITA: South African Journal of Botany. 89,143-149 (2013), First molecular phylogeny of the pantropical genus *Dalbergia*: Implications for infrageneric circumscription and biogeography.
- 3) T. M. MOURA, M. VATANPARAST, A. M. G. A. TOZZI, F. FOREST, C. M. WILMOT-DEAR, M. F. SIMON, V. F. MANSANO, T. KAJITA and G. P. LEWIS: International Journal of Plant Science, 177(1), 76-89. (2016), A Molecular Phylogeny and New Infrageneric Classification of *Mucuna* Adans. (Leguminosae-Papilionoideae) including Insights from Morphology and Hypotheses about Biogeography.
- 4) C. SNAK, M. VATANPARAST, C. SILVA, G. P. LEWIS, M. LAVIN, T. KAJITA and L. P. QUEIROZ: Molecular Phylogenetics and Evolution, 98, 133-146. (2016), A dated phylogeny of the papilionoid legume genus *Canavalia* reveals recent diversification by a pantropical liana lineage.

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) M. VATANPARAST, C. SNAK, L. P. de QUEIROZ and T. KAJITA. Pantropical distribution of the genus *Canavalia* achieved by long distance dispersal ability of sea-drifted species. 日本植物分類学会第12回大会 (2013).
- 2) M. VATANPARAST, C. SNAK, L. P. de QUEIROZ and T. KAJITA. 6th International Legume Conference “Toward a New Classification System for Legumes” (2013).  
“Molecular phylogeny of the genus *Canavalia* inferred from chloroplast and nuclear DNA sequences”
- 3) M. VATANPARAST, F. ISHIHAMA, M. AKASAKA, F. ADEMA, N. RAES, T. R. PENNINGTON, T. YAHARA and T. KAJITA. 6th International Legume Conference “Toward a New Classification System for Legumes” (2013).  
“Biodiversity assessment and phylogeny of *Dalbergia*”
- 4) M. VATANPARAST, F. ADEMA, N. RAES, T. R. PENNINGTON, H. TACHIDA, T. YAHARA and T. KAJITA: 日本植物学会第76回大会 (2012).  
“Phylogeny and diversification of genus *Dalbergia* L. f. (Fabaceae).”
- 5) M. VATANPARAST, F. ISHIHAMA, N. RAES, M. AKASAKA, F. ADEMA, T. R. PENNINGTON, T. YAHARA and T. KAJITA. FAPESP-JSPS Brazil-Japan Workshop. Contribution of Genetics to Plant Conservation. Piracicaba, ESALQ-USP, Brazil. 2nd – 4th February 2015.  
“Global Legume Diversity Assessment: a case study for Asian species of *Dalbergia* (Fabaceae).”
- 6) T. YAMAMOTO, T. KAJITA, K. TAKAYAMA, R. NAGASHIMA, A. DELGADO, R. PASQUET and Y. TATEISHI: The XI Congreso Latinoamericano de Botanica. Salvador, Brazil. 19th – 24th October, 2014.  
“Phylogeography of *Vigna marina* – *V. luteola* (Fabaceae), a species of pantropical plants with sea-drifted seeds.”
- 7) T. KAJITA: The XI Congreso Latinoamericano de Botanica. Salvador, Brazil. 19th – 24th October, 2014.

“Introduction to the VII International Legume Conference”.

- 8) T. KAJITA, M. VATANPARAST, F. ISHIHAMA, N. RAES, M. AKASAKA, F. ADEMA, T. R. PENNINGTON and T. YAHARA: The XI Congreso Latinoamericano de Botanica. Salvador, Brazil (2014).

“Global Legume Diversity Assessment: a case study for Asian species of *Dalbergia* (Fabaceae).”

- 9) 山本 崇, 津田 吉晃, 高山 浩司, 永嶋 礼子, 立石 庸一, 梶田 忠. 日本植物学会第79回大会 (朱鷺メッセ:新潟コンベンションセンター) (2015).

「汎熱帯海流散布植物ハマアズキ(マメ科)の集団遺伝解析」

- 10) 山本 崇, 津田 吉晃, 高山 浩司, 永嶋 礼子, 立石 庸一, 梶田 忠. 日本植物分類学会第15回大会 (富山大学黒田講堂) (2016).

「汎熱帯海流散布植物ハマアズキを用いた太平洋内の「見えない障壁」の探索」

### (3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

### (4) 「国民との科学・技術対話」の実施

特に記載すべき事項はない。

### (5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

### (6) その他

特に記載すべき事項はない。

## 8. 引用文献

特に記載すべき事項はない。

## (7) アジア産シダ植物の種・系統多様性評価

独立行政法人国立科学博物館

植物研究部

海老原 淳

平成23～27年度累計予算額：28,945千円（うち平成27年度：5,289千円）

予算額は、間接経費を含む。

### 【要旨】

アジア規模での保全上重要な地域の特定にあたって、自然度の高い湿潤環境を好む傾向の強いシダ植物の種の分布情報は、重要な指標になり得る。本研究では、散在している多様な情報源からアジア産シダ植物の種多様性情報を収集・統合し、その中から「地球規模での絶滅危惧種」に相当すると評価された合計2185分類群（種・亜種・変種）を抽出した（アジア版シダ植物レッドリスト）。絶滅危惧種と判定された各分類群について、標本・文献等の情報に基づいて地理的分布情報を収集し、アジア全体における絶滅危惧シダ植物の種密度の分布状況を示す「ホットスポット地図」を作成した。得られた結果は、この解析とは独立に、専門の研究者が「アジアのシダ植物ホットスポット候補地」として挙げた40地点と顕著な対応が見られた。緯度経度1°単位のグリッドで集計した場合、上位10地点の大半は既に国立公園等の保護地区に指定されていた。一方、絶滅危惧種数は「トップレベルではないが一定数の集中が見られる」ような、「中程度」の順位に置かれる地点では、十分に保護地区の設定がされていない例が多く、早急な対応が望まれる。

### 【キーワード】

シダ植物、多様性ホットスポット、絶滅危惧種、固有種、狭分布種

### 1. はじめに

アジア地域全体で生物種の多様性密度の分布状況を把握し、保全上重要な地域を特定することは、生物の生息環境の喪失が進む状況下で緊急性の高い課題である。一方、全生物に渡ってその分布情報を集積することは、今日においてもなお短期間で実現させることは難しい。そのため、研究が進んでおり短期間で十分な情報収集が可能な対象生物群に代表させた解析が必要となる。維管束植物は、大型種や有用種が多いことから分類学的研究が比較的進んでおり、地域毎に分布する種名が網羅された植物誌等の資料も比較的豊富である。それゆえ、地球規模の生物多様性ホットスポットの特定の際にもその種数が指標として用いられている<sup>1)</sup>。しかしながら、維管束植物の分布情報に関しては、現在利用可能な情報量が地域毎に大きくばらつきがあることが自明であり、例えば地球規模生物多様性情報機構GBIFのデータベース(<http://www.gbif.org/>)で利用可能な緯度経度つき分布情報を地球規模でマッピングすると、欧州・北米と比べてアジアの多くの国・地域ではデータ数が十分でない傾向が見てとれる。維管束植物は種子植物（世界に約26万種）とシダ植物（世界に約1.2万種）の2群から構成されるが、比較的総種数の少ない後者のみに限れば、アジア全体規模での多様性密度の分布状況解析が一定の精度で実現可能であると期待された。また、

シダ植物は森林の湿潤な環境を好む傾向が強く、人為的な環境での種多様性は明らかに低い。このことから、シダ植物の種多様性は自然度の高い湿潤な森林環境の分布の指標となることが強く期待できる。アジア全体で見ると、世界の種の約半数程度のシダ植物がアジア地域に分布しているものと推定されており、地球規模で見てもアジア全体での多様性は十分に高いと判断できる。それらに関する自然史研究・記録や稀少性についての情報（地域単位のレッドリスト・レッドデータブックなど）も豊富に存在するものの、様々な情報源に散在した状態にあるのが現状であった。そこで、本研究では散在した情報を集約し、さらに分類学的知見を加えて横断的解析をすることを旨とする。

## 2. 研究開発目的

アジア地域全体の中で、優先的に植物の生育環境を守るべき地域を特定するため、シダ植物の多様性密度の分布を地図化することを目的とした。ただし、研究期間内に確実にデータ収集を完了させる必要性を踏まえ、アジアの自生種を「地球規模での絶滅危惧種」と「広範囲に分布して個体数が多い非絶滅危惧種」に大分することとし、前者に相当する種をまとめたアジア版シダ植物レッドリストを作成することを第1段階の目的とした。そのリストに掲載された種の分布情報を収集・統合して地図化することを最終的な目的と位置づけた。

## 3. 研究開発方法

### (1) アジア産シダ植物のレッドリスト作成

#### 1) アジア産シダ植物のエキスパートによる「狭分布種リスト」作成

アジア地域のシダ植物の分類または地域植物相に精通した専門家の知見は、出版物に未公表のものが多く存在することが期待され、本研究を進める上で極めて重要な情報源となる。また、5年間の研究を着実に遂行するためにも、協力体制を構築することが欠かせない。初年度である平成23年12月10日～11日に計5名を海外から招聘し、研究代表者を含む日本側研究者4名も参加して、東京でワークショップを開催した（参加者：Xian-Chung Zhang[中国・国立標本館（北京）、中国のシダ植物相]、Wen-Liang Chiou [台湾・林業試験所、台湾のシダ植物相]、Titien Ngatinem Praptosuwiryo [インドネシア・ボゴール植物園、インドネシアのシダ植物相]、Christopher Roy Fraser-Jenkins[ネパール在住、ヒマラヤ地域のシダ植物相]、Barbara S. Parris[ニュージーランド在住、旧世界のシダ植物相]、村上哲明 [首都大学東京、チャセンシダ科の分類]、加藤雅啓 [国立科学博物館名誉研究員、セラム島の植物相・ゼンマイ科・メシダ科他の分類]、松本定 [国立科学博物館名誉研究員、ヤブソテツ属他の分類]、海老原 淳 [国立科学博物館・研究代表者]）。本ワークショップで議論された内容を元に、さらに韓国・フィリピン・タイ・スリランカなどの植物相の専門家を加えた合計18名によって「アジア産稀少シダ植物リスト」（アジアのシダ植物レッドリスト暫定版）の収録種が選定された。具体的な選定手順としては、レッドリストが作成されている国・地域については、レッドリスト掲載種から固有種・狭分布種が抽出され、分布域全体で見るときにも絶滅のおそれが高いと判断される種を選定した。レッドリストが存在しない地域については、専門家の個別の意見に従って種を選定した。

#### 2) アジア産全シダ植物のチェックリスト作成

エキスパートの意見に基づいて編纂された「アジア産稀少シダ植物リスト」は信頼性が高い資

料であるが、一方で共著者となった専門からの専門地域・分類群には偏りがあり、全ての稀少種が網羅されていない可能性が残る。アジア産シダ植物レッドリストを完成させるためには、1)とは別に網羅的手法でも検討を行う必要があると考えられた。そのため、アジアに生育記録のある全種の学名チェックリストを作成した上で、その全種に対して絶滅危惧リスクのアセスメントを行う必要があると考えられた。チェックリスト作成のため可能な限り多数の関連資料(植物誌・チェックリスト・種属誌・採集品リスト・webサイト等)から学名とその関連情報(採用/シノニム、分布域、出典)の収集を行った。収集された学名については、1件ずつ同物異名を検討し、同物異名関係にあるものを紐付けする処理を行った。

### 3) アジア産全シダ植物のチェックリストに基づいた絶滅リスクのアセスメント

2) で作成したチェックリストに掲載された各分類群を対象に絶滅リスクのアセスメントを行った。ただし、国際自然保護連合(IUCN)の基準で対象から外される雑種については本アセスメントでも対象外とし、品種レベルの分類群やアジア地区外からの外来種も対象外とした。さらに、当初はアジア全域を対象とする予定であったが、ニューギニア産の種については記載以後の再検討が一切なされていない種が余りにも多く、他地域と同様の方法で処理をすると大半をレッドリストに掲載することになってしまう。そのため、ニューギニアを分布の中心とする種については本研究でのアセスメント対象外とする方針とした。

国・地域単位のレッドリスト・レッドデータブックが既に発行されている地域(日本・韓国・台湾・フィリピン・スリランカ)について、それらの情報を統合した。研究者が絶滅リスクのアセスメントを行った資料を公表している地域(中国・タイ・ラオス・カンボジア・インド亜大陸)についても、それらの情報を収集・統合した。植物誌中で絶滅リスクのアセスメントの結果が収録されているマレー半島(ただし、未完結のため一部分類群のみ)についても情報を統合した。

分布範囲に関する情報と、分布域内の国・地域の地域レッドリスト・データブックでの絶滅危惧カテゴリーを鑑みて、アジア産各分類群のアセスメントを行った。ただし、CR/EN/VU/NT/DDの各カテゴリーを区別するための基礎情報(個体数・分布面積・減少率)は未だ大半の種で不十分であることから、本研究で得られた情報から明らかにLCカテゴリーに該当すると考えられる種を選定し、残りの種を「アジア産シダ植物レッドリスト」に収録するという方法を採用した。

## (2) アジアのシダ植物ホットスポット地図作成

### 1) アジア産シダ植物のエキスパートによるホットスポット候補地選定

(1)の1)のワークショップでは、アジア産シダ植物のホットスポットについても議論が行われ、種数密度が高く、固有種または狭分布種が集中する候補地が挙げられた。

### 2) レッドリスト収録種の分布情報収集とホットスポット地図作成

(1)の3)で作成されたレッドリストの収録された種の分布密度を地図化し、「絶滅危惧シダ植物のホットスポット地図」を作成するため、各種の分布情報を収集した。分布の情報源として以下を利用した。a. タイプ標本産地(各学名の出典情報から原記載文献にあたり、産地を確認)、b. GBIFの存在情報データ(<http://www.gbif.org/>)、c. 中国数字標本館の標本データ(<http://www.cvh.org.cn/>)、d. 植物誌・モノグラフに引用された標本の産地情報、e. 国立科学博物館収蔵標本データベース(本研究によってデータベース化したものも一部含む)。得られた分布情報のうち、緯度経度を伴っていないものについては、地図を参照の上で緯度経度を付与した。種

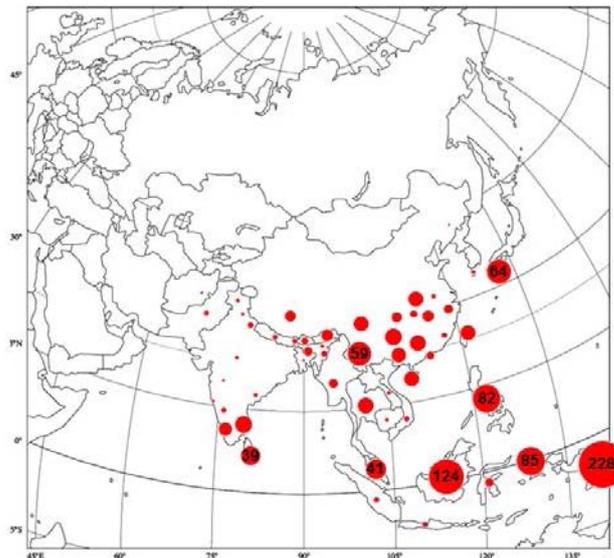
密度については、アジア全域を網羅し面積が一定になるグリッドシステムが存在しないため、便宜的に緯度・経度各1度幅のグリッドを単位として採用した。この場合、緯度に応じて面積が変化するが、基本的に低緯度から中緯度までが分布の中心になることが予想されるため、集計結果への影響はわずかであると予想される。また、将来的には面積に応じた補正処理も可能である。

#### 4. 結果及び考察

##### (1) アジア産シダ植物のレッドリスト作成

##### 1) アジア産シダ植物のエキスパートによる「狭分布種リスト」作成

全885分類群（亜種・変種51分類群含む）がリストアップされた（図(7)-1）。地域別内訳は、東アジア214、東南アジア578、南アジア98であった（地域をまたいで分布する種があるため、3地域を足しても総数には一致しない）。国・群島単位（中国は省単位、インドは州単位）で種数を集計した結果、上位から以下のような結果になった。（1. ニューギニア：228分類群、2. ボルネオ島：124分類群、3. セラム島：85分類群、4. フィリピン：82分類群、5. 日本：64分類群、6. 中国雲南省：59分類群、7. マレーシア半島部：41分類群、8. スリランカ：39分類群。分類群名の詳細については業績1に収録されている。一方で、スマトラ島・ジャワ島・スラウェシ島などにはわずかな種数しか記録されなかった。これらは情報不足に起因することが否めない結果となった。



図(7)-1 専門家によって選定されたアジア産狭分布シダ植物の分布状況

##### 2) アジア産全シダ植物のチェックリスト作成

計35,186件の学名が収集され、それらについて同名の紐付け処理を行った結果、6,078分類群が認められた。

##### 3) アジア産全シダ植物のチェックリストに基づいた絶滅リスクのアセスメント

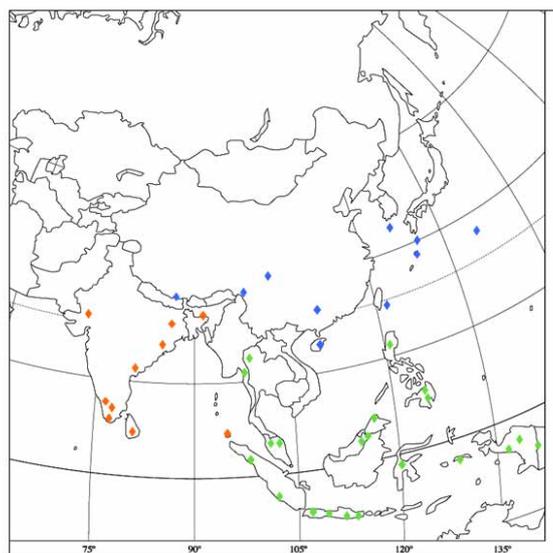
2) の6,078分類群には、アセスメント対象外の分類群（雑種・品種・ニューギニア産）が1,345分類群含まれていたため、残りの4,733分類群がアセスメント対象となった。このうち、2,548分類群は明瞭な広域分布種や、1つ以上の分布地域でLC（Least Concern）の判定を受けている非絶滅危

惧種と判断された。したがって、2,185分類群（種・亜種・変種）が「アジア産シダ植物レッドリスト」の収録対象種として残った。

## （２）アジアのシダ植物ホットスポット地図作成

### 1) アジア産シダ植物のエクスパートによるホットスポット候補地選定

計40地点がアジアのシダ植物ホットスポット候補地として挙げられた（図(7)-2、表(7)-1）。候補地の面積はおよそ100km四方を目安とした。



図(7)-2 専門家によって挙げられたアジアのシダ植物ホットスポット候補地地図

表(7)-1 専門家によって挙げられたアジアのシダ植物ホットスポット候補地一覧

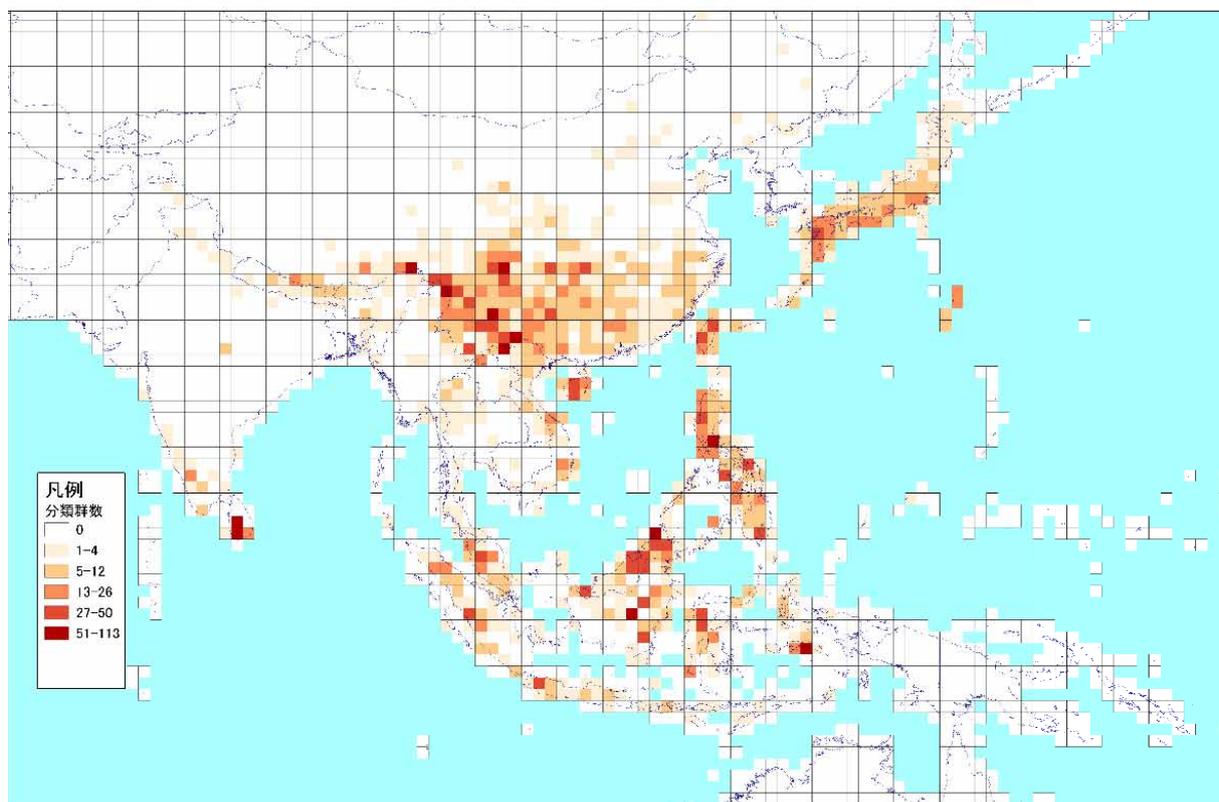
SE Asia		Country	E Asia		Country
1	Mt. Kinabalu, Borneo	Malaysia	1	Yakushima Isl.	Japan
2	Mt. Mulu, Borneo	Malaysia	2	Amami Isl.	Japan
3	Mt. Murud, Borneo	Malaysia	3	Ogasawara Isl.	Japan
4	Cameron Highlands	Malaysia	4	Orchid Isl.	Taiwan
5	Taman Negara	Malaysia	5	Cheju Isl.	S. Korea
6	Mts. Murkele, Seram Isl.	Indonesia	6	Central Hengduan Mountains	China
7	Central and northern mountains of Sumatra (Kerinci Seblat, G Leuser)	Indonesia	7	Emeishan	China
8	Central Sulawesi (G Lore Lindu)	Indonesia	8	Hainan Isl.	China
9	G Gede, W. Java	Indonesia	9	E Himalaya	Nepal
10	G Halimun-Salak, W. Java	Indonesia	10	Limestone area in SE Yunnan, Guangxi and N Vietnam	China/Vietnam
11	Bromo Tengger Semeru, E. Java	Indonesia			
12	Meru Betiri, E. Java	Indonesia			
13	Mt. Slamet, Java	Indonesia			
14	Mt. Jaya	Indonesia			
15	Mount Doorman, New Guinea	Indonesia			
16	Star Mountains	Papua New Guinea			
17	N Thailand mountains (Doi Inthanon, Doi Chiangdao)	Thailand			
18	Mawlamyang	Myanmar			
19	Mt. Apo, Mindanao	Philippines			
20	Mt. Kitanglad, Mindanao	Philippines			
21	Mt. Pulog, Luzon	Philippines			
			S Asia		Country
			1	Palni & Nilgiri Hills	India
			2	Agasthyamalai Hills	India
			3	Rajasthan (Mt. Abu)	India
			4	Parasnath Hill	India
			5	Orissa	India
			6	Andhra Pradesh	India
			7	Khasi-Jaintia Hills	India
			8	Andaman-Nicobar Isl.	India
			9	Central mountains	Sri Lanka

### 2) レッドリスト収録種の分布情報収集とホットスポット地図作成

各種情報源から合計29,374件の分布情報を収集し、うち17,210件が緯度経度つきかあるいは付与することが可能であった。情報源の内訳はa. タイプ標本産地2,036件（うち1,195件に緯度経度付与）、

b. GBIFの存在情報データ19,895件（うち8,714件に緯度経度付与）、c. 中国数字標本館の標本データ1,900件、d. 植物誌・モノグラフに引用された標本の産地情報1,070件（うち928件に緯度経度付与）、e. 国立科学博物館収蔵標本データベース4,473件、である。1分類群あたりの平均分布情報数（緯度経度つき）は7.87件であった。同一グリッド内で記録された同分類群の記録の重複を除いた実データ数は5,854件であり、1分類群あたりの平均分布面積は2.35グリッド件であった。

緯度経度1度単位のグリッドでの種密度の分布状況を図(7)-3に示す。最大の分類群数が記録されたのはボルネオ島キナバル山を含むグリッドで計113種が記録された。以下、分類群数順に10位までを列挙する。2. 中国雲南省昆明市周辺(87分類群)、3. ラオカイ省-雲南省付近（ベトナム-中国国境）(79分類群)、4. フィリピン・ルソン島・Makiling山周辺（74分類群）、5. インドネシア・セラム島（72分類群）、6. スリランカ中南部(67分類群)、7. 中国雲南省高黎貢山周辺（66分類群）、8. インドネシア・中部カリマンタン州（65分類群）、9. 中国四川省峨眉山（65分類群）、10. 中国雲南省メトク県（63分類群）。



図(7)-3 アジア産絶滅危惧シダ植物のホットスポット地図

全体的傾向としては（2）の1）で専門家の意見で得られた候補地と良く対応が見られ、妥当な結果が得られたものと判断される。一方で、現時点で収集可能な最大限のデータを用いてもなお、様々な要因による分類群数の過小評価・過大評価を含んでいる可能性は高い。種密度の順位については更に精度の高いデータの収集によって変動する可能性が残されており、詳細な順位の情報よりも全体の傾向を重視して研究結果を活用するべきであろう。また、上位20地点の大半が既に国立公園など何らかの保護地区に指定されている。むしろ中程度の順位にある地点における生育環境の保全こそが重要になるものと考えられる。

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

アジア全体でのシダ植物の多様性情報が初めて統合され、その全容が明らかになった。総種数（総分類群数）と、その中における地球規模での絶滅危惧種の種名が把握され、それらが集中する地域の状況が地図化されて一目でわかるようになった。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

環境省が平成26年度に実施した国内希少野生動植物種の候補種リストの検討に関する調査、意見交換会において、本研究の知見の一部が利用された。

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

アジアの生物多様性保全のための国際貢献（知識面・財政面での援助）にあたって、優先的に資源を投入すべき地域を判断する材料となる。また、地球規模での絶滅危惧種が把握されたことにより、日本産種の保全施策（レッドリスト作成、特定希少野生動植物種の指定等）において優先すべき対象種が把握しやすくなることが期待される。

## 6. 国際共同研究等の状況

- ・ アジア産シダ植物に関する知見の共有、Xian-Chung Zhang・国立標本館（北京）・中国
- ・ アジア産シダ植物に関する知見の共有、Wen-Liang Chiou・林業試験所・台湾
- ・ アジア産シダ植物に関する知見の共有、Titien Ngatinem Praptosuwiryo・ボゴール植物園・インドネシア
- ・ アジア産シダ植物に関する知見の共有、Chritopher Roy Fraser-Jenkins・ネパール
- ・ アジア産シダ植物に関する知見の共有、Barbara S. Parris・ニュージーランド

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文（査読あり）>

- 1) A. EBIHARA, C. R. FRASER-JENKINS, B. S. PARRIS, X.-C. ZHANG, Y.-H. YANG, W.-L. CHIOU, H.-M. CHANG, S. LINDSAY, D. MIDDLETON, M. KATO, T. N. PRAPTOSUWIRYO, V. B. AMOROSO, J. F. BARCELONA, R. H. G. RANIL, C.-H. PARK, N. MURAKAMI and A. HOYA: Bull. Natn. Mus. Nat. Sci. B, 38: 93-119 (2012), Rare and threatened pteridophytes of Asia 1. An enumeration of narrowly distributed taxa.

#### <その他誌上発表（査読なし）>

- 1) S. NAKANO, T. YAHARA and T. NAKASHIZUKA編：The Biodiversity Observation Network in the Asia-Pacific Region、Springer、321-327 (2012)  
「East and Southeast Asian Pteridophyte Flora and DNA Barcoding（執筆担当：A. Ebihara and L.Y. Kuo）」

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) EBIHARA: The 9th International Flora Malesiana Symposium, Bogor, Indonesia. 2013.  
“Toward the publication of "Asian fern red list”
- 2) A. EBIHARA: The 6th Asian Fern Symposium, Bali Botanic Garden, Indonesia. 2014.  
“Red Data Book of Asian Ferns and Lycophytes”

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 国立科学博物館筑波実験植物園企画展シンポジウム「日本固有の植物、現状と危機」(主催 : 「アジアの中で見たシダ植物の日本固有種・絶滅危惧種」、2014年5月24日、筑波実験植物園、参加者約40名)にて講演

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) N. MYERS, R. A. MITTERMEIER, C. G. MITTERMEIER, G. A. B. DA FONSECA and J. KENT:  
Nature 403: 853-858 (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities recognize it in working on the spot, which will lower the administrative cost.

## (8) 日本およびアジア地域の送粉ハナバチ類の種多様性とその減少評価

九州大学大学院

理学研究院生物科学部門

多田内 修

<研究協力者>

九州大学大学院

理学研究院生物科学部門

村尾 竜起

平成23～27年度累計予算額：30,376千円（うち平成27年度：5,549千円）

予算額は、間接経費を含む。

### [要旨]

アジア地域では人口増加とともに森林の伐採が行われ、送粉ハナバチ類の生息地の減少と断片化が進んでいる。森林の保全や植物保護の観点から、ハナバチ類の過去と現状を把握し減少評価を行い、ホットスポットを定めてその保全を推進していくことが求められている。アジアのハナバチ類についてはその基礎となる分類学的研究が遅れていたが、本研究開発により、日本については全種を含む「日本産ハナバチ図鑑」を出版し、専門家以外にも同定が可能になるよう相違点の画像を多数掲載し今後の生態研究に役立つようにした。熱帯アジアについては、オランダ国立生物多様性センター（ライデン）および大英自然史博物館（ロンドン）所蔵の標本を撮影し、種情報を加えて、「熱帯アジア産ハナバチ類画像データベース (TAB)を構築し、Web上に公開した。本代表者らが構築した既存の「熱帯アジア産ハナバチ類文献データベース (TABR)とともに、今後の熱帯アジアでの生態研究へのハナバチ類の情報基盤を整えた。ホットスポット地図作成の材料としては、熱帯アジアではハリナシバチとともに森林の送粉者として重要な役割を果たしているクマバチを材料に選び、オランダ国立生物多様性センターおよび大英自然史博物館の所蔵標本をもとに、アジア産クマバチ類標本データベース(BeeAXylo)を構築した。このデータを基に解析を行い、種の分布図とホットスポット地図を作製した。さらに各種データベースから得られたアジア産ハナバチ類全体について、国・地域・島ごとの種数、固有種数を検討した結果、インド南部・西北部とフィリピン（ルソン、ミンダナオ）で多様性と固有性が高いことが明らかになった。ハナバチ類は乾燥地に適応した分類群であるため、高湿度のアジア熱帯では多様性はあまり高くないと考えられた。また、アジア産ハナバチ類のDNA barcode の蓄積を行い、アジア産ハナバチ類DNA バーコードデータベース(ABeeBOL)をWeb上に公開した。

### [キーワード]

送粉ハナバチ類、多様性、図鑑、画像データベース、ホットスポット

## 1. はじめに

動物によって送粉される被子植物は、世界全体で308,006種、87.5%という報告があり、特に熱帯では単独の動物によって送粉される特化した植物の割合が増加しているといわれる。動物媒介による農作物の依存度、すなわち送粉者による生態系サービスの値は世界で75%、経済的に年間1,530億ユーロ、世界の農業生産額の9.5%とも言われており、無視できない。近年アメリカやヨーロッパでのミツバチの減少、ヨーロッパでのマルハナバチや蝶の減少を契機として、健全な送粉システムの重要性や、作物および野生植物の送粉者であるハナバチ類などの保全が叫ばれるようになってきた。送粉システムの危機は、ミツバチやハナバチ類の減少によって明らかであり、大部分の陸域生態系の機能を維持する上で、植物-送粉者の相互作用が重要な役割を持っている。送粉システムを減少させる人為的原因、すなわち生息地の断片化、土地利用の変化、近代的な農業慣行、殺虫剤や除草剤などの化学物質の使用、外来の植物や動物、病気の侵入等に注意を払い、作物や野生植物の送粉者の多様性をさらに回復増加させていく必要がある<sup>1)</sup>。特にアジア熱帯では人口増加とともに熱帯林の伐採が行われ、生息地の断片化等が進んでいる。これらの現状を把握し減少評価を行い、ホットスポットを定めてその保全を推進していくことが求められている。

## 2. 研究開発目的

2000年の生物多様性条約締約国第5会議によって「送粉者多様性の世界的な減少の問題に対処する緊急の必要性」が宣言され、その目的として、(1)送粉者の減少とその原因、および送粉サービスに対する影響を監視する、(2)送粉者の分類学的情報の不足に対処する、(3)送粉の経済的価値と送粉者と送粉サービスの減少の経済的影響を評価する、(4)農業および関連する生態系の送粉者の多様性の保全、回復及び持続可能な利用を推進する、ことがあげられた<sup>1)</sup>。本研究開発では、重要な送粉者であるハナバチ類について、アジア（日本を含む東アジアおよび熱帯アジア）における分類学的情報基盤を整え、ハナバチ図鑑および標本データベース、画像データベースを構築するとともに、これらのデータに基づきハナバチ類の減少評価を行い、その分布図とホットスポット（種多様性が高く、かつ絶滅リスクが高い地域）地図を作成することを目的とした。また現地調査で得られた標本を基にできるだけDNAバーコード解析を行い、遺伝子多様性を明らかにし、それらのデータベース化も行うこととした。

## 3. 研究開発方法

ハナバチ類の国内外の現地調査、国外研究機関での標本調査、現地調査で得られた標本に基づくDNAバーコードの分析、得られたデータに基づくハナバチ図鑑の執筆出版、標本データベース・画像データベース・DNAバーコードデータベースの構築、データベースの分析による分布図とホットスポット地図の作成を行った。

国内外の現地調査としては、日本（長崎県対馬：2011年4月；北海道：2011年6月、2012年5月；2015年6月；小笠原：2012年9～10月、奄美大島：2013年3月）、国外（中国：2011年7月；2012年5月；2013年7月、韓国：2013年6月；2014年5月、タイ：2014年3月、2015年3月；ネパール：2014年9月）を実施した。これらの調査では、アジア産ハナバチ類の分布調査を行うとともに、DNAバーコード分析用の標本を収集し、その後分類学的研究と、標本データベース、DNAバーコードデータベースの構築を行った。また、これまでのデータをまとめ標本写真を撮影し、日本産ハナバチ図鑑

を執筆出版した。

国外の研究機関での標本調査としては、オランダ・国立生物多様性センター（ライデン）（2011年8月、2012年6～7月、2013年8月、2015年3月、2015年6月）、イギリス・大英自然史博物館（2013年8月、2014年11～12月）において実施した。これらの調査では、アジア産ハナバチ類の標本調査と標本の写真撮影を行い、アジア産クマバチ類標本データベースと熱帯アジア産ハナバチ類画像データベースの構築を行った。さらにアジア産クマバチ類標本データベースに基づき、サブテーマ1と共同して分布図とホットスポット地図を作製した。

#### 4. 結果及び考察

##### （1）アジア産ハナバチ類の種情報基盤の構築

###### 1) 日本産ハナバチ図鑑の編集執筆と出版

日本産ハナバチ類の分類学的研究をほぼ完了させ、日本産全種389種を扱った「日本産ハナバチ図鑑」を出版した（図(8)-1）。これまでマルハナバチ類を除いては同定が困難であったハナバチ類の各種について同定のポイントとなる部位の写真を多数掲載し、生態研究者や一般愛好家にも利用できるようにした。分類、形態、生態の概説のほか、各種について学名、和名、形態、発生期、訪花植物、分布を記載し、形態写真と生態写真を掲載している。2014年8月に出版し同年11月に増刷した。



図(8)-1 日本産ハナバチ図鑑

###### 2) アジア産ハナバチ類画像データベース(TAB)の構築とWeb上での公開

熱帯アジアでは1900年代前半にオランダによるインドネシア、イギリスによるマレー半島を中心とした調査が行われ、オランダ国立生物多様性センター（ライデン）や大英自然史博物館（ロンドン）には膨大なハナバチ類の標本が蓄積されている。今後の熱帯アジアの森林の保護・保全の研究への利用を目的として、上記の博物館の協力を得て標本画像を撮影し、種情報を付加して熱帯アジア産ハナバチ類の画像データベース(TAB)を構築公開した（図(8)-2）。各レコードには、科名、属名、種名、分布、模式産地、模式標本の所蔵機関、原記載の出典、同物異名、文献、画

像等12項目を収録している。2016年2月末現在、クマバチ類の他に、ムカシハナバチ科、ハキリバチ科、ミツバチ科の512種を公開した。



図(8)-2 左 公開した熱帯アジア産ハナバチ類の画像データベース(TAB)のトップページ  
 URL: <http://konchudb.agr.agr.kyushu-u.ac.jp/xtab/index-j.html>  
 右 データの実例 ハキリバチ科 *Megachile dimidiata* Smith

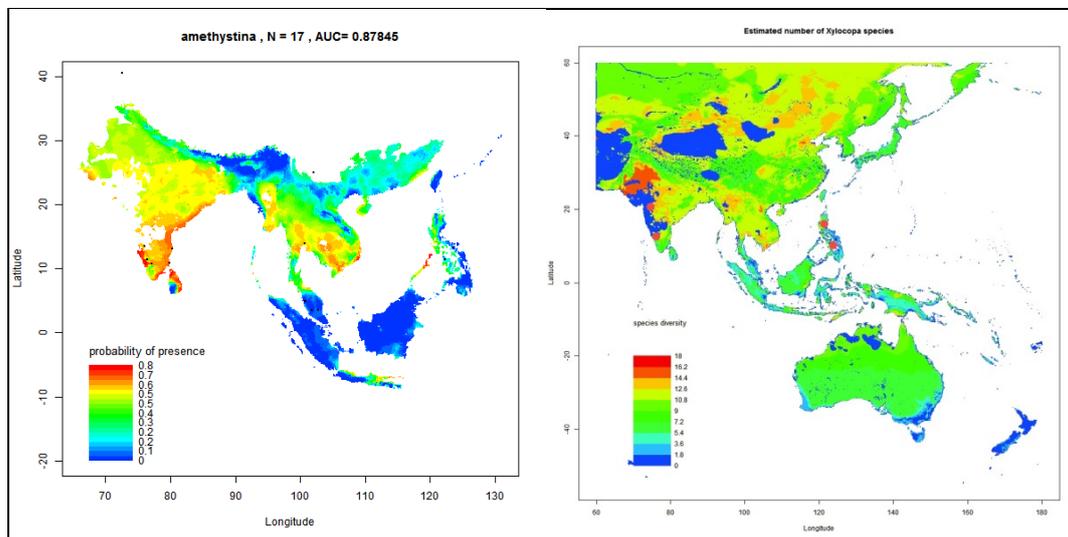
(2) クマバチ類標本データベース(BeeAXylo)の構築とWebでの公開とホットスポットの推定

熱帯アジアのハナバチ類の分類学的研究は一部の分類群を除いて進んでおらず、ホットスポット地図作製の材料としては、欧米の博物館に十分な同定済み標本のあるクマバチ類のみを調査対象とした。クマバチ類は大形で、アジアから約170種が知られている。特に熱帯アジアではハリナシバチとともに森林の送粉者として重要な役割を果たしている。オランダ国立生物多様性センターおよび大英自然史博物館所蔵標本をもとに、標本ラベルからデータを収集した後、採集地の緯度経度変換を行い、アジア産クマバチ類標本データベース(BeeAXylo)をWeb上に構築公開した(図(8)-3)。データベース公開にあたっては、上記博物館との協議を行い、許可を得るとともに今後の連携協力を強化することとした。標本データ数は2015年12月10日現在 6,332件ある。これらのデータはいずれもGBIF(地球規模生物多様性情報機構)の標準書式 Darwin Core に従って作成され、学名、採集年月日、採集地、採集者等23項目を収録している。本データベース構築に関しては国際昆虫学会議で発表し、論文を発表した<sup>3</sup>。



図(8)-3 公開した熱帯アジア産クマバチ類の標本データベース(BeeAXylo)のトップページ  
 URL: <http://konchudb.agr.agr.kyushu-u.ac.jp/beeaxylo/index-j.html>

構築したアジア産クマバチ類データベース(BeeAXylo)に、別途GBIFが公開しているアジア産クマバチ類の標本データ (3,228件)、およびニューヨーク国立自然史博物館の所蔵するアジア産クマバチ類の標本データベースから借用したデータ (260件)を含めて、ホットスポット地図分析用のデータを準備した。これを基に5地点以上の広域データのある45種の分布図及びホットスポット地図を作製した(図(8)-4)。この地図からはパキスタンにホットスポットがある可能性の高いことが示された。しかし、5地点という条件のため、分布域の限定された希少種はほとんどこの解析から除かれたため、これとは別に各種データベースから得られたアジア産ハナバチ類の国・地域・島ごとの種数、固有種数を検討した結果、インド南部・西北部とフィリピン(ルソン、ミンダナオ)でハナバチ類の多様性と固有性の値が高いことがわかった(図(8)-4 右図赤点)。ハナバチ類は乾燥地に適応した分類群であるため、高湿度のアジア熱帯では多様性はあまり高くないと考えられた。



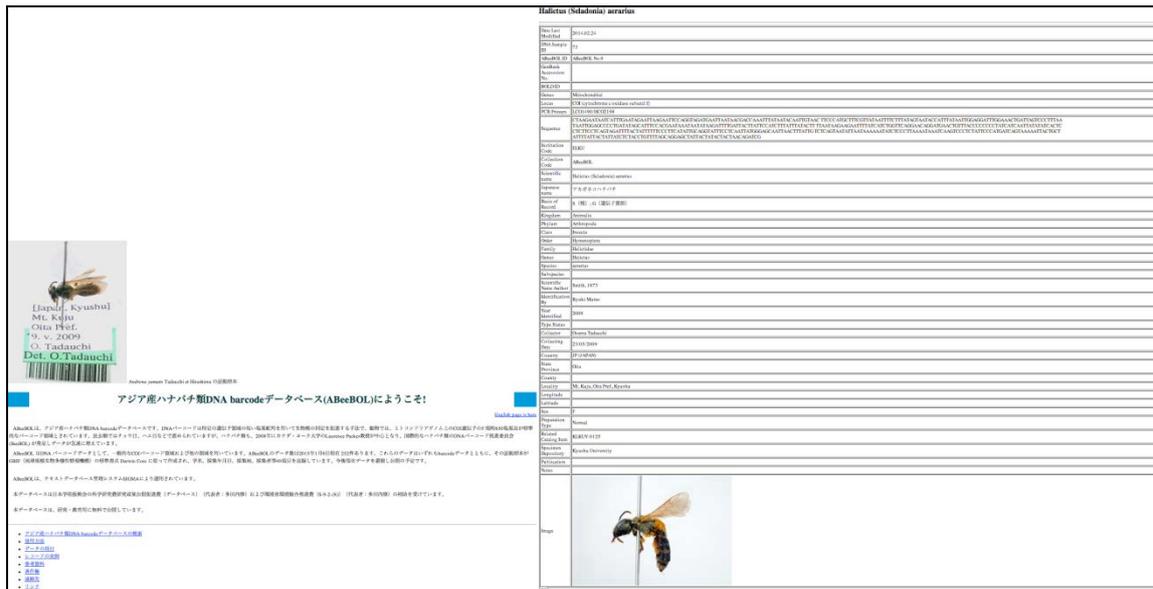
図(8)-4 左 クマバチの分布図の例 *Xylocopa amethystina*

右 5地点以上の採集データから得られたクマバチ類のホットスポット地図

地図上の赤点は、ハナバチ類の各種データベースから得られたデータに基づき多様性と固有性の高い地点(インド南部・西北部とフィリピン(ルソン、ミンダナオ))を多田内が追加。

### (3)アジア産ハナバチ類DNA バーコードデータベース(ABeeBOL)の構築公開とDNAバーコードによる同胞種の研究

アジア産ハナバチ類の遺伝的多様性を解析するために、国内外で標本採集を行った。国内では、北海道、長野県、福岡県、対馬、小笠原諸島、奄美大島で行い、国外では中国(河南省と雲南省)、韓国、タイ、ネパールで実施した。それらの調査で得られた標本に基づいてDNA バーコード解析を進め、アジア産ハナバチ類DNAバーコードデータベース(ABeeBOL)の構築を行い、公開を開始した(図(8)-5)。今後、日本だけでなく、アジア各地での材料収集、DNA解析を進め、本データベースを充実させていくとともに、分子レベルでのアジア産ハナバチ類の多様性解明を進めていく。



図(8)-5 左 アジア産ハナバチ類DNAバーコードデータベース(ABeeBOL)のトップページ  
 URL: <http://konchudb.agr.agr.kyushu-u.ac.jp/abeebol/index-j.html>  
 右 検索結果の実例

さらに、DNA barcodeデータは国際的DNA barcode データベースであるBOLD システムにも2015年度末までに252件を登録した。遺伝的多様性の解析の一例として、長崎県対馬南部の浅藻地区のみに生息するハチ目ヒメハナバチ科ミナミキバナヒメハナバチ *Andrena okinawana* について研究を行った。これまで対馬北部および日本本土に広く分布するキバナヒメハナバチ *Andrena knuthi* との中間型がまれに採集されることから別種ではなく、キバナヒメハナバチの亜種とする説があった。日本の対馬南部（その他に、南西諸島、朝鮮半島、中国にも分布）に生息するミナミキバナヒメハナバチについて、奄美大島、対馬、韓国、中国産の材料を収集し、形態およびDNA解析を行い、対馬南部浅藻地区の一部個体群が対馬他地域産のキバナヒメハナバチとは明らかに異なり別種であることを明らかにし、また現地調査により、対馬でのミナミキバナヒメハナバチとキバナヒメハナバチ2種の正確な分布地域を特定し、学会発表を行った（図(8)-6）。



図(8)-6 左 ジシバリに訪花するミナミキバナヒメハナバチのメス（長崎県対馬南部浅藻地区）  
 右 ミナミキバナヒメハナバチの生息する長崎県対馬南部浅藻地区

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

#### 1) アジア産クマバチ類標本データベースの構築とホットスポットの推定

オランダ生物多様性センター（ライデン）およびロンドン自然史博物館所蔵のアジア産クマバチ類の標本データベースを構築しWeb上での公開が完了した。アジア熱帯植物の送粉に大きな役割をはたすクマバチ類の分布、希少性等が明らかになり、ホットスポット推定および今後の保全の有用な資料となった。

#### 2) 日本産ハナバチ類図鑑の出版およびアジア産ハナバチ類画像データベースの構築

「日本産ハナバチ類図鑑」を出版したことにより、これまで生態学研究者には同定が困難であった多数の野生ハナバチ類が研究材料に加えられることになり、生態学研究等への応用上の価値が増した。熱帯アジア産ハナバチ類についても、オランダ生物多様性センターと英国大英自然史博物館所蔵のアジア産ハナバチ類の画像を撮影し種情報を付加した、「熱帯アジア産ハナバチ類画像データベース（TAB）」を構築公開した。アジアの送粉ハナバチについて、はじめて種情報基盤を整え、今後の多様性研究、生態学的研究および森林保全に貢献することが期待される。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

本事業の成果を反映させて、環境省レッドデータブックおよび福岡県レッドデータブックのハチ目の執筆を行い、日本および福岡県の絶滅のおそれのあるハチ類について解説した。

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

特に記載すべき事項はない。

## 6. 国際共同研究等の状況

本研究開発事業ではオランダ、イギリスの博物館が所蔵するアジア産ハナバチ類の標本および画像のデータベース構築を、その連携協力のもとに進め、完成させることができた。

- 1) アジア産ハナバチ類の標本および画像のデータベース構築、Dr. C. van Achterberg、Collection Manager Frederique Bakker、オランダ国立生物多様性センター（ライデン）、オランダ、標本調査と撮影許可およびデータベース構築公開承認、熱帯アジアでの昆虫研究の連携協力、共同研究の推進の役割
- 2) アジア産ハナバチ類の標本および画像のデータベース構築、Collection Manager David Notton、大英自然史博物館（ロンドン）、イギリス、標本調査と撮影許可およびデータベース構築公開承認、熱帯アジアでの昆虫研究の連携協力、共同研究の推進の役割

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

<論文（査読あり）> （主な論文のみ）

- 1) H-L. XU and O. TADAUCHI: *Esakia*, 52, 77-90 (2012), A revision of the subgenus *Euandrena* of the genus *Andrena* of eastern Asia (Hymenoptera: Apoidea: Andrenidae).
- 2) R. MURAO: *Esakia*, 52, 91-94 (2012), *Lasioglossum (Evylaeus) tadauchii* sp. nov. (Hymenoptera, Halictidae) from Amami-Ōshima, southwestern Japan.
- 3) O. TADAUCHI, R. MURAO, N. TAKAHASHI, H. INOUE and F. KAMITOMO: *Esakia*, 53:17-19 (2013), Construction of Asian Xylocopa specimen database BeeAXylo.
- 4) R. MURAO, O. TADAUCHI and H. XU: *Zookeys*, 305, 21-32, DOI: 10.3897 (2013), *Seladonia (Pachyceble) henanensis* sp. n. (Hymenoptera, Halictidae) from China.
- 5) Y. TOKUMOTO, T. ITIOKA, T. OHKUBO, O. TADAUCHI and M. NAKAGAWA: *Entomological Science*, 16(3), 341-351 (2013), Assemblage of flower visitors to *Dillenia suffruticosa* and possible negative effects of disturbances in Sarawak, Malaysia.
- 6) 多田内 修、大石久志、鈴木まほろ：日本生態学会誌、64: 27-35, 2014(2014), 日本産ハナバチと訪花性双翅目に関するインベントリーの現状と課題.
- 7) R. MURAO, O. TADAUCHI and H-S. LEE: *European Journal of Taxonomy*, 137: 1–50 (2015), Synopsis of *Lasioglossum (Dialictus)* Robertson, 1902 (Hymenoptera, Apoidea, Halictidae) in Japan,
- 8) R. MURAO: *Japanese Journal of Systematic Entomology*, 21 (1): 1-3 (2015), Notes on the distribution of the genus *Lasioglossum* (Hymenoptera, Halictidae) in eastern Asia.

## (2) 口頭発表 (学会等) (主な発表のみ)

- 1) 安藤裕介、多田内修：平成23年度日本昆虫学会九州支部大会 (2011)  
「キバナヒメハナバチ種群の対馬、韓国、奄美大島産個体群のDNA barcodeと形態学的研究」
- 2) 多田内 修：第59回日本生態学会大会 (2012)  
「日本産ハナバチ類の種多様性と図鑑出版計画」
- 3) O. TADAUCHI: 24th International Congress of Entomology, Daegu, Korea (2012)  
“Asian species information databases KONCHU and AIIC based on Asian insects”
- 4) 多田内 修：第73回日本昆虫学会大会シンポジウム「RDB昆虫の現状と課題：新たに選定された環境省第4次レッドリスト昆虫種」 (2013)  
「第4次レッドリストからみた日本産ハチ目の現状」
- 5) 村尾竜起：第75回日本昆虫学会大会 (2015)  
「アジアにおけるコハナバチ属ハナバチ類 (ハチ目：コハナバチ科)の自然誌」

## (3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

## (4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 多田内 修：日本学術会議公開シンポジウム「昆虫分類学の新たな挑戦」 (主催：日本学術会議・日本昆虫科学連合、2013年7月20日、九州大学工学部本館第会議室、参加者250名)にて「日本の基盤資源としての昆虫標本の収集・収蔵とデータベース構築の現状」を講演

- 2) 多田内 修：日本学術会議公開シンポジウム「植物保護における分類情報の重要性」（主催：日本学術会議・日本植物保護科学連合、2014年12月6日、東京大学農学部1号館、参加者100名）にて「昆虫分類・多様性研究と情報整備の現状およびその必要性について」を講演

**(5) マスコミ等への公表・報道等**

特に記載すべき事項はない

**(6) その他**

**(単行書)**

- 1) 多田内修・村尾竜起（編）：（2014）日本産ハナバチ図鑑、文一総合出版、479 pp.
- 2) 多田内修（分担執筆）：（2014）福岡県の稀少野生生物、ハチ目、福岡県、276 pp.
- 3) 多田内修（分担執筆）：（2015）環境省レッドデータブック2014-日本の絶滅の恐れのある野生生物-、ハチ目、ぎょうせい

**8. 引用文献**

- 1) 多田内修：（2015）アジア乾燥地帯の砂漠化防止・緑化支援としての送粉ハナバチ類、東アジアの砂漠化進行地域における持続可能な環境保全、九州大学東アジア環境研究機構RIEAE叢書VI、花書院,福岡,203 pp.

### (9) 遺伝子データと個体の空間分布データを統合した多様性変動の解析

東北大学大学院農学研究科	陶山佳久
<研究協力者>	
東北大学大学院農学研究科	松木悠・伏見愛雄
国立極地研究所（新領域融合研究センター）	中澤文男
Changwon National University（韓国）	Hyeok Jae Choi
Uppsala University（スウェーデン）	Laura Parducci
山形大学理学部	富松裕
国立研究開発法人森林総合研究所	須貝杏子

平成23～27年度累計予算額：5,112千円（うち平成27年度：934千円）

予算額は、間接経費を含む。

#### [要旨]

従来の生物多様性観測・評価では、種レベルの多様性が重視される傾向にあり、遺伝子多様性についてはその観測体制が遅れている。そこで本研究では、特に遺伝子データと個体の空間分布データを統合した多様性変動解析の必要性に着目して、以下の研究開発を行った。第一に、アジア産絶滅危惧植物を対象として、遺伝子データと個体の空間分布データを統合した現状評価の実例となるデータを取得して解析した。これによって、絶滅危惧植物の多様性保全策に生かすことのできる提案例を示した。第二に、遺伝子多様性維持のための政策上、有効だと考えられる情報提供として、日本産主要樹木の遺伝子データと空間分布データを統合した情報をとりまとめて書籍として出版した。この情報を用いて種苗移動制限ガイドラインの策定を行うことで、遺伝子多様性の維持・保全に貢献できると考えられる。第三に、遺伝子多様性アセスメント手法として広く利用できる新たなDNA分析方法を提案し、これを「MIG-seq法」として完成させて原著論文として発表した。この手法は、簡便かつ低コストで広い範囲の生物種・サンプルに対して迅速な遺伝的多様性評価が可能のため、国際的な標準的遺伝子多様性評価手法として幅広い利用が期待できる。この手法を用いて、空間分布データを取得したサンプルについて遺伝子データを取得して両者を統合することで、その生物の地域集団に関して遺伝的地域性を明らかにすることができる。さらに集団動態履歴の解析を行えば、集団サイズの変動や集団分化パターンなど、多様性変動についても解析することができ、その広い応用が期待できる。第四に、過去から現在にわたる多様性変動解析方法の開発を行った。これまで、植物を対象とした過去からの遺伝子多様性変動の解析はほとんど行われていなかったのに対し、本研究では連続堆積物等に含まれる古代試料のDNAを分析することに着目し、それらの遺伝的解析によって遺伝子多様性変動に関するデータ取得が可能であることを提案し、遺伝子多様性変動予測にも応用可能であることを示した。

#### [キーワード]

遺伝子多様性保全、絶滅危惧植物、遺伝的地域性、次世代DNAシーケンシング、古代DNA分析

## 1. はじめに

生物多様性は、遺伝子・種・生態系の多様性で構成されている。これらのうち、種内の多様性に相当する遺伝子レベルの多様性については、多様性の最も基盤的要素であるにも関わらず、その観測・評価・予測の国際的体制が脆弱である。例えば、絶滅危惧生物の保全対策として、遺伝子多様性を考慮した対策が講じることが技術的に可能になったのはごく近年のことであり、わが国ではこのような体制は十分に整っていない。したがって、わが国を含めた身近なアジア地域における絶滅危惧生物の保全対策策定には、空間分布データとともに遺伝子データが有効であることを、その実例によって示すことで一般市民および関連行政分野に理解を広める必要がある。

一方、これまでに広域分布種などを対象とした分子系統地理学的な研究は盛んに行われており、このような空間的遺伝構造・遺伝的地域性に関する知見は、例えば植林などの人為活動のために生物を移動させる場合、その移動によって遺伝的な攪乱を生じないようにする（つまり遺伝的地域性を保全する）ガイドラインの策定に利用可能である。しかしながら、これまでこのようなデータは、専門性の高い科学論文として発表されるのみで、一般市民や政策決定者などの目に触れる機会がごく限定されていた。そこで、このような遺伝的地域性に関する情報を、生物多様性保全対策の策定者が利用できるようにする工夫が必要だと考えられる。

また、以上のような遺伝子多様性に関するデータを取得するためには、これまで一般的には対象生物それぞれについて、その分析のために必要となる分子マーカー（マイクロサテライトDNAマーカー等）を開発する必要があった。この開発に要する手間・時間・費用が、現実的には例えば個々の絶滅危惧生物を対象とした研究を進める場合、大きな障害となっていたのが現実である。他方、近年発達の著しい次世代DNAシーケンシング（next-generation sequencing; NGS）技術を用いれば、これまでとは桁違いの量のDNAデータが得られることがわかっており、先進的な研究例ではNGSを集団遺伝学や分子系統地理学に利用する例も見られるようになった。しかし、NGSを使った既存の技術では、一般的に比較的高品質で多量のDNA試料を必要とするため、このことが野外採取サンプルを主な対象とする保全遺伝学に適用する際の大きな障害となっていた。そこで、遺伝子多様性の迅速な観測・評価・予測研究のために、新たな分析技術の開発が望まれている。

一方、多様性変動の評価や予測をする場合には、過去からの多様性変動に関する情報は重要な意味をもつが、過去の遺伝子多様性の変遷についてこれまで直接的にデータを取得する方法はほとんど考慮されてこなかった。特に植物を対象とする場合、過去に生存した生物試料として、古代DNAが抽出できるほど保存状態のよい大型植物遺体が発見されることは稀であり、過去からの多様性の変動を解析できるような連続的な試料が得られることはほとんどないと言ってよい。そこで、大型植物遺体に頼らない、別の手法による遺伝的多様性変動の分析法が希求されている。

## 2. 研究開発目的

本研究では以下の4点を目的として研究開発を行った。第一に、絶滅危惧植物の多様性保全策に生かすことのできる提案例を示すことを目的として、アジア産絶滅危惧植物等を対象として遺伝子データと個体の空間分布データを取得した。第二に、日本産主要樹木の遺伝的地域性の維持・保全を目的として、種苗移動制限ガイドラインの策定等に貢献できるようにそれらの分子系統地理学的研究データをとりまとめ、情報提供を行うこととした。第三に、遺伝子多様性アセスメント手法として広く利用できる新たなDNA分析方法を提供することを目的として、その技術開発を

行った。第四に、過去から現在にわたる遺伝子多様性変動を解析してその将来予測に応用することを目的として、そのアプローチ法に関する提案と技術開発を行うこととした。

### 3. 研究開発方法

#### (1) 絶滅危惧植物の全個体空間分布データの取得および遺伝子データ解析

サブテーマ10と共同して、アジアに分布する絶滅危惧種について遺伝子データと個体の空間分布データを統合した現状評価の実例とするため、現存する全個体数とその空間分布を把握するための現地探索調査を行った。このうち、本サブテーマ担当者は韓国における絶滅危惧種の現地探索調査を主に担当し、以下の6種について現存するほぼ全個体の分布実態を記録した。すなわち、ミヤマトベラ (*Euchresta japonica*)、コガクウツギ (*Hydrangea luteovenosa*)、ルリトラノオのなかま (*Veronica pusanensis*)、タチスミレ (*Viola raddeana*)、ルリミノキ (*Lasianthus japonicus*)、シラカシ (*Quercus myrsinifolia*) の6種である。これらのうち、ミヤマトベラ、コガクウツギ、ルリミノキ、シラカシについては遺伝子データを取得して統合解析した。そのほか、国内希少植物としてニッパヤシ (*Nypa fruticans*) およびレブンアツモリソウ (*Cyrtopodium macranthos* var. *rebunense*)、さらにはインドネシア等のアジア地域における絶滅危惧植物(サブテーマ10を参照)の遺伝子データ分析を分担し、それらの保全遺伝学的解析を行った。

#### (2) 遺伝子多様性維持政策上の情報提供

遺伝子多様性維持対策の1つとして日本産主要樹木の遺伝的地域性の保全に注目し、そのために必要な遺伝的集団構造データをとりまとめた。具体的には、これまで科学論文として発表された日本産樹木43種の分子系統地理学・集団遺伝学的な遺伝的地域性データを集約し、新たに統一的な解析を加えるなどした上で、すべての種の遺伝的地域性を統一的なデザインの地図上において一目で理解できるようにした。これらの情報を用いて、日本産主要樹木について種苗移動制限ガイドラインの提言を行うことで、遺伝子多様性維持政策上の情報提供として貢献できると考えられる。また、ヨシの繁茂する湿原を摸した小規模な人工実験湿地を用いて、ヨシの遺伝的多様性が水質浄化と一次生産量に及ぼす影響を調べる操作実験を行った。これは、生態系機能の発揮における遺伝子多様性の重要性を示す例として位置づけることができ、遺伝子多様性維持政策を進める必要性を説明するための情報源として提供できる。

#### (3) 遺伝子多様性評価のための分析手法開発

遺伝子多様性アセスメント手法として広く利用できる新たな手法を開発することを目的として、次世代DNAシーケンサーを用いた遺伝子多様性分析方法を開発した。具体的には、一般的なゲノム内に数多く存在する単純反復配列に挟まれた数千以上の領域を、マルチプレックスPCRによって同時に増幅し、それらをライブラリーとして次世代DNAシーケンサーで同時に読み取って一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) を検出し、さらにそれらを遺伝マーカーとして集団遺伝学的解析等の遺伝子多様性評価を行うための、一連の手法を開発した。

#### (4) 過去からの生物多様性変動を対象とした解析手法の開発

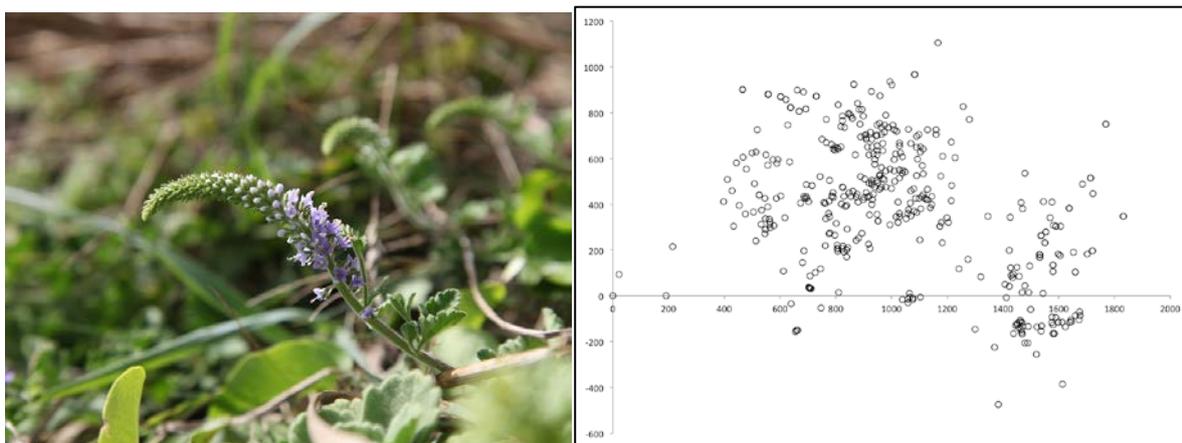
サブテーマ11と共同して、遺伝的多様性変動に関わる解析手法の検討を行い、遺伝子多様性変

動観測法の新たな提案と、遺伝子データと個体の空間分布データを統合した新たな解析法を開発・提案した。特に、Palaeo-ecogenomics（古エコジェノミクス）として、古代花粉DNA試料や氷河・湖底堆積物のメタジェノミクス解析による、過去から現在までの比較的長い期間の遺伝的多様性変動の解析法が可能であることを提案した。さらに、そのための具体的なデータ取得事例として、湖底堆積物中の花粉および山岳氷河のアイスコア中の花粉のDNA分析法に関する基礎技術開発を行った。また、「地理情報システム技術を用いた歴史生物地理学的解析」として、遺伝子データと個体の空間分布データを統合した解析法を提案した。

#### 4. 結果及び考察

##### (1) 絶滅危惧植物の全個体空間分布データの取得および遺伝子データ解析

アジアに分布する絶滅危惧種についてその分布実態を把握するための現地探索調査を行い、特に韓国における絶滅危惧種6種について、現存するほぼ全個体の分布実態を記録した。その成果の一例として、韓国・釜山市近郊（Daebyeon-ri, Gijang-eup）にあるルリトラノオのなかま（*Veronica pusanensis*）の世界で唯一の個体群について、初めて現存する全ての株を探索してその分布全体像を記録した。その結果、現存する全株数はわずか400株ほどであることがわかり、およそ20m 18mの極めて限られた範囲内のみに分布している個体群の全体像が明らかになった(図(9)-1)。また、その他の種に関する遺伝子データと個体の空間分布データを統合した研究の成果は、論文として発表した<sup>1)</sup>。例えばニッパヤシの例<sup>2)</sup>では、我が国では西表島の2ヶ所のみ存在する成熟個体の集団が、それぞれ遺伝的にはわずか1個体で構成されていることがわかった。つまり、現在西表島に分布している集団が、ごく稀にこの島にたどり着いた種子をもとにクローン成長によって成立した群落であることを示唆していた。したがって、このような生物学的背景を考慮した保全対策として、人為的移植や人工交配などは推奨できず、現地保全を基本としたモニタリング等による保全関連活動が適切であると考えられた。このようなデータにより、そのほかの隔離植物集団や絶滅危惧種集団を対象としたケースにおいても、生物多様性を保全するために必要な、より適切な対策を講じることができることを示した。

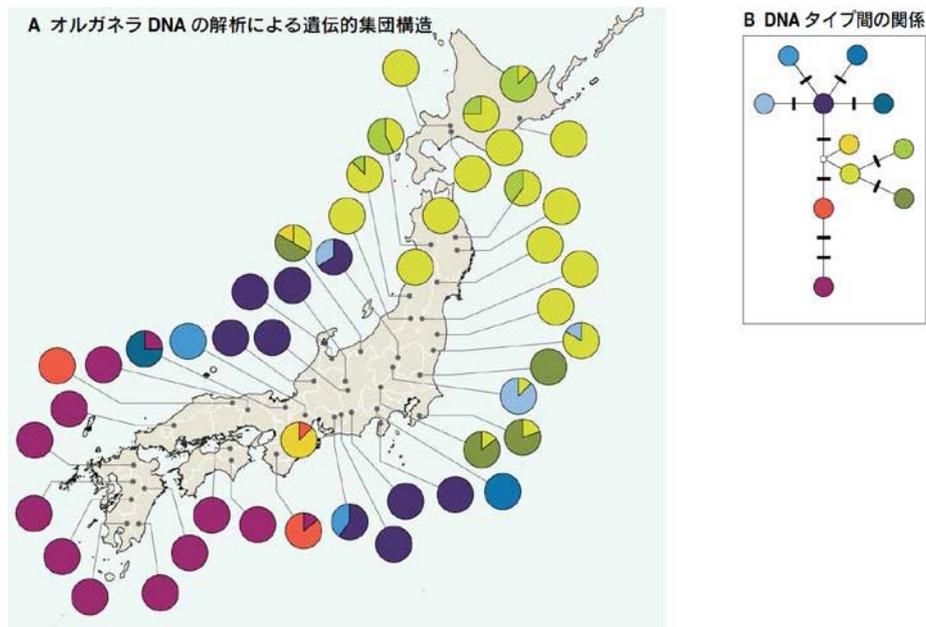


図(9)-1 *Veronica pusanensis* の花序（左）と、その全個体の分布位置（単位はセンチ）（右）

##### (2) 遺伝子多様性維持政策上の情報提供

日本産主要樹木の遺伝的多様性維持のための情報提供を目的として、『地図でわかる樹木の種

『苗木移動ガイドライン』と題する書籍を出版した<sup>3)</sup>。この書籍では、遺伝子多様性維持対策の1つとして日本産主要樹木の遺伝的地域性の保全に注目し、そのために必要な遺伝的集団構造（遺伝的地域性）データを取りまとめた（図(9)-2）。これらの情報を用いて、日本産主要樹木について種苗移動制限ガイドラインの提言を行うことで、遺伝子多様性維持政策上の情報提供として貢献できる。例えば、植林等の人為活動の方法を、生物多様性保全のために最適化させるための情報として有効利用することができる。



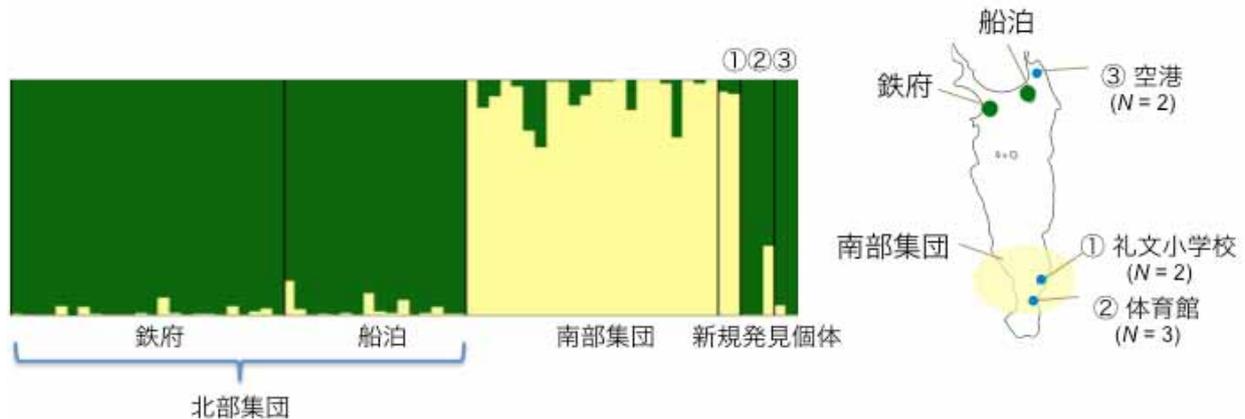
図(9)-2 オルガネラDNAの解析によるオオモミジの遺伝的集団構造（遺伝的地域性）を示した例（A）と、それらのDNAタイプ間の関係を示すネットワーク図（B）<sup>3)</sup>

また、ヨシ個体群の遺伝的多様性が水質浄化と一次生産量に及ぼす影響を調べる操作実験を行った結果、同一クローンのヨシだけを植栽した単植区と、6クローンを混ぜて植栽した混植区を比較すると、遺伝的多様性の高い混植区で生産量が多く、水質浄化機能も高いことが示された<sup>4)</sup>。この成果は、生物多様性（遺伝的多様性）が私たちの生活に直接メリットとなる例を示しており、遺伝子多様性維持政策を進める必要性を説明するための情報源として利用することができる。

### （3）遺伝子多様性評価のための分析手法開発

遺伝子多様性アセスメント手法として広く利用できる次世代シーケンサーを用いた分析方法を開発し、論文発表した（Multiplexed ISSR Genotyping by sequencing (MIG-seq) 法<sup>5)</sup>）。さらに、この手法が広い種群の遺伝子多様性解析に即座に利用可能であることを示すために、微生物・菌類・脊椎動物・無脊椎動物・高等植物を材料として、一般的な集団遺伝学的解析の例を示した。その結果、すべてのサンプルにおいて集団遺伝学的解析が可能な数のSNPマーカーが検出され、それらを用いて2つの異なるサンプルグループを明瞭に識別することができた（図(9)-3）。この手法は、簡便かつ低コストで広い範囲の生物種・サンプルに対して迅速な遺伝的多様性評価が可能のため、国際的な標準的手法として幅広い利用が期待できる。また、空間分布データを取得したサンプルについてこの手法による遺伝子データを取得して両者を統合することで、その生物の地域

集団に関して遺伝的地域性を明らかにすることができる。さらにこのデータを用いて集団動態履歴の解析を行えば、集団サイズの変動や集団分化パターンなど、多様性変動についても解析することができるため、遺伝子多様性の観測・評価・予測研究のための利用価値が高い。

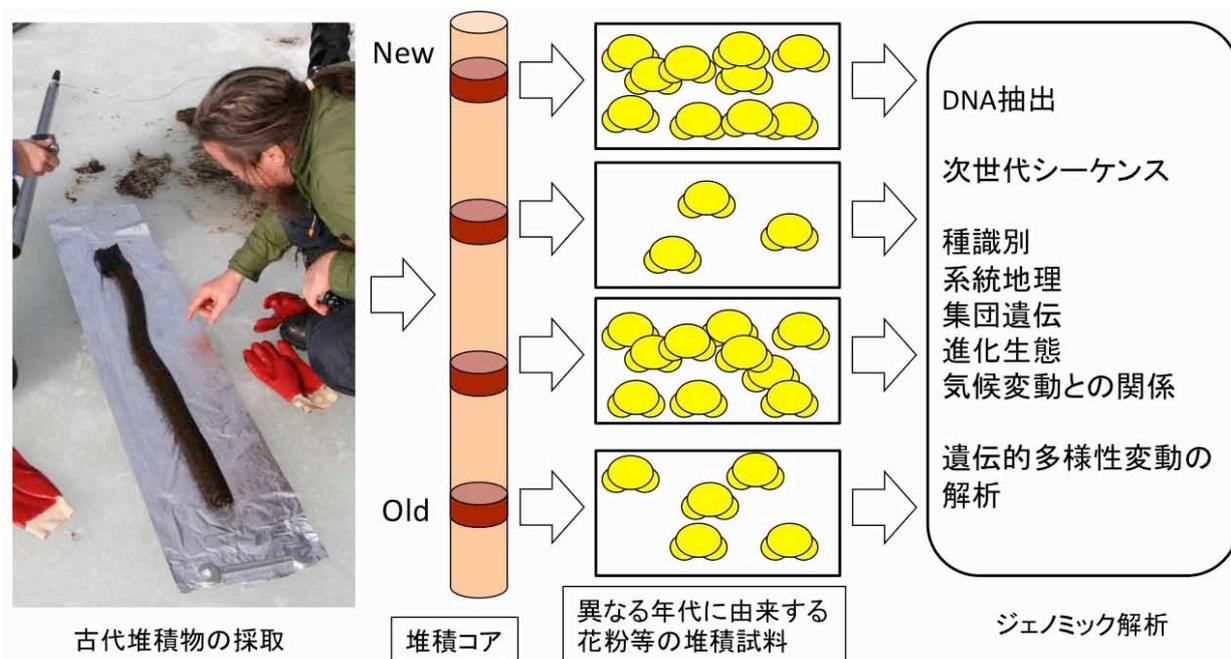


図(9)-3 絶滅危惧植物レブンアツモリソウの試料採取位置（右）と、MIG-seq法によって得られた386座のSNPをもとに解析したそれらの遺伝的集団構造解析図（左）

左図では、各個体内の遺伝的組成を2つの遺伝的要素（想定分集団）の割合として100%積み上げ棒グラフで色分けして表している。この図では、北部と南部の集団が遺伝的に明確に異なることが示されている。また、主要自生地以外で発見された個体（左図の右端の①②③）が、北部あるいは南部の由来なのかについても推定が可能であることを示している。例えば②の株は島の南部で発見されたにも関わらず、遺伝的には島の北部の要素を持っているため、人為的な移動の可能性が疑われる（伏見ら、未発表）。

#### （4）過去からの生物多様性変動を対象とした解析手法の開発

Palaeo-ecogenomics（古エコジェノミクス）として、古代花粉DNA試料や湖底堆積物のメタジェノミクス分析によって過去における植物の遺伝子多様性変動解析のためのデータ取得が可能であることを示し、そのアプローチ法について提案した（図(9)-4）<sup>7)</sup>。また、そのための具体的なデータ取得事例として、湖底堆積物中の花粉<sup>8)・9)</sup>や、山岳氷河のアイスユア中の花粉<sup>10)</sup>のDNA分析法に関する基礎技術開発を進め、その成果を論文発表した。さらに、地理情報システム技術を用いて遺伝子データと個体の空間分布データを統合した解析法が可能であることを、この分野の有用な研究アプローチ例として示した<sup>6)</sup>。これらの手法開発・提案により、特に生物多様性（遺伝的多様性）の将来予測のために有効な情報源となりうる、過去における多様性変動に関する情報取得の道が拓けたと言え、今後のこの分野の発展に寄与することが期待される。



図(9)-4 遺伝子多様性変動観測に用いることができるアプローチ法概念図

湖底堆積物等の連続古代堆積試料を採取し、その中に含まれる花粉等の生物試料や堆積物（土壌）自体を試料としてDNAを抽出する。それを次世代DNAシーケンシングにより遺伝的データを取得して、遺伝子多様性の変動解析に用いることができるという発想を示している<sup>(8)</sup>の図を改変）。

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

本研究では、アジア産の絶滅危惧植物を対象として、遺伝子データと個体の空間分布データを統合した現状評価の実例を示した。その研究成果の例として、遺伝的集団構造解析によって絶滅危惧植物の分布域内に遺伝的地域性があることを明確に示し、それら異なる地域集団を別の保全単位として保全することの重要性を提示した。このことは、その種に関する保全遺伝学的データとして科学的価値があるだけでなく、この手法を用いることによって、同様のデータが他種においても容易に取得可能であることを示したという意味においても価値がある。

また、日本産主要樹木の遺伝的多様性維持のための情報提供を目的として、『地図でわかる樹木の種苗移動ガイドライン』と題する書籍を出版した。これまでにこのような国内生物の遺伝的地域性情報が一般市民にも理解できる形でまとめられたことはなく、世界的にも類例を見ない先進的な成果だと言える。

本研究の最も大きな科学的成果としては、遺伝子多様性観測のための新たな手法を開発したことが挙げられる。これまで、ある特定の生物種の遺伝子多様性を評価するためには、まず当該対象種に対応する遺伝マーカーを開発する作業から始める必要があるのが一般的であった。その作業には時間と労力がかかるだけでなく、しばしば短期間では十分な数の有効なマーカーが開発できないこともあり、遺伝子多様性の評価が思うように進まない理由の一つとなっていた。本研究ではこれらの問題を解決して、今後遺伝子多様性アセスメント手法として広く利用できる次世代DNAシーケンサーを用いた分析方法を開発した。また、この手法が広い種群の生

物に応用可能であることを示した。本手法は、簡便かつ低コストで、広い範囲の生物種・サンプルに対して迅速な遺伝的多様性評価が可能のため、今後の幅広い利用が期待できる点でその科学的意義は大きい。

最後に、過去に生存していた生物を対象とした遺伝子多様性変動に関わる解析手法については、そもそもこれまでこのようなアプローチについて十分な検討がなされてこなかった。本研究では、古代花粉DNA試料や氷河あるいは湖底堆積物のDNA分析によって、過去における植物の遺伝子多様性変動解析のためのデータ取得が可能であることを示した。これらの研究分野については、本研究分担者らが世界的にも先駆的な立場にあり、今後のこの分野の発展に対する寄与は大きい。

## (2) 環境政策への貢献

### <行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

### <行政が活用することが見込まれる成果>

特に記載すべき事項はない。

## 6. 国際共同研究等の状況

計画名：East Asia Biodiversity Conservation Network (EABCN)。協力案件：Construction of infrastructure for conservation of rare and endemic plants in Korea。カウンターパート：Hyeok Jae Choi (Changwon National University・韓国)。参加・連携状況：この研究プログラムで対象となる絶滅危惧種のうち、少なくとも3種のデータは本研究の成果を利用している。国際的位置づけ：日本を含む東アジア5カ国が参加。

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文(査読あり)>

- 1) F. NAKAZAWA, J. UETAKE, Y. SUYAMA, R. KANEKO, N. TAKEUCHI, K. FUJITA, H. MOTOYAMA, S. IMURA and H. KANDA: Environ. Res. Lett, 8, 1, 014032 (2013), DNA analysis for section identification of individual *Pinus* pollen grains from Belukha glacier, Altai Mountains, Russia.
- 2) H-J. CHOI, S. KANEKO, M. YOKOGAWA, G-P. SONG, D-S. KIM, S-H. KANG, Y. SUYAMA and Y. ISAGI: J. Plant Biol, 56, 4, 251-257 (2013), Population and genetic status of a critically endangered species in Korea, *Euchresta japonica* (Leguminosae), and their implications for conservation.
- 3) L. PARDUCCI, I. MATETOVICI, S. L. FONTANA, K.D. BENNETT, Y. SUYAMA, J. HAILE, K. H. KJÆR, N. K. LARSEN, A. D. DROUZAS and E. WILLERSLEV: Mol. Ecol, 22, 13, 3511-3524 (2013), Molecular and pollen-based vegetation analysis in lake sediments from central Scandinavia.
- 4) 陶山佳久、津村義彦：地球環境、18, 2, 127-136 (2013), 日本産針葉樹の遺伝的多様性。

- 5) H. TOMIMATSU, K. NAKANO, N. YAMAMOTO and Y. SUYAMA: *Oecologia*, 175, 1, 163-172 (2014), Effects of genotypic diversity of *Phragmites australis* on primary productivity and water quality in an experimental wetland.
- 6) S. MORINAGA S, T. IWASAKI and Y. SUYAMA: In: S.-i. Nakano et al. (eds.) Integrative Observations and Assessments, Ecological Research Monographs. 327-337 (2014), Eco-evolutionary genomic observation for local and global environmental changes.
- 7) 岩崎貴也、阪口翔太、横山良太、高見泰興、大澤剛士、池田紘士、陶山佳久：日本生態学会誌, 64, 3, 183-199 (2014), 生物地理学とその関連分野における地理情報システム技術の基礎と応用.
- 8) L. PARDUCCI, M. VÄLIRANTA, J. S. SALONEN, T. RONKAINEN, I. MATETOVICI, S. L. FONTANA, T. ESKOLA, P. SARALA and Y. SUYAMA: *Phil. Trans. R. Soc. B*, 370, 1660, 20130382 (2015), Proxy comparison in ancient peat sediments: pollen, macrofossil and plant DNA.
- 9) Y. SUYAMA and Y. MATSUKI: *Sci. Rep*, 5, 16963 (2015), MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform.
- 10) K. SUGAI, S. WATANABE, T. KUIISHI, S. IMURA, K. ISHIGAKI, M. YOKOTA, S. YANAGAWA and Y. SUYAMA: *Conserv. Genet*, 17, 1, 221-228 (2016), Extremely low genetic diversity of the northern limit populations of *Nypa fruticans* (Arecaceae) on Iriomote Island, Japan.

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 津村義彦、陶山佳久(編)：地図でわかる樹木の種苗移動ガイドライン、文一総合出版、176 pp. (2015)

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 伏見愛雄、松木悠、河原孝行、高橋英樹、伊澤岳師、陶山佳久：第46回種生物学シンポジウム (2014)  
「絶滅危惧植物レブンアツモリソウのNGS-SNP分析による集団遺伝学的解析」
- 2) 伏見愛雄、松木悠、河原孝行、高橋英樹、伊澤岳師、陶山佳久：日本生態学会東北地区会第59回大会 (2014)  
「次世代シーケンシング分析による絶滅危惧植物レブンアツモリソウの集団遺伝学的解析」
- 3) Y. SUYAMA and Y. MATSUKI: Contribution of Genetics to Plant Conservation: Brazil-Japan International Workshop 2015, Piracicaba, Brazil, 2015  
“Development of a novel method for conservation genetics with next-generation sequencing: Multiplexed ISSR (inter-simple sequence repeat) Genotyping by sequencing (MIG-seq).”
- 4) Y. SUYAMA and Y. MATSUKI: International Seminar in Jardim Botânico do Rio de Janeiro 2015  
“Development of a novel method for conservation genetics with next-generation sequencing: Multiplexed ISSR (inter-simple sequence repeat) Genotyping by sequencing (MIG-seq).”
- 5) Y. Suyama: Workshop of Young Scientists on Biodiversity and Conservation Biology in Southwest China: Advances in Conservation Genetics. Kunming, China, 2015

“MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide SNP genotyping using NGS platform.”

- 6) Y. Suyama and Y. Matsuki: 11th Clonal Plant Workshop, Třeboň, Czech Republic, 2015

“An effective PCR-based method for genome-wide SNP genotyping using NGS platform.”

### (3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

### (4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 一般公開シンポジウム「津波防災シンポジウム2015-子どもたちと描く千年希望の未来」（主催：公益財団法人生存科学研究所、一般社団法人日本フィットセラピー協会、一般社団法人森の防潮堤協会、2015年11月5日、TOKYO FMホール、観客約200名）にて講演
- 2) S9公開講演会「生物多様性観測・評価・予測研究の最前線5～アジアの生物多様性はどこまでわかったか～」（主催：環境省環境研究総合推進費新規戦略型課題S-9「アジア規模での生物多様性観測・評価・予測に関する総合的研究」、2016年3月25日、東北大学片平さくらホール、観客約100名）にて講演

### (5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) FM仙台（2014年11月30日、植物の遺伝的地域性保全研究の成果について10分ほど紹介）

### (6) その他

特に記載すべき事項はない。

## 8. 引用文献

- 1) H-J. CHOI, S. KANEKO, M. YOKOGAWA, G-P. SONG, D-S. KIM, S-H. KANG, Y. SUYAMA and Y. ISAGI: J. Plant Biol, 56, 4, 251-257 (2013), Population and genetic status of a critically endangered species in Korea, *Euchresta japonica* (Leguminosae), and their implications for conservation.
- 2) K. SUGAI, S. WATANABE, T. KUIISHI, S. IMURA, K. ISHIGAKI, M. YOKOTA, S. YANAGAWA and Y. SUYAMA: Conserv. Genet, 17, 1, 221-228 (2016), Extremely low genetic diversity of the northern limit populations of *Nypa fruticans* (Arecaceae) on Iriomote Island, Japan.
- 3) 津村義彦、陶山佳久(編)：地図でわかる樹木の種苗移動ガイドライン、文一総合出版、176 pp. (2015)
- 4) H. TOMIMATSU, K. NAKANO, N. YAMAMOTO and Y. SUYAMA: Oecologia, 175, 1, 163-172 (2014), Effects of genotypic diversity of *Phragmites australis* on primary productivity and water quality in an experimental wetland.
- 5) Y. SUYAMA and Y. MATSUKI: Sci. Rep, 5, 16963 (2015), MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform.
- 6) 岩崎貴也、阪口翔太、横山良太、高見泰興、大澤剛士、池田紘士、陶山佳久：日本生態学会

誌, 64, 3, 183-199 (2014), 生物地理学とその関連分野における地理情報システム技術の基礎と応用.

- 7) S. MORINAGA S, T. IWASAKI and Y. SUYAMA: In: S.-i. Nakano et al. (eds.) Integrative Observations and Assessments, Ecological Research Monographs. 327-337 (2014), Eco-evolutionary genomic observation for local and global environmental changes.
- 8) L. PARDUCCI, I. MATETOVICI, S. L. FONTANA, K.D. BENNETT, Y. SUYAMA, J. HAILE, K. H. KJÆR, N. K. LARSEN, A. D. DROUZAS and E. WILLERSLEV: Mol. Ecol, 22, 13, 3511-3524 (2013), Molecular and pollen-based vegetation analysis in lake sediments from central Scandinavia.
- 9) L. PARDUCCI, M. VÄLIRANTA, J. S. SALONEN, T. RONKAINEN, I. MATETOVICI, S. L. FONTANA, T. ESKOLA, P. SARALA and Y. SUYAMA: Phil. Trans. R. Soc. B, 370, 1660, 20130382 (2015), Proxy comparison in ancient peat sediments: pollen, macrofossil and plant DNA.
- 10) F. NAKAZAWA, J. UETAKE, Y. SUYAMA, R. KANEKO, N. TAKEUCHI, K. FUJITA, H. MOTOYAMA, S. IMURA and H. KANDA: Environ. Res. Lett, 8, 1, 014032 (2013), DNA analysis for section identification of individual *Pinus* pollen grains from Belukha glacier, Altai Mountains, Russia.

## (10) アジア産絶滅危惧植物の全個体ジェノタイピング

京都大学大学院

農学研究科森林生物学研究室

井鷲 裕司

平成23～27年度累計予算額：29,332千円（うち平成27年度：5,367千円）

予算額は、間接経費を含む。

### [要旨]

適切な生物多様性保全のためには、個体数の少ない絶滅危惧種の遺伝的状況を適切に把握することが重要である。自然環境に対する人為インパクトの増大に伴って多くの植物種が絶滅に瀕しているが、その中には、野生状態で生育する個体数が数100個体以下にまで著しく減少したものも少なくない。本研究では、アジアに生育する絶滅危惧種10種を対象に野生に生育する全個体の遺伝子型を明らかにする事で、現存するクローン数、遺伝的多様性、遺伝構造、ジーンフロー、集団の遺伝的分化、交配様式等を解析して、遺伝子型の包括的モニタリングに基づく生物多様性保全を行った。その結果、アジアに生育する複数の絶滅危惧種について、遺伝的見地から見た種の状況、遺伝情報に基づく未知の野生個体の存在予測、遺伝的タグ付けによる盗掘防止、域外保全すべき個体の適切な選択、域外保全集団の保全的価値の評価などが可能になった。

従来、絶滅危惧種の状況は、種ごとの外部的特徴、すなわち、個体数の多寡や増減にもとづいて評価され、絶滅危惧カテゴリーが決定されてきた。この方法は比較的個体数の多い種において有効である。これに対して本研究では野生に現存するすべての個体を対象に遺伝子型解析を行うことで、種の保全状況を個体レベルで正しく評価し、より有効かつ適切な生物保全策の実施が可能であることを実証した。

### [キーワード]

遺伝的多様性、絶滅危惧種、生物多様性、熱帯多雨林、生育域外保全

### 1. はじめに

自然環境に対する人為インパクトの増大に伴って多くの植物種が絶滅に瀕しているが、その中には、野生状態で生育する個体数が数100個体以下にまで著しく減少したものも少なくない。このような状態にある絶滅危惧種の保全にあたっては、個体群から一部の個体をサンプリングし、遺伝的性質を評価するという集団遺伝学的な手法に基づく解析に加えて、野生個体の全個体を対象にジェノタイピングを行い、現存するクローン数、遺伝的多様性、遺伝構造、ジーンフロー、集団の遺伝的分化、交配様式等を解析して、遺伝子型の包括的モニタリングに基づいて、きめ細かい生物多様性保全を行うことが有効である。

### 2. 研究開発目的

本サブテーマでは、人為インパクトの増大が著しいアジア諸国における絶滅危惧植物10種を対

象に全個体ジェノタイピングを行い、適切な生物多様性評価と保全策の構築を行うことを目的とした。

### 3. 研究開発方法

アジア産絶滅危惧種で野生個体数が著しく減少した植物について、1年間に2種を解析対象とし、野生に生育する全個体を対象に繁殖状況の確認と遺伝解析用の試料を採集した（図(10)-1）。

平成23年度	平成24年度	平成25年度	平成26年度	平成27年度
<p><b>ミヤマトベラ</b> <i>Euchresta japonica</i></p>  <p>■既知の韓国野生個体は数本。 ■数十個体の域外保全集団 ■インターネット上で高値で売買 ■遺伝的評価のないまま、域外保全集団を補えられている。</p>	<p><b>コガクウツギ</b> <i>Hydrangea luteovenosa</i></p>  <p>■日本では普通種だが、韓国では最近発見された200個体からなる1集団のみで、開花・結実率が低い。</p>	<p><b>ルリミノキ</b> <i>Lasianthus japonicus</i></p>  <p>■韓国では野生に15個体のみ。 ■日本では府県レベルで絶滅危惧種。</p>	<p>熱帯多雨林の生物多様性を支えるフタバガキ科樹木6種</p> 	
<p><b>エンゴサク属新種</b> <i>Corydalis hirtipes</i></p>  <p>■新種記載時には、既に数百個体まで減少。</p>	<p><b>ゴマノハグサ属</b> <i>Scrophularia takesimensis</i></p>  <p>■鬱陵島に数百個体が分布。</p>	<p><b>シラカシ</b> <i>Quercus myrsinifolia</i></p>  <p>■日本では普通種だが、韓国には局所的に数百個体のみが生育</p>	<p><b>Vatica bantamensis</b></p>  <p>■2011年に再発見。 ■インドネシア・ウジュンクロン国立公園のみに生育するフラッグシップ種。</p> <p><b>Vatica perakensis</b></p> <p>■インドネシア・ムルサラ島には3個体のみが残存。</p>	<p><b>Dipterocarpus lamellatus</b></p> <p>■マレーシアに20個体未満が野生。</p> <p><b>Shorea kudatensis</b></p> <p>■マレーシアに少数個体が野生。</p> 

図(10)-1 解析対象種

解析対象とした種は平成23年度に、ミヤマトベラ(*Euchresta japonica*、マメ科)の韓国集団、エンゴサク属新種(*Corydalis hirtipes*、ケシ科)、平成24年度に、コガクウツギ(*Hydrangea luteovenosa*、アジサイ科)の韓国集団、ゴマノハグサ属植物(*Scrophularia takesimensis*、ゴマノハグサ科)、平成25年に、ルリミノキ(*Lasianthus japonicus*、アカネ科)の韓国集団、シラカシ(*Quercus myrsinifolia*、ブナ科)の韓国集団である。平成26年度と27年度は熱帯多雨林の生物多様性を支えるフタバガキ科植物の絶滅危惧種を対象に解析を行った。すなわち、平成26年度に、*Vatica bantamensis*および*Vatica perakensis*、平成27年度に、*Dipterocarpus lamellatus*および*Shorea kudatensis*である(図(10)-1)。次世代シーケンサーを用いてSSR遺伝マーカーを新たに開発し、すべてのサンプルについて、SSR遺伝子型解読あるいは、サブテマ9で開発されたMIG-seqによるSNPs(一塩基多型)解読を行い、現存するクローン数、遺伝的多様性、遺伝構造、ジーンフロー、集団の遺伝的分化などの解析を行った。

### 4. 結果及び考察

#### (1) ミヤマトベラ(*Euchresta japonica*、マメ科)

本種は、日本、韓国、中国に生育するが、特に個体数が少ない韓国では、最重要保全対象種として取り扱われている。韓国で生育するすべての野生個体、8個体と、生育域外保全されている個体12個体について遺伝子型を決定したところ、韓国には野生に5クローンのみが生育していることが明らかになった。また、生育域外保全集団には7クローンと、クローン数が野生集団より多いだ

けではなく、野生集団に見いだせない対立遺伝子を持つ個体もあり、韓国産ミヤマトベラの保全のために、生育域外保全集団の活用が重要であることがわかった。

また、韓国のミヤマトベラは残存する個体数は少ないものの、野生個体数が数万オーダーと考えられる日本の集団よりも高い遺伝的多様性を保持しているという、意外な事実が判明した。

### (2) エンゴサク属植物(*Corydalis hirtipes*、ケシ科)

本種は、最近記載された韓国固有種であり、現存野生に256個体が知られている。本プロジェクトにおいて新たにマイクロサテライトマーカーを開発し、遺伝的多様性の評価を行った結果、ごく少ない個体数にもかかわらず、対立遺伝子数やヘテロ接合度の点から、高い遺伝的多様性が保持されていることが明らかになった。

### (3) コガクウツギ(*Hydrangea luteovenosa*、アジサイ科)

コガクウツギは西日本では低山に普通に分布している低木であるが、韓国では済州島の溪流沿いに285個体からなる1集団が存在するのみであり、韓国においては、その群落の保全価値が高く認められている。韓国済州島に生育するコガクウツギ全個体の遺伝子型解析を行った結果、韓国のコガクウツギ集団を構成する個体は、単一のクローンであることが判明した。

野生個体数が日本で多く、韓国で極めて少ないという点で、ミヤマトベラとコガクウツギは共通しているが、遺伝的な性質は両者で対照的に異なっていた。IUCNの基準では主に個体数や生育地の広さによって絶滅危惧状況が評価されているが、絶滅危惧種の状況を的確に理解するためには、遺伝的な状況を考慮に入れる必要があることを、韓国産のこれらの希少植物は示している。また、複数の国に分布する分類群においては、国際協力を介した、分布域全体における詳細な比較解析が分類群の状況理解に不可欠であることを示している。

### (4) ゴマノハグサ属植物(*Scrophularia takesimensis*、ゴマノハグサ科)

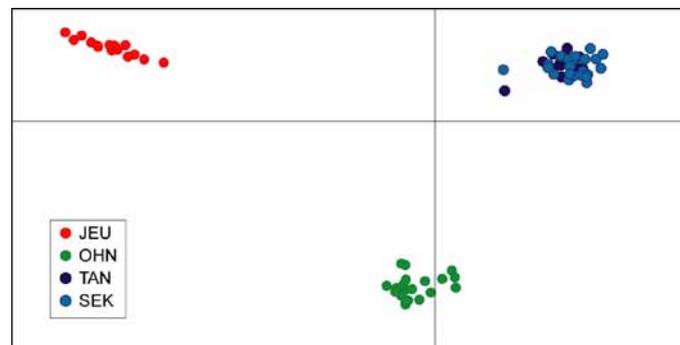
本種は韓国鬱陵島のみで生育する多年生植物である。生育地の網羅的調査の結果、1~73の個体からなる個体群が30個認められたが、遺伝的多様性は低く、同一遺伝子型の個体も多かった。創始者効果、あるいはボトルネックによって遺伝的多様性が低下した後に、海流散布によって鬱陵島内でサブ個体群が形成されたことによって、この様な遺伝特性が生じたものと思われる。

### (5) シラカシ(*Quercus myrsinifolia*、ブナ科)

シラカシは日本では本州以西に広く分布するブナ科の常緑高木であるが、韓国では僅か1ヶ所に集団があるにすぎない。韓国、日本および中国の集団について遺伝子型の比較解析を行った結果、韓国の集団は中国と日本の中間的な性質を示し、3ヶ国の地理的な関係を反映したものとなっていた。また、中国、韓国、日本の3ヶ国の比較では、ヘテロ接合度の観察値や期待値においては大きな差は無いものの、アレリックリッチネスは韓国において低く、固有の対立遺伝子は韓国集団には存在しなかった。これらのことから、韓国におけるシラカシ集団は比較的近年に個体数を著しく減少させたため、ヘテロ接合度は未だ低下はしていないものの、個体数減少に対してより敏感に変化する、アレリックリッチネスやプライベートアレルが有意に低下していると考えられる。現在残されている数百の個体を減少させないことが、韓国のシラカシ保全にとって重要である。

### (6) ルリミノキ(*Lasianthus japonicus*、アカネ科)

本州静岡県以西、四国、九州、中国南部に分布し、日本では本州の6府県において絶滅危惧種として扱われているが、国レベルではレッドリストにはあげられていない。これに対して、韓国では本種の状況はきわめて深刻であり、済州島に15個体が野生状態で生育しているに過ぎない。韓国に野生生育する全個体の遺伝的多様性を解析・評価するために、韓国1集団(15個体)、日本3集団(20~23個体)、計81個体を対象に遺伝解析を行った。その結果、解析した集団の相互関係をみると、韓国、宮崎、広島それぞれが明瞭に識別できる遺伝的特徴を持つことが明らかになった。STRUCTURE解析では、全サンプルは遺伝的に3つのクラスターからなり、それぞれのクラスターの遺伝的分化を示すF値は0.51, 0.56, 0.46であり、3つのクラスターがそれぞれ祖先集団から大きく分化している事がわかった。PCoA解析によっても、韓国のルリミノキが日本のものとは大きく異なる遺伝的特徴を持っており(図(10)-2)、更に、15個体しか存在しない韓国の集団に高い遺伝的多様性が保持されているという大変興味深い事実も明らかになった。



図(10)-2 PCoAによるルリミノキ4集団の相互関係

JEU: 韓国済州島、OHN: 広島県廿日市市、TAN: 宮崎県宮崎市、SEK: 宮崎県都城市

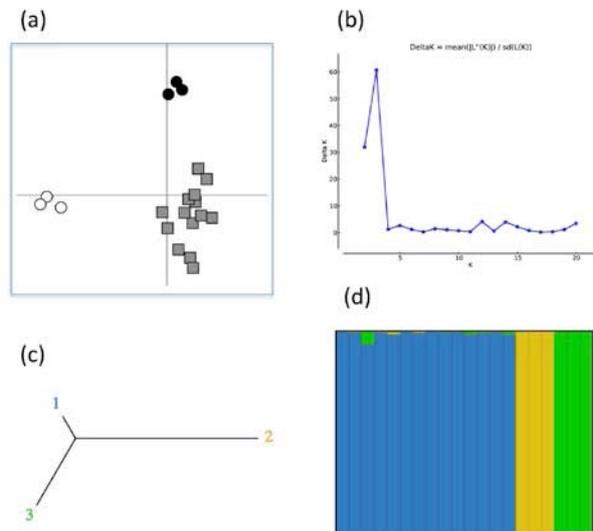
### (7) *Vatica bantamensis*

インドネシア・ジャワ島北部のウジュンクロン国立公園のみに小集団が生育している。生育地はアクセス困難な場所にあり生育状況は不明であったが、2011年に国際研究協力を行っているボゴール植物園の研究者によって生育が再確認された。このような過程から、ウジュンクロン国立公園の自然保護フラッグシップ種という扱いを受けている。また、ボゴール植物園には1869年に採集された個体に由来する実生が3個体ある。この個体は個体群の縮小によって、野生個体群では失われた対立遺伝子を保持している可能性があり、生物保全上興味深い。

遺伝解析の結果、100未満の少数個体のみが生育しているウジュンクロン国立公園の集団では、解析を行ったマイクロサテライト遺伝子座11座中、4座において1個の対立遺伝子で固定されていたが、7座においては遺伝的多様性が保持されていた。一方、1869年に採集されボゴール植物園で栽培されてきた個体に由来する域外保全集団は、11座中10座の遺伝子座で対立遺伝子が固定しており、少数個体の交配による遺伝的多様性の著しい低下が認められた。しかしながら、域外保全集団には、野生集団には見られない対立遺伝子も保持されており、ただ単に遺伝的多様性が低いという理由で域外保全集団の保全価値が低いとするのは妥当ではない。

野生集団の稚樹のゲノム情報を縮約解読することで、現存する唯一の集団は明瞭な遺伝的差異

を示す、少なくとも3個のクラスターから構成されることが明らかになった(図(10)-3)。この情報は、野生残存個体群の保全上の価値を評価し、域外集団創設の際の個体の選別や、近交弱勢のリスクの少ない人工交配の実施などに活用できることが期待される。



図(10)-3 *Vatica bantamensis*野生集団の遺伝構造

(a) PCA第一軸と第二軸平面上のサンプルの分布。3グループが明確に認識できる。  
 (b) STRUCTURE解析では $\Delta K$ 値は $K=3$ において最も大きく、サンプルの遺伝的多様性が3個のクラスターによって構成されていることがわかる。  
 (c) STRUCTURE解析の3クラスターの相互関係。  
 (d) 各サンプルに対するクラスターの割り付け。それぞれのサンプルは1個のクラスターに占められており、複数クラスターは殆ど混合しない。

## (8)

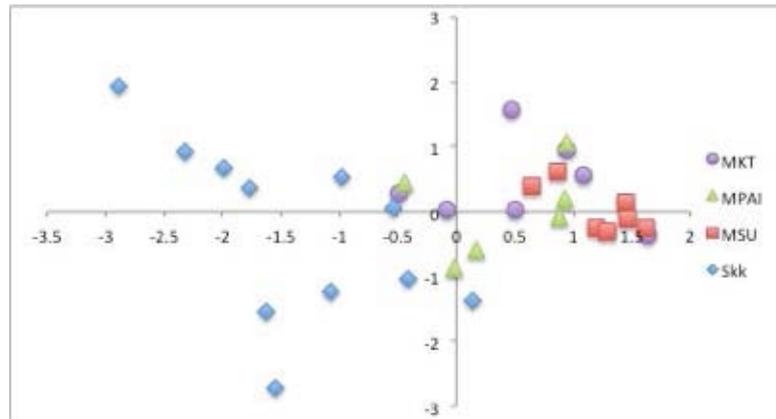
本種は、IUCNのレッドリストには掲載されていないが、絶滅危惧にある分類群である。インドネシア・北スマトラのMursala島には今回遺伝解析用に入手した3個体が生育するのみである。

ボゴール植物園スタッフの現地踏査によって得られた植物試料の遺伝子型を解読したところ、ほとんどの遺伝子座において複数の対立遺伝子が認められた。本種は現在、集団サイズが著しく縮小しているにもかかわらず、遺伝的多様性が保たれていることから、個体数が減少して以降、ほとんど世代交代を行っていないことが推測された。

## (9)

北部および西部サバ州の海岸沿いの丘陵地に分布しているが、すでに本来の自然分布域の90%が失われたと考えられている。(9)および(10)の遺伝解析用サンプルは、共同研究者であるIsmail Sascha博士とChris Kettle博士(チューリッヒ工科大学)らが1ヶ月にわたる現地踏査によって入手し、全個体遺伝子型解析を行うために本プロジェクトへの供与がなされたものであり、4ヶ所の生育地(Melinsung, Sugut, Paitan, Tambilidon)より採集された合計31個体である。(9)および(10)のマレーシア産希少フタバガキ科植物のサンプルについてはサブテーマ9で開発されたMIG-seqにより遺伝子型解読を行った。今回入手したサンプルは高木の樹皮であり、DNA抽出の観点からは厳しい条件であったが、ゲノムを縮約的にPCR増幅させるMIG-seqの特徴により、全てのサンプルで遺伝子型の解読ができた。

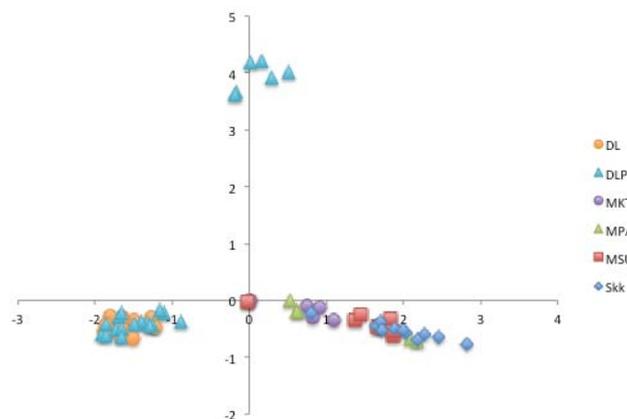
*S. kudatensis*には産地間に遺伝的分化が認められた(図(10)-4)。また、産地ごとの遺伝的多様性にも差異があった。急速に開発が進み生育地が減少しつつある現状において、保全対象集団の優先度を設定するに際して本アプローチは有効と考えられる。



図(10)-4 *Shorea kudatensis*の産地間における遺伝的変異

### (10)

*Dipterocarpus lamellatus*は、フタバガキ科の中でも最も個体数が少なく、絶滅に瀕した種の一つとして知られている。野生より採集された個体は*D. lamellatus*が繁殖個体12個、若齢個体22個であった。*S. lamellatus*と*S. kudatensis*双方のサンプル全体で遺伝的変異を評価したところ、2種に対応した2つのグループではなく、3つのグループにわかれた(図(10)-5)。



図(10)-5 *D. lamellatus*及び*S. kudatensis*サンプル間の遺伝的変異

DL: *D. lamellatus*の繁殖個体、DLP: *D. lamellatus*の若齢個体、MKT, MPAI, MSU, Skk: *S. kudatensis*の産地略号。

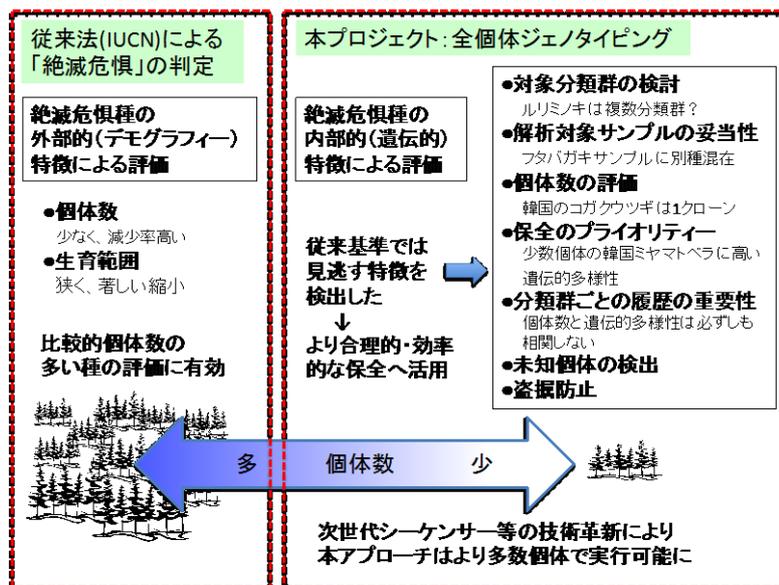
*S. kudatensis*は図の右下に一つのグループとしてまとまったのに対して、*D. lamellatus*は図の左と中央上部に2分される明瞭なパターンが見出された。このうち、繁殖個体と若齢個体が混在する左のグループが、*S. lamellatus*を代表するものと考えられる。図(10)-5において、左下の*D. lamellatus*と右の*S. kudatensis*の2種の差異よりも、図中央の*D. lamellatus*若齢サンプルは遺伝的差異が大きいことから、供与を受けたサンプルには全く異なる種が混在していたものと考えられる。

熱帯林の中であって、繁殖個体は葉の形態などから採集時に種同定が比較的正確に行えるが、若齢個体に関してはその形態に関して正確な記述がなされておらず、種同定は未だに困難である。また、野外調査時に種同定のための形質を得ることは必ずしも可能ではないし、高木種では葉が

採集できないことも多い。今回の*D. lamellatus*の採集に際しては現地専門家も同行したが、他種のサンプルが混在していたことが縮約ゲノム解析によって明らかになった。熱帯林における希少植物のセンサスにおいて、全個体サンプリングと次世代シーケンサーを活用した効率的解析は有効であろう。

### (11) 解析対象種全体に共通する知見

本研究では10種のアジア産希少植物について、次世代シーケンサー等の技術革新などを活用しつつ、野生に生育する全個体の遺伝子型解読を行った。従来、絶滅危惧種の状況は、種ごとの外部的特徴、すなわち、個体数の多寡や増減にもとづいて評価され、絶滅危惧カテゴリーが決定されてきた(図(10)-6)。この方法は比較的個体数の多い種においては有効である。これに対して本研究では野生に現存するすべての個体を対象に遺伝子型解析を行い、種の置かれた保全生物学的状況を明らかにすることを目的とした。その結果、これまで日本と韓国で共通種が分布すると考えられていた植物が、遺伝的に大きく分化していたこと、熱帯多雨林の厳しい条件下で採集された希少植物の試料に複数種が混在していたことなど、保全対象種の範囲を検討すべき事例が多く見られた。



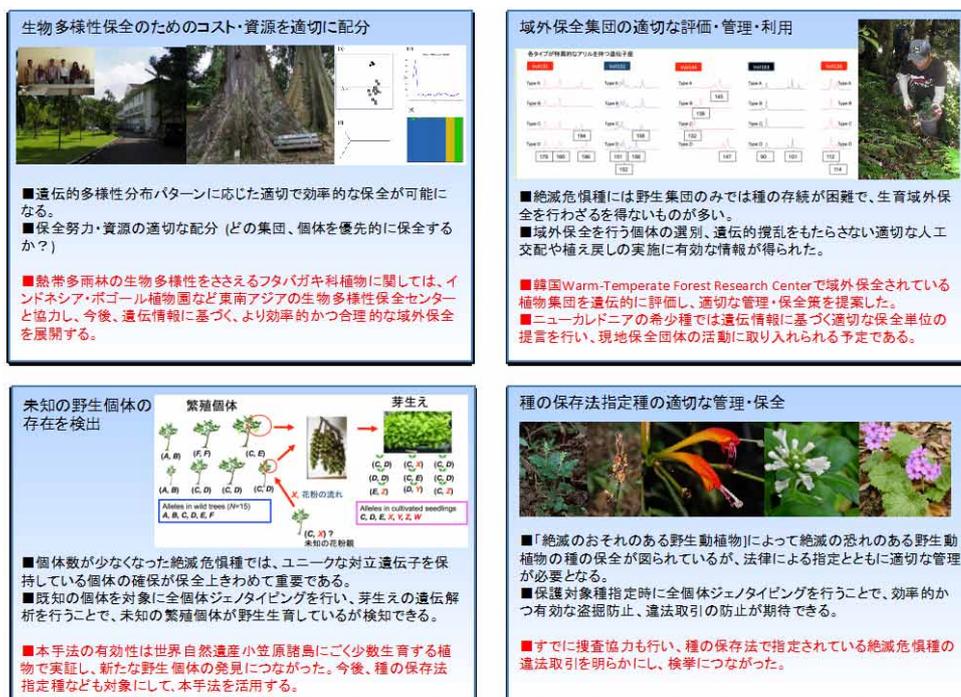
図(10)-6 従来法による「絶滅危惧」状態の判定と本プロジェクトによる評価と利点

個体数が多くてもクローン数が著しく少ない例や(最も極端なのは、2004年に韓国済州島で発見された約300個体のコガクウツギが1クローンであった例)、逆に、20個体にも満たない集団内の遺伝的多様性が、10,000個体以上からなる集団が保持している多様性よりも高いという種、更に、野生に僅かに残された個体が明確な複数の遺伝的グループに別れる例なども見出された。これらの事例は、絶滅危惧種の遺伝的多様性は、個体数と必ずしも相関するわけではなく、種や個体群がたどってきた個別の歴史が大きく影響していることを示唆している。また、ごく少数が残存する希少植物にとって極めて大きな意味を持つ未知野生個体の検出や盗掘個体の種同定・産地特定

なども可能であった(図(10)-6)。この様に、種の保全状況を個体レベルで正しく評価し、有効な生物保全策を実施する上で、全個体ジェノタイプングによる詳細な遺伝解析が有効であることが示された。

全個体ジェノタイプングを実施するためには(1)生育地におけるサンプリングと(2)個体レベルの詳細な遺伝解析が必要である。後者に関しては、本プロジェクト実施中にも遺伝子解読技術の進展があり、実施はより容易になりつつある。従って、パイロット研究的に始めた全個体ジェノタイプングによる生物保全は、今後、野生で多数生育する絶滅危惧種に関しても実行可能になるものと考えられる(図(10)-6)。

野生生育個体数が100を下回るようになった絶滅危惧植物について全個体ジェノタイプング法を行うことで、様々な生物保全上適切な提言・技術提供を行うことが可能であり(図(10)-7)、今後、技術の進展とともにより多数の個体が野生に残存している種に関しても、より適切な生物保全策が構築できると思われる。



図(10)-7 生物保全活動に対する本研究の成果の活用

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

絶滅危惧種の状況は、これまで個体数や生育面積など外部の特徴によって評価されてきたが、全個体の遺伝子型を明らかにする本研究によって、デモグラフィックな解析のみではわかり得ない、各生物種の状況を知ることができた。次世代シーケンサーを活用することで、事前に遺伝情報の無い野生生物でも大量の遺伝情報を低コストで解読可能であり、そのような情報を用いれば、本研究の手法により、科学的根拠に基づく、より合理的かつ効率的な生物保全策を構築する事が可能になる。

## (2) 環境政策への貢献

### <行政が既に活用した成果>

絶滅危惧植物種では野生生育個体の盗掘が絶滅リスクを高めている。絶滅危惧種の全野生個体の遺伝子型を解読するという本プロジェクトのアプローチは、「絶滅の恐れのある野生動植物の種の保存に関する法律」が指定する国内希少野生動植物種の保全に活用された。具体的には群馬県に数十クローンのみが生育するカッコソウの違法売買に関してその同定を遺伝情報を元に行うことで捜査協力し、2015年12月に10名の書類送検に至った。

### <行政が活用することが見込まれる成果>

「絶滅の恐れのある野生動植物の種の保存に関する法律」は2013年6月に改正され、2020年までに300種を国内希少野生動植物種として追加指定することが目的とされている。2015年より、本プロジェクトで開発・改良した手法により野生前個体の遺伝子型を解読することを始めた。2015年は5種の国内希少野生動物種について解析を行ったが、今後も継続する。本プロジェクトのアプローチを国内希少野生動植物種に適応することで、これらの国内希少野生動物種の適切かつ効果的な保全策の構築が期待できる。

## 6. 国際共同研究等の状況

- 1) 韓国との国際共同研究：韓国に生育する希少種の全個体遺伝子型解析に基づく生物保全の共同研究を行っている。ミヤマトベラは野生個体は日本には数万個体以上あるのに対して、韓国に10個体未満が生育しているに過ぎないが、韓国の野生集団に日本より高い遺伝的多様性が保持されていたこと、韓国の域外保全集団には野生集団が保持していないユニークな遺伝的多様性があることなどが本プロジェクトを通して明らかになった。現在、本プロジェクトで明らかになった遺伝子型を元に増殖させた個体の野生への植え戻しが韓国の Warm-Temperate Forest Research Centerで行われている。カウンターパート：Hyeok Jae Choi 博士 (Changwon National University)
- 2) インドネシアとの国際共同研究：東南アジアの生物多様性保全センターの一つであるインドネシア・ボゴール植物園と、全個体遺伝子型解読による絶滅危惧種の遺伝的な現状把握と多様性保全を目指して、学术交流協定を結び(2013年5月)、共同研究を行っている。絶滅危惧種の全個体ジェノタイピングによって得られた情報はボゴール植物園が実施する生物多様性保全活動に活用する。カウンターパート：ボゴール植物園 Siti Roosita Ariati博士 (Head of Collection Registration Subdivision), Yayan Wahyu Kusuma研究員 (植物保護センター), Rosniati Risna研究員 (植物保護センター)
- 3) ニューカレドニアとの国際共同研究：固有率が極めて高く、また多くの絶滅危惧種が生育するニューカレドニアにおける生物多様性保全研究を、本プロジェクトで開発・改良した解析手法で、2014年4月より行っている。2015年11月には、現地の行政関係者、現地生物保全団体を対象に研究成果発表会を行った。その様子は新聞、TVで報道された。また、詳細な遺伝構造解析結果は今後、ニューカレドニアにおける希少植物の保全活動に活用される予定である。カウンターパート：Gildas Gâteblé 研究員 (Institut Agronomique Neo-Caladonien)、Dominique Fleurot (Province Nord et Association Endemia)
- 4) スイスとの国際共同研究：熱帯多雨林構成樹種は分布状況が不明なものが多いが、2015年度の解析に用いたフタバガキ科の希少植物はスイスの共同研究者から供与を得た。本プロジェクトでは集団遺伝学的な解析を行ったが、今後、少数個体のみが残存するフタバガキ科の適切な管理手法をゲノムレベルの解析により明らかにする予定である。カウンターパート：Chris Kettle博士 (チューリッヒ工科大学)、清水健太郎教授 (チューリッヒ大学)

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文（査読あり）>

- 1) 井鷲裕司、兼子伸吾、水谷未耶、加藤慶子、伊津野彩子、高宮正之、志賀隆、増本育子、大竹邦明：DNA多型, 20, 148-152 (2011), 全個体遺伝子型解析による絶滅危惧植物の保全
- 2) H.-J. CHO, H. D. JANG, Y. ISAGI and BU OH: *Oryx*, 46, 399-402 (2012), Distribution and conservation status of *Scrophularia takesimensis* (Scrophulariaceae), a critically endangered endemic species on Ulleung Island, Republic of Korea
- 3) H.-J. CHOI, S. KANEKO, BU OH and Y. ISAGI: *Conservation Genetics Resources*, 4, 407-409 (2012), Development of eight microsatellite markers for *Corydalis hirtipes* (Fumariaceae), a narrow endemic species of Korea
- 4) T. ITO, S. KANEKO, M. YOKOGAWA, G.-P. SONG, H.-J. CHOI and Y. ISAGI: *Korean Journal of Plant Taxonomy*, 43, 30-33 (2013), Isolation and characterization of microsatellite markers for *Hydrangea luteovenosa* (Hydrangeaceae), an endangered species in Korea
- 5) H.-J. CHOI, S. KANEKO, M. YOKOGAWA, G.-P. SONG, D.-S. KIN, S.-H. KANG, Y. SUYAMA, and Y. ISAGI: *Journal of Plant Biology*, 56, 251-257 (2013), Population and genetic status of a critically endangered species in Korea, *Euchresta japonica* (Leguminosae), and their implications for conservation
- 6) J.-H. LEE, D.-H. LEE, H.-J. CHOI, Y. SUYAMA, T. KONDO, Y. ISAGI and B.-H. CHOI: *Korean Journal of Plant Taxonomy*, 44, 165-170 (2014), The distribution and population status of *Quercus myrsinifolia* (Fagaceae) on the Korean peninsula
- 7) 小熊宏之, 井出玲子, 井鷲裕司: リモートセンシング学会誌 (印刷中) (2016)、UAV 観測画像を用いた絶滅危惧植物の花の自動検出手法

#### <その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 志賀隆、横川昌史、兼子伸吾、井鷲裕司、*Nature Study* 58、2-4 (2012)  
「全個体遺伝子型解析で絶滅危惧種を守る」
- 2) 井鷲裕司、*地球環境* 18, 153-158 (2013)  
「全個体遺伝子型解析による絶滅危惧植物の保全」
- 3) Y. ISAGI and S. KANEKO: *Integrative Observations and Assessments*. Springer, 311-325 (2014)  
“Ubiquitous genotyping for conservation of endangered plant species”

### (2) 口頭発表（学会等）

- 1) H.-J. CHOI, S. KANEKO, M. YOKOGAWA, G.-P. SONG, S.-H. KANG, Y. SUYAMA, Y. ISAGI and D.-S. KIM: The 5th EAFES International Congress, Ohtsu, Japan 2012  
"Genetic status and its conservative implications of a critically endangered species in Korea, *Euchresta japonica* (Leguminosae), based on ubiquitous genotyping"
- 2) T. ITO, H.-J. CHOI, Y. SUYAMA, S. KANEKO, G.-P. SONG, S.-H. KANG, C.-S. KIMS and Y. ISAGI: The 5th EAFES International Congress, Ohtsu, Japan 2012

“Ubiquitous genotyping on critically endangered *Hydrangea luteovenosa* in Korea”

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 広島市植物公園シンポジウム「ふるさとの植物を守ろう—植物多様性保全を考える—」（主催：広島市動植物園：公園協会、平成23年10月23日、広島市植物公園展示資料館、聴衆約50名）にて講演
- 2) 平成24年度京都大学森林科学公開講座「里山のいま」（主催：京都大学大学院農学研究科森林科学専攻、平成24年10月28日、京都大学農学部総合館、聴衆約150名）にて講演
- 3) 岐阜県立恵那農業高校における特別授業「遺伝子情報を利用した絶滅危惧種の保全」（平成24年11月13日、岐阜県立恵那農業高校、聴講者約150名）
- 4) 琉球大学公開講演会で講演「全個体遺伝解析による絶滅危惧種の保全」（主催：琉球大学理学部、平成24年12月17日、琉球大学理学部、聴衆約50名）
- 5) カッコソウシンポジウム「カッコソウを守るために」で基調講演「最新の遺伝解析技術を活用した希少植物の保全」（主催：桐生市、平成25年6月23日、桐生市立中央公民館市民ホール、聴衆約250人）
- 6) つくば蘭展シンポジウムで講演「遺伝的多様性の評価と保全への利用」（主催：国立科学博物館筑波実験植物園、平成26年3月21日、国立科学博物館筑波実験植物園、聴衆約50人）
- 7) 第32回福山大学グリーンサイエンスセミナーで講演「遺伝情報を活用した生物多様性保全（主催：福山大学グリーンサイエンス研究センター、平成27年12月8日、福山大学、聴衆約50人）
- 8) 平成27年度京都産業大学総合生命科学部シンポジウムで講演「最新遺伝学からせまる生物資源の利用と保全」（主催：京都産業大学総合生命科学部、平成28年3月2日、京都産業大学図書館ホール、聴衆約50人）

(5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) 朝日新聞（2011年9月26日、全国版、28ページ、「群落保全 遺伝子型カギ 多様性の意義適応力強める」
- 2) Les Nouvelles Caledoniennes（2015年11月14日、ニューカレドニアの全国紙、20頁、「Les especes a la loupe」本プロジェクトで開発した遺伝解析手法をニューカレドニアの希少種保全に活用している事が紹介された）
- 3) NCTV（2015年11月17日、本プロジェクトで開発した遺伝解析手法をニューカレドニアの希少種保全に活用している事が2分30秒ほど紹介された）

(6) その他

平成23年度日本DNA多型学会優秀研究賞「全個体遺伝子型解析による絶滅危惧植物の保全」

8. 引用文献

特に記載すべき事項はない。

## (11) 気候変動に対する植物の適応力評価

日本大学生物資源科学部

森長 真一

<研究協力者>

日本大学生物資源科学部

久保田 渉誠

平成23～27年度累計予算額：29,157千円（うち平成27年度：5,327千円）

予算額は、間接経費を含む。

### [要旨]

気候変動に対する野生生物の応答は、種間はもとより、種内の集団間でも大きく異なると考えられる。それゆえに、気候変動に対する生物の分布変化や絶滅リスクを予測するためには、種内における適応力の多様性を把握する必要がある。そこで本研究開発では、モデル植物シロイヌナズナに最も近縁な野生植物ハクサンハタザオを対象に、次世代シーケンサーを利用して、様々な時空間スケールでの全ゲノム解析をおこなった。それに基づいて、適応遺伝子に着目した遺伝的多様性の評価手法や、種内における適応力の差異を加味した上での将来予測手法の確立を目的とした。

気候変動の影響が予想される標高差に着目し、標高適応に関与する遺伝子を探索したところ、山間での適応遺伝子の種類の多様性と共通性が明らかとなった。また、博物館等に収蔵されている標本試料のゲノム解析手法を確立し、過去から現在に至るゲノムレベルでの遺伝的多様性の変化や適応遺伝子の動態を復元することに成功した。さらに、日本全域の集団を対象にしたゲノム解析により、生育地の環境情報と遺伝子情報との相関解析から、降水量や気温の変化への適応を担う適応遺伝子を明らかにした。この適応遺伝子を用いて生態ニッチモデリングをおこなう新たな手法を確立し、従来の「種内の全個体が同一の適応力を持つ」と仮定した将来予測に対して、種内における適応力の多様性を考慮した上でのより現実的な将来予測が可能となった。これら一連の成果からは、適応遺伝子に着目して遺伝的多様性の把握を行うことの重要性が示された。

今後、これまで以上に遺伝子解析コストが低下することが予想されている。近い将来、様々な生物種において、本研究開発により確立した評価手法や予測手法が適用できるようになることが期待される。

### [キーワード]

環境適応、気候変動、ゲノム、適応遺伝子、ニッチモデリング

#### 1. はじめに

18世紀の産業革命以降、大気二酸化炭素濃度は上昇を続け、特に近年の上昇速度の増加は著しい。それとともに、気温も上昇しており、この傾向は今後も続くことが予測されている。そして、これらの気候変動は、我々人類の生活に影響を及ぼすとともに、人類以外の生物に対しても大き

な影響を与えることが危惧されている。例えば、気温の上昇により生物の分布域は高緯度・高標高地域へと移ることが予想されているが、単に移動するだけではなく、従来よりも分布域を大幅拡大する生物や個体数が減少し絶滅リスクが高まる生物などが生じることも予想される。これらの生物に対する分布変化予測あるいは絶滅リスク評価は急務であり、これまでに生態ニッチモデリングなどの手法により、様々な生物での将来予測がなされてきた。

一方、20世紀末にはゲノム科学が勃興し、ヒトを含めた様々な生物種を対象としたゲノム解読プロジェクトが開始された。最近では、非モデル生物におけるゲノム解析も可能となり、多くの生物で全ゲノム解読が行われてきた。さらに、この数年で遺伝子解析コストが大幅に低下したことにより、これらの潮流は生物多様性科学にも波及しつつある。それに伴い、地球規模生物多様性観測ネットワーク（GEO BON）などの生物多様性科学に関する国際組織においても、ゲノム科学の手法を用いた新たな野生生物の遺伝的多様性評価手法や将来予測手法についての議論がなされてきた。

## 2. 研究開発目的

気候変動に対する野生生物の応答は、種間のもとより、種内の集団間でも異なると考えられる。それゆえに、気候変動に対する生物の分布変化予測や絶滅リスク評価をおこなう上では、種内における潜在的な適応力（高温耐性、乾燥耐性など）の多様性を把握することが非常に重要である。これまで、中立遺伝子に基づく集団遺伝学的な解析手法の発展により、様々な野生生物種内における遺伝的多様性の理解が大きく進んできた。しかしながら、中立遺伝子が示す遺伝的多様性は、種内の各集団がたどってきた歴史を反映するものであり、種内の潜在的な適応力の多様性や集団間変異を必ずしも反映するものではない。

近年の次世代シーケンサーの開発に代表されるゲノム科学の発展により、野生生物を対象とした大規模な全ゲノム解析が可能となってきた。これにより、野生生物のゲノム上に残る自然選択の痕跡を探索し、野外における環境適応を担う遺伝子である「適応遺伝子」を網羅的に明らかにすることができるようになった。この適応遺伝子の遺伝的多様性を明らかにすることができれば、種内に存在する適応力の多様性や集団間変異をより詳細に把握することができると考えられる。

そこで本研究開発では、ゲノム情報の蓄積や機能遺伝子の解析が進んでいるモデル植物シロイヌナズナに最も近縁な野生植物ハクサンハタザオを対象に、次世代シーケンサーを利用した様々な時空間スケールでの全ゲノム解析から、適応遺伝子の網羅的な探索を試みた。そして、その適応遺伝子に基づいた遺伝的多様性の評価手法と、種内の潜在的な適応力の差異を加味した上での気候変動に対する将来予測手法を確立することを目的とした。

## 3. 研究開発方法

アブラナ科シロイヌナズナ属植物ハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*) を対象に、次世代シーケンサーを利用して全ゲノム解析をおこない、種々の適応遺伝子を網羅的に探索した。まずはじめに、一個体について高精度なゲノム解析をおこない、リファレンスゲノムを構築した。そのリファレンスゲノムを利用して、気候変動による影響が予想される標高差に着目した標高適応に関連する遺伝子、100年前から採取されてきた標本を利用した過去100年間の環境変化に関連する遺伝子、日本全域を網羅する多様な地理的環境変異に関連する遺伝子の探索を行

った。また、生育地における適応遺伝子の対立遺伝子情報と環境情報（気温、降水量、地形など）を統合する、生態“ゲノム”ニッチモデリングという新たな手法を確立し、適応遺伝子の潜在的な分布を予測した。さらに、構築したニッチモデルに100年後の環境情報を適用することで、将来における適応遺伝子の分布を予測し、気候変動による影響を推定した。本サブテーマでは、以上の研究を（1）ハクサンハタザオのリファレンスゲノム構築、（2）標高適応に関連する適応遺伝子の探索、（3）過去100年の環境変化に関連する適応遺伝子の探索、（4）多様な地理的環境変異に関連する適応遺伝子の探索、（5）適応遺伝子を単位とした生態ゲノムニッチモデリングによる予測、という一連の段階に分けて取り組んだ。

#### 4. 結果及び考察

##### （1）ハクサンハタザオのリファレンスゲノム構築

適応遺伝子の網羅的探索に必要なハクサンハタザオのリファレンスゲノム構築を行った。滋賀県伊吹山の標高380mに生育するハクサンハタザオ一個体について、次世代シーケンサーを利用して全ゲノム（ゲノムサイズ：255Mbp）の190倍に相当する遺伝子配列を解読した。得られた断片配列をソフトウェアCLC Genomics Workbenchのアセンブラを用いて繋ぎ合わせたところ、N50が4.8Kbp、Scaffold数が149,013、総長252Mbpのリファレンスゲノムを構築することができた。近縁種である*Arabidopsis lyrata*（ゲノムサイズ：230Mbp）で構築されたリファレンスゲノム（N50が24.5Mbp、Scaffold数が695、総長207Mbp）と比べると、得られたリファレンスゲノムは断片数が多く、個々のScaffoldが短い傾向があった。しかしながら、ハクサンハタザオのリファレンスゲノムに対し、シロイヌナズナのデータベースTAIR10に登録されている33,602個のシロイヌナズナ機能遺伝子配列をマッピングしたところ、92.9%の配列を貼りつけることに成功した。これらの結果より、得られたリファレンスゲノムが適応遺伝子の探索を行う上で十分な遺伝子数を含むと考えられた<sup>1)</sup>。

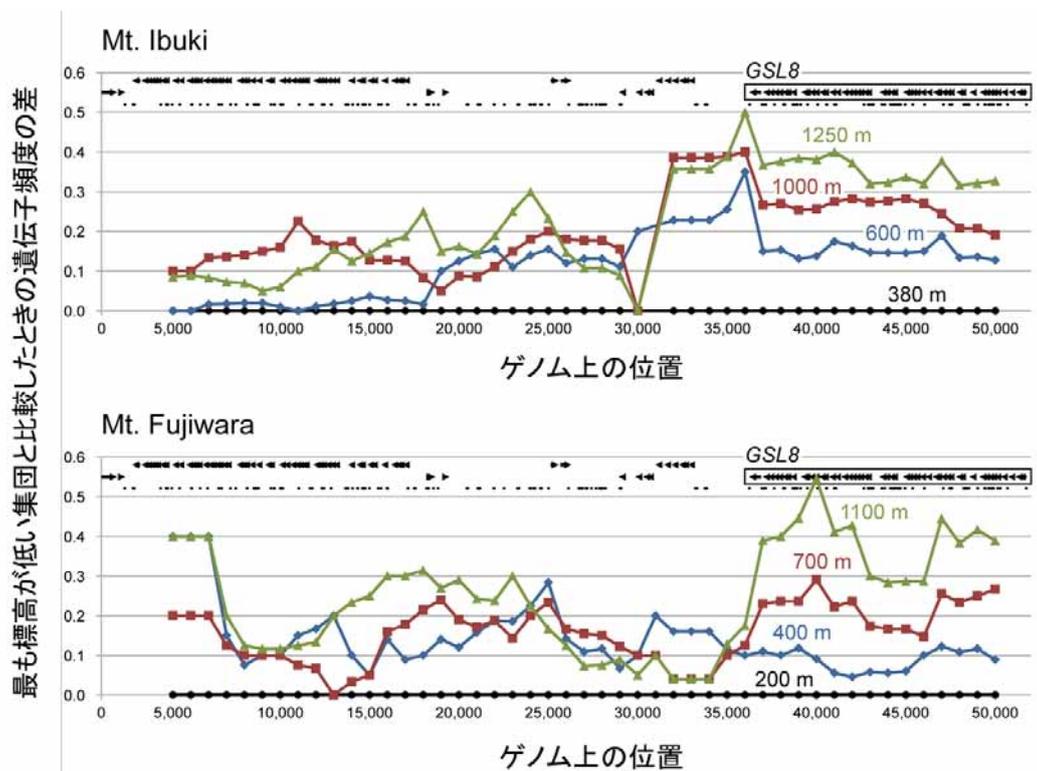
##### （2）標高適応に関連する適応遺伝子の探索

地球温暖化などの気候変動の影響が最も大きいと予想されるのは、高緯度地域と高標高地域である。特に標高差は、空間的には非常に短い距離である一方、環境変化は劇的であり、気候変動に対する影響が深刻かつ短期間で生じる可能性が高い。そこで、標高間で適応形質が分化していることが知られている<sup>2)</sup>滋賀県伊吹山と三重県藤原岳の二つの山を対象に、適応遺伝子の探索とその遺伝的多様性および共通性の解明を行った。

それぞれの山において、麓から頂上にかけて4つの標高集団を設定し、両山の8集団に加え、その他の4集団から採取した合計56個体を対象に全ゲノム解析を行った。得られた52万の一塩基多型（SNP）の中から、1）低—高標高集団間で分化し、2）標高に沿って対立遺伝子頻度に変化し、3）高標高集団において派生型対立遺伝子が優占するSNPが連続して含まれる連鎖領域を抽出した。さらに、シロイヌナズナで蓄積された遺伝子オントロジー（いわば網羅的な遺伝子機能予測）の情報から、どのような機能あるいは環境要因に関連した遺伝子が有意に抽出されたか解析することで、標高適応を促した自然選択を推定した。

遺伝子オントロジー解析から、どちらの山でも気温・光環境への応答や形態形成など、本種において標高間での差異が報告されている形質に対する自然選択が有意に検出された。さらに、図

(11)-1に示すように、どちらの山でも共通して標高に沿って変化する遺伝子領域もわずかながら検出された。これらの遺伝子は、多様な環境ストレスに応答する遺伝子やトライコーム形成に関連する遺伝子であった。両山における高標高集団の最も顕著な特徴が密生したトライコームであることから<sup>3)</sup>、トライコーム形成に関連する遺伝子には収斂進化をもたらす自然選択が生じたことが考えられる。しかしながら、全体的に見れば両山で共通する適応遺伝子はごくわずかであり、山間における適応遺伝子の種類の多様性は高いことが明らかとなった。このことは、標高差という同一の環境変化であっても、その遺伝的な応答は種内で均一ではなく、山ごとに異なる遺伝子を利用して適応を果たしていることが示された<sup>1)</sup>。また、集団ごとに適応的な対立遺伝子が完全に固定していることは稀で、集団内にも適応遺伝子の遺伝的多様性が保たれていることが明らかとなった。この結果からは、集団内に保持されている適応遺伝子の遺伝的多様性の程度により、環境変化に対する応答の程度も異なることが予想された。



図(11)-1 二つの山において共通して自然選択を受けたと予想される遺伝子領域  
 上段は伊吹山、下段は藤原岳における標高間での遺伝子頻度の変化。グラフ上部の矢印はマッピングされたシロイヌナズナ遺伝子のエクソンを示している。四角で囲まれた部分はシロイヌナズナにおいてトライコーム形成に関連する遺伝子。

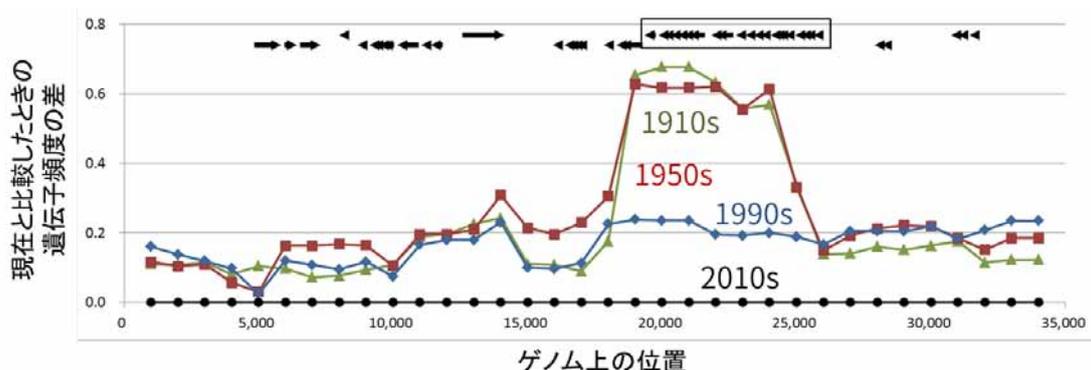
### (3) 過去の環境変化に関する適応遺伝子の探索

野生生物集団において、環境変化に対するその生物の時間的な変化を直接観察する事は容易ではない。なぜならば、特定の集団を対象に、長期間に渡ってその変化を観察し続けなければならないからである。しかしながら、次世代シーケンサーに代表される近年の遺伝子解析技術の発展

は、博物館等の標本が持つゲノム情報を抽出することを可能にした。上記のような技術的発展をふまえ、過去約100年の間に蓄積されたハクサンハタザオの標本を利用して、標本個体と現生個体のゲノムの比較解析手法を確立し、環境変化に対する時間的な変化の解明を行った。

まずはじめに、全国の博物館や植物園を巡り、宮城県奥新川・滋賀県伊吹山高標高・同低標高・三重県藤原岳高標高・同低標高・大阪府箕面の各集団において、1902年から現在にかけて同じ場所で採取されたハクサンハタザオの標本（それぞれ23・42・46・23・40・25個体）を収集した。これらの標本について全ゲノム解析を行い、断片配列を構築済みのリファレンスゲノムにマッピングしたところ、集団ごとに12～35万箇所のSNPを検出した。各集団の全SNPを対象に、それぞれの個体のヘテロ接合度の平均値を計算し、ゲノムレベルの遺伝的多様性の時間的な変化を調べた。また、年代とともに対立遺伝子頻度が大きく変化し、かつ数千bpに渡ってその傾向が継続する遺伝子領域、すなわち過去100年間で自然選択がはたらいた可能性のある遺伝子領域を探索した。

その結果、いずれの集団においても過去100年間でゲノムレベルの遺伝的多様性に大きな変化はみられず、ボトルネックなどを受けることはなく多様性が保持され続けてきたことが分かった。また、それぞれの集団から、100年間の環境変化に応答したと考えられるストレス応答性遺伝子などが複数得られた。例えば、伊吹山の高標高集団において検出された遺伝子領域は、1910年代の時点で集団内に豊富な遺伝的多様性が存在し、1950年代から現在にかけてはその遺伝子頻度が大きく変化しており、なおかつその傾向が1万bpに渡って継続していた。この遺伝子領域にはシロイヌナズナにおいてアブシシン酸や乾燥ストレスに応答する転写因子が含まれており、適応遺伝子として強く期待される（図(11)-2）。一方、集団間で共通して変化した遺伝子は検出されなかったことから、過去100年間の環境変化に対して、それぞれの集団では異なる遺伝子により適応を果たしてきたと考えられる。さらに、過去100年間では、気候変動のような集団間に共通して作用する広域的な環境変化よりも、土地開発のような集団特異的に作用する局所的な環境変化の方が強い影響をもたらしたと考えることもできる。



図(11)-2 伊吹山の高標高集団において、標本個体と現生個体のゲノム比較解析から検出された遺伝子領域

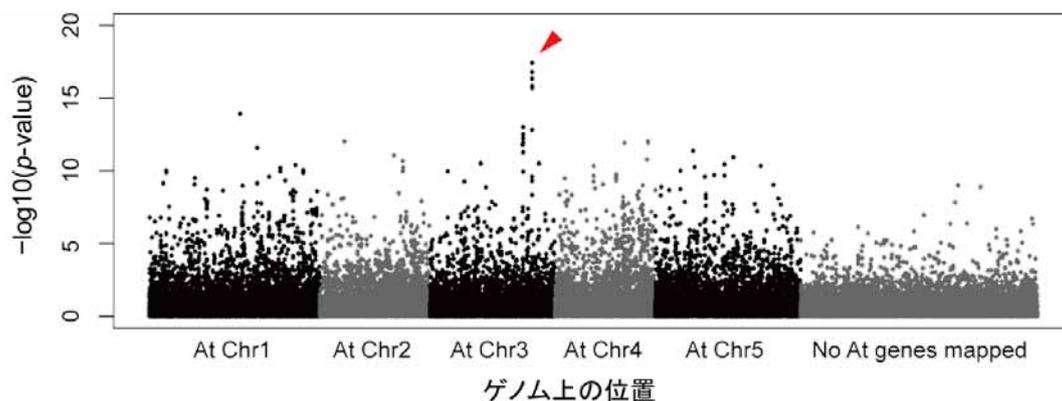
グラフ上部の矢印はマッピングされたシロイヌナズナ遺伝子のエクソンを示している。四角で囲まれた部分はシロイヌナズナにおいてアブシシン酸や乾燥ストレスに応答する遺伝子。

#### (4) 多様な地理的環境変異に関連する適応遺伝子の探索

気候変動によってもたらされる生物の分布拡大や縮小は、標高差のような局所的なスケールだけでなく、より広域的なスケールにおいても生じうる。ハクサンハタザオは、日本において北海道から九州までの広い範囲に分布している。また、標高2000mを超える山岳域に生育することから高山植物としても知られている一方で、低標高域である農地そば、法面、崖、河原、林内、林縁などの様々な環境にも生育している。分布範囲が広く、多様な環境に適応を果たしているハクサンハタザオの利点を生かし、より広域的なスケールでのゲノム比較から適応遺伝子の探索を行った。

北海道から九州におよぶ日本全域80地点からそれぞれ1個体ずつを次世代シーケンサーで解析し、1個体あたり全ゲノムの10倍量を超える断片配列から10万を超えるSNP遺伝子座を得た。適応遺伝子の探索に先立ち、まずはSNPデータをもとにした系統地理解析を行い、集団分化の歴史的背景の解明を目指した。距離法による系統解析、ベイジアンクラスタリング、主成分分析などによる集団構造解析の結果、日本におけるハクサンハタザオは中部地方と東北地方を境に、南北2つの分集団に分けられることが明らかになった。この遺伝的分化パターンは日本産高山植物のものと一致することから、本種においても、氷期における分布拡大と間氷期における高地への退避によって集団分化が生じたと考えられる。また、南北の分集団間では気温を中心として生育環境が大幅に異なることから、適応形質も遺伝的に分化していることが予想される。

次に、同じく日本全域80地点におけるゲノム解析の結果を使用し、集団構造を考慮した上で環境情報と遺伝子型のゲノムワイド関連解析から適応遺伝子の探索を行った。農業環境技術研究所が構築した1km メッシュ地理情報システム (GIS) データから各地点の気温と降水量を抽出し、10万遺伝子座における対立遺伝子頻度と環境変数の相関関係をソフトウェアLFMM (Latent Factor Mixed Model) を用いて解析した。その結果、降水量や気温などの地理的な環境変異に応答する遺伝子を複数検出し、中にはシロイヌナズナにおいて熱や乾燥ストレスに応答することが知られている遺伝子も含まれていた。とくに、年間降水量とのゲノムワイド関連解析では、5つのSNPが非常に高い相関を示しており、いずれも単一の遺伝子上に位置していた(図(11)-3)。この遺伝子は、シロイヌナズナにおいて熱や乾燥ストレスに応答することが知られていることから、広域スケールでの環境適応を担う遺伝子として強く期待される。またこの遺伝子は、標高差を対象にした局所スケールでの解析で得られた種々の適応遺伝子とは異なっており、同一種内においても広域スケールと局所スケールでは環境適応に関与する適応遺伝子が異なることも明らかとなった。このことは、環境変化に応答する適応遺伝子の種類には多様性があり、気候変動のような広域的な環境変化と土地開発のような局所的な環境変化では、分布域の拡大縮小に与える遺伝的な仕組みが異なることを示唆している。



図(11)-3 ハクサンハタザオにおけるゲノムワイド関連解析の結果の例

日本全国80地点で採取した植物のゲノムを解析することで得た約10万遺伝子座のSNP情報と各地点における年間降水量を利用した解析の結果。図(11)-4の生態ゲノムニッチモデリングの解析には矢印で示されている遺伝子座を利用した。

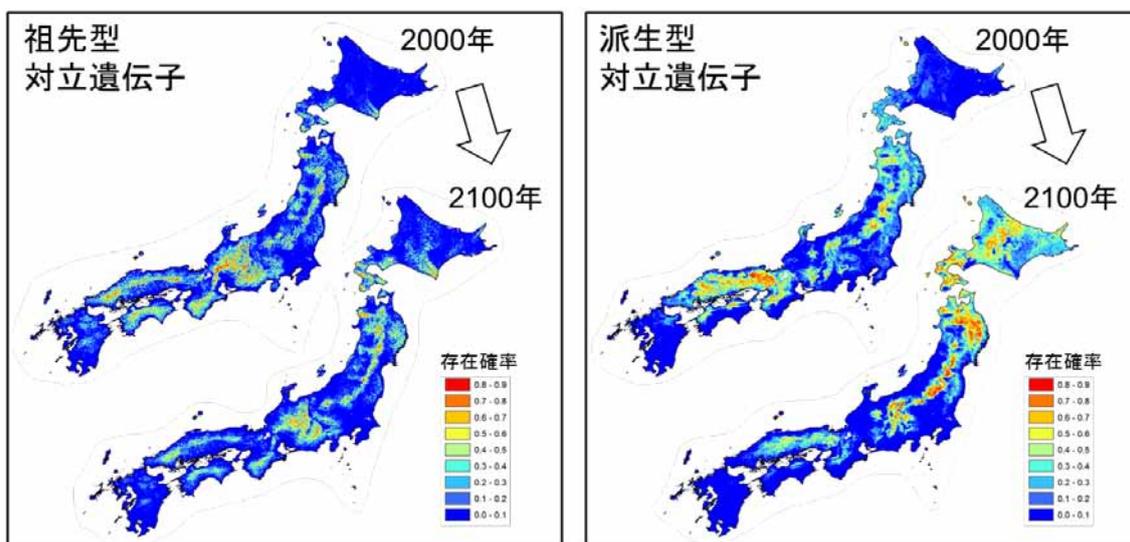
#### (5) 適応遺伝子を単位とした生態ゲノムニッチモデリングによる予測

気候変動予測の精度向上に伴い、地球規模での環境変化が野生生物に及ぼす影響を予測する研究に関心が寄せられてきた。とくに地理情報システム（GIS）を利用した生態ニッチモデリングと呼ばれる手法は、生物種の“現在における分布”と“各地点の環境情報”から分布を説明するモデルを構築し、気候シミュレーションが推定した将来の環境に投影することで、未来における生物の分布を予測することを可能にした。本研究開発ではこの生態ニッチモデリングをさらに発展させ、適応遺伝子に基づいて、種内にみられる適応力の多様性を考慮に入れた新たな予測手法である生態“ゲノム”ニッチモデリング<sup>4)</sup>の確立を目指した。

生態ゲノムニッチモデリングに先立ち、種内の適応力を画一的に捉える従来の生態ニッチモデリングをハクサンハタザオに適用した。ソフトウェアMaxEntを使用し、日本全国134地点における採取地情報と環境情報（気温、降水量、河川距離、傾斜）をGIS上で統合し、現在における種の潜在的な分布予測を行った。このニッチモデルに気候モデルMIROC5（RCP 8.5）によって推定されている2100年における気候値を適用することで、将来における種の分布予測も行った。2つの分布予測を比較したところ、気候変動により現在よりも分布が高緯度・高標高地域に移動することが示唆された。この従来型の生態ニッチモデリングの結果は、他の野生生物でも報告されている典型的な傾向ではあるが、気候変動に対する応答がどの集団でも一様であることを仮定しているという大きな問題点が存在する。

より精度の高い将来予測を実施するためには、種内における適応力の多様性を考慮に入れる必要がある。そこで、日本全域を対象にした広域スケールにおけるゲノムワイド関連解析から得られた適応遺伝子（図(11)-3）を利用し、同一の条件でニッチモデリングを行った。適応遺伝子の対立遺伝子の地理的分布情報をもとに生態ニッチモデリングを行ったところ、“祖先型対立遺伝子”と“自然選択を受けて生じた派生型対立遺伝子”の間で気候変動後の分布予測が大きく異なることが示された（図(11)-4）。この結果は、同じ種であっても集団ごとに適応遺伝子の対立遺伝子組成や多様性の程度によって生育適地や環境変化に対する応答が異なることを示している。これらの解析から、適応遺伝子を用いてニッチモデリングをおこなうことにより、従来型の「種内の全

個体が同一の適応力を持つ」と仮定した将来予測に対して、種内における適応力の多様性を考慮した上での将来予測が可能となることがわかった。



図(11)-4 適応遺伝子を単位とした生態ゲノムニッチモデリングの例

解析対象とした適応遺伝子は図(11)-3のゲノムワイド関連解析で検出した熱・乾燥ストレス応答性遺伝子。

分布モデル：MaxEnt、在データ：全国29/32（祖先/派生）地点、環境要素：気温・降水量・河川距離・傾斜、気候モデル：MIROC5（RCP 8.5）。

これら一連の研究により、適応遺伝子に基づく遺伝的多様性の評価手法と気候変動に対する将来予測手法を確立した。気候変動の影響が予想される標高差に着目した（2）では“局所スケール”についての、過去100年間の環境変化に着目した（3）では“時間スケール”についての、多様な地理的環境変異に着目した（4）では“広域スケール”についての、適応遺伝子に基づく遺伝的な評価手法を確立した。また、生態ゲノムニッチモデリングを行った（5）では、適応遺伝子に基づいて種内の適応力多様性を考慮に入れた将来予測手法を確立した。これらの解析結果からは、適応遺伝子に基づく遺伝的多様性の把握を行うことの重要性が示された。今後、適応遺伝子を利用することで気候変動に対する分布変化予測や絶滅リスク評価の精度がこれまで以上に向上することが期待される。

## 5. 本研究により得られた成果

### （1）科学的意義

シロイヌナズナ属野生種ハクサンハタザオを対象に、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析により適応遺伝子を網羅的に探索し、その適応遺伝子に基づく遺伝的多様性の評価手法と気候変動に対する将来予測手法の確立をおこなった。1）2つの山を対象にした標高間でのゲノム解析から、標高適応に関与する適応遺伝子の異同を明らかにした。2）博物館等に収蔵されている標本試料のゲノム解析手法を確立し、過去から現在に至る遺伝的多様性の変化や適応遺伝子の動態を復元した。3）日本全域を対象にした広域的な集団ゲノム解析により、生育地の環境情報と遺伝子情報との相関解析から、降水量や気温への適応を担う適応遺伝子を明らかに

した。4) 適応遺伝子を用いてニッチモデリングをおこなうことにより、従来型の「種内の全個体が同一の適応力を持つ」と仮定した将来予測に対して、種内における適応力の多様性を考慮した上での将来予測が可能となった。これらの一連の成果は、適応遺伝子に着目して遺伝的多様性の把握を行うことの重要性を示しており、気候変動に対する分布変化予測や絶滅リスク評価の精度向上に対しても大きく寄与すると考えられる。

## (2) 環境政策への貢献

### <行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

### <行政が活用することが見込まれる成果>

適応遺伝子に基づいた種内の適応力多様性を考慮することで、より現実的な分布変化予測や絶滅リスク評価が可能となる。これらの知見は、1) 保全対象種や保全地域の選定、2) 絶滅危惧種などでの他地域からの移植時における適合度の判定、3) 遺伝的多様性の重要性の理解促進などに活用されることが見込まれる。遺伝子解析コストの低下がこれまで以上に進むことが予想され、様々な生物種において、本研究開発により確立した評価手法や予測手法が適用できるようになることが期待される。

## 6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文(査読あり)>

- 1) R. L. SAKAMOTO, S.-I. MORINAGA, M. ITO, and N. KAWAKUBO: Behavioral Ecology and Sociobiology, 66, 669-674 (2012), Fine-scale flower-visiting behavior revealed by using a high-speed camera.
- 2) R. L. SAKAMOTO and S.-I. MORINAGA: Naturwissenschaften, 100, 871-876 (2013), Poor correlation between the removal or deposition of pollen grains and frequency of pollinator contact with sex organs.
- 3) S. KUBOTA, T.IWASAKI, K.HANADA, A.J. NAGANO, A.TOYODA, A.FUJIYAMA, S.SUGANO, Y.SUZUKI, K.HIKOSAKA, M.ITO and S.-I.MORINAGA: PLOS Genetics, 11, e1005361 (2015), A genome scan for genes underlying microgeographic-scale local adaptation in a wild *Arabidopsis* species.
- 4) H. NISHIO, D. M.BUZAS, A.J. NAGANO, Y.SUZUKI, S.SUGANO, M.ITO, S.-I.MORINAGA and H. KUDOH: Genes & Genetic Systems, in press. From the laboratory to the field: assaying histone methylation at *FLOWERING LOCUS C* in naturally growing *Arabidopsis halleri*.

#### <査読付論文に準ずる成果発表>

- 1) S.-I. MORINAGA, T. IWASAKI and Y. SUYAMA: “Integrative Observations and Assessments (Ecological Research Monographs/Asia-Pacific Biodiversity Observation Network).” Edited by S. Nakano, T. Yahara, T. Nakashizuka (Springer)” 327-335 (2014), Eco-evolutionary genomic observation for local and global environmental changes.

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 森長真一：日本進化学会第13回大会（2011）  
「シロイヌナズナ近縁種の分布と適応：ゲノムから生態現象へ」
- 2) 森長真一：日本植物学会第75回大会（2011）  
「シロイヌナズナ近縁種のゲノム解析：ゲノムを温めて生態を知る」
- 3) S. NAGANO, K. HANADA, M. HIGUCHI, S.-I. MORINAGA and K. HIKOSAKA : East Asian Federation of Ecological Societies 5th, Ohtsu, Japan（2012）  
“Ecotypic variation in freezing resistance, acclimation ability and genetic regulation of *Arabidopsis halleri* ssp. *gemma* in relation to altitudinal adaptation”
- 4) 森長真一：日本進化学会第14回大会（2012）  
「シロイヌナズナ近縁種の局所適応と短期的進化：ゲノムを温めて生態を知る」
- 5) S.-I. Morinaga : The 84th Annual Meeting of Genetic Society of Japan, Fukuoka, Japan（2012）  
「Eco-evolutionary genomics of spatial and temporal variations in *Arabidopsis*」
- 6) 森長真一：第60回日本生態学会大会（2013）  
「ゲノムの時空間変異から迫るシロイヌナズナ近縁種の生態進化」
- 7) 岩崎貴也・花田耕介・永野惇・伊藤元己・彦坂幸毅・森長真一：日本植物分類学会第12回大会（2013）  
「標本ゲノム解析で探る過去100年間の個体群動態と適応進化—伊吹山のハクサンハタザオ・イブキハタザオを例に」
- 8) 森長真一：第54回日本植物生理学会年会（2013）  
「ゲノムの時空間変異で迫るシロイヌナズナ近縁種の生態進化」
- 9) 久保田涉誠・岩崎貴也・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一：第45回種生物学シンポジウム（2013）  
「ゲノムワイドSNP解析による標高適応をもたらす環境要因の推定と適応遺伝子の探索」
- 10) 久保田涉誠・岩崎貴也・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一：第61回日本生態学会大会（2014）  
「ゲノムワイドSNP情報から生育環境を読み解く～ハクサンハタザオの標高適応を例に～」
- 11) 手塚あゆみ・森長真一・鈴木穰・花田耕介：日本進化学会第14回大会（2014）  
「*Arabidopsis thaliana*の近縁2種で起きた遺伝子のコピー数の変化と塩基置換の多様性」
- 12) S. Kubota: National Institute for Environmental Studies Symposium, Center for Environmental Biology and Ecosystem Studies, Tsukuba, Japan（2014）

“Dynamics of local adaptation from standing genetic variation in a wild *Arabidopsis* species”

- 13) 久保田涉誠・岩崎貴也・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一：第46回種生物学シンポジウム（2014）  
「標本ゲノム解析から局所適応の時間的スケールを計る」
- 14) 久保田涉誠・岩崎貴也・三浦憲人・永野惇・花田耕介・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一：第62回日本生態学会大会（2015）  
「ゲノムワイドSNPデータに基づくハクサンハタザオの系統地理解析」
- 15) 上林真実・小口理一・尾崎洋史・森長真一・彦坂幸毅：第62回日本生態学会大会（2015）  
「近縁な在来種と侵入種における低温耐性の集団間分化」
- 16) Q.-W. WANG・N. LI・永野聡一郎・尾崎洋史・寺西美佳・森長真一・日出間純・彦坂幸毅：第62回日本生態学会大会（2015）  
“The effects of UV-B radiation on growth and DNA damage in highland and lowland ecotypes of *Arabidopsis*”
- 17) 久保田涉誠：第17回日本進化学会大会（2015）  
「様々なスケールでのゲノム比較からハクサンハタザオの適応遺伝子に迫る」
- 18) 久保田涉誠：日本植物学会第79回大会（2015）  
「シロイヌナズナ属野生種におけるゲノム解析を用いた適応遺伝子探索」
- 19) Q.-W. WANG・尾崎洋史・永野聡一郎・森長真一・日出間純・彦坂幸毅：日本植物学会第79回大会（2015）  
“UV-B-induced damage on DNA and growth in highland and lowland ecotypes of *Arabidopsis* species”
- 20) 上林真実・小口理一・尾崎洋史・森長真一・彦坂幸毅：第63回日本生態学会大会（2016）  
「近縁な在来種と侵入種における耐凍性と低温順化能力の集団間分化」
- 21) 久保田涉誠・岩崎貴也・三浦憲人・永野惇・花田耕介・松葉史紗子・宮下直・彦坂幸毅・伊藤元己・森長真一：第63回日本生態学会大会（2016）  
「ゲノム情報を利用した野生植物の適応力多様性評価」

### （3）出願特許

特に記載すべき事項はない。

### （4）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 環境研究総合推進費戦略的研究開発領域S9公開講演会における講演「植物の適応と環境変動ゲノムを温めて生態を知る」（2012年1月8日、東京大学、観客約100名）

### （5）マスコミ等への公表・報道等

- 1) 日本経済新聞、2012年10月21日、全国版、17頁、「環境適応、ゲノムで探る-生存戦略、観察と両輪で解明-」
- 2) NHKしこく8「牧野富太郎」、2012年11月16日、植物標本の意義について取材協力および情報提供

## (6) その他

特に記載すべき事項はない。

## 8. 引用文献

- 1) S. KUBOTA, T. IWASAKI, K. HANADA, A.J. NAGANO, A. FUJIYAMA, A. TOYODA, S. SUGANO, Y. SUZUKI, K. HIKOSAKA, M. ITO and S.-I. MORINAGA: PLOS Genetics, e1005361 (2015)  
“A genome scan for genes underlying microgeographic-scale local adaptation in a wild *Arabidopsis* species”
- 2) S. NAGANO: Ph. D thesis, Tohoku University (2011)  
“Morphological and physiological adaptation in mountain plants to windy, ultraviolet radiation, and freezing stresses in high altitudes”
- 3) 原寛: 植物研究雑誌, 12, 900-901 (1936)  
“いぶきはたざほ”
- 4) S.-I. MORINAGA, T. IWASAKI and Y. SUYAMA: Intergrative Observations and Assessments, edited by S. Nakano, T. Yahara, T. Nakashizuka, Springer (2014)  
“Eco-evolutionary genomic observation for local and global environmental changes”

## Assessments of Genetic and Species Diversities in Asian Forests

Principal Investigator: Hidenori TACHIDA

Institution: Kyushu University  
744 Motoooka, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395, Japan  
Tel: +81-92-802-4302 / Fax: 81-92-802-4330  
E-mail: htachida@kyudai.jp

Cooperated by: Chiba University, Kagoshima University, Kyoto University, National Museum of Nature and Science, Nihon University, The University of Tokyo, Tohoku University, Tokyo Metropolitan University, University of Human Environments, University of the Ryukyus

[Abstract]

**Key Words:** Adaptive variation, Belt transect method, Ecological genome niche modeling, Genetic diversity, Hotspots, MIG-seq, Red data book, Species diversity, Ubiquitous genotyping

This project aimed at identifying areas where conservation efforts for species diversity should be prioritized in Asian forests, and also developing methods to monitor changes in genetic diversity. We mainly focused on plants because global assessments on mammals, birds and some other animals have been already made.

First, we chose 32 sites, covering candidate hotspots of plant species diversity in Southeast Asia, and placed belt transects at different elevations; in each transect of 100m x 5m, all species of vascular plants were recorded. Consequently, we found that species richness was the highest in the northwestern part of Borneo, followed by Kalimantan, Sumatra and the central and southern mountains of Vietnam. Because forest loss is rapid and serious in Borneo, Kalimantan and Sumatra, priority of conservation efforts should be taken in those areas.

To complement the data from belt transects, we used georeference information of herbarium specimens to estimate species richness across Asia for seven tree families including Dipterocarpaceae, Fagaceae and Lauraceae that are dominant in SE Asian forests, five genera of Fabaceae, pteridophytes, and a bee genus *Xylocopa*. Consequently, we could identify several hotspots in each taxonomic group. As for seven tree families, species richness was the highest in the northwestern part of Borneo as was also shown by the belt transect observation.

As for measuring genetic diversity, a PCR-based method, MIG-seq, was developed, which uses next generation sequencing to genotype many individuals at many loci, and

successfully applied to several species, uncovering hidden genetic structure. Second, the ubiquitous genotyping, which determines genotypes of all individuals of a very rare species, was applied to 10 Asian rare plant species including four dipterocarps, revealing unexpectedly high diversity or population structure in some of these rare species. Finally, a population genomic approach was applied to samples of a Japanese wild *Arabidopsis* species from natural populations in a wide variety of environments and herbarium specimens to identify adaptive variations. Using information of the identified variations, a future distribution of the species was predicted. These new methods are incorporated in a paper calling regional and global programs for genetic diversity monitoring.

In addition to contributing to decision making of conservation priorities, our results would provide solid bases for future developments of conservation strategies.