

課題名 RF-1010 熱帯林の断片化による雑種化促進リスクと炭素収支への影響評価

課題代表者名 市榮智明（高知大学教育研究部自然科学系農学部門准教授）

研究実施期間 平成22～23年度

累計予算額 23,480千円（うち23年度 11,439千円）
予算額は、間接経費を含む。

研究体制

- (1) 熱帯林断片化による雑種化促進リスクの遺伝的評価（大阪市立大学）
- (2) 熱帯林断片化がフタバガキ科実生の定着過程に与える影響と雑種稚樹の生理生態特性の評価（高知大学）
- (3) 熱帯林断片化による林分動態予測と炭素収支の評価（（独）森林総合研究所）

研究協力機関

愛媛大学

研究概要

1. はじめに（研究背景等）

東南アジア熱帯林は、高い生物多様性と炭素貯蔵機能を併せ持つ生態系として高い評価を受ける一方で、人為的攪乱によって森林の劣化や断片化が進行し、本来の生態系サービスの提供が脅かされている。森林の劣化や断片化は、多様性の高い熱帯林において同種個体の極端な密度低下を引き起こすため、生態系ネットワークの基に成り立つ樹木の繁殖や更新を阻害し、ひいては種の絶滅や、林分構造の変化による炭素貯蔵量の低下を招く恐れもある。さらに、申請者らの近年の調査結果により、150年以上前に断片化されたシンガポールの森林において、優占するフタバガキ科の巨大高木種でも雑種形成が起こっていることが遺伝的に確認された。雑種個体は、ほとんどの場合生育不良や低い環境適応能力を示し、さらに雑種第2代（F2）は不稔や死亡する確率が非常に高いため、雑種化はその種の絶滅を促進させる結果となる。特に、東南アジア熱帯林の主要な林冠構成種で、林分の炭素蓄積の大部分を占めるフタバガキ科の樹種は、同属内の種数が非常に多く、同一種の密度が低い。そのため、森林の断片化によるフタバガキ科樹種の雑種化の促進は、林分構造を大きく変化させ、熱帯林の炭素固定能力を大幅に減少させる可能性もある（図1）。熱帯林の断片化がフタバガキ科樹種の雑種化や炭素固定能に与える影響を評価し、雑種化を回避するための保全手法の開発が早急に求められている。

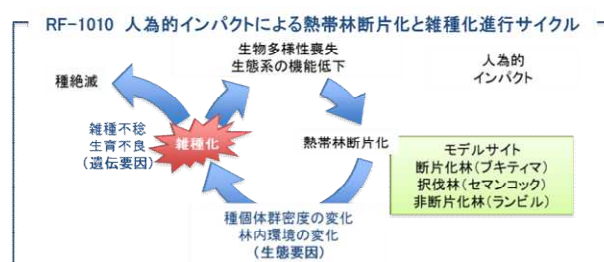


図1 人為的インパクトによる熱帯林断片化と雑種化進行サイクル

2. 研究開発目的

本研究の目的は、シンガポールの長期間断片化された状態にある林分（以下、断片化林分）と、マレーシアの半島部やボルネオ島に断片化せずに残されている林分（以下、非断片化林分）において、フタバガキ科林冠構成種の成木の雑種割合や繁殖成功率を明らかにするとともに、実生の雑種形成率や定着率、生理生態特性、林分の炭素固定能等を比較し、熱帯林の断片化が生物多様性や林分の炭素吸収能に与える影響を評価することである。具体的な研究目的としては、サブテーマ（1）では、森林の断片化によるフ

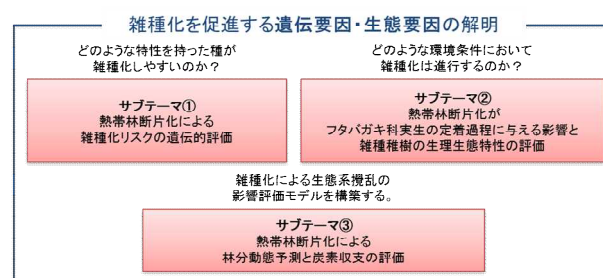


図2 各サブテーマの役割及び研究目的

タバガキ科樹木の雑種化の現状を遺伝学的見地から明らかにする。また、雑種化回避に必要な親種の個体数や森林面積を具体的に算出する。サブテーマ(2)では、フタバガキ科雑種個体の形態的・生理生態的特性、ストレス耐性能力等を評価し、雑種個体の炭素固定能や将来的な気候変動が雑種個体の成長に及ぼす影響を評価する。サブテーマ(3)では、フタバガキ科雑種個体の実生の定着過程と成長や繁殖特性、個体群動態から将来の林分動態を予測し、雑種化の進行に伴う林分レベルでの炭素収支の変化を評価する(図2)。

3. 研究開発の方法

(1) 熱帯林断片化による雑種化リスクの遺伝的評価

1) 熱帯林構成種の雑種形成と森林断片化の関係

断片化の進行した孤立林としてシンガポール中心部に残存しているブキティマ自然保護区を、断片化が進行していない森林として、マレーシア連邦サラワク州のランビル国立公園を選び、調査区内の成木と稚樹からDNAを抽出した。各サンプルについて、核遺伝子座2領域と8マイクロサテライト遺伝子座を増幅した。さらに、森林面積と雑種個体の割合との関連を調べるために、マレー半島内6カ所の森林保護区で調査を行った。

2) 雑種個体の更新の可能性

ブキティマ自然保護区とランビル国立公園の成木集団について、葉の形態およびDNA情報に基づき、雑種個体を探索した。

3) 雑種個体と両親種との交配の可能性

雑種個体の種子親を特定するために、母性遺伝する葉緑体 *trnL-trnF* 遺伝子間領域の塩基配列を決定した。また、稚樹のマイクロサテライトデータから、プログラムCERVUSを用いて各稚樹個体の種子親と花粉親を特定した。

(2) 熱帯林断片化がフタバガキ科実生の定着過程に与える影響と雑種稚樹の生理生態特性の評価

1) フタバガキ科雑種と両親種稚樹の形態的・生理的特性の評価

DNA解析により確認した *Shorea leprosula* と *Shorea curtisii* 間の雑種とその両親種を研究対象とした。全ての測定個体はシンガポールブキティマ自然保護区で採取し、南洋工科大学の温室で育苗したポット苗である。2009年8月および2010年10月に雑種及び両親種それぞれ15個体程度を選び、成熟葉の光-光合成曲線とA/Ci曲線を携帯式光合成蒸散測定装置(Licor, LI-6400)で測定した。また、測定に用いた葉を採取し、葉面積当りの葉重(LMA)や窒素濃度、葉厚、柵状組織厚、葉の硬度といった形態的特性についても計測を行った。窒素濃度の分析にはNCアナライザー(NC-900)を、葉硬度の測定にはAikoh製デジタルゲージRX-1を用いた。また、DNA解析により戻し交配であると確認された個体について、成熟葉を採取し、葉面積当りの葉重(LMA)や葉厚、柵状組織厚、海綿状組織厚といった形態的特定についても計測を行った。

2) フタバガキ科雑種と両親種稚樹の耐乾性評価

DNA解析により確認した *Shorea curtisii*、*S. leprosula*、及びその雑種稚樹を用いて、灌水を遮断して人工的に土壌を乾燥させた状態を作り出し、各樹種の乾燥耐性能力に関する評価を行った。全ての測定個体は、ブキティマ自然保護区で採取し、シンガポール国立教育研究所内の温室で育苗したポット苗である。2011年9月に、十分灌水した状態の雑種及び両親種それぞれ4~10個体程度を選び、成熟葉の最大光合成・蒸散速度、気孔コンダクタンス、水利用効率、光化学系Ⅱの最大光量子収率(F_v/F_m)、P-V曲線法による葉の水分特性を調べた。その後、ポット苗の土壌水分含量が15%程度になるまで灌水を中止し、その後に同様の測定を行った。

(3) 熱帯林断片化による林分動態予測と炭素収支の評価

調査はシンガポールのブキティマ自然保護区(164ha)で行った。保護区は周囲を住宅地や道路に囲まれた孤立林で、150年以上断片化された状態にあることが分かっている。この地域は熱帯湿潤気候に属し、年降水量は約2400mmで明確な雨季乾季はない。保護林の大部分はフタバガキ科樹木が優占する林分となっている。

林内に生育している稚樹の葉の形態とDNA解析により、*S. leprosula* × *S. curtisii* 間のF1雑種を確認し調査対象とした。また、親種である *S. leprosula* と *S. curtisii* の稚樹も調査に用いた。稚樹の定着環境を調べるため、保護林内の尾根、斜面、谷の3ヶ所に50m × 50mのプロットを作成し、10m × 10mのサブプロットに分割後、地形測量を行った。プロット内に出現した対象樹種の稚樹の位置情報を記録し、地際直径と樹高を測定した。稚樹の枯死率、成長量など森林動態に関する稚樹段階のパラメータを推定するために、稚樹のモニタリングを半年から1年間隔で追跡した。また、稚樹の生育場所の光、土壌水分、土性等の環境因子についてモニタリングを行

った。土壌水分環境については土壌水分計(SM-200, Delta-T)を用い、全個体の根元で午前中に測定を行なった。光環境は、10m×10mのサブプロットの格子点とサブプロット中央で魚眼レンズつきカメラ(Coolpix5400, FC-E9, Nikon)を用いて全天空写真を撮影し推定した。全天空写真の撮影はハレーションを避けるため曇天日に行った。全天空写真の測定後、画像解析ソフトCanopOn2で林冠開空度と散乱光透過率を推定した。

次にブキティマ自然保護区全域(164ha)における胸高直径30cm以上の全個体の胸高直径のデータベースを活用し、雑種のサイズ分布と雑種と親種(*S. leprosula*と*S. curtisii*)が占める地上部バイオマスを計算した。また、2008年の測定データに加え2011年には雑種と*S. leprosula*の成木の全個体の再測定を行い、枯死率や成長量など、森林動態に関係する母樹段階のパラメータを推定した。ブキティマ全域に生育する胸高直径30cm以上の全個体と*Shorea*属の地上部バイオマスも推定した。地上部バイオマスの計算には、ボルネオ島のフタバガキ林で得られた相対成長式を用い、胸高直径から推定した。また、保護林内に設置された2ha調査区の胸高直径の毎木調査データから、雑種と親種の年平均の直径成長量を計算した。また過去15年間の毎木調査プロット(胸高直径1cm以上、2ha)のデータを用いて幼木段階の森林動態に関するパラメータを推定した。

各樹種の稚樹ステージ(DBH1cm未満)、幼木ステージ(DBH1-30cm)、成木ステージ(DBH30cm以上)の成長パラメータからマトリックスモデルを作り、現状のパラメータを用いた場合と、稚樹の雑種化率が*S. curtisii*で1%、*S. leprosula*で30%に上昇した場合の100年後までの個体数の増減の変化予測を行った。さらに、サブテーマ(2)の結果から乾燥耐性が最も低いと判断された*S. leprosula*について、今後危惧される熱帯林の乾燥化を考慮し、雑種化率の上昇に加え、乾燥イベントによる*S. leprosula*の稚樹や幼木段階の枯死率の上昇を加味した将来予測を行った。この予測では初期の設定として、①稚樹段階の枯死率が15年と50年間隔でそれぞれ50%、90%に上昇した場合と、②稚樹と幼木の枯死率が常に30%、10%それぞれ上昇した場合の個体数の変化を評価した。また、1993年から2008年までの過去15年間の毎木調査区(2ha)の結果から、雑種と両親種の地上部バイオマス蓄積量の変動について解析を行い、炭素固定機能の変化を推定し、モデルで求めた動態予測との比較を行った。

4. 結果及び考察

(1)熱帯林断片化による雑種化リスクの遺伝的評価

1)熱帯林構成種の雑種形成と森林断片化の関係

ブキティマ自然保護区において、稚樹集団・成木集団いずれからも雑種個体が見つかったのに対し、ランビル国立公園では、雑種個体は見つからなかった。さらに、マレー半島内6カ所の森林保護区で調査を行った結果、雑種個体が見つかったのは森林面積が500ha以下の2カ所のみで、1000ha以上の面積を持つ森林からは見つからなかった。雑種化促進によるリスクは小面積かつ断片化の進行した森林で高いことが示唆された。

2)雑種個体の更新の可能性

ブキティマ自然保護区において、胸高直径30cm以上の975、84、10個体が*S. curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*のいずれかに同定された。また、これら3種の種間雑種と考えられる個体が21個体見つかり、雑種は更新可能であることが示された。そのうち、18個体は*S. curtisii*×*S. leprosula*の雑種、1個体は*S. curtisii*×*S. parvifolia*の雑種、2個体は*S. leprosula*×*S. parvifolia*の雑種であると推測された。

3)雑種個体と両親種との交配の可能性

S. leprosula × *S. parvifolia* 雑種(BT2698)を種子親に持つ稚樹の内、10個体は*S. leprosula*、あるいは*S. parvifolia*との戻し交配由来であった。また、*S. curtisii*、*S. leprosula*のいずれかを種子親に持つ稚樹の内、54個体が雑種成木を花粉親に持つ稚樹であった。稔性のある雑種成木が自殖や親種との交配を行い、雑種F2や戻し交配に由来する個体が生じていることが明らかになった。

(2)熱帯林断片化がフタバガキ科実生の定着過程に与える影響と雑種稚樹の生理生態特性の評価

1)フタバガキ科雑種と両親種稚樹の形態的・生理的特性の評価

葉の飽和光合成速度は*S. leprosula*で最も高く、*S. curtisii*の約2倍であった。蒸散速度や気孔コンダクタンス、葉内窒素濃度も*S. leprosula*で高く、*S. curtisii*で低くなった。一方、葉の水利用効率は*S. curtisii*で高く、*S. leprosula*に比べ、約2倍の値を示した。葉の厚さの指標となるLMAは*S. curtisii*で高く、厚い葉を持つことが分かった。また、雑種個体の光合成能力や蒸散速度などの特性は、両親種のほぼ中間的な値を示した。両親種の生態特性として、*S. leprosula*は、谷筋など斜面下部に分布し成長速度が速いが、*S. curtisii*は尾根部を中心に分布し、比較的成長速度が遅いことが知られている。*S. leprosula*は光合成速度が大きく、高い成長速度の一因になっていると考えられた。また高い葉内窒素濃度が高い光合成速度の維持に貢献していると考えられた。一方、*S. curtisii*は、*S. leprosula*や雑種個体に比べ、葉の水利用効率が高く、厚い葉を持つため、尾根部の乾燥した環境に有利であると考えられた。雑種個体の光合成能力や水利用効率などの特性は、両親種とほぼ中間的な特徴を持っていたことから、生育適地や生態特性も両親種とほぼ中間的な位置にあると考えられた。

雑種個体と両親種との戻し交配個体の形態特性に関しても調査を行ったところ、戻し交配個体は反復親の形質・機能が反映される傾向にあった。反復親が *S. curtisii* である個体は、F1雑種に比べて葉や海綿状組織が厚くなるなど、葉の水分保持能力に関係する形質の向上が見られた。一方、反復親が *S. leprosula* である個体はF1雑種に比べて葉厚は変化しないが、柵状組織厚が若干増加し、海綿状組織厚は逆に低下するなど、光合成機能に関係する形質が向上する傾向を示した。

2) フタバガキ科雑種と両親種稚樹の耐乾性評価

灌水を止めて人工的に土壌を乾燥させる操作実験を行ったところ、葉の耐乾性の指標となるしおれ点での葉の水ポテンシャル (ψ_{wtlp}) は、実験前に比べいずれの樹種でも有意に低下し、乾燥に対して耐乾性を向上させていた。特に *S. curtisii* は実験前に比べて低下の度合いが大きく、高い耐乾性を持つことがわかった。また、光合成能力の指標となる、最大光合成速度や光化学系IIの最大光量子収率 (F_v/F_m) は、実験前後でいずれの樹種でも低下が見られたが、特に *S. leprosula* で明瞭な機能低下が見られた。水利用特性の指標となる、気孔コンダクタンスや蒸散速度、水利用効率は、*S. leprosula* が乾燥に対して水利用効率を変えずに高い蒸散速度を維持していたのに対し、*S. curtisii* や雑種は乾燥に対して水利用効率を高めて対応している傾向が見られた。上記の結果は、各樹種の森林内での分布特性を明確に反映していると思われる。つまり、谷部に生育し、成長速度の速い *S. leprosula* は、耐乾性が低く、乾燥時に光合成系の機能が低下するものの、高い光合成・蒸散速度を維持し、水利用効率も低いままであり、強度乾燥時には死亡確率が増大する恐れがある。一方、尾根に分布し、成長速度が遅い *S. curtisii* や、両親種の中間的な環境に分布し、成長速度も中間程度の雑種は、乾燥時に耐乾性や水利用効率を高め、光合成や蒸散能力の低下の度合いも低く、乾燥に対する適応能力も高いと考えられる。この結果から、今後熱帯雨林の乾燥化や降水パターンが変化すれば、耐乾性の低い *S. leprosula* は生存確率が低下する恐れがあり、逆に耐乾性の高い *S. curtisii* や雑種は *S. leprosula* と置き換わって分布を拡大させる可能性があることが示唆された。

(3) 熱帯林断片化による林分動態予測と炭素収支の評価

稚樹の定着場所は種間で明確な違いが見られ、*S. curtisii* は斜面上部に、*S. leprosula* は下部に分布していた。雑種稚樹については、両親種の分布の中間的な斜面中部に多く出現した。また、土壌水分環境と稚樹の分布にも関連が見られ、雑種の稚樹は、乾燥した場所に出現する *S. curtisii* と、湿った環境に出現する *S. leprosula* の中間的な土壌水分環境に多く見られた。また、雑種は暗い環境に出現する *S. curtisii* に比べ、*S. leprosula* と同等程度の比較的明るい環境に多く出現した。以上の結果から、雑種稚樹は両親種との中間的な環境に定着する傾向があると考えられた。

稚樹の成長速度も種間で異なり、*S. leprosula* で最も成長が早く、雑種、*S. curtisii* の順に低くなった。雑種稚樹の枯死率は、最も低い *S. curtisii* と最も高い *S. leprosula* の中間程度であった。次に、2haの毎木調査区の過去15年間のデータから幼木段階の枯死率や成長量を推定し、動態解析に用いるパラメータを得た。最後に、ブキティマ保護区全域のDBH30cm以上の成木の成長量、枯死率を調べた。雑種の年間直径成長量は0.8cmで、*S. leprosula* と同等で *S. curtisii* (0.6mm) より大きかった。成木の年間枯死率については雑種と *S. leprosula* で2%前後と高く、*S. curtisii* (約1%) で低い傾向があった。

次に、2haの毎木調査区の過去15年間の地上部バイオマス量の変化を解析したところ、1993年に地上部バイオマスが約500t/haであったが、2008年には30t/haほど減少していた。1993年時のバイオマス全体に占める割合は、*S. curtisii* が最も多く23.5% (125t/ha)、*S. leprosula* が6.2% (33t/ha)、雑種が2.6% (14t/ha) であった。2008年では *S. curtisii* のバイオマス量が40 t/ha増加し、バイオマスの33.4% (167t/ha) を占めたのに対し、*S. leprosula* は13 t/ha (2.6%) に減少した。雑種に関してはほぼ横ばいの15t/ha (3.0%) であった。

最後に、マトリックスモデルを用いて雑種化と乾燥化による影響が林分動態に与える影響予測を稚樹ステージ(DBH1cm未満)、幼木ステージ(DBH1-30cm)、成木ステージ(DBH30cm以上)に分けて100年後まで予測した。ブキティマ保護林で得られた現状のパラメータを用いた場合、雑種は微増傾向を示し、*S. curtisii* はすべてのステージで安定して個体群を維持できたが、*S. leprosula* は個体群が減少し、衰退傾向を示した。次に、現状よりも雑種化が進行した場合の予測を行った。この予測では、*S. leprosula* の母樹が生産する稚樹の30%が雑種に、*S. curtisii* の稚樹の1%が雑種に置き換わったと仮定した。その結果、*S. curtisii* は先ほどと同様に個体群を安定的に維持できたが、*S. leprosula* は個体数の減少幅が大きくなった。雑種はすべてのステージで *S. leprosula* を上回り個体群が拡大し、*S. leprosula* は雑種に置き換わると考えられた。最後に雑種化と乾燥化が同時に進行した場合をサブテーマ(1)で最も乾燥耐性が低いと予測された *S. leprosula* を例に予測した。まず、15年と50年間隔で稚樹の50%と90%が枯死する場合を予測した。その結果、稚樹ステージでは次の一斉結実までの間、稚樹が少ない状態が続くが、成木ステージの個体が維持されるため、次の結実で稚樹が供給され個体群が回復し、個体群全体への影響がほとんどなかった。次に、強い乾燥の影響が連続的に続くことを想定し、稚樹と幼木ステージの

枯死率を恒常的にそれぞれ30%、10%高くして予測を行った。この場合、すべてのステージで急速に個体群が減少し、絶滅リスクが大幅に高まると考えられた。以上の動態予測から、特に、雑種化や乾燥化による個体群の減少リスクに脆弱な*S. leprosula*は、将来的に種の保全の必要性が出てくる可能性がある。実際、毎木調査区(2ha)の過去15年間のバイオマスの変動からも*S. leprosula*のバイオマスの低下が実測値として顕著になっており、今回作成したモデルから予測される個体群の減少がすでに進行している可能性が考えられた。また、炭素蓄積量についても個体数の変化と連動し、ほぼ同じ変化傾向が見られた。しかし、雑種化によるブキティマ保護林全体の炭素蓄積量への影響は、個体群の大きい*S. curtisii*が安定的に維持されることから影響は小さいと考えられた。今後、枯死率や新規加入率などの長期モニタリングやF1雑種以降の雑種の特性が明らかになれば、林分動態や炭素収支の予測精度をさらに高めることができると考えられた。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

本研究は、フィールド調査とDNA分析、さらに生理生態調査を組合せ、フタバガキ科同属近縁種間での雑種形成やその生態特性を明らかにした初めての実証研究である。まず、これまで形態観察に頼っていた雑種個体の同定に対し、DNA解析を取り入れることにより、信頼性の高い判断が可能になった。その結果、雑種個体の割合は、森林面積が小さいほど高いことが明らかになった。また、雑種個体は、実生から成木のさまざまな生育段階で見つかり、雑種は更新可能であることが明らかになった。さらに、雑種は交配可能であり、雑種と親個体の間で戻し交配が起きていることが示された。以上の結果から、熱帯林の分断化は、樹木の雑種化を促進することにより、森林の種組成や遺伝子組成、更新動態に影響を与える可能性が示された。

また、生理生態学的な調査からは、これまで知見の無かったフタバガキ科の親種や雑種の生理的・形態的な耐乾性のメカニズムや、生育段階ごとのサイズ分布、枯死率、成長量など森林動態の解明に不可欠な知見を明らかにした。このことは、今後東南アジア熱帯雨林域でフタバガキ科樹木の雑種化が森林動態へ与える影響を予測する上で重要な意義がある。*S. leprosula*と*S. curtisii*では、乾燥に対する応答が明確に異なっており、*S. leprosula*がストレス状態に置かれても高い光合成や蒸散を維持しようとするのに対し、*S. curtisii*は耐乾性や水利用効率を高めて対応していた。雑種個体は*S. leprosula*よりも耐乾性が高く、更に反復親が*S. curtisii*の戻し交配個体は*S. curtisii*に近い生理生態的特性を持つことから、今後雑種化が進み、更に熱帯雨林の乾燥化が進めば、*S. leprosula*の分布域は雑種や*S. curtisii*に置き換わる可能性があることが考えられた。

さらに、これまで知見の無かったフタバガキ科雑種の稚樹段階における林内での定着環境を明らかにしたことは、今後、東南アジア熱帯雨林域でフタバガキ科樹木の雑種化の進行を予測する上で重要な意義がある。また、雑種化や乾燥化を考慮した森林動態モデルから、*S. leprosula*の個体数が将来的に減少し、雑種に置き換わる危険性が明らかになり、今後、種の絶滅を回避するための対策が必要になると考えられた。一方、雑種化が進行しても、森林の炭素蓄積量は個体数の多い*S. curtisii*の個体群がほぼ維持されることから、大きく減少する可能性は低いと考えられた。今後、雑種第二代などの特性が分かればさらに詳細な絶滅リスクや森林動態に与える影響を明らかに出来ると考えられた。

(2) 環境政策への貢献

現時点で具体的な環境政策への貢献は無い。しかし、森林ごとの雑種個体の割合や雑種が見られない森林面積についての具体的な数値データや、複数種が混生の程度により雑種形成の機会が変わる可能性を示したことは、森林の開発・保護・再生に関する政策や植林方法の立案に貢献できる。また、長期断片化に伴う熱帯林主要林冠構成種の雑種化リスクや絶滅確率の増大が、今後の林分動態や炭素蓄積に与える影響を評価した本研究の成果は、生物多様性の保全施策、REDD政策への反映やIPCC報告書環境政策への貢献が可能になると思われる。今後は、研究から得られた成果や情報について、プレスリリース等で社会一般に広く情報発信することに努める。

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) K. KAMIYA, Y. Y. GAN, S. K. Y. LUM, M. S. KHOO, S. C. CHUA, N. N. H. FAIZU: Morphological and molecular evidence of natural hybridization in *Shorea* (Dipterocarpaceae). *Tree Genet. Genom.* 7: 297–306 (2011)
- 2) K. KAMIYA, S. NANAMI, T. KENZO, R. YONEDA, B. DIWAY, L. CHONG, M. A. AZANI, N. M. MAJID, S. K.

Y. LUM, K. M. WONG, K. HARADA: Biotropica (in press)

“Demographic History of *Shorea curtisii* (Dipterocarpaceae) Inferred from Chloroplast DNA Sequence Variations”

3) T. ICHIE and M. NAKAGAWA: Ecological Research (in press)

“Dynamics of mineral nutrient storage for mast reproduction in the tropical emergent tree *Dryobalanops aromatica*”

4) T. HIROMI, T. ICHIE, T. KENZO and I. NINOMIYA: Journal of Forest Research (in press)

“Interspecific variation in leaf water use associated with drought tolerance in four emergent dipterocarp species of a tropical rain forest in Borneo”

<その他誌上発表(査読なし)>

1) 上谷浩一: 森林科学、第60号、p.39(2010)

森林樹木の進化プロセスをはかる—遺伝子系統樹からわかること—, シリーズ「森をはかる」

2) 上谷浩一: 森林科学、第62号、pp.3-7(2011)

「特集遺伝子から読み解く森林—熱帯アジア産樹木の進化と生物多様性に関するDNA研究」

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) 米田令仁、田中憲蔵、Mohamad Alias Azani、Nik Muhamad Majid: 第121回日本森林学会(2010)「フタバガキ科6種稚樹の光環境の変化に対する光合成特性の変化」
- 2) 田中憲蔵、市栄智明、上谷浩一、Shawn Lum: 第20回日本熱帯生態学会大会(2010)「シンガポール断片化林におけるフタバガキ科雑種苗木の光合成特性」
- 3) 上谷浩一、原田光、名波哲、田中憲蔵、米田令仁、Bibian Diway、Lucy Chong、Mohamad Azani Alias、Nik Muhamad Majid、Shawn Lum、Wong Khoon Meng: 第20回日本熱帯生態学会大会(2010)「セラヤ(*Shorea curtisii*) 地域集団の葉緑体DNA多型」
- 4) Tanaka Kenzo, Tomoaki Ichie: XXIII IUFRO World Congress, Korea, 2010 “Comparison of allometric relationships for accurate estimation of forest biomass in tropical secondary forest in Malaysia” The International Forestry Review 12:76
- 5) 名波哲、原田剛、松山周平、伊東明、SYLVESTER TAN、BIBIAN DIWAY、LUCY CHONG、山倉拓夫: 日本生態学会第58回全国大会(2011)
「サラワク州ランビルヒルズ国立公園における*Shorea*属樹種の遺伝構造と遺伝子流動」
- 6) 田中憲蔵、米田令仁、佐野真琴、上谷浩一、名波哲、Shawn Lum、則近由貴、市栄智明: 第122回日本森林学会(2011)「シンガポールの断片化された熱帯林におけるフタバガキ科雑種稚樹の分布」
- 7) 上谷浩一、Henti Hendalastuti、原田光、名波哲、田中憲蔵、米田令仁、Bibian Diway、Lucy Chong、Mohamad Azani Alias、Nik Muhamad Majid、Shawn Lum、Wong Khoon Meng: 第21回日本熱帯生態学会(2011)「セラヤ(*Shorea curtisii*) 地域集団の核DNA配列多型」
- 8) 田中憲蔵、米田令仁、佐野真琴、上谷浩一、名波哲、Shawn Lum、則近由貴、市栄智明: 第21回日本熱帯生態学会大会(2011)「シンガポールの断片化熱帯林におけるフタバガキ科雑種稚樹の生育環境」
- 9) 市栄智明、宮本幸、井上裕太: 第21回日本熱帯生態学会(2011)「フタバガキ科林冠構成種の葉の形態に及ぼす光環境や生育段階の影響」
- 10) 米田令仁、田中憲蔵、Mohamad Azani Alias、Nik Muhamad Majid: 第123回日本森林学会大会(2012)「施肥処理をしたフタバガキ科稚樹の光環境の変化に対する光合成特性の変化」
- 11) YUTA INOUE, TANAKA KENZO, TOMOAKI ICHIE: Tropical Tree Response to Climate Change. FRIM, Malaysia. (2012) “Leaf water use and xylem characteristics of canopy trees of Dipterocarpaceae in a tropical rain forest”.
- 12) 上谷浩一、原田光、名波哲、田中憲蔵、米田令仁、Shawn Lum、市栄智明: 第22回日本熱帯生態学会(2012)「シンガポールの断片化林におけるショレア属種間の浸透性交雑の実態」
- 13) 米田令仁、田中憲蔵、Mohamad Azani Alias、Nik Muhamad Majid: 第22回日本熱帯生態学会(2012)「施肥処理をしたフタバガキ科稀少樹種稚樹の成長」

7. 研究者略歴

課題代表者: 市栄 智明

1972年生まれ、京都大学大学院理学研究科博士後期過程修了、博士(理学)、現在、高知大学教育研究部自然科学系准教授

研究参画者

(1): 名波 哲

1969生まれ、京都大学大学院農学研究科博士後期過程単位取得退学、博士(農学)、現在、大阪
立大学理学研究科准教授

(2): 市榮 智明 (同上)

(3): 田中 憲蔵

1977年生まれ、愛媛大学大学院連合農学研究科博士後期課程修了、博士(学術)、現在、森
林総合研究所国際推進拠点主任研究員

RF-1010 熱帯林の断片化による雑種化促進リスクと炭素収支への評価

(1) 熱帯林断片化による雑種化促進リスクの遺伝的評価

大阪市立大学・大学院理学研究科

名波 哲

〈研究協力者〉

愛媛大学農学部

上谷 浩一

平成22～23年度累計予算額：5,627千円

(うち、平成23年度予算額：2,503円)

予算額は、間接経費を含む。

〔要旨〕 異種間で起こる雑種形成は生殖隔離機構によって低く抑えられていると考えられているが、生育地攪乱によってこのような隔離機構が緩和された結果、雑種化が進行することが危惧されている。本研究では、東南アジア熱帯雨林で優占するフタバガキ科ショレア属の近縁種間で起こっている雑種形成と遺伝子移入の実態をDNA分析によって明らかにし、雑種形成と森林断片化との関係を明らかにすることを目的とした。森林断片化の影響が強いシンガポール・ブキティマでの調査から、ショレア属3種 (*S. curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*) 間の雑種が複数個体見つかった。これらの雑種個体はDNA塩基配列やマイクロサテライト遺伝子型の情報を用いて、親種から明確に区別することができた。開花フェノロジーの観察から、*S. curtisii*と*S. leprosula*は一斉開花中のほぼ同時期に開花することがわかった。*Shorea parvifolia*は他の2種よりも早い時期に開花したが、その開花時期は部分的に重複していた。雑種親木由来の種子を温室内で育成したところ、それらの多くが発芽、生長可能であった。また、マイクロサテライトデータを用いた親子解析の結果、雑種F2や戻し交配由来の稚樹が複数個体検出された。一方で、断片化の影響がほとんどないマレーシア・ランビル国立公園では、当該樹種間で開花フェノロジーが重複するものの、雑種形成や遺伝子移入が起こっている証拠は得られなかった。森林面積の異なる8カ所の保護区でショレア属種間雑種個体の割合を調査した結果、3カ所の保護区で雑種個体が見つかったが、それらはいずれも面積が1000ha以下の断片化の進んだ森林であった。

〔キーワード〕 種間雑種、フタバガキ科、ショレア属、DNA配列変異、マイクロサテライト

1. はじめに

現在最もよく知られている生物学的種概念によると種は「生殖的に隔離された集団の集まり」として定義される。種分化は遺伝子流動を妨げるような隔離障壁の発達によって起こると考えられているが、そのような隔離機構がどのように進化するかを解明していくことが種分化研究の中心課題である。生殖的隔離が緩和された結果、2種の間中間的な形質を持つような雑種個体が見られる場所（交雑帯）の存在は古くから知られている¹⁾。雑種形成に関連する現象として、雑種形成を介した種分化（雑種種分化）、現存種（あるいは在来種と移入種）間で起こる雑種形成による

種の融合、種内遺伝的変異への影響や地域適応性の獲得などが挙げられる。また、生育地攪乱に伴う環境の変化によって生殖隔離機構が緩和された結果、本来は起こらない雑種化が進行することも指摘されている²⁾。

東南アジア熱帯雨林のもつ特徴の一つは、同じ森林内に同属近縁種が多数共存していることである。主要林冠構成木として知られるフタバガキ科ショレア属も約200種知られている。フタバガキ科同属近縁種の多くはそれぞれが異なる生態学的ニッチに生育することで共存を可能にしていると考えられるが、これら近縁種間で見られる雑種形成を回避するような隔離障壁に関する実証研究はほとんどない。雑種形成は、二つのプロセスで、森林の更新維持機構に負の影響を与えることが危惧される。一つは、稔性を持たない雑種個体が増加した結果、個体群の更新が阻害され、種が絶滅に向かうことである。もう一つは、稔性を持つ雑種個体が親種と交配を繰り返すことによって、両親種が進化の過程で築いてきた種を特徴づけるような遺伝子が失われていくことである。従って、同所的に生育する同属近縁種間で起こる雑種化の実態把握は、生物多様性の観点からも重要である。

2. 研究開発目的

本サブテーマは、東南アジア熱帯林の主要構成種であるフタバガキ科樹木を対象に、DNA分析によって種間での雑種形成と遺伝子移入の実態を明らかにし、雑種形成と森林断片化との関連性を明らかにすることを目的とする。

3. 研究開発方法

(1) 材料

シンガポール中心部に断片化の進行した孤立林として残存しているブキティマ自然保護区(164ha)内に生育するフタバガキ科ショレア属3種(*Shorea curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*)について、胸高直径30cm以上の全個体を対象とした毎木調査を行い、葉形態から種間雑種であると思われる個体を抽出した。DNA分析のために、*S. curtisii* 84個体、*S. leprosula* 80個体、*S. parvifolia* 10個体、そして種間雑種21個体の葉標本を採取し、modified CTAB法^{3) 4)}によりDNAを抽出した。

サブテーマ(3)と協力し、ブキティマ保護区内に2カ所の50×50mの調査区(プロット1およびプロット2)を設置し、上記ショレア属3種の全個体についてナンバーテープでマーキングし、それらの個体サイズと位置を記録した。それぞれの個体の葉からDNAを抽出し、DNA解析に用いた。

断片化が進行していない森林として、マレーシア連邦サラワク州のランビルヒルズ国立公園を選んだ。国立公園内に設置された52haプロット内^{5) 6)}に生育する*S. curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*の全成木個体(胸高直径30cm以上の個体)の生葉を採集し、DNAを抽出した(ただし、*S. leprosula*については胸高直径30cm以下の個体を含む)。また、1箇所50×50mの調査区を設置し、*S. curtisii*と*S. parvifolia*の全個体をナンバーテープでマーキングし、個体サイズと位置を記録した。これらの個体について、生葉を全個体から採取し、DNAを抽出した。

(2) DNA解析手法

ブキティマで採集した*S. curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*の成木サンプルについて、

核遺伝子座2領域 (*GapC*、*PgiC*) をPCR増幅し、それぞれの塩基配列を決定した。個体間で塩基配列を比較し、種特異的な塩基置換サイトを特定した。次に、これら種固有の置換サイトにおける塩基の分離を葉形態から同定した雑種21個体について調べた。また、雑種個体の種子親を特定するために、母性遺伝する葉緑体 *trnL-trnF* 遺伝子間領域の塩基配列を決定した。

ブキティマおよびランビル調査区で採集した全ての個体について、8マイクロサテライト遺伝子座 (*Shc03*、*Shc09*、*Sle105*、*Sle384*、*Sle392*、*Sle562*^{7) 8)}) の遺伝子型を決定した。それぞれの遺伝子座を特異的に増幅するプライマーを用いてPCR増幅を行い、増幅産物のサイズをABI310 Genetic Analyzerを用いて決定した。

プログラムSTRUCTUREはベイズ法を用いた遺伝的に異なるクラスターを検出するプログラムであり、個体が各クラスターに属する確率が計算される⁵⁾。各個体のマイクロサテライトデータからSTRUCTUREを用いたクラスター解析を行い、雑種個体の特定を行った。また、ブキティマ・プロット2の稚樹のマイクロサテライトデータから、プログラムCERVUS⁶⁾を用いて各稚樹個体の種子親と花粉親を特定した。

4. 結果及び考察

(1) DNA塩基配列解析による雑種個体の判別

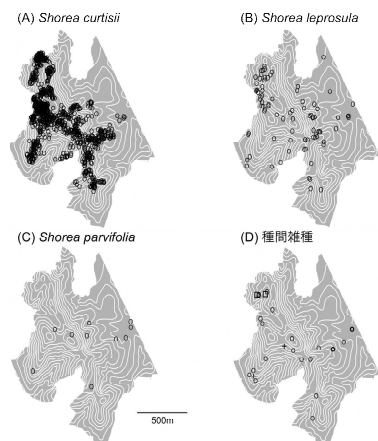
ブキティマ調査地で行った毎木調査の結果、胸高直径30cm以上の975、84、10個体が *S. curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*のいずれかに同定された。また、これら3種の種間雑種と考えられる個体が21個体見つかり、そのうち、18個体は *S. curtisii* × *S. leprosula* の雑種、1個体は *S. curtisii* × *S. parvifolia* の雑種、2個体は *S. leprosula* × *S. parvifolia* の雑種であると推測された。雑種個体は、葉身型、葉裏のビロード毛の有無、葉裏の葉脈分岐点に見られるダニ室 (Domatia) の有無とその密度、そして托葉の形状から親種と区別することができた。これらの種の空間分布から、*S. curtisii* は尾根、*S. leprosula* と *S. parvifolia* は谷部、そして雑種は両者の中間にある斜面を好む傾向が観察された (図(1)-1)。

S. curtisii 30、*S. leprosula* 34、*S. parvifolia* 10個体について、2核遺伝子座の塩基配列を決定し、3種の塩基配列データの比較から種特異的な塩基置換サイトを特定した。*S. curtisii* で6、*S. leprosula* で6、そして *S. parvifolia* で7カ所の種特異的な置換サイトが見つかった (表(1)-1)。また葉緑体配列データから、2カ所の種特異的なサイトによってこれら3種を区別することができた。

次に、雑種21個体について *GapC* と *PgiC* 領域の塩基配列を決定し、種特異的なサイトにおける塩基の分離を確認した。その結果、全ての雑種個体は種特異的な塩基サイトを全てヘテロで保有していた。例えば、*S. curtisii* × *S. leprosula* 雑種は2親種の持つ種特異的な12サイト全てをヘテロで保有していた。このように、葉形態により同定された雑種個体が2種のゲノムをヘテロで持つ雑種であることが示された。また、葉緑体ハプロタイプの違いによって、*S. curtisii* × *S. leprosula* 雑種18個体の内、7個体は *S. curtisii* を、そして11個体は *S. leprosula* を種子親に持つことがわかった。*S. curtisii* × *S. parvifolia* (1個体) と *S. leprosula* × *S. parvifolia* (2個体) は全て *S. parvifolia* が種子親であった。

雑種個体間の交配や戻し交配が進むと種特異的な遺伝子の他種への移入が進行する (遺伝子移入)。遺伝子移入が進行すると種特異的な塩基サイト数は減少し、異種間で共有される多型サイ

ト数が増加することが期待される。そこで、ショレア属3種間での遺伝子移入の実態を明らかにするために、各種集団の塩基配列多型を調査した。その結果、種内で見つかった38多型サイトの内37サイトは1種のみで見られ、核DNA配列データからは遺伝子移入の証拠は見つからなかった（表(1)-2）。



図(1)-1 シンガポール・ブキティマ調査区内に生育するフタバガキ科ショレア属3種と種間雑種個体の空間分布（胸高直径30cm以上）

表(1)-1 ショレア属3種間で見つかった種固有な塩基置換サイト。灰色でハイライトされた箇所は種固有の塩基置換サイトである。

(A) GapC遺伝子座										
種	解析した 個体数	塩基サイト								
		1	5	9	1	2	4	4	4	4
		0	2	6	6	6	4	4	6	9
<i>S. curtisii</i>	30	A	C	A	G	A	T	T	A	T
<i>S. leprosula</i> (L)	16	A	C	A	G	G	G	C	A	T
<i>S. leprosula</i> (S)	34	?	-	A	G	G	T	C	T	A
<i>S. parvifolia</i>	10	G	T	C	G	G	T	C	A	C

(B) PgiC遺伝子座										
種	解析した 個体数	塩基サイト								
		1	1	1	1	1	2	2	4	6
		7	0	0	5	7	0	6	5	9
<i>S. curtisii</i>	30	C	T	T	T	A	G	C	A	T
<i>S. leprosula</i> (S)	34	C	G	A	C	C	T	C	G	C
<i>S. parvifolia</i>	10	T	G	T	T	A	G	T	G	C

表(1)-2 ショレア属3種に見られる種内の塩基配列多型。灰色でハイライトされた箇所は種内で多型が観察された塩基サイトである。

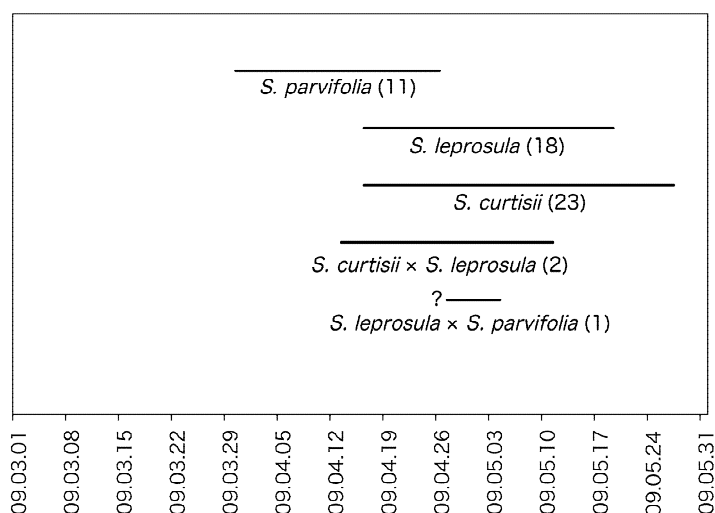
(A) GapC遺伝子座																
種	解析した 個体数	塩基サイト														
		1	1	5	6	7	9	2	2	3	3	3	4	4	4	5
		4	5	4	8	3	9	4	9	1	2	9	1	1	2	2
<i>S. curtisii</i>	30	A or C	A or G	T	C or T	C	A or G	C	C or T	C	G	G	C or T	T	A	G or T
<i>S. leprosula</i>	34	?	?	-	T	C	A	T	T	C	A or G	A or G	T	G or T	A or G	T
<i>S. parvifolia</i>	10	C	A or G	C or T	C	C or T	A	C or T	T	C or T	G	G	T	T	A	T

(B) PgiC遺伝子座																
種	解析した 個体数	塩基サイト														
		2	1	5	7	1	1	2	2	2	3	3	3	3	4	4
		2	2	3	6	8	2	1	2	3	4	4	5	7	8	3
<i>S. curtisii</i>	30	T	G or T	C	C or T	A	G	C or T	G	A or T	C or T	G or T	A or C	C or T	A	A or -
<i>S. leprosula</i>	34	C or T	G	C or G	C	A or G	G or T	C	G	A	C	G	A	C	A or G	-
<i>S. parvifolia</i>	10	T	G	C	C	A	G	C	A or G	A	C	G	A	C	A	-

種	解析した 個体数	塩基サイト									
		4	5	5	5	5	6	7	7	7	7
		9	1	2	5	9	8	2	4	5	6
		6	0	5	1	9	5	5	9	0	1
<i>S. curtisii</i>	30	T	A	C or G	T	A or C	T	A or G	C or G	T	G or T
<i>S. leprosula</i>	34	C or T	A or -	G	T	C	C	A	C	G or T	T
<i>S. parvifolia</i>	10	T	A	G	C or T	C	C or T	A	C	T	T

(2) 開花フェノロジーと雑種由来種子の育成

2009年3月から5月までの期間中、ショレア属3種複数個体の開花状況を2-5日おきに記録した。その結果、*S. curtisii*と*S. leprosula*には開花時期の違いが見られないことがわかった(図(1)-2)。*Shorea parvifolia*は他の2種よりも早く開花したが、その開花期間は互いに重複していた。以上ことから、これら3種間では開花時期の違いによる交配前隔離の発達が不完全であることが示唆された。また、2009年に開花した雑種1個体の母樹周辺から種子を43個採集し、ポット苗として温室内で育成した。これらの多くが発芽し、2012年3月現在でもそれらの多くが生存していることから、雑種成木は稔性を持っており、生育可能な種子を作ることができることがわかった。



図(1)-2 ショレア属3種と種間雑種の開花時期(2009年3月-5月、シンガポール)。括弧内の数字は観察個体数を示す。

(3) マイクロサテライトマーカーを用いた遺伝子移入の解析

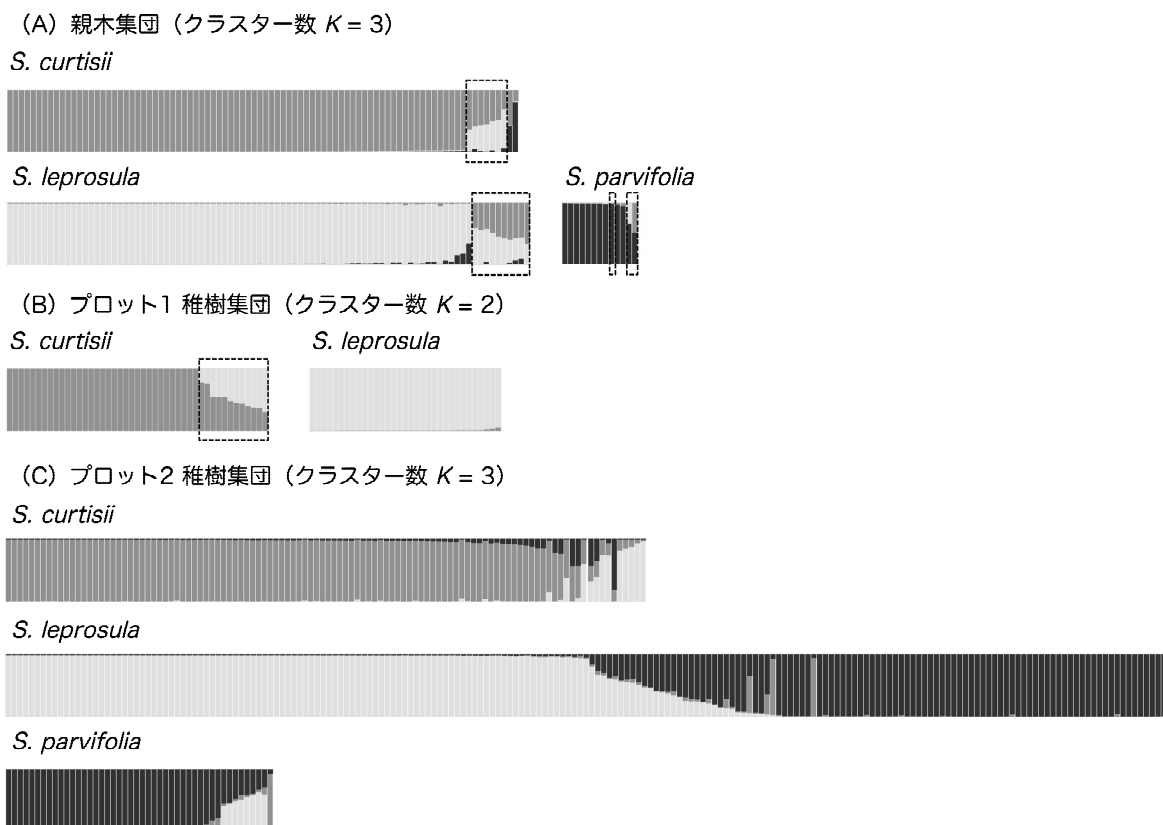
1) プログラムSTRUCTURE⁹⁾を用いたクラスター解析

ブキティマ調査地に生育する成木のサンプルから決定したマイクロサテライト遺伝子型を用いてクラスター解析を行った結果、3種は異なるクラスターに属しており、互いに明確に区別することができた。そして、全ての雑種個体は異なる二つのクラスターを持つキメラであると推定された(図(1)-3A)。しかし、葉形態から*S. curtisii*と同定された2個体が*S. parvifolia*の遺伝子を含む雑種であると推定された。また、葉形態および核DNA配列によって*S. leprosula* × *S. parvifolia* 雑種であると特定された1個体(BT2989)は、クラスター解析によって*S. parvifolia*であると推定された。さらに、葉緑体DNA配列および葉形態から*S. leprosula*と判定された3個体が、*S. parvifolia*の遺伝子を10%以上保有していると推定された。

プロット1の稚樹(99個体)からは、葉形態によって13個体の雑種が見つかったが、これらの個体はクラスター解析の結果からも*S. curtisii*と*S. leprosula*の種間雑種であることが明確に示された(図(1)-3B)。また、葉緑体DNA配列から、プロット1で見つかった雑種13個体の種子親は全て*S. curtisii*であることがわかった。プロット1に出現する*S. curtisii*稚樹の個体数(54

個体)に対する雑種個体の割合は19.4%であり、成木個体から推定された割合(1%)よりも高かった。

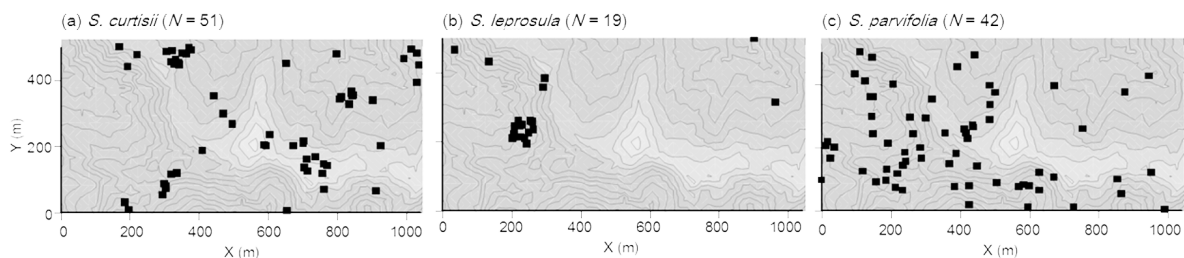
プロット2では合計355個体の稚樹サンプルのDNA分析を行った。これらの稚樹の一部はサイズが小さく、葉形態による種同定が困難であった。そこで、まず葉緑体DNA配列データから稚樹の種子親を区別し、種子親グループごとに雑種個体をマイクロサテライト解析によって推定した。この結果、種子親が*S. curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*である稚樹の個体数は、それぞれ110、199、46であった。クラスター解析の結果、*S. curtisii*を母親に持つ稚樹の多くは同一のクラスターに属したが、*S. leprosula*と*S. parvifolia*由来の稚樹の一部が同一のクラスターに属していると判定された(図(1)-3C)。特に、*S. leprosula*を種子親に持つ個体の半分近くが*S. parvifolia*個体と同一のクラスターに属すると判別された。しかし、種特異的なマイクロサテライト対立遺伝子の有無によって、*S. curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*を種子親に持つ稚樹個体のうち、それぞれ97、52、38個体が雑種であると推定された。親種の個体数に対する雑種個体の割合は*S. leprosula*で26%、*S. curtisii*と*S. parvifolia*では80%以上と非常に高かった。この理由として、*S. curtisii*しか見られないプロット1とは異なり、*S. curtisii*、*S. leprosula*と共に雑種の成木が複数個体混生しているプロット2では、雑種の形成機会が大きく増加していることが考えられた。



図(1)-3 シンガポール・ブキティマに生育するショレア属3種の成木および稚樹個体のクラスター解析の結果。種のカテゴリーは葉緑体ハプロタイプに基づく。1本のバーが1個体を示しており、遺伝的に異なるクラスターが違う色で示されている。2色のバーで表された個体は雑種であり、これは雑種個体が遺伝子組成の異なる2親種に由来することを示している。点線で囲

まれた個体は、葉形態および核DNA配列パターンから雑種であると推定されたものである。

ランビル52ha調査区に出現するショレア属3種の空間分布（図(1)-4）から *S. curtisii* は尾根の砂質土壌のハビタットに多く出現する傾向が見られた¹¹⁾。*S. leprosula* については、胸高直径30cm以上の成木は分布していなかったが、調査対象個体（胸高直径30cm以下）の分布は、谷部の粘土質土壌のハビタットに偏る傾向が見られた。*S. parvifolia* の成木の分布は、特定のハビタットに偏る傾向は見られなかった¹¹⁾。



図(1)-4 ランビル国立公園52haプロット内に出現する成木個体の空間分布

2009年9月から11月にかけて、*S. curtisii* と *S. parvifolia* の成木の開花結実状況を1か月おきに計3回、記録した。開花結実状況の調査の際、双眼鏡で各個体の樹冠を観察し、開花量と結実量を以下の基準で評価した。

レベル0：開花・結実が見られない。

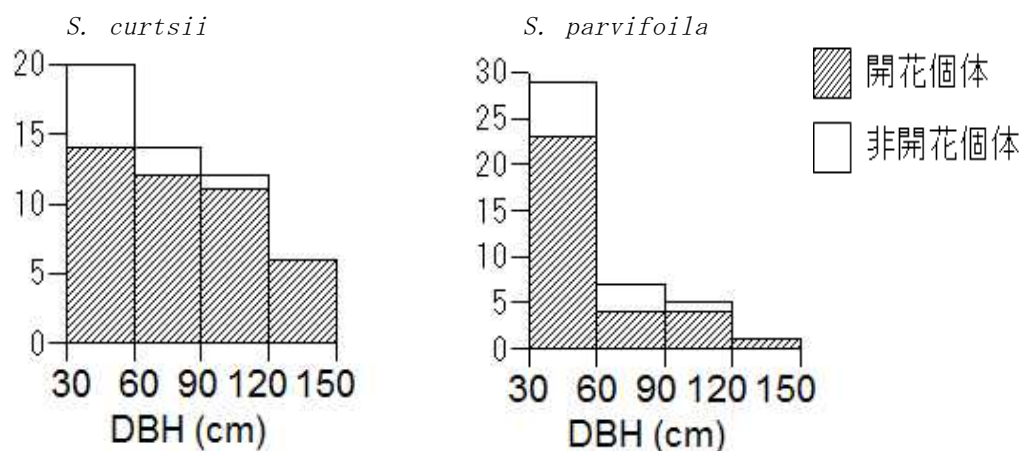
レベル1：樹冠表面積の25%未満の箇所に開花または結実が見られる。

レベル2：樹冠表面積の25%以上50%未満の箇所に開花または結実が見られる。

レベル3：樹冠表面積の50%以上の箇所に開花または結実が見られる。

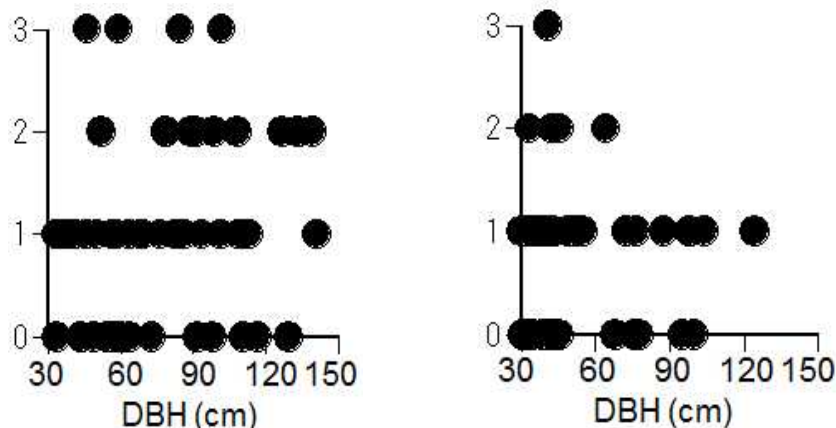
レベル4：樹冠表面積の50%以上の箇所に開花または結実が見られ、その量が大変多い。

S. curtisii については、成木の80.8%が開花した（図(1)-5）。開花率は、大きいサイズクラスほど高かった。一方、*S. parvifolia* については、成木の76.1%が開花した。開花率は、最も小さい胸高直径30 cm－60 cmのサイズクラスでも、79.3%に達した。



図(1)-5 ランビル国立公園52haプロット内におけるショレア属2種のサイズクラスごとの開花状況（2009年9月－11月）。

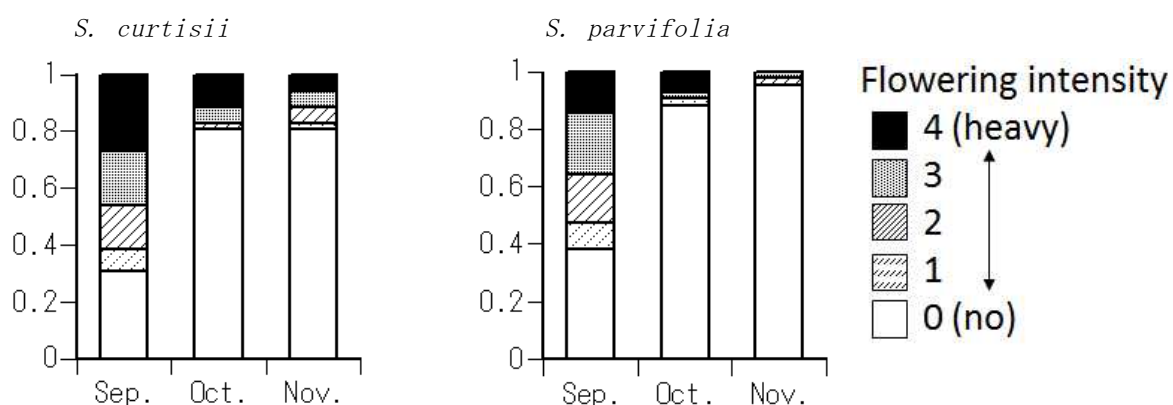
開花個体の多くは、1回の調査でのみ開花が確認されたが、2回以上確認された個体も見られた(図(1)-6)。*S. curtsii*では4個体、*S. parvifolia*では1個体は、9-11月の3回の調査すべてで開



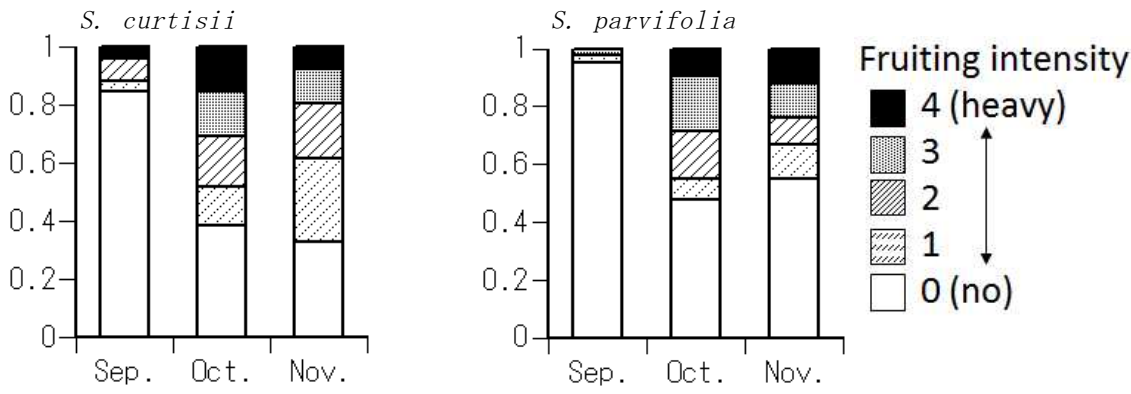
図(1)-6 ランビル国立公園52haプロット内におけるショレア属2種の個体レベルの開花回数。2009年9月－11月にかけて、1か月に1回、計3回の調査を行った。開花が観察された調査の回数を開花回数とした。

花が確認され、長い期間にわたって繁殖を続けていた。繁殖回数と個体サイズとの間には、相関は見られなかったが、*S. parvifolia*に関しては、開花が複数回確認された個体は胸高直径が70cm以下と、成木集団の中では、比較的サイズの小さい個体であった。

*S. curtsii*の開花は、調査期間である9月－11月を通じて観察されたが、開花個体の比率は9月に最も高かった(図(1)-7)。また、開花量が最も多い、レベル4の個体も観察期間中を通じて見つかった。*S. parvifolia*についてもこれらと類似した傾向が見られた。両種の開花フェノロジーは重なっており、時間的な生殖隔離は起きていないと考えられた。結実個体の比率は、9月には低く、10月から11月にかけて増加した(図(1)-8)。



図(1)-7 ランビル国立公園52haプロット内におけるショレア属2種の個体レベルの開花量。2009年9月－11月にかけての、開花量0－4の個体の相対頻度を示す。



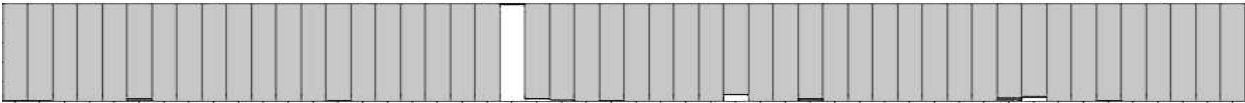
図(1)-8 ランビル国立公園52haプロット内におけるショレア属2種の個体レベルの結実量。2009年9月－11月にかけての、開花量0－4の個体の相対頻度を示す。

ランビル52ha調査区に出現する*S. curtisii*、*S. leprosula*、*S. parvifolia*の成木（図(1)-4）のマイクロサテライト解析からは雑種であると推定された個体は見つからず、種ごとにほぼ異なるグループに分類された（図(1)-9）。しかし、葉の形態から*S. parvifolia*と同定された個体の中の7個体と*S. curtisii*と同定された個体の中の1個体は*S. leprosula*型の遺伝子を持っていた。これらの個体に関しては、同定のミスの可能性が考えられるので、形態を再度確認する必要がある。

稚樹プロット（図(1)-10）から採集された*S. curtisii*（118個体）、*S. parvifolia*（91個体）の解析からも雑種形成の証拠は見つからなかった（図(1)-11）。また、葉形態から両種の雑種であると推測された4個体の遺伝子は全て*S. parvifolia*型であると推定された。以上の結果から、シンガポール・ブキティマで得られた結果とは対照的に、ランビル調査区内での雑種形成はほとんど起こっていないと考えられた。

成木集団(クラスター数 $K = 3$)

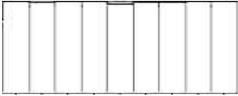
S. curtisii



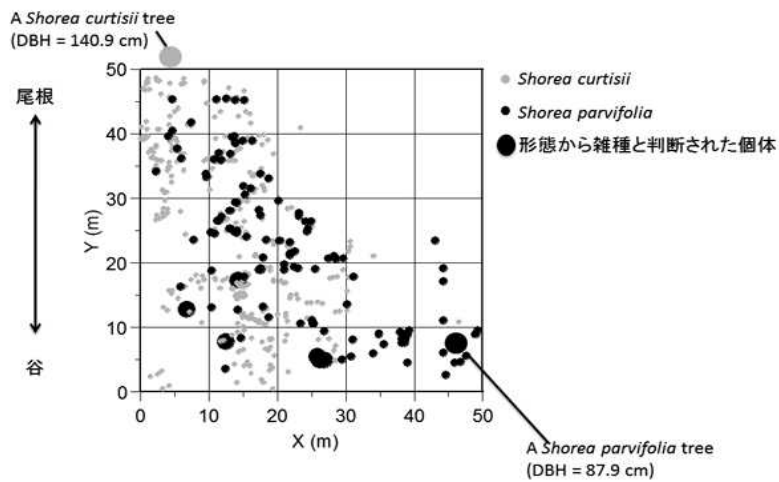
S. parvifolia



S. leprosula

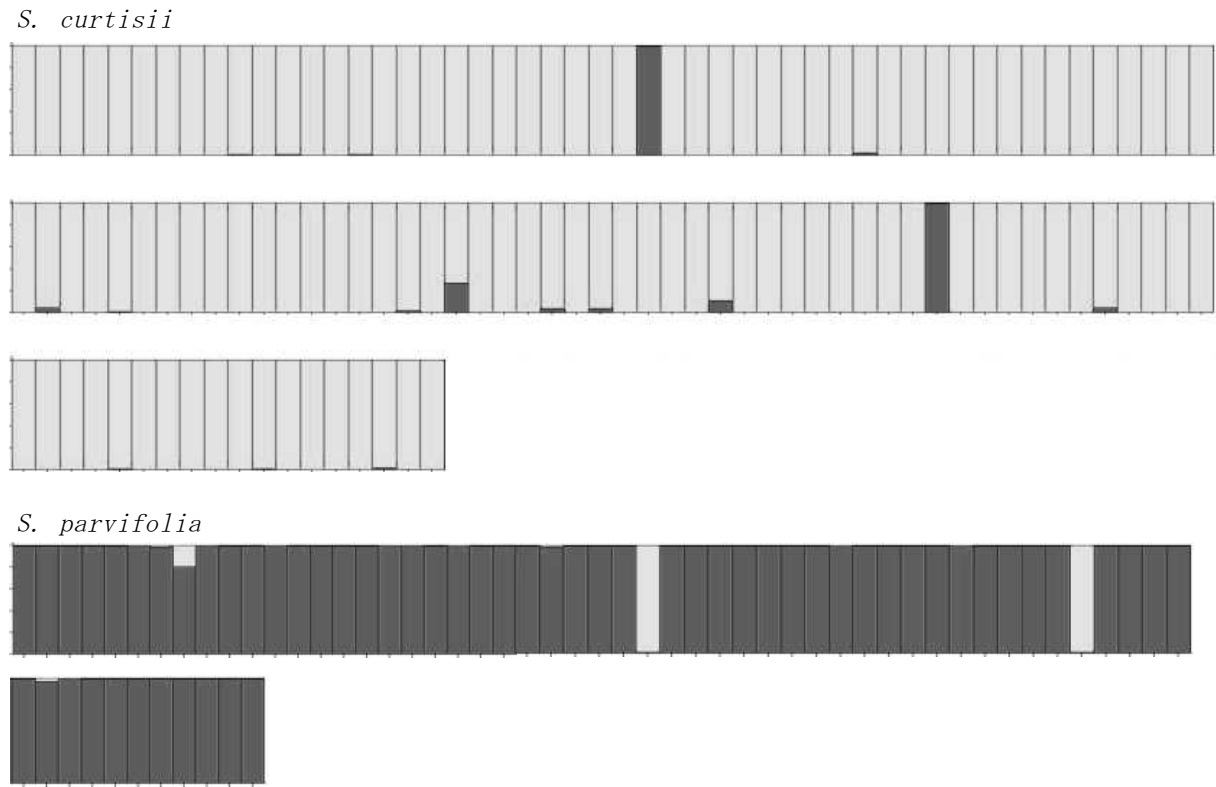


図(1)-9 マレーシア・ランビル国立公園に生育するショレア属3種の成木のクラスター解析の結果。1本のバーが1個体を示しており、遺伝的に異なるクラスターが違う色で示されている。

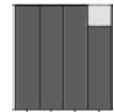


図(1)-10 ランビル国立公園内に作成した50×50m方形区に出現した*S. curtisii*および*S. parvifolia*稚樹の分布と親木個体の位置

稚樹集団(クラスター数 $K = 2$)



葉の形態から雑種と判断された個体



図(1)-11 マレーシア・ランビル国立公園に生育するショレア属3種の稚樹のクラスター解析の結果。1本のバーが1個体を示しており、遺伝的に異なるクラスターが違う色で示されている。

2) フタバガキ科稚樹の親子解析

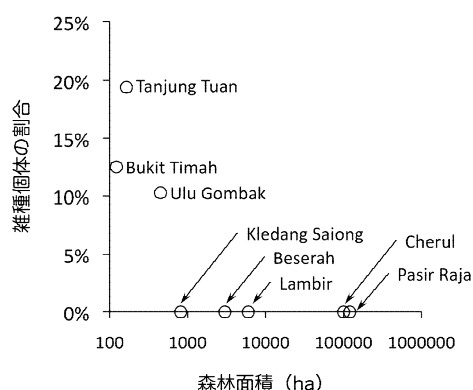
DNA配列およびマイクロサテライト解析によって、雑種個体が明確に判別できることがわかった。また、雑種個体は稔性を持ち、両親種と交配可能であることが示唆されたが、クラスター解析によって雑種F2や戻し交配個体を特定することは困難であった。そこで、ブキティマ・プロット2の稚樹を対象にマイクロサテライトデータを用いたプログラムCERVUSによる親子判定を行った。まず、稚樹の対立遺伝子と母樹の対立遺伝子との比較から各稚樹個体の種子親を特定した結果、355個体中、201個体の母樹候補が特定できた。これら201個体について花粉親を推定した結果、172個体の花粉親が特定できた（表(1)-3）。*S. leprosula* × *S. parvifolia* 雑種（BT2698）を種子親に持つ個体の内、32個体が自殖由来であったが、残りの10個体は*S. leprosula*、*S. parvifolia*のいずれかとの戻し交配由来であった。また、*S. curtisii*、*S. leprosula*のいずれかを種子親に持つ個体の内、54個体が雑種成木を花粉親に持つ稚樹であった。以上のことから、プロット2では、稔性のある雑種成木が自殖や親種との交配を行っており、その結果、雑種F2や戻し交配に由来する個体が高い割合で生じていることが明らかになった。

表(1)-3 フタバガキ科稚樹個体の親子解析の結果（ブキティマ・プロット2）。太字は雑種F2または戻し交配由来の個体数を示す。

母樹 個体番号	種	稚樹の 個体数	花粉親					
			<i>S. curtisii</i>	<i>S. leprosula</i>	<i>S. parvifolia</i>	Hybrid	Selfed	Unassigned
BT2527	<i>S. curtisii</i>	9	2 (0.222)	0 (0.000)	0 (0.000)	5 (0.556)	0 (0.000)	2 (0.222)
BT2707	<i>S. curtisii</i>	5	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	1 (0.200)	0 (0.000)	4 (0.800)
BT2705	<i>S. curtisii</i> × <i>S. leprosula</i>	3	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	1 (0.333)	0 (0.000)	2 (0.667)
BT2539	<i>S. leprosula</i>	65	0 (0.000)	21 (0.323)	0 (0.000)	42 (0.646)	0 (0.000)	2 (0.031)
BT2714	<i>S. leprosula</i>	61	0 (0.000)	42 (0.689)	0 (0.000)	3 (0.049)	5 (0.082)	11 (0.180)
BT2725	<i>S. leprosula</i>	5	0 (0.000)	2 (0.400)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	3 (0.600)
BT2733	<i>S. leprosula</i>	10	0 (0.000)	3 (0.300)	0 (0.000)	3 (0.300)	0 (0.000)	4 (0.400)
BT2698	<i>S. leprosula</i> × <i>S. parvifolia</i>	43	0 (0.000)	6 (0.140)	4 (0.093)	0 (0.000)	32 (0.744)	1 (0.023)

(4) 雑種形成と森林断片化の関係

森林面積と雑種個体の割合との関連を調べるために、ブキティマとランビル調査区に加え、マレー半島内6カ所の森林保護区で調査を行った。それぞれの保護区から対象種28-62個体を無作為に採集し、各個体の核DNA塩基配列データを用いて雑種個体を特定した。雑種個体が見つかったのはブキティマの他、森林面積が500ha以下のTanjung TuanとUlu Gombakの2カ所のみで、ランビルを含む1000ha以上の面積を持つ森林からは見つからなかった（図(1)-12）。Tanjung Tuanはマラッカ海峡に面した岬の先端に位置する隔離された森林で、Ulu Gombakはクアラルンプール近郊に位置する高速道路建設などによって分断化が進んだ森林である。これらの結果から、雑種化促進によるリスクは小面積かつ分断化の進行した森林で特に高いことが示唆された。



図(1)-12 森林面積と雑種個体の割合

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

これまで形態観察に頼っていた雑種個体の同定に対し、DNA解析を取り入れることにより、信頼性の高い判断が可能になった。その結果、雑種個体の割合は、森林面積が小さいほど高いことが明らかになった。また、雑種個体の割合は、一つの森林の中でも、局所的な種組成の違いによってばらつくことが示された。雑種個体は、実生から成木のさまざまな生育段階で見つかり、雑種は更新可能であることが明らかになった。さらに、マイクロサテライトデータの解析によって、雑種は交配可能であり、雑種と親個体の間で戻し交配が起きていることが示された。また、葉緑体DNAの配列情報から、雑種個体の両親種のどちらが種子親でどちらが花粉親かが判定できた。以上の結果から、熱帯林の分断化は、樹木の雑種化を促進することにより、森林の種組成や遺伝子組成、更新動態に影響を与える可能性が示された。

(2) 環境政策への貢献

森林ごとの雑種個体の割合や雑種が見られない森林面積についての具体的な数値データや、複数種が混生の程度により雑種形成の機会が変わる可能性を示したことは、森林の開発・保護・再生に関する政策や植林方法の立案に貢献できる。

6. 国際共同研究等の状況

本研究は、以下の研究・教育機関との共同研究により実施された。

サラワク州森林公社	Lucy Chong、Bibian Diway
シンガポール国立教育研究所	Shawn Lum、Kang Min Ngo、Nik Faizu
熱帯森林科学センター (CTFS)	Stuart Davies

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

< 論文 (査読あり) >

- 1) K. KAMIYA, Y. Y. GAN, S. LUM, M. S. KHOO, S. C. CHUA AND N. FAIZU: Tree Genetics &

Genome 7: 297- 306 (2011)

“ Morphological and molecular evidence of natural hybridization in *Shorea* (Dipterocarpaceae)”

- 2) K. KAMIYA, S. NANAMI, T. KENZO, R. YONEDA, B. DIWAY, L. CHONG, M. A. AZANI, N. M. MAJID, S. K. Y. LUM, K. M. WONG, K. HARADA: Biotropica (in press)

“Demographic history of *Shorea curtisii* (Dipterocarpaceae) inferred from chloroplast DNA sequence variations”

<査読付論文に準ずる成果発表> (「持続可能な社会・政策研究分野」の課題のみ記載可。)

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 上谷浩一：森林科学、第60号、p. 39 (2010)

森林樹木の進化プロセスをはかる一遺伝子系統樹からわかることー、シリーズ「森をはかる」

- 2) 上谷浩一：森林科学、第62号、pp. 3-7 (2011)

「特集遺伝子から読み解く森林ー 熱帯アジア産樹木の進化と生物多様性に関するDNA研究」

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) K. KAMIYA, S. LUM, K. HARADA : The 2010 annual international meeting of the Association for Tropical Biology and Conservation (ATBC), Bali Indonesia (2010)

「Hybridization in *Shorea* species and its consequences」

- 2) 名波哲、原田剛、松山周平、伊東明、SYLVESTER TAN、BIBIAN DIWAY、LUCY CHONG、山倉拓夫：日本生態学会第58回全国大会 (2011)

「サラワク州ランビルヒルズ国立公園における*Shorea*属樹種の遺伝構造と遺伝子流」

- 3) 上谷浩一、HENTI HENDALASTUTI、原田光、名波哲、田中憲蔵、米田令仁、BIBIAN DIWAY、LUCY CHONG、MOHAMAD AZANI ALIAS、NIK MUHAMAD MAJID、SHAWN LUM、WONG KHOON MENG : 第21回日本熱帯生態学会 (2011)

「セラヤ (*Shorea curtisii*) 地域集団の核DNA配列多型」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナーの開催(主催のもの)

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) LIESEBERG LH, CARNEY SE: Plant hybridization. *New Phytologist* 140, 599– 624 (1998)
- 2) LEVIN DA, FRANCISCO-ORTEGA J, JANSEN RK: Hybridization and the extinction of rare species. *Conservation Biology* 10, 10– 16 (1996)
- 3) MURRAY MG, THOMPSON WF: Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8, 4321– 4325 (1980)
- 4) SAMBROOK J, RUSSELL DW: *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001)
- 5) YAMAKURA T, ITOH A, OHKUBO T, OGINO K, CHAI EOK, LEE HS, ASHTON PS: Forest structure of a tropical rain forest at Lambir, Sarawak with special reference to the dependency of its physiognomic dimensions of topography. *Tropics* 6, 1– 18 (1995)
- 6) LEE HS, ASHTON PS, YAMAKURA T, TAN S, DAVIES SJ, ITOH A, CHAI EOK, OHKUBO T, LAFRANKIE JV: *The 52-Hectare Forest Research Plot at Lambir Hills, Sarawak, Malaysia: Tree Distribution Maps, Diameter Tables and Species Documentation*. Forest Department Sarawak & The Arnold Arboretum-CTFS Asia Program (2002)
- 7) UJINO T, KAWAHARA T, TSUMURA Y, NAGAMITSU T, YOSHIMARU H, RATNAM W: Development and polymorphism of simple sequence repeat DNA markers for *Shorea curtisii* and other Dipterocarpaceae species. *Heredity* 81, 422– 428 (1998).
- 8) LEE SL, TANI N, NG KKS, TSUMURA Y: Isolation and characterization of 20 microsatellite loci for an important tropical tree *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae) and their applicability to *S. parvifolia*. *Molecular Ecology Notes*, 4: 222– 225 (2004)
- 9) PRITCHARD JK, STEPHENS M, DONNELLY P: Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945– 959 (2000)
- 10) MARSHALL TC, SLATE J, KRUUK LEB, PEMBERTON JM: Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7, 639– 655 (1998)
- 11) ITOH A, OHKUBO T, NANAMI S, TAN S, YAMAKURA T: Comparison of statistical tests for habitat associations in tropical forests: A case study of sympatric dipterocarp trees in a Bornean forest. *Forest Ecology and Management* 259, 323– 332 (2010)

(2) 熱帯林断片化がフタバガキ科実生の定着過程に与える影響と雑種稚樹の生理生態特性の評価

高知大学教育研究部自然科学系

市榮 智明

<研究協力者>

高知大学農学部

則近 由貴

平成22～23年度累計予算額：13,352千円

(うち、平成23年度予算額：7,035千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨] シンガポールの長期間断片化された熱帯雨林において、優占種であるフタバガキ科樹種の中に多くの雑種個体が近年確認された。このサブテーマでは、雑種や親種稚樹の生理生態特性を調べ、それぞれの成長戦略や今後予想される環境変動に対する応答の違いを明らかにすることを目的とした。まず、シンガポールブキティマ自然保護区で採取し、DNA解析により確認した*Shorea leprosula*と*S. curtisii*、そして両種間の雑種(F1)のポット苗を用い、親種と雑種間での葉の形態や光合成・蒸散等の生理生態的特性の違いを調べた。その結果、*S. curtisii*は、*S. leprosula*に比べて厚く硬い葉を持ち、葉内窒素濃度や飽和光合成速度は低く、水利用効率は高い傾向を示した。逆に、*S. leprosula*は*S. curtisii*よりも柔らかく乾燥に弱い葉を持ち、葉内窒素濃度や光合成能力は高いが、低い水利用効率を示した。両親種の生態特性として、*S. leprosula*は、谷筋など斜面下部に分布し成長速度が速いが、*S. curtisii*は尾根部を中心に分布し、比較的成長速度が遅いことが知られている。本研究で得られた上記の形態的・生理的な特徴は、両種の生育地や成長速度などの生態的特性を明確に反映していた。一方、両種の雑種稚樹は、全ての測定項目で、両親種の間間的な形態的・生理的特性を示した。戻し交配による形態的な影響についても調査したところ、雑種F1世代の個体に比べて反復親の形質・機能が反映されることがわかった。また、灌水を止めて人工的に土壌を乾燥させる操作実験を行ったところ、*S. curtisii*や雑種は乾燥処理によって耐乾性を高め、光合成能力の低下を抑えていたのに対し、*S. leprosula*は他の種に比べて耐乾性が低く、乾燥処理によって光合成能力の低下が見られた。つまり、今後熱帯雨林の乾燥化や降水パターンが変化すれば、耐乾性の低い*S. leprosula*は生存確率が低下する恐れがあり、逆に耐乾性の高い*S. curtisii*や雑種は*S. leprosula*に置き換わる可能性があることが示唆された。

[キーワード] フタバガキ、雑種、飽和光合成速度、水利用効率、耐乾性

1. はじめに

東南アジア熱帯雨林ではフタバガキ科樹木が林冠構成種として優占している。中でも、*Shorea*属は種の多様性が高く、同所的に近縁種が多数生育するが、これまで近縁種間での雑種形成は稀

であると考えられてきた¹⁾。しかし近年、*Shorea*属のF1雑種がシンガポールの長期間断片化された林分で多数確認された。特に、個体群密度の低い*Shorea leprosula*や*S. parvifolia*では、成木の20%以上が雑種化していることが明らかになった²⁾。一般に、自然交雑による雑種個体は、多くの場合生育不良や低い環境適応能力を示し、さらに雑種第2代(F2)は不稔や死亡する確率が非常に高いため³⁾、雑種化はその種の絶滅を促進させる可能性もある。雑種個体を含めたフタバガキ科樹木の生理生態的特性やストレス耐性能力を評価し、熱帯雨林生態系の林分動態や炭素収支予測につなげていくことが求められている。

2. 研究開発目的

このサブテーマでは、フタバガキ科樹木の雑種や親種稚樹の特性、特に葉の形態や光合成・蒸散・水利用効率・耐乾性といった生理生態的特性の違いを明らかにし、それぞれの成長戦略や今後予想される環境変動に対する応答の違いを明らかにすることを目的とする。

3. 研究開発方法

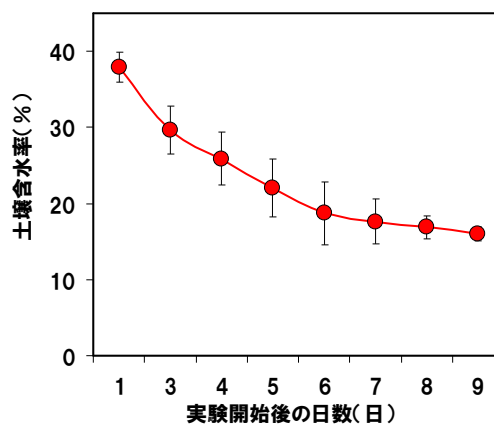
(1) フタバガキ科雑種と両親種稚樹の形態的・生理的特性の評価

測定には、DNA解析により確認した*Shorea leprosula*と*S. curtisii*と、その両種間の雑種(F1)を用いた。全ての測定個体はシンガポールブキティマ自然保護区で採取し、シンガポール国立教育研究所内の温室で育苗したポット苗である。2009年8月および2010年10月に雑種及び両親種それぞれ6~15個体程度を選び、成熟葉の光-光合成曲線とA/Ci曲線を携帯式光合成蒸散測定装置(Licor, LI-6400)で測定した。光合成の日中低下を防ぐために、測定は午前中に行った⁴⁾。また、測定に用いた葉を採取し、葉面積当りの葉重(LMA)や窒素濃度、葉厚、柵状組織厚、葉の硬度といった形態的特性についても計測を行った。窒素濃度の分析にはNCアナライザー(Sumigraph, NC-900)を、葉硬度の測定にはデジタルゲージ(Aikoh, RX-1)を用いた。

また、DNA解析により雑種と両親種との戻し交配であると確認された個体についても、2010年10月に成熟葉を採取し、葉面積当りの葉重(LMA)や葉厚、柵状組織厚、海綿状組織厚といった形態的特定について計測を行った。

(2) フタバガキ科雑種と両親種稚樹の耐乾性評価

DNA解析により確認した*Shorea curtisii*、*S. leprosula*、及びその雑種稚樹を用いて、灌水を遮断して人工的に土壌を乾燥させた状態を作り出し、各樹種の乾燥耐性能力に関する評価を行った。全ての測定個体は、ブキティマ自然保護区で採取し、シンガポール国立教育研究所内の温室で育苗したポット苗である。2011年9月に、十分灌水した状態の雑種及び両親種それぞれ4~10個体程度を選び、成熟葉の最大光合成・蒸散速度、気孔コンダクタンス、水利用効率、光化学系IIの最大光量子収率(Fv/Fm)、P-V曲線法による葉の水分特性を調べた。その後、ポット苗の土壌水分



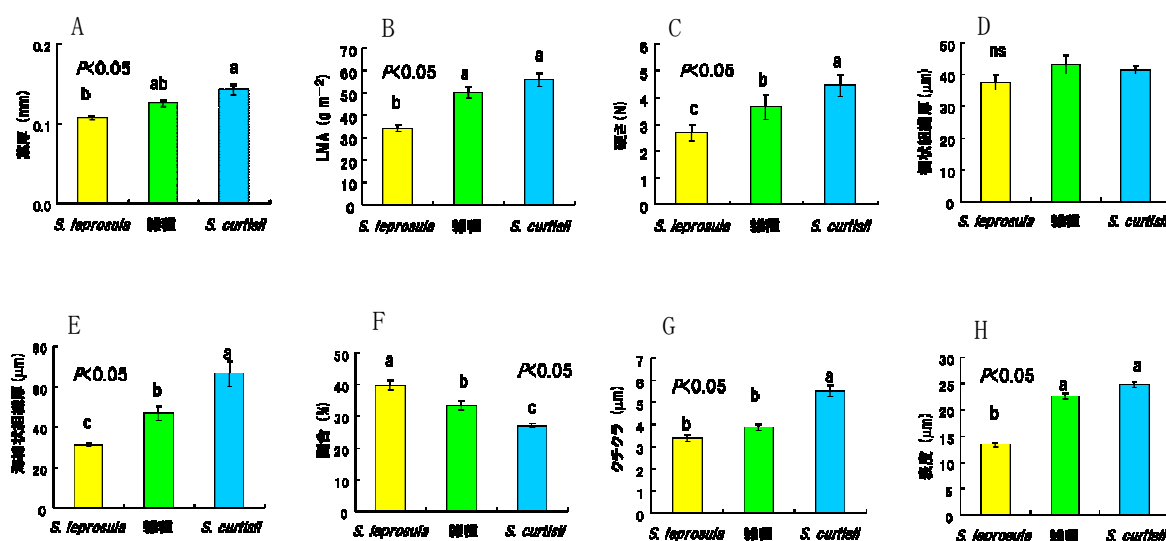
図(2)-1 実験開始後の土壌含水率の変化

含量が15%程度になるまで灌水を中止し（図(2)-1）、その後に同様の測定を行った。

4. 結果及び考察

(1) フタバガキ科雑種と親種稚樹の葉の形態的特性

葉厚や葉面積あたりの葉重(LMA)、葉の硬さは、いずれも*S. curtisii*で最も高い値を示し、雑種が中間程度、*S. leprosula*で最も低かった（図(2)-2-A, B, C）。柵状組織厚は両親種と雑種で有意な違いは見られないものの、海綿状組織厚は*S. curtisii*で有意に高い値を示し、雑種が中間程度、*S. leprosula*で最も低かった（図(2)-2-D, E）。その結果、葉厚に占める柵状組織の割合は、*S. leprosula*で有意に高く、雑種が中間、*S. curtisii*が最も低かった（図(2)-2-F）。



図(2)-2 雑種、*S. leprosula*、*S. curtisii*の葉の形態的特性：(A)葉厚、(B)LMA、(C)葉の硬さ、(D)柵状組織厚、(E)海綿状組織厚、(F)葉厚に占める柵状組織厚、(G)クチクラ厚、(H)葉の表皮厚

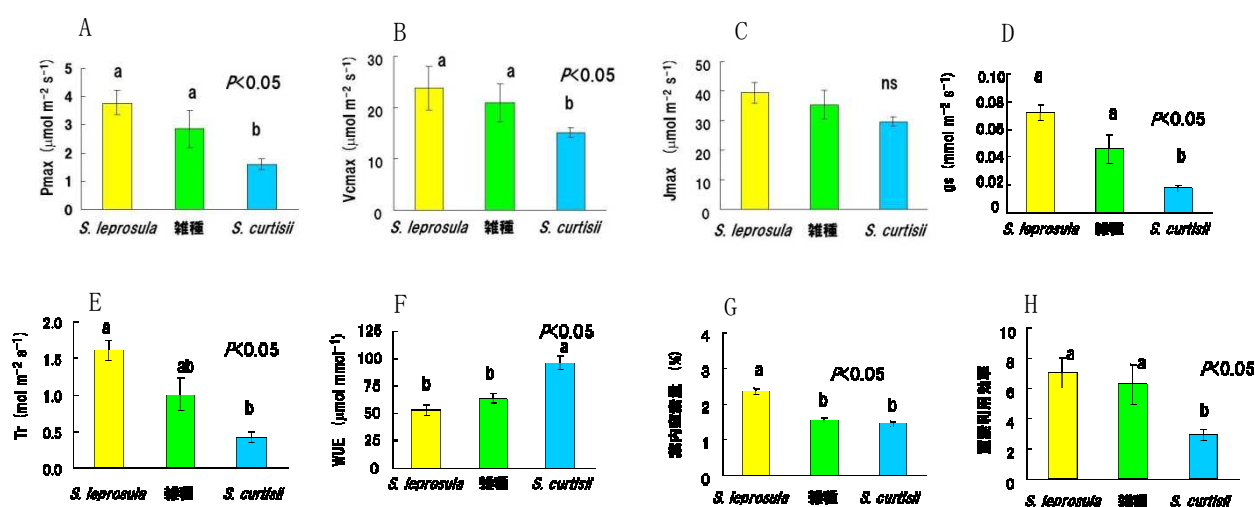
また、葉のクチクラ層や葉の表皮の厚さは、いずれも*S. curtisii*で有意に高く、雑種が中間、*S. leprosula*で最も低かった（図(2)-2-G, H）。これらの結果から、*S. leprosula*は光合成を行う中心組織となる柵状組織の割合が高く、光合成を行うのに有利な葉の形態を持っているものの、クチクラや表皮の厚さは*S. curtisii*に比べて半以下と、柔らかくて耐乾性に乏しい形態を持つと考えられた。逆に、*S. curtisii*は厚く硬い葉を持ち、クチクラ層や表皮が厚いことから、耐乾性に優れた葉を持つものの、柵状組織の割合が少ないことから、光合成には不利な葉の形態を持つと思われた。雑種は調査した葉の形態に関する全ての項目において、*S. leprosula*と*S. curtisii*の両親種の間間的な性質を示し、形態的には耐乾性や光合成能力とも、両親種の間間的な特性を持つと考えられた。これまでの生態学的研究により、*S. curtisii*は斜面上部の尾根筋に多く、*S. leprosula*は斜面下部の谷部に分布する傾向が報告されている⁵⁾⁶⁾。また*S. leprosula*は成長が早く、逆に*S. curtisii*は比較的成長が遅いことが知られている。今回得られた葉の形態的特性は、これら両親種の生育地や成長速度など、それぞれの生態的特性を明確に反映していたと言える。

(2) フタバガキ科雑種と親種稚樹の葉の生理的特性

飽和光合成速度は*S. leprosula*で最も高く、最も低かった*S. curtisii*に比べ約2倍高い値を示

した(図3-A)。雑種個体は両種の間mediate程度の値であった。最大カルボキシレーション効率、最大電子伝達速度、気孔コンダクタンス、蒸散速度、葉内室素量、光合成室素利用効率も同様で、*S. leprosula* > 雑種 > *S. curtisii*の順で高い値を示した(図(2)-3-B, C, D, E, G, H)。一方、葉の水利用効率だけは*S. curtisii*で最も高く、最も低い*S. leprosula*に比べて約2倍高い値を示し、ここでも

雑種は両親種の間mediate程度の値を示した(図(2)-3-F)。前述の通り、両親種の生態特性として、*S. leprosula*は谷筋など斜面下部に分布し成長速度が速く、逆に*S. curtisii*は尾根部を中心に分布し、比較的成長速度が遅いことが知られている⁵⁾⁶⁾。生理的な観点からも、本研究で得られた結果は、両種の生育地や成長速度などの生態的特性を明確に反映していると思われる。つまり、*S. leprosula*は高い室素濃度により、高い光合成速度を実現し、これが高い成長速度の一因になっていることが考えられる。その一方で、*S. leprosula*は谷筋や斜面下部の湿った環境に分布するために、柔らかく乾燥に弱い葉を持ち、水利用効率も低い値を示すのだと思われる。逆に、*S. curtisii*は、*S. leprosula*や雑種個体に比べ、葉の水利用効率が高く、厚く硬い葉を持つため、尾根部の乾燥した環境に有利であると考えられた。しかし、室素濃度や光合成濃度が*S. leprosula*に比べると低いために、比較的成長速度は低いと思われる。雑種個体の光合成能力や水利用効率などの特性は、両親種とほぼ中間的な特徴を持っていたことから、生育適地や生態特性も両親種とほぼ中間的な位置にあると考えられた。

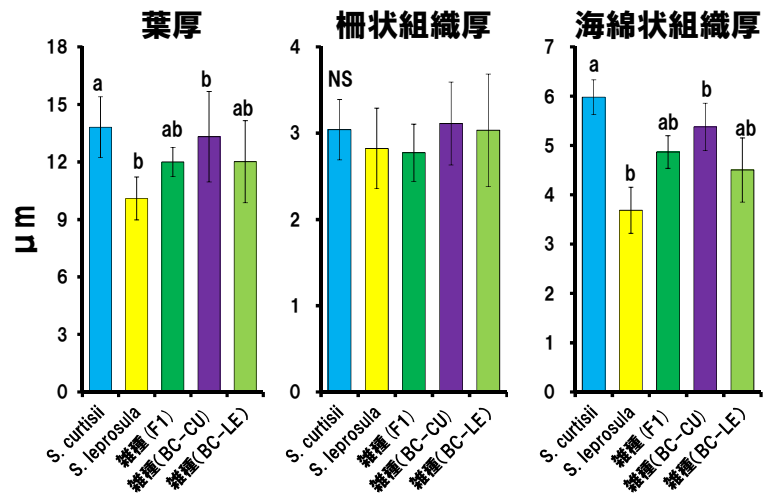


図(2)-3 雑種、*S. leprosula*、*S. curtisii*の葉の生理的特性：(A)飽和光合成速度、(B)最大カルボキシレーション効率、(C)最大電子伝達速度、(D)気孔コンダクタンス、(E)蒸散速度、(F)水利用効率、(G)葉内室素量、(H)光合成室素利用効率

(3) フタバガキ科雑種と両親種の戻し交配個体の形態的特性

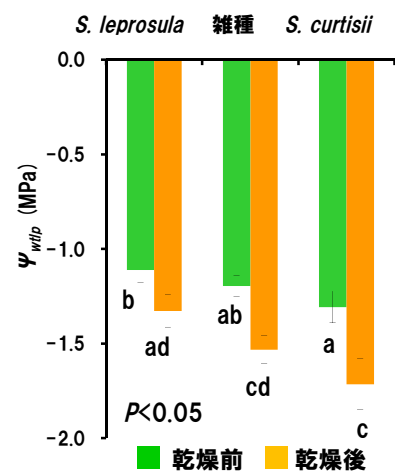
雑種個体と両親種との戻し交配個体の葉の形態は、反復親の形質・機能が反映される傾向にあった(図(2)-4)。反復親が*S. curtisii*である個体は、F1雑種に比べて葉や海綿状組織が厚くなるなど、葉の水分保持能力に関係する形質の向上が見られた。一方、反復親が*S. leprosula*である個体はF1雑種に比べて葉厚は変化しないが、柵状組織厚が若干増加し、海綿状組織厚は逆に低下するなど、光合成機能に関係する形質が向上する傾向を示した。ブキティマ保護林においては、

個体密度の低い*S. leprosula*に比べ、森林の優占種である*S. curtisii*の個体密度が圧倒的に高いため、雑種個体は今後*S. curtisii*と戻し交配を行う可能性が高い。そのため、繰返し戻し交配が行われれば、雑種個体は形態的にも*S. curtisii*に近づいていくことが考えられた。

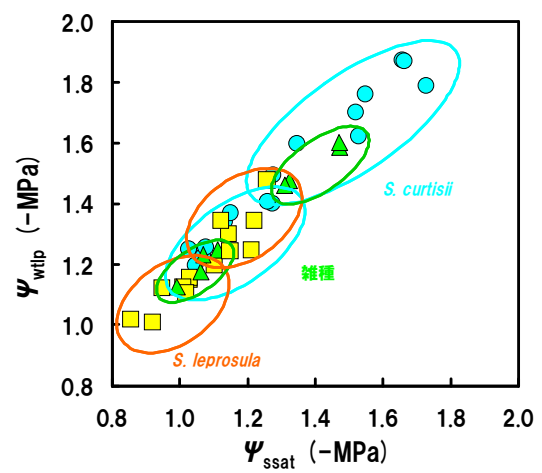


図(2)-4 雑種、*S. leprosula*、*S. curtisii*の葉の形態的特性
(4) フタバガキ科雑種と両親種稚樹の耐乾性

灌水を止めて人工的に土壌を乾燥させる操作実験を行ったところ、葉の耐乾性の指標となるしおれ点での葉の水ポテンシャル (ψ_{wtp}) は、実験前に比べいずれの樹種でも有意に低下し、乾燥に対して耐乾性を向上させていた (図(2)-5)。特に*S. curtisii*は実験前に比べてしおれ点での葉の水ポテンシャルの低下の度合いが大きく、高い耐乾性を持つことがわかった。また、しおれ点の水ポテンシャル (ψ_{wtp}) は、浸透ポテンシャル (ψ_{ssat}) と有意な正の相関関係を示した (図(2)-6)。



図(2)-5 しおれ点での葉の水ポテンシャル

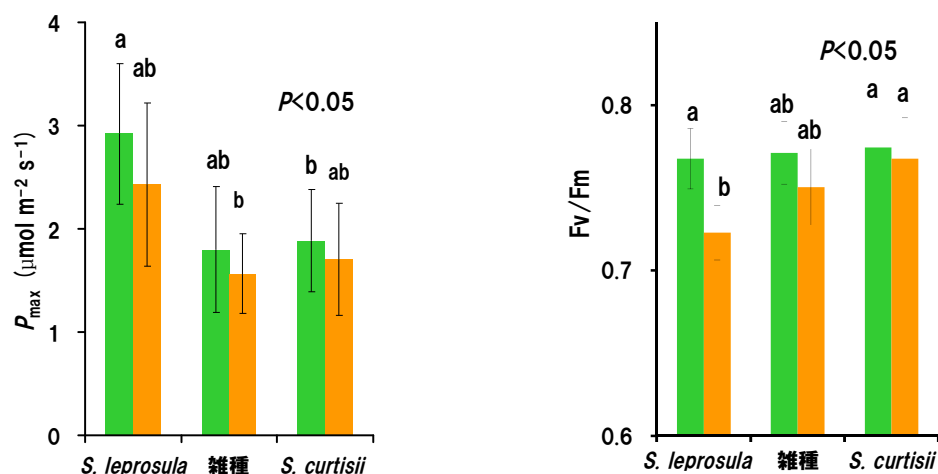


図(2)-6 しおれ点の水ポテンシャル (ψ_{wtp}) と浸透ポテンシャル (ψ_{ssar}) の関係

このことは、葉内の浸透ポテンシャルの低下、つまり溶液の濃度増加による吸水能力の増大が、葉の耐乾性の向上に直接的に影響していることを示している。そして、耐乾性は*S. leprosula* <

雑種 < *S. curtisii* の順で高くなることがわかった。

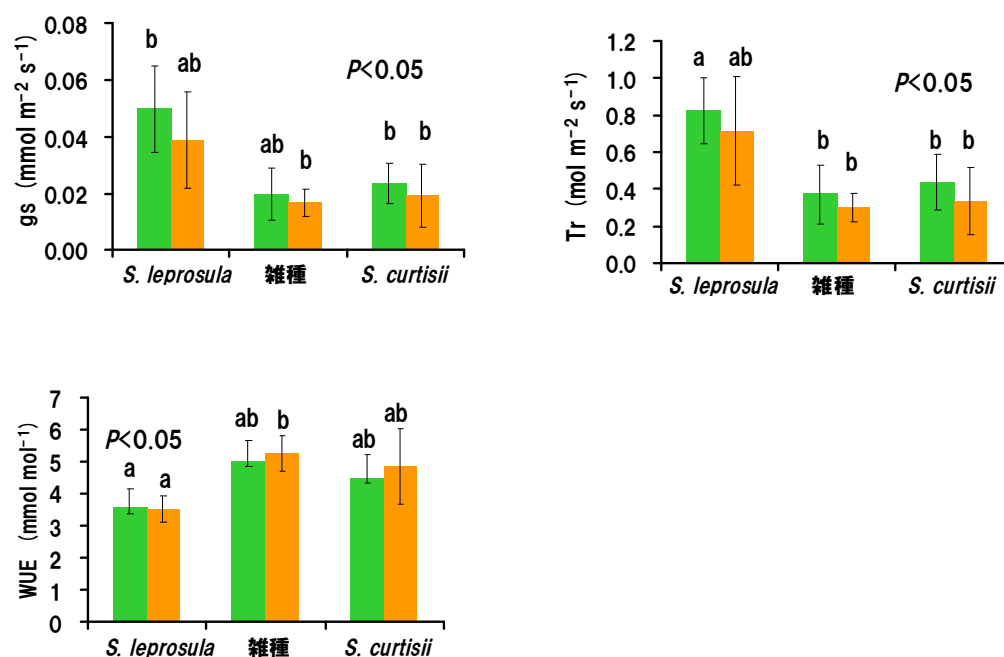
光合成能力の指標となる、最大光合成速度や光化学系Ⅱの最大光量子収率 (F_v/F_m) は、実験前後でいずれの樹種でも低下が見られたが、その度合いは樹種間で異なっていた。*S. leprosula* では、最大光合成速度は乾燥試験前後で個体間のばらつきが大きく、有意差が見られなかったものの、 F_v/F_m では有意な低下が見られた (図(2)-7)。つまり、乾燥に対して *S. leprosula* は光合成



図(2)-7 最大光合成速度 (P_{max}) と光化学系Ⅱの最大光量子収率 (F_v/F_m)

機能が明瞭に低下することがわかった。一方、*S. curtisii* は、乾燥実験前後で最大光合成速度や F_v/F_m の値はほとんど変化せず、乾燥に対して光合成機能を低下させずに維持できていることが考えられた。雑種個体は、*S. leprosula* と *S. curtisii* の中間程度の機能低下を示した。

水利用特性の指標となる、気孔コンダクタンスや蒸散速度、水利用効率も、乾燥実験前後で同種での有意な変化は認められなかったものの、樹種間で応答に違いが見られた (図(2)-8)。*S. leprosula* は乾燥に対して水利用効率を変えずに高い蒸散速度を維持していたのに対し、*S. curtisii* や雑種は乾燥に対して水利用効率を高めて対応している傾向が見られた。雑種や *S. curtisii* に比べて耐乾性が低いと考えられる *S. leprosula* が乾燥試験終了時にも最も高い気孔コンダクタンスや蒸散速度を示したことから、この樹種は水ストレスの増大に対して鈍感な反応を示し、通水不全ぎりぎりまで気孔を開くような、anisohydric 種と呼ばれるタイプの水利用を行っていることが予想される⁷⁾。一方、形態的・生理的にも高い耐乾性を持つと思われる *S. curtisii* は、乾燥に対して敏感に反応し、気孔を閉じ気味にして蒸散能力が低くし、水利用効率を高める isohydric 種と呼ばれるタイプの水利用を行っていると考えられた。雑種個体は、*S. curtisii* に近い水利用を示し、乾燥に対しても水利用効率を高めて応答することが可能であると予想される。anisohydric 種は、これまで一年中湿潤多雨であった東南アジア熱帯雨林の環境に適応した水利用を行っていると考えられるが、今後熱帯雨林地域の降水量変動やエルニーニョ現象の頻度・強度が増加した場合、これらの樹種は大量枯死する可能性があることが指摘されている⁷⁾。



図(2)-8 乾燥時の水利用特性の変化：気孔コンダクタンス (gs)、蒸散速度 (Tr)、水利用効率 (WUE)

(5) まとめ

本研究で得られた全ての結果は、各樹種の森林内での分布特性を明確に反映していると思われる。つまり、谷部に生育し、成長速度の速い *S. leprosula* は、耐乾性が低く、乾燥時に光合成系の機能が低下するものの、高い光合成・蒸散速度を維持し、水利用効率も低いままであり、強度乾燥時には死亡確率が増大する恐れがある。一方、尾根に分布し、成長速度が遅い *S. curtisii* や、両親種の間環境に分布し、成長速度も中間程度の雑種は、乾燥時に耐乾性や水利用効率を高め、光合成や蒸散能力の低下の度合いも低く、乾燥に対する適応能力も高いと考えられる。この結果から、今後熱帯雨林の乾燥化や降水パターンが変化すれば、耐乾性の低い *S. leprosula* は生存確率が低下する恐れがあり、逆に耐乾性の高い *S. curtisii* や雑種は *S. leprosula* と置き換わって分布を拡大させる可能性があることが示唆された。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究は、詳細な測定調査によってフタバガキ科雑種の生理生態特性を明らかにした初めての実証研究である。熱帯の木本雑種の形態や生理能力を評価した研究事態が極端に少なく、学術的に重要な意義が高い。東南アジアの熱帯林で優占するフタバガキ科樹種について、その雑種や親種の光合成や蒸散能力、耐乾性を明らかにすることは、熱帯林の炭素・水循環を評価するための基礎データとしての貢献も期待できる。

(2) 環境政策への貢献

本研究から得られた成果や情報については、プレスリリース等で社会一般に広く情報発信す

ることに努める。フタバガキ科の雑種稚樹が両親種の中間的な形態的・生理的特性を示した点や、フタバガキ科の雑種や親種間で乾燥に対する応答が明確に異なっていることを明らかにした点、さらに戻し交配個体が反復親の形態的・生理的特性を示すことを明らかにした点は、雑種個体の分布特性や環境適応能力を評価する上で重要な知見であり今後の東南アジア熱帯雨林の雑種化の進行を予測し、適切な森林管理を行うための重要な基礎データとなる。今後は、これらの成果を国際学術誌（Tree Physiology, Journal of Tropical Ecology, Ecology等）、国内・国際学会（日本生態学会、日本森林学会、日本熱帯生態学会、Association of Tropical Biology and Conservation）などを通し、専門的な科学コミュニティへの広報普及にも努め、最終的にREDD政策や生物多様性保全技術への反映、またIPCC報告書への貢献等を目指していく。

6. 国際共同研究等の状況

カウンターパート Shawn K. Y. Lum・シンガポール国立教育研究所・シンガポール

参加・連携状況：カウンターパートを通じ、シンガポール公園庁へのブキティマ自然保護区での調査許可の申請、現地調査の際の研究協力、実験・調査施設の提供、研究打ち合わせ等を行った。

7. 研究成果の発表状況

（1）誌上発表

＜論文（査読あり）＞

- 1) T. ICHIE and M. NAKAGAWA: Ecological Research (in press)
“Dynamics of mineral nutrient storage for mast reproduction in the tropical emergent tree *Dryobalanops aromatica*.”
- 2) T. HIROMI, T. ICHIE, T. KENZO and I. NINOMIYA: Journal of Forest Research (in press)
“Interspecific variation in leaf water use associated with drought tolerance in four emergent dipterocarp species of a tropical rain forest in Borneo”

＜その他誌上発表（査読なし）＞

- 1) 依光良三、鈴木堯士編：森の物語ー持続可能な森づくり、高知新聞社、35-53. (2010)
「第2章 熱帯雨林から見た地球環境（執筆担当：市栄智明）」

（2）口頭発表（学会等）

- 1) 田中憲蔵、市栄智明、上谷浩一、Shawn Lum：第20回日本熱帯生態学会大会（2010）
「シンガポール断片化林におけるフタバガキ科雑種苗の光合成特性」
- 2) T. ICHIE and M. NAKAGAWA: The 2010 International meeting of the Association for Tropical Biology and Conservation, Bali. Indonesia, 2010.
“Resource allocation to reproduction in a tropical emergent tree species, *Dryobalanops aromatica*”
- 3) Y. INOUE, T. KENZO and T. ICHIE: The 2010 International meeting of the Association for Tropical Biology and Conservation, Bali. Indonesia, 2010.

“Water use characteristics of homobaric and heterobaric leaf species”

- 4) A. YONEYAMA and T. ICHIE : The 2010 International meeting of the Association for Tropical Biology and Conservation, Bali. Indonesia, 2010.

“Relationship between leaf flushing phenology and defensive traits in canopy trees of five dipterocarp species in a tropical rain forest”

- 5) T. KENZO and T. ICHIE : XXIII IUFRO World Congress, Seoul. Korea, 2010.

“Comparison of allometric relationships for accurate estimation of forest biomass in tropical secondary forest in Malaysia” The International Forestry Review 12:76

- 6) 田中憲蔵、米田令仁、佐野真琴、上谷浩一、名波哲、Shawn Lum、則近由貴、市栄智明：第122回日本森林学会（2011）

「シンガポールの断片化された熱帯林におけるフタバガキ雑種稚樹の分布」

- 7) 田中憲蔵、米田令仁、佐野真琴、上谷浩一、名波哲、Shawn Lum、則近由貴、市栄智明：第21回日本熱帯生態学会（2011）

「シンガポールの断片化熱帯林におけるフタバガキ科雑種稚樹の生育環境」

- 8) 市栄智明、宮本幸、井上裕太：第21回日本熱帯生体学会

「フタバガキ科林冠構成種の葉の形態に及ぼす光環境や生育段階の影響」

- 9) Y. INOUE, T. KENZO and T. ICHIE: Tropical Tree Response to Climate Change. FRIM, Malaysia, 2012.

“Leaf water use and xylem characteristics of canopy trees of Dipterocarpaceae in a tropical rain forest”

（３）出願特許

特に記載すべき事項はない

（４）シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

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) P. S. Ashton: Dipterocarpaceae. Flora Malesiana 9:237-552 (1982)
- 2) K. Kamiya, Y. Y. Gan, S. K. Y. Lum, M. S. Khoo, S. C. Chua and N. N. H. Faizu: Morphological and molecular evidence of natural hybridization in *Shorea* (Dipterocarpaceae). Tree Genetics & Genomes 7:297-306 (2011)
- 3) K. M. Hufford and S. J. Mazer: Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of

- ecological restoration. *Trends in Ecology & Evolution* 18:147-155 (2003)
- 4) 広見徹・二宮生夫・小池孝良・荻野和彦: サラワク熱帯雨林におけるフタバガキ科林冠構成種の不均一な気孔開閉による蒸散速度の調節. *日本生態学会誌* 49:83-90 (1999)
 - 5) C. F. Symington: *Malayan Forest Records* 16, Foresters' manual of dipterocarps. (Second edition, revised by P. S. Ashton and S. Appanah). 519 pp (2004)
 - 6) I. M. Turner: The seedling survivorship and growth of three *Shorea* species in a Malaysian tropical rain-forest. *Journal of Tropical Ecology* 6:469-478 (1990)
 - 7) T. Kumagai and A. Porporato: Strategies of a Bornean tropical rainforest water use as a function of rainfall regime: isohydric or anisohydric? *Plant, Cell and Environment*, 35:61-71 (2012)

(3) 熱帯林断片化による林分動態予測と炭素収支の評価

(独) 森林総合研究所

国際連携推進拠点 国際森林情報推進室

田中憲蔵

平成22～23年度累計予算額：4, 501千円

(うち、平成23年度予算額：1, 901千円)

予算額は、間接経費を含む。

〔要旨〕 東南アジアでは熱帯林断片化により、優占種であるフタバガキ科樹木の雑種化が危惧されているが、雑種化による炭素蓄積や森林動態への影響についてこれまで科学的知見は無く、その影響評価が急務である。このサブテーマでは、長期間断片化されたブキティマ保護林における雑種と親種の稚樹の定着環境、雑種個体群の現状と将来予測を行うことを目的に以下の調査を行った。まず、稚樹の定着環境を調べるため、保護林内の尾根、斜面、谷の3ヶ所に50m×50mのプロットを作成し、出現稚樹のサイズや、光・土壌水分・土性等の環境因子についてモニタリングを行った。その結果、雑種稚樹は斜面上部に分布する *S. curtisii* と下部に分布する *S. leprosula* の中間的な斜面に多く出現した。雑種の稚樹は、乾燥した場所に出現する *S. curtisii* と湿った環境に出現する *S. leprosula* の中間的な土壌水分環境に多かった。光環境では、雑種の稚樹は暗い環境に多い *S. curtisii* に比べ、*S. leprosula* と同等程度の比較的明るい環境に多く出現した。次にブキティマ保護区全域(164ha)での胸高直径30cm以上の成木データと2haの長期モニタリング調査区のデータから、雑種成木の成長量は *S. leprosula* と同等程度で *S. curtisii* より大きいことが分かった。また、保護区内の最も発達した林分に設置されている2haの毎木調査区の、過去15年間の胸高直径1cm以上の地上部バイオマス量の変化を解析したところ、1993年に地上部バイオマスが500t/haあったものが、2008年には500t/ha弱に約30t/ha減少していた。樹種別に見ると、*S. curtisii* ではバイオマス量が40 t/ha増加したが、*S. leprosula* は20 t/ha減少した。雑種に関してはほぼ横ばいであった。最後に、マトリックスモデルを用いて雑種化と乾燥化による影響が林分動態に与える影響を100年後まで予測したところ、特に *S. leprosula* の個体群が減少する危険性が明らかになった。

〔キーワード〕 炭素貯蔵、熱帯林、断片化、雑種化、フタバガキ

1. はじめに

熱帯林は巨大なバイオマスを持つために、地球上の森林生態系の中でも重要な炭素貯蔵機能を持つと考えられている¹⁾。特に、東南アジアの熱帯林は世界の熱帯林の中でも樹高が高く、単位面積当たりの炭素貯留量も大きいことが知られている。東南アジア熱帯林では、フタバガキ科樹木が林冠構成種として優占し、炭素貯蔵機能の大部分を担っている。また、このグループの樹木は、主要な合板材として国際的に取引され、重要な木材資源となっている¹⁾。フタバガキ科樹木の種多様性も高く、主要グループである *Shorea* 属だけでも200種近くが半島マレーシアやボルネオ島を中

心とする東南アジアに分布している^{2,3)}。

フタバガキ科樹木は同所的に近縁種が多数生育しているが、これまで種間雑種の形成は稀であると考えられていた。実際、マレーシアの天然林では種間雑種の形成は非常に稀であることが報告されている²⁾。しかし、最近になってシンガポールの長期断片化林で*Shorea*属のF1雑種の存在が遺伝的に確認され、さらに、個体数の少ない*Shorea leprosula*や*S. parvifolia*では成木の20%以上が雑種化していることが明らかになった⁴⁾。樹木種では人工交配によるF1雑種が雑種強勢を示し、成長速度が良くなることもあるが、自然交雑により雑種化した樹木では、成長速度の低下や枯死率の上昇が観察されることも多く^{5,6)}、東南アジア熱帯林の優占種であるフタバガキ科樹木が雑種化した場合には森林の動態や炭素固定能力に与える影響が大きいと考えられる。しかし、フタバガキ科樹木の雑種化による炭素蓄積や森林動態への影響についてこれまで科学的知見は無く、その影響評価が急務である。

2. 研究開発目的

このサブテーマでは、(1) 雑種化の進行を予測する上で不可欠な雑種と親種 (*Shorea curtisii* と *S. leprosula*) 稚樹の林内での分布特性や定着環境の解明を目指す。これまでの研究で、いくつかのフタバガキ科樹木の成木が地形に依存して分布していることが明らかになっており^{6,7)}、この研究でも地形や土壌・光環境など物理的な環境因子と稚樹の分布パターンの関連について調査し、雑種が定着する環境を両親種との比較から明らかにする。(2) 次に、長期間断片化されたシンガポールのブキティマ保護林における雑種化の進行を予測する上で不可欠な雑種 (*Shorea curtisii* × *S. leprosula*) と親種 (*Shorea curtisii* と *S. leprosula*) の稚樹から成木にいたるまでのサイズ分布、成長量、枯死率など森林動態に関係するパラメータを推定する。(3) 最後に、得られた森林動態に関係するパラメータや、サブテーマ(1)、(2)から明らかになった雑種と両親種の雑種化率や生理生態特性を取り入れた森林動態モデルの作成を行い、炭素固定機能に与える影響を評価する。

3. 研究開発方法

調査はシンガポールのブキティマ自然保護区(164ha)で行った(図(3)-1)。保護区は周囲を住宅地や道路に囲まれた孤立林で、150年以上断片化された状態にあることが分かっている⁸⁾。この地域は熱帯湿潤気候に属し、年降水量は約2400mmで明確な雨季乾季はない⁸⁾。保護林の大部分は*Shorea*属や*Dipterocarpus*属などフタバガキ科樹木が優占する林分となっており、林内にはこれらの稚樹が生育している。樹高も高く、林冠木には40mに達する個体も見られる。

林内に生育している稚樹の葉の形態とDNA解析により、*Shorea leprosula* × *S. curtisii*、*S. leprosula* × *S. parvifolia*、*S. curtisii* × *S. parvifolia*間のF1雑種を確認した。*S. leprosula* × *S. parvifolia*、*S. curtisii* × *S. parvifolia*間のF1雑種の稚樹がほとんど見られなかったことから、*Shorea leprosula* × *S. curtisii*のF1雑種稚樹を対象とした。



図(3)-1 航空写真によるブキティマ自然保護区の断片化の現状

また、親種である *S. leprosula* と *S. curtisii* の稚樹も調査に用いた。

稚樹の定着環境を調べるため、保護林内の尾根、斜面、谷の3ヶ所に50m×50mのプロットを作成し、10m×10mのサブプロットに分割後、地形測量を行った。プロット内に出現した対象樹種の稚樹の位置情報を記録し、地際直径と樹高を測定した。稚樹の枯死率、成長量など森林動態に関する稚樹段階のパラメータを推定するために、稚樹のモニタリングを半年から1年間隔で追跡した。また、稚樹の生育場所の光、土壌水分、土性等の環境因子についてモニタリングを行った。土壌水分環境については土壌水分計 (SM-200, Delta-T) を用い、全個体の根元で午前中に測定を行なった。光環境は、10m×10mのサブプロットの格子点とサブプロット中央で魚眼レンズつきカメラ (Coolpix5400, FC-E9, Nikon) を用いて全天空写真を撮影し推定した。全天空写真の撮影はハレーションを避けるため曇天日に行った。全天空写真の測定後、画像解析ソフトCanopOn2 (<http://takenaka-akio.cool.ne.jp/etc/canopon2/>) で林冠開空度と散乱光透過率を推定した。土性についても光環境と同じ地点で、砂、シルト、粘土の含有量を簡易測定キットで測定した (LaMotte Soil Texture Unit)。各稚樹個体の光と土性環境の推定にはArcGISを用い、環境因子の測定点からの距離に重み付けをする方法で推定した⁹⁾。

次にブキティマ自然保護区全域 (164ha) における胸高直径30cm以上の全個体の胸高直径のデータベースを活用し、雑種のサイズ分布と雑種と親種 (*S. leprosula* と *S. curtisii*) が占める地上部バイオマスを計算した。また、2008年の測定データに加え2011年には雑種と *S. leprosula* の成木の全個体の再測定を行い、枯死率や成長量など、森林動態に係る母樹段階のパラメータを推定した。ブキティマ全域に生育する胸高直径30cm以上の全個体と *Shorea* 属の地上部バイオマスも推定した。地上部バイオマスの計算には、ボルネオ島のフタバガキ林で得られた相対成長式を用い、胸高直径から推定した¹⁰⁾。また、保護林内に設置された2ha調査区の胸高直径の毎木調査データから、雑種と親種の年平均の直径成長量を計算した。また過去15年間の毎木調査プロット (胸高直径1cm以上、2ha) のデータを用いて幼木段階の森林動態に関するパラメータを推定した。

各樹種の稚樹ステージ (DBH1cm未満)、幼木ステージ (DBH1-30cm)、成木ステージ (DBH30cm以上) の成長パラメータからマトリックスモデルを作り^{10, 11)}、現状のパラメータを用いた場合と、稚樹の雑種化率が *S. curtisii* で1%、*S. leprosula* で30%に上昇した場合の100年後までの個体数の増減の変化予測を行った。さらに、サブテーマ (2) の結果から乾燥耐性が最も低いと判断された *S. leprosula* について、今後危惧される熱帯林の乾燥化を考慮し、雑種化率の上昇に加え、乾燥イベントによる *S. leprosula* の稚樹や幼木段階の枯死率の上昇を加味した将来予測を行った。この予測では初期の設定として、①稚樹段階の枯死率が15年と50年間隔でそれぞれ50%、90%に上昇した場合と、②稚樹と幼木の枯死率が常に30%、10%それぞれ上昇した場合の個体数の変化を評価した。また、1993年から2008年までの過去15年間の毎木調査区 (2ha) の結果から、雑種と両親種の地上部バイオマス蓄積量の変動について解析を行い、炭素固定機能の変化を推定し、モデルで求めた動態予測との比較を行った。

4. 結果及び考察

(1) フタバガキ雑種稚樹の分布と環境因子の関係

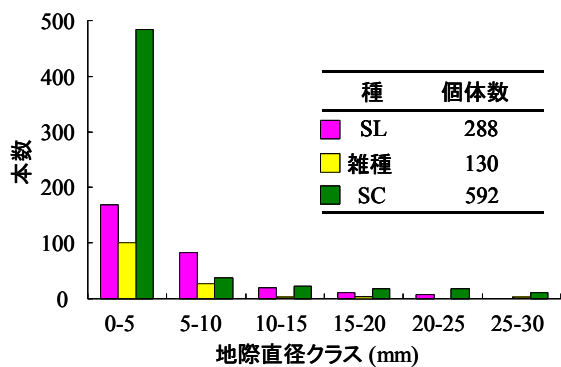
ブキティマ保護林内に設置した尾根、斜面、谷の3プロットで、雑種、*S. curtisii*、*S. leprosula* の稚樹が合わせて約1000個体出現した (表 (3)-1)。3プロットに生育していた雑種と両親種の稚

樹の地際直径のサイズ分布を比較したところ、良く似た傾向を示し、小さいサイズで個体数が多くなるL字型分布をすることが分かった（図(3)-2）。

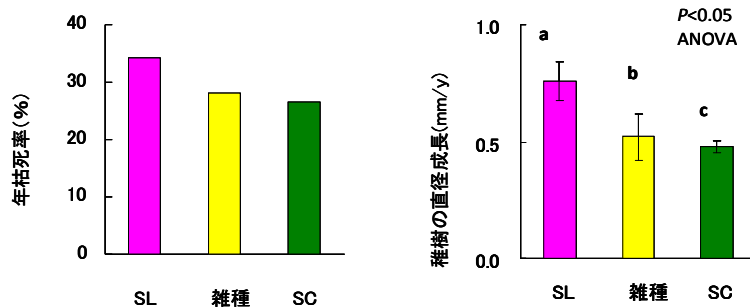
表(3)-1 プロットに出現した樹種別の稚樹の本数

Plot1は斜面、Plot2は谷、Plot3は尾根に立地する

Plot1			Plot 2			Plot3		
	個体数	割合%		個体数	割合%		個体数	割合%
雑種	12	13.6	雑種	111	28.9	雑種	7	1.3
SL	37	42.0	SL	243	63.3	SL	8	1.5
SC	39	44.3	SC	30	7.8	SC	523	97.2



図(3)-2 雑種、*S. leprosula*(SL)、*S. curtisii*(SC)の地際直径クラスの分布

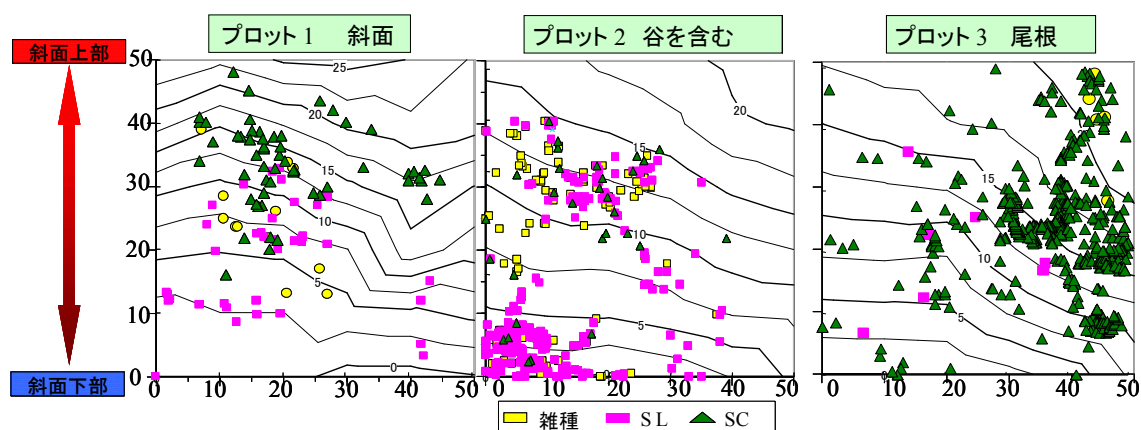


図(3)-3 雑種と両親種稚樹の枯死率

図(3)-4 雑種と両親種稚樹の年直径成長量

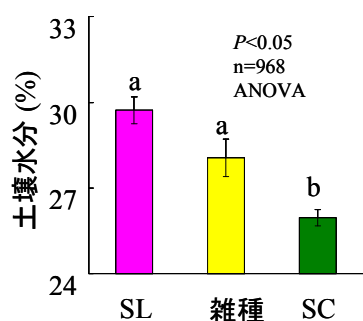
次に、1年間の稚樹のモニタリングから稚樹の枯死率と成長速度を比較したところ、明確な種間差が見られた。稚樹の枯死率は、*Shorea curtisii*で最も低く、*S. leprosula*で最も高かった。雑種稚樹の枯死率は両者の中間程度であった（図(3)-3）。稚樹の地際直径の成長速度は、*S. leprosula*で有意に高く、雑種、*S. curtisii*の順に低くなった（図(3)-4）。過去の研究からも*S. leprosula*は*Shorea*属の中でも成長が最も早いことが分かっており、今回の結果と矛盾しなかった¹²⁾。

雑種稚樹の全稚樹に占める割合はプロットごとに大きくばらついた。*S. curtisii*の母樹が高密度で存在する尾根部に設置したプロットでは、雑種稚樹は全稚樹中わずか1%だったが、*S. leprosula*の母樹が多い斜面に設置したプロットでは14%、谷部では29%と高い値を示した（表(3)-1）。また、同じプロット内でも各樹種の分布に偏りが見られた（図(3)-5）。特に斜面や谷に設置したプロットでは、*S. curtisii*は斜面上部に多く出現する傾向が見られ、*S. leprosula*は斜面の下部に分布する傾向が見られた。これまで半島マレーシアを中心に行われた研究からも、*S. curtisii*は斜面上部の特に尾根筋に多く出現し、*S. leprosula*は斜面の下部に分布する傾向が報告されており、今回の結果と矛盾しなかった^{3,7,9)}。雑種の稚樹については、両親種稚樹の分布の中間的な斜面中部に多く出現した。当保護林の胸高直径30cm以上の成木の雑種の分布を調べたところ、*S. curtisii*と*S. leprosula*の分布が重なり合う斜面に多く出現しており⁴⁾、雑種稚樹の分布は雑種成木の分布と似た傾向があると考えられた。



図(3)-5 雑種稚樹と両親種の地形に依存した分布

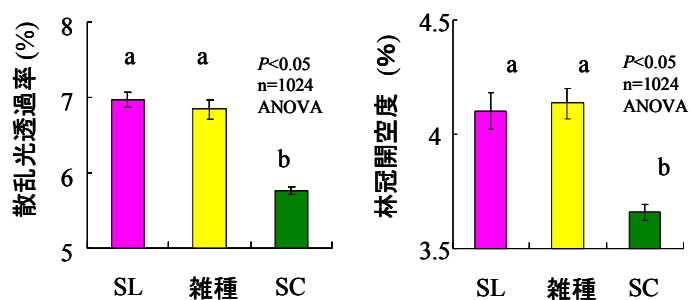
次に、稚樹の定着環境を明らかにするため、光と土壤環境に着目して解析を行ったところ、種間で定着環境に明らかな差が見られた。特に、土壤水分環境と稚樹の分布に関連が見られ、*S. curtisii*の稚樹は乾燥した場所に多く出現し、*S. leprosula*は湿った環境に多く出現した（図



図(3)-6 雑種稚樹と両親種稚樹の生育場所の土壤水分量(%)

(3)-6)。一方、雑種の稚樹は両親種の間接的な土壤水分環境に多く見られた。土壤の性質と稚樹

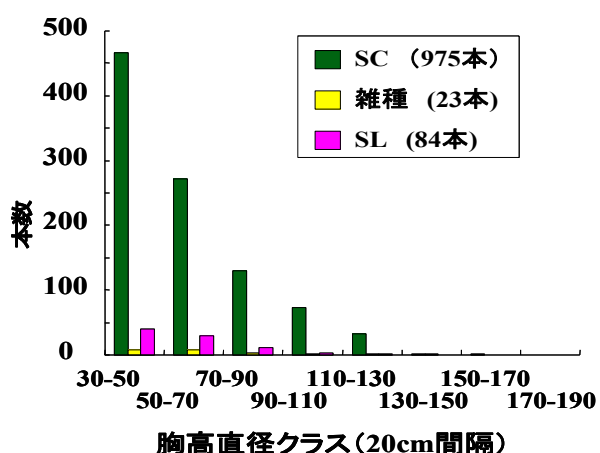
の分布にも関係があり、*S. curtisii*は砂質土壌に、*S. leprosula*は粘土質の土壌に出現する傾向が見られた。雑種についてはシルトが多い土壌に分布していた。また、稚樹の生育光環境を、林冠開空度と散乱光透過率から評価したところ、定着光環境にも種間差が見られた。雑種稚樹は*S. leprosula*と同等程度の比較的明るい環境に多く出現したが、*S. curtisii*はやや暗い環境に多く出現した（図(3)-7）。以上の結果から、雑種稚樹は両親種との中間的な環境に定着する傾向があると考えられた。



図(3)-7 雑種と両親種稚樹の定着光環境 左図は散乱光透過率、右図は林冠開空度を表す。

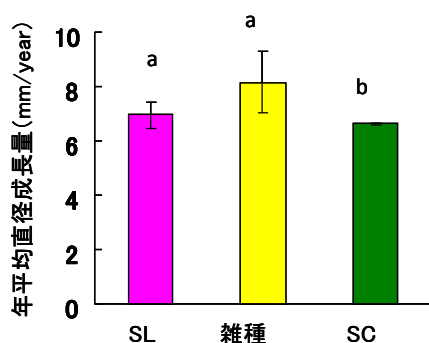
(2) ブキティマ保護林における雑種成木の地上部炭素蓄積

ブキティマ保護林内に設置された2haの毎木調査区の過去15年間のデータ（1993年から2008年）から、胸高直径1cm以上の幼木段階の枯死率や成長量を推定し、動態解析に用いるパラメータを得た。ブキティマ保護林全域(164ha)に生育している胸高直径30cm以上の成木個体は、雑種が23個体、*S. curtisii*が975個体、*S. leprosula*が84個体であった。胸高直径のサイズ分布を調べたところ、稚樹と同様に、雑種、親種共に小径木が多いL字型分布を示した。各樹種の最大胸高直径は、雑種が141cm、*S. curtisii*が154cm、*S. leprosula*が115cmであった（図(3)-8）。

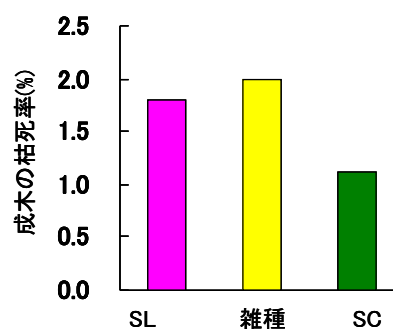


図(3)-8 ブキティマ保護林全域における胸高直径30cm以上の雑種と両親種の個体のサイズ分布

また、最大個体の雑種の樹齢を炭素同位体法で推定したところ¹³⁾、約150年前であることが分かった。この個体は中心部が腐朽していたために正確な樹齢の推定は困難であったが、少なくともブキティマ自然保護区が断片化する年代には雑種が生育していたと考えられた。ブキティマ保護区全域の胸高直径30cm以上の成木の成長量を調べたところ、雑種の年間直径成長量は0.8cmで、*S. leprosula* と同等で *S. curtisii* (0.6mm) より大きかった (図(3)-9)。成木の年間枯死率も種間で差が見られ、雑種と *S. leprosula* で2%前後とやや高く、*S. curtisii* (約1%) で低い傾向があった (図(3)-10)。



図(3)-9 雑種と両親種の年直径成長量



図(3)-10 雑種と両親種の年枯死率

ブキティマ保護林全域(164ha)の胸高直径30cm以上の全個体の地上部バイオマス(AGB)を Yamakuraら(1986)の胸高直径を用いたアロメトリー式 ($\ln(\text{AGB}) = 2.62 \cdot \ln(\text{DBH}) - 2.30$) から求めたところ約210 t/haと推定された。また、胸高直径が1cmから30cmの地上部バイオマスも同様の方法で2ha調査区のデータから算出したところ、およそ40t/haであったことから、ブキティマ保護林の平均地上部バイオマスは約250t/haと見積もられた。マレーシアやインドネシアなど、周辺地域のフタバガキ科樹木が優占する天然林では、地上部バイオマスが300-600t/ha程度と報告されていることから^{10, 14, 15, 16)}、当保護区のバイオマスの蓄積量は比較的低い値であると考えられた。これは、ブキティマ保護林の大半がすでにバイオマス蓄積量の低い二次林に劣化しており⁸⁾、その影響が現れたためと考えられた¹⁷⁾。

次に樹種グループ間で、ブキティマ保護区全域のバイオマスに占める割合を調べた。保護林全域におけるフタバガキ科樹木が全地上部バイオマスに占める割合は、26.4%と全科の中で最も高い値を示しバイオマスの面からもフタバガキが優占する森林であることが分かった。フタバガキ科の中で最も個体数の多かった *Shorea* 属だけでも、全バイオマスの20.1%と大きな値を示した (表(3)-2)。次に、保護林全域での地上部バイオマスに占める割合を、本研究の対象樹種に絞って調べた。雑種成木は本数が23本とかなり少ないため、バイオマスに占める割合は0.54%と低かった。また、本数が90本弱の *S. leprosula* のバイオマスに占める割合も1.12%と大きくなかった。しかし個体数が1000本近くも存在する *S. curtisii* は、全バイオマスの15.9%と大きな値を占めた。以上の結果から、雑種個体の成長速度や枯死率、材密度、種子の稔性などが両親種と大きく異なれば、今後雑種の増減により、保護林全体の炭素蓄積能力が大きな影響を受ける可能性があると考えられた。

表 (3)-2 ブキティマ保護区全域(164ha)の胸高直径30cm以上の地上部バイオマスの内訳

	ヘクタール当り (t/ha)	割合 (%)
ブキティマ保護林全体の地上部バイオマス	208.2	-
フタバガキ科樹木全体	55.0	26.4
<i>Shorea</i> 属全体	41.9	20.1
雑種	1.1	0.5
<i>S. leprosula</i>	2.3	1.1
<i>S. curtisii</i>	33.1	15.9

次に、保護区内の最も発達した林分に設置されている2haの毎木調査区の、過去15年間の胸高直径1 cm以上の地上部バイオマス量の変化を解析した（図 (3) -11）。プロットの地上部バイオマスは500 t/ha 前後と大きく、ブキティマ全域(164ha)で算出した地上部バイオマスの約2倍の値を示した。このことから、ブキティマ保護林内でも成熟した林分だけで比較すると、周辺地域の熱帯雨林の地上部バイオマス量と大差ないことが分かった^{10, 14, 15, 16}。次にバイオマスの経時変化を調べたところ、1993年に500t/haあったものが、2008年には約30t/ha減少していた。しかし、樹種別の地上部バイオマスの経時変化を調べると違いが見られた。1993年時のバイオマス全体に占める割合は、*S. curtisii*が最も多く23.5%（125t/ha）、*S. leprosula*が6.2%（33t/ha）、雑種が2.6%（14t/ha）で今回の調査対象種でバイオマス全体の1/3を占めることが分かった。15年後の2008年には、*S. curtisii*のバイオマス量が40 t/ha増加し、バイオマス全体の33.4%（167t/ha）を占めた。調査期間中に*Shorea curtisii*の大個体の枯死も見られたが、新規加入個体も多いためバイオマスが増加したと考えられた。一方、2008年の*S. leprosula*のバイオマスは13 t/ha（2.6%）と、1993年からおよそ半分に減少した。*Shorea leprosula*は大個体の枯死木が多く、新規に加入する個体もほとんどないためバイオマスが減少傾向になったと考えられた。雑種に関しては、過去15年間で個体数にほとんど変化がなく、バイオマスも微増の15t/ha（3.0%）であった。

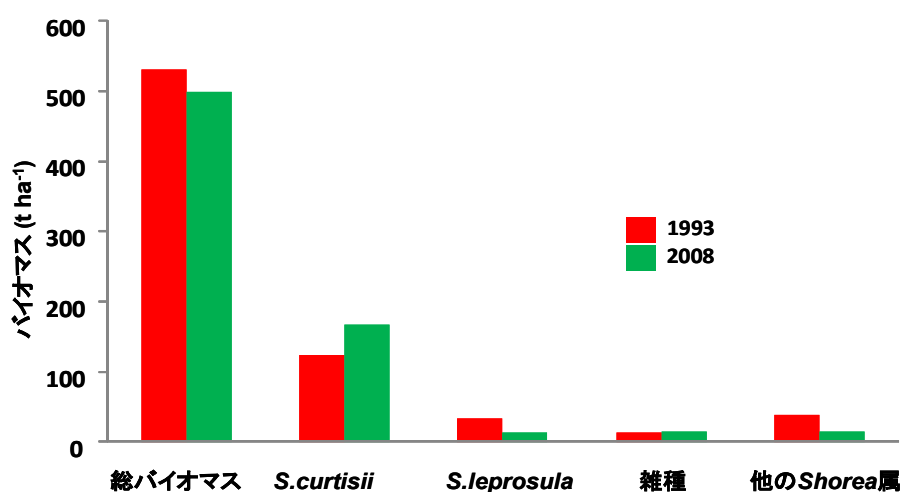
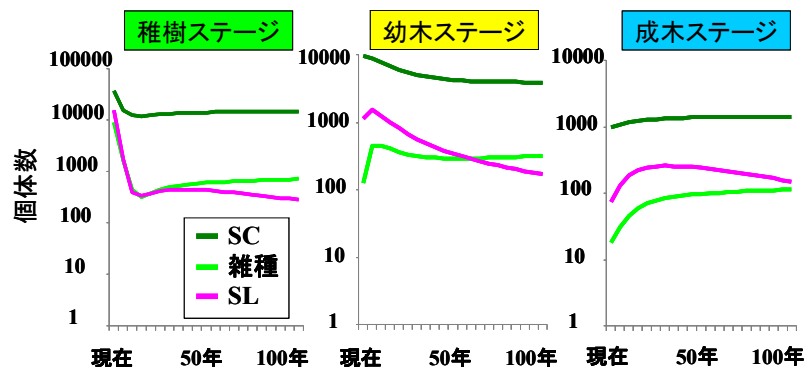


図 (3)-11 ブキティマ自然保護区の15年間の地上部バイオマスの変化

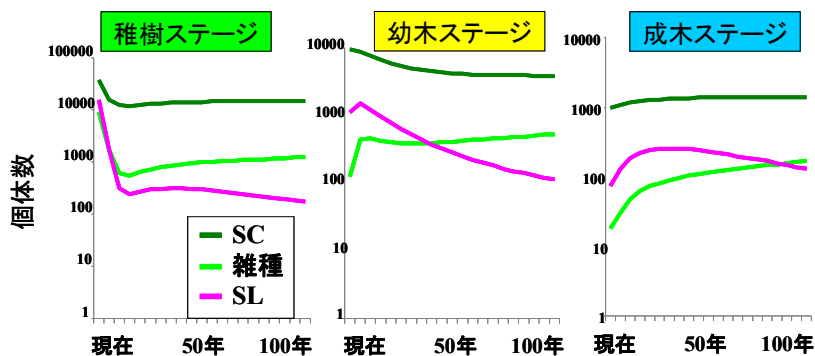
(3)マトリックスモデルを用いた森林の動態予測

最後に、マトリックスモデルを用いて雑種化と乾燥化が林分動態に与える影響予測を稚樹ステージ（DBH1cm未満）、幼木ステージ（DBH1-30cm）、成木ステージ（DBH30cm以上）に分けて100年後まで3つのシナリオを立てて予測した。まず、ブキティマ保護林で得られた現状のパラメータを用いた場合、*S. curtisii*はすべてのステージでほぼ安定して個体数を維持できたが、*S. leprosula*は個体群が減少し、すべてのステージで衰退傾向を示した（図（3）-12）。また、雑種の個体数は微増傾向を示した。



図(3)-12 ブキティマ自然保護区において現状のパラメータを使用した場合の、雑種、*S. leprosula*、*S. curtisii*の各生育段階における個体数の変化予測

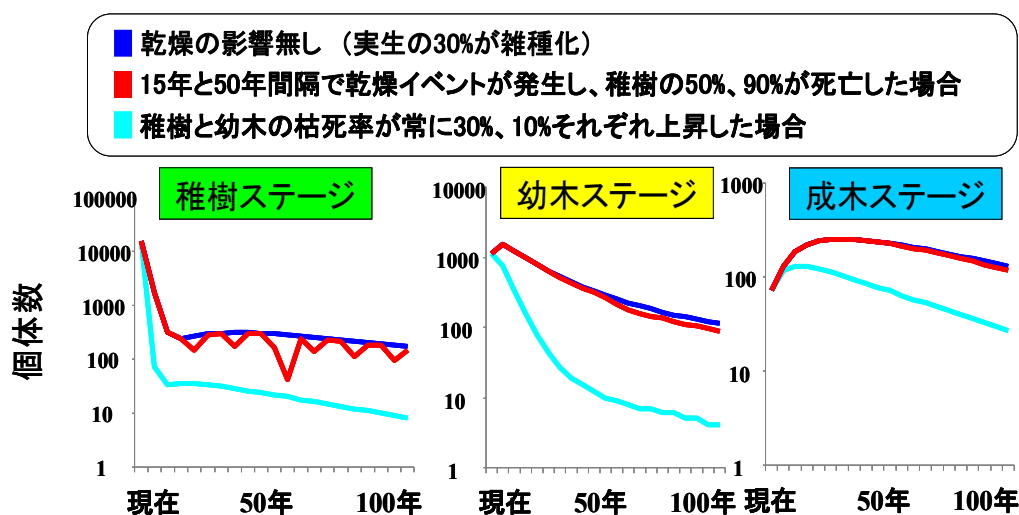
次に、現状よりも雑種化が進行した場合の予測を行った。この予測では、*S. leprosula*の母樹が生産する稚樹の30%が雑種に、*S. curtisii*の稚樹の1%が雑種に置き換わったと仮定した。その結果、*S. curtisii*は先ほどと同様に100年後まですべてのステージで個体群をほぼ安定的に維持できたが、*S. leprosula*は個体数の減少幅が現状の予測より大きくなった（図（3）-13）。雑種はすべてのステージで*S. leprosula*を上回り個体群が拡大する傾向を示した。これらのことから、雑種形成率が将来上昇すれば、*S. leprosula*の個体群は雑種に置き換わる可能性が高いと考えられた。



図(3)-13 ブキティマ自然保護区において雑種化が進行した場合の、雑種、*S. leprosula*、*S. curtisii*の各生育段階における個体数の変化予測

（稚樹のうち*S. leprosula*は30%、*S. curtisii*は1%が雑種化と仮定）

最後に雑種化に加え、今後、熱帯林地域で進むと考えられているエルニーニョなど気候変動による強度の乾燥イベント^{18, 19, 20)}が同時に進行した場合を、サブテーマ（１）で最も生理生態学的な乾燥耐性が低いと予測された*S. leprosula*を対象に、以下2つのシナリオで予測した（図（3）-14）。まず、15年と50年間隔で強い乾燥イベントが発生し、*S. leprosula*稚樹個体群の50%と90%がそれぞれ枯死する場合を予測した。その結果、稚樹ステージでは乾燥イベントにより稚樹の個体数が一時的に減少し、次の一斉結実までの間、稚樹個体数が少ない状態が続くが、成木ステージの個体数が維持されているために、次の結実で新たに多数の稚樹が供給され、稚樹ステージの個体群が回復した（図（3）-14）。そのため、稚樹の個体群は、乾燥イベントごとに増減を繰り返すものの、実質乾燥の影響がない場合とほとんど差がなく、成木や幼木ステージへの影響もほとんど見られなかった。次に、強い乾燥の影響が連続的に続くことを想定し、稚樹と幼木ステージの枯死率を恒常的にそれぞれ30%、10%高くして予測を行った。この場合、稚樹ステージだけでなく、すべてのステージで急速に個体群が減少し、*S. leprosula*の絶滅リスクが大幅に高まると考えられた。



図（3）-14 ブキティマ自然保護区において雑種化と乾燥化が進行した場合の、*S. leprosula*の各生育段階における個体数の変化予測

以上の動態予測から、特に、雑種化や乾燥化による個体群の減少リスクに脆弱な*S. leprosula*は、人工的な植栽など、将来的に種の保全の必要性が出てくる可能性がある。実際、毎木調査区（2ha）の過去15年間の地上部バイオマスの変動からも*S. leprosula*のバイオマスの低下が実測値として顕著になっており、ブキティマ保護林では今回作成したモデルから予測される個体群の減少がすでに進行している可能性が考えられた。1990年代後半に東南アジア広域で起こったエルニーニョによる異常乾燥時には、特定の樹種群での枯死率が高くなり、森林の種組成に大きな影響があった^{21, 22)}。特に、稚樹や成木といった生育段階にかかわらず、材密度が低い樹種群で枯死率が高く^{22, 23, 24, 25)}、フタバガキ科樹木の中でも材密度が低い*S. leprosula*は乾燥イベントによる影響を最も受けやすいと危惧された。また、炭素蓄積量についてもバイオマスや個体数の変化と連動し、ほぼ同じ減少傾向が見られた。しかし、雑種化によるブキティマ保護林全体の炭素蓄積量への影

響は、個体数やバイオマスの大きい*S. curtisii*の個体群がほぼ安定的に維持されることから、影響は小さいと考えられた。今後、林分レベルでの枯死率や新規加入率などの長期モニタリングや、F1雑種以降の戻し交配雑種や雑種第二代の成長や乾燥などに対する応答が明らかになれば、林分動態や炭素収支の予測精度をさらに高めることができると考えられた。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

これまで知見の無かったフタバガキ雑種の稚樹段階における林内での定着環境を明らかにしたことは、今後、東南アジア熱帯雨林域でフタバガキ科樹木の雑種化の進行を予測する上で重要な意義がある。また、雑種化や乾燥化を考慮した森林動態モデルから、*S. leprosula*の個体数が将来的に減少し、雑種に置き換わる危険性が明らかになった。1993年から2008年までのブキティマ保護林に設置された2ha調査区の長期生態モニタリングデータからも、*S. leprosula*の個体数やバイオマスの低下傾向がすでに見られ、今後、種の絶滅を回避するための対策が必要になると考えられた。一方、雑種化が進行しても、森林の炭素蓄積量は個体数の多い*S. curtisii*の個体群がほぼ維持されることから、大きく減少する可能性は低いと考えられた。今後、雑種第二代などの特性が分かればさらに詳細な絶滅リスクや森林動態に与える影響を明らかに出来ると考えられた。

(2) 環境政策への貢献

研究から得られた成果や情報については、プレスリリースや所属研究機関のホームページ等で社会一般に広く情報発信することに努める。加えて国際学術誌(*Biotropica*, *Journal of Tropical Ecology*, *Tree Physiology*等)、国内・国際学会(日本森林学会、日本生態学会、日本熱帯生態学会、*Association of Tropical Biology and Conservation*)などを通し専門的な科学コミュニティでも成果の広報普及に努め、最終的にREDD政策や生物多様性保全技術への反映やIPCC報告書への貢献を目指す。

6. 国際共同研究等の状況

カウンターパート Shawn K. Y. Lum・シンガポール国立教育研究所・シンガポール

参加・連携状況：カウンターパートを通じ、シンガポール公園庁へのブキティマ自然保護区での調査許可の申請、現地調査の際の研究協力、実験・調査施設の提供、研究打ち合わせ等を行っている。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) K. KAMIYA, S. NANAMI, T. KENZO, R. YONEDA, B. DIWAY, L. CHONG, M. A. AZANI, N. M. MAJID, S. K. Y. LUM, K. M. WONG, K. HARADA: *Biotropica* (in press)
“Demographic history of *Shorea curtisii* (Dipterocarpaceae) inferred from chloroplast DNA sequence variations”

- 2) T. HIROMI, T. ICHIE, T. KENZO and I. NINOMIYA: Journal of Forest Research (in press)
 “Interspecific variation in leaf water use associated with drought tolerance in four emergent dipterocarp species of a tropical rain forest in Borneo”

<査読付論文に準ずる成果発表>

「特に記載すべき事項はない」

<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) 米田令仁、田中憲蔵、Mohamad Alias Azani、Nik Muhamad Majid：第121回日本森林学会(2010)
 「フタバガキ科 6 種稚樹の光環境の変化に対する光合成特性の変化」
- 2) 田中憲蔵、市栄智明、上谷浩一、Shawn Lum：第20回日本熱帯生態学会大会(2010)「シンガポール断片化林におけるフタバガキ科雑種苗の光合成特性」
- 3) 上谷浩一、原田光、名波哲、田中憲蔵、米田令仁、Bibian Diway、Lucy Chong、Mohamad Azani Alias、Nik Muhamad Majid、Shawn Lum、Wong Khoo Meng：第20回日本熱帯生態学会大会(2010)
 「セラヤ (*Shorea curtisii*) 地域集団の葉緑体DNA多型」
- 4) Tanaka Kenzo, Tomoaki Ichie: XXIII IUFRO World Congress, Korea, 2010 “Comparison of allometric relationships for accurate estimation of forest biomass in tropical secondary forest in Malaysia” The International Forestry Review12:76
- 5) 田中憲蔵、米田令仁、佐野真琴、上谷浩一、名波哲、Shawn Lum、則近由貴、市栄智明：第122回日本森林学会(2011)「シンガポールの断片化された熱帯林におけるフタバガキ科雑種稚樹の分布」
- 6) 上谷浩一、Henti Hendalastuti、原田光、名波哲、田中憲蔵、米田令仁、Bibian Diway、Lucy Chong、Mohamad Azani Alias、Nik Muhamad Majid、Shawn Lum、Wong Khoo Meng：第21回日本熱帯生態学会(2011)「セラヤ (*Shorea curtisii*) 地域集団の核DNA配列多型」
- 7) 田中憲蔵、米田令仁、佐野真琴、上谷浩一、名波哲、Shawn Lum、則近由貴、市栄智明：第21回日本熱帯生態学会大会(2011)「シンガポールの断片化熱帯林におけるフタバガキ科雑種稚樹の生育環境」
- 8) 米田令仁、田中憲蔵、Mohamad Azani Alias、Nik Muhamad Majid：第123回日本森林学会大会(2012)
 「施肥処理をしたフタバガキ科稚樹の光環境の変化に対する光合成特性の変化」
- 9) YUTA INOUE, TANAKA KENZO, TOMOAKI ICHIE: Tropical Tree Response to Climate Change. FRIM, Malaysia. (2012) “Leaf water use and xylem characteristics of canopy trees of Dipterocarpaceae in a tropical rain forest” .
- 10) 上谷浩一、原田光、名波哲、田中憲蔵、米田令仁、Shawn Lum、市栄智明：第22回日本熱帯生態学会(2012)「シンガポールの断片化林におけるショレア属種間の浸透性交雑の実態」
- 11) 米田令仁、田中憲蔵、Mohamad Azani Alias、Nik Muhamad Majid：第22回日本熱帯生態

学会（2012）「施肥処理をしたフタバガキ科稀少樹種稚樹の成長」

（３）出願特許

「特に記載すべき事項はない」

（４）シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

「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) Pan Y, Birdsey RA, Fang J, Houghton R, Kauppi PE, Kurz WA, Phillips OL, Shvidenko A, Lewis SL, Canadell JG, Ciais P, Jackson RB, Pacala SW, McGuire AD, Piao S, Rautiainen A, Sitch S and Hayes D: A large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science* 333, 988-993 (2011)
- 2) Ashton PS: Dipterocarpaceae. *Flora Malesiana* 9, 237-552 (1982)
- 3) Symington CF: Malayan Forest Records 16, Foresters' manual of dipterocarps. (Second edition, revised by Ashton PS and Appanah S). 519 pp (2004)
- 4) Kamiya K, Gan YY, Lum SKY, Khoo MS, Chua SC and Faizu NNH: Morphological and molecular evidence of natural hybridization in *Shorea* (Dipterocarpaceae). *Tree Genetics & Genomes* 7, 297-306 (2011)
- 5) Arnold ML: Natural hybridization and evolution, Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press (1997)
- 6) Campbell JS, Mahoney JM and Rood SB: A lack of heterosis in natural poplar hybrids from southern Alberta. *Canadian Journal of Botany* 71, 37-42 (1993)
- 7) Turner IM: The seedling survivorship and growth of three *Shorea* species in a Malaysian tropical rain-forest. *Journal of Tropical Ecology* 6:469-478 (1990)
- 8) Corlett RT: The ecological transformation of Singapore, 1819-1990. *Journal of Biogeography* 19:411-420 (1992)
- 9) Yagihashi T, Otani T, Tani M, Nakaya T, Rahman KA, Matsui T and Tanouchi H: Habitats suitable for the establishment of *Shorea curtisii* seedlings in a hill forest in Peninsular Malaysia. *Journal of Tropical Ecology*, 26, 551-554 (2010)
- 10) Yamakura T, Hagihara A, Sukardjo S and Ogawa H: Aboveground biomass of tropical rain forest stands in Indonesian Borneo. *Vegetatio* 68:71-82 (1986)

- 11) Boucher DH and Mallona MA: Recovery of the rain forest tree *Vochysia ferruginea* over 5 years following hurricane Joan in Nicaragua: a preliminary population projection matrix. *Forest Ecology and Management* 91, 195-204 (1997)
- 12) Huenneke LF and Marks PL: Stem dynamics of the shrub *Alnus incana* SSP. *Rugosa*: transition matrix models. *Ecology* 68, 1234-1242 (1987)
- 13) Appanah S and Weinland G: Planting quality timber trees in Peninsular Malaysia. A review. *Malayan Forest Records* No. 38. Forest Research Institute Malaysia (1993)
- 14) Niiyama K, Kajimoto T, Matsuura Y, Yamashita T, Matsuo N, Yashiro Y, Ripin A, Kassim AR and Noor NS: Estimation of root biomass based on excavation of individual root systems in a primary dipterocarp forest in Pasoh Forest Reserve, Peninsular Malaysia. *Journal of Tropical Ecology* 26, 271-284 (2010)
- 15) Kato R, Tadaki Y and Ogawa H: Plant biomass and growth increment studies in Pasoh Forest Reserve. *Malayan Nature Journal* 30, 211-224 (1978)
- 16) Laumonier Y, Edin A, Kanninen M and Munandar AW: Landscape-scale variation in the structure and biomass of the hill dipterocarp forest of Sumatra: Implications for carbon stock assessments. *Forest Ecology and Management* 259, 505-513 (2010)
- 17) Kenzo T, Ichie T, Hattori D, Itioka T, Handa C, Ohkubo T, Kendawang JJ, Nakamura M, Sakaguchi M, Takahashi N, Okamoto M, Tanaka-Oda A, Sakurai K, and Ninomiya I: Development of allometric relationships for accurate estimation of above- and below-ground biomass in tropical secondary forests in Sarawak, Malaysia. *Journal of Tropical Ecology* 25, 371-386 (2009)
- 18) Malhi Y and Wright J: Spatial patterns and recent trends in the climate of tropical rainforest regions. *Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Science* 359, 311-329 (2004)
- 19) Corlett RT: Impacts of warming on tropical lowland rainforest. *Trends in Ecology and Evolution* 26, 606-613 (2011)
- 20) da Costa ACL, Galbraith D, Almeida S, Portela BTT, da Costa M, de Athaydes Silva Junior J, Braga AP, de Goncalves PHL, Fisher R, Phillips OL, Metcalfe DB, Levy P, Meir P and de Oliveira AAR: Effect of 7 yr of experimental drought on vegetation dynamics and biomass storage of an eastern Amazonian rainforest. *New Phytologist* 187, 579-591 (2010)
- 21) Nakagawa M, Tanaka K, Nakashizuka T, Ohkubo T, Kato T, Maeda T, Sato K, Miguchi H, Nagamitsu H, Ogino K, Teo S, Hamid AA and Lee HS: Impact of severe drought associated with the 1997-1998 El Niño in a tropical forest in Sarawak. *Journal of Tropical Ecology* 16, 355-367 (2000)
- 22) Slik JWF: El Niño droughts and their effects on tree species composition and diversity in tropical rain forests. *Oecologia* 141, 114-120 (2004)
- 23) Bebbier DP: Dipterocarp susceptibility to drought: a role for wood structure? *Journal of Tropical Forest Science* 14, 425-427 (2002)
- 24) Bebbier DP: Dipterocarp timber properties and drought tolerance. *Malayan Forester* 63,

179-185 (2000)

- 25) van Nieuwstadt MGL and Sheil D: Drought, fire and tree survival in a Borneo rain forest, East Kalimantan, Indonesia. *Journal of Ecology* 93, 191-201 (2005)

Evaluation of Hybridization Risk and Carbon Fixation Ability in Fragmented Tropical Forests

Principal Investigator: Tomoaki ICHIE

Institution: Kochi University
B200 Monobe, Nankoku 783-8502, Japan
Tel & Fax: 088-864-5149
E-mail: ichie@kochi-u.ac.jp

Cooperated by: Osaka City University, Forestry and Forest Products Research Institute

[Abstract]

Key Words: Natural hybridization, Dipterocarpaceae, *Shorea*, Carbon fixation, Forest fragmentation

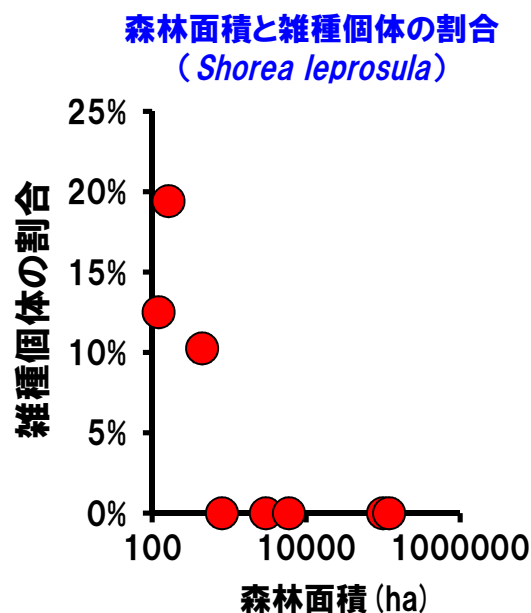
Anthropogenic disturbance may lead to relaxing an ecological isolating barrier to the interspecific gene flow and consequently helping hybridization and introgression between naturally, reproductively isolated species. To examine whether hybridization in *Shorea*, a genus commonly found in tropical rainforests in Southeast Asia, is more frequent in forests under extensive anthropogenic disturbance than in almost undisturbed forests, samples of *S. curtisii*, *S. leprosula*, *S. parvifolia* and their putative hybrids were collected in a fragmented natural forest in Bukit Timah Nature Reserve, Singapore. We found 21 morphologically recognizable hybrids over 30 cm in dbh throughout the 164-ha reserve. Analyses of DNA sequence in nuclear and chloroplast regions and microsatellite markers revealed that natural hybridization between these sympatric *Shorea* species was apparently common. These hybrids were fertile and a number of seedlings and saplings generated via backcross were also found. In contrast, hybridization is not common in Lambir Hills National Park in Malaysia, where many large undisturbed forests still remain, even though flowering periods is somewhat overlap in these species. Hybrid individuals were found only in three small forest remnants in the Malay Peninsula whereas no hybrid was found in the other four large-sized forests. This suggests that environmental conditions specific to fragmented and peripheral forests might increase viability of hybrid individuals. Three plots 50×50m in area each were set up on a ridge and a slope in a valley in Bukit Timah to examine the differences of environmental conditions between *S. leprosula*, *S. curtisii*, and their hybrid. We found that hybrid were distributed over the intermediate environment between *S. curtisii* over the upper slope with low soil-water content, and *S. leprosula* over the lower slope with high soil-water content. Ecophysiological investigations also supported these ecological distribution

patterns; *S. curtisii* has thick and solid leaves with high water-use efficiency probably to fit into the upper slope, while *S. leprosula* has high leaf-nitrogen content and photosynthetic ability but low water-use efficiency to fit into the lower slope. In fact, *S. curtisii* showed a significantly higher drought tolerance than *S. leprosula* under experimental drought conditions. The hybrids were shown to be intermediates in almost all the leaf-morphological and -physiological features and in drought tolerance to fit into both parental specific environments. Matrix models predict that *S. leprosula* has greater risk of future extinction by interspecific hybridization and drought associated with climate change. In contrast, *S. curtisii* and the hybrid may maintain stable populations and/or biomass in Bukit Timah.

熱帯林の断片化による雑種化促進リスクと炭素収支への影響評価

サブテーマ ①

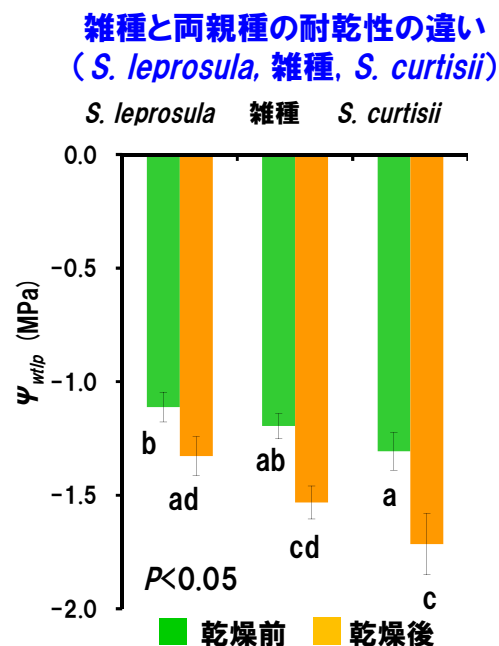
熱帯林断片化による
雑種化リスクの遺伝的評価



断片化が進んだ森林で
雑種個体の割合が高い

サブテーマ ②

熱帯林断片化が
フタバガキ科実生の定着過程に
与える影響と雑種稚樹の
生理生態特性の評価

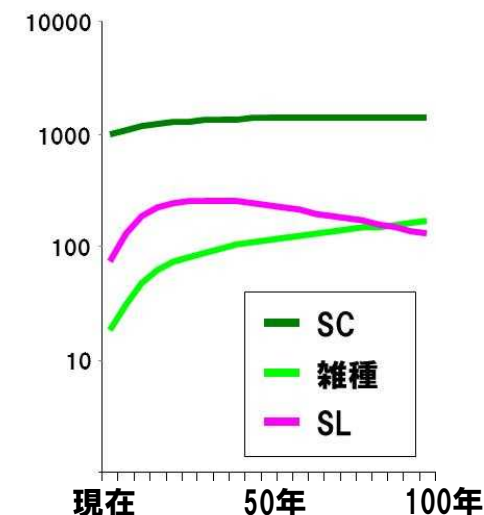


フタバガキ科雑種の
耐乾性は親種の間程度

サブテーマ ③

熱帯林断片化による
林分動態予測と炭素収支の評価

シンガポール・ブキティマ保護林において
雑種化が進行した場合の個体数の変化
(*S. leprosula*, 雑種, *S. curtisii*)



雑種の個体群は増加し
*S. leprosula*を上回る

熱帯林の断片化は雑種化を促進させ、低密度種の絶滅確率を増大させる危険性が高い
→多様性の高い熱帯雨林の維持のためには、雑種化を考慮した森林管理が必要