

# カプールの遺伝学的側面

白石 進<sup>\*1)</sup>・ノラ ラティフ<sup>\*2)</sup>・宮武 進<sup>\*3)</sup>  
落合幸仁<sup>\*4)</sup>・古越隆信<sup>\*5)</sup>

## はじめに

熱帯林生態系の解明のためにこれまで多くの研究が行われ、その姿が少しずつではあるが解明され始めている。しかし、遺伝学的な側面からの情報はこれまでほとんど得られておらず、現在、遺伝学的なアプローチの必要性が叫ばれている。

熱帯林が種多様性に富んでいることはこれまでに多くの研究者によって明らかにされている。また、熱帯林を構成しているそれぞれの種は高い遺伝的な多様性を保持しているものと考えられている。このように人類が将来必要とするであろう遺伝子を内在させ、遺伝子資源の宝庫といわれている熱帯林を、また地球規模での環境保全に大きな影響を及ぼしている熱帯林を適切に維持管理していく上で、遺伝学的な面からの研究は欠くことができない。

現在、国際協力事業団（JICA）がブルネイ国で行っている「ブルネイ林業研究計画」では研究課題の一つに熱帯降雨林の遺伝学的解析を取り上げ、いくつかの研究を進めている。ここでは、遺伝学的研究を進める上で有効な武器となる「アイソザイム」手法を用い、熱帯林を代表するフタバガキ科の中でブルネイの主要樹種であるカプール（リュウノウジュ属）の地域集団の遺伝的分化、近縁種間の類縁関係および繁殖構造についてこれまでに得られた結果をもとに述べてみたい。

## まず、アイソザイムとは

森林を対象とした遺伝学は林木のもつ特殊性、とりわけ巨大性と永年性のために微生物や栽培作物を対象とした分野に比べて大きく立ち遅れている。近年、生化学および分子生物学では新しい分析手法が開発され、急速な進歩を遂げている。森林遺伝学においてもこれらの手法を導入して、従来、研究推進上致命的とされてきた欠点の多くを克服できるようになり、現在、新しい局面を迎えつつある。

これまでも遺伝的な見地から森林・林木を捉え、葉、枝の形状といった外部形態を指標として用いて多くの研究が行われてきた。しかし、このような研究で指標として

---

SHIRAIISHI, Susumu, LATIFF, Norah H., MIYATAKE, Susumu, OCHIAI, Yukihito and FURUKOSHI, Takanobu : Population-genetical Studies on Kapur (*Dryobalanops*) Species

\*1 九州大学農学部, \*2 ブルネイ国森林局, \*3 JICA ブルネイ林業研究計画, \*4 農林水産省森林総合研究所四国支所, \*5 農林水産省森林総合研究所企画調整部

用いられている形態上の変異は環境の影響を受け易く、必ずしも遺伝変異を正しく反映していない。そのためこれらの指標を用いて行われた研究の中には立地環境に起因する多くの「ノイズ」を含んでいる可能性がある。そこで真に遺伝的なものだけを取り出すためには、環境には影響され難い新しい指標の使用が必要となる。

人間の血液型は親から子へ、子から孫へと規則正しく伝えられる。これは血液型が遺伝子によって支配されているためである。これを遺伝的指標として用い親子関係の鑑定技術の開発や人種、種族間の類縁関係の解明などの研究が行われてきた。植物ではこれと同じように利用することができるものに葉や種子などの細胞中に存在する酵素（蛋白質）がある。

遺伝情報を貯えているのは細胞中の DNA（デオキシリボ核酸）であるが、これからメッセンジャー RNA（リボ核酸）が転写され、さらに、これをもとに合成される物質が酵素である。酵素には非常にたくさんの種類があり、各々が代謝系において触媒として働いている。同じ働きをする酵素の中にもいく種類かの蛋白質分子があり、このような蛋白質の関係を「アイソザイム(同位酵素)」と呼んでいる。蛋白質分子間の物理的な性質の違いを利用して、ゲル電気泳動法を用いて分子間の違い、すなわち遺伝子レベルでの差異を可視的に捉えることができる。

アイソザイムは遺伝物質本体である DNA の一次生産物であるため環境による影響を受けることは少ない。また、アイソザイムにおいて個体間で観察される変異のほとんどは自然選択（淘汰）を受けない。このアイソザイムを丁度、人間の血液型の遺伝子（例えば A, B, O 遺伝子）のように利用することによって、森林で観察される興味ある様々な遺伝現象を従来の手法より鋭敏に捉えることができるようになった。

#### ブルネイに分布するリュウノウジュ属 (Kapur : *Dryobalanops*)

世界的にリュウノウジュ属は7種あることが知られており、このうち6種はボルネオ島に生育している。ブルネイ国内ではカプールバジ (Kapur Paji : *D. lanceolata*)、カプールブキット (Kapur Bukit : *D. beccarii*)、カプールプリング (Kapur Peringgi : *D. aromatica*)、カプールパヤ (Kapur Paya : *D. rappa*) の4種の分布が確認されている。このようにリュウノウジュ属の多くの種が分布していることからこの国ではカプールを「国の木」に制定している。カプールパヤは海岸沿いの清水湿地帯にほぼ純林を形成して生育しており、カプールバジ、カプールブキット、カプールプリングの3種は丘陵地帯の混合フタバガキ林を構成する主要樹種となっている (写真-1)。



写真-1 カプールプリングの生育する混合フタバガキ林

## カプールで観察されたロイシニアミノペプチダーゼ・アイソザイムの変異

今回採取したカプールプリング、カプールパジ、カプールパヤの3種の全供試個体をゲル電気泳動装置にかけてロイシニアミノペプチダーゼ・アイソザイムを分析した結果、図-1の左側に示した5種類のバンド（蛋白質分子）が確認された。各個体のバンドパターン（泳動型）は5種類のバンドからの2本を組合せた12種類のもののうちのどれかひとつを示した（図の右側）。これまでに多くの植物種においてロイシニアミノペプチダーゼ・アイソザイムの遺伝様式が詳細に調べられている。今回確認された5種類のバンドは異なる対立遺伝子（移動距離の小さな方から a, b, c, d, e）によって支配されており、12種類の泳動型はそれぞれの下に書いた遺伝子型に対応していることになる。この泳動型と遺伝子型の関係から、各個体の遺伝子型はゲル電気泳動法によって泳動型を調べることによって容易に決定することができる。

### カプールプリングの地域集団間でみられる遺伝的分化

まず、ブルネイで広く分布しているカプールプリングについて各地域の集団間でどの程度の遺伝的な分化が起きており、その結果、遺伝子組成にどのような違いがみられるかを明らかにすることを試みた。調査地としては、図-2に示すようにブルネイ本土のブライト（Belait）地区にあるアンドゥラウ（Andulau）保護林、ツトン（Tutong）地区のラダンヒルズ（Ladan Hills）保護林と本土とはサラワク（マレーシア）領によって隔てられ飛び地となっているテンブロン（Temburong）地区のプラダヤン（Peradayan）保護林の3箇所を選び、各々の林から無作為に約30個体を選び、各地域集団の対立遺伝子の組成を調査した。

この樹種では図-2に示した泳動型のうち、1, 4, 5, 6, 8, 9, 10型の7種類の泳動型が観察された。集団ごとに各遺伝子型をもつ個体数を調べ、これをもとに対立遺伝子頻度を推定した。各地域集団における対立遺伝子頻度は表-1のとおりである。

各集団の対立遺伝子頻度を比較すると、ブルネイ本土にあるアンドゥラウとラダンヒルズの集団ではどの対立遺伝子の出現頻度も非常によく一致している。しかし、テンブロンにあるプラダヤンの集団と前記2集団とは、cとdの対立遺伝子の頻度に大きな違いが認められた。また、集団の遺伝的な多様性を表す「ヘテロ接合体率」を求めたところ、集団間に大きな違いはなく、どの集団も遺伝的多様性を保持している

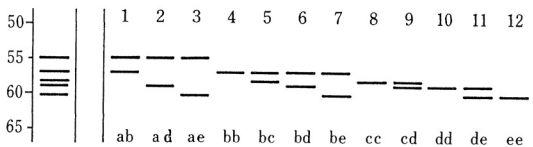


図-1 リュウノウジュ属の3樹種において確認されたロイシニアミノペプチダーゼアイソザイムの泳動型と遺伝子型

ことが明らかになった。

集団間で遺伝的分化がどの程度進んでいるかを表す尺度として集団遺伝学では「遺伝的距離」がよく用いられている。この遺伝的距離は集団の対立遺伝子頻度から容易に

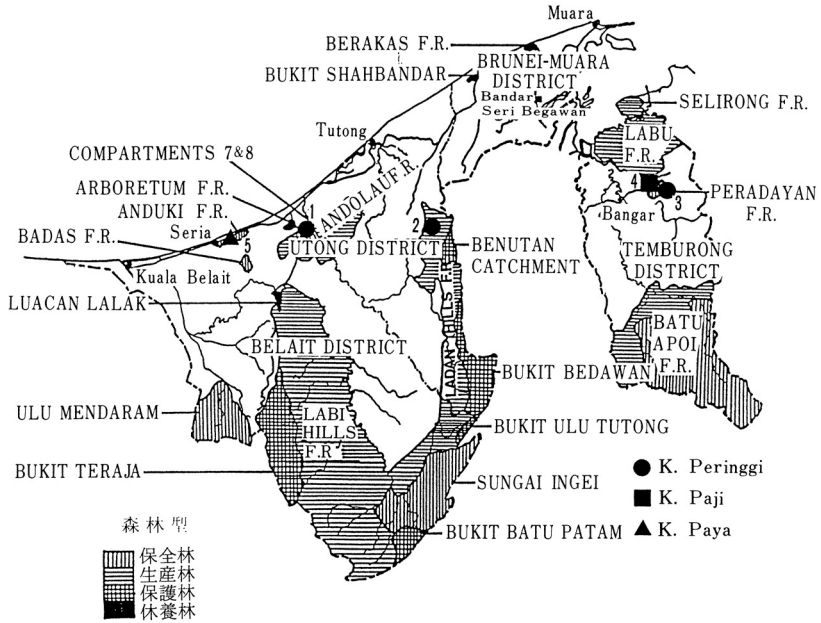


図-2 リュウノウジュ属3樹種で調査した集団

表-1 3箇所の地域集団のロイシンアミノペプチダーゼ遺伝子における対立遺伝子頻度とヘテロ接合体率

地域集団	対立遺伝子				ヘテロ接合体率
	a	b	c	d	
アンドゥラウ	0.00	0.66	0.17	0.17	0.50
ラダンヒルズ	0.02	0.71	0.12	0.15	0.46
プラダヤン	0.04	0.65	0.00	0.31	0.48
平均	0.02	0.67	0.10	0.21	0.48

求めることができる。今回得られたデータからこの距離を算出すると、アンドゥラウとラダンヒルズの集団間では0.004となり、小さな値を示した。一方、アンドゥラウとプラダヤン間およびラダンヒルズとプラダヤン間ではそれぞれ0.052, 0.046と相対的に大きな値となった。このことから、ブルネイ本土にある2つの集団は遺伝的にきわめて類似しているのに対し、本土とテンブロンとはかなり遺伝的分化が進んでいることが示唆された。このような結果が得られたことから、この樹種の遺伝子資源保全のための保存林分の選定や造林に用いる種苗の採取・配布区域の決定にあたっては今後注意を払う必要がある。また、アシュトン (P.S. Ashton) によるとカブ

ールプリングはブルネイの他にもボルネオ島のサラワク、スマトラ島およびマレー半島に分布しており、より範囲を広げた調査が必要である。

### リュウノウジュ属 3 樹種の類縁関係

前述したようにブルネイにおいては4樹種のカプールの見つかったが、このうちのカプールのブキットについては、まだ分布地域があまり詳細には知られていない。これまでブルネイではこの樹種の種子標本は保存されておらず、最近になって著者の一人である落合とブルネイ国森林局のボタニストであるウォンクーミン (Wong Khoon Meng) によってはじめて発見された。

そこで、ブルネイで一般的に見られる他の3樹種の類縁関係を明らかにするために、さらにカプールのバジとカプールのパヤの集団からアイソザイム分析用の試料を採集した。カプールのバジはカプールのプリングと同じブラダヤン保護林から、また、カプールのパヤは清水低湿地帯にあるアンドウキ (Anduki) 保護林から採取した。なお、ブラダヤン保護林では斜面の中腹部にカプールのバジが、斜面上部にカプールのプリングが分布している。

これらの採取試料を分析した結果、カプールのプリングで観察された7種類の泳動型に加え、さらに2, 3, 7, 11, 12型の5種類の泳動型が観察された。そして、カプールのプリングで確認できた a, b, c, d の4つの対立遺伝子の他に新たに e 対立遺伝子が見つかった。

カプールのプリングの時と同様に、各樹種の各遺伝子型の頻度から対立遺伝子頻度を算出した結果を表-2に示す (カプールのプリングについては前項で述べた3箇所の地域集団の平均値が示されている)。

カプールのプリングでは認められなかった e 対立遺伝子がカプールのバジでは低頻度で、またカプールのパヤでは23%とかなりの高頻度で出現した。一方、カプールのプリングで出現した b および c 対立遺伝子はカプールのパヤではほとんど出現しなかった。各樹種の対立遺伝子組成を比較するとカプールのプリングとカプールのバジは各対立遺伝子頻度は良く似ていた。これに対し、この2樹種とカプールのパヤの遺伝子組成は、前者において高い出現頻度を示す b 対立遺伝子がカプールのパヤではわずか2%ときわめて低頻度であり、逆に、d と e の対立遺伝子ではカプールのパヤが著しく高い値を示している。このデータをもとに3樹種間の遺伝的距離を求めると、カプールのプリ

表-2 3 樹種のロイシンアミノペプチダーゼ遺伝子における対立遺伝子頻度

樹 種	対 立 遺 伝 子				
	a	b	c	d	e
カプールのプリング	0.02	0.67	0.10	0.21	0.00
カプールのバジ	0.09	0.58	0.06	0.25	0.02
カプールのパヤ	0.00	0.02	0.00	0.75	0.23

ギとカプールバジ間では 0.012 と小さな値であったのに対し、カプールプリングおよびカプールバジの 2 樹種とカプールバヤ間ではそれぞれ 1.189, 0.903 ときわめて大きな値となった。この結果から、カプールプリングとカプールバジとの系統発生上での類縁関係はきわめて近いこと、また、この 2 樹種とカプールバヤは別の種として分化してからかなりの進化的時間がたっていることが推察された。



写真-2 K7 試験地において天然更新したカプールプリングの稚樹

なお、今回カプールプリングとカプールバジで得られた遺伝的距離 (0.012) はカプールプリングの地域集団間で得られた値 (本土とテンブロンの集団間の 0.052 と 0.046) よりも小さい。これは種の進化において種内での変異は種間変異を越えることはないという原則に反している。このようなことが起こった原因としては今回の供試個体数が少ないこと、また指標として用いた遺伝子がロイシニアミノペプチダーゼ遺伝子のみであることによって起こる実験誤差が考えられる。しかし、テンブロンのブラダヤン保護林の斜面中部と上部に隣接して生育しているカプールバジとカプールプリングの遺伝的距離は 0.009 とさらに小さな値を示すことから、隣接する両樹種は浸透交雑を行っており、互いの遺伝子を交換している可能性も認められる。もし、浸透交雑が起っているとすると両樹種間にはまだ完全な生殖隔離機構が発達していないことになる。また、今回は調査しなかったカプールブキットはカプールプリングと葉の形態では識別が困難なほど類似している。また、カプールバジとカプールプリングの種子の形態は似ており、葉の形態における変異も連続性をもっている。このことから、カプールプリング、カプールブキットおよびカプールバジの 3 樹種は現在種分化のさなかにある可能性も考えられる。今後の研究課題として大変興味のあるところである。

### カプールプリングの交配様式

フタバガキ科の樹種の多くはまだ交配様式が明らかにされていない。カプールプリングにおいてもこれまでに調べられておらず、これを明らかにする目的でアンドゥラウ保護林内の試験地を用いて次のような試験を行った。

アンドゥラウ保護林の K7 (Kompartiment 7) のカプールプリングの生育している尾根筋に JICA の研究プロジェクトチームによって 1 ha (100 m×100 m) の試験地が設けられている。この試験地内には 1 万本以上のカプールの稚樹が更新している (写真-2)。この稚樹の中から無作為に 60 本の稚樹を選び、交配様式を調べた。

その結果、調査した 60 本の個体の内、遺伝子型が bb 型のものが 36 個体、bd 型

表-3 K7の試験地内の稚樹の遺伝子型頻度

遺伝子型	遺伝子型頻度		$\chi^2$
	観察値	理論値	
b b	36	35.3	
b d	20	21.4	
d d	4	3.3	
計	60	60.0	0.28 <sup>ns</sup>

が20個体、そして dd 型が4個体観察された(表-3)。この遺伝子型頻度からこの集団中の b 対立遺伝子の頻度は76.7%、d 対立遺伝子の頻度は23.3%であると推定される。個体間の無作為な交配によってできた集団では対立遺伝子頻度と遺伝子型頻度の間にハーディ・ワイン

ベルグの法則が成り立つことが広く知られている。すなわち

$$(0.767 b + 0.233 d)^2 = 0.588 bb + 0.358 bd + 0.054 dd$$

の関係が成り立つ。このハーディ・ワインベルグの法則を想定した場合の各遺伝子型の出現頻度を表-3に理論値として示した。もし、この集団において自殖もしくは近親交配が起きている場合にはハーディ・ワインベルグの法則によって求めた遺伝子型頻度よりホモ接合型(bb型とdd型)の個体が増え、ヘテロ接合型(bd型)のものが少なくなる。しかし、今回の結果では各遺伝子型とも観察値と理論値が非常によく一致しており、この集団が無作為な交配によって作られたものであり、カプールプリングは他殖性の高い樹種であることが明らかとなった。

また、ブルネイでは造林用の苗木として山引苗が広く利用されている。しかし、これらの苗木の中には母樹の自殖および近親交配によって生まれた劣悪な個体が含まれている可能性がある。自殖・近親交配によってできた苗木を植栽した場合には、その後自殖弱勢や近交弱勢が起り、不成績造林地化する可能性がある。しかし、今回の結果からは、天然更新した稚樹は自殖や近親交配の影響を受けていない。このことから、山引苗を実際の造林に用いても自殖や近親交配に起因する遺伝的なリスクは小さいものと思われる。なお、今回調査した試験地はカプールプリングの個体密度が比較的高いところに設定されている。交配様式は個体密度によって変わることがこれまでいくつかの樹種で報告されており、この樹種の個体密度と交配様式の変化については今後調べる必要がある。

## おわりに

近年、細胞融合や遺伝子組換えによる新品種の作出や組織培養による大量増殖をめざすバイオテクノロジーが進展し、そのために素材として用いる遺伝子の確保、すなわち「遺伝子資源の保全」が強く望まれている。森林とりわけ熱帯林は遺伝的な多様性を最もよく保有しており、これまでも遺伝子資源としての重要性が強調されてきた。この目的での熱帯林の保全にあたっては、現在起きている種の進化および将来の進化を保障する規模での保護を考える必要があろう。

栽培植物などで一般に行われている遺伝資源の保存法は種子を低温(冷蔵, 冷凍)下で貯蔵する施設内保存や、葉草園のように生体を畑等に移植し保存する現地外保存

が主流となっている。しかし、森林遺伝子資源の保全においては、その個体が巨大であること、種子などからの個体再生に長年月を要すること、さらには種子の長期保存法の確立されていないものが多いこと、などの理由から、それらが生育している生態系そのものをそっくり保存する生態保存（現地保存）を原則としている。この保全地域および規模といった保全区域のゾーニングのための設計基準を決める上で、種がもつ遺伝的変異、地域集団間にみられる分化、各集団の遺伝的多様性などに関する豊富な基礎情報が要求される。

一方、地球上の森林面積の約半分を占めていた熱帯林が、近年大規模かつ急速に消失しており、地球環境の保全上からも熱帯林の保護が大きな世界的課題となってきた。こうした熱帯林を適切に保全し、またその再生を図ってゆく上で生態学的な知識とともに、熱帯林生態系の遺伝的な内部構造などに関する知識は不可欠である。

ブルネイの熱帯林は、この国が経済的に豊かなこともあり、これまでに大規模な破壊は受けていない。このため手近かなところに天然林が保存されており、研究調査のための天然林へのアプローチがきわめて容易なこともあって、JICA プロジェクトの研究チームを中心に精力的な研究が行われてきた。このプロジェクトでは前述したような観点から熱帯林の遺伝学的な研究の必要性をいち早く認め、これに着手してきたが、まだ日も浅く、得られた情報量も少ない。今後、この分野に興味をもつ多くの研究者が研究する上で恵まれたこのフィールドを活用することにより、熱帯林に関する多くの遺伝学的な知見が集積されるものと思われる。

---

## 新刊紹介

◎熱帯多雨林の管理 —生態的指針— (D. POORE and J. SAYER : The Management of Tropical Moist Forest Lands —Ecological Guidelines—, 63 pp. (1987), 発行所 IUCN)

本書の構成は以下の11篇からなっている。はじめに、政府政策、土地配置、開発への生態的強制、森林保護と環境保護、木材のための森林、農業のための森林、森林のインフラストラクチャー、河川システムと湿地帯、害虫の管理、特筆すべき点。

副題に生態的指針とあるように、各論の中で、それぞれの背景が述べられ、管理のためのガイドラインが示されている。熱帯多雨林管理のための概略の方針、問題点などに重点がおかれており、熱帯多雨林の管理を志す人、初めて学ぶ学生のための基本的入門書として、一読の価値がある一書であろう。(田中正道)