

【解 説】シリーズ

日本の森林樹木の地理的遺伝構造 (20)

ケショウヤナギ (ヤナギ科ヤナギ属)

永 光 輝 義^{*,1}

はじめに

ケショウヤナギ *Salix arbutifolia* Pall. は、樹高 30 m、直径 1 m に達する落葉高木である。幼木の枝や幹がしばしば白蟻を帯び、小枝は繊細で紅に色づくことから、化粧柳と名づけられた (進 2009)。萌芽などの栄養繁殖はまれで、ほとんど実生で更新する。雌雄異株で、4月から5月にかけて開花し、花粉は風媒である。数 km 以上離れた河川間で花粉が散布されている (Hoshikawa et al. 2012)。綿毛の付いた種子は、6月から7月にかけて風によって散布されるが、北海道紋別市では9月まで散布が続く (田崎ら 2014)。種子の散布距離は 30 km に達することを示唆する事例がある (川辺・斉藤 1994)。種子は、寿命が3週間以内で、水分条件がよければ一昼夜で発芽する。実生が定着する立地は、光条件が非常によく、乾燥が激しい礫質の氾濫原に限られ、すみやかに地下部が伸長し支持・吸水機能を発揮する (本間ら 2002)。このため、ケショウヤナギは河川の攪乱によって生じた砂礫堆に、優占度の高い一斉林を形成することが多い (Shin and Nakamura 2005)。このような一斉林は、洪水によってしばしば破壊されてしまう (島津 2013)。残った林分は、ケショウヤナギの成長にともない先駆樹種の若齢林となり、河川の流路が変わり攪乱を受けなくなると遷移後期種からなる群落へ移行する (Nakamura et al. 2007)。よって、河川攪乱の減少は、遷移後期種の増加とケショウヤナギの減少をもたらす (横山・島野 2014)。ダムによる流量調節や河川改修による攪乱の減少はケショウヤナギの減少要因となっており (高木・中村 2003; 田崎ら 2007)、更新立地の再生を目指すダム放流試験が行われている (柳屋ら 2014)。

このような限られた生育立地は、ケショウヤナギの分布を特徴づけている。本種は、バイカル湖より東の

シベリアから極東にかけて広く分布し、島嶼部ではサハリン、北海道、本州に分布する (図-1a)。日本では、北海道と長野県とに隔離分布する (図-1b)。それぞれの地域でも分布は隔離性を示す (永光 2004)。北海道では、分布の中心の十勝地方から大雪山系によって隔てられた紋別市と、日高山脈によって隔てられた浦河市に分布する (図-1b)。長野県では、分布の中心の上高地から離れた地域にも点在する。

日本の隔離集団の由来と隔離による遺伝構造への影響を知ることは、それらの保全にとって重要である。北海道集団はサハリンまたは千島列島経由で、長野県集団は朝鮮半島経由で由来した、互いに異なる系統なのだろうか。それとも、両者は、日本列島でまとまった集団を成していたが、東北地方での絶滅により隔離されたのだろうか。だとすると、日本列島の祖先集団はどこに起源するのだろうか。日本の隔離集団において、隔離の距離と集団の大きさは遺伝的多様性にどのような影響を与えたのだろうか。これらの疑問に答える前に、ヤナギ属の系統分類を整理しておこう。

ヤナギ属の系統分類

ヤナギ属 *Salix* は過去に3つの属に分けられ、本種はケショウヤナギ属 *Chosenia* の唯一の種として扱われていた。Azuma et al. (2000) は、葉緑体 *rbcL* 遺伝子の系統を明らかにし、ヤナギ属が外群 (ハコヤナギ属 *Populus* など) から大きく分岐した単系統群であることを示した。さらに、ヤナギ属は大きく2つの系統群に分けられ、ケショウヤナギ属とオオバヤナギ *S. cardiophylla* Trautv. & Mey のみが属していたオオバヤナギ属 *Toisusu* はその一方の系統群に含まれることがわ

* E-mail: nagamit@affrc.go.jp

¹ ながみつてるよし 森林研究・整備機構森林総合研究所北海道支所

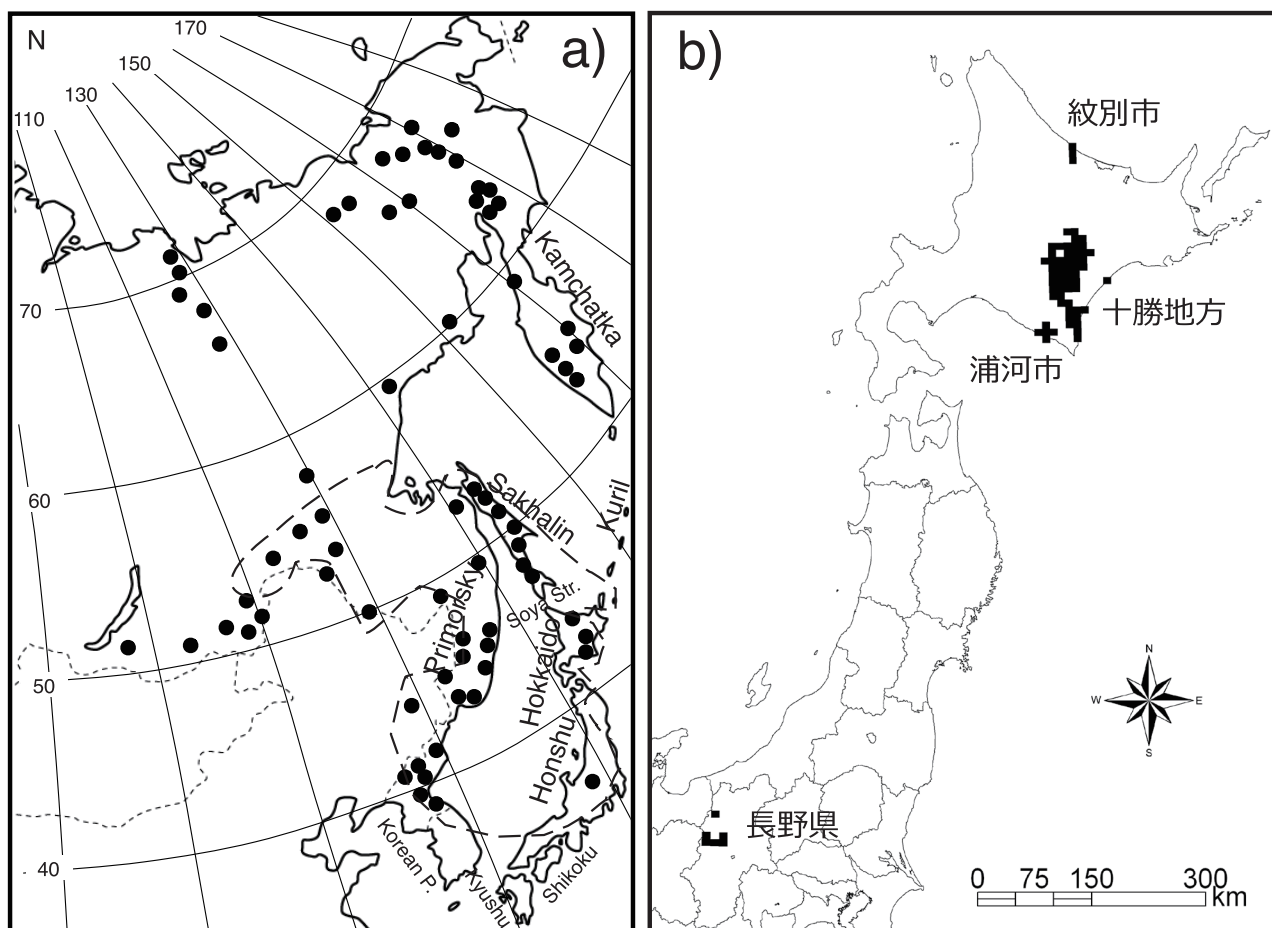


図-1 ケショウヤナギの分布。a) 東シベリアから極東における分布、点は標本の採集地、破線は近縁種オオバヤナギの分布域。Nagamitsu et al. (2014) を改変。b) 日本における分布、四角は生育が確認されたメッシュ。永光 (2004) を改変。

かった。そのため、Ohashi (2000) は、ヤナギ属の分類を現在の体系に改訂した。その後も、ヤナギ属の分子系統が研究され (Hardig et al. 2010 ; Barkalov and Kozyrenko 2014a, b ; Lauron-Moreau et al. 2015)、Wu et al. (2015) が核リボゾームの ITS および ETS と葉緑体の複数領域の系統を統合し、系統地理や網状進化を考察した。これらの知見によると、ケショウヤナギに最も近縁な種はオオバヤナギであり、両種は、エゾマメヤナギ亜属 *Chamaetia* とバッコヤナギ亜属 *Vetrix* を含む系統群と姉妹群となる。

ヤナギ属には、二倍体から八倍体までの種が知られており、染色体の基本数は 19 である (Azuma et al. 2000)。ケショウヤナギは二倍体 ($2n=38$) である (Azuma et al. 2000)。

葉緑体の地理的遺伝構造

上記の疑問に答えるために、Nagamitsu et al. (2014) は、北海道の十勝地方、紋別市、浦河市および長野県、また、日本列島への経由地に近いカムチャッカ、サハリン、沿海州からケショウヤナギの 2 ~ 13 個体の標本を採集した (図-2a)。さらに、外群として、最も近縁なオオバヤナギ、姉妹群のエゾマメヤナギ亜属とバッコヤナギ亜属からそれぞれエゾマメヤナギ *S. nummularia* Andersson とバッコヤナギ *S. caprea* L. の 1 ~ 2 個体の標本を北海道で採集した。これらの標本について、葉緑体 *matK* 遺伝子とその周辺の塩基配列を決定した (図-2c)。

これらのケショウヤナギから 8 つのハプロタイプが検出された (図-2b)。複数の置換または挿入欠失によってこれらのハプロタイプは、A カムチャッカとサハリン、B 沿海州、C 北海道と長野県、という 3 つのグループに

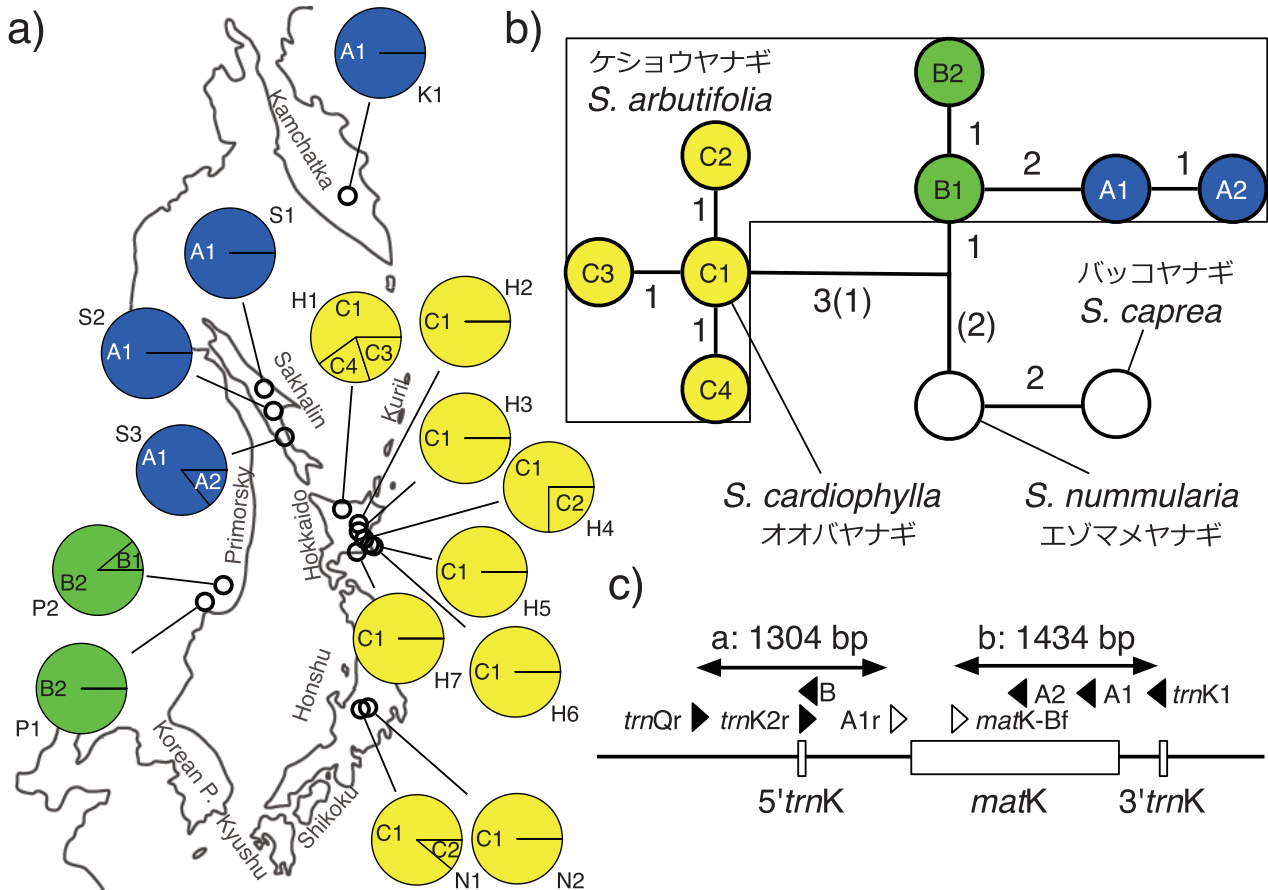


図-2 葉緑体 *matK* 遺伝子とその周辺領域のハプロタイプ。a) ケショウヤナギにおける構成と分布。b) ケショウヤナギとその外群における最節約樹形図、数字は置換数、カッコ内の数字は挿入欠失数。c) 配列を決定した領域（線分）と使用したプライマー（三角）、エクソン（四角）とイントロン（実線）。Nagamitsu et al. (2014) を改変。

分けられた (図-2a)。これらのハプロタイプの最節約樹形図において、A と C は最も分化しており、B はそれらの中間に位置し、外群への分岐は B と C との間から生じていた (図-2b)。C の高頻度のハプロタイプは、オオバヤナギと同一のハプロタイプだった (図-2b)。

核遺伝子 *PtAP3* の地理的遺伝構造

葉緑体 *matK* 遺伝子を解析した標本について、*Populus tomentosa* から単離された B クラス MADS-box 遺伝子 *PtAP3* (Wang et al. 2006) のイントロンの塩基配列を決定した (図-3c)。この遺伝子は単一コピーであり、ケショウヤナギにおける多型サイトは2か所だったので、フェイズを揃えてアレルを特定することができた (永光未

発表)。

この遺伝子のケショウヤナギのアレルは3つあり、a と b とは挿入欠失、b と c とは置換によって区別された (DDBJ 登録番号: AB530657-AB530659; 図-3b)。これらのアレルの最節約樹形図において、外群 (AB543618-AB543621) への枝は c につながっていた (図-3b)。したがって、a が派生的で、c が祖先的だと言える。a はカムチャッカとサハリンおよび紋別市、b は十勝地方と浦河市、c は沿海州と長野県で、頻度が高い傾向があった (図-3a)。カムチャッカは a、長野県は c に固定し、紋別市では a と c だけがみられたが、サハリン、沿海州、十勝地方と浦河市では3つのアレルがみられた (図-3a)。

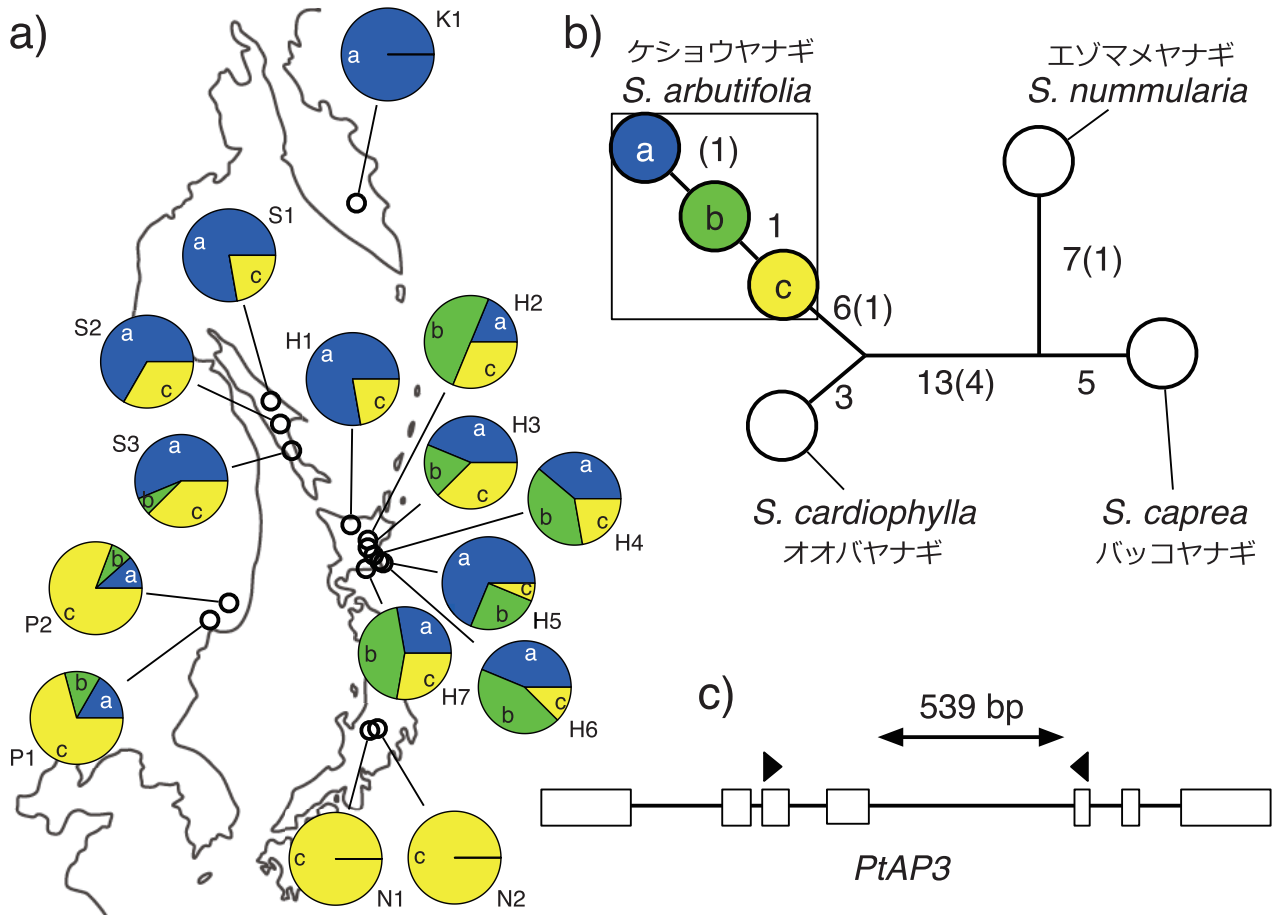


図-3 核 *PtAP3* 遺伝子のイントロンのアليل。a) ケショウヤナギにおける構成と分布。b) ケショウヤナギとその外群における最節約樹形図、数字は置換数、カッコ内の数字は挿入欠失数。c) 配列を決定した領域 (線分) と使用したプライマー (三角)、エクソン (四角) とイントロン (実線)。

核マイクロサテライトの地理的遺伝構造

北海道の十勝地方の5集団、紋別市の1集団、浦河市の1集団および長野県の2集団、また、サハリンの3集団および沿海州の2集団から各集団32個体とカムチャッカの2個体について、マイクロサテライト8座位の遺伝子型を決定した (Nagamitsu et al. 2014)。遺伝的距離 D_A に基づく近隣結合法によるこれらの集団の樹形図において、十勝地方、サハリン、沿海州の各地域の集団がそれぞれ比較的短い枝の先にまとまり、紋別市、浦河市、長野県の集団が長い枝の先に位置した (図-4a)。浦河市の集団が十勝地方の集団のまとまりに含まれたが、他の枝の間に明瞭な包含関係は認められなかった (図-4a)。

STRUCTURE 解析によるクラスタリングにおいて、8クラスタまで尤度が上昇し、デルタ K により3、4、6

クラスタへの分割が示唆された (図-4b)。これらの6クラスタは、カムチャッカおよびサハリン、沿海州、十勝地方の3つの地域の集団と紋別市、浦河市、長野県の3つの隔離地域の集団に対応し、十勝地方の集団と浦河市の集団との間にはクラスタの混合がみられた (図-4c)。4クラスタに集約すると、十勝地方と浦河市の集団および沿海州と紋別市の集団がそれぞれまとまり、3クラスタに集約すると、カムチャッカおよびサハリンの集団が沿海州および紋別市の集団に融合した (図-4c)。

集団間の遺伝的分化度を比べると、長野県の集団とその他の集団との間できわめて高く ($0.20 < G_{ST} < 0.41$)、紋別市または浦河市の集団と長野県を除く他集団との間で比較的高かった ($0.06 < G_{ST} < 0.18$)。サハリン、沿海州、十勝地方の3つの地域の集団の間では、十勝地方は沿海州 ($0.03 < G_{ST} < 0.09$) よりもサハリン ($0.07 < G_{ST} < 0.17$) との間で分化度が高く、サハリンと沿海州との間の分

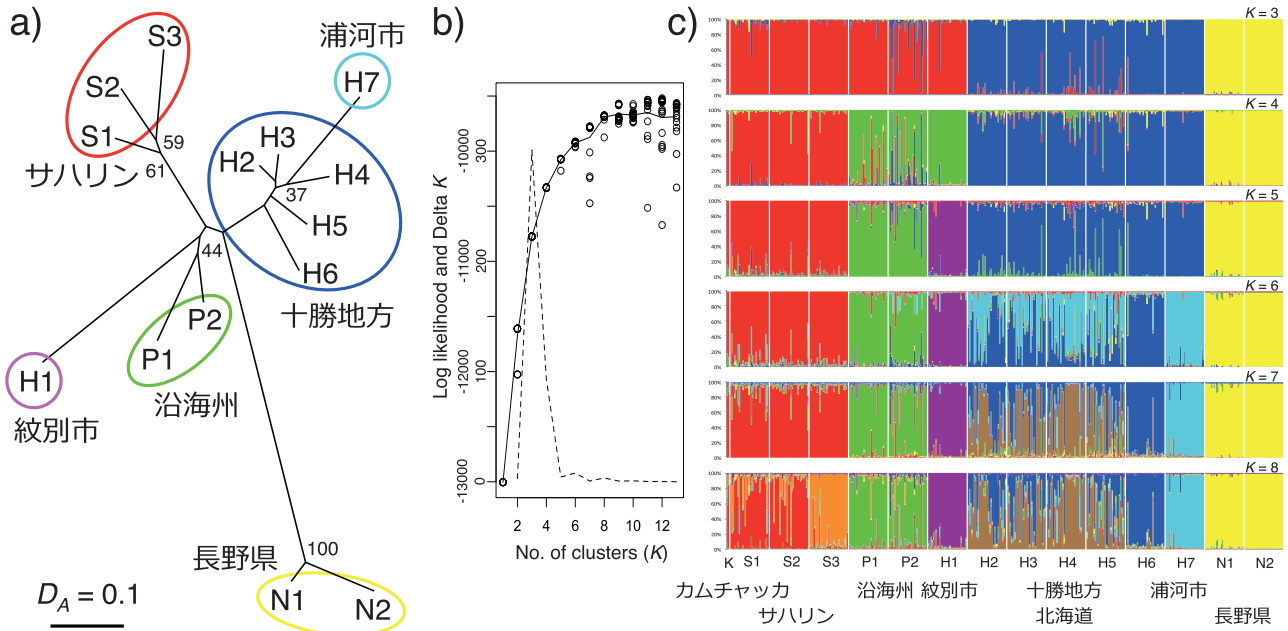


図-4 核マイクロサテライトの変異。a) 遺伝的距離 D_A に基づく近隣結合法によるケショウヤナギ集団の樹形図。b) ペイジアンクラスタリングにおける、クラスタ数に伴う対数尤度とデルタ K の変化。c) クラスタ数 3 から 8 までの各集団の個体におけるクラスタ構成のバープロット。Nagamitsu et al. (2014) を改変。

化度 ($0.05 < G_{ST} < 0.08$) はその他のペアの分化度と差がみられなかった。

遺伝構造と系統地理

上記の葉緑体 *matK* パプロタイプの共有から、北海道と長野県のケショウヤナギは、日本列島でまとまった母系集団を成していたが、東北地方での絶滅により隔離されたと考えられる。共有されていたハプロタイプは、最も近縁で、本種との雑種 (永光 2004) が知られているオオバヤナギと同じだった。よって、種間交雑と戻し交配によってオルガネラゲノムが置換された可能性がある。このような交雑による網状進化はヤナギ属でしばしば生じている (Wu et al. 2015)。一方、核の *PtAP3* 遺伝子とマイクロサテライトでは、北海道と長野県のまとまりを確認することはできない。

葉緑体 *matK* 遺伝子と核 *PtAP3* 遺伝子は、カムチャッカとサハリンで派生的、沿海州で祖先的な変異を示した。よって、気候変動に伴って、ユーラシア大陸の分布域の南部に古いアリルが残り、北部に新しいアリルが広がったと考えられる。核 *PtAP3* アリルの分布は、北海道と長野県で大陸分布域南部に由来するアリルが共有され、北海道へ大陸分布域北部のアリルが移入したことを示

唆している。ただし、長野県の集団は、核 *PtAP3* アリルが固定し、核マイクロサテライトが大きく分化しているので、隔離による強い遺伝的浮動を受けたと考えられる。よって、大陸分布域北部のアリルが長野県でみられなかったことは、遺伝的浮動で消失したためかもしれない。一方、核マイクロサテライトの遺伝的分化によると、遺伝的浮動の影響が弱いと思われる十勝地方の集団は、カムチャッカとサハリンよりも沿海州の集団と遺伝的に近く、大陸分布域南部に由来するアリルの頻度が高いことが示唆される。したがって、日本列島のケショウヤナギは、ユーラシア大陸の分布域の南部に起源し、北部からの移入を受けたと想像される。この仮説の検証には、大陸の分布域の多数の標本による地理的遺伝構造の解明と、多数の遺伝子座のコアレスセント解析による集団履歴の解明が有効である。

核マイクロサテライトの解析から、浦河市の集団と十勝地方の集団との間には遺伝子流動が示唆される。ケショウヤナギの花粉と種子の風散布は長距離に達するので (川辺・斉藤 1994 ; Hoshikawa et al. 2012)、日高山脈を越えて花粉と種子が飛んでいるのかもしれない。核 *PtAP3* アリルの構成はサハリンと紋別市との間で類似し、核マイクロサテライトはユーラシア大陸とサハリンの集団に紋別市の集団がクラスタリングされた。これらの結果は、北海道のオホーツク海側と宗谷海峡を

渡ったサハリンとの間の遺伝子交流を示唆する。しかし、遺伝的浮動によって偶然に遺伝的類似性が生じた可能性も否定できない。

隔離分布と遺伝的多様性

日本列島の隔離集団において、隔離の距離と集団の大きさは遺伝的多様性に大きな影響を与えていた (Nagamitsu et al. 2014)。日本列島の分布の中心である十勝地方の集団 ($4.71 \leq AR \leq 6.43$, $0.587 \leq H_s \leq 0.709$) に比べて、紋別市の集団の遺伝的多様性は同じ程度だったが ($AR = 4.86$, $H_s = 0.607$)、浦河市の集団の遺伝的多様性は低く ($AR = 2.86$, $H_s = 0.523$)、長野県の上高地と波田町の集団の遺伝的多様性はきわめて低かった ($1.71 \leq AR \leq 3.29$, $0.217 \leq H_s \leq 0.362$; 表-1)。長野県では、波田町において遺伝的多様性が特に低く、固定指数も正となった ($F_{is} = 0.278$; 表-1)。ステップワイズ突然変異モデルを仮定してボトルネック検定をすると、浦河市と長野県波田町で瓶首効果が検出された ($P \leq 0.063$; 表-1)。

紋別市と浦河市に比べて長野県は十勝地方からの隔離の距離が大きい (図-1b)。そして、隔離の距離とともに遺伝的多様性は減少した。長野県では、上高地よりも波田町で集団サイズが小さい (横山・島野 2014)。そして、集団サイズが小さいと遺伝的多様性は低かった。

これらの結果は、遺伝的浮動の効果を支持する。紋別市で、集団が隔離されているにもかかわらず遺伝的多様性が低下しなかった理由は、サハリンとの遺伝子交流の可能性もありうるが、よくわからない。長野県波田町では、梓川のダムや護岸の設置やハリエンジュの侵入によってケショウヤナギ群落が衰退している (横山・島野 2014)。そのため、集団内の異質性と近親交配の増加によってホモ接合の頻度が過剰になったのかもしれない。

おわりに

隔離分布する種は、その系統や集団の歴史について想像をかきたてる。そこには、長距離散布や分布変遷、地域絶滅などの劇的なドラマが秘められている。日本列島には、北方や高山の植物によくみられる北海道と中部山岳との間の隔離分布だけでなく (Fujii and Senni 2006; Ikeda et al 2012)、さまざまな地域間で隔離分布がみられる。隔離集団は、遺伝的浮動だけでなく自然選択による局所適応が生じやすい (Ikeda et al 2009)。ただし、隔離集団における強い遺伝的浮動は、系統の復元や選択の検出を難しくするので、注意が必要である。特徴的な生育立地と分布様式を持つケショウヤナギは、その地理的遺伝構造に隔離分布種の特性を示している。

表-1 ケショウヤナギの集団の遺伝的多様性。32 個体における平均アليل数 AR 、平均ヘテロ接合度 H_s 、固定指数 F_{is} (*: 統計的に有意に正)、ステップワイズ突然変異モデル (SMM) を仮定したボトルネック検定の P 値 (def: 平均アليل数から期待されるよりも平均ヘテロ接合度が低い、ex: 高い)。Nagamitsu et al. (2014) を改変。

集団	地域	地方	遺伝的多様性		固定指数 F_{is}	ボトルネック 検定 (SMM)
			AR	H_s		
S1	サハリン		6.71	0.668	0.012	0.014 def
S2	サハリン		8.14	0.648	-0.027	0.020 def
S3	サハリン		6.57	0.686	-0.007	0.422 def
P1	沿海州		7.71	0.721	0.025	0.098 def
P2	沿海州		9.57	0.753	-0.001	0.125 def
H1	北海道	紋別市	4.86	0.607	0.003	0.527 ex
H2	北海道	十勝地方	5.86	0.661	0.085	0.010 def
H3	北海道	十勝地方	6.29	0.655	0.046	0.037 def
H4	北海道	十勝地方	6.00	0.643	-0.058	0.004 def
H5	北海道	十勝地方	6.43	0.709	0.031	0.014 def
H6	北海道	十勝地方	4.71	0.587	0.115	0.191 def
H7	北海道	浦河市	2.86	0.523	0.021	0.020 ex
N1	長野県	上高地	3.29	0.362	-0.026	0.039 def
N2	長野県	波田町	1.71	0.217	0.278 *	0.063 ex

引用文献

- Azuma T, Kajita T, Yokoyama J, Ohashi H (2000) Phylogenetic relationships of *Salix* (Salicaceae) based on *rbcL* sequence data. *American Journal of Botany* 87: 67–75
- Barkalov VY, Kozyrenko MM (2014a) Phylogenetic relationships of *Salix* L. subg. *Salix* species (Salicaceae) according to sequencing data of intergenic spacers of the chloroplast genome and ITS rDNA. *Russian Journal of Genetics* 50: 828–837
- Barkalov VY, Kozyrenko MM (2014b) Phylogenetic analysis of the Far Eastern *Salix* (Salicaceae) based on sequence data from chloroplast DNA regions and ITS of nuclear ribosomal DNA. *Botanica Pacifica* 3: 3–19
- 本間雅枝・矢島 崇・菊池俊一 (2002) ケシヨウヤナギ・オオバヤナギ・ドロノキ稚樹の器官量配分と地下部形態. *日本林学会誌* 84: 41–44
- Fujii N, Senni K (2006) Phylogeography of Japanese alpine plants: Biogeographic importance of alpine region of Central Honshu in Japan. *Taxon* 55: 43–52
- Hardig TM, Anttila CK, Brunsfeld SJ (2010) A phylogenetic analysis of *Salix* (Salicaceae) based on *matK* and ribosomal DNA sequence data. *Journal of Botany* 2010: 1–12
- Hoshikawa T, Nagamitsu T, Tomaru N (2012) Effects of pollen availability on pollen immigration and pollen donor diversity in riparian dioecious trees (*Salix arbutifolia*). *Botany* 90: 481–489
- Ikeda H, Carlsen T, Fujii N, et al (2012) Pleistocene climatic oscillations and the speciation history of an alpine endemic and a widespread arctic-alpine plant. *New Phytologist* 194: 583–594
- Ikeda H, Fujii N, Setoguchi H (2009) Molecular evolution of phytochromes in *Cardamine nipponica* (Brassicaceae) suggests the involvement of *PhyE* in local adaptation. *Genetics* 182: 603–14
- 川辺百樹・斎藤新一郎 (1994) 十勝地方におけるケシヨウヤナギの新産地. *ひがし大雪博物館研究報告* 16: 85–86
- Lauron-Moreau A, Pitre FE, Argus GW, et al. (2015) Phylogenetic relationships of American willows (*Salix* L., Salicaceae). *PLoS One* 10: e0121965
- 永光輝義 (2004) 日本の絶滅危惧樹木シリーズ (10) ケシヨウヤナギ. *林木の育種* 210: 36–38
- Nagamitsu T, Hoshikawa T, Kawahara T, et al. (2014) Phylogeography and genetic structure of disjunct *Salix arbutifolia* populations in Japan. *Population Ecology* 56: 539–549
- Nakamura F, Shin N, Inahara S (2007) Shifting mosaic in maintaining diversity of floodplain tree species in the northern temperate zone of Japan. *Forest Ecology and Management* 241: 28–38
- Ohashi H (2000) A systematic enumeration of Japanese *Salix* (Salicaceae). *Journal of Japanese Botany* 75: 1–41
- 島津 弘 (2013) 梓川上流、上高地徳沢 – 明神間の河道における年々の地形変化と環境多様性の形成. *地学雑誌* 122: 709–722
- 進 望 (2009) ケシヨウヤナギ. 日本樹木誌編集委員会編, 日本樹木誌 1. 日本林業調査会, 東京, pp 275–286
- Shin N, Nakamura F (2005) Effects of fluvial geomorphology on riparian tree species in Rekifune River, northern Japan. *Plant Ecology* 178: 15–28
- 高木麻衣・中村太士 (2003) ダムによる流量調節が河畔林に及ぼす影響について – 北海道札内川の事例. *日本林学会誌* 85: 214–221
- 田崎冬記・安藤由里子・石田洋一ら (2007) 河川改修がケシヨウヤナギ (*Chosenia arbutifolia* (Pall.) A. Skvorts.) の更新地に及ぼす影響. *日本緑化工学会誌* 33: 33–36
- 田崎冬記・折戸由里子・斎藤新一郎ら (2014) 渚滑川水系と十勝川水系のケシヨウヤナギ結実時期の違いについて. *日本緑化工学会誌* 40: 277–280
- Wang D, Zhang Z, An X, et al. (2006) Cloning of an *APETALA3* homologous gene (*PtAP3*) from *Populus tomentosa* and genetic transformation of its sense and anti-sense constructs in tobacco. *Frontiers of Forestry in China* 1: 404–412
- Wu J, Nyman T, Wang DC, et al. (2015) Phylogeny of *Salix* subgenus *Salix* s.l. (Salicaceae) : Delimitation, biogeography, and reticulate evolution. *BMC Evolutionary Biology* 15: 31
- 柳屋圭吾・柿沼孝治・武田淳史・泉 典洋 (2014) 札内川ダム放流実験によるヤナギ類稚樹の流失特性に関する観測. *土木学会論文集 B1 (水工学)* 70: I-13631368
- 横山雄一・島野光司 (2014) 梓川下流域におけるケシヨウヤナギの生育立地と群落動態. *植生学会誌* 31: 119–128