# 【解 説】シリーズ

# 日本の森林樹木の地理的遺伝構造(11) シイ類(ブナ科シイ属)

# 青木 京子1,\*

### はじめに

シイ属 (Castanopsis) は東南アジアを中心に約130種知られており、その大半はクリの様に長い刺をもつ実をつけるが、日本周辺~東アジアに分布するシイ類の果実は小型で殻斗の鱗片は癒着して果実をほぼ包む(山崎・真柴 1987a)。日本のシイ類はシイ属の分布の北限にあたり、照葉樹林を構成する主要樹種である。

日本周辺のシイ林においては、Castanopsis sieboldii と Castanopsis cuspidata の2種が優占しており、前者に はスダジイ C. sieboldii var. sieboldii (九州以北に分布) とオキナワジイ C. sieboldii var. lutchuensis (琉球に分 布) が、後者にはコジイ C. cuspidata var. cuspidata (九 州以北に分布) とタカサゴジイ C. cuspidata var. carlesii (台湾に分布) が認められている (山崎・真柴 1987b; 図-1)。スダジイは九州、四国および本州の海岸部と 島嶼に分布し(オキナワジイを含めると沖縄県の八重 山諸島まで)、日本海側では新潟県の海岸部と佐渡島、 太平洋側では福島県の海岸部を北限とし、コジイは九 州、四国の内陸部および伊豆半島以西の本州を中心に 分布している (大場 1989)。 スダジイは主として海岸 沿いに生育し、コジイはスダジイより内陸に生育する といった生態的特性がみられるものの、しばしば同所 的に生育する。これらは、葉の表皮組織や堅果によっ て(山崎・真柴1987a)、あるいは樹皮の縦裂溝や材質 (小林・須川 1959) などの形態的特徴によって区別す ることを試みられてきたが、両者の中間型を示す個 体が存在する(小林・須川1959; Yamada and Miyaura 2003; 小林 2008) ため、区別が容易ではなかった。こ

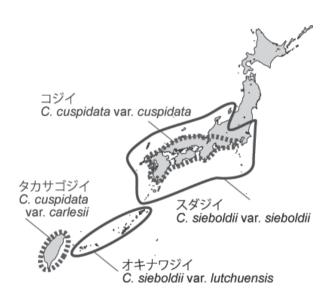


図-1 日本周辺におけるシイ属の分布

のように日本のシイ類は分類学的に解明しなければ ならない問題も含んでいた。

日本のシイ類は照葉樹林を構成する主要な優占樹種であり、日本の照葉樹林の歴史的成立過程を解明する上でも重要な樹木である。日本の生物相は、最近数万から数百万年の間に起こった大きな気候変動(氷期から現在のように比較的温暖な間氷期まで)にともなって、分布域を大きく変化させてきた。そのため照葉樹林の地理的分布や集団構造は、現在の環境条件だけでなく、過去の環境や地史の影響、特に氷期中のレフュジア(逃避地)の影響も強く受けている。現在、暖温帯に生育する照葉樹林に関しては、氷期など寒い時期に検出される花粉試料の量がきわめて少ない

<sup>\*</sup>E-mail: aoki@sys.bot.kyoto-u.ac.jp

<sup>1</sup>あおききょうこ 京都大学大学院農学研究科

ことや、そもそも花粉を検出することが困難な分類群(虫媒の植物種等)が多く含まれることから、花粉化石データのみにより詳細な植生変遷を議論することは困難であった。そこで筆者は、DNAレベルの遺伝的マーカーを用い、種内の遺伝構造から分布変遷を探るという分子生物地理学的アプローチによって照葉樹林(特にシイ林)の遺伝的多様性とその歴史的成立過程の解明をめざして研究を行ってきた。

本稿では、これまでに得られた日本のシイ類の遺伝 的多様性および遺伝構造について解説するとともに、 シイ型照葉樹林の分布変遷の歴史についても考察す る。

# スダジイとコジイ間の遺伝的分化

スダジイとコジイについては、形態的には葉の表皮組織に基づく判別が最も有効であり、これによってスダジイ(表皮組織が2層)、コジイ(1層)、雑種個体(表皮組織に1層と2層が混在する)を区別できることが報告されている(小林2008)。スダジイとコジイ56集団1349個体について、生葉あるいはシリカゲルによる乾燥葉を葉の先端から約1~2cmの位置でカットして横断面の切片を作り、光学顕微鏡で葉の表皮組織を観察した。葉の表皮組織の観察は、小林(2008)に習い、葉の横断面の先端部および主脈周辺の層数判定がまぎらわしい部分を避けて行った。その結果、表皮組織の層数が2層の個体は海岸沿いに、1層の個体は内陸に多くみられた(図-2)。この表皮組織の層数の

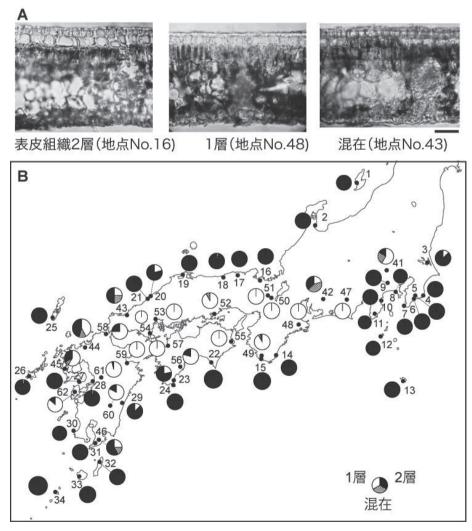


図-2 日本のシイ属における葉の表皮組織の観察結果 (A) とその地理的分布 (B)。スケールバーは20  $\mu$  m、円の大きさはサンプルサイズに相当する。 Aoki et al. (2014) を改変。

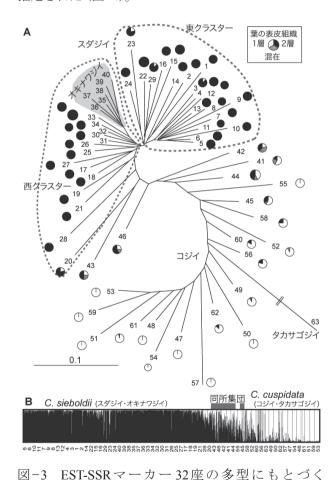
分布は、スダジイとコジイの地理的分布(図-1)とよく合っていた。1つの切片の中に1層と2層の部分が混在する個体は、雑種個体と考えられるが、1層個体と2層個体が同所的に存在する6集団で多くみられた。

DNA解析については、日本のシイ類の分布域を広 く網羅するよう、スダジイおよびコジイ56集団に加 え、オキナワジイ6集団および台湾のタカサゴジイ1 集団の計63集団1502個体から葉を採取してCTAB法 によってDNAを抽出した。まず、葉緑体DNAの種 内多型を探索したが、シイの葉緑体DNAの種内変異 量はきわめて少なく、琉球地域内には少し多型があ るものの、九州以北の地域ではほとんど多型が検出 されなかった (Aoki et al. 投稿中)。 照葉樹林構成植物 種については、多数の植物種で葉緑体 DNA の種内多 型のスクリーニングが行われている (Aoki et al. 2003, 2004a) が、これまで分子植物地理学的に解析されて きた高山植物種 (Fuiii et al. 1996) および夏緑林構成植 物種 (Iwasaki et al. 2006) で検出された種内の変異量と 比べると、非常に低かった (Aoki et al. 2004b)。 おそら く、暖温帯域に分布する照葉樹林構成植物種は、氷期 中の気温低下の影響を夏緑林構成種などよりも強く 受け、ボトルネック効果 (集団が個体数の著しい減少 を経験すると、集団内の遺伝的変異量は減少する) に よって種内の遺伝的多様性の大半を失っていると考 えられた。 そこで、分子進化速度が速いとされてい る核DNA上のマイクロサテライトマーカーを津村義 彦博士・上野真義博士の研究グループと共同で開発 した。シイおよびブナ科で共通して使用できるような EST (Expressed Sequence Tag) に由来するマイクロサテ ライトマーカー 32対 (Ueno and Tsumura 2008; Ueno et al. 2008, 2009a, 2009b) を用いて遺伝構造を解析した。

根井の遺伝距離にもとづくデンドログラムを作成したところ、葉の表皮組織の層数が2層の個体の多い集団 (C. sieboldii スダジイ・オキナワジイ)と1層の個体の多い集団 (C. cuspidata コジイ・タカサゴジイ)の間に遺伝的分化がみられた(図-2A)。葉の表皮組織に1層と2層の部分が混在する個体を含む集団は両者の中間に位置した。また、STRUCTURE解析 (Pritchard et al. 2000)を行ったところ、2つの遺伝的クラスターが推定された(図-2B)。それぞれの個体の表皮組織の層数とSTRUCTURE解析により属した遺伝的クラスターとの間にもはっきりとした対応がみられた (Aoki et al. 2014; 図-2)。すなわち、形態とDNA多型の情報によりスダジイ、コジイ、および両者の交雑個体は区別できることが示された。

## スダジイの地理的遺伝構造と遺伝的多様性

根井の遺伝距離にもとづくデンドログラムによると、C. sieboldii 内では、東クラスターと西クラスター間に遺伝的分化が認められた(図-3)。琉球に生育するオキナワジイはスダジイの西クラスター内に遺伝的にまとまっていた。次に、前章の解析によってほぼ C. sieboldii であると認められた40集団958個体のうち、葉の表皮組織が2層である937個体のみを取り出し、STRUCTURE解析を行った。その結果、琉球(オキナワジイ)、九州〜紀伊半島(スダジイ)、紀伊半島〜関東(スダジイ)の3つのクラスターに分かれると推定された(図-4)。



シイ類の遺伝的分化。(A)根井の遺伝距離にもとづくNJ樹。NJ樹の横の円は、集団内にみられた葉の表皮組織の層数の割合で、円の大きさはサンプルサイズに相当する。(B)STRUCTURE解析のクラスタリングにより推定された2つの遺伝的クラスター。解析個体が2つのクラスターに割りふられた確率を棒グラフで表す。Aoki et al. (2014)を改変。

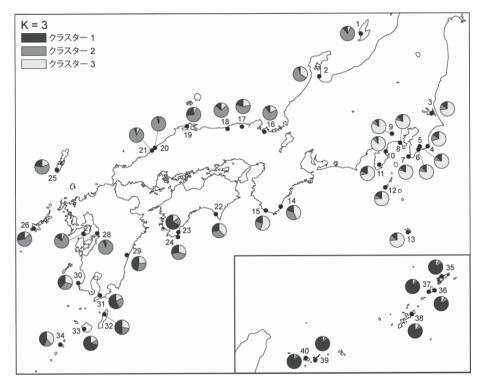


図-4 *Castanopsis sieboldii* (スダジイ、オキナワジイ) における EST-SSR 多型の地理的分布。STRUCTURE 解析のクラスタリングにより推定された3つの遺伝的クラスター。解析個体が3つのクラスターに割りふられた確率を円グラフで表す。Aoki et al. (2014) を改変。

スダジイ・オキナワジイの遺伝的多様性について、 対立遺伝子の豊富さ(アレリックリッチネス)、レア アリル (頻度1%以下のアリル)の頻度、固有アリル(あ る集団でのみみられたアリル)の頻度を計算し、GIS プログラムGRASSを用いて地図化した(図-5)。遺伝 的多様性の地理的傾向をみると、琉球地域の集団でこ れらすべての遺伝的多様性の値が高い傾向があった (図-5)。琉球地域の集団で遺伝的多様性や独自性が高 いことは、他の動植物種でも報告されている(Toda et al. 1997; Seo et al. 2004; Nakamura et al. 2010)。また琉 球地域では、最も寒冷であった最終氷期最盛期の地層 からシイ属の花粉化石が検出されている(黒田 1998: 松岡・三好 1998)。琉球地域では、本州よりかなり南 に位置し、氷期中も比較的温暖な気候であったため、 集団サイズの急激な減少はおこらず、現在も高い遺伝 的多様性を保持していると考えられる。

九州以北の地域では、近畿~中国・四国地域を境にして東地域と西地域間で遺伝的に分化していた(図-4)。また、集団内の遺伝的多様性・独自性は、九州の集団で高い傾向がみられ、これは九州南西部で最終氷期中の地層から照葉樹林構成種の花粉化石がわずかに検出されることと一致する。スダジイで示された日

本列島の東西間での遺伝的分化は、暖温帯に生育する多くの動植物種でもみられている (Aoki et al. 2011中にレビュー)。このことから、スダジイは、氷期中の寒冷期には東地域と西地域に分かれて残っていた可能性があり、最終氷期最盛期における花粉化石情報のなかった日本列島の東側地域にもレフュジアがあった可能性が示唆された。また、北陸地域についてはスダジイの日本海側の分布北限にあたり、アレリックリッチネスやレアアリル頻度の値は低いが、固有アリル頻度の値が比較的高い(図-5)。この地域はスギの氷期中の花粉化石が検出されており(川村 1977)、スギのレフュジアと推定されている地域であるため、今後より詳細な調査が必要である。

# コジイの地理的遺伝構造と遺伝的多様性

シイ類全体の解析 (図-3) によってほぼ *C. cuspidata* であると認められた17集団392個体のうち、葉の表皮組織が1層である368個体のみを取り出し、STRUCTURE解析を行った。その結果、台湾に生育しているタカサゴジイのクラスターとコジイのクラス

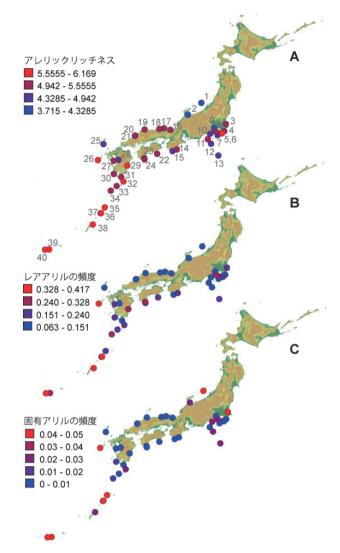


図-5 *Castanopsis sieboldii* (スダジイ、オキナワジイ)における遺伝的多様性の分布。GRASSによって地図化したもの。(A) アレリックリッチネス、(B) レアアリルの頻度、(C) 固有アリルの頻度。Aoki et al. (2014) を改変。

ター2つ、計3つのクラスターに分かれると推定された (Aoki et al. 2014)。また台湾のタカサゴジイは、レアアリル頻度、固有アリル頻度ともにコジイよりも高く、日本のコジイとは遺伝的に異なることがわかった。コジイ内では、STRUCTURE解析で推定された2つのクラスター間に地理的構造は見いだされなかったが、遺伝的多様性は九州地域で最も高かった。九州ではある程度大きな集団が残っていた可能性が高い。

スダジイとコジイで遺伝的多様性を比較すると、 コジイの方が集団内の遺伝的多様性が全体的に高い 傾向があるが、Wilcoxon's signed rank test (Cornuet and Luikart 1996) によると、ほぼすべてのコジイの集団 で最近ボトルネックを経験していることがわかった (Aoki et al. 2014)。これは、コジイ林はスダジイ林よりも内陸の低地部に分布しているので、人間活動の及ぶ影響は大きく、それによって林の分断化がより進んでいるが、分断化が生じてからの年数は浅く、相対的に高い遺伝的多様性が保持されているためと考えられる。

### おわりに

スダジイにみられた近畿~中国・四国地域を境界 とした東西間での遺伝的分化は、暖温帯に生育する他 の動植物種でもみられている。例えば、ホルトノキ、 カナメモチ、タイミンタチバナ、シイシギゾウムシ、 ヒラセノミゾウムシ (Aoki et al. 2011中にレビュー)、 タブノキ (瀬尾・村上 2011)、クロマツ (宮田・生方 1994) などである。このことから近畿~中国・四国地 域には、複数の生物種において、その遺伝子流動を制 限するような、しかも過去から現在にわたって長期間 連続して存在するなんらかの障壁が存在する可能性 が高い。この地域には、現在、南北に縦断する大きな 山脈・渓谷といった物理的障壁になりうる地形は特 に認められず、また気温等の環境要因のギャップも東 西間にはない。しかし、氷期中に陸化していた瀬戸内 海の周辺では乾燥気候のために、マツ科針葉樹が優占 (高原 2011) し、また森林が貧弱であり草原も広がっ ていたと考えられている(亀井・ウルム氷期以降の生 物地理総研グループ 1981)。そして現在の瀬戸内海沿 岸でも比較的乾燥した気候が広がっている。中国・四 国地域では、このような過去から現在にわたる乾燥気 候が、また、近畿~四国地域間では温暖期に出現した 海の存在が、複数の生物種において遺伝子流動を制限 する要因となっている可能性が考えられる。

これらの生物地理学的研究を通して、多数の動植物種について地域ごとに遺伝的多様性のあり方を明らかにすることは、遺伝的多様性の保全や野生植物の移植、街路樹や公園緑化の際の植栽に対しても明確な指針を与えられることを最後に指摘したい(青木・服部2006;青木・村上2015)。日本の暖温帯に分布する多くの野生物種間に共通して東西間に遺伝的分化がみられるという結果は、今後、種内の地域間での遺伝子攪乱等を防ぐ上でも重要な知見であり、日本列島の東西間の遺伝的境界を超えた苗木の移動は控えるべき

であると提言できる。

## 引用文献

- Aoki K, Suzuki T, Murakami N (2003) Intraspecific sequence variation of chloroplast DNA among the component species of evergreen broad-leaved forests in Japan. Journal of Plant Research 116: 337–344
- Aoki K, Hattori T, Murakami N (2004a) Intraspecific sequence variation of chloroplast DNA among the component species of evergreen broad-leaved forests in Japan II. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 55: 125–128
- Aoki K, Suzuki T, Hsu T-W, Murakami N (2004b) Phylogeography of the component species of broad-leaved evergreen forests in Japan, based on chloroplast DNA. Journal of Plant Research 117: 77–94
- 青木京子・服部 保 (2006) 植物地理学の立場から緑 化植物の地域性を考える. ランドスケープ研究 70: 11-14
- Aoki K, Kato M, Murakami N (2011) Review: Phylogeography of phytophagous weevils and plant species in broadleaved evergreen forests: a congruent genetic gap between western and eastern parts of Japan. Insects 2: 128–150
- Aoki K, Ueno S, Kamijo T, Setoguchi H, Murakami N, Kato M, Tsumura Y (2014) Genetic differentiation and genetic diversity of *Castanopsis* (Fagaceae), the dominant tree species in Japanese broadleaved evergreen forests, revealed by analysis of EST associated microsatellites. PLOS ONE 9: e87429
- 青木京子・村上哲明 (2015) ホルトノキ、バクチノキ、カナメモチ、コショウノキ. 津村義彦・陶山佳久編, 地図でわかる樹木の種苗移動ガイドライン, 96-97, 98-99, 108-109, 147-148. 文一総合出版, 東京
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. Genetics 144: 2001–2014
- Fujii N, Ueda K, Shimizu T (1996) Intraspecific sequence variation of chloroplast DNA in Japanese alpine plants. Journal of Phytogeography and Taxonomy 44: 72–81
- 亀井節夫・ウルム氷期以降の生物地理総研グループ (1981) 最終氷期における日本列島の動・植物相. 第 四紀研究 20: 191-205

- Iwasaki T, Aoki K, Seo A, Murakami N (2006) Intraspecific sequence variation of chloroplast DNA among the component species of deciduous broad-leaved forests in Japan. Journal of Plant Research 119: 539–552
- 川村智子 (1977) *Cryptomeria japonica* の分布に関する 花粉分析学的研究, 花粉学会要旨集 11:8-20
- 小林彌一・須川豊伸 (1959) 本邦産クリガシ属樹材 の識別に関する研究. 林業試験場研究報告 118: 139-178
- 小林悟志 (2008) 九州南部における葉の表皮組織の形態に基づくツブラジイとスダジイおよび雑種の分布. 植生学会誌 25: 51-61
- 黒田登美雄 (1998) 南西諸島の植生史. 安田喜憲, 三好教夫編, 図説日本列島植生史, 162-175. 朝倉書店, 東京
- 松岡敷充・三好教夫 (1998) 最終氷期最盛期以降の照 葉樹林の変遷-東シナ海東部から日本海沿岸を中 心として. 安田喜憲・三好教夫編,図説日本列島植 生史,224-236. 朝倉書店,東京
- 宮田増男・生方正俊 (1994) クロマツ天然生林におけるアロザイム変異. 日本森林学会誌 76: 445-455
- Nakamura K, Denda T, Kokubugata G, Suwa R, Yang TYA, Peng CI, Yokota M (2010) Phylogeography of *Ophiorrhiza japonica* (Rubiaceae) in continental islands, the Ryukyu Archipelago, Japan. Journal of Biogeography 37: 1907–1918
- 大場秀章 (1989) ブナ科. 佐竹義輔, 原 寛, 亘理俊次, 冨成忠夫編, 日本の野生植物木本I, 66-78. 平凡社, 東京
- Pritchard JK, Stehens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945–959
- Seo A, Watanabe M, Hotta M, Murakami N (2004) Geographical patterns of allozyme variation in *Angelica japonica* (Umbelliferae) and *Farfugium japonicum* (Compositae) on the Ryukyu Islands, Japan. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 55: 29–44
- 瀬尾明弘・村上哲明 (2011) DNA 情報からみた植物の 分布変遷. 高原 光・村上哲編,環境史をとらえる 技法,45-58. 文一総合出版,東京
- 高原 光 (2011) 日本列島とその周辺域における最終間 氷期以降の植生史. 高原 光・村上哲明編, 環境史 をとらえる技法, 15-43. 文一総合出版, 東京
- Toda M, Nishida M, Matsui M, Wu G-F, Otaii H (1997) Allozyme variation among east Asian populations of the

- Indian rice frog, *Rana limnocharis* (Amphibia: Anura). Biochemical Systematics and Ecology 25: 143–159
- Ueno S, Tsumura Y (2008) Development of ten microsatellite markers for *Quercus mongolica* var. *crispula* by database mining. Conservation Genetics 9: 1083–1085
- Ueno S, Taguchi Y, Tsumura Y (2008) Microsatellite markers derived from *Quercus mongolica* var. *crispula* (Fagaceae) inner bark expressed sequence tags. Genes & Genetic Systems 83: 179–187
- Ueno S, Aoki K, Tsumura Y (2009a) Generation of Expressed Sequence Tags and development of microsatellite markers for *Castanopsis sieboldii* var. *sieboldii* (Fagaceae). Annals of Forest Science 66: 509
- Ueno S, Taguchi Y, Tomaru N, Tsumura Y (2009b)

- Development of EST-SSR markers from an inner bark cDNA library of *Fagus crenata* (Fagaceae). Conservation Genetics 10: 1477–1485
- Yamada H, Miyaura T (2003) Geographic occurrence of intermediate type between *Castanopsis sieboldii* and *C. cuspidata* (Fagaceae) based on the structure of leaf epidermis. Journal of Plant Research 116: 477–482
- 山崎 敬・真柴茂彦 (1987a) 日本、朝鮮、台湾における シイノキ類の分類の再検討 (1). 植物研究雑誌 62: 289-298
- 山崎 敬・真柴茂彦 (1987b) 日本、朝鮮、台湾における シイノキ類の分類の再検討 (2). 植物研究雑誌 62: 332-339