

【解説】シリーズ

日本の森林樹木の地理的遺伝構造 (8)

ハリギリ (ウコギ科ハリギリ属)

阪口 翔太^{*,1}

はじめに

ハリギリ *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz. (ウコギ科ハリギリ属) は、東アジアの温帯域に分布する落葉高木性樹木である。ウコギ科の分子系統学的解析から、単型のハリギリ属は同じく東アジアに固有のウコギ属 *Eleutherococcus* と単系統を成すとされる (Plunkett et al. 2004)。種内分類群としては、琉球産の葉裂片数が少なく、葉に毛が少ないものが変種リュウキュウハリギリ var. *lutchuensis* (Nakai) Ohwi ex H. Ohba として提案されている。また、本種は葉の形態に多型があり、葉面に毛が密生するものをケハリギリ *f. maximowiczii* (Van Houtte) H. Ohashi と呼ぶことがある。しかしハリギリの葉形態を分布域全体から得られた標本に基づいて検討した研究では、こうした変異は明瞭に区別することができず、リュウキュウハリギリでさえ中国南部から得られた標本の変異の中に包含される (Chang et al. 2003)。こうした検証から、本種は全体として高い葉形態の多型性を示す一つの実体と捉えられている。

東アジア地域の植物相は、植物区系学の観点から日華植物区系として一つの区系にまとめられている (Good 1964 ; Takhtajan 1986)。ハリギリの分布はこの日華植物区系によく対応しており、亜熱帯気候の中国南部から亜寒帯のサハリン・極東ロシアに至る広大な地域に分布する (図-1a)。日本列島、朝鮮半島、そして長江以北の中国では温帯性落葉樹林もしくは針広混交林に、中国の長江以南の地域では常緑性広葉樹林の中に混じって生育している。こうした広域分布は長い時間をかけて形成されたと考えられるが、その過程では海峡を超えるような分布拡大や、環境変動による集団の絶滅や分布域の縮小と再拡大が繰り返されたはずである。

これまでに本種では、東アジア全域での遺伝構造につ

いて複数の遺伝マーカーを用いた解析が行われている。本稿ではその解析結果を引用しながら、明らかになってきたハリギリの分布変遷の歴史について解説する。

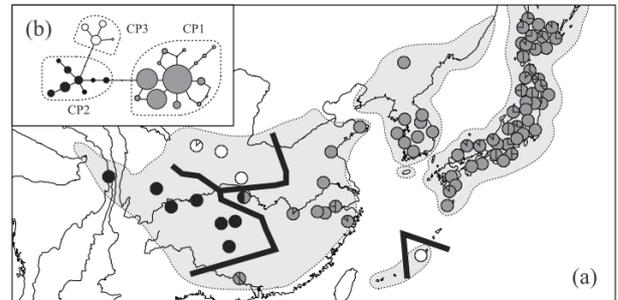


図-1 (a) 東アジアにおけるハリギリの分布域 (灰色網掛け) と葉緑体ハプロタイプの地理的分布。検出されたハプロタイプは地理的にまとまりのある3つの系統に分かれている (系統の分布境界を黒太線で示した)。 (b) ハプロタイプ間の関係を表すネットワーク。Sakaguchi et al. (2012) より改変。

種内系統の古い分化を探る
—葉緑体 DNA 解析—

ハリギリの分布は東アジアに広がっているため、その分布を網羅するように日本・中国・韓国の3か国の研究者が協力し、75地点で2,205個体から葉を採取した。

採取した試料から CTAB 法によってゲノム DNA を抽出し、まずは葉緑体 DNA における遺伝的変異を調べた。被子植物であるハリギリでは葉緑体 DNA は母性遺伝する。本種では父親由来の花粉が昆虫によって母親まで運ばれる距離に比べて、受精後に鳥類などによって種子が散布される距離よりも長い (Fujimori 2007) ため、遺伝時

*E-mail: sakaguchi54@gmail.com

¹ さかぐち しょうた 東京大学総合文化研究科 (日本学術振興会特別研究員)

に核 DNA よりも空間移動距離が短くなる。よって、核やミトコンドリアマーカーよりも強い遺伝構造を示すと考えられた。さらに、半数性のオルガネラ DNA であることから、集団サイズは核 DNA マーカーの半分となり、集団サイズの減少などの過去の集団動態を強く反映することが期待された。

葉緑体の3つの非コード領域を PCR 増幅し、576 個体について塩基配列データを得た。アラインメント後の配列長は 2,055 bp となり、そこから 26 個のハプロタイプが検出された (Sakaguchi et al. 2012)。ハリギリで見つかったハプロタイプと外群であるウコギ属との関係を系統樹推定法によって調べると、ハリギリ種内には 3 つの主要な系統が存在し、それらは階層的に分化していることが明らかになった。最初に分化したのは日本列島から中国東部にかけて広く分布する系統 (CP1) と、それ以外の中国西部に分布する系統群であった。これらの系統の分布はほとんど地理的に重なっておらず、東経 110-115 度を境界とする東西での強い遺伝的分化を示した (図-1)。さらに、中国西部に分布する系統は長江以南に分布する系統 (CP2) と長江の北に位置している大巴・秦嶺山脈の系統 (CP3) に分化していた。

興味深いことに、この系統分布パターンは日華植物区系の 2 つの森林亜区 (東側の日華森林亜区と西側の中国ヒマラヤ森林亜区) の分布に対応していた。これまでに日華植物区系型分布を示す植物のいくつかで同様の系統分化が知られている。例えば、バラ科シモツケ *Spiraea japonica* は 9 変種に分類されており、それぞれの変種が遺伝解析とアルカロイド分析に供された (Zhang et al. 2006)。その結果、日本と朝鮮半島に分布する var. *japonica*、中国沿海部の var. *glabra*、中国中部の var. *fortunei* が 1 つの系統にまとまり、残りの 6 変種がもう 1 つの系統を形成することが分かった。これら 2 つの系統の分布境界は東経 110 度線付近に位置していた。同じく日華植物区系型分布を示すモミジハグマ属植物の系統解析が行われると、およそ 110 万年前から系統分化が始まったこと、そして属内に大きく 3 つの系統が存在することが明らかになった (Mitsui et al. 2008)。このうち、初期に分岐した系統は四川省に分布し、その姉妹系統はその後 2 系統に分化して、それぞれ「ヒマラヤ～中国西部～台湾」地域と「台湾～中国東部～日本列島」地域に分布している。これらの研究では、主要な系統の地理的分布が 2 つの森林亜区の両側に分かれていることから、チベット高原の隆起に伴う地形変動と、それに伴い横断山脈の東西でモンスーン気候が分化したことが本地域での系統分化を引き起こした、として考察されている。

ハリギリについて系統分化が起こった年代を推定したところ、およそ 50 万年前以降であることが示された (Sakaguchi et al. 2012)。ハリギリの葉緑体系統が分化した年代は、全球スケールで氷期-間氷期が繰り返す気候変動が顕在化してきた時代として知られている (Lisiecki and Raymo 2005)。特に、寒冷化と乾燥化が同時に起きた氷期気候は、東アジアのフロラに大きな影響を与えたに違いない。例えば日本列島では、現在は中国・台湾にしか分布しないコウヨウザン属、*Fagus microcarpa* などがこの時代を境に化石群集から消失したことが知られている (Momohara 1994)。こうした歴史的背景を考慮すると、厳しい気候変動に直面した結果、ハリギリの分布は小さく分断化され、種内系統が異所的に分化した可能性が考えられる。化石記録が不十分なため、ハリギリがどのような地域に分断化されていたのかは推測の域を出ないが、CP1 系統の分布はイチョウやイヌカラマツの自生地として知られる天目山から武夷山脈に重なり、CP2 は古固有植物が集中する三峡から雲貴高原の地域、CP3 は大巴・秦嶺山脈と関係があるように見える (図-1)。もしハリギリの葉緑体系統の分布が温帯林の分断化の歴史を表しているのだとすれば、これらの主要な山地域がハリギリにとっての重要な逃避地として機能した可能性が考えられる。

より詳細な地理的遺伝構造を探る —核マイクロサテライト解析—

葉緑体 DNA 解析によりハリギリの種内系統の分化過程が見えてきた。しかし、現在の東アジアの地勢において、本種の重要な地理的障壁となっている東シナ海周辺地域では単一の葉緑体ハプロタイプが優占しており、遺伝的障壁は検出されていない。この結果が、単純に地域集団間で遺伝的分化が存在しないことを示しているのか、それとも突然変異率の低い葉緑体 DNA では十分な遺伝的変異が検出できていないだけなのかは判断できない。また、葉緑体 DNA は組換えを起こさないため単一の遺伝子系譜を反映している。一般に、限られた数の遺伝子座を調べるだけでは、それぞれに特有の系譜のばらつきの影響が大きいため、集団の過去の動態を推定するには不十分とされる。

そこで核ゲノム中に位置し、高い突然変異率をもつマイクロサテライト領域を解析することにした。マイクロサテライト解析では、採取したすべての試料 2,205 個体を

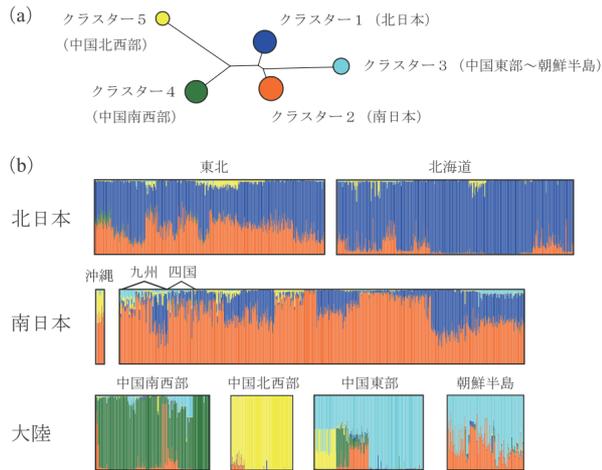


図-2 (a) 核マイクロサテライト遺伝子型に基づいて推定された5つの遺伝的クラスター (STRUCTURE 解析による推定)。クラスター間の関係は近隣結合樹によって表現した。クラスターを示す円のサイズは遺伝的多様性に比例している。(b) 解析した個体が、5つのクラスターに割り振られた確率を棒グラフで示した。個体は1本ずつの棒によって表現されており、それを地域ごとにまとめた。Sakaguchi et al. (2012) より改変。

用いて、6 遺伝子座について解析を行った。その結果、解析した座から 22-34 個の多くの対立遺伝子が検出され、ヘテロ接合度 ($H_s = 0.722$) と遺伝的分化度 ($G'_{ST} = 0.715$) はともに高い値を示した。核マイクロサテライト遺伝子座における遺伝構造を推定するために、STRUCTURE 解析 (Pritchard et al. 2000) を行った。STRUCTURE 解析では、共通祖先をもつ遺伝的クラスターを仮定して、それぞれのクラスターの中でハーディワインベルグ平衡が満たされるようにクラスタリングを行う。そして同時に、各クラスターに個体が割り振られる確率が計算される。

図-2 には、STRUCTURE 解析で推定された5つの遺伝的クラスターの関係 (a) と、採取した地域別の出現頻度 (b) を示した。5つのクラスターの出現頻度は地域的によくまとまっており、葉緑体で検出された遺伝構造に似ていた。クラスター1-3 という分布域の東部を占めるグループは葉緑体 CP1 系統に対応し、クラスター4 と5 という中国西部に分布するグループは葉緑体 CP2 系統と CP3 系統に対応した。また、葉緑体データでは遺伝構造が検出されなかった東シナ海周辺の集団において、核マイクロサテライト解析では明瞭な遺伝的分化が検出された。つまり、南日本 (クラスター2) と中国東部 (クラスター3) の集団は異なるクラスターに属することが明らかにな

った。この結果は、東シナ海が地理的障壁となって南日本と中国東部の集団が遺伝的に分化したこと、そしてそれ以降に地域間でほとんど移住が起こっていないことを示唆している。一方で、朝鮮半島の集団ではこれらのクラスターが混合しており、この地域で系統の二次的接触が起きた可能性が考えられた。

次に、主要な分布域である日本列島と中国の地域集団について、遺伝的多様性と空間遺伝構造の比較を行った。STRUCTURE 解析で推定された5つのクラスターのうち、日本列島に分布する2つのクラスターと中国南西部に分布するクラスター4は高い遺伝的多様性を示した (図-2a) ほか、ともに共通祖先に比較的近い対立遺伝子組成を保持していた。それに対して、地域内の空間遺伝構造は日本と中国の集団間で対照的な結果となった。ここで示すのは、集団間の地理的距離に対して集団間の遺伝的距離をプロットしたグラフである (図-3)。グラフを見てみると、地理的距離が増加するのに応じて、遺伝的距離が増加するという一般的な傾向が表れている。しかしここで注目すべきは、用いた遺伝マーカーの種類に関わらず、中国の集団における遺伝的分化が非常に大きいという結果である。例えば葉緑体でのプロットを見てみると、250km 以内の距離に位置している集団同士でも遺伝的距離は 0.91 という値をとっており、集団間でハプロタイプがほとんど共有されていないことを示している。これに比べると、日本列島の集団間の遺伝的分化がずっと小さいことが分かる。

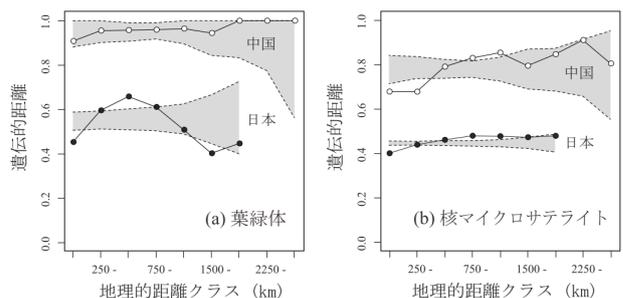


図-3 (a) 葉緑体ハプロタイプと (b) 核マイクロサテライト遺伝子型データに基づいて推定した、日本列島と中国における空間遺伝構造。灰色網掛けは 95% 信頼区間を示す。Sakaguchi et al. (2012) より改変。

気候変動下の分布変遷を再現する

葉緑体 DNA と核マイクロサテライト解析から、日本列

島と中国の地域集団はともに高い遺伝的多様性を保持しながらも、空間遺伝構造の強さは地域間でかなりの違いがあることが示された。このような遺伝構造の違いには、それぞれの地域における過去の分布変遷のパターンが影響している可能性が考えられた。例えば、山地帯をもつ地域では気候変動に伴って垂直分布が上下するが、分布が高標高域にある時期には水平方向での集団間の結びつきが弱くなり、集団間の遺伝的分化が促進されると考えられる。また、分布が高緯度にあるのか、低緯度にあるのかも遺伝構造に影響を与えると考えられる。例えば氷期には高緯度ほど気温が大きく低下するため、低緯度よりも分布が消滅しやすい。

地域によって異なる過去の気候変動の影響を調べるため、ハリギリの分布を気候変数の関数としてモデル化し現在と過去（最終氷期最盛期、約2万1千年前）の分布を再現した（図-4）。予測された現在の分布をみると、中国では間氷期にあたる現在でも最終氷期でも、分布適地が細かく分断化されていることが分かる（図-4）。中国では北緯22-34度にかけての広大な温帯域が丘陵地帯で占められており、多くの温帯性植物で代表的な山塊ごとに固有の葉緑体ハプロタイプ群が検出されている（Qiu et al. 2011）。こうした結果は、少なくとも最近の氷期-間氷期サイクルにおいて、温帯林構成種が山塊の上下を垂直移動するだけで、気候変動をやりすごしてきたことを意味する。

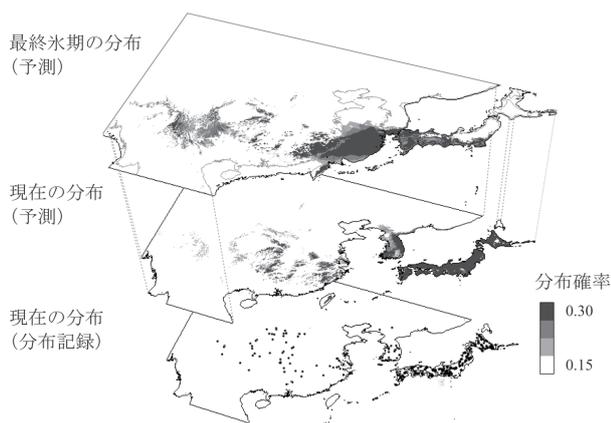


図-4 ハリギリの分布記録，そこから予測した現在と最終氷期最盛期における分布。Sakaguchi et al. (2012) および阪口 (2013) より改変。

一方、より高緯度に位置する日本列島や朝鮮半島では、中国に比べるとハリギリの分布好適地は水平的に広がっ

ていると予測されたが、最終氷期には分布の北方域で分布適地が消滅した可能性が示された（Sakaguchi et al. 2012 ; Sakaguchi et al. 2010）。多くの温帯性植物における系統地理学的解析では、日本列島の南部から北部にかけて遺伝的多様性が減少する傾向が共通することから、本州中部から四国、九州地域において、温帯林が安定的に維持されてきたと考えられている（たとえば、Hiraoka and Tomaru 2009 ; Tomaru et al. 1997）。こうした地域では、ハリギリは氷期には日本海側と太平洋側の低標高域に分布が下降することで分布を維持していた（Sakaguchi et al. 2010）。ここで、中国の状況と異なるのは、氷期において南日本の温帯林は比較的連続した分布適地に再集合していた可能性がある点である。例えば最終氷期において、現在は海峡で隔離されている中国地方と九州北部の温帯林は、干上がった大陸棚上で連結していた可能性が示されている（Iwasaki et al. 2012）。ハリギリにおいて日本列島の集団が比較的弱い空間遺伝構造を示した理由の一つには、氷期には南日本集団で、間氷期には北日本集団で地理的隔離が働きにくかった可能性があるのかもしれない。

最終氷期後の北方への分布拡大

化石記録によれば、最終氷期最盛期の北日本では亜寒帯・寒帯性の植生が広がっていた（Tsukada 1983）。北海道ではトウヒ属やグイマツ、ダケカンバ型のカンバ属が増加し、北部地域の低地ではグイマツやハイマツの点在するツンドラ植生が分布していたとされる。東北地方でも、トウヒ属、チョウセンゴヨウなどの針葉樹が優占しており、温帯性落葉広葉樹の分布は極めて少なかった。よって、現在の北日本に広く分布している温帯林は後氷期に分布を拡大した結果であると考えられている。

後氷期におきた温帯林の拡大に際し、どこに拡大の起点となる集団が分布していたのか、という問題は長年の議論的になってきた。従来は、最終氷期に化石が検出された地点を参考にして、温帯性樹種の分布拡大過程が推察されていたが、近年では十分に化石が残らないほど小さな分布（隠蔽逃避地）が北方に点在しており、そうした場所から分布の拡大が起きたとする考え方が提唱されている（Stewart and Lister 2001）。もしこれまで有力視されてきたような南方地域よりも北方に逃避地が存在していたとすれば、後氷期における種の分布拡大のシナリオが見直されるほか、種の分散速度の推定が大きく変わることになる（McLachlan et al. 2005）。

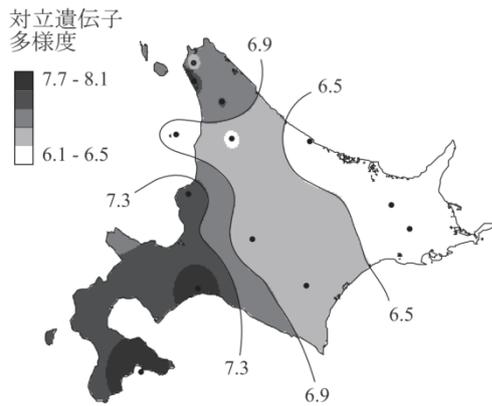


図-5 北海道における集団の遺伝的多様性（対立遺伝子多様度）の地理的変異。Sakaguchi et al. (2011) および阪口 (2013) より改変。

図-5には、マイクロサテライト解析で推定された北海道のハリギリ集団の遺伝的多様性を地図上に示した。この図からは、北海道南西部の集団で最も多様性が高く、北東部にかけて多様性が低くなる傾向が見取れる。理論的研究から、樹木集団の遺伝的多様性は移住の過程で確率的に減少することが予測されており (Austerlitz and Gamier-Gere 2003)、北海道で観察されるハリギリの遺伝的多様性の減少は、おそらく過去の分布拡大の歴史を反映しているものと考えられる (Sakaguchi et al. 2011)。これに従えば、最終氷期最盛期の北海道の大部分の地域ではハリギリの分布は消滅し、その後道南部より南の地域から分布が再拡大したと推察される。

東北地方のハリギリ集団の遺伝構造を、核マイクロサテライトマーカーを用いて詳細に解析にすると、太平洋側と日本海側での分化が検出されている (Sakaguchi et al. 2011)。また、分布予測モデルによる解析では、最終氷期最盛期の北東北地方の沿岸部にハリギリの分布好適地が予測されたことから、脊梁山脈を隔てた集団分化は、この地での氷期の隔離分布を反映しているものと考えられた。したがって、後氷期におけるハリギリの北方への分布拡大は、北東北から道南にかけての地域を起点として始まったと推察できる。同様に近年の系統地理学的研究においても、最終氷期最盛期に少なくとも北東北以北に温帯性樹木が分布していた遺伝的証拠が提示されてきている (Hu et al. 2010 ; Kimura et al. 2014 ; Tsuda and Ide 2005)。

おわりに

本稿ではハリギリを対象とした一連の系統地理学的研究を紹介した。広大な東アジアで分化してきたハリギリの遺伝解析を行うことにより、本種の地域固有性や集団動態史が過去数十万年間という長期の環境変動を反映して成立したことが示された。森林内に低密度に点在するハリギリは大規模に植林されることも少なく、比較的分布量の多い北海道においても天然生木が利用されているため、日本では人為による遺伝構造攪乱の恐れは低い。しかし、中国ではハリギリの速い初期成長率が注目され、緑化木としての植栽やコウヨウザン植林地に共植えされ始めていると聞く。特に中国では強い遺伝構造が検出されているので、歴史的遺産ともいえる本種の遺伝構造が乱されることなく、将来へと存続することを希望している。

また、ハリギリがこれほどまでに広域分布を獲得できた背景には、高い環境異質性を有する東アジアにおいて適応進化を遂げてきたことが寄与していると考えられる。実際、北海道の集団（北緯44度）では冬芽が-70℃までの低温に耐えられるのに対し、琉球列島の集団（北緯26度）では-10℃までの耐凍性しか持たないことが知られている (Sakai 1977)。本稿で紹介した遺伝構造解析には進化的に中立と考えられる遺伝マーカーが利用されているが、今後そうした地域適応に関連するゲノム領域が特定され、その進化に関する知見が深まれば、樹木の広域分布性を支える遺伝的基盤を理解できるだけでなく、将来の環境変動に直面した時の集団動態をより正確に予測する手掛かりになるのではないだろうか。

引用文献

- Austerlitz F, Gamier-Gere PH (2003) Modelling the impact of colonisation on genetic diversity and differentiation of forest trees: interaction of life cycle, pollen flow and seed long-distance dispersal. *Heredity* 90: 282–290
- Chang CS, Kim H, Kang HS, Lee DK (2003) A morphometric analysis of the eastern Asian *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz. (Araliaceae). *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 44: 337–344
- Fujimori N (2007) Mechanisms of population maintenance in sparsely distributed species, *Kalopanax pictus*. PhD Dissertation. Kyoto University, Kyoto
- Good R (1964) The geography of the flowering plants.

- Longmans, London
- Hiraoka K, Tomaru N (2009) Genetic divergence in nuclear genomes between populations of *Fagus crenata* along the Japan Sea and Pacific sides of Japan. *Journal of Plant Research* 122: 269–282
- Hu LJ, Uchiyama K, Saito Y, Ide Y (2010) Contrasting patterns of nuclear microsatellite genetic structure of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* between northern and southern populations in Japan. *Journal of Biogeography* 37: 1131–1143
- Iwasaki T, Aoki K, Seo A, Murakami N (2012) Comparative phylogeography of four component species of deciduous broad-leaved forests in Japan based on chloroplast DNA variation. *Journal of Plant Research* 125: 207–221
- Kimura M, Uchiyama K, Nakao K, Moriguchi Y, San Jose-Maldia L, Tsumura Y (2014) Evidence for cryptic northern refugia in the last glacial period in *Cryptomeria japonica*. *Annals of Botany* 114: 1687–1700
- Lisiecki LE, Raymo ME (2005) A Pliocene-Pleistocene stack of 57 globally distributed benthic delta $\delta^{18}\text{O}$ records. *Paleoceanography* 20: PA1003
- McLachlan JS, Clark JS, Manos PS (2005) Molecular indicators of tree migration capacity under rapid climate change. *Ecology* 86: 2088–2098
- Mitsui Y, Chen ST, Zhou ZK, Peng CI, Deng YF, Setoguchi H (2008) Phylogeny and biogeography of the genus *Ainsliaea* (Asteraceae) in the Sino-Japanese region based on nuclear rDNA and plastid DNA sequence data. *Annals of Botany* 101: 111–124
- Momohara A (1994) Floral and paleoenvironmental history from the late Pliocene to middle Pleistocene in and around Central Japan. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 108: 281–293
- Plunkett GM, Wen J, Lowry PP (2004) Intrafamilial classifications and characters in Araliaceae: Insights from the phylogenetic analysis of nuclear (ITS) and plastid (*trnL-trnF*) sequence data. *Plant Systematics and Evolution* 245: 1–39
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959
- Qiu YX, Fu CX, Comes HP (2011) Plant molecular phylogeography in China and adjacent regions: Tracing the genetic imprints of Quaternary climate and environmental change in the world's most diverse temperate flora. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 225–244
- Sakaguchi S, Qiu Y-X, Liu Y-H, Qi XS, Kim SH, Han J, Takeuchi Y, Worth JRP, Yamasaki M, Sakurai S, Isagi Y (2012) Climate oscillation during the Quaternary associated with landscape heterogeneity promoted allopatric lineage divergence of a temperate tree *Kalopanax septemlobus* (Araliaceae) in East Asia. *Molecular Ecology* 21: 3823–3838
- Sakaguchi S, Sakurai S, Yamasaki M, Isagi Y (2010) How did the exposed seafloor function in postglacial northward range expansion of *Kalopanax septemlobus*? Evidence from ecological niche modelling. *Ecological Research* 25: 1183–1195
- Sakaguchi S, Takeuchi Y, Yamasaki M, Sakurai S, Isagi Y (2011) Lineage admixture during postglacial range expansion is responsible for the increased gene diversity of *Kalopanax septemlobus* in a recently colonised territory. *Heredity* 107: 338–348
- 阪口翔太 (2013) 日華植物区系におけるハリギリの生物地理. 池田啓・小泉逸郎編, 系統地理学 —DNA で解き明かす生きものの自然史—. 文一総合出版, 東京, pp 101–123
- Sakai A (1977) Frost hardiness of evergreen and deciduous broad-leaved trees native to Japan. *Low Temperature Science. Series B* 35: 15–43
- Stewart JR, Lister AM (2001) Cryptic northern refugia and the origins of the modern biota. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 608–613
- Takhtajan A (1986) *Floristic Regions of the World*. University of California Press, Berkeley
- Tomaru N, Mitsutsuji T, Takahashi M, Tsumura Y, Uchida K, Ohba K (1997) Genetic diversity in *Fagus crenata* (Japanese beech): Influence of the distributional shift during the late-Quaternary. *Heredity* 78: 241–251
- Tsuda Y, Ide Y (2005) Wide-range analysis of genetic structure of *Betula maximowicziana*, a long-lived pioneer tree species and noble hardwood in the cool temperate zone of Japan. *Molecular Ecology* 14: 3929–3941
- Tsukada M (1983) Vegetation and climate during the last glacial maximum in Japan. *Quaternary Research* 19: 212–235
- Zhang ZY, Fan LM, Yang JB, Hao XJ, Gu ZJ (2006) Alkaloid polymorphism and its sequence variation in the *Spiraea japonica* complex (Rosaceae) in China: Traces of the biological effects of the Himalaya-Tibet plateau uplift. *American Journal of Botany* 93: 762–769