

【解説】シリーズ

日本の森林樹木の地理的遺伝構造 (19)

アカエゾマツ (マツ科トウヒ属)

逢沢 峰昭^{*,1}

はじめに

マツ科トウヒ属であるアカエゾマツ *Picea glehnii* (F. Schmidt) Mast. は、北海道を中心に、サハリン南端部、南千島 (国後島、択捉島、色丹島)、岩手県早池峰山にみられる (図-1)。このうち、サハリン南端部と早池峰山の集団はごく小さく、他から隔離分布している。とりわけ、早池峰山の集団では、胸高直径 20 cm 以上の成木は 60 本、稚樹・成木を含めては 1,000 本以下といわれている (杉田 2004)。アカエゾマツは、生育立地の適応幅が広く、湿地、蛇紋岩、火山灰礫地、砂丘、岩礫地などに局所的に純林や小集団を形成する。

アカエゾマツは北海道の主要な林業樹種であり、建築材のほか、木目が美しいことから家具材や楽器材として利用されている。北海道 (平成 27 年度) における蓄積は 2,311 万 m³ で、トドマツ、カラマツ、エゾマツに次いで 4 番目に大きく、造林面積もトドマツ、カラマツに次いで大きく約 16 万 ha (統計上エゾマツも含む) がごく小さい) である (北海道水産林務部 2017)。近年、造林が進められており、年間の苗木生産量はカラマツ、トドマツに次いで多い。このように、アカエゾマツは北海道の林木育種の素材として重要であり、これまで開葉時期 (岡田 1975)、材質 (飯塚ら 1999)、アロザイム (Wang and Nagasaka 1997) などについて、産地間変異が明らかにされている。しかし、地域による遺伝的差異 (地理的遺伝構造) を評価する上では、マツ科では母性遺伝するミトコンドリア (mt) DNA や多型性の高い核 DNA のマイクロサテライト領域 (核 SSR) を用いた調査も必要になると考えられる。

また、アカエゾマツは植物系統地理学的な観点からもよい研究素材になると予想される。すなわち、現在、北海道南端部から本州の福島県中部以北にかけて、東

北地方を挟んでトウヒ属の分布の空白地帯がみられる。しかし、この地域では、第四紀の更新世中期から最終氷期にかけての地層から球果などのアカエゾマツの大型化石遺体が産出しており (図-1)、かつてこの地域にはアカエゾマツが広く分布したことが示唆されている。このような第四紀の気候変動にともなう分布域の拡大・縮小といった系統地理学的シナリオを検証する上で、化石情報が多く、早池峰山に隔離分布集団をもつアカエゾマツは適していると考えられる。

さらに、北海道では、アカエゾマツとともに同じト

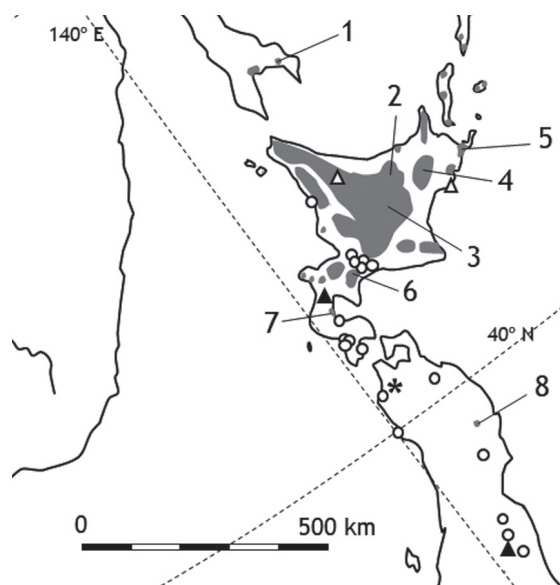


図-1 アカエゾマツの天然分布 (灰色部)、遺伝解析集団 (1 ~ 8) および更新世におけるアカエゾマツの大型化石遺体の産出地。○は最終氷期頃 (約 35,000 ~ 15,000 年前)、▲は更新世中期、△は更新世前期の産地を示す。*は古代葉緑体 DNA を解析した結果、アカエゾマツと同定された最終氷期の球果化石の産地を示す。

* E-mail: aizawam@cc.utsunomiya-u.ac.jp

¹ あいざわみねあき 宇都宮大学農学部

ウヒ属のエゾマツ (*Picea jezoensis* var. *jezoensis*) が分布している。針葉断面の形状が前者では四稜形、後者では扁平と異なることから、両者はかつてトウヒ属の中でも比較的遠い系統関係にあるものと考えられてきた。しかし、Ran et al. (2006) の世界のトウヒ属樹種の分子系統解析の結果、両者は近縁であることが明らかになった。両者は部分的に混生あるいは湿原の周辺では接して生育しており、稀に天然雑種を形成する (濱谷ら 1989 ; Aizawa et al. 2016)。トウヒ属を含むマツ科では、近縁種との間で浸透交雑や種間雑種の形成が知られており (例えば、Perron and Bousquet 1997, Hamilton and Aitken. 2013, Sun et al. 2014)、これらは、アカエゾマツの地理的遺伝構造に影響を与えている可能性が予想される。そこで、エゾマツを含めた解析を行うことで、交雑帯などの検出が可能になるかもしれない。

本論では、多型性の高い核 SSR を用いてアカエゾマツの地理的遺伝構造と遺伝的多様性を明らかにし、化石産出記録を基に、アカエゾマツの地史的分布変遷について明らかにした。さらに、マツ科では母性遺伝する mtDNA と核 SSR を用いて、エゾマツとアカエゾマツにおける浸透交雑と種間雑種の可能性について検討を行った。なお、詳細については、Aizawa et al. (2015) を参照されたい。

地理的遺伝構造と分布変遷

アカエゾマツの分布域である、サハリン南端部、石北峠、幌鹿峠、阿寒湖、落石、恵庭、長万部、早池峰山の 8 集団において、各集団 20 ~ 62 個体、合計 308 個体のアカエゾマツの針葉を採取し、全 DNA を抽出した。そして、ヨーロッパトウヒやシロトウヒで開発された 6 遺伝子座の核 SSR を用いて遺伝子型を決定した。このデータを基に、各集団における遺伝的多様性のほか、主座標分析と STRUCTURE 解析 (Pritchard et al. 2000) を基に、地理的遺伝構造を調べた。

核 SSR 解析の結果、隔離分布小集団である早池峰山とサハリン南端部の集団は遺伝的に分化しており、特に早池峰山集団の遺伝的分化は著しかった (図-2、3)。

STRUCTURE 解析における遺伝的浮動の程度を示す F を比較すると、早池峰山で 0.355、サハリン南端部で 0.105、北海道で 0.009 と、早池峰山集団で著しく高かった (図-3 ; $K=3$)。また、ヘテロ接合度の期待値 (H_s) は全体的に大きな違いはみられないものの、早池峰山集団でやや低かった。さらに、対立遺伝子

多様度 (AR)、各集団固有の対立遺伝子多様度 (PA)、出現頻度が 1% 以下の稀な対立遺伝子多様度 (RA) は、早池峰山集団で顕著に低く、サハリン南端部集団でも低かった (図-4)。

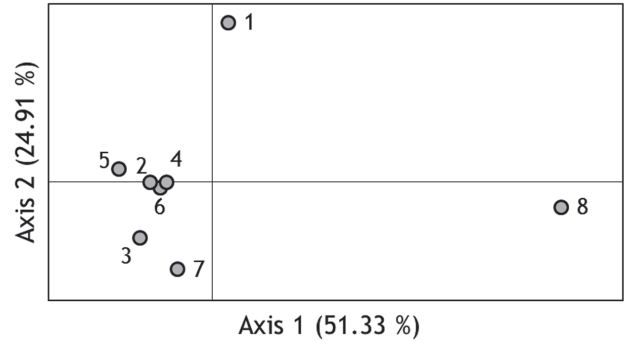


図-2 核 SSR を用いた主座標分析の結果。集団番号は図-1 を参照。

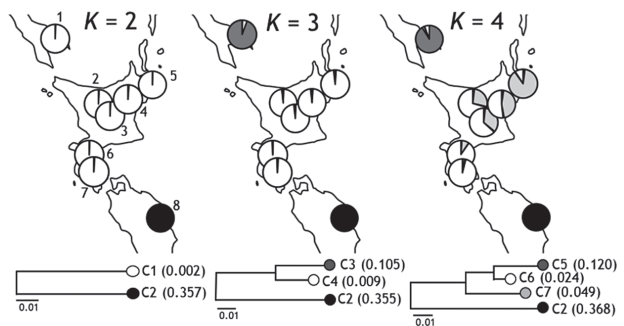


図-3 核 SSR を用いた STRUCTURE 解析の結果。括弧内の数値は遺伝的浮動の大きさを表す F 値を示す。

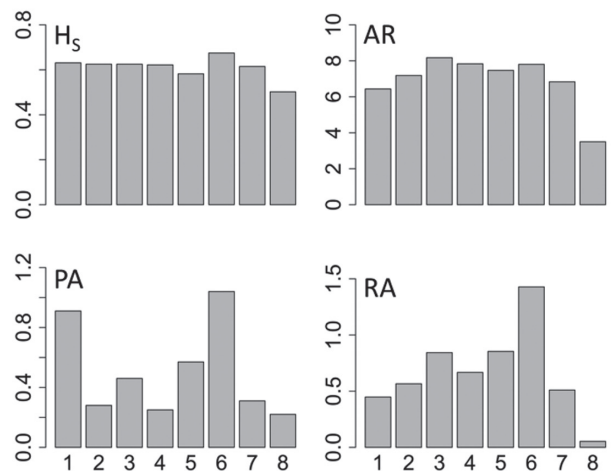


図-4 核 SSR を用いた各集団の遺伝的多様性。横軸の集団番号は図-1 を参照。

前述のように、東北地方の最終氷期頃 (35,000 ~ 15,000 年前) の地層からアカエゾマツの大型化石遺体が産出している (図-1; 五十嵐・熊野 1981; Suzuki 1991)。また、青森県の最終氷期の地層 (約 21,160 年前) から採取した球果化石の古代葉緑体 DNA を分析した結果、現生のアカエゾマツに相当することが明らかになっている (Kobayashi et al. 2000; 図-1 のアスタリスク)。したがって、アカエゾマツは少なくとも 2 万年前まで東北地方に分布しており、その後、おそらく 1 万年前以降の後氷期の温暖化・多雪化に伴い、大部分の集団は東北地方から絶滅し、早池峰山に遺存した集団は、その後の小集団化と遺伝的浮動により、遺伝的多様性が著しく低下するに至ったと考えられる。また、サハリン南端部集団にみられた低い遺伝的多様性も、約 1 万年前の宗谷海峡の形成にともなう北海道集団からの隔離とその後の遺伝的浮動によって形成されたものと推察される。

北海道のアカエゾマツについて、STRUCTURE 解析の結果をみると (図-3; $K=4$)、クラスター (C6) の割合は、石狩平野以南で高く、東に向かって低くなる傾向がみられた。最終氷期には、北海道北部・中部・東部は森林ツンドラで覆われており、アカエゾマツを含む針葉樹林は石狩平野以南に限定されていたとされる (五十嵐・熊野 1981)。また、本研究および Wang and Nagasaka (1997) では石狩平野の南に位置する恵庭の遺伝的多様性が最も高かった。したがって、北海道西部から東部に向かってみられる遺伝的組成のクラインは、氷期に石狩平野以南にあったレフュージアから東部への後氷期の分布拡大によって生じた可能性が示唆される。

浸透交雑と種間雑種形成

浸透交雑や種間雑種形成がアカエゾマツとエゾマツの間に広域的にみられるかどうか調べるため、アカエゾマツとともに、Aizawa et al. (2009) のエゾマツのサハリン 3 集団、北海道 5 集団、および本論で新たに追加解析した利尻島 (RSR) および落石 (OCI) のエゾマツ集団、および本州のトウヒ (*Picea jezoensis* var. *hondoensis*) 1 集団 (尾瀬) を使用した (図-5)。そして、これらの核 SSR の解析データのうち、本論のアカエゾマツで使用したものと共通する 4 遺伝子座を用いて解析を行った。さらに、mtDNA の *nad1* イントロン b/c 領域の塩基配列とハプロタイプを決定し、最節約によりハプロタイプ間の系統的關係を推定した。STRUCTURE 解析の

結果、核 SSR を用いることで、アカエゾマツは、エゾマツおよびトウヒから明確に区別された (図-5a)。しかし、サハリン南端部のアカエゾマツでは、エゾマツで優占するクラスターがおおよそ 4 分の 1 を占めていた。mDNA 解析の結果、H2 が両種に共通してみられたものの、アカエゾマツでは H4 が、エゾマツでは H3 が優占しており、前者が H3 を、後者が H4 を持つことはなかった (図-5b, c)。一方興味深いことに、サハリン南端部のアカエゾマツ集団ではすべての個体がサハリンのエゾマツがもつハプロタイプ (H1) を保有していた (図-5b)。サハリン南端部では、アカエゾマツは極めて稀で (Takahashi 2004)、湿原の周りに生育している (館脇・山中 1938)。北海道では湿原の周りで両者の雑種が稀にみられる (濱谷ら 1989; Aizawa et al. 2016) ことを考慮すると、サハリン南端部にみられる両種の核 DNA の混合とアカエゾマツの mtDNA がサハリンのエゾマツのものに置換されている現象は、雑種形成を通して生じた可能性がある。このような、ある種からもう一方の近縁種への非対称的な浸透交雑はマツ科樹種でしばしばみられる (Du et al. 2009, 2011; Godbout et al. 2012)。この非対称的な浸透交雑の形成過程に関するモデルによると、ある種がその近縁種の分布域に侵入する場合、オルガネラ DNA の浸透は、すでに分布している種から侵入した種に向かって非対称的に起きる (Currat et al. 2008; Du et al. 2011; Petit and Excoffier 2009)。しかし、このモデルに従うと、本論でみられた現象が起きるためには、アカエゾマツがエゾマツの分布域に侵入し、その侵入したアカエゾマツの集団サイズが指数関数的に大きくなる必要がある。しかし、現在のサハリンにおけるアカエゾマツの分布が南端部に限られ、かつごく小さな集団であることを考慮すると、このモデルは当てはまらない。しかし、このモデルでは、ある種がその近縁種の分布域に侵入する場合、すでに分布している種の集団サイズが、侵入する種と比較して著しく小さい場合、例外的に逆方向のオルガネラ DNA の浸透が起きるとされる (Du et al. 2011)。これまでのサハリンにおける花粉分析の結果に基づくと、サハリン南部において、後氷期以降エゾマツの分布が拡大したことが示唆されている (Aizawa et al. 2009)。したがって、本研究でみられた両種の核 DNA の混合とアカエゾマツの mtDNA がサハリンのエゾマツのものに置換されている現象は、1 万年前に宗谷海峡の形成により北海道とサハリンが分断化した後に、サハリンのエゾマツが、サハリン南端部に取り残されたアカエゾマツの分布域に侵入・拡大することで、より集団サイズの大きいエゾマツか

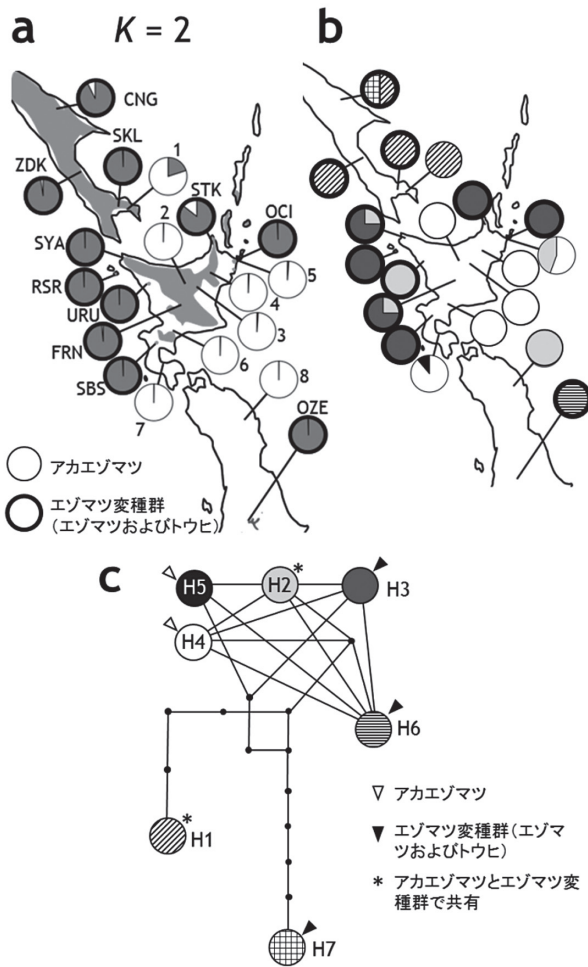


図-5 アカエゾマツとエゾマツ変種群（エゾマツおよびトウヒ）を合せた遺伝解析の結果。(a) 核SSRを用いたSTRUCTURE解析の結果 ($K=2$)とエゾマツ変種群の分布域（灰色部）、(b) mtDNAハプロタイプの分布、および(c) ハプロタイプの系統的關係。

らアカエゾマツに向かって遺伝子の浸透が生じることで形成されたと推察される。

一方、ハプロタイプH2はエゾマツとアカエゾマツで共通してみられた。しかし、H2の分布傾向に地理的なまとまりはみられない。アカエゾマツとエゾマツはトウヒ属の中では近縁であることから、両種間におけるH2の共有は、浸透交雑によるものではなく、祖先的多型のincomplete lineage sorting（不完全系統仕分け）によるものと考えられる。隔離分布している早池峰山のアカエゾマツ集団や、集団サイズのごく小さい雨龍のエゾマツ集団においてH2が固定されているのは、遺伝的浮動の影響と推察される。一方、アカエゾマツとエゾマツを用いた解析では、他のマツ科樹種で観察され

ているような広域的な交雑帯はみられなかった。エゾマツとアカエゾマツは稀に雑種を形成するものの、両種には生育地や開花フェノロジーに差異がみられる（濱谷ら1989）。このような生殖前隔離が両種の間働いている可能性がある。

アカエゾマツとエゾマツの種間雑種

米国のハーバード大学樹木園には、アカエゾマツとトウヒの雑種として記載された *Picea × notha* Rehder が植栽されている。Rehder (1935) の原記載によれば、1894年（明治27年）に東京山林学校からアカエゾマツとして取り寄せた種子から育てた15本のうちの1本がこの雑種であったとされ、この雑種は枝に褐色の毛がある点でトウヒと区別できるとされる。Rehderは、この種子は、トウヒが近くに生育していて、そのトウヒから受粉したアカエゾマツのものにちがいないと記している。筆者は学生時代にこの記載を見て以来、アカエゾマツとトウヒの天然分布域は重ならないことから、果たして本当にアカエゾマツとトウヒの雑種なのか疑問に思い、遺伝的に解明できないかと思案していた。幸いにも一昨年、ハーバード大学樹木園の協力を得て、*Picea × notha* の試料を取り寄せることができた。そこで、アカエゾマツ、エゾマツ、トウヒ、アカエゾマツとエゾマツの人工交配F₁雑種および *Picea × notha* に対して、アカエゾマツとエゾマツのmtDNA（母性遺伝）と葉緑体DNA（父性遺伝）の識別マーカー（Aizawa et al. 2016）と核SSRの9遺伝子座を用いて解析を行った（Aizawa et al. in press）。その結果、*Picea × notha* は、アカエゾマツを母親、エゾマツを父親とするF₁雑種であることが明らかとなった。つまり、北海道に分布する天然雑種と同じもので、*Picea × notha* は日本に天然分布することが明らかとなった。この雑種は枝に褐色の毛がある点でエゾマツと区別できるため、和名として「ケエゾマツ」の新称を与えた（Aizawa et al. in press）。

ところで、なぜRehderがトウヒを父親候補として挙げたのか、そして、種子は植栽木由来あるいは天然林由来なのかという疑問が残る。種子を取り寄せたという東京・西ヶ原にあった東京山林学校は1894年の時点で、すでに東京農林学校として駒場に移転しており、西ヶ原に残った山林局樹木試験場の開設当時（1878年）の植栽樹木配置図（北区飛鳥山博物館所蔵）から、アカエゾマツ、エゾマツ、トウヒのいずれも植栽されていないことがわかった。文献を調べると、山林局樹木試

験場は、1879年頃から全国の樹木種子を採取して集め、それを国内外に送付していた。トウヒを父親候補として挙げた理由は不明のままであるが、*Picea* × *notha* を含むアカエゾマツ種子は、北海道から取り寄せたものに由来するのかもしれない。

おわりに

本研究によって、早池峰山やサハリン南端部のアカエゾマツの隔離分布集団は遺伝的に大きく分化していることが明らかとなった。また、北海道内ではmtDNAに明瞭な遺伝的分化はみられないものの、核SSRで見ると、東西の遺伝的組成の違いが示唆された。今日、アカエゾマツの造林面積の増加に伴い、苗木生産量が増加している。アカエゾマツの種苗生産に当たり、道内東西の種子・苗木の移動は避けたほうがよいだろう。

引用文献

- Aizawa M, Yoshimaru H, Saito H, Katsuki T, Kawahara T, Kitamura K, Shi F, Sabirov R, Kaji M (2009) Range-wide genetic structure in a north-east Asian spruce (*Picea jezoensis*) determined using nuclear microsatellite markers. *Journal of Biogeography* 36: 996–1007
- Aizawa M, Yoshimaru H, Takahashi M, Kawahara T, Sugita H, Saito H, Sabirov RN (2015) Genetic structure of Sakhalin spruce (*Picea glehnii*) in northern Japan and adjacent regions revealed by nuclear microsatellites and mitochondrial gene sequences. *Journal of Plant Research* 128: 91–102
- Aizawa M, Yoshimaru H, Ogawa H, Goto S, Kaji M (2016) Natural hybridization of Yezo and Sakhalin spruce in central Hokkaido, revealed by DNA markers with contrasting modes of inheritance. *Plant Species Biology* 31: 188–195
- Aizawa M, Iwaizumi GM, Yoshimaru H, Goto S (in press) Identification of the parental species of a putative hybrid spruce *Picea* × *notha* using DNA markers with contrasting modes of inheritance. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*
- Currat M, Ruedi M, Petit RJ, Excoffier L (2008) The hidden side of invasions: massive introgression by local genes. *Evolution* 62: 1908–1920
- Du FK, Petit RJ, Liu JQ (2009) More introgression with less gene flow: chloroplast vs. mitochondrial DNA in the *Picea asperata* complex in China, and comparison with other conifers. *Molecular Ecology* 18: 1396–1407
- Du FK, Peng XL, Liu JQ, Lascoux M, Hu FS, Petit RJ (2011) Direction and extent of organelle DNA introgression between two spruce species in the Qinghai-Tibetan Plateau. *New Phytologist* 192: 1024–1033
- Godbout J, Yeh FC, Bousquet J (2012) Large-scale asymmetric introgression of cytoplasmic DNA reveals Holocene range displacement in a North American boreal pine complex. *Ecology and Evolution* 2: 1853–1866
- Hamilton JA, Aitken SN (2013) Genetic and morphological structure of a spruce hybrid zone (*Picea sitchensis* × *P. glauca*) zone along a climatic gradient. *American Journal of Botany* 100: 1651–1662
- 濱谷稔夫・渡邊定元・梶幹男・倉橋昭夫・佐々木忠兵衛・小笠原繁男 (1989) アカエゾマツとエゾマツの天然雑種の形態的並びに生育上の特徴. 東京大学農学部演習林報告 81: 53–68
- 北海道水産林務部 (2017) 平成 27 年度北海道林業統計
- 五十嵐八枝子・熊野純男 (1981) 北海道における最終氷期の植生変遷. 第四紀研究 20: 129–141
- 飯塚和也・安久津久・板鼻直栄 (1999) アカエゾマツ精英樹クローンの材質変異. 日本林学会誌 81: 325–329
- Kobayashi K, Yoshikawa J, Suzuki M (2000) DNA identification of *Picea* species of the Last Glacial Age in northern Japan. *Japanese Journal of Historical Botany* 8: 67–80
- 岡田 滋 (1975) アカエゾマツの産地間変異 (I) 苗高と開葉時期の産地間変異. 日本林学会誌 57: 305–310
- Perron M, Bousquet J (1997) Natural hybridization between black and red spruce. *Molecular Ecology* 6: 725–734
- Petit RJ, Excoffier L (2009) Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology and Evolution* 24: 386–393
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959
- Ran JH, Wei XX, Wang XQ (2006) Molecular phylogeny and biogeography of *Picea* (Pinaceae): Implications for phylogeographical studies using cytoplasmic haplotypes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41: 405–419

- Rehder A (1939) New species, varieties and combinations from the collections of the Arnold Arboretum. *Journal of the Arnold Arboretum* 20: 85–101
- Sun Y, Abbot RJ, Li L, Li L, Zou J, Liu J (2014) Evolutionary history of Purple cone spruce (*Picea purpurea*) in the Qinghai-Tibet Plateau: homoploid hybrid origin and Pleistocene expansion. *Molecular Ecology* 23: 343–359
- Suzuki K (1991) *Picea* cone-fossils from Pleistocene strata of northeast Japan. *Saito Ho-on Kai Museum of Natural History Research Bulletin* 59:1–41
- 杉田久志 (2004) 早池峰山のアカエゾマツ南限隔離遺存集団. *森林科学* 42: 77–81
- Takahashi H (2004) Distribution patterns of gymnosperms in Sakhalin and a comparison with those in the Kurils: newly proposed S-K index. *Bulletin of the Hokkaido University Museum* 2: 3–13
- 舘脇 操・山中敏夫 (1938) アカエゾマツの北限地帯. *北海道林業会報* 36: 1–6
- Wang ZM, Nagasaka K (1997) Allozyme variation in natural populations of *Picea glehnii* in Hokkaido, Japan. *Heredity* 78: 470–475