

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03317

研究課題名(和文) 表現型可塑性に着目した標高適応トレードオフのメカニズム解明

研究課題名(英文) Analyses of mechanisms of the trade-off in altitudinal adaptation in relation to phenotypic plasticity

研究代表者

彦坂 幸毅 (Hikosaka, Kouki)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：10272006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：伊吹山の標高傾度に連続的に分布するハクサンハタザオの高標高/低標高エコタイプを材料に、標高適応に関する形質・遺伝子分化やその背景となるトレードオフの探索を行った。高標高エコタイプと低標高エコタイプは様々な遺伝子・形質が異なることから、多数のF2個体を調べることで、形質や遺伝子の分離を試みた。本研究では、特に低温に対する適応に着目し、葉が凍り始める温度と、低温(5℃)での光阻害耐性の解析を行った。その結果、葉が凍り始める温度、低温での光阻害耐性ともに高標高・低標高エコタイプ間で有意差があり、形質分化が起きていることを明らかにした。さらにゲノム解析を行い、それぞれと相関がある遺伝子を特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

標高適応に関連した低温耐性がエコタイプ間で違うことを明らかにしたとともに、関連する遺伝子の特定に成功した。これらの知見は、温暖化を含む生物の温度応答の理解を深めるとともに、低温耐性作物の作出に貢献する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We studied traits and genome of high and low altitudinal ecotypes of *Arabidopsis halleri* to find traits and genes related to altitudinal adaptations and trade-offs for their background. We produced many F2 hybrids of high and low latitudinal ecotypes and analyzed their tolerance to freezing temperature and photoinhibition at low temperatures. We found that high altitudinal ecotype is more tolerant to both freezing temperature and photoinhibition at low temperatures. We performed the genome-wide association analysis for the traits and detected several genes that are correlated with freezing or photoinhibition tolerance. We also found a trade-off between tolerance to photoinactivation of photosystem II and rate of recovery in photoinhibited photosystem II.

研究分野：植物生理生態学

キーワード：標高適応 低温耐性 F2雑種解析 ゲノムワイド関連解析

1. 研究開始当初の背景

一般に、異なるニッチでは異なる種が優占する。全てのニッチで他種を凌駕する「スーパー種」が存在しないのはなぜだろうか？ おそらく、その一部は適応におけるトレードオフによって説明されるであろう。すなわち、特定のニッチに適応することによって、別のニッチへの適応を失ってしまう。このトレードオフの実体を明らかにすることは、生物の分化・多様性の理解に必須である。

これまで、多くの研究が交換移植実験を行い、ある環境に生育している植物がその環境に適応しており、別の環境では成長や繁殖において不利になっていること (home-site advantage) を実験的に示してきた。このことは適応におけるトレードオフが存在していることを示している。しかし、トレードオフのメカニズムまでを明らかにした研究は少ない。

特定の環境への適応のしくみを明らかにするにあたり、種内変異は有用な研究対象である。多くの種の分布は広範な環境にまたがっているが、それぞれの環境に適応した集団の間には遺伝的な形質の違いがあることが多く、明確に遺伝的分化しているものはエコタイプ (生態型) とよばれる。エコタイプの間では、形質や DNA 配列の多くが類似しているため、適応に直接関連する形質や遺伝子の特定がしやすいと期待される。また、交配によって、両エコタイプの遺伝子を交換できる利点がある。

2. 研究の目的

本研究では、ハクサンハタザオの標高適応に寄与する形質と遺伝子の解明を目指す。特に、表現型可塑性に焦点を当て、その「How」と「Why」の解明を試みる。表現型可塑性に関連する遺伝子変異を特定する。エコタイプ分化が起こる分子・生理的メカニズムを明らかにできる (How)、表現型可塑性の有無の生態学的意義を明らかにする (Why)。なぜ高標高型が可塑性を失い、低標高型は保持しているのか？ 仮説として、(1) 高標高環境では突発的な環境変動が大きく、環境が悪化してからストレス耐性をオンにしたのでは間に合わない、(2) ストレス耐性をオンにすると、「何か」が犠牲になるため、ストレス環境の頻度が低い低標高では不利となる、を立てる。

3. 研究の方法

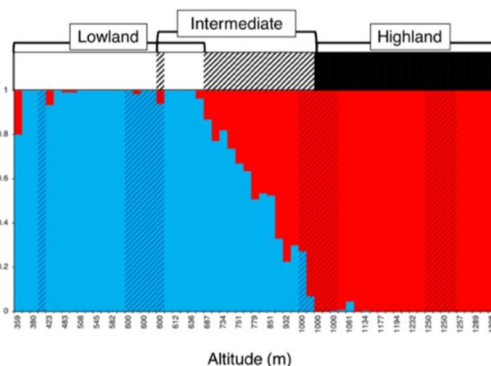
ハクサンハタザオは、現地では低標高 300m から高標高 1300m まで連続的に分布している。どこからどこまでが低標高/高標高エコタイプなのかを特定するため、標高 20m おきにハクサンハタザオ個体の葉をサンプルし、ゲノム解析を行った。

高標高エコタイプと低標高エコタイプを交配させて得た F1 をさらに交配し、F2 雑種約 100 個体を得た。

研究申請時は現地環境への適応を調べるため、F2 個体を現地にて育成し、どの遺伝子を持つ個体が生き残るかを調べることで適応遺伝子を抽出する計画であった。しかし、新型コロナウイルス感染症の蔓延により野外実験が困難となり、実験室にて二種類の低温環境を再現し、低温耐性を評価することで低温適応形質・遺伝子の抽出を試みた。一つは、凍結耐性の評価である。葉を温度センサーに密着させ、徐々に周囲の温度を下げる。葉が凍結した瞬間に凍結熱が放出されるため、一時的に葉の温度が上がる。葉の凍結が始まる瞬間の温度を氷核形成温度として評価した。第二に、低温での光阻害耐性を評価した。ハクサンハタザオなど温帯の植物は、0~5 の温度に暗所でさらしても特に障害は起きない。しかし、低温で光を当てると急激に光化学系の活性が低下する。この低下度合いを光阻害耐性の指標とした。また、光化学系の修復阻害剤であるリンコマイシン処理を行い、光化学系の損傷速度と修復速度を計算した。まず凍結耐性と光阻害耐性を高標高エコタイプと低標高栄子タイプの子孫について評価し、次に、F2 個体の評価を行った。また、それぞれの個体について、通常温度 (25) で育成した個体の葉と同じ個体を低温環境 (5) に二週間さらしてから評価を行い、両者の違いを表現型可塑性として評価した。

4. 研究成果

伊吹山の標高 359m から 1317m まで約 20m おきに植物体をサンプリングし、全ゲノム解析を行い、伊吹山の集団は大きく二つに分かれ、標高 600m 以下の個体は低標高タイプの遺伝子を持ち、標高 1000m 以上の個体は高標高タイプの遺伝子を持ち、600-1000m の標高帯では個体内に両タイプの遺伝子が混在していることを見出した (右図)。さらに、詳細なゲノム解析を行い、特に両タイプの遺伝子が混在している地域で特異的に選択されている遺伝子を同定し、記載した。本研究は国際誌 *Journal of Plant Research* に発表した (Yoshida et al. 2023)。



次に、高標高エコタイプと低標高エコタイプの個体の子孫を実験室で育成し、まず、低温環境への適応を評価した。葉が凍り始める温度を凍結耐性の指標として調べ、高標高エコタイプほど凍り始める温度が低いことを見出した。次に、低温（5℃）での光阻害耐性を評価した。未順化な個体（通常温度で育成した個体）では、高標高エコタイプのほうが光阻害耐性が高かった。高標高エコタイプは損傷が起きやすかったが、修復力が高いために光阻害耐性が高いことが明らかとなった。さらに、温度順化後の個体の評価も行い、表現型可塑性を調べた。高標高エコタイプは高い耐性を恒常的に維持しているのに対し、低標高エコタイプでは、通常の条件で生育している際には耐性が低く、低温で育成すると高標高エコタイプに匹敵する耐性を発現することを見出した。この結果は、低温光阻害耐性の違いが表現型可塑性の違いとして現れていることを意味する。

高標高エコタイプと低標高エコタイプの交配を行ってF2系統を多数作製し、形質とゲノムの解析を行った。調べた4種類の形質は違う方向に分離し、遺伝的背景が異なることがわかった。光阻害耐性の違いをもたらす要因として、光化学系の壊れにくさと壊れた光化学系の修復速度の間にトレードオフが存在することを見出した。これらの形質を調査したF2個体についてゲノムワイド関連解析（GWAS）を行い、形質と相関がある遺伝子変異を多数見出し、標高勾配と強く関連する遺伝子変異を特定した。

以上の研究結果から、標高適応においてストレス耐性の可塑性が重要な役割をもつこと、その遺伝的背景を明らかにしたと言える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshida Naofumi, Morinaga Shin-Ichi, Wakamiya Takeshi, Ishii Yuu, Kubota Shosei, Hikosaka Kouki	4. 巻 136
2. 論文標題 Does selection occur at the intermediate zone of two insufficiently isolated populations? A whole-genome analysis along an altitudinal gradient	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 183 ~ 199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-022-01429-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Makishima Daichi, Ishii Naohiro, Sutoh Rui, Goto Akihito, Kawai Yutaka, Taniguchi Hayami, Uchida Kei, Shimazaki Masaya, Nakashizuka Tohru, Suyama Yoshihisa, Hikosaka Kouki, Sasaki Takehiro	4. 巻 33
2. 論文標題 Predicting diversity changes in subalpine moorland ecosystems based on geometry of species distributions and realistic area loss	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Vegetation Science	6. 最初と最後の頁 e13150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jvs.13150	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sasaki Takehiro, Ishii Naohiro I., Makishima Daichi, Sutou Rui, Goto Akihito, Kawai Yutaka, Taniguchi Hayami, Okano Kunihiro, Matsuo Ayumi, Lochner Alfred, Cesarz Simone, Suyama Yoshihisa, Hikosaka Kouki, Eisenhauer Nico	4. 巻 110
2. 論文標題 Plant and microbial community composition jointly determine moorland multifunctionality	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Ecology	6. 最初と最後の頁 2507 ~ 2521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1365-2745.13969	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Oguchi Riichi, Hanada Kousuke, Shimizu Minami, Mishio Masako, Ozaki Hiroshi, Hikosaka Kouki	4. 巻 110
2. 論文標題 Enhanced growth rate under elevated CO2 conditions was observed for transgenic lines of genes identified by intraspecific variation analyses in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 333 ~ 345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11103-022-01265-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Zhili, Hikosaka Kouki, Li Fengri, Jin Guangze	4. 巻 34
2. 論文標題 Variations in leaf economics spectrum traits for an evergreen coniferous species: Tree size dominates over environment factors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Functional Ecology	6. 最初と最後の頁 458 ~ 467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1365-2435.13498	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishizuka Wataru, Hikosaka Kouki, Ito Motomi, Morinaga Shin-Ichi	4. 巻 70
2. 論文標題 Temperature-related cline in the root mass fraction in East Asian wild radish along the Japanese archipelago	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 321 ~ 330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbs.18201	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Machino Satoshi, Nagano Soichiro, Hikosaka Kouki	4. 巻 181
2. 論文標題 The latitudinal and altitudinal variations in the biochemical mechanisms of temperature dependence of photosynthesis within <i>Fallopia japonica</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental and Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 104248 ~ 104248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envexpbot.2020.104248	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Zhili, Hikosaka Kouki, Li Fengri, Zhu Liangjun, Jin Guangze	4. 巻 14
2. 論文標題 Plant size, environmental factors and functional traits jointly shape the stem radius growth rate in an evergreen coniferous species across ontogenetic stages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Plant Ecology	6. 最初と最後の頁 257 ~ 269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jpe/rtaa093	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Postma Johannes A., Hecht Vera L., Hikosaka Kouki, Nord Eric A., Pons Thijs L., Poorter Hendrik	4. 巻 44
2. 論文標題 Dividing the pie: A quantitative review on plant density responses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant, Cell & Environment	6. 最初と最後の頁 1072 ~ 1094
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pce.13968	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hikosaka Kouki, Kurokawa Hiroko, Arai Takahisa, Takayanagi Sakino, Tanaka Hiroshi O., Nagano Soichiro, Nakashizuka Tohru	4. 巻 109
2. 論文標題 Intraspecific variations in leaf traits, productivity and resource use efficiencies in the dominant species of subalpine evergreen coniferous and deciduous broad leaved forests along the altitudinal gradient	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Ecology	6. 最初と最後の頁 1804 ~ 1818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1365-2745.13603	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeda Tomoyuki, Shirai Kazumasa, Kim You-wang, Higuchi-Takeuchi Mieko, Shimizu Minami, Kondo Takayuki, Ushijima Tomokazu, Matsushita Tomonao, Shinozaki Kazuo, Hanada Kousuke	4. 巻 111
2. 論文標題 A de novo gene originating from the mitochondria controls floral transition in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 189 ~ 203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11103-022-01320-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shirai Kazumasa, Sato Mitsuhiko P., Nishi Ranko, Seki Masahide, Suzuki Yutaka, Hanada Kousuke	4. 巻 31
2. 論文標題 Positive selective sweeps of epigenetic mutations regulating specialized metabolites in plants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Research	6. 最初と最後の頁 1060 ~ 1068
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/gr.271726.120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ong Sheue Ni, Tan Boon Chin, Hanada Kousuke, Teo Chee How	4. 巻 878
2. 論文標題 Unearth of small open reading frames (sORFs) in drought stress transcriptome of <i>Oryza sativa</i> subsp. <i>indica</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Gene	6. 最初と最後の頁 147579 ~ 147579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gene.2023.147579	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ezoe Akihiro, Shirai Kazumasa, Hanada Kousuke	4. 巻 38
2. 論文標題 Degree of Functional Divergence in Duplicates Is Associated with Distinct Roles in Plant Evolution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 1447 ~ 1459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/molbev/msaa302	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 吉田直史, 森長真一, 彦坂幸毅
2. 発表標題 ハクサンハタザオの低温ストレス耐性の標高間変異: エコタイプ間比較および F2 集団の観察から見えてくる遺伝的背景
3. 学会等名 東北植物学会 第 12 回大会 (宮城大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田直史, 森長真一, 石井悠, 白井一正, 久保田涉誠, 花田耕介, 彦坂幸毅
2. 発表標題 ハクサンハタザオの低温耐性の標高間変異: F2集団の形質・ゲノムから探る遺伝的背景
3. 学会等名 日本生態学会第70回全国大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 桑田直樹, 吉田直史, 彦坂幸毅
2. 発表標題 ハクサンハタザオの高標高、低標高エコタイプにおける光合成の温度応答特性
3. 学会等名 東北植物学会 第 12 回大会 (宮城大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kouki Hikosaka
2. 発表標題 Remote sensing of photosynthesis
3. 学会等名 Astrobiology center symposium 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 潘 毅恒, 尾崎 洋史, 吉田 直史, 森長 真一, 彦坂 幸毅
2. 発表標題 Analysis of the genetic background of invasive species along latitude by using SNP information
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 彦坂幸毅
2. 発表標題 光阻害が起こった葉における光合成・クロロフィル蛍光・光化学反射指数(PRI)
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 彦坂幸毅, 辻本克斗
2. 発表標題 リモートセンシングパラメータと葉光合成速度の関係
3. 学会等名 第68回日本生態学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	花田 耕介 (Hanada Kousuke) (50462718)	九州工業大学・大学院情報工学研究院・教授 (17104)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------