

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25291095

研究課題名(和文) 時空間的気候変異のもとでの植物の分布拡大における温度適応の役割の解明

研究課題名(英文) The role of temperature adaptation in invasive species under climate change.

研究代表者

彦坂 幸毅 (Kouki, Hikosaka)

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) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年日本に侵入し全国に分布を拡大したミチタネツケバナと在来種タネツケバナについて東日本の南北の緯度傾度に沿って集団を採取し、低温耐性と遺伝構造を解析した。ミチタネツケバナは4つのクレードに分かれ、4回日本に侵入したことが示唆された。低温耐性については、低温順化前での凍結損傷温度に集団間差が認められ、また、その違いは最低気温と相関があった。このことから、近年侵入した種でも機能的分化が起きていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We sampled seeds of an invasive species *Cardamine hirsuta*, which has invaded these four decades and spread in Japan, and those of a native species *Cardamine scutata* from two latitudinal gradients in East Japan. We studied genetic structure of populations and freezing tolerance. *C. hirsuta* populations were divided into four groups, suggesting that *C. hirsuta* has invaded at least four times. Freezing tolerance was different between populations, which was correlated with minimum temperature. These results suggest that functional genetic differentiation has been occurred even in species that had invaded recently.

研究分野：植物生理生態

キーワード：温度適応 集団分化 侵入種 凍結耐性

1. 研究開始当初の背景

気温は植物の分布を決定する二大要因の一つである。特に日本列島においては、南北に細長い国土の形と海流の影響によって、亜寒帯に属する北海道から亜熱帯に属する沖縄まで幅広い温度環境の地理的変異が存在する。温度環境は時間的にも変化している。この100年間で地球大気は約0.8℃温暖化しているが、さらに歴史を遡れば、最終氷期からの約2万年で約8℃の増加があったと考えられている。

花粉分析などにより、最終氷期から現在にかけて、当時の暖温帯は現在亜熱帯に、当時の冷温帯は現在暖温帯にと、まるまる植生帯が置き換わってきたことが明らかになっている。このように植物の分布は気候変化とともに移動してきた。一方、近年大きな問題となっている侵入種は、しばしば複数の気候帯にまたがる幅広い温度環境下へと分布を拡大している。このような温度変化に対する応答の違いはどのようなメカニズムによって生じるのだろうか。このメカニズムを明らかにすることは、侵入種の生態学的理解や植物の温暖化応答予測に貢献すると期待される。

2. 研究の目的

本研究では国内に広く分布する在来種・侵入種の異なる温度環境に成立している集団を対象とし、集団遺伝学的解析、ゲノム解析、生理生態学的解析を行う。在来種と侵入種では、歴史的な温度変化に対し対照的な応答をしてきたと考えられ、植物が分布変化にあたりどのような進化的応答をしてきたのかを解析する。以下の仮説を提示する。

氷河期以来存在する種(在来種)について仮説 氷河期以来存在する種では、温暖化とともに分布が変化してきた。温度適域の北上とともに移動した集団では温度適応能力に変化はない。一方、昔からの生育地に留まっている集団では、環境の温度上昇とともに高温適応能力が向上するような進化を起こした。

検証: 仮説が正しければ、北方に移動した集団に比べ昔からの生育地に留まっている集団の高温適応能力が高いと期待される。

近年侵入してきた種(侵入種)については、近年侵入し、分布を拡大した種については、三つの対立する仮説②～④を考えることができる。

仮説 侵入種は広い範囲の温度にあらかじめ適応しており、その高い適応能力によって分布を広げることができた。

仮説 侵入種は異なる地域から複数回侵入しており、寒い地域には寒い地域由来の、暑い地域には暑い地域由来の集団から移入している。

仮説 侵入種は進化速度が高いため、短期間で新たな環境に適応し、分布を広げることが

できた。

検証: 仮説が正しければ、侵入種はどの集団でも同じような温度適応能力をもつと期待される。一方、仮説が正しければ、生育地の温度環境と関連した温度適応能力をもつと期待される。さらに、仮説が正しければ、集団間分化が進まないうちに機能形質に大きな差が生じていることが期待される。

3. 研究の方法

本研究では、侵入種としてミチタネツケバナ・シロイヌナズナ、在来種としてタネツケバナ、ハクサンハタザオなど様々な材料を用いて研究を行った。本報告書では主要な研究であるミチタネツケバナとタネツケバナの比較研究について特に記す。

侵入種として、40年ほど前に日本に侵入してきたミチタネツケバナを、比較対象の在来種として同属のタネツケバナを用いた。距離の割に気温の変化が大きい東日本に、2本のベルトランセクトを緯度勾配に沿って設定し、計50ヶ所からミチタネツケバナとタネツケバナの個体と種子を採取した。

50集団のうち19集団から種子を発芽させて個体を育成し、遺伝子を抽出した。遺伝子についてはRAD-seq解析を行い、シーケンスを元に分子系統樹を作成し、さらにミチタネツケバナについては集団の集団遺伝学的構造をSTRUCTUREを用いて解析した。

また、50集団のうち18集団から種子を発芽させ、凍結耐性解析を行った。20度/10度で育成した個体(未順化個体)と、20度/10度で育成したのち5度/5度で育成した個体(低温順化個体)のそれぞれから若い葉を一枚取り出し、葉に温度センサーをセットしてチューブ内に封入し、外部の温度を徐々に冷却し、凍結が始まった温度(凍結温度)を解析した。また、ある温度にさらした葉がどれだけ傷害を受けているかをクロロフィル蛍光の定量(Fv/Fm)により評価した。Fv/Fmが50%まで低下する値を損傷温度と定義した。

凍結温度と損傷温度のそれぞれについて、集団と順化処理の効果を一般化線型モデルを用いて解析し、集団あるいは集団×順化処理の効果が有意であった場合は、生息地環境の気象条件(気温・降水量など)との相関関係を、ステップワイズ方式の重回帰分析によって調べた。

4. 研究成果

遺伝子解析

遺伝子の読み取りは終えたが、解析はまだ続行中であり、以下は暫定的な結果である。解析アプローチの変更により結論が変わる可能性がある。

まず、ミチタネツケバナを材料としてRAD-seq法により一塩基多型情報をゲノムワ

イドに取得した。集団の遺伝的構造を structure プログラムで解析したところ、祖先集団は 4 つあったと考えられた。祖先集団の遺伝的構造を含む割合と緯度には有意な相関の見られるものがあった。次に、主成分分析を行い主成分第 1 軸と主成分第 2 軸からなる平面に個体をプロットすると 4 つのグループに分かれた。そして、第 1 軸は緯度と有意な相関があった。

緯度勾配に沿った遺伝的背景の変化が検出されたので、ミチタネツケバナは生息地ごとにその温度環境に適応している個体が生息している可能性があるが、この解析を進めるには地理的な自己相関なども考慮しなければならない。

タネツケバナについては、推定された系統樹の精度が低く、別の方法の適用を試みている。現在のところ、集団間の遺伝的分化が明瞭ではないという結果を得ている。

低温耐性

在来種タネツケバナについて凍結温度を調べたところ、集団×順化处理の効果が有意であった。凍結温度のばらつきは主として生息地の最低気温によって説明された。未順化個体の凍結温度は最低気温と正の相関があったが、順化個体と最低気温の間に相関はなかった。損傷温度に対しては順化处理の効果が有意であったが、集団間の違いは見られなかった。これらの結果は、タネツケバナにおいては未順化での凍結温度が生息地適応に貢献している可能性を示唆する。

侵入種ミチタネツケバナにおいては、凍結温度に対しては集団・順化处理のいずれも有意な効果を示さなかった。一方、損傷温度については集団×順化处理の効果が有意であった。環境要因としては、2 月の最低気温×12 月最大積雪深×順化处理が選択された。未順化個体において、寒冷地での多雪地と寒冷地での少雪地の間で有意な差が見られた。これらの結果は、ミチタネツケバナにおいても凍結耐性の集団間分化が起こっており、未順化での損傷温度が生息地適応に貢献していることを示唆する。

仮説に関しては、タネツケバナについては仮説 1 の通り、生息地環境に適応した分化が起こっていることが示唆される。ただし、集団遺伝学的解析との整合性はとれておらず、さらなる解析が必要である。ミチタネツケバナについても生息地環境に適応した分化が起こっていることが示唆される。また、全体が 4 つのクレードに分かれたことから、少なくとも 4 回侵入が起こっていること、侵入元環境への適応が分化に関連している可能性がある。

まとめ

侵入してからの時期が短いにもかかわらず

ミチタネツケバナに温度適応の集団間分化が生じていたことは非常に興味深い。現時点では異なる環境に適応した個体が侵入した結果であると考えられるが、そうであるとするなら、ある生息地への侵入はどの集団でも成功するとは限らず、特定の環境に適応している個体が成功できることを示唆する。このことは侵入のメカニズムについてこれまでに知られていない制約があることを示唆している。

その他の研究について

ヨーロッパ原産で世界各地に侵入しているシロイヌナズナの集団間分化について研究を行っている。世界各地から 44 エコタイプを収集し、2 つの CO₂ 濃度において成長解析を行った (Oguchi et al. 2016)。さらに、この成長解析の結果を用い、成長関連特性と生息地環境の関係を解析した。この結果、地上部地下部比が降水量と、気孔コンダクタンスや光合成窒素利用効率が大気飽差 (VPD) と相関するなど様々な相関関係を見出すことができた。また、相対成長速度が CO₂ 濃度の上昇によって何倍増加するか、という値が生息地の標高と相関することを見出した (Ozaki et al. 投稿中)。

日本に氷河期以前から生息していると考えられる在来種ハクサンハタザオについて、遺伝子変異と環境の関係を解析した。二つの独立した山の標高傾度に沿った遺伝子変異を解析し、いくつかの遺伝子に標高に沿った塩基置換を見つけることができた。うち一部の遺伝子については二つの山で共通する遺伝子に塩基置換が起こっていることを発見した (Kubota et al. 2015)。このことはこれらの変異が標高適応に強く関係していることを示唆している。

ハクサンハタザオとシロイヌナズナについては、異なる標高に生息するエコタイプに対して紫外線処理を行い、成長と葉 DNA の損傷率を評価した。紫外線照射数日後は低標高由来のエコタイプの成長速度が低く、DNA の損傷量も多かった。しかし、しばらく時間が経過すると両者の成長や DNA 損傷量に差が見られなくなった。このことは、低標高エコタイプの紫外線耐性が照射後しばらくしてから発現するのに対し、高標高エコタイプは照射前から高い耐性を維持していること、順化後は両者の耐性が同等であることを示している。高標高地では環境の変動が大きく、ストレスが生じてから耐性を発現させるのでは遅く、常時耐性をもっていることを示唆している (Wang et al. 投稿中)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 20 件) 全て査読論文

Yamaguchi DP, Nakaji T, Hiura T, Hikosaka K (2016) Effects of seasonal change and experimental warming on the temperature dependence of photosynthesis in the canopy leaves of *Quercus serrata*. *Tree Physiology*, in press.

Hikosaka K, Anten NPR, Borjigidai A, Kamiyama C, Sakai H, Hasegawa T, Oikawa S, Iio A, Watanabe M, Koike T, Nishina K, Ito A (2016) A meta-analysis of leaf nitrogen distribution within plant canopies. *Annals of Botany*, in press.

Oguchi R, Ozaki H, Hanada K, Hikosaka K (2016) Which plant trait explains the variations in relative growth rate and its response to elevated carbon dioxide concentration among *Arabidopsis thaliana* ecotypes derived from a variety of habitats? *Oecologia*, 180: 865-876. 10.1007/s00442-015-3479-z

Kubota S, Iwasaki T, Hanada K, Nagano AJ, Fujiyama A, Toyoda A, Sugano S, Suzuki Y, Hikosaka K, Ito M, Morinaga SI (2015) A genome scan for genes underlying microgeographic-scale local adaptation in a wild *Arabidopsis* species. *PLoS Genetics*, e1005361. 10.1371/journal.pgen.1005361

Wang Q-W, Hidema J, Hikosaka K (2014) Is UV-induced DNA damage greater at higher elevation? *American Journal of Botany*, 101:796-802. 10.3732/ajb.1400010

〔学会発表〕(計7件)

上林真実・小口理一・尾崎洋史・森長真一・彦坂幸毅 近縁な在来種と侵入種における耐凍性と低温順化能力の集団間分化 第63回日本生態学会全国大会 宮城県仙台市 2016年3月20-24日

田島直幸・石塚航・花田耕介・清水みなみ・鈴木穰・伊藤元巳・彦坂幸毅・森長真一 大根野生種ハマダイコンにおけるトランスクリプトーム解析 日本植物学会第79回大会新潟県新潟市 2015年9月6-8日

尾崎洋史・小口理一・彦坂幸毅 シロイヌナズナの成長に関する形質と生育CO₂濃度、由来地環境の関係 日本植物学会第79回大会 新潟県新潟市 2015年9月6-8日

尾崎洋史,彦坂幸毅 異なるCO₂濃度で育成したシロイヌナズナエコタイプの形質と生息地環境の関係 第62回日本生態学会

大会 鹿児島県鹿児島市 2015年3月18日~22日

久保田渉誠,岩崎貴也,三浦憲人,永野惇,花田耕介,彦坂幸毅,伊藤元巳,森長真一 ゲノムワイドSNPデータに基づくハクサンハタザオの系統地理解析 第62回日本生態学会大会 鹿児島県鹿児島市 2015年3月18日~22日

上林真実・小口理一・尾崎洋史・森長真一・彦坂幸毅 近縁な在来種と侵入種における低温耐性の集団間分化 東北植物学会第4回山形大会 山形県山形市 2014年12月13-14日

久保田渉誠,岩崎貴也,永野惇,花田耕介,彦坂幸毅,伊藤元巳,森長真一 標本ゲノム解析から局所適応の時間的スケールを計る 第46回種生物学シンポジウム 山梨県富士吉田市 2014年12月5日~7日

〔図書〕(計3件)

Hikosaka K, Niinemets Ü, Anten NPR (eds) (2016) Canopy Photosynthesis: From Basics to Applications. Springer, Berlin. 428 p

彦坂幸毅 (2016) 植物の光合成・物質生産の測定とモデリング 共立出版 146 p

彦坂幸毅・長嶋寿江 (2014) 光に対する反応 身近な雑草の生物学 朝倉書店 pp. 12-23.

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

彦坂 幸毅 (HIKOSAKA, Kouki)
東北大学・大学院生命科学研究科・教授
研究者番号: 10272006

(2) 研究分担者

森長 真一 (Morinaga, Shinichi)
日本大学・生物資源科学部 助教
研究者番号: 80568262

(3) 連携研究者

小口 理一 (Oguchi, Riichi)
東北大学・大学院生命科学研究科・助教

研究者番号：10632250