

令和 5 年 4 月 25 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03316

研究課題名(和文) 葉形質の種内変異は環境順化能力にどのように影響するか?

研究課題名(英文) How does the interspecific variation of leaf traits affect the acclimation capacity of plants?

研究代表者

小口 理一 (Oguchi, Riichi)

大阪公立大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：10632250

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)：環境変動に対する生態系の応答が注目されるが、どのような植物がどこまで順化できるのかを予測できるようにするために、植物の順化能力が種内でどう変異しているかを調べ、これらの順化能力に関連する形質・環境・遺伝子を明らかにすることを試みた。ブナの葉脈密度には明確な集団間差が確認され、低緯度由来の集団は、高い気温と蒸散に耐えるために、葉サイズを小さくして、葉脈の太さと密度を高めている事が示唆された。また、最も高緯度に由来する集団の葉が被陰前後で共に他の集団より有意に薄い事が明らかに、遺伝的解析を行ったところ乾燥耐性に関わる遺伝子の関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で主に解析を行った葉の厚さは、葉面積あたりに保有できる葉緑体の量を制限する強い要因である事が知られており、葉面積あたりの光合成能力と特に種内で強い相関を持つ。また、光合成の順化能力にもこの葉の厚さの変化が必要である事が私たちの先行研究から明らかになっている。今回はこの葉の厚さの変異への関与が強く示唆される遺伝子が明らかになったことから、この遺伝子を制御する遺伝子や、この遺伝子によって制御を受ける遺伝子などを調べていくことで、どのような植物がどのように将来の環境変動に回答できるかの推測や、環境変動に強い作物などの育種に将来的に応用されていくと期待される。

研究成果の概要(英文)：The response of ecosystems to the global environmental change is a current important topic. In the present research we studied an intraspecific variation of plant acclimation capacity in relation to the variation of plant traits, genomes and habitat environments, to gain a basic information to predict how each plant acclimate to the future environment. *Fagus crenata* showed a clear variation in leaf vein density, which would suggest that plants from low latitudes gained the traits to tolerate high transpiration demands. The plants origin from the highest latitude have significantly thinner leaves compared to the other groups, both in non-shaded and shaded conditions. We conducted a genomic analysis of these groups and a gene reported to be involved in drought tolerance showed a significant effect on this variation of the leaf thickness.

研究分野：植物生理生態学

キーワード：順化能力 葉の厚さ 光合成能力 種内変異 生態学

1. 研究開始当初の背景

動くことのできない植物は、様々な環境変化に対して順化できるかどうか適応度に直結する。地球温暖化が進み環境変動が増大するなか、植物の生残に対する順化能力の影響は大きい。一方で、順化能力は植物間で大きく異なる事が知られている(Phillips et al. 1994)。競争排除の原理の下で、多様な種の共存を可能にする要因の一つとしても、順化能力の違いが挙げられている(Aiba and Kohyama 1997)。なぜ、どのように植物間で環境順化能力は異なるのだろうか?かつて、光環境に対する順化能力は弱光に適応した植物で低いという仮説の検証が進められたが、研究例の蓄積により強光に適応した植物との差は小さい事が明らかになった(Poorter et al. 2019)。そのため、生態系の将来予測に必須である「どのような植物がどこまで順化できるのかを説明する理論」を構築するには至っていない。光合成などの生理活性の温度依存性は順化によって変化するため、順化能力の違いによって、成長・炭素吸収速度予測や地理分布予測に大きな誤差を生じると考えられる。

本研究では、各形質の中でも葉の厚さと光合成能力の環境順化能力に注目する。葉の厚さは植物の成長戦略と強く相関する事から重要な機能的形質と捉えられており、光合成能力が高く厚い陽葉と、光合成能力が低く薄い陰葉に見られるように、光合成能力と強い相関を示す。そのため、葉の厚さの順化能力は植物の成長速度の順化能力に強く影響する(Oguchi et al. 2017)。そこで申請者は、この葉の厚さの順化能力こそが、植物の環境順化戦略を規定する鍵となる形質であり、優れた指標となると考えた。しかし、葉の厚さと光合成能力の順化能力が、どのようなメカニズムで決まっているのか、どのような遺伝子が関連しているのか、そして植物間で異なる生態学的理由は何なのかについて、ほとんど明らかになっていない。

一方、葉の厚さには種内変異があることが報告されている。研究分担者である日浦らは日本国内で緯度の異なる10サイトから集めたブナ(*Fagus crenata*)エコタイプを用いて共通圃場実験を行い、高緯度地域由来ほど葉が薄くなることを報告した。スギ(*Cryptomeria japonica*)は、太平洋側に分布するオモテスギに比べ、日本海側に分布するウラスギの耐陰性が強いという種内変異が知られ、これと関連付けて、針葉断面の縦横比にエコタイプ間差があることが報告されている。ゲノム解読も進められており、遺伝構造解析では、オモテスギとウラスギの差を裏付けるように、国内で4グループ(北東北、日本海側、太平洋側、屋久島グループ)に分けられた。また、日浦らを中心に進めている共通圃場実験でも、種内変異が見られている。

2. 研究の目的

材料とするブナ、スギ、シロイヌナズナをはじめとして複数の種で葉の形態的な種内変異の報告があることは、葉の厚さの順化能力にも種内変異がある可能性を示唆しており、その種内変異を利用する。種内変異解析は、種間差の解析とは異なり、着目する形質以外の形質や遺伝子の違いが大きすぎないため、着目する形質に関連する遺伝子を見つけやすく、どのようなメカニズムで葉の厚さの順化能力が異なるかを明らかにするために大変有効である。順化能力に種内変異があると予測する根拠は、小口が持つ同所に共存する木本6種のデータで、葉の薄い種の方が光強度の上昇に対して順化能力が低い結果である。植物は光強度の低下もしくは温度の上昇が起こると、葉を薄くして、その分、葉面積を増やすなど他に投資する事で成長速度を高める事が知られているが、葉の薄さには強度的な限度があると考えられるため、葉の厚さが薄い植物は、葉を薄くできる範囲に限られ、環境順化能力が低くなるためと考えている。実際、シロイヌナズナの2エコタイプのみを用いて異なる温度への順化能力を比較した研究では、葉の薄いエコタイプの方が、葉の厚さの順化能力が低いことが報告されている(Stewart et al. 2016)。しかし、2エコタイプのみでは、説明力が弱いだけでなく、エコタイプ間のゲノム変異との関係や、由来地の環境情報との関係を検出できない。そこで、本研究では、多数のエコタイプを用いて葉の厚さおよび光合成の順化能力の種内変異を観察する。順化能力の種内変異と一定環境での各エコタイプの形質・エコタイプ間でのゲノム変異・各エコタイプの由来地環境との相関を検出することで、葉の厚さと光合成能力の順化能力ひいては植物の環境順化戦略を規定する形態学的制約、遺伝的要因、環境要因を明らかにする。

3. 研究の方法

ブナは日浦が北緯42.9度の北海道黒松内町から北緯32.6度の熊本県山都町まで、10箇所の研究サイトからエコタイプ種子を収集し、北海道大学苫小牧研究林の屋外で共通圃場実験を行っており、それを利用した。スギは森林総合研究所樹木分子遺伝研究領域が、北緯40.7度の青森県鱒ヶ沢町から北緯30.3度の鹿児島県屋久島まで、14箇所のサイトからエコタイプを収集し、筑波大学実験林の屋外圃場で行っている共通圃場実験を利用した。シロイヌナズナは世界各地の様々な標高および緯度で集められた、240のシロイヌナズナエコタイプをシロイヌナズナリソースセンター(ABRC)から取得してグロースチャンパー内で生育する事で共通圃場実験とした。

シロイヌナズナについては、強光および弱光の2つの生育条件で生育した。葉の厚さなどの形態学的性質、葉の内部形態、窒素含量、クロロフィル含量を調べ、各形質の環境順化能力を評価した。またブナ・スギについては屋外の共通圃場において1年目に被陰実験を行い、2、3年目

に光順化能力の評価を行った。葉の厚さを中心とした形態学的性質を high throughput に評価する方法としてはレーザーセンサーを使用した葉形態質スキャン解析法を開発し使用した。葉の内部形態学的解析は、振動方式のマイクロトームを導入することで、葉の固定と包埋に要する時間を無くし、解析に要する時間を大幅に短縮した。また光合成能力については、多サンプル同時光合成測定装置を利用した。またブナの RNA-seq を弱光と強光の2条件で実施し、光の強さに応答して発現変動する遺伝子の違いを調査した。RNA-seq により得られた配列データを用いて種内多型座位を検出し、エコタイプ間の塩基配列の相違も調査した。シロイヌナズナは、ABRC から提供されている情報に加え、イーストアングリア大学の気象ユニットが提供する全地球規模の気象データを利用した。

4. 研究成果

ブナでは葉脈のない部分の葉の厚さだけで比べると、低緯度由来ほど厚い傾向があるものの、葉脈も含めて測定した厚さほどの集団間差は見られないことが明らかになった。葉脈密度には明確な集団間差が確認され、低緯度由来のエコタイプは、高い気温と蒸散に耐えるために、葉サイズを小さくして、葉脈の太さと密度を高めている事が示唆された (図)。また、最も高緯度由来する大平山集団の葉が被陰前後で共に他の集団より有意に薄い事が明らかになり、RNA-seq を行ったところ乾燥耐性に関わる遺伝子の関与が示唆された。

スギについては、針葉断面の縦横比に集団間差があること、シロイヌナズナでは集団間での葉の厚さの違い、光応答時の厚さの変化の違いが示された。今後、これらに関する環境・遺伝子を解析する。シロイヌナズナでは多数のエコタイプにおいて全ゲノム解析が終了しているため、形質評価解析が終わればすぐに全ゲノムワイド関連解析 (Genome Wide Association Study) を行い、環境順化能力に関連する遺伝子の絞り込みが可能だと考えている。シロイヌナズナはモデル植物として遺伝的解析が進んでいるため、

本研究で順化能力を規定する候補遺伝子が絞られれば、これらの遺伝子がどのようなメカニズムで順化能力の決定に働くのか、分子生物学・生理学的な研究の展開も期待できる。本研究の結果をさらに解析し、環境順化能力の種内変異の原因が明らかになれば、種間でも同様の原因が働いているかを調べることで、種間差の原因を探る研究へ展開できると考えている。ブナとスギは日本で最も優占する広葉樹種と針葉樹種であり、これらの順化能力を規定する要因が今後の解析で明らかになれば、日本の生態系の地球環境変動応答を議論する上で貴重な情報になる。

<引用文献>

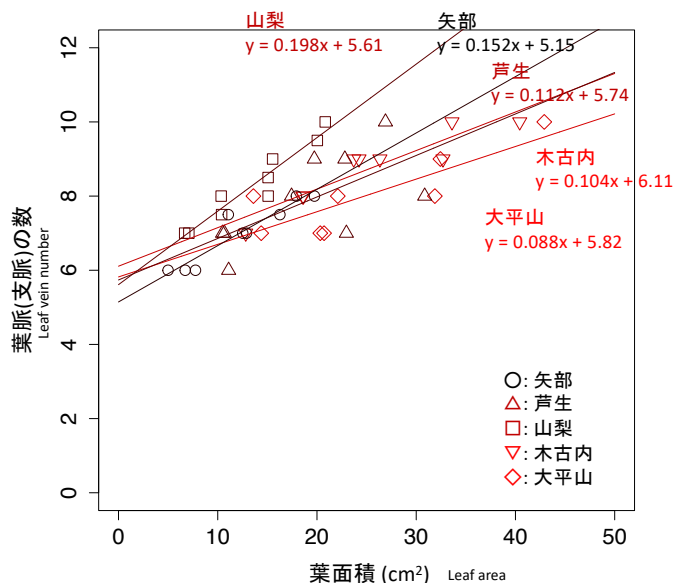
Aiba SI, Kohyama T (1997) Crown architecture and life-history traits of 14 tree species in a warm-temperate rain forest: significance of spatial heterogeneity. *J Ecol* 85 (5):611-624. doi:Doi 10.2307/2960532

Oguchi R, Hiura T, Hikosaka K (2017) The effect of interspecific variation in photosynthetic plasticity on 4-year growth rate and 8-year survival of understory tree seedlings in response to gap formations in a cool-temperate deciduous forest. *Tree Physiol* 37 (8):1113-1127. doi:10.1093/treephys/tpx042

Phillips OL, Hall P, Gentry AH, Sawyer SA, Vasquez R (1994) Dynamics and Species Richness of Tropical Rain-Forests. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91 (7):2805-2809. doi:Doi 10.1073/Pnas.91.7.2805

Poorter H, Niinemets U, Ntagkas N, Siebenkas A, Maenpaa M, Matsubara S, Pons TL (2019) A meta-analysis of plant responses to light intensity for 70 traits ranging from molecules to whole plant performance. *New Phytol* 223 (3):1073-1105

Stewart JJ, Demmig-Adams B, Cohu CM, Wenzl CA, Muller O, Adams WW, 3rd (2016) Growth temperature impact on leaf form and function in *Arabidopsis thaliana* ecotypes from northern and southern Europe. *Plant Cell and Environment* 39 (7):1549-1558. doi:10.1111/pce.12720



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小口理一、南光一樹、高橋俊一、牧野能士、日浦勉
2. 発表標題 共通圃場での被陰実験による葉の厚さの光応答と種内変異の解析
3. 学会等名 第86回日本植物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小口 理一、南光 一樹、高橋 俊一、牧野 能士、日浦 勉
2. 発表標題 共通圃場実験における葉の厚さの種内変異と光応答
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会
4. 発表年 2022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	日浦 勉 (Hiura Tsutom) (70250496)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授 (12601)	
研究分担者	南光 一樹 (Nanko Kazuki) (40588951)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等 (82105)	

6. 研究組織（つづき）

	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	高橋 俊一 (Takahashi Shunichi) (80620153)	琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授 (18001)	
研究分担者	牧野 能士 (Makino Takashi) (20443442)	東北大学・生命科学研究科・教授 (11301)	

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