

研究成果報告書（第28回学術研究助成）

2021年 4月 6日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団

理事長 野村 茂樹 殿

所属機関名 京都大学大学院人間・環境学研究科

職 名 博士後期課程 2年

氏 名 孫田 佳奈

1. 研究課題

ユキノシタ科ダイモンジソウにおける異なる光環境への適応による生態的種分化機構の解明

2. 共同研究者

京都大学大学院地球環境学堂 瀬戸口浩彰 教授

3. 研究報告

I. 研究の目的

光は植物の生育を左右する重要な環境要因である。強すぎる光の下では光阻害が生じ、また弱すぎる光の下では生長に十分な光合成が行えないため、多くの植物は特定の強さの光に適応して生育している。しかし中には、幅広い強さの光の下に生育する種も存在する。こうした種が明所にも暗所にも生育できる仕組みには、光合成特性（光合成速度や葉の構造、色素量等）の可塑性な変化が考えられる。その一方で、光の強さに応じた遺伝変異を伴う局所適応が起きていることも考えられるが、この仮説は十分に検証されていない。

本研究ではユキノシタ科のダイモンジソウに着目した。日本列島に広く分布する本種はハビタットが顕著に多様化しており、直射日光が当たる草原に生育する集団もあれば、弱い光しか届かない林床に生育する集団もある。秋田県男鹿市においては、開けた風衝草原に生育する明所型とブナ林の暗い林床に生育する暗所型がわずか数百メートルの距離に位置して分布する。2019年5月～10月におこなったモニタリングにより、ハビタットの光の強さは著しく異なることがわかっている（明所型：日中の最大光量 $1098 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、日中の平均光量 $368 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、暗所型：最大光量 $69 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、平均光量 $30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ）。野外で生育する個体は、明所型は強光に適応的な、暗所型は弱光に適応的な葉の形質を示すことから、それぞれ局所適応している可能性が考えられる。そこで、共通条件下で明所型と暗所型を栽培し、環境要因と遺伝要因を分離して形質を評価した。両者の表現型の違いは全て個体の可塑性によって生じるのか、強光もしくは弱光への局所適応が起きているのかを検証することを目的とした。



図1. 明所型と暗所型のハビタット
(それぞれ左と右)

II. 研究の方法

■ 栽培個体を用いた生理生態実験

個体の栽培は京都大学吉田南キャンパスにおけるガラス温室で行った。野外集団の生育する光の強さにほぼ一致する「強光実験区」と「弱光実験区」を設け、明所型と暗所型を両実験区で栽培した。種子は2019年10月に野外集団から採取したものを用い、播種から約7か月後に実生（草丈3cm）を実験区に移した。約70日後、実験区において新しく展開・成熟した葉を用いて、光合成速度と葉の形質（葉内構造、気孔密度、光合成色素量）の測定を行った。

光合成速度（CO₂固定速度）は、赤外線ガス分析計を用いて、光の強さを0~1200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の9段階で変化させて測定した。葉内構造は葉をグルタルアルデヒドで固定後、テクノビットで包埋し横断切片を作成、12の項目について計測した。気孔密度はスンプ法で計測した。光合成色素（クロロフィル）量は、80%アセトンで抽出し、Arnon（1949）の式を用いて算出した。

■ 中立マーカーを用いた集団遺伝解析

集団遺伝解析によって、明所型と暗所型の系統的起源と集団間の遺伝子流動を推定した。遺伝子型の決定にはマイクロサテライトマーカー18座を用いた。遺伝構造の推定にはSTRUCTURE (Pritchard et al. 2000) を、過去数世代における集団間の遺伝子流動の推定にはBayesAss (Wilson & Rannala 2003) を用いた。

III. 研究結果

CO₂固定速度を測定した結果、明所型も暗所型も栽培光条件によって光合成速度が変化した。弱光下（25 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ：暗所型の日中の平均光量）では両者の値は変わらないが、強光下（400 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ：明所型の日中の平均光量）においては明所型の方が高い値を示した [図2]。この結果から、明所型は強光により適応的であり、これには遺伝要因が影響している可能性が示唆された。

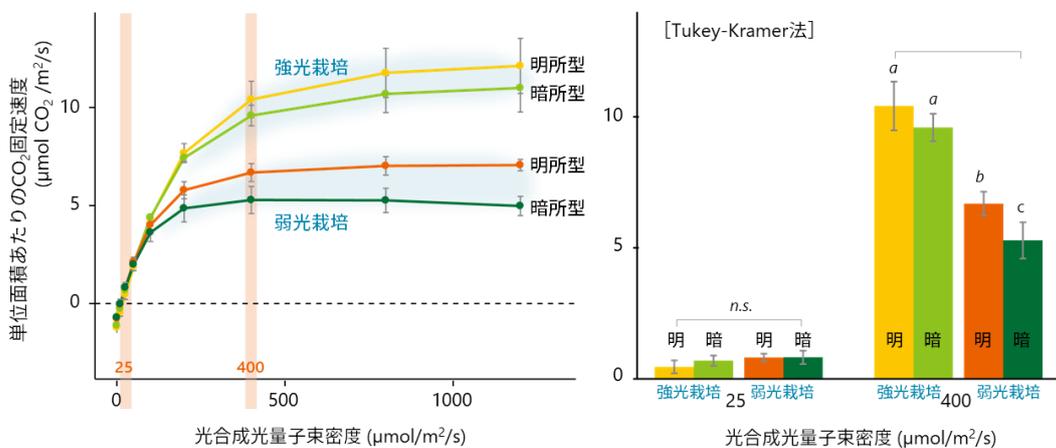


図 2. 光の強さによる CO₂ 固定速度の変化

葉の形質については、葉の構造（13の形質）と、光合成色素（4つの形質）を測定した。その結果、全体として栽培光条件による違いが確認されたが、それに加えて生態型（明所型と暗所型）間の違いもあることがわかった [表 1]。一般化線形モデルを用いて栽培光条件と生態型の影響を検証した結果、1つを除く全ての形質で栽培光条件を含むモデルが選択されその効果が有意であり、栽培光条件による形質の変化が示された。また、5つの形質では生態型を含むモデルが選択されその効果が有意であったことから、環境要因に加えて遺伝要因も影響して決まることがわかった。生態型による違いを示す形質は主に光合成を担う組織（柵状組織と細胞間隙）であった。

形質	強光栽培		弱光栽培		AICが最小のモデル	それぞれの効果のp値		
	明所型	暗所型	明所型	暗所型		形質~条件	生態型:条件	生態型:条件
LT*	葉の厚さ (μm)	582.67	663.21	514.67	479.31	形質~条件	-	**
No. P*	柵状組織細胞の層数	2	2	1-2	1			
PT*	柵状組織の厚さ (μm)	134	132.51	79.68	62.94	形質~生態型*条件	0.017	**
SMT*	海綿状組織の厚さ (μm)	340.04	403.85	30.76	316.48	形質~生態型*条件	0.626	**
ETad*	表皮の厚さ・表 (μm)	83.86	80.14	78.3	81.69	形質~1	-	-
ETab*	表皮の厚さ・裏 (μm)	45.78	34.67	51.22	49.7	形質~生態型*条件	0.724	**
CTad*	クチクラの厚さ・表 (μm)	4.41	3.89	3.75	3.16	形質~生態型+条件	**	**
CTab*	クチクラの厚さ・裏 (μm)	3.47	2.44	2.64	2.38	形質~生態型*条件	0.198	0.785
PP*	柵状組織の割合【厚さ】 (%)	23.18	21.09	15.53	13.24	形質~生態型*条件	0.017	**
SMP*	海綿状組織の割合【厚さ】 (%)	58.03	63.27	64.21	65.45	形質~生態型*条件	0.628	**
PTrel	柵状組織の割合【平面】 (%)	26.02	19.54	15.23	12.17	形質~生態型+条件	**	**
SMTrel	海綿状組織の割合【平面】 (%)	28.87	27.98	26.06	23.38	形質~条件	-	**
ISrel	細胞間隙の割合【平面】 (%)	23.86	31.27	34.27	38.89	形質~生態型+条件	**	**
SDab	気孔密度・裏 (個/mm ²)	171.87	155.2	106.87	105.33	形質~条件	-	**
Chl a	単位面積あたりのクロロフィルa量 (ng/mm ²)	185.47	189.12	293.86	264.67	形質~条件	-	**
Chl b	単位面積あたりのクロロフィルb量 (ng/mm ²)	64.64	67.79	112.39	100.3	形質~条件	-	**
Chl a+b	単位面積あたりのクロロフィルa+b量 (ng/mm ²)	250.04	256.84	406.15	364.87	形質~条件	-	**
Chl (a/b)	クロロフィル a/b比	2.89	2.8	2.62	2.64	形質~生態型+条件	0.740	**

**p<0.01

表 1. 各形質の値と一般化線形モデルを用いて生態型の効果を検証した結果

集団遺伝解析の結果、明所型と暗所型は遺伝的に非常に類似しており、両者の遺伝的分化度は小さかった ($F_{ST}=0.027$)。過去数世代における遺伝子流動を推定した結果、頻繁ではないものの両者の間では遺伝子流動があることがわかった。

IV. 考察

ダイモンジソウにおける光環境適応には、個体の表現型可塑性が重要な役割を果たすことが示唆された。一方で、明所型と暗所型では遺伝要因による CO₂ 固定速度と葉の形質の違いもあることがわかった。光合成に関連する葉の形質のうち、特に光合成組織（柵状組織）は光の強さに非常にセンシティブであり、遺伝変異が影響して変化しやすいことがわかった。遺伝子流動が起こり得る明所型と暗所型であるが、光の強さが強い選択圧となって、それぞれ強光もしくは弱光に適応的な形質が分化しており、局所適応が急速に起きている可能性が示唆された。

V. 成果発表

[国内学会での発表]

1. 孫田佳奈, 後藤栄治, 阪口翔太, 池田啓, 瀬戸口浩彰「ダイモンジソウの明暗集団における表現型可塑性と局所適応」日本植物分類学会 第20回大会, 2021年3月, オンライン
2. 孫田佳奈, 後藤栄治, 阪口翔太, 池田啓, 瀬戸口浩彰「ダイモンジソウ明暗集団間における光合成特性の分化—表現型可塑性と局所適応の検証—」日本生態学会 第68回大会, 2021年3月, 岡山

VI. 今後の課題

明所型と暗所型では遺伝要因によって適応的な形質が決まっており、とりわけ極度に強い、もしくは弱い光への応答が異なることが期待される。今後相互移植実験を行うことによって、それぞれ強光・弱光下での適応度に差が生じることを検証したい。また、葉の構造の決定に関与する遺伝子はモデル植物で多く特定されている。それらの遺伝子に着目して、明所型と暗所型における葉の柵状組織細胞の違いを生じる遺伝機構を明らかにすることも試みている。