

〈報告〉

## 捕虫および根圏からの窒素栄養塩の吸収が アフリカナガバモウセンゴケの成長に与える影響

小向 有<sup>1</sup>・島野光司<sup>1\*</sup>

**Insect feeding and rhizosphere nutrient impact on the growth of *Drosera capensis*.** Ari KOMUKAI and Koji SHIMANO (Faculty of Science, Shinshu University, Matsumoto 390-8621, Japan. \*E-mail: shimano@shinshu-u.ac.jp). *Bulletin of the Institute of Nature Education in Shiga Heights, Shinshu University* 50: 13-23 (2013).

We clarified how nutrient in rhizosphere and insect feeding affect the growth of *Drosera capensis*. After the growth of two months with tree different nitrogen (i.e. nutrient) conditions and two conditions that with fruit flies (*Drosophila melanogaster*) or without the flies, accumulated leaf number and accumulated leaf area of *D. capensis* increased in poor rhizosphere nutrient with fly condition. It is because nitrogen from flies compensates the poor nitrogen condition in rhizosphere. The proportion of foliar nitrogen in poor but with flies condition elevated to the same extent as those in rich nitrogen condition. It means *D. capensis* got enough nitrogen from flies even if they grow in poor nitrogen condition. In addition, we found nitrogen derived from flies was a constant ratio regardless of nutrient in rhizosphere. *D. capensis* got carbon by photosynthesis in leaves stimulated with nitrogen from flies in poor and middle nitrogen conditions. The proportion of foliar nitrogen was high and intercellular CO<sub>2</sub> partial pressure was low in the *D. capensis* of poor nitrogen in rhizosphere but with flies condition, suggesting that they photosynthesized higher like those in rich nitrogen condition. More, we considered the possibility of defenses to feeding damage for animals based on carbon nutrient balance hypothesis for the *D. capensis* with poisons from high proportion of foliar nitrogen.

### はじめに

ドロセラ属（モウセンゴケ科モウセンゴケ属）の植物は世界中に広く分布しており、125種が確認されている (Bekesiova *et al.* 1999)。また、いくつかの種については北半球全域に分布しているものもあると報告されており、日本には6種類が自生している (市橋 2006)。

ほとんどのドロセラ属の植物は、貧栄養な湿地に生育しており、不足した窒素を捕虫によって補うことで貧栄養な環境に適応しているとされている (Givinish *et al.* 1984)。

ドロセラ属の植物に関する研究は、獲物の捕獲消化能力に関するものが多く (Schulze *et al.* 1997)、根圏の栄養環境に応じた成長や虫を与えた場合の成長を確かめた実験はわずかだった。また、野外での実験が主であり、虫を完全に排除した環境での生育は行っておらず、捕虫の影響を評価できていない (Stewart and Nilsen 1993: Schulz and Schulz 1990)。さらに、土壌は複雑に栄養が含まれている

ため、ドロセラ属の植物の成長にどのように影響を与えているかは不明だった。

本研究では、アフリカナガバモウセンゴケ (*Drosera capensis*) を対象に、実験室で3段階の窒素栄養環境ごとにキイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) を与えたグループと与えないグループの成長を比較することで、根圏の窒素栄養環境および捕虫がアフリカナガバモウセンゴケの成長にどのような影響を与えるのかを評価した。さらに、従来の研究では土壌で栽培しているが (Stewart and Nilsen 1993: Schulz and Schulz 1990)、本研究では3段階の窒素栄養環境を作成し、窒素の影響をより見やすい水耕栽培を行った。

また、葉に含まれる窒素および炭素の割合、 $\delta^{15}\text{N}$  および  $\delta^{13}\text{C}$  を分析することで、アフリカナガバモウセンゴケがどのようにして窒素と炭素を獲得しているのか、どの程度光合成を行ったのか、摂食動物の食害に対する防御をどのように行っているのかを考察する。

<sup>1</sup> 信州大学理学部 (〒390-8621 長野県松本市旭3-1-1)

## 材料と実験方法

### 材料

実験材料としてアフリカナガバモウセンゴケを用いた。本種は日本には生育していないが、栄養環境に応じて形態変化しやすいなど成長が速く、根は高い栄養吸収率をもつため (Stewart and Nilsen 1993), モデル生物として適していると考えた。

アフリカナガバモウセンゴケには、キイロショウジョウバエを与えた。キイロショウジョウバエを飼育するための培地は、Benkel and Hickey (1987) および Bass *et al.* (2007) の方法を参考に、グルコース50g, ドライイースト25g, 寒天 5g, 蒸留水 500ml で作成した。なお、キイロショウジョウバエの飼育期間が約13週間と短く、系統維持を目的としていないため、培地には細菌の繁殖を防ぐ抗生物質は添加しなかった。プラスチック製の培養飼育管に、キイロショウジョウバエの足場となる段ボールを入れた後に、固化化する前に培地30ml を注いだ (付図1)。培地が凝固した後に、キイロショウジョウバエを培養飼育管の中に入れて飼育した。キイロショウジョウバエは、アフリカナガバモウセンゴケに与える前にあらかじめ培地で4週間飼育し、実験開始後も同様に約9週間飼育した。なお、培地は2週間ごとに交換を行った。

### 栄養環境の再現

ドロセラ属の植物は貧栄養な環境に生育するとされている (Givinish *et al.* 1984)。しかし、日本のドロセラ属の植物の研究によれば、ドロセラ属各種の自生地の硝酸イオン濃度は、モウセンゴケ (*D. rotundifolia*) は  $0 \sim 18 \mu\text{M}$  と貧栄養から中栄養な湿原、トウカイコモウセンゴケ (*Drosera tokaiensis*) は  $0 \sim 195 \mu\text{M}$  と貧栄養環境から富栄養環境な湿原に生育しており、広い栄養環境に生育していることが分かった (愛知 2011)。なお、アフリカナガバモウセンゴケは日本にも生育するものと同じモウセンゴケ (*Drosera rotundifolia*) に比べて広い栄養環境に生育するとされている (Stewart and Nilsen 1993)。

Karlsson and Pate (1992) および愛知 (2011) の方法を参考に、異なる根圏の窒素栄養環境を用意するために、蒸留水に  $\text{KNO}_3$  を加えることで、硝酸イオン濃度が  $0 \mu\text{M}$  (貧栄養環境: 蒸留水),  $80 \mu\text{M}$  (中栄養環境),  $160 \mu\text{M}$  (富栄養環境) の3段階を作成した。窒素は植物が生育する上で量的に最も必要な元素であり (Epstein 1994), 土壌中ではアン

モニア態 ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ) と硝酸態 ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) として存在しており、一般的に植物は根から硝酸態で吸収している (寺島ら 2004)。

また、全ての栄養段階の水素イオン指数は、pH 5程度と弱酸性を示したが、中栄養環境および富栄養環境では、およそ2週間でpH 5程度からpH 6程度に上昇していた。そこで、アフリカナガバモウセンゴケの栽培する条件を一定にするため、2週間ごとに蒸留水および中栄養環境と富栄養環境の養液を交換した。

### 実験装置

アフリカナガバモウセンゴケを栽培するために、日光の当たらない室内に実験装置を作成設置した (付図1)。実験装置は、 $90 \times 60 \text{cm}$  (縦 $\times$ 横) の空間に高さ45cm と高さ78cm の位置にワイヤーネットを設置し、高さ78cm のワイヤーネットには、100Wの植物育成用ランプ (アサヒプラントライト 100W, 旭光電気工業株式会社, 東京都品川区) を等間隔になるように8個を取り付けた。高さ45cm のワイヤーネットには、ランプによる過熱を防ぐために400mlの水を注いだクリーンカップ8個を各植物育成用ランプの下に置いた。また、高さ0cmの位置には $20 \times 60 \times 4 \text{cm}$  (縦 $\times$ 横 $\times$ 高さ) のトレイを等間隔に3つならべ、湿度を保つために2000mlの水を注ぎ、その上で栽培用のカップに入れたアフリカナガバモウセンゴケを栽培した。アフリカナガバモウセンゴケに到達する光量子密度は約 $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ であり、栽培時間はタイマー (Auto dimmer model No. DT-138, 赤井電機株式会社) を用いて光を9時間 (9:00–18:00) 照射した。

### アフリカナガバモウセンゴケの栽培方法

アフリカナガバモウセンゴケの栽培は昆虫の侵入が無い室内実験室で行った。アフリカナガバモウセンゴケにキイロショウジョウバエを与えずに蒸留水で5週間 (2012年5月26日–6月30日) 水耕栽培した。次に、3段階の栄養環境ごとにキイロショウジョウバエを与えたグループ (7株) と与えなかったグループ (7株) に分け、蒸留水および調整した水溶液200mlを入れたカップ (1カップあたり1株) で約9週間 (2012年6月30日–8月28日) 栽培した。なお、2012年6月30日 (実験開始時) に、枯死した葉を全て取り除いた。キイロショウジョウバエは、アフリカナガバモウセンゴケの栽培期間中に10匹を3回 (2012年7月9日, 2012年7月23日, 2012年8月13日) に分けて与えた。

## 計測項目

### 葉の形態変化

積算葉面積、積算落葉数、成熟葉の積算葉数、未熟葉の積算葉数を計測した。

積算葉面積は、枯死した葉も含めた積算値とし、2012年6月30日(実験開始時)と2012年8月28日(実験終了時)に計測した。葉面積は、実験開始時は写真によって、実験終了時はスキャナーによってデジタル画像化した後に、LIA for Win32 ver. 0.378(山本一清,名古屋大学)を用いて計測した。

また、積算落葉数、成熟葉の積算葉数、未熟葉の積算葉数は、実験開始時から実験終了時まで約7日間ごとに計測した。成熟葉は、腺毛が葉表面の8割以上を覆っている葉であり、葉長は概ね2.5–3.0 cm以上であった。また、未熟葉は、腺毛が葉表面の8割未満を覆っている葉であり、葉長約1.8 cm以上の葉を対象とした。アフリカナガバモウセンゴケの葉は、分化したばかりの時は先端が内側に巻いた形になっており、葉長1.8 cm以上で葉が十分に伸びきっていた。

さらに、条件ごとに葉の寿命を評価するために、落葉率を実験終了時の積算落葉数を実験終了時の積算葉数で除することで算出した。なお、落葉率が高いことは葉の寿命が短いことを、一方、落葉率が低いことは葉の寿命が長いことを意味する。

### 組織内の化学性

アフリカナガバモウセンゴケの葉に含まれる窒素および炭素の割合、 $\delta^{15}\text{N}$  および  $\delta^{13}\text{C}$  を分析した。葉に含まれる窒素と炭素の割合を分析することで、根圏の窒素栄養塩およびキロショウジョウバエから吸収される窒素が、アフリカナガバモウセンゴケにどの程度寄与しているのか、成長にどのような影響を与えるのかを推定できる。また、 $\delta^{15}\text{N}$  を分析することで、キロショウジョウバエから吸収される窒素がアフリカナガバモウセンゴケにどの程度寄与しているのかを推定でき、 $\delta^{13}\text{C}$  を分析することで、アフリカナガバモウセンゴケが光合成をどの程度行ったのかを推定できる。

実験終了後、アフリカナガバモウセンゴケの葉に付着したキロショウジョウバエを取り除き、根とシュートを蒸留水で洗浄した後に、オーブン(Electric drying oven model TS-426, 東洋化学産業株式会社, 長野県諏訪市)を用いて70°Cで48時間乾燥させた。乾燥終了後、根とシュートの乾燥重量を秤量し、それぞれを乳鉢にて粉末状にした。分析が可能になるまでサンプルをガラス製バイアル瓶で

保存した(Stewart 1993)。約3 mgのサンプルをスズ箔で包み、元素分析計(Flash EA1112, サーマフィッシャー・サイエンティフィック株式会社, 神奈川県, 横浜市)および質量分析計(Delta v advantage, サーマフィッシャー・サイエンティフィック株式会社, 神奈川県, 横浜市)を用いて、アフリカナガバモウセンゴケの元素分析を行った。

### 葉内二酸化炭素分圧(Ci)

#### 葉内二酸化炭素分圧を使う意義

葉内二酸化炭素分圧(Ci)と葉に含まれる窒素の割合から植物がどれくらい光合成を行ったのかを推定することができる。

植物は光合成を行う上で、カルビン・ベンソン回路の酵素類(特にRubisco)への窒素の投資を大きくする必要がある(Wright *et al.* 2001)。光合成酵素の増加に従って光合成もより行えるようになるため、葉内では二酸化炭素の吸収量が高まり、葉内二酸化炭素分圧は低下する。つまり、葉に含まれる窒素の割合が高く、葉内二酸化炭素分圧が低い場合は、光合成をより行ったと言える(Moran *et al.* 2001)。

本研究では、葉に含まれる窒素の割合と葉内二酸化炭素分圧から、アフリカナガバモウセンゴケにキロショウジョウバエを与えたことまたは根圏に窒素栄養塩を添加したことで、より光合成を行ったかどうかを推定した。

#### 葉内二酸化炭素分圧の計算方法

葉内二酸化炭素分圧は $\delta^{13}\text{C}$ からおよその値を推定することができる。

アフリカナガバモウセンゴケのようなC<sub>3</sub>植物は二酸化炭素の固定にRubisco(リブロース1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ)を用いている。Rubiscoは<sup>12</sup>Cに比べて重い炭素である<sup>13</sup>Cの利用率が悪く、カルボキシレーション部位における同位体分別は-30%と高い値を示す。しかし、葉内二酸化炭素分圧が低下すると、葉内に残った<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>が使われるようになる、すなわち同位体分別が低下する。このように、葉内二酸化炭素分圧が低下することで、植物は<sup>13</sup>Cを多く取り入れるようになる(Farquhar *et al.* 1989)。

本研究では、Moran *et al.* (2001)の方法に従って、葉内二酸化炭素分圧(Ci)は2つの段階で計算した。

最初に、アフリカナガバモウセンゴケの同位体分別( $\Delta$ )を計算した。

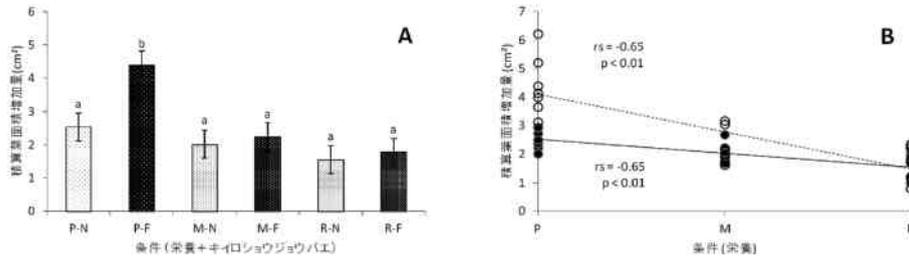


図1. 積算葉面積増加量

A : グループごと (ANOVA, Tukey-Kramer 法)

B : 栄養段階ごと (スピアマンの順位相関検定) (●- : N, ○- : F)

なお、エラーバーは標準誤差を表し、P (Poor) : 貧栄養環境, M (Middle) : 中栄養環境, R (Ritch) : 富栄養環境, N (No flies) : キイロショウジョウバエを与えなかった, F (Flies) : キイロショウジョウバエを与えた, を意味する (以下同様)。

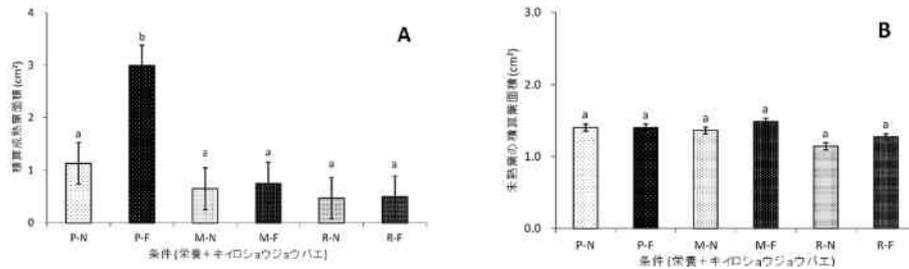


図2. 積算葉面積増加量

A : 成熟葉 (ANOVA, Tukey-Kramer 法)

B : 未熟葉 (ANOVA, Tukey-Kramer 法)

$$\Delta = (\delta^{13}\text{Ca} - \delta^{13}\text{C}) / (1 + \delta^{13}\text{C}/1000)$$

 $\delta^{13}\text{Ca}$  : 大気中  $\text{CO}_2$  の  $\delta^{13}\text{C}$  (− 8 ‰)

 $\delta^{13}\text{C}$  : アフリカナガバモウセンゴケの葉内  $\delta^{13}\text{C}$ 

次に、同位体分別 ( $\Delta$ ) を用いて葉内二酸化炭素分圧 ( $C_i$ ) を求めた。

$$C_i = [(\Delta - a) / (b - a)] C_a$$

a :  $\text{CO}_2$  が気孔から取り込まれる際に  $^{12}\text{CO}_2$  と  $^{13}\text{CO}_2$  の拡散速度の違いによって生じる分別 (= 4.4 ‰)

b : RubisCo によって  $\text{CO}_2$  が同化される時の分別 (= 27 ‰)

$C_a$  : 大気中の  $\text{CO}_2$  分圧 ( $370 \mu\text{mol mol}^{-1}$ )

## 結果

### 葉の形態変化

#### 積算葉面積および積算葉面積増加量

全ての条件において実験開始時の積算葉面積は約  $2 \text{ cm}^2$  であり、実験終了時の枯死した葉も含めた積算葉面積は増加していた。特に、貧栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合、実験終了時の積算葉面積は有意に高かった (スチューデントの t 検

定, P-N と P-F :  $p < 0.01$ )。

実験開始時から実験終了時までの積算葉面積増加量は、貧栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合で有意に高かった (ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-N と P-F :  $p < 0.01$ , 図 1-A)。

また、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、栽培期間 2 カ月の積算葉面積および積算葉面積増加量は有意に低くなった (スピアマンの順位相関検定, N :  $p < 0.01$ ,  $r_s = -0.65$ , F :  $p < 0.01$ ,  $r_s = -0.65$ , 図 1-B)。

#### 成熟葉および未熟葉の積算葉面積

貧栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合、成熟葉の積算面積増加量は有意に高く、葉全体の積算葉面積増加量を比較した時と同じ傾向を示したが (ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-N と P-F :  $p < 0.01$ , 図 2-A), 未熟葉だけをみると、いずれの栄養段階でキイロショウジョウバエを与えても、積算葉面積の増加は見られなかった (図 2-B)。

#### 積算葉数

全ての条件において実験開始時の葉数は約 7 枚であり、実験終了時の枯死した葉も含めた積算葉数は全ての条件において増加していた。

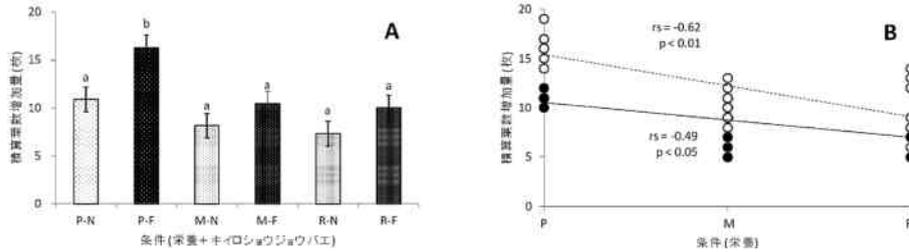


図3. 積算葉数増加量

A：グループごと（ANOVA, Tukey-Kramer 法）  
B：栄養段階ごと（スピアマンの順位相関検定）

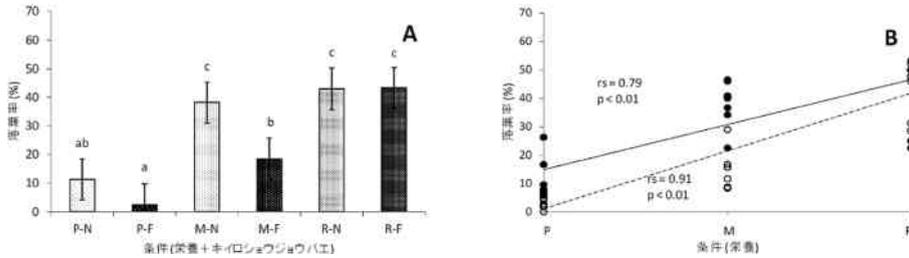


図4. 落葉率

A：グループごと（ANOVA, Tukey-Kramer 法）  
B：栄養段階ごと（スピアマンの順位相関検定）

積算葉数増加量は、貧栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合、有意に高い値を示した（ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-NとP-F： $p < 0.01$ , 図3-A）。

また、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、栽培期間2カ月の積算葉数増加量は有意に低くなった（スピアマンの順位相関検定, N： $p < 0.05$ ,  $rs = -0.49$ , F： $p < 0.01$ ,  $rs = -0.63$ , 図3-B）。

**乾燥重量**

乾燥重量は、キイロショウジョウバエを与えても、または根圏の窒素栄養塩濃度を高くしても、栽培期間2カ月では全ての条件で違いは見られなかった（ANOVA, Tukey-Kramer 法,  $p > 0.05$ ）。

**落葉率**

落葉率は、貧栄養環境および中栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合に減少していた（ANOVA, Tukey-Kramer 法, M-FとM-N： $p < 0.01$ , 図4-A）。

また、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、落葉率は有意に高かった（スピアマンの順位相関検定, N： $p < 0.01$ ,  $rs = 0.79$ , F： $p < 0.01$ ,  $rs = 0.91$ , 図4-B）。

**組織内の化学性**

**葉に含まれる窒素および炭素の割合**

葉に含まれる窒素と炭素の割合は、単位重量当りに含まれる相対値を計測した。

葉に含まれる炭素の割合は、貧栄養環境および中栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合で有意に低かった（ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-NとP-F： $p < 0.01$ , M-FとM-N： $p < 0.05$ , 図5-A）。

また、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、葉に含まれる炭素の割合は有意に低くなった（スピアマンの順位相関検定, N： $p < 0.01$ ,  $rs = -0.7$ , F： $p < 0.01$ ,  $rs = -0.62$ , 図5-B）。

葉に含まれる窒素の割合は、貧栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合で有意に高かったが、中栄養環境および富栄養環境でキイロショウジョウバエを与えても、増加は見られなかった（ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-NとP-F： $p < 0.05$ , 図6-A）。

また、キイロショウジョウバエを与えた場合のみ、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、葉に含まれる窒素の割合は有意に高くなった（スピアマンの順位相関検定, N： $p < 0.01$ ,  $rs = 0.70$ , 図6-B）。

葉のC/N比は、貧栄養環境および中栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合で有意に低かった（ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-NとP-

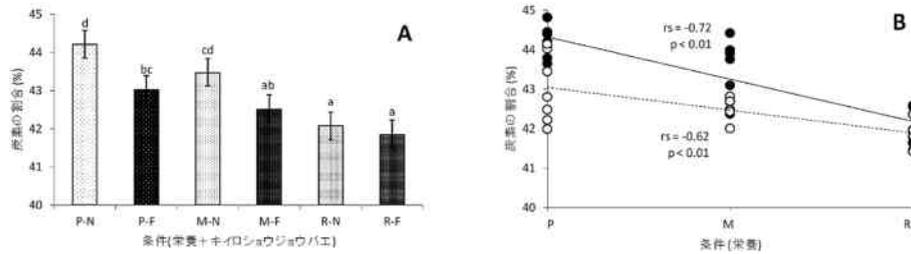


図5. 葉に含まれる炭素の割合

A: グループごと (ANOVA, Tukey-Kramer 法)

B: 栄養段階ごと (スピアマンの順位相関検定)

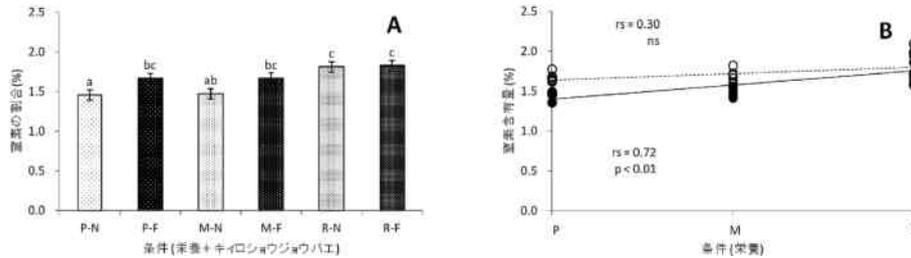


図6. 葉に含まれる窒素の割合

A: グループごと (ANOVA, Tukey-Kramer 法)

B: 栄養段階ごと (スピアマンの順位相関検定)

F:  $p < 0.01$ , M-FとM-N:  $p < 0.01$ 。

また、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、葉のC/Nは有意に低くなった (スピアマンの順位相関検定, N:  $p < 0.01$ ,  $rs = -0.70$ )。

#### 葉内の $\delta^{15}\text{N}$

$\delta^{15}\text{N}$  は、貧栄養環境および富栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合に、有意に高くなった (ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-NとP-F:  $p < 0.05$ , R-FとR-N:  $p < 0.05$ , 図7-A)。

また、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、 $\delta^{15}\text{N}$  は有意に高くなった (スピアマンの順位相関検定, N:  $p < 0.05$ ,  $rs = 0.57$ , F:  $p < 0.01$ ,  $rs = 0.92$ , 図7-B)。

#### 葉内の $\delta^{13}\text{C}$

葉内の  $\delta^{13}\text{C}$  は、貧栄養環境、中栄養環境、富栄養環境の全ての栄養段階で、キイロショウジョウバエを与えた場合に、有意に高かった (ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-NとP-F:  $p < 0.01$ , M-FとM-N:  $p < 0.01$ , R-FとR-N:  $p < 0.01$ , 図8-A)。なお、アフリカナガバモウセンゴケの $^{13}\text{C}$ の取り込みについては、考察(2-1)で議論する。

また、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、 $\delta^{13}\text{C}$  は有意に高くなった (スピアマンの順位相関検定, N:  $p < 0.01$ ,  $rs = 0.78$ , F:  $p < 0.01$ ,

$rs = 0.75$ , 図8-B)。

#### 葉内二酸化炭素分圧 (Ci)

貧栄養環境、中栄養環境、富栄養環境の全ての栄養段階で、キイロショウジョウバエを与えた場合、葉内二酸化炭素分圧は有意に低かった (ANOVA, Tukey-Kramer 法, P-NとP-F:  $p < 0.01$ , M-FとM-N:  $p < 0.01$ , R-FとR-N:  $p < 0.01$ , 図9-A)。

また、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、葉内二酸化炭素分圧は有意に低くなった (スピアマンの順位相関検定, N:  $p < 0.01$ ,  $rs = -0.67$ , F:  $p < 0.01$ ,  $rs = -0.63$ , 図9-B)。

#### 考察

##### 葉の形態変化

##### 積算葉面積および積算葉数

アフリカナガバモウセンゴケの積算葉面積および積算葉数は、貧栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合に有意に増加したが、中栄養環境および富栄養環境ではキイロショウジョウバエを与えても、栽培期間2カ月では増加しなかった。積算葉面積増加量および積算葉数増加量は、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず根圏の栄養塩濃度が高くなると、有意に減少していた (図1, 3)。また、未熟葉の積算葉面積は、全ての条件で違いがみられなかったが、成熟葉の積算葉面積は貧栄養環境

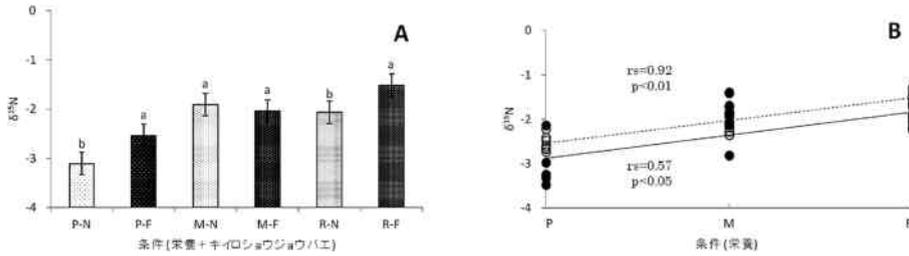


図7. 葉内の  $\delta^{15}\text{N}$

A: グループごと (ANOVA, Tukey-Kramer 法)

B: 栄養段階ごと (スピアマンの順位相関検定)

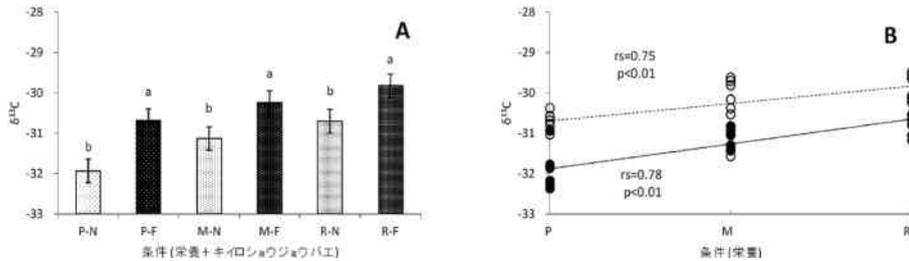


図8. 葉内の  $\delta^{13}\text{C}$

A: グループごと (ANOVA, Tukey-Kramer 法)

B: 栄養段階ごと (スピアマンの順位相関検定)

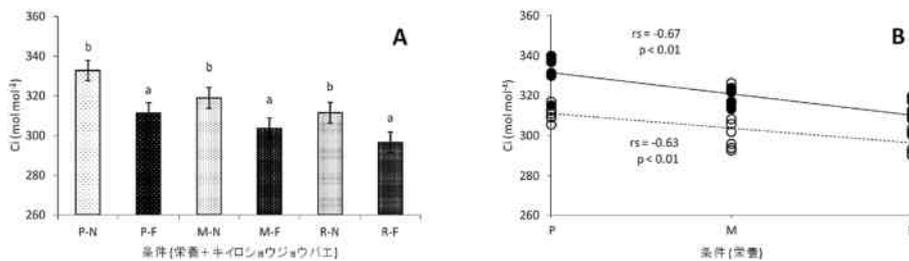


図9. 葉内二酸化炭素分圧 ( $\text{Ci}$ )

A: グループごと (ANOVA, Tukey-Kramer 法)

B: 栄養段階ごと (スピアマンの順位相関検定)

でキイロショウジョウバエを与えた場合に有意に増加した (図2)。

アフリカナガバモウセンゴケにとって、貧栄養環境は生育する上で必要な窒素栄養塩が不十分であったため、キイロショウジョウバエを与えたことで、成長が顕著に良くなったと考えられる。このことから、積算葉数や成熟葉の積算葉面積を大きくすることで、貧栄養環境においてより捕虫と光合成を効率的に行えるように形態変化したと考えられる。なお、アフリカナガバモウセンゴケにキイロショウジョウバエを与えたことで、光合成をより行ったことについては以降に議論する。

#### 落葉率

貧栄養環境および中栄養環境においてキイロショウジョウバエを与えた場合、落葉率は減少していた (図4-A)。これは、キイロショウジョウバエを与

えたことで短期的な窒素栄養塩の供給が行われたため、貧栄養環境および中栄養環境でも葉をより維持できるようになったと考えられる。

一方、キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなるにつれて、落葉率は有意に増加した (図4-B)。これは、菊沢 (2005) および Larcher (2002) が言うように、貧栄養な環境での生育が長期間続くことで葉の老化が遅くなり、富栄養環境では代謝が高まるため葉の寿命が短くなったのだろう。

#### 組織内の化学性

##### 窒素および炭素の取り込み

アフリカナガバモウセンゴケの窒素の取り込みについて、葉に含まれる窒素の割合 (図6), C/N比,  $\delta^{15}\text{N}$  (図7) を用いて議論する。

貧栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場

合、葉に含まれる窒素の割合は有意に増加した(図6-A)。一方、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなると、キイロショウジョウバエを与えても、葉に含まれる窒素の割合およびC/Nは違いが見られなかった(図6-B)。このことから、窒素が不足している貧栄養環境であっても、キイロショウジョウバエを与えたことで、富栄養環境に生育するグループのもつ窒素量に相当する窒素栄養塩を獲得したと考えられる。つまり、貧栄養な環境に生育するとされるアフリカナガバモウセンゴケは、根圏の窒素栄養塩が少ない貧栄養環境であっても、捕虫によって十分な窒素栄養塩を補っていることになる。さらに、貧栄養環境でアフリカナガバモウセンゴケにキイロショウジョウバエを与えたことで、 $\delta^{15}\text{N}$ は増加していた(図7-A)。ドロセラ属の植物は、貧栄養な環境で不足した窒素を捕虫によって補うとされており(Givinish *et al.* 1984)、アフリカナガバモウセンゴケもキイロショウジョウバエから窒素栄養塩を確実に吸収したといえる。なお、キイロショウジョウバエを与えていないグループでも、根圏の窒素栄養塩が高くなるに従って、 $\delta^{15}\text{N}$ は増加した(図7-B)。このことから、根圏の $\text{KNO}_3$ が増えた分だけ窒素栄養塩を吸収しているため、アフリカナガバモウセンゴケの根は窒素栄養塩に対する吸収能力は高いと考えられる。

一方、キイロショウジョウバエを与えた場合と与えなかった場合の直線の傾きがほぼ同じであること、キイロショウジョウバエを与えた場合の $\delta^{15}\text{N}$ が高い傾向にあることから(図7-B)、アフリカナガバモウセンゴケは根圏に栄養があっても、一定の割合の窒素栄養塩をキイロショウジョウバエから獲得したと考えられる。

アフリカナガバモウセンゴケの炭素の取り込みに関して、葉の $\delta^{13}\text{C}$ (図8)を用いて議論する。キイロショウジョウバエを与えたか否かに関わらず、根圏の窒素栄養塩濃度が高くなると、葉の $\delta^{13}\text{C}$ は有意に増加した(図8-B)。貧栄養環境には蒸留水のみ、中栄養環境および富栄養環境の養液には $\text{KNO}_3$ のみが含まれており、キイロショウジョウバエを与えなかった場合の葉の $^{13}\text{C}$ の取り込みは光合成による $^{13}\text{CO}_2$ の吸収が原因であると考えられる。また、Akagi and Osawa (2005)によれば、ドロセラ属の植物における $\delta^{13}\text{C}$ の増加は、捕虫によって昆虫から炭素を獲得したためではなく、葉内の二酸化炭素濃度が増加したためであるとしている。そのため、全ての栄養段階でキイロショウジョウバエ

を与えた場合でも $\delta^{13}\text{C}$ は有意に増加したのは、キイロショウジョウバエから $^{13}\text{C}$ を取りこんだためではなく、光合成をより行ったためと考えられる(図8-A)。

アフリカナガバモウセンゴケが根圏の養液およびキイロショウジョウバエから窒素栄養塩を吸収したことで、光合成を行う上で重要な酵素であるRubiscoを合成できるようになり、より光合成を行えるようになった。これによって、菊沢(2005)が言うように、二酸化炭素の要求量が増すため同位体分別が小さくなり、 $^{13}\text{CO}_2$ をより多く取り込むようになったのだろう。

### 捕虫による窒素の獲得と光合成の関係

貧栄養環境および中栄養環境で、アフリカナガバモウセンゴケにキイロショウジョウバエを与えた場合、または、根圏の窒素栄養塩濃度が高い場合、葉に含まれる窒素の割合は高くなったが(図6)、葉内二酸化炭素分圧は低くなった(図9)。葉に含まれる窒素の割合と葉内二酸化炭素分圧の関係(図10)に着目すると、アフリカナガバモウセンゴケに貧栄養環境および中栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場合、光合成をより行ったと考えられる(Moran *et al.* 2001)。

植物が光合成を行うためにはカルビン・ベンソン回路の酵素類(特にRubisco)へ窒素を投資する必要があり、葉に含まれる窒素の割合が増加したことは、植物が光合成をより行えるようになったことを意味する。また、光合成を行うと、葉内では二酸化炭素の要求量が増すため、葉内二酸化炭素分圧は低下する。

Moran *et al.* (2001)の議論から考えると、キイロショウジョウバエを与えた個体、または富栄養環境で生育した個体は、獲得した窒素によって光合成能力が高まり、葉内二酸化炭素分圧も低下していたことから、実際に光合成を行っていたと考えられる。

また、アフリカナガバモウセンゴケの積算葉面積および積算葉数が、貧栄養環境でキイロショウジョウバエを与えたことで有意に増加したことは(図1, 2, 3)、葉を増やすことで捕虫の効率を上げるといっても、捕虫によってより光合成を行えるようにしていると考えられる。

### 乾燥重量

根圏の窒素栄養が不足している環境でキイロショウジョウバエを与えた場合、積算葉面積(図1)と積算葉数(図3)は有意に増加し、光合成もより行っていたが、乾燥重量は生育期間2カ月では違いが

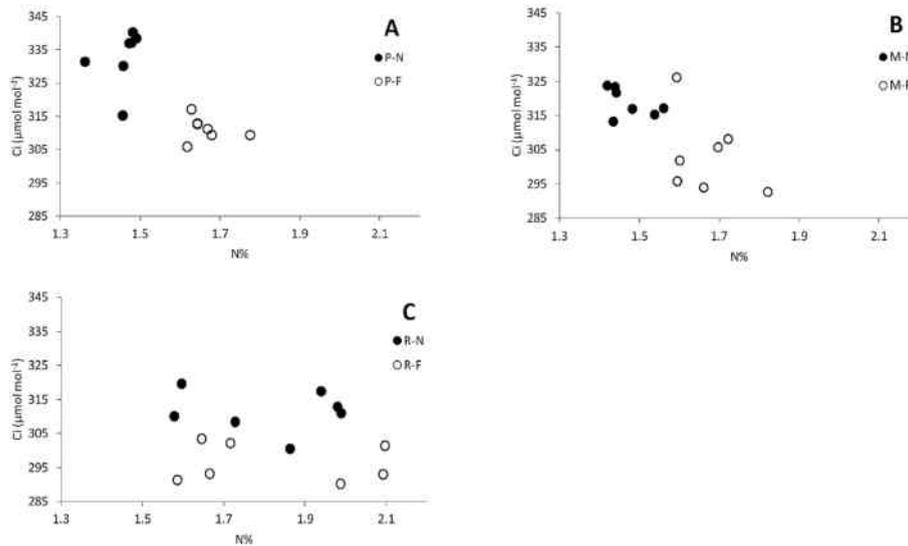


図10. 葉内二酸化炭素分圧 (Ci) と窒素の割合

A：貧栄養環境

B：中栄養環境

C：富栄養環境

見られなかった。アフリカナガバモウセンゴケは休眠を行わず (Payson 2008), 冬期間も生育できるため, 生育期間は比較的長い。今回の実験は, 生育期間が2カ月と短かったため, グループ間におけるアフリカナガバモウセンゴケの乾燥重量に違いは見られなかったと考えられる。

### 摂食動物の食害に対する防御

#### 防御を行う意義

ドロセラ属の植物は, 高い窒素栄養に対する吸収能力と捕虫能力を兼ねそろえているため, 他の植物に比べて窒素の割合が高く, 貧栄養環境においては捕食者にとって格好の餌になりうる。つまり, 葉に含まれる窒素の割合が高まると種子生産量が増すなど, 繁殖に有利になるが, 窒素を豊富に持っているため, 食害に合うリスクが高まる。そのため, ドロセラ属の植物は摂食動物からの食害を防ぐために防御機構を備えている必要がある。

ドロセラ属の植物が昆虫による食害を受けるとする研究例では, トリバガ科 (Pterophoridae) の幼虫は, 捕虫された昆虫の遺骸, ドロセラ属の植物の葉や花のつぼみを食べる (Matthews 2009)。

そこで, キイロショウジョウバエを与えたか否かおよび根圏の窒素栄養環境に応じて変化する葉に含まれる窒素と炭素の割合から, 化学的防御と物理的防御の2つの防御方法について考察する。

#### 化学的防御

アフリカナガバモウセンゴケは, 貧栄養環境および中栄養環境でキイロショウジョウバエを与えた場

合や根圏の窒素栄養塩濃度が高い場合, 葉に含まれる窒素の割合は高く (図5), 炭素の割合は低くなった (図6)。

そこで, 窒素栄養塩が十分にある環境においては, 窒素を使って毒素 (2次代謝産物) を生成することで, 食害を免れる化学的防御が有効と考えられる。

Bryant *et al.* (1983) のCNB仮説 (Carbon-nutrient balance hypothesis: 炭素-栄養塩バランス仮説) によれば, 植物は, 根圏の栄養塩濃度によって体内の炭素と窒素の相対量が変わり, それに応じて防御方法も変化するとしている。

富栄養環境で窒素が十分にある環境で生育している植物は, 葉に含まれる窒素の割合が高くなる。このような場合, 窒素化合物 (アルカロイド, プルンバギン等) を合成することで, 過剰な窒素を効率よく利用する (Bryant *et al.* 1983)。実際, ドロセラ属の植物はプルンバギンなどの生物毒を含み, 生物学や薬理学でも研究が行われている (Didry *et al.* 1998)。

一方, 貧栄養環境および中栄養環境でキイロショウジョウバエを与えなかった場合や根圏の窒素栄養塩濃度が低い場合, 葉に含まれる窒素の割合は低く (図5), 炭素の割合は高くなった (図6)。

窒素栄養塩が不十分な環境では, 過剰にある炭素からCHOのみで構成される防御物質 (タンニン等) を合成することで, 過剰な炭素を効率よく利用している (Bryant *et al.* 1983)。

## 物理的防御

アフリカナガバモウセンゴケは、キイロショウジョウバエを与えていない場合や、根圏の窒素栄養塩濃度が低い場合は、窒素栄養塩が不足しているため、葉に含まれる炭素の割合は高くなった (図5)。

植物は、窒素不足が続くことで相対的に葉に含まれる炭素の割合が高まるため、効率的に細胞壁を厚壁化することができ、摂食されにくくなると考えられている (菊沢 2005; Larcher 2004)。しかし、アフリカナガバモウセンゴケの場合は、貧栄養環境においては絶対的に葉内の窒素量も不足しており、炭酸同化も十分に行えないので、物理防御として有効なだけの細胞壁を合成することは困難であると考えられる。

## 謝辞

本研究を行うにあたって、多くの方々のご協力をいただいた。同研究室の牧玲佳氏、堀田朋勢氏には、発表にあたって的確な助言を頂いた。また、戸田任重教授には、実験手順に関する御助言をいただいただけではなく、元素分析も行って頂いた。ここに深く感謝とお礼を申し上げる。

## 引用文献

- 愛知真木子 (2011) 窒素環境の変化にตอบสนองした適応進化の研究. 平成23年度 様式C-19 科学研究費補助金研究成果報告書, 中部大学, 1-6.
- Akagi, T., and Osawa, K. (2005) Possible input on nitrogen of visitors' origin on a protected peatland. *Environmental Management* **35** 4: 461-467.
- Bass, T. M., Weinkov, D., Houthoofd, K., Gems, D., and Partridge, L. (2007) Effects of resveratrol on lifespan in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development* **128**: 546-552.
- Bekesiova, I., Nap, J. P., and Mlynarova, L. (1999) Isolation of high quality DNA and RNA from leaves of the carnivorous plant *drosera rotundifolia*. *Plant Molecular Biology Reporter* **17**: 269-277.
- Benkel, B. F., and Hickey, D. A. (1987) A *Drosophila* gene is subject to glucose repression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **84**: 1337-1339.
- Bryant, J. P., Chapin III, F. S., and Klein, D. R. (1983) Carbon / nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* **40**: 357-368.
- Didry, N., Dubreuil, L., Trotin, F., and Pinkas, M. (1998) Antimicrobial activity of aerial parts of *Drosera peltata* Smith on oral bacteria. *Journal of Ethnopharmacology* **60**: 91-96.
- Epstei, E. (1994) The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**: 11-17.
- Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R., and Hubick, K. T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 503-538.
- Givinish, T. J., Burkhardt, E. L., Happel, R. E., and Weintraub, J. S. (1984) Carnivory in the bomeliad *Brocchinia resucta*, with a cost / benefit model for the general restriction of plants to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *American Naturalist* **124**: 479-497.
- Grevenstuk, T., Coelho, N., Goncalves, S., and Romano, A. (2010) *In vitro* propagation of *Drosera intermedia* in a single step. *Biologia Plantarum* **54** 2: 391-394.
- 市橋泰範・服部健太・南 基泰 (2006) 東海丘陵要素植物群の保全生態学的研究。—保全・修繕とその管理に関する研究(4)—モウセンゴケ属 (*Drosera*) の種多様性と分子系統学的研究について。生物開発研究所紀要 **6**: 67-84.
- 菊沢喜八郎 (2005) 葉の寿命の生態学—一個葉から生態系へ—。共立出版。東京: 75-100.
- Larcher, W. (著) 佐伯敏郎・館野正樹 (監訳) (2002) 植物生態生理学—第2版—, シュプリンガー・フェアラーク東京: 127-155.
- Matthews, D. L. (2009) The sundew plume moth, *buckleria parvulus* (barnes & lindsey) (lepidoptera: pthrophoridae). *Southern Lepidopterists' News* **31** (2): 74-77.
- Millett, J., Jones, R. I., and Waldron, S. (2003) The contribution of insect prey to the total nitrogen content of sundews (*Drosera* spp.) determined *in situ* by stable isotope analysis. *New Phytologist* **158**: 527-534.
- Moran, J. A., Merbach, M. A., Livingston, N. J., Clarke, C. M., and Booth, W. E. (2001) Termite prey specialization in the pitcher plant *Nepenthes albomarginata*—evidence from stable isotope analysis. *Annals of Botany* **88**: 307-311.
- Payson, AZ. (2008) Carnivorous plant identification and cultivation professional development continuing education course. WWW. ABCTLC.COM **866**: 557-1746.

- Schulze, W., and Schulze, E. D. (1990) Insect capture and growth of the insectivorous *Drosera rotundifolia* L. *Oecologia* **82**: 427-429.
- Schulze, W., Schulze, E. D., Pate, J. S., and Gillison, A. N. (1997) The nitrogen supply from soils and insects during growth of the pitcher plants *Nepenthes mirabilis*, *Cephalotus follicularis*, and *Darlingtonia californica*. *Oecologia* **112**: 427-429.
- Stewart Jr, C. N., and Nilsen, E. R. (1993) Responses of *Drosera capensis* and *D. binata* var. *multifida* (Droseraceae) to manipulation of insect availability and soil nutrient levels. *New Zealand Journal of Botany* **31**: 385-390.
- Taiz, L., and Zeiger, E. (編) 西谷和彦・島崎研一郎 (訳) (2004) テイツ・ザイガー植物生理学—第3版—, 培風館, 東京: 184-185.
- 寺島一郎・彦坂幸毅・竹中明夫・大崎 満・大原 雅・可知直毅・甲山隆司・露崎史朗・北山兼弘・小池孝良 (2004) 植物生態学, 朝倉書店, 東京: 139-145.
- Wright, I. J., Reich, P. B., Westoby, M. (2001) Strategy shifts in leaf physiology, structure and nutrient content between species of high- and low-rainfall and high- and low-nutrient habitats. *Functional Ecology* **15**: 423-434.