

## 開放系オゾン付加施設に生育させたハルニレ苗の生理応答：虫害に注目して

北海道大学 農学部

北海道大学大学院 農学研究院

岡本昇太

齋藤秀之・渋谷正人・小池孝良

### はじめに

ハルニレ (*Ulmus davidiana* var. *japonica*) は冷温帯の代表的な落葉広葉樹である。北海道大学札幌キャンパスには多数のハルニレが植栽されており、その様子から同キャンパスは“エルムの杜”とも呼ばれている。しかし近年、そのキャンパス内のハルニレの衰退が顕在化している<sup>(5)</sup>。

樹木の衰退の要因の1つとして、食葉性昆虫による葉の食害がある。食害による葉面積の減少は光合成能力の低下をもたらす、それが樹勢の衰退や枯死へと繋がる<sup>(3,4)</sup>。

この昆虫による食害の程度を変化させ得る誘因として大気中の $O_3$ と窒素化合物がある。先行例では大気中 $O_3$ の影響で食葉性昆虫のニレ類の樹木への生理応答が変化した<sup>(1)</sup>。また近年、越境大気汚染物質として注目されているPM2.5に窒素化合物の $(NH_4)_2SO_4$ が多く含まれ、植物に直接影響を与えていることが実験的に解明されている<sup>(9)</sup>。強力な酸化剤である $O_3$ は気孔から葉内に取り込まれ、光合成能力を低下させる<sup>(2)</sup>。一方、窒素化合物は植物表面に沈着し“肥料”として光合成活動を促進させる<sup>(3)</sup>。

対流圏 $O_3$ 濃度は産業革命が始まって以来上昇を続けており、この傾向は特に東アジアで大きい。北海道では10年程前から大気中 $O_3$ や窒素沈着量が増加しており、それらに起因する森林衰退の事例も観察され始めている。

しかし、これらがハルニレの光合成活動、特に防御物質の生産などに影響を与える可能性を調査した先行研究は少ない<sup>(6,7)</sup>。このような大気環境の変化に伴い、ハルニレにおける虫害もそのような変化を示すのか、植物体の応答をまず把握する必要がある。

そこで本研究では開放系 $O_3$ 付加施設に生育させたハルニレ苗に窒素化合物を散布し、各処理に対してハルニレが示す生理的応答と各処理区を訪れる昆虫の様子を観察・評価し、成長に及ぼす影響の事例に資することを目的として調査を行った。

### 材料と方法

本研究は2017年に、北海道大学北方生物圏フィールド科学センター札幌研究林苗畑で行われた。4処理( $O_3$ のみ付加、窒素のみ付加、 $O_3$ と窒素付加、対象)×3反復×4個体の計48個体の長沼産ハルニレの2年生稚樹を用いた。2016年10月にこれらを植栽した。

$O_3$ 付加区(濃度70ppb:日本環境基準値+10ppb)と対照区(濃度約35ppb)を3基ずつ設け、6基それぞれにハルニレを8個体ずつ植栽した。更にそのうち半数の4個

体に $(NH_4)_2SO_4$ (硫酸)の0.75%水溶液を葉面散布し、窒素沈着を模した処理を行った(散布期間は6~9月)。散布総量は稚樹の地際で50kg N/ha年に相当するように設定した。

このような条件下で、(1)各処理区を訪れた昆虫の種とその出現時期、(2)クロロフィル蛍光応答、(3)葉内クロロフィル量、をハルニレの一成長期間(4~11月)を通して測定した。

(1)については1~2週間おきに、ハルニレ稚樹1個体あたりに訪れた昆虫種とその個体数を観察し記録した。

(2)は9月中旬に葉のクロロフィル蛍光をパルス変調(PAM)法(使用機器:PAM-2000, WALZ社製)で測定した。この測定で得られるFv/Fm値は光合成酸素発生系の効率を示す。これは葉のストレス評価の指標になり、健全葉では0.80~0.83の値をとる。

(3)の測定では、8月上旬に各処理区の稚樹の葉からサンプルを採取し、これらを冷凍保存した。そして10月下旬にジメチルスルホキシド(DMSO)を用いて抽出し、その含有量を分光光度計(GeneSpec III, 日立製作所製)で測定した<sup>(2)</sup>。

統計解析は、稚樹1個体あたりに訪れたある昆虫種の平均個体数に関しては一般化線形モデル(GLM; P<0.05)を用いた。応答変数は虫個体数とし、負の二項分布を仮定した。説明変数は $O_3$ と窒素処理の有無および両者の交互作用とした。説明変数の効果は尤度比検定によって評価した。また、葉のクロロフィル蛍光と葉内クロロフィル量に関しては二元配置分散分析を行った(P<0.05)。

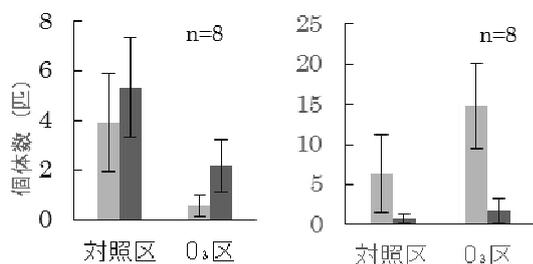
### 結果

対象のハルニレ稚樹での一成長期間を通して観察できた主な昆虫種は、ニレハムシ(*Pyrrhalta maculicollis*, ハムシ科, 6月下旬~9月下旬)やニレチュウレンジ(*Arge captiva*, ミフシハバチ科, 7月下旬~9月下旬), ハンノキハムシ(*Agelastica coerulea*, ハムシ科, 8月上旬~9月中旬), オカボノクロアブラムシ(*Tetraneura nigriabdominalis*, アブラムシ科, 6月上旬), ヒオドシチョウ(*Nymphalis xanthomelas japonica*, タテハチョウ科, 9月上旬)であった。これらの中で、特にハルニレを訪れた個体数ならびに食害量が多かったニレハムシ成虫とニレチュウレンジ幼虫(図-1)に焦点を絞り、各処理区のハルニレ稚樹1個体あたりに訪れた個体数をまとめた。扱うデータは、各昆虫種の個体数が最多であった日(ニレハムシは8月11日, ニレチュウレンジは9月19日)のものである。



図-1 ニレハムシ成虫(左)とニレチュウレンジ幼虫(右)

ニレハムシでは O<sub>3</sub>付加により、訪れる個体数が有意に減少し、窒素付加の影響で訪れる個体数は増加する傾向があった (p=0.16)。ニレチュウレンジにおいては、O<sub>3</sub>付加によって訪れる個体数が増加する傾向が示唆され (p=0.30)、窒素付加の影響で、訪れる昆虫数は有意に減少した (図-2)。



■ 対照, ■ N 施肥, エラーバーは標準誤差を表す。

図-2 ハルニレ稚樹 1 個体に訪れた、ある昆虫種のアverage個体数

左図:ニレハムシ成虫(8月11日測定)

右図:ニレチュウレンジ幼虫(9月19日測定)

クロロフィル蛍光応答の指標である Fv / Fm 値は、対照区 0.81、窒素区 0.78、O<sub>3</sub>区 0.80、O<sub>3</sub>×窒素区 0.75 であった (各処理ともに平均値)。窒素付加による Fv / Fm 値の低下がみられ、また O<sub>3</sub>付加の影響によっても値が有意に低下した (p<0.05)。葉内クロロフィル量は、O<sub>3</sub>によって低下したが、窒素付加によって増加する傾向も見受けられた (p=0.1)。

### 考察

O<sub>3</sub>処理下のハルニレ稚樹では、O<sub>3</sub>の酸化作用によって葉内クロロフィル量が減少したため、光合成機能が低下したことが考えられる。また、窒素処理下では O<sub>3</sub>区、対照区ともに Fv / Fm 値が低下した。これには過剰量の NH<sub>4</sub><sup>+</sup>や SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>によって光合成機能の低下(肥料焼け)が生じた可能性が考えられる。ニレチュウレンジ幼虫が窒素付加区で少なかった理由は、葉面散布の結果、葉縁で肥料焼けが生じ、葉の餌や産卵場所(この昆虫種は葉縁に産卵する<sup>(6)</sup>)としての魅力が低下したことによると考えている。

一方、窒素付加によって葉内クロロフィル量は増加した。これらをもとに、O<sub>3</sub>と窒素化合物が葉の機能へ与える影響の流れを考察する。まず、葉面に沈着した窒素酸化物が肥料として働き、クロロフィル量や酵素の量・活性が増加し、光合成活動が活発化する。しかしこれに伴い気孔経由の O<sub>3</sub>吸収も促進され、結果的に光合成阻害が

生じる。このような順序が考えられる。

以上の事より、O<sub>3</sub>と窒素化合物の大気中濃度の増加によってハルニレ稚樹と昆虫の相互関係が変化したこと、また葉の生理機能の低下が生じることが分かった。従って、大気中 O<sub>3</sub>濃度と窒素沈着量の増加は、食葉性昆虫を介した葉の食害によって引き起こされるハルニレの衰退の誘因となり得ると思われる<sup>(9)</sup>。ただし、成長と防御のバランスを評価するためには、十分に光合成ができる大きな個体での挙動も調査せねばならない。

ハルニレ稚樹を訪れた昆虫種のデータに注目すると、ニレハムシの場合は高 O<sub>3</sub>区の葉を避ける傾向があった。これはシラカンバに対するハンノキハムシの傾向と同じであった<sup>(7)</sup>。また、処理間では窒素付加区の葉を訪れるようである。これは、ハルニレ葉は窒素沈着によりニレハムシにとっての餌としての価値が高くなると考えることができる。

これらを解明するために、今後は被食量と、ハルニレが二次代謝で生産する被食防衛物質(縮合タンニンや総フェノールなど)の量を測定し、各処理区内で比較したい。そしてこれらをもとに、高濃度 O<sub>3</sub>と窒素沈着が昆虫とハルニレとの間の相互作用に与える影響をより具体的に評価したい。

### 謝辞

本研究の実験計画には、菅井徹人氏(北大農学研究院生)と E. Agathokleous 博士(学振研究員)に御助言と支援をいただいた。データ解析において江口則和博士(北大農学研究院研究員)の適切なご支援を得た。なお、本研究費の一部は、科研費挑戦的萌芽研究(16K14932)を使用した。記して深く感謝する。

### 引用文献

- (1) Barger, J. H., et al. (1992) Elm leaf beetle performance on Ozone-fumigated elm. Res. Pap. NE-661. 1-9.
- (2) Barnes, J. D., et al. (1992) A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. Env. Exp. Bot., 32 : 85-100.
- (3) 伊豆田猛(2006)植物と環境ストレス. コロナ社. 東京.
- (4) 原秀穂(2010)北海道における膜翅目ハバチ亜目の樹木害虫 I. 道林試研報 47 : 51-68.
- (5) 小池孝良(2016)北大札幌キャンパスにおけるニレの事例. 樹木医学研究 20 : 1-6
- (6) Koike T., et al. (2013) Effects of ozone on forest ecosystems in East and Southeast Asia. In: Matyssek R et al. (2013) eds., Climate Change, Air Pollution and Global Challenges: 371-390.
- (7) Sakikawa, T., et al. (2016) Leaf phenology and insect grazing of Japanese white birch saplings grown under free-air ozone exposure. Jour. Agri. Met., 72: 80-84.
- (8) 志村隆編(2005)日本産幼虫図鑑. 学習研究社. 東京. : 276.
- (9) Yamaguchi T. and Noguchi I. (2015) Long-term trends for nitrate and sulfate ions in snowcover on Hokkaido, northern Japan. Jour. Agri. Met., 71 : 196-201.