

## ブナ,ミズナラ幼樹の誘導防御の経時変化

北海道大学大学院農学院  
北海道大学大学院農学研究院

青山 千穂  
小池 孝良

## はじめに

名古屋で開催される第10回生物多様性条約締約国会議、通称COP10を2010年に控え、ますます生物多様性の保全が重要視されている。この生物多様性の保全を考える上で、欠かすことが出来ない要素の1つが生物間相互作用、特に植物の防御メカニズムの多様化というボトムアップからの視点であると考えられている(2,7,8)。

植物の防御には、光合成の二次代謝産物を主な材料として葉を硬くしたり、トゲやトリコーム(毛状体)などを持つことにより植食者が採食しにくくなる「物理的防御」と植食者にとって不快な味や匂い、さらには毒作用を持つことによって防御する「化学的防御」が存在する。

しかし、落葉樹の場合、防御と成長(主にリグニンの生産)は同じ物質代謝産物(フェニルアラニン)を用いるため、トレードオフの関係が成り立つと考えられている(2,4)。つまり、防御にはコストがかかるので、防御ばかりしていると肝心の成長や繁殖が出来なくなってしまう。そこで、ある一定の防御である「恒常的防御(constitutive defense)」と、更なる食害を回避するために食害が起こってから防御物質の生産を始める「誘導防御(Induced defense)」が存在する(6)。防御を最低限に抑えて必要に応じて行う誘導防御は、コストがかかる防御を柔軟に運用することのできる効率のよい手段であると考えられている。

本研究ではこの防御の中でも特に、「誘導防御」に着目し、以下の2つの視点から研究を計画した。

まず1つ目は経時変化である。ブナ、ミズナラ、シラカンパの3樹種において、マイマイガによる食害処理を加え、夏の1度のサンプリングでの防御の誘導実験を行った(1)。その結果、ブナは総フェノール量が増加していることが認められた。しかし、樹種によって誘導防御の応答速度や持続時間も異なると考えられるため、本研究では食害処理から10日ごとにサンプリング時期を細かく区切り、分析を行った。

2つ目は土壤中の養分条件である。一般的に植物の防御には葉内の炭素と窒素のバランスが密接に関係していると考えられている。これをCarbon Nutrient Balance Hypothesis:通称CNB仮説という(4)。加えて、褐色森林土では窒素が不足する可能性があることから試験区を大きく2つに分け、窒素を付加する区としない区を設け、土壤の窒素養分の違いが誘導防御の応答に及ぼす影響を追跡した。

以上より、本研究では食われる立場の樹木に焦点を当て、「誘導防御」という樹木が食害を受けてから誘導される防御について経時変化を追うこと、加えて土壤の窒素養分が与え

る影響という視点から誘導防御を調べることで、基礎的な知見の収集を行うことを目的とした。

## 材料と方法

本研究は北方生物圏フィールド科学センター札幌研究林実験苗畑で行った。土壤は褐色森林土である。使用した樹種は、冷温帯林の主要構成樹種である、ブナ(*Fagus crenata*)、ミズナラ(*Quercus mongolica* var.*crispula*)の2樹種を対象とした。両樹種とも7~9年生で、ブナは樹高1.5~2m、ミズナラは樹高3~4mのものをを用いた。なお、樹木の反復数は後述する。

本研究で行った処理は、以下の2つである。

## 1) 食害処理

これは、実際に植食者に食べさせ、人為的に誘導防御を起こさせる処理である。開葉から10日後の5月上旬、外部から植食者が入り込まないように、ブナとミズナラの1個体当たり3枝に袋がけを行った。袋は遮光率18%、0.4mmのメッシュの寒冷紗(三晃化学、札幌)をミシンで縫い、袋の口部分を針金で留めた。開葉から30日後の5月中旬に春先の食害を想定し、植食者として広食性のマイマイガ(*Lymantria dispar*)の3齢幼虫を袋に入れ、シュートの各個葉を約20%食べた6月上旬時点マイマイガを取り出した。

## 2) 窒素処理

土壤中の養分条件、以下窒素処理についてである。試験地を大きく2つに分け、2008年5月上旬と2009年5月上旬の2年間にわたり、30kgN ha<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup>の窒素を硫酸アンモニウム((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)によって付加した区、及び対照区を設置した。この数値の目安は近年関東周辺の都市近郊で見られる窒素沈着量を目安にしている(1)。

使用した樹種は処理ごとにそれぞれ4個体、計32個体を用意し、その個体の中から食害処理後10日(6月中旬)、20日、30日、40日、50日(8月上旬)と計5回、時間を追って葉をサンプリングし、1回のサンプリングで1個体3枚の葉を採取した。なお、食害処理区のサンプリングした葉は、食害を受けた葉とした。

サンプリングした葉は、1枚の葉から物理的な防御として葉の硬さの指標である単位面積当たりの葉重量、通称LMA(g/cm<sup>2</sup>)と、残りの葉部分を化学分析用とした。LMA測定用に葉をリーフパンチでディスクを打ち抜き、60℃のオーブンで2日間乾燥させた後、乾燥重量を測定しLMAを求めた。

Chiho AOYAMA (Graduate School of Agriculture, Hokkaido Univ., Sapporo 060-8589),

Takayoshi KOIKE (Research Faculty of Agriculture, Hokkaido Univ., Sapporo 060-8589)

Temporal changes of induced resistance in saplings of *Fagus crenata* and *Quercus mongolica* var.*crispula*.



残りの部分は、凍結乾燥機 (FLEXY-DRY, FTS systems, USA) で乾燥させ、ミルで粉碎した後、化学的な防御として炭素骨格の二次代謝産物である総フェノール量 (g/g, Folin - Ciocalteu 法, Julkunen - Titto 1985) と縮合タンニン量 (g/g, 塩酸ブタノール法, Bath - Smith 1977) を定量した。また、統計処理としてはRを用いてサンプリング時期ごとに食害処理と窒素処理を要因とした Two-way ANOVA で解析を行った。

### 結果

対照区のみでの比較では、すべての採取時期を通して、ミズナラよりもブナのほうがLMAが大きく、総フェノール量は同程度だが縮合タンニン量はブナのほうが多い結果となった。以下、樹種ごとに採取時期を追って結果を述べる。

#### 【ブナ】

・LMA (葉の堅さの指標)

食害処理は20日後と30日後に有意な差がみられた。窒素処理の影響は50日後の傾向があったもの ( $p < 0.1$ ) も含め、すべての採取時期で有意な差がみられた (図1-1)。

・総フェノール量

食害処理は30, 50日後に有意な差がみられた。窒素処理の影響はすべての採取時期で見られた (図1-2)。

・縮合タンニン量

食害処理は20, 30, 50日後に有意な差がみられた。窒素処理の影響はすべての採取時期で見られた (図1-3)。

#### 【ミズナラ】

・LMA (葉の堅さの指標)

食害処理は10日後のみ傾向 ( $p < 0.1$ ) がみられた。窒素処理の影響は10, 20日後に有意な差がみられた (図2-1)。

・総フェノール量

食害処理、窒素処理ともに20日後のみ有意な差がみられた (図2-2)。

・縮合タンニン量

食害処理は10, 20日後に有意な差がみられた。窒素処理の影響は20日後のみに有意な差が見られた (図2-3)。

### 考察

ブナは処理20日後から防御が誘導され、50日後まで持続傾向があること、また窒素処理のほうが防御は少ないが、誘導防御は明瞭な反応があらわれることが示された。加えて、ミズナラはブナよりも窒素処理の差が現れないこと、また誘導防御が処理30日後には収束していることが示唆された。このミズナラの防御の収束は、ヤナギ (*Salix cinerea*) をハムシ成虫 (*Phratora vulgatissima*) に食べさせ防御を誘導させた実験 (3) でも、本研究と同様に30~40日後にはトリコームの生産が収束していることが確認されている。

これらの結果は、ブナは一斉開葉タイプで、一度葉を形成すると当年で新しい葉を出すことはほとんどなく、しっかりと恒常的な防御を施し、また防御が誘導されてもそれを持続することによって葉を堅牢に防御していると考えた。またミズナラは条件が良いと2次フラッシュをする柔軟なタイプであるので、当年の食害にも柔軟に対応し、誘導された防御も当年で収束させることでより効率よく防御をしていることが考えられる。

ここで、成長や開葉から考えるとミズナラのほうがブナより窒素付加の影響が大きいとの予測ができるが、ミズナラは今年の土壌条件が適していたためか、窒素付加した処理区と付加しなかった処理区の両方でたくさんの2次フラッシュが見られた。よって、当年の窒素の影響がブナより少ないという結果が得られたと考えられる。

このように、生態的特徴によって誘導防御も樹種間で差がある可能性が示唆された。今後の課題だが、本研究では10日ごとに葉の採取を行った。しかし、ブナ (図1) やミズナラのLMA (図2-1) においては処理10日以前に何らかの変化が生じている可能性がある。加えてミズナラの総フェノール量や縮合タンニン量 (図2-2, 2-3) においては処理10日から30日における防御の誘導と収束の応答をさらに細かく検討していく必要がある。また、一度防御が誘導された個体は再度誘導される時に一度目の応答と異なるかなど、興味は尽きない。来年度も本研究を踏まえ、さらに研究をしていく予定である。

本研究を進めるに当たって科学研究費補助金・基盤研究B (原田光・小池孝良) の支援を得た、記して感謝する。

### 引用文献

- (1) 青山千穂 (2009) 落葉広葉樹における誘導防御と開葉様式の関係. 北大農学部森林科学科, 平成20年度卒業論文
- (2) 青山千穂・小池孝良 (2009) 樹木の誘導防御に関する研究の動向と今後の方向性. 北方林業 61: 217-220.
- (3) Bjökman, C., Dalin, P. and Ahme, K. (2008) Leaf trichome responses to herbivory in willows: induction, relaxation and costs. *New Phytologist* 179: 176-184.
- (4) Bryant, J.P., Chapin, F.S. III, and Klein, D.R. (1983) Carbon/Nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40: 357-368.
- (5) Coly, P.D. (1988) Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defense. *Oecologia* 74: 531-536.
- (6) Karban, R. and Baldwin, I.T. (1997) *Induced Responses to Herbivory*. The University of Chicago Press, USA
- (7) 大串隆之 (2003) 『生物多様性科学のすすめ』, 丸善, 東京.
- (8) 鷲谷いづみ・矢原徹一 (1996) 保全生態学入門. 文一総合出版, 東京.

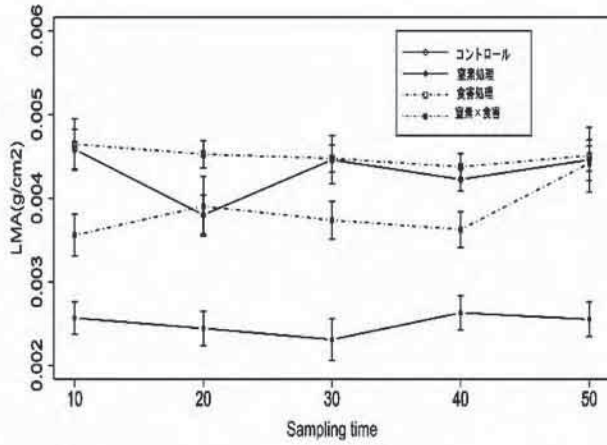


図 1-1 ブナの LMA (単位面積当たりの葉重量)

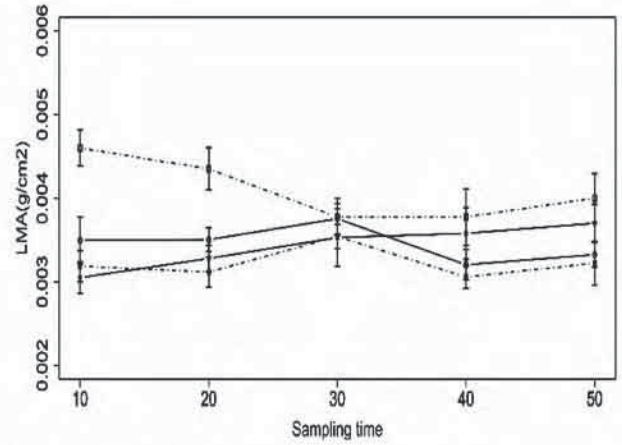


図 2-1 ミズナラの LMA (単位面積当たりの葉重量)

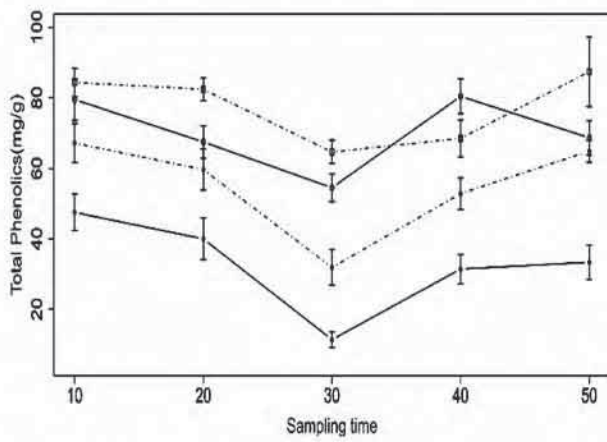


図 1-2 ブナの総フェノール量

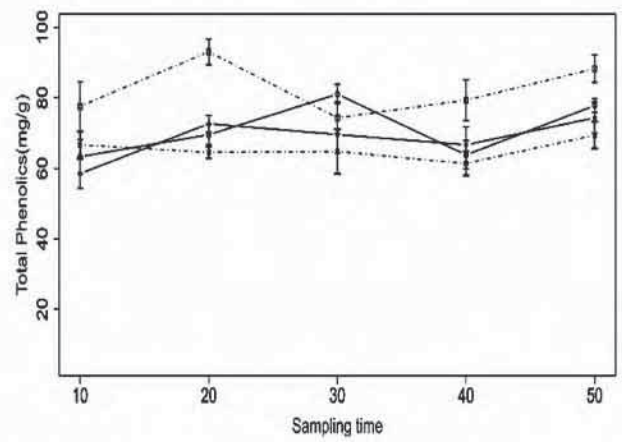


図 2-2 ミズナラの総フェノール量

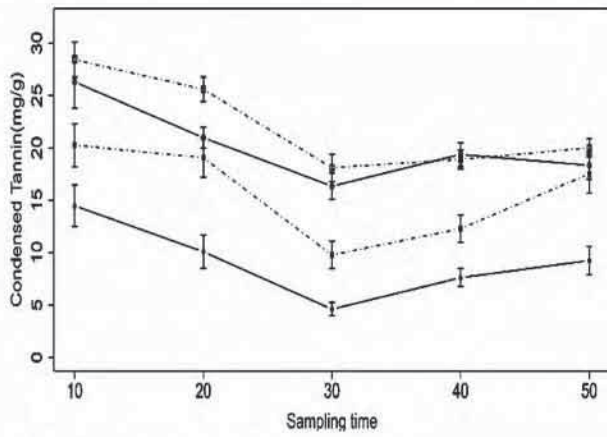


図 1-3 ブナの縮合タンニン量

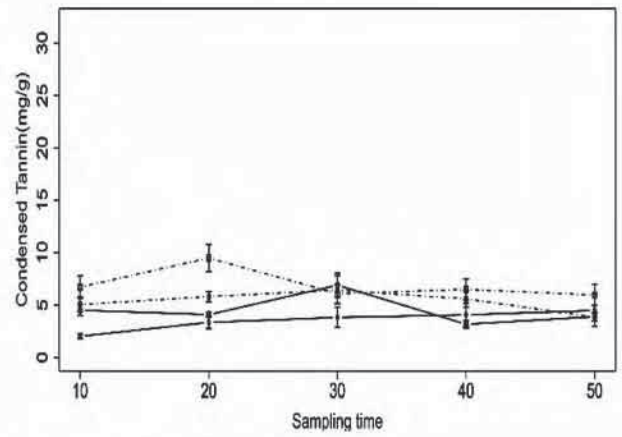


図 2-3 ミズナラの縮合タンニン量

すべての図で, n=12。  
プロットは平均値。エラーバーは標準誤差。



表1 凶に関する Two-way ANOVA の統計結果。値は F 値 (\*p&lt;0.05,\*\*p&lt;0.01,\*\*\*p&lt;0.001,n.s.p&gt;0.1)。n=12。

ブナ LMA	10 日後	20 日後	30 日後	40 日後	50 日後
食害処理	2.5794(n.s.)	7.5602(*)	4.999(*)	4.106(n.s.)	4.3361(n.s.)
窒素処理	20.3707(***)	6.1961(*)	20.4108(***)	17.2094(**)	4.7214(n.s.)
食害×窒素	1.8444(n.s.)	0.8786(n.s.)	4.7658(*)	2.2374(n.s.)	3.8955(n.s.)
ミズナラ LMA					
食害処理	4.5304(n.s.)	1.5227(n.s.)	0.0025(n.s.)	0.0086(n.s.)	0.0727(n.s.)
窒素処理	10.1477(**)	6.9353(*)	0.4777(n.s.)	0.4032(n.s.)	0.1924(n.s.)
食害×窒素	2.7458(n.s.)	3.3156(n.s.)	0.0002(n.s.)	4.1162(n.s.)	1.7994(n.s.)
ブナ総フェノール量					
食害処理	2.3059(n.s.)	4.2914(n.s.)	6.8265(*)	0.553(n.s.)	11.191(**)
窒素処理	8.6543(*)	9.1152(*)	41.9563(***)	25.5322(***)	14.843(**)
食害×窒素	0.7991(n.s.)	0.073(n.s.)	0.7812(n.s.)	6.7991(*)	0.727(n.s.)
ミズナラ総フェノール量					
食害処理	2.1491(n.s.)	7.1917(*)	0.6056(n.s.)	0.6375(n.s.)	0.3676(n.s.)
窒素処理	1.0538(n.s.)	19.7022(***)	2.0309(n.s.)	1.3862(n.s.)	4.3507(n.s.)
食害×窒素	0.1593(n.s.)	30.5509(***)	0.016(n.s.)	2.6351(n.s.)	2.1215(n.s.)
ブナ縮合タンニン量					
食害処理	1.7204(n.s.)	6.7496(*)	5.8109(*)	1.8225(n.s.)	6.6569(*)
窒素処理	10.0468(**)	11.1201(**)	49.3946(***)	34.8129(***)	8.9894(*)
食害×窒素	0.3403(n.s.)	0.6653(n.s.)	1.3815(n.s.)	2.727(n.s.)	2.9306(n.s.)
ミズナラ縮合タンニン量					
食害処理	4.9572(*)	15.0974(**)	0.2271(n.s.)	2.4297(n.s.)	0.2022(n.s.)
窒素処理	3.1191(n.s.)	4.7802(*)	0.5247(n.s.)	0.000003658(n.s.)	0.1829(n.s.)
食害×窒素	0.1254(n.s.)	2.1127(n.s.)	0.8011(n.s.)	0.3319(n.s.)	0.6441(n.s.)