

令和元年度 北海道大学 低温科学研究所 共同研究集会

樹木の生態に対する
シンクベースの生理的機序からの探求
- 現象から解析手法まで
(通称"シンク集会")

要旨集

令和元年（2019年）9月18日（水）- 20日（金）
北海道大学 低温科学研究所 新棟3F講堂
（札幌市北区北19条西8丁目）



集会企画者 隅田明洋（北大低温研）・斎藤秀之（北大院農）

問い合わせ：隅田明洋（北海道大学 低温科学研究所）

Tel & Fax 011-706-5507

asumida@lowtem.hokudai.ac.jp

「樹木の生態に対するシンクベースの生理的機序からの探求-現象から解析手法まで」(“シンク集会”)

プログラム ver 2019/9/17

2019年 9月	開始	終了	発表 番号	発表者	所属	発表タイトル（一部仮タイトル）	
18日(水)	13:30	14:00	0	隅田 明洋	北海道大学大学低温科学研究所	趣旨説明	
	PM 14:00	14:40	1	隅田 明洋	北海道大学大学低温科学研究所	生態学的研究からわかった全樹木の成長パターンの 個体差をどのようなメカニズムが説明するか	
	14:40	15:20	2	斎藤 秀之	北海道大学大学院農学研究院	機能ゲノム学的研究は森林樹木の環境応答の疑問に どこまで答えられるか？	
	15:20	15:30	(休憩)				
	15:30	16:10	3	力石 嘉人	北海道大学大学低温科学研究所	有機化合物の安定同位体比で見る生物の代謝フロー	
	16:10	16:50	4	滝沢 侑子	北海道大学大学低温科学研究所	植物フェノロジーを理解する ～安定同位体比自然存在度からの視点～	
	16:50	17:30	5	大宮 泰徳	森林総合研究所	ブナの組織培養	
	17:30	18:00	< 総合討論 >				
	18:30	20:30	懇親会 低温研				
19日(木)	9:30	10:30	6	井鷲 裕司	京都大学大学院農学研究科	様々な時間スケールで同調する植物の繁殖プロセス 物質収支からみた考察	
	AM 10:30	11:30	7	韓 慶民	森林総合研究所	結実豊凶がブナ成木個体内の各器官への炭素・窒素資源の 配分に及ぼす影響について	
	11:30	13:00	(昼休み)				
	PM 13:00	13:40	8	宮崎 祐子	岡山大学大学院環境生命科学研究科	植物の資源利用と繁殖戦略	
	13:40	14:20	9	西尾 治幾	京都市大学生態学研究センター	エビジェネティクス時系列解析によって明らかとなった シロイヌナズナ属多年草自然集団における春化応答の頑健性	
	14:20	15:00	10	赤田 辰治	弘前大学農学生命科学部	乾燥応答性MYB 遺伝子 <i>FcMYB1603</i> の発現特性と生理的役 割について	
	15:00	15:10	(休憩)				
	15:10	15:50	11	梅木 清	千葉大学大学院園芸学研究科	資源分配の特徴を捉えるための統計モデリング	
	15:50	16:30	12	長田 典之	名城大学農学部	樹木の樹冠構造、展葉タイミングと葉の形質の関連	
	16:30	16:40	(休憩)				
	16:40	17:20	13	小野 清美	北海道大学大学低温科学研究所	ミズナラ実生の葉の老化におけるシンク・ソース関係の影響	
	17:20	18:00	14	和田 尚之	道立総合研究機構森林研究本部 林業試験場	細胞分裂の季節変動からみた葉の形成	
	18:00	18:30	< 総合討論 >				
	懇親会（場所未定、希望者のみ）						
	20日(金)	9:30	10:30	15	石田 厚	京都市大学生態学研究センター	樹木の乾燥枯死と貯蔵炭素の役割
AM 10:30		11:10	16	石井 弘明	神戸大学大学院農学研究科	巨木における生理的恒常性維持のためのシンク探索： 余った炭素はどこに行くのか？	
11:10		11:20	(休憩)				
11:20		12:00	17	平野 恭弘	名古屋大学環境学研究科	樹木の根系を非破壊で推定する -地中レーダ探査の利用-	
12:00		12:40	18	大橋 瑞江	兵庫県立大学環境人間学部	根系を介した炭素フローの解明に向けて	
12:40		13:10	< 総合討論 >				

生態学的研究からわかった全樹木の成長パターンの 個体差をどのようなメカニズムが説明するか

北海道大学低温科学研究所

隅田明洋

自然状態で生育するヒノキ同齢林で、全個体の幹の成長を20年にわたって詳細に調査したデータから、肥大成長の幹に沿った変異を個体ごとに解析した。その結果、その幹成長の変異パターンが、各個体の競争下における優劣の状況によって違うことがわかった[1]。得られた結果からは、定説となっている幹の成長パターン、例えば、樹木の機械的支持を最優先するように幹が太るという説は、群落内の樹木の一部にしか当てはまらないことが明らかであった。また、幹の成長パターンの個体差が、樹冠の発達パターンの個体差に連動していることもわかった[1, 2]。これらの結果から推察されたのは、樹冠の発達と幹の成長との間に、葉の生産にかかわる生理的メカニズムが介在するらしいということである。常緑樹であっても葉には寿命があるので、必ず数年間で葉を更新しなければならない。個体が生存を続けるためには、葉の更新のための新葉生産とそれに伴う通導組織の確保を最優先するように資源を投資するメカニズムを樹木が持っているはずである。脳のような命令系統を持たない植物の成長パターンを理解するうえで、個体内の各器官に資源を集中させる（＝シンクとなる）生理的メカニズムについて理解しておくことは重要性であろう。

さらなる解析から、群落全体の葉の量を示す葉面積指数（LAI）が過去の気象の残存効果の影響で年変動する事を明らかにした[2]。調査を行ったヒノキ林の林冠では、葉の更新に4～6年を要することがわかっており、林冠を構成する葉が生まれた過去6年間の夏の平均気温が残存効果となって常緑樹林のLAIの年変動を引き起こすことが明らかとなった。また、ある年の幹バイオマスの成長はその年のLAIの大きさとは無関係で、幹バイオマスの成長は夏の降水量と有意に相関することが認められた。この結果は最近明らかとなってきた樹木生理学の研究の知見とも合致している。

これらの解析の結果は、樹木の成長や維持などの生態学的現象がどのようなメカニズムで起こっているかを考えることなしにはその生態について正しく認識できないことを示唆している。そのメカニズムを知るためにどのような研究が必要か、集会の中で議論したい。

- [1] Sumida, A., Miyaura, T., Torii, H. (2013) Relationships of tree height and diameter at breast height revisited: analyses of stem growth using 20-year data of an even-aged *Chamaecyparis obtusa* stand. *Tree Physiology* 33 (1), 106-118. doi: 10.1093/treephys/tps127
- [2] Sumida, A., Watanabe, T., Miyaura, T. (2018) Interannual variability of leaf area index of an evergreen conifer stand was affected by carry-over effects from recent climate conditions. *Scientific Reports* 8, 13590. doi: 10.1038/s41598-018-31672-3

機能ゲノム学的研究は森林樹木の環境応答の疑問に どこまで答えられるか？

北海道大学大学院農学研究院

斎藤秀之

機能ゲノム学はポストゲノム研究とも呼ばれ、ゲノム研究で得られた全塩基配列情報を利用して遺伝子の機能評価、発現調節と環境応答、表現形質との関係性について明らかにしようとする研究分野である。ゲノムの遺伝子発現調節を生態学的な観点で例えるならば、遺伝子は細胞スケールで環境情報を統合して表現形質の発現調節を行う司令塔であり、伝令となったRNAやタンパク質（さらに下流の生成物質）によって細胞の分化や組織・器官の形態形成と機能発現、恒常性の維持、物質輸送と資源配分、加齢と老化などを司る。したがって、遺伝子の発現調節を調べることで成長の様々な機作を知ることができる。

樹木では、全ゲノムの概要配列がポプラで初めて調べられ、その後は次世代シーケンサーの登場を契機に様々な樹種でドラフトゲノムが調べられるようになった。現在、ゲノム配列の品質を問わなければ数十種の本木植物でゲノム情報が公開されている。さらにモデル生物の情報も有用で、例えば遺伝子間の相互作用や遺伝子と代謝の関係図などがデータベース化され、様々なバイオインフォマティクス・ツールを活用して非モデル生物の解析に利用できる。したがって、樹木の生理生態学的な疑問に対して機能ゲノム学が同じ土俵で研究して新たな知見を得ることができる状況になってきた。さらにゲノム情報を利用することの利点は、ゲノムにある遺伝子の網羅性で現象を俯瞰的にみることができる点、さらには個体差や地域間差に見られる表現形質の違いを環境と遺伝に分けて統合的に解析できる点である。

我々は葉を主な解析対象に遺伝子発現解析を行い、樹木の環境応答と衰退現象について研究を行ってきた。目的は複合的な環境変動下における森林の環境影響評価である。例えば、ブナの樹冠を対象に葉の光合成特性と光合成に関連する遺伝子発現の関係について明らかにした。また各種環境負荷に対するゲノム網羅的な遺伝子発現パターンの解析や衰退木と健全木の樹冠に着生する葉の遺伝子発現解析などである。これらの遺伝子発現パターンを指数化してブナのストレス診断技術への応用を試みた。さらに一部の遺伝子については、DNAメチル化によるエピジェネティック制御について調べ、環境負荷の前歴評価にもチャレンジしている。これらの課題と併行して、ブナのゲノム基盤情報の充実を図るために発現遺伝子の完全長カタログ化、DNAマイクロアレイの開発、ドラフトゲノムの構築、mRNA-seq/smRNA-seqなど発現遺伝子の総覧作成、DNAメチル化のゲノム地図化などを行った。

以上、我々がこれまで行ってきた遺伝子発現解析は、葉をソース器官として位置づけた研究であった。本集会を契機に「シンクベース」の観点から葉の遺伝子発現パターンを再考して、樹木の成長を理解するために、今後の生態学、生理学、機能ゲノム学との接点について議論を深めたい。

有機化合物の安定同位体比で見る生物の代謝フロー

北海道大学低温科学研究所

力石嘉人

「安定同位体」とは、同一の原子番号を持ち（＝陽子の数が同じであり）、中性子の数が異なる原子のうち、放射性崩壊を起こさない原子のことで、周期律表に表される元素のほとんどに存在しています。例えば、水素には、質量数 1 の水素 (^1H) と質量数 2 の重水素 (^2H) があり、炭素には、質量数 12 の炭素 12 (^{12}C) と質量数 13 の炭素 13 (^{13}C) があります。おそらく多くの方が、化学の授業で「同位体」を知り、「同位体は、陽子数と電子の配置が等しいため、物理・化学的性質が全く同じである」と習ったと思います。そしてそれ故、我々は多くの研究で、生化学反応や環境における物質循環の「トレーサー」として、重い同位体 (D, ^{13}C , ^{15}N など) を頻繁に用いています。しかし、物理の授業では、運動エネルギーの公式は、

$$E = \frac{1}{2}mv^2$$

であると習いました。エネルギー (E) は、質量 (m) の関数なのです。すなわち、質量の小さい同位体は、質量の大きい同位体に比べて、確実に反応しやすく（＝小さなエネルギーで反応し）、質量の異なる同位体は、様々な反応や現象において、常に異なる挙動を示します。生体反応で考えれば、例えば、 ^{12}C - ^{12}C 結合に比べて、 ^{13}C - ^{13}C 結合は、強く、切れにくいのです。

それでは、「安定同位体の存在量」は、自然界では、どのくらいのスケールで変化しうるものなのでしょうか？具体的な例をひとつ挙げてみます。我々動物は、「餌を食べて、消化し、養分を吸収し、その養分に含まれているグルタミン酸（アミノ酸の一種）を分解して、エネルギーを得る」という代謝系を持っています。この時、養分に含まれているグルタミン酸が、約 50% 分解された場合、分解されずに残ったグルタミン酸が持つ ^{15}N の量は、分解される前と比べて、ほんの僅か、+0.0015% 分だけ上昇します。

我々は、このような「超微小なスケール」の安定同位体比の変化を精密に測ることによって、

1. 非生物と生物（無機物と有機物）の関係
2. 生物 A と生物 B（捕食や共生）の関係
3. 1 つの生物の中にある有機分子 A と有機分子 B（生合成や代謝）の関係

など、様々なスケールにおける物質と物質のつながりについて、研究しています。集会では、有機物の安定同位体比を用いた研究の原理と可能性について、紹介したいと思います。

参考：<http://www.lowtem.hokudai.ac.jp/isophysiol/products/cn6/pg170.html>



植物フェノロジーを理解する ～安定同位体比自然存在度からの視点～

北海道大学低温科学研究所

滝沢 侑子

有機物の安定同位体比 (δ , 例えば, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ など) の「自然存在度」には, 対象とする有機物が「何を起源 (基質・材料) として」「どのくらい」「どのようなプロセスで作られたのか」という情報が含まれています。安定同位体比の自然存在度の測定は, これらの「起源」や「どのような反応で、どのくらいの量が作られたのか」という情報を解き明かすツールとして, 生態学から地球化学, 食品化学などの様々な分野で広く用いられていますが, これは, 有機物 (特に有機分子) の安定同位体比が, 生物体内における生合成, あるいは代謝における「基質 (材料となる物質) の同位体比 (δ) 」と, その物理化学・生化学的な「反応過程における同位体分別 (ε) 」を記録すると考えられているためです (略式1)。

$$\delta_{\text{対象とする有機物}} = \delta_{\text{基質}} + \varepsilon_{\text{反応}} \quad (\text{略式1})$$

特にこの10年間では, 生物試料中の「アミノ酸分子」に含まれる窒素元素の安定同位体比自然存在度 ($\delta^{15}\text{N}_{\text{アミノ酸}}$) を用いて, 生態系 (捕食-被食関係) における生物の栄養段階を高精度で解析する手法 (例えば, Chikaraishi et al., 2007) が盛んに研究されています。この方法論は, 捕食者が被食者のアミノ酸を, 生物体内で「代謝 (脱アミノ化)」する際に生じる同位体分別 (ε) が, おおよそ同じ大きさで, 多くの生物の中で普遍的に観察されるという事実によって担保されています。

窒素元素に同位体分別 (ε) をもたらす, この「アミノ酸の代謝 (脱アミノ化) プロセス」は, 動物の中だけでなく, 植物の中にも見つけることができます (Takizawa et al., 2017)。例えば, 私たちが普段目にしている植物は, 一般的に, 光合成によって光エネルギーを取り込み, 無機物 (二酸化炭素や水) から糖などの有機物を合成し, その過程の中で, 自身が成長・恒常性を維持するために必要なエネルギーを得ています。その一方で, たとえ悪天候が続いて, 十分な光を得られず活発に光合成できなかったとしても, そうそう死ぬことはありません。さらに言えば, サクラ・ウメ・モモなどの木には, 開花時にはまだ光合成をおこなう葉さえ芽吹いていませんが, 毎年おおよそ決まった時期にそれぞれの花期を迎え, 辺り一面を桃色に染め上げ, 我々に春の訪れを感じさせてくれます。

本集会では, 上に述べた例のように, 「季節的な変化によって, 光合成によるエネルギー供給がストップした (あるいは極端に少ない) 時に, 植物が自分たちの資源をどのようにやりくりしているのか」を, アミノ酸の安定窒素同位体比から明らかにした研究の一部を紹介します。

ブナの組織培養

(国研) 森林研究・整備機構 森林総合研究所

樹木分子遺伝研究領域

大宮 泰徳

ブナは挿し木が難しいため、つぎ木の手法を用いるが、つぎ木に利用できる枝は休眠期のものに限られるため、雪深い東北では採穂が困難な場所が多い。そこで、夏の終わり頃から採取可能な冬芽を用いた組織培養技術の導入を検討した。さらに、最近では、遺伝子組換え技術をブナに応用するために、未熟種子を用いた不定胚培養技術の確立を試みた。

未熟種子は7月下旬に東北育種場ブナ採種園から複数系統を採取した。種子は滅菌後、取り出した未熟胚をIBA, BAPを含む培地上で継代培養した。続いて2, 4-Dを加えた培地に移植して脱分化させ、再びIBA, BAPを含む培地上に戻して不定胚を再形成させた。その過程で不定胚が再形成される諸条件について検討したところ、IBA, BAPの濃度を薄めることによって促進されることが示唆された。再形成された、形の良い不定胚を増殖できれば、発芽率の向上が期待でき、植物体の大量増殖が可能となる。また、この不定胚にアグロバクテリウムを感染させ、遺伝子組換え体を作成する技術を確立できれば、シンク機能に関わる諸遺伝子の機能解析へのゲノム編集技術等の利用が期待される。

様々な時間スケールで同調する植物の繁殖プロセス 物質収支からみた考察

京都大学大学院農学研究科

井鷲裕司

植物個体は繁殖プロセスを様々な時間スケールで同調させることによって、適応度を上げている。例えば、野外に生育する植物の開花フェノロジーを調べると、多くの植物種では開花期間は生理的に可能なものよりも、ずっと短いものになっており、年内に使用可能な資源を時間的に集中して開花に使用している。また、より長い時間スケールでは、数年に1度、大量開花結実を行うマスティングも、資源使用の時間的集中化によって、植物の適応度を増加させていると考えられる。

本講演では、植物群落の物質収支の測定から着想した Resource Budget Model を用いて、隔年で起こるタケノコ生産量における豊凶や、数年に一度の不規則な頻度で起こる樹木のマスティングに関する解析例を紹介する。この解析では、毎年の純光合成量が一定であっても、年ごとに不規則な種子生産量の変動が起こりうること、マスティング頻度が開花および結実コストから予測されること、個体間の種子生産が送受粉プロセスによって同調すること等が示された。

複数の分類群において、異なった遺伝的、あるいは生理的メカニズムを通して、適応度を上げる類似した形質が収斂するように、植物の繁殖における同調という形質をもたらすメカニズムも単一とは限らない。様々なメカニズムによって植物は、異なった時間スケールにおける同調した繁殖プロセスを実現し、適応的な利益を得ているものと考えられる。

結実豊凶がブナ成木個体内の各器官への炭素・窒素資源の 配分に及ぼす影響について

森林総合研究所 植物生態研究領域

物質生産研究室

韓 慶民

樹木の結実量は、様々な要因で大きく年変動する。この結実の豊凶現象（マスティング）については、そのメカニズムの解明に踏み込んだ研究は限られていた。本研究では、炭素・窒素資源を従来の年貯蔵量の変化（資源収支モデル）から動的な需給バランスとして捉えて、種子や枝・幹など各器官の成長パターンを詳細に解明するとともに、資源を巡る各器官の競争関係および資源の需給関係を明らかにすることを目的とした。

新潟県苗場山90年生ブナ林において結実と非結実個体を対象に、定期的に葉や枝、種子などを採取し、それらの安定炭素同位体比を比較し、いつどのような炭水化物が各器官の成長に配分されているのか調べた。その結果、新しい枝の成長には、結実の有無とは関係なく、その年に光合成で作られた新しい炭水化物が主に利用されていた。しかし、結実した個体では、種子の成熟にも多くの新しい炭水化物が必要になるため、枝のサイズが小さくなり、また樹体内に貯蔵されていた古い炭水化物も種子の成長へ配分するなど、利用する炭水化物の種類を変化させることで、種子生産に伴う炭素資源の制約に対して巧妙にやりくりしていることがわかった。

また、展葉後に結実と非結実個体を対象に ^{15}N パルス安定同位体標識を行った。その後、定期的に葉や枝、種子などを採取し、各器官の窒素量を分析した。ラベリングした1ヶ月後繁殖による吸い上げる窒素量の増加が見られた。また、その窒素が殻斗の成長に多く利用された。その結果、結実個体では、非結実個体に比較して、葉及び新しい枝への窒素配分量が40%減少した。これらの結果より、窒素資源はブナ結実豊凶の制限要因であることがわかりました。また、秋には葉及び殻斗の窒素を種子に転流してその成熟を促すなど、各器官の資源利用パターンを変化させることで、種子生産に伴う窒素資源の制約に対して巧妙にやりくりしていることがわかった。

植物の資源利用と繁殖戦略

岡山大学大学院環境生命科学研究科

宮崎祐子

固着性である植物は変動する野外環境の中で資源（炭素、窒素、リンなど）を得て生活史段階に応じてそれらの資源を適切に分配していると考えられ、古くはHarper (1967)やHarper and Ogden (1970)によってミクロ経済学のセオリーを植物学に応用することで研究が進められてきた。様々な生活史段階において、繁殖は植物個体群の再生と確立を担っているが、高等植物の種間には繁殖の量や時期などに大きな差異がある。近年、どのようにしてそれらの差異が生じるのか、といった生理生態学的（至近）要因についての研究が進みつつある。植物はその生育環境や生活環などに応じて花成や花の性決定などに対して異なるシグナルを用いていると考えられるが、そのシグナルの一つに資源が考えられる。本発表では、発表者がこれまでに行った研究：花成のシグナルとなる資源はあるのか（木本植物：Miyazaki et al. 2014）、花の性を決定する資源はあるのか（草本植物）について紹介し、結実というシンク作用が関与する、花成や花の性決定の生理的機序について検討したい。

Harper JL (1967) A Darwinian approach to plant ecology. *Journal of Ecology* 55: 247–270.

Harper JL, Ogden J (1970) The reproductive strategy of higher plants. I. The concept of strategy with special reference to *Senecio vulgaris* L. *Journal of Ecology* 58: 681–698.

Miyazaki Y, Maruyama Y, Chiba Y, Kobayashi MJ, Joseph B, Shimizu KK, Mochida K, Hiura T, Kon H, Satake A (2014) Nitrogen as a key regulator of flowering in *Fagus crenata*: understanding the physiological mechanism of masting by gene expression analysis. *Ecology Letters* 17: 1299–1309.

エピジェネティクス時系列解析によって明らかとなった シロイヌナズナ属多年草自然集団における春化応答の頑健性

京都大学 生態学研究センター

西尾治幾

植物において資源の繁殖および成長への投資は適応度を決定する重要な要因である。したがって多くの植物では繁殖のタイミングおよび期間は厳密に制御されている。花成の生理・分子機構がよく解明されているモデル植物シロイヌナズナでは、花成タイミングは花成経路と呼ばれる複数の調節機構によって制御されており、これらの経路は花成促進因子フロリゲンの実態である *FLOWERING LOCUS T (FT)* の発現に統合される。FTタンパク質は葉の維管束篩部において発現し、茎頂へ輸送され花成を誘導する。冬の経験によって花成が促される春化経路では、葉の維管束篩部で *FT* の発現を抑制する *FLOWERING LOCUS C (FLC)* の制御が主要な役割を果たす。植物が長期間の低温条件を経験すると *FLC* の発現が抑えられ、長日条件下において *FT* の発現が誘導される。この *FLC* の抑制は不可逆的であり、ヒストン修飾^{*1}H3K27me3の蓄積によるエピジェネティック制御^{*2}である。一年草であるシロイヌナズナとは異なり、多年草では *FLC* の発現抑制は可逆的であり発現が再び上昇することが知られているが、H3K27me3の春化応答における役割は明らかになっていない。

発表者らは多年草における *FLC* 遺伝子のエピジェネティック制御機構を明らかにするため、シロイヌナズナ属の多年草ハクサンハタザオの葉を対象に、ヒストン修飾の野外時系列データと複数のモデリング手法を組み合わせた研究を行った。まず線形回帰モデリングではH3K27me3はRNA発現より長期間の気温に応答しており、両者の季節変化に時間遅れが存在することがわかった。次にEmpirical dynamic modelingではH3K27me3とRNA発現の間に双方向の因果関係が存在することが示された。そして微分方程式を用いた数理モデリングでは、H3K27me3-RNA発現間のフィードバック制御が気温に対する *FLC* 発現の長期応答に必要であることがわかった。またChIP-seq^{*3}により解析対象を全遺伝子に拡張したところ、複数の遺伝子でH3K27me3の季節変化が、遺伝子発現の目安となる活性型修飾H3K4me3の変化から位相が遅れており、遅れの大きい遺伝子の多くは春化応答をはじめ低温の記憶に関わる遺伝子であった。したがって、春化応答に関わる遺伝子ではH3K27me3-RNA発現間のフィードバック制御により気温変化に対する発現応答の頑健性を高めている可能性がある。葉における春化関連遺伝子の発現制御は花成を通して生殖器官のシンク活性と密接に関わるため、これらの遺伝子の調節は植物のシンク-ソースバランスに多大な影響を与えられとされる。

^{*1}DNAを巻きつけているヒストンタンパク質に施されるメチル化などの化学修飾。H3K27me3はヒストンH3の27番目のリジンにメチル基が3個ついた修飾であり、遺伝子を抑制する。

^{*2}遺伝子配列の変化を伴わない遺伝子発現制御。主にDNAメチル化とヒストン修飾。

^{*3}クロマチン免疫沈降 (ChIP) と次世代シーケンシングを組み合わせた手法。ヒストン修飾のゲノムワイドな分布を調べる目的でしばしば用いられる。

乾燥応答性 MYB 遺伝子 *FcMYB1603* の発現特性と生理的役割について

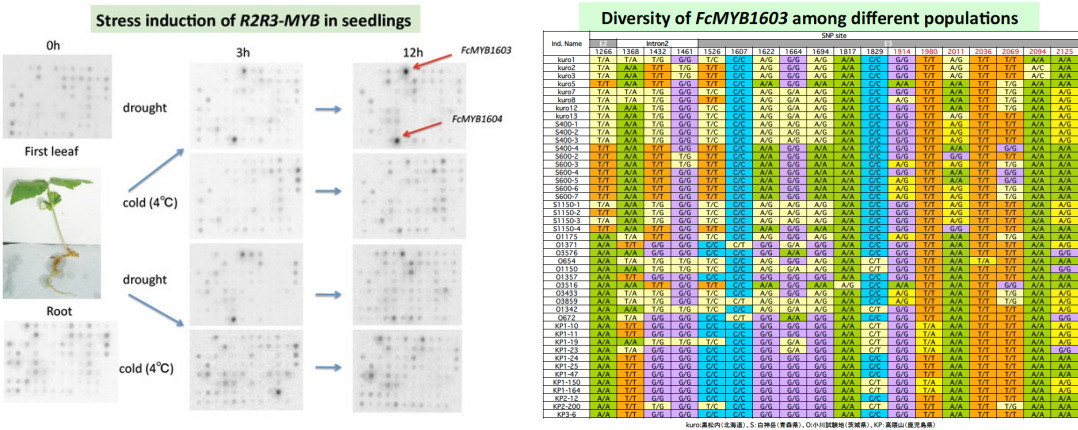
弘前大学農学生命科学部
赤田辰治

高等植物ではRR2R3MYBの相同性遺伝子が100種類をこえるファミリーを構成している。我々はブナにおいて88種類の配列を解析し[1]、その中から特に乾燥ストレスにより3時間後に強い発現上昇を示す遺伝子（*FcMYB1603*）を同定した（左下図；矢印）。*FcMYB1603*をシロイヌナズナに遺伝子導入して定常的に発現させたところ、FcMYB1603-OX個体（S0）は著しい成長遅延や乾燥に対する過敏な反応などABA応答に似た反応を示した。そこで、コントロール個体（C）を6時間乾燥処理したもの（C6）とS0における発現遺伝子のマイクロアレイ解析を行ったところ、C6で5倍以上の発現上昇を示した遺伝子が869個あり、その中でS0でも5倍以上を示したものが426個を占めた。このように、乾燥応答において*FcMYB1603*が非常に大きな役割を担っていることが示唆された。

上記のようにFcMYB1603 (OX)に乾燥処理を施すと強い成長遅延を示すが、同じ条件で育てたコントロール個体が約40日後には開花するのに対し、FcMYB1603 (OX)での開花はなかなか見られない。これは、*FcMYB1603*が乾燥条件下での栄養成長から生殖成長へのプログラム変換を負に制御していることを示唆するものと考えられる。このような栄養成長から生殖成長へのプログラム変換をシロイヌナズナ個体内におけるシンク機能の相転移ととらえるとすれば、*FcMYB1603*の定常的な発現は成長の遅延だけでなく成長に伴う新たなシンク機能の発生を抑制している可能性も考えられる。

一方、ブナのゲノムにおける*FcMYB1603*には極めて高い塩基多様性があり、日本各地のブナ集団における個体毎の遺伝子配列を調べたところ、全ての個体がヘテロであり個体間では極めて高い多様性があることが判明した（右下図；横列が塩基番号、縦列が日本各地のブナ個体）。また、地域毎に特徴的な配列が見られることから、環境適応的な機能が伺える。

[1]Matsuda, S., N. Wakamatsu, H. Jouyu, H. Makita, S. Akada: An extensive analysis of *R2R3-MYB* regulatory genes from *Fagus crenata*. Tree Genetics & Genomes, 7: 307-321, 2011.



資源分配の特徴を捉えるための統計モデリング

千葉大学園芸学研究科

梅木 清

多くの生態学者は、まったく～弱くしかコントロールされない環境で実験や観察を行い、得られたデータから生物活動についての知見を得ようとする。得られたデータは、複雑な構造をしており、複数の要因からの影響を同時に受けている。このような場合、データ解析に用いる統計学は、データの特徴を適切に処理しつつ、目的とする生物活動の特徴を抽出することができる柔軟性を持っていなければならない。そして、多くの場合、古典的な統計手法（一般化線型モデルなど）は、この要請に十分答えられない。

樹木個体内の資源分配に関わるデータを解析する場合に問題となるのは、1) データが器官～個体～種といった階層構造を持つこと、2) データが従う確率（密度）分布が必ずしも単純な（一定分散の）正規分布ではないこと、3) パラメータの範囲に制約があること、などである。この発表では、高い柔軟性を持つベイズ推定に基づく統計モデリングがこのような問題に適切に対応できることを2つの研究例で示す。

第1の例では、常緑広葉樹稚樹の一次枝の成長（当年枝を作る確率と当年枝の合計質量）を解析対象とし、前段落の1) 2) に対応した解析をした。解析の結果、常緑広葉樹稚樹の一次枝は当該一次枝の状況のみで決定される（branch autonomy）のではなく、同一個体の他の部分からも影響を受ける（correlative inhibitions）ことが示された。

第2の例では、落葉広葉樹成木の胸高直径－樹高関係を解析対象とし、前段落の1) 2) 3) に対応した解析をした。解析の結果、開花・結実が樹高成長に影響を与えている（安定的な開花の開始とともに、樹高成長が抑えられる）ことが示された。

上記2つの例では、実験的コントロールを行わない環境下で、樹木（と環境）の外形的な状況を測定したデータを、柔軟性の高い統計モデルで処理することで、個体内資源分配に関する情報を得ている。集会の中では、これらの例を題材にしつつ、統計解析がこの分野で果たせる役割について議論したい。

- [1] Rahman, L., Umeki, K., Honjo, T. (2014) Modeling Qualitative and Quantitative Elements of Branch Growth in Saplings of Four Evergreen Broad-Leaved Tree Species Growing in a Temperate Japanese Forest. *Trees* 28: 1539–52. doi: 10.1007/s00468-014-1064-4
- [2] Suzuki, M., Umeki, K., Orman, O., Shibata, M., Tanaka, H., Iida, S., Nakashizuka, T., Masaki, T. (2019) When and Why Do Trees Begin to Decrease Their Resource Allocation to Apical Growth? The Importance of the Reproductive Onset. *Oecologia* <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04477-y>.

樹木の樹冠構造、展葉タイミングと葉の形質の関連

名城大学農学部

長田典之

植物にとって窒素は光合成タンパク質として重要であり、葉の面積あたり窒素含量は最大光合成速度と相関が高い。このため、光環境の良い葉ほど窒素含量が多くすることが生産性を高めるうえで重要であり、実際に草本群落においてそのように窒素分配されていることが示されてきた。さらに、樹木においても大まかには高い位置の葉（＝光条件の良い葉）ほど窒素含量が多いことも報告されている。ただし、樹木の特徴として、成長とともに分枝を繰り返すことによって複雑な構造（アーキテクチャ）を作ることがあげられる。このような分枝構造は葉の窒素含量などの形質にどのような影響を与えるのだろうか？本発表では、(1)ブナ高木における葉の窒素含量の樹冠内変異パターン（Osada et al. 2014）と(2)開芽タイミングを操作したときのアオダモの葉の形質の樹冠内変異（Osada 未発表）について紹介する。

(1)福島県いわき市に建てられた林冠観測タワーを用い、ブナ高木を対象として、個葉の光環境と窒素含量の関係を調べた。この結果、樹冠内の高さに応じて葉の平均的な光環境（L）、葉重／葉面積比（LMA）、面積あたり窒素含量（Narea）は増加し、L・LMAおよびL・Nareaには強い相関がみられた。この結果は、これまでに見られた傾向と同様である。ただし、同じ枝系内の葉（＝同じ高さ）どうしで比較するとこれらの値にはばらつきが大きく、L・LMAおよびL・Nareaの相関は弱かった。また、枝系内では、明るい当年枝あるいは着葉面積の大きい当年枝の葉ほど窒素含量が大きかった。

(2)北海道大学苫小牧研究林において、アオダモ低木の個体全体、あるいは一部の枝を対象として、春（3月31日～6月2日）に電熱線を用いて温暖化し、開芽・展葉タイミングの樹冠内変異が葉の窒素含量および最大光合成速度に与える影響を調べた。温暖化した枝・個体では、コントロール枝・個体よりも開芽・展葉タイミングは早くなった。この結果、温暖化した枝ではコントロール枝より面積あたり窒素含量および最大光合成速度が大きくなったが、個体全体を温暖化したものおよびコントロール個体では、窒素含量および最大光合成速度に差が見られなかった。

以上の結果をもとに、樹木個体がどのように樹冠内において個葉の窒素含量を調節しているのかについて考察する。

Osada, N., Yasumura, Y., Ishida, A. (2014) Leaf nitrogen distribution in relation to crown architecture in the tall canopy species, *Fagus crenata*. *Oecologia* 175, 1093-1106.

ミズナラ実生の葉の老化におけるシンク・ソース関係の影響

北海道大学

低温科学研究所

小野清美

葉の光合成速度の低下や窒素量の減少といった葉の老化現象は、個体の生育条件に依存して進行する。根、茎（幹）や新たに展開する葉といったシンク器官の成長が既に展開が完了した葉（ソース器官）の窒素量や窒素濃度の減少を引き起こすのか、また、気温や光が好適な一定の環境下においても、クロロフィルやキサントフィルサイクルの色素は光合成速度の低下に伴って生じる余剰の光エネルギーを解消するような変化を示すのかを、落葉広葉樹ミズナラを用いて調べた。人工気象室内で栄養供給の有無、生育温度と生育光強度を各2段階設定して、ミズナラ実生を種子から栽培した。一次展葉の展開終了後の老化過程における葉の光合成速度や窒素量、色素量の変化を調べた。展開終了後の一次展葉の窒素量や窒素濃度と、シンク器官の成長（乾燥重量の増加）との関連を調べた。栄養供給があり、かつ低温である生育条件を除き、一次展葉の窒素濃度はシンク器官の乾燥重量の増加に伴って減少する傾向が見られた。一次展葉の窒素量は、シンク器官の乾燥重量と一次展葉の乾燥重量の比に伴って低下する傾向が見られた。これらのことから、シンク・ソース関係の変化によって、一次展葉の窒素量（濃度）の減少が引き起こされていることが示唆された。また、気温や光が一定の環境下においても、生育条件によっては、クロロフィルやキサントフィルサイクルの色素は光エネルギーが余剰になっていることに応答していると考えられる変化を示した。

細胞分裂の季節変化からみた葉の形成

北海道立総合研究機構森林研究本部林業試験場

和田尚之

北海道大学大学院農学研究院

斎藤秀之

植物における葉は光合成器官として樹木の成長を支える重要なソース器官である。葉の形態変化は個体の葉面積指数（LAI）や光利用効率を変化させ、純光合成生産量に影響を与える。そのため、葉形態の制御機構の解明は樹木の生理生態を理解するうえで大きな意味を持つ。葉の大きさや厚さといった形態を変化させる要因としては、植物の栄養状態や生育環境・ストレス状態などが挙げられる。一般的に、窒素やリンといった養分の欠乏は葉面積を小さくし、光不足の環境下では薄い葉を形成する。また、被食や乾燥ストレス下では葉は厚くなる傾向がある。このように植物はシュートごとの環境・ストレス状態を反映させて、個体内・地域間で葉面積を変化させる。

また、葉の形態は環境条件だけでなく、樹体内の生理活性の影響も受けている。例えば、種子生産量に大きな年変動が生じるマasting植物では、豊作年と凶作年で葉サイズが異なる種が知られる。ヨーロッパブナでは豊作年に葉サイズの増加がみられ、ブナやハクウンボクでは反対に豊作年に葉サイズが減少する。このような繁殖に伴う葉の形態変化は、シンク器官の発達のためのソース器官としての役目と、葉形成時には葉自体がシンク器官となり他のシンク器官と資源競合が生じることのトレードオフに起因すると考えられる。このように、葉の形態制御は生育環境に応じた個体の成長・繁殖と密接な関係があるため、その形態制御機構の解明が樹木の成長や繁殖の調整機構の理解につながる。

葉のサイズは主に細胞総数と細胞サイズによって制御される。個体内の葉サイズの変化については多くの植物で細胞数に依存することが知られる。細胞数による葉面積制御には細胞分裂活性の季節変化が関係する。シロイヌナズナなどの一年生草本では、葉形成における細胞分裂のピークが葉の発生初期にある。生育環境によってこの発生初期の細胞分裂活性が変化するため、最終的な細胞数が変化し、葉サイズが決定する。冷温帯の樹木の場合は、葉の形成途中に冬期の休眠を挟む。そのため、細胞分裂の季節変化のパターンは草本類と異なっており、別の時期に葉の形態制御が起きている可能性がある。葉の形成過程の細胞分裂の季節変化を調べることで、葉の形態がいつ制御を受けているのか、樹木の生理状態の違いが葉の形成にどのように影響しているのか理解できる。

本講演では、葉サイズの変化が顕著に見られるブナを材料に細胞サイズの観察や細胞分裂の季節変化の測定を行い、葉サイズの規定要因が細胞数と細胞サイズのどちらにあるのか、成葉形成過程での葉サイズ制御に重要な時期がいつであるのか、さらに花芽分化と葉サイズ制御の関係を検討したので紹介する。

樹木の乾燥枯死と貯蔵炭素の役割

京都大学 生態学研究センター

石田 厚

近年、温暖化等の影響により、乾燥や熱波が頻発し、降水量の年変動も拡大化している。そのような中で、世界の様々なバイオームで樹木の乾燥枯死、森林衰退が報告されてきている。乾燥による樹木の衰退や枯死の生理メカニズムを明らかにすることは、森林修復や今後の森林組成や機能の変化を予測する際に重要になる。そこで現在、樹木の乾燥枯死の生理メカニズムを調べる研究が活発になっている。樹木の乾燥枯死を起こす生理過程として、1) 脱水による木部道管による水切れによる通水欠損仮説と、2) 脱水による気孔閉鎖と光合成の低下による貯蔵糖の不足による糖欠乏仮説の二つが大きく挙げられており、それぞれ証拠を持って提唱されている。そこで乾燥やその後の降水によってどのように木部貯蔵糖が変化するのか、また乾燥による樹木の衰退、枯死過程で、通水欠損や糖欠乏などどのような生理過程の変化が生じて樹木が枯死に至るのか、小笠原の野外で成育する樹木を用いて調べた例を中心に紹介する[1-3]。その中で、シンクとして働く糖の、樹木の乾燥耐性への役割や、樹木が糖を消費する場面での乾燥影響、糖貯蔵能力に関連するトレードオフと乾燥耐性など、今後の乾燥化や降水量変動への樹木や森林に対する影響予測など、集会の中で議論していきたい。

- [1] Yoshimura, K., Saiki, S.-T., Yazaki, K., Ogasa, M.Y., Shirai, K., Nakano, T., Yoshimura, J., Ishida, A. (2016) The dynamics of carbon stored in xylem sapwood to drought-induced hydraulic stress in mature trees. *Scientific Reports* 6, 24513. doi: 10.1038/SREP24513
- [2] Saiki, S.-T., Ishida, A., Yoshimura, K., Yazaki, K. (2017) Physiological mechanisms of drought-induced tree die-off in relation to carbon, hydraulic and respiratory stress in a drought-tolerant woody plants. *Scientific Reports* 7, 2995. doi: 10.1038/s41598-017-03162-5
- [3] Kono, Y., Ishida, A., Saiki, S.-T., Yoshimura, K., Dannoura, M., Yazaki, K., Kimura, F., Yoshimura, J., Aikawa, S. (2019) Initial hydraulic failure followed by late-stage carbon starvation leads to drought-induced death in the tree *Trema orientalis*. *Communications Biology* 2, 8. doi: 10.1038/s42003-018-0256-7

巨木における生理的恒常性維持のためのシンク探索:

余った炭素はどこに行くのか?

神戸大学大学院農学研究科

石井弘明

近年、ツリークライミングによる樹上調査の成果から、巨木において胸高における肥大成長が年齢とともに低下する一方、樹冠部の成長や生理活性は低下しないことが明らかになってきた (Ishii et al. 2017a)。高木において、光合成を最もさかんに行う樹冠上部における生理活性を維持することは、長期的な成長・繁殖にとって重要である。一方、林冠木の樹冠部では、根からの水の垂直輸送および高温・乾燥によって、葉の水分環境を良好に保つことが難しい。樹高100mを超えるセコイアメスギや50mを超える秋田スギでは、樹冠上部の葉において貯水組織が発達することで、水分不足や水ポテンシャルの低下を緩衝していることが明らかになった (Ishii et al. 2014; Azuma et al. 2016)。高木における水の垂直輸送は、教科書的な単純回路ではなく、貯水や断水など、水分恒常性を維持するための様々な機能を含む、複雑なシステムであることが分かってきた (石井ら2017)。さらに、同じ林分に隣接して生育するアカマツの300年生の老木と100年生の成木では、水分環境の垂直的变化に対する葉の生理的順化反応が異なることが示され、樹冠内における水分恒常性の維持機構やそれに関わる物質配分は、樹齢によって変化することも分かってきた (Azuma et al. 2019)。本講演では、これまで光合成産物のシンクとしてあまり注目されてこなかった、水分恒常性維持に関わるメカニズムおよびそのコストについて考察する。

参考文献

- Ishii, H.R*, Azuma, W., Kuroda, K., Sillett, S.C. (2014) Pushing the limits to tree height: could foliar water storage compensate for hydraulic constraints in *Sequoia sempervirens*? *Funct Ecol* 28:1087-1093.
- Azuma, W, Ishii, HR*, Kuroda, K, Kuroda, K (2016) Function and structure of leaves contributing to increasing water storage with height in the tallest *Cryptomeria japonica* trees of Japan. *Trees* 30:141-152.
- 石井弘明・東 若菜・新良貴歩美・黒田慶子 (2017) 高木の通水構造と機能. 日本森林学会誌日林誌 99:74—83
- Ishii HR, Sillett SC, Carroll AL (2017a) Crown dynamics and wood production of Douglas-fir trees in an old-growth forest. *For Ecol Manage* 384: 157-168.
- Azuma W, Ishii HR, Masaki T (2019) Height-related variations of leaf traits reflect strategies for maintaining photosynthetic and hydraulic homeostasis in mature and old *Pinus densiflora* trees. *Oecologia* 189: 317-328

樹木の根系を非破壊で推定する - 地中レーダ探査の利用 -

名古屋大学 大学院環境学研究科

平野恭弘

樹木の根系は、樹体を支える役割に加え、成長に必要な養水分を吸収する役割を担う。さらに複数の根が土壌表層に生育することで根系ネットワークを作り、表層土壌の流出を防ぎ、またそこに生育する多様な生物の生息地も提供する。しかしながら、土壌中に生育する根系を観測することは容易ではない。根のバイオマスについては、樹木地上部との相対成長関係により、ある程度推定することが可能であるが、根の位置や太さおよび根系の構造を、土を掘らずに推定する手法は未だ限られている。

1990年代後半に地中レーダを用いて非破壊的に樹木の根を推定する手法が提案されて以来、演者らも本法による根の検出に関する制限要因を実験的に、また森林への応用の可能性を野外調査において明らかにしつつある [1, 2]。

地中レーダを用いた根の検出に関する制限要因として、根の大きさ、根の本数、土壌と根の水分量、根の成長方向とレーダ探査方向のなる角度、地表面のリターなどを調べ、それらがどの程度検出に影響するのかを明らかにした[3, 4]。土壌が砂質で単調な海岸クロマツ林では、土壌水分の高いスギ林と比較して、根の明瞭なレーダ反射波が観察され、本法の応用適地であることが示唆された[5, 6]。レーダ反射波から根の位置だけでなく直径も推定し、個体レベルでの根系三次元構造を推定する方法を提案した。

本講演では本法の現状と森林への応用についての課題を紹介し、地中レーダ探査を用いた根の検出が生態指標として利用できる可能性を議論したい。

- [1] 地中レーダを用いた樹木根の非破壊検出と根系構造推定, 平野恭弘, システム/制御/情報, 62巻 12号 (頁: 502-507) 2018年
- [2] 減災の観点から樹木根系を非破壊的に推定する地中レーダ法の現状と課題, 平野恭弘, 山瀬敬太郎, 谷川東子, 檀浦正子, 大橋瑞江, 藤堂千景, 池野英利, 日本緑化工学会誌, 41巻 2号 (頁: 319-325) 2015年
- [3] Limiting factor in the detection of tree roots using ground-penetrating radar, Hirano Y, Dannoura M, Aono K, Igarashi T, Ishii M, Yamase K, Makita N, Kanazawa Y, Plant and Soil, 319巻 (頁: 15-24) 2009年
- [4] Root orientation can affect detection accuracy of ground-penetrating radar, Tanikawa T, Hirano Y, Dannoura M, Yamase K, Aono K, Ishii M, Igarashi T, Ikeno H, Kanazawa Y, Plant and Soil, 373巻 (頁: 317-327) 2013年
- [5] Detection frequency of *Pinus thunbergii* roots by ground-penetrating radar is related to root biomass, Hirano Y, Yamamoto R, Dannoura M, Aono K, Igarashi T, Ishii M, Yamase K, Makita N, Kanazawa Y, Plant and Soil, 360巻 (頁: 363-373) 2012年
- [6] Estimating slope stability by lateral root reinforcement in thinned and unthinned stands of *Cryptomeria japonica* using ground-penetrating radar, Yamase K, Tanikawa T, Dannoura M, Todo C, Yamamoto T, Ikeno H, Ohashi M, Aono K, Doi R, Hirano Y, Catena, 183巻 2019年

根系を介した炭素フローの解明に向けて

兵庫県立大学環境人間学部

大橋瑞江

樹木根は、森林の炭素循環において重要な役割を持っている。根系は、寿命の長い粗根は炭素を貯留し、寿命の短い細根は炭素の活発に利用し、呼吸によってCO₂を放出する。さらに枯死根が分解すると、微生物によってCO₂に分解され、根の呼吸と共に土壌からCO₂放出放出される一方で、一部は難分解性の有機物となり、長期間、土壌に保持される。本講演では、このような根系を取り巻く炭素の複雑な流れや貯留の一端を理解するために、マレーシア熱帯林で行った分解実験の成果を紹介する。

一般に、枯死根の分解速度には、根の形態や成分、土壌環境や分解に関わる土壌生物の種類などが影響する。しかしこれらの要因には生態系ごとに大きなばらつきがあり、各要因と枯死根の分解について統一的理解を得るためにはさらなる知見の蓄積が必要である。また、これらの要因が枯死根の分解を通して、土壌圏の炭素動態にもたらす影響は、いまだ殆ど理解されていない。そこで本研究は、(1)根系のサイズ、(2)土壌動物の有無、(2)土壌深度の3つに着目し、分解にもたらす影響を調べた。さらに分解に伴う土壌からのCO₂フラックスの変化を評価することを試みた。

実験はマレーシア・サラワク州の熱帯多雨林において実施した。まず細根と粗根のリターバッグを土壌コア内の異なる深さに設置した。土壌コアは、シート無し、防根シート、防菌糸シートの3種で覆い、試験地に埋設した。これらのコアは2年間にわたり4回に分けて回収し、分解した根のバイオマスを求めた。さらにコアから出るCO₂放出量を、毎月1回の頻度で測定した。また試験地の細根と粗根に含まれる主要な化学成分の初期値を求めた。

本研究の結果、粗根は2年間で約80%が分解したのに対し、細根は60%しか分解しなかった。また粗根に比べると細根の方が、初期の窒素やリン、多くの微量成分において有意に高い結果が得られた。分解速度は異なるシートで覆われたコア間で有意に異なり、土壌動物及び根系、菌糸、細菌の各生物集団が、枯死根の分解にそれぞれ関与していると示唆された。防菌糸シートで覆った土壌コアにおいて、土壌からのCO₂フラックスと根系の分解で失われた炭素量との間に明瞭な正の相関がみられた。このコアでは細菌以外の生物が除去されることから、土壌からのCO₂フラックスの変動は細菌による枯死根分解と強い関係があると予想された。土壌深度がもたらす影響は明瞭ではなかった。