



Title	ミズナラ実生の異なる光環境に対する形態的・生理的可塑性
Author(s)	松木, 佐和子; MATSUKI, Sawako; 小川, 健一 他
Citation	北海道大学 演習林研究報告, 60(2), 91-100
Issue Date	2003-08
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/21484">https://hdl.handle.net/2115/21484</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	60(2)_P91-100.pdf



# ミズナラ実生の異なる光環境に対する 形態的・生理的可塑性

松木 佐和子<sup>1,2</sup> 小川 健一<sup>3</sup>  
田中 歩<sup>1</sup> 原 登志彦<sup>1</sup>

Morphological and physiological plasticity of Mizunara oak  
(*Quercus mongolica* var. *grosseserrata*) seedlings  
for various light conditions

by

Sawako MATSUKI<sup>1,2</sup>, Ken'ichi OGAWA<sup>3</sup>, Ayumi TANAKA<sup>1</sup>  
and Toshihiko HARA<sup>1</sup>

## 要 旨

本研究では、ミズナラ当年生実生の形態や生理的機能の応答を手がかりに、弱光および強光環境への順化について調べた。1999年4月から10月にかけて、ミズナラを殻斗果から3段階の光条件（相対光量子密度（RPPFD）透過率2%、10%、100%：晴天時の日中では100%区で約 $1500\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ）で栽培した。その結果、弱光下ほど苗高が高く、地上部への資源分配率も高い傾向が認められ、弱光に対する形態的な暗順化が見られた。また弱光下の葉ほど葉面積あたりのクロロフィル（a+b）量や集光性タンパクに多く含まれるクロロフィルbの割合が高く、また光合成の見かけの量子収率は高く、光補償点は低くなる傾向が認められたことから、生理的な暗順化も認められた。一方、100%区では、根への資源分配率が非常に高く、根や茎の材密度（体積当たりの乾重）や葉厚も他の区より高かった。100%区実生の最大光合成速度は、6月には他の被陰区より高かったが、8月には10%区よりも低くなり、光化学系IIの最大光量子収率（Fv/Fm）の減少や葉内の活性酸素を除去する酵素として知られているアスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）活性の上昇から、光阻害を受けていることが示された。生育終了時の10月初旬、実生乾重量は2%区が他区より有意に低く、100%区と10%区の間には違いが見られなかった。

**キーワード：**光順化、光阻害、ミズナラ実生、光化学系IIの最大光量子収率（Fv/Fm）、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）

2003年3月31日受理, Received March 31, 2003

1：北海道大学大学院地球環境科学研究科（低温科学研究所），札幌市北区北19条西8丁目，060-0819

The Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo, 060-0819

2：現所属：北海道大学大学院農学研究科環境資源学専攻北方森林保全学講座，札幌市北区北9条西9丁目，060-0809

Laboratory of Boreal Forest Conservation, Graduate School of Agriculture, Hokkaido University, Kita 9 Nishi 9 Kita-ku, Sapporo, 060-0809

3：岡山県生物科学総合研究所（RIBS），岡山県上房郡賀陽町吉川7549-1，716-1241

Research Institute for Biological Sciences, Okayama (RIBS), 7549-1 Yoshikawa, Okayama, 716-1241

## 1. 序 論

種子散布から実生定着までの「初期更新過程」は、木本の生活史の中でも更新の成否を決める重要な時期である。ブナ科の堅果は、休眠も広範囲な散布もできない典型的な大型種子である。堅果豊作年の翌春に見られる大量の実生もその後減少し続け、数年の間にほとんどが消失してしまう。そして再び豊作年を数年に一回の頻度で迎える。このような実生の減少と増加を繰り返すうちに、ギャップの形成など成長に有利な攪乱に遭遇した実生は、更新が可能となる。このようなタイプの更新を行う樹種は一般的に「Seedling Bank type; 実生バンク型」と呼ばれている (Pickett and McDonnell 1989)。このタイプの樹種の実生にとって個体群を維持する上で最も重要なのは、成長に適した条件に遭遇するまでの期間、個体を維持することである。しかし、生育場所である林冠下は光環境が時間的にも空間的にも非常に不均一なため (Tang and Washitani 1995)、実生は様々な光環境下での生育を余儀なくされる。このため実生は、光環境によって形態 (資源配分比, シュート配置など) (Kitajima 1994, Pattison et al. 1998)、生理的機能 (光合成能力, 呼吸効率, 酵素活性, 食害や菌害に対する防御能力など) (Kitajima 1994, Zipperlen and Press 1996)、生物季節 (成長速度, 開葉タイミング, 着葉期間など) (Seiwa and Kikuzawa 1991) といった様々な応答を可塑的に変化させることが知られている。

植物にとって光は必須資源であり、光の獲得は成長する上で重要課題である。苗高や葉柄を伸ばして光合成器官をできるだけ明るい場所へ配置させる向日性はその代表的な例である (Ballare et al. 1991)。また、葉の細胞レベルにおいてもクロロフィル量を増加したり、集光性タンパク質に多く含まれるクロロフィル b の a に対する割合を高めるなど、弱光下での光合成を有利にするための順化が知られている (Evans 1989, Hikosaka and Terashima 1995, Lei et al. 1996, Matsuki et al. 2003)。一方で、強い光に対する順化も同様に重要である。強い光を避けるために葉の向きなどを変える背光性は古くから知られている (竹中 1999)。また細胞レベルにおいても、過剰な光によって光合成効率が一時的に低下することがある (光障害)。光障害が発生している状態では、低温や乾燥および強光などにより二酸化炭素固定系の反応が光化学系から送られる光エネルギー量を消費しきれないため、過剰な光エネルギーを熱として放出したり、光化学系のタンパク質

を可逆的に分解することで過剰な電子の流れをくい止める結果、必然的に光合成に使われる光エネルギー量は少なくなり、光エネルギー量に対する光合成効率が抑制される (Kitao et al. 2000)。過剰な光エネルギーの消化は、光合成器官の不可逆的な傷害 (光傷害) を事前に防ぐための防御であることが最近の研究から明らかになりつつあるが、野外の植物においても、このような現象が日常的に起きていることが近年明らかになっている (Anderson and Osmond, 1987, Oberhuber and Bauer 1991)。光障害発生の有無は、光化学系 II の最大光量子収率 ( $F_v/F_m$ ) の変化によって知ることが可能で、光障害が起きた際  $F_v/F_m$  の値は低下する (Snel and Kooten 1992, Kitao et al. 2000)。また、光ストレスを受けている葉では、過還元によって葉内に発生する活性酸素を除去する反応に必要な酵素 (Ascorbate peroxidase: APX) の活性が高いことが知られており (浅田 1999)、この酵素活性を測定することで葉の光ストレス状態が推定可能である。

植物のある光環境に対する順化を論じる際には、以上に述べてきた様々な応答を総合的に見る必要がある。そして生態学的に最も重要なのは、実際に見られる応答が植物の生存や成長量にいかなる影響を与えるのかを知ることであろう。本研究では、ミズナラ実生が様々な光環境に対してどのような順化能力を持つかを形態面と生理的機能面の両方から調べ、その順化が光合成速度や成長量にどう影響しているかについて議論することを目的とした。

## 2. 材料と方法

### 2-1. ミズナラ実生

本研究では、北海道大学北方生物圏フィールド科学センター森林圏ステーション雨龍研究林 (旧雨龍地方演習林) にて1998年の秋に採取されたミズナラ (*Quercus mongolica* var. *grosseserrata* Blume) 殻斗果 (以下、種子と呼ぶ) を用いて栽培実験を行った。種子は母樹ごとに採取されており、本実験には6母樹より採取された種子のうち水選して虫食いや未熟種子を除いたものを用いた。

### 2-2. 栽培方法

栽培実験は、北海道大学低温科学研究所の圃場で行った。被陰格子の明るさは3段階、相対光量子密度 (RPPFD) 100%, 約10%, 約2% (光量子計 LI-1400, LI-Cor にて測定) に設定した。最も明るい光条件区

は光を遮らない鳥よけのネットで囲い、残りの被陰区は遮光ネットで覆った。被陰格子内には高さ90cmのテーブルを置き、その上に栽培用のビニールポット(15cm×15cm×13cm)を置いた。土は培土(タキイ育苗培土 N=0.47%, P=0.92%, K=0.75%, PH=弱酸性)とパーミキュライト(昭和パーミキュライト)、パーライト(日本パーライト工業株式会社)を2:2:1の割合で混合した土を用いて、全てポットの土が均質になるようにした。採取された種子を冬季は雪の下で保存した。1999年4月下旬に、播種する全ての種子の生重量を測定した。4月25日に種子を各ポットに一堅果ずつ、各明るさについて6種類の母樹の種子がランダムに配置されるように播いた。播種後、菌の発生を防ぐために殺菌剤(ダコニール1000)を各ポットにまいた。生育期間中、水撒きを適宜行ってポットの土が乾かないよう保った。

### 2-3. 収穫方法

生育期間中3回、各光条件で生育している複数の個体を掘取って各器官の重量や長さの測定を行った。第1回目の収穫は開芽が確認された直後(5月下旬~6月初旬)のものについて行った(100%区:n=69, 10%区:n=53, 2%区:n=52)。第2回目の収穫は開葉が終了したことが確認されたもの(6月下旬~7月初旬)について行った(100%区:n=52, 10%区:n=48, 2%区:n=44)。第3回目は生育終了時、10月の初旬に行った(100%区:n=41, 10%区:n=38, 2%区:n=36)。収穫された個体は各器官に分けて乾燥機を用いて70℃で2日間乾燥し、乾燥重量を秤量した。

### 2-4. 体積当たりの乾燥重量

根や茎が円柱であると仮定して以下の式で体積当たりの乾燥重量( $\delta$  (mg・mm<sup>-3</sup>):以下、材密度と呼ぶ)を求めた。

$$\delta = M / (\pi \cdot 1/4 \cdot d^2 \cdot L) \quad (\text{mg} \cdot \text{mm}^{-3})$$

ここで、乾重量をM、根元直径をd、根長や苗高をLとする。

### 2-5. 葉の面積、生重量、厚さの測定方法

採取直後に葉の画像をスキャナー(ScanJet4c; ヒューレッドパッカー)でコンピューターに読み込

んで葉面積を測定後、一枚ずつ電子天秤を用いて生重量を秤量しマイクロメーター(デジマチックマイクロメーター; ミットーヨ)で各葉について一点づつ葉の厚さを測定した。

### 2-6. 光合成速度の測定方法

光合成速度の測定は、1999年6月中旬と8月下旬に行った。測定は携帯式光合成蒸散測定装置(SPB-H1 鳥津製作所)を用いて開放系で行った。測定は一枚の葉につき6段階の明るさで、明るい方から順に光量子束密度を減少させて測定した。各明るさごとに3回以上測定を繰り返した。光合成速度とともに葉温、光合成有効放射密度、気孔コンダクタンスも同時に測定した。測定は、朝(8:00~)、昼(12:00~)、午後(16:00~)の3回行った。各光条件について3~5個体から、それぞれについて一枚の葉を選んで測定に用いた。1日3回の測定には毎回同じ個体を用いた。測定後、得られた光-光合成曲線から、光飽和時の光合成速度、見かけの量子収率、光補償点、暗呼吸速度を求めた(Koike 1986を参照)。

### 2-7. 蒸散速度の測定方法

蒸散速度の測定は、スーパーポロメーター(LI-1600; LI-Cor)を用いて行った。測定は1999年9月2日に3つの光条件区内で行った。蒸散速度の測定と同時に葉温、湿度、光量子密度の測定も行った。測定は、朝6時から3時間ごとに18時まで計5回行った。5回の測定には、光合成速度を測定した個体とは別に各光条件から選んだ3~5個体のそれぞれについて一枚の葉を選んで行った。1日5回の測定には毎回同じ個体を用いた。

### 2-8. 光化学系IIの最大光量子収率(Fv/Fm)の測定方法

光化学系IIの光量子収率を代表するFv/Fmは、携帯式クロロフィル蛍光測定器(PAM-2000; WALZ)を用いて1999年9月4日に測定を行った。付属品の暗処理用リーフクリップで10分以上暗処理した後、葉に光を当てないようにリーフクリップのふたをスライドして開け、クロロフィル蛍光を測定してFv/Fmを求めた。測定は、朝4時から3時間ごとに午後7時まで計6回行った。6回の測定では、光合成速度を測定した個体とは別に各光条件から選んだ3~5個体のそれぞれについて一枚の葉を選んで行った。1日6回の測定には毎回同じ個体を用いた。

## 2-9. クロロフィルの定量方法

生育期間中、3回(開葉5日後、開葉終了時、生育終了時)、各光条件の個体から葉を採取した。葉の採取は、日の入りから約1時間後に行った。液体窒素を使って乳鉢で粉末状にした葉をサンプルとして、クロロフィルの定量実験に用いた。50mgの葉の粉末を1.5ml チューブに入れ、1mlの100%アセトンを加えて攪拌した後遠心分離器(10000rpm×10min)でペレットを取り除いた。上澄みを80%のアセトン溶液で1/40に希釈してから吸光光度計(島津製作所)で663.6nmと646.6nmにおける吸光を測定し、R. J. Porraの式(Porra et al. 1989)からクロロフィルのaとbの量を推定した。

$$\text{Chl } a = 12.25A^{663.6} - 2.55A^{646.6}$$

$$\text{Chl } b = 20.31A^{646.6} - 4.91A^{663.6}$$

$$\text{Chl } a + b = 17.76A^{646.6} + 7.34A^{663.6}$$

\*単位は  $\mu\text{g ml}^{-1}$

## 2-10. Ascorbate peroxidase (APX) 活性の測定方法

2-9と同様の方法で得られた葉の粉末をサンプルとして用いた。50mgの葉の粉末を1.5ml チューブに入れ、そこにポリビニルピロリドとマイオイノシトールを10mgづつ加えた。0.5mM アスコルビン酸ナトリウムを40 $\mu\text{l}$ 、0.5MのEDTAを20 $\mu\text{l}$ 、50mM (PH7.8)の $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 緩衝溶液500 $\mu\text{l}$ を加えて攪拌し、15000rpmで10分間で遠心した。上澄液を取り除いた沈殿物に50mM (PH7.8)の $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 緩衝溶液を500 $\mu\text{l}$ と0.5mM アスコルビン酸ナトリウムを20 $\mu\text{l}$ 、0.1% tritonを5 $\mu\text{l}$ を加えて攪拌し、15000rpmで10分間で遠心した。得られた上澄を測定用サンプル溶液とした。50mM (PH7.0)の $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 緩衝溶液950 $\mu\text{l}$ 、0.5mM アスコルビン酸ナトリウム5 $\mu\text{l}$ 、サンプル溶液を10 $\mu\text{l}$ の石英セルに加えて攪拌し、290nmでの吸収を時間を追って測定した。吸光を100秒間ほど測定した後、吸光測定用セルに0.088mMの過酸化水素水を6 $\mu\text{l}$ すばやく加えて攪拌し、再び活性の測定を100秒間ほど続けた。過酸化水素水を加える以前の時間に対する吸光の傾きと、加えた後の時間に対する吸光の傾きからAPX活性を求めた。

## 2-11. 解析方法

実生の苗高、根長、根元直径、根乾重量、茎乾重量、葉乾重量、葉数、葉面積、葉厚、SPAD値、資

源配分比を光条件間で比較する際、各パラメータの正規性を確認した後に光条件を独立変数とし、各パラメータを従属変数とした一元配置の分散分析を用いて検定を行った。その後、各パラメータについて、Scheffeのpost-hoc testで光条件間の多重比較を行った。光合成測定によって求められた光-光合成曲線式の各係数を比較する際には、Kruskal-Wallisの検定を用いた。

## 3. 結果

### 3-1. サイズ変化

最も早い時期に見られた光条件間の違いは苗高で観察され、100%区のみ有意に低かった( $P < 0.0001$ )。開葉終了時にはどの光条件でもほぼ最終苗高に達していた(表1)。これに対して根元直径や根長は、開芽直後には光条件間で違いは見られず、生育後期になるほど光条件間の差が開いた(根元直径: $P < 0.0001$ , 根長: $P < 0.0001$ ) (表1)。根乾重は、どの光条件でも開芽直後から開葉終了時まで顕著な増加は見られなかったが、その後10%区と100%区は飛躍的に増加し、生育終了時には2%区のみが顕著に低かった( $P < 0.0001$ ) (表1)。茎乾重も開葉終了時までにはどの光条件でも顕著な増加は見られなかった。生育終了時には10%区が有意に重く、100%区、2%区と続いた( $P < 0.0001$ ) (表1)。個体全体の乾燥重量はほぼ根乾重と同様の傾向を示し、生育終了時では2%区と比較して10%区と100%区が有意に重かったが( $P < 0.0001$ )、10%区と100%区に有意な違いは見られなかった(表1)。

### 3-2. 資源配分比の変化

根/茎比は開葉終了時までには100%区のみが有意に他区より高かったが( $P < 0.0001$ )、生育終了時には100%区、10%区、2%区の順に高かった( $P < 0.0001$ ) (表1)。根/茎比とは対照的に、LAR (leaf area ratio: 総葉面積/個体乾重)は開葉終了時には100%区でのみ低く( $P < 0.0001$ )、生育終了時には2%区、10%区、100%区の順に高かった( $P < 0.0001$ ) (表1)。茎と根の材密度はどちらも開芽直後には光条件間に違いは認められなかったが、生育終了時には根の材密度は100%区、10%区、2%区の順に高かった( $P < 0.0001$ )。茎の材密度は2%区のみ有意に低かった( $P < 0.0001$ ) (表1)。

表1 各生育ステージごとの異なる光環境における実生の形態および資源分配  
\*アルファベットの違いは光条件間の有意差 (P<0.05) を示す。

相対光量子密度	6月(開芽直後)			7月(開葉終了直後)			10月(生育終了時)		
	2%	10%	100%	2%	10%	100%	2%	10%	100%
苗高(mm)	93.88 <sup>a</sup>	74.41 <sup>b</sup>	47.69 <sup>c</sup>	167.84 <sup>a</sup>	144.18 <sup>b</sup>	93.01 <sup>c</sup>	171.03 <sup>a</sup>	163.34 <sup>a</sup>	99.63 <sup>b</sup>
根元直径(mm)	1.89	2.00	1.88n.s.	1.92 <sup>b</sup>	2.14 <sup>a</sup>	2.26 <sup>a</sup>	2.30 <sup>b</sup>	3.20 <sup>a</sup>	3.26 <sup>a</sup>
根長(mm)	76.83	71.18	74.86n.s.	118.77 <sup>b</sup>	145.62 <sup>a</sup>	153.95 <sup>a</sup>	152.75 <sup>b</sup>	298.08 <sup>a</sup>	285.10 <sup>a</sup>
根乾重(mg)	72.54	65.29	59.99n.s.	99.17 <sup>c</sup>	153.99 <sup>b</sup>	233.04 <sup>a</sup>	157.23 <sup>b</sup>	1061.98 <sup>a</sup>	1394.46 <sup>a</sup>
茎乾重(mg)	46.96 <sup>a</sup>	40.06 <sup>a</sup>	25.21 <sup>b</sup>	85.52	112.68	101.38n.s.	169.68 <sup>c</sup>	475.27 <sup>a</sup>	299.86 <sup>b</sup>
個体乾重(mg)	119.50 <sup>a</sup>	105.35 <sup>a</sup>	84.32 <sup>b</sup>	332.64 <sup>b</sup>	521.72 <sup>a</sup>	633.10 <sup>a</sup>	521.46 <sup>b</sup>	1944.54 <sup>a</sup>	2180.27 <sup>a</sup>
根/茎比(g·g <sup>-1</sup> )	1.63 <sup>b</sup>	1.68 <sup>b</sup>	2.54 <sup>a</sup>	1.15 <sup>b</sup>	1.37 <sup>b</sup>	2.43 <sup>a</sup>	0.89 <sup>c</sup>	2.25 <sup>b</sup>	4.73 <sup>a</sup>
LAR (cm <sup>2</sup> ·mg <sup>-1</sup> )				0.210 <sup>a</sup>	0.199 <sup>a</sup>	0.106 <sup>b</sup>	0.089 <sup>a</sup>	0.064 <sup>b</sup>	0.034 <sup>c</sup>
材密度(茎)(mg·mm <sup>-3</sup> )	0.187	0.193	0.203n.s.	0.179 <sup>c</sup>	0.213 <sup>b</sup>	0.266 <sup>a</sup>	0.218 <sup>b</sup>	0.358 <sup>a</sup>	0.343 <sup>a</sup>
材密度(根)(mg·mm <sup>-3</sup> )	0.383	0.411	0.348n.s.	0.285 <sup>b</sup>	0.289 <sup>b</sup>	0.366 <sup>a</sup>	0.228 <sup>c</sup>	0.408 <sup>b</sup>	0.577 <sup>a</sup>

3-3. 葉の形態と形質

個体当たりの葉乾重や個葉の厚さは生育期間を通して明条件ほど高い傾向を示したが、葉面積は10%区のみ他より有意に大きかった(10月: P<0.0001)(表2)。生育期間を通してSLW (Specific Leaf Weight: 葉の乾重量mg/葉面積cm<sup>2</sup>: 比葉面積重)は、明条件ほど高い傾向を示した(10月: P<0.0001)(表2)。

単位葉面積あたりのクロロフィル(a+b)量は、一回目の収穫(開葉5日後)では光条件間で大きな違

いは認められなかった。しかし、開葉終了直後になると光条件間の違いが大きくなり、暗いほど単位面積あたりのクロロフィル(a+b)量は多い傾向を示した(図1A)。生育終了時では、いずれの明るさで生育した実生でもクロロフィル(a+b)量は減少したものの、100%区のみ有意に低かった(図1A)。クロロフィルa/b比は、一回目の収穫時では光条件間で大きな違いは認められなかった。開葉終了直後と生育終了時の葉では、100%区のみ有意にa/b比が高かった(図1B)。

表2 異なる光環境における葉の形態および形質  
\*アルファベットの違いは光条件間の有意差 (P<0.05) を示す。

相対光量子密度	7月(開葉終了直後)			10月(生育終了時)		
	2%	10%	100%	2%	10%	100%
総葉乾重(mg·seedling <sup>-1</sup> )	161.04 <sup>b</sup>	266.64 <sup>a</sup>	305.11 <sup>a</sup>	184.24 <sup>b</sup>	407.29 <sup>a</sup>	485.95 <sup>a</sup>
総葉面積(cm <sup>2</sup> ·seedling <sup>-1</sup> )	72.21 <sup>b</sup>	91.00 <sup>a</sup>	62.78 <sup>b</sup>	48.23 <sup>b</sup>	109.47 <sup>a</sup>	72.53 <sup>b</sup>
葉厚(μm)	102.45 <sup>c</sup>	110.35 <sup>b</sup>	141.77 <sup>a</sup>	114.72 <sup>c</sup>	122.43 <sup>b</sup>	147.87 <sup>a</sup>
SLW (mg·cm <sup>-2</sup> )	2.23 <sup>c</sup>	2.93 <sup>b</sup>	4.86 <sup>a</sup>	3.82 <sup>b</sup>	3.72 <sup>b</sup>	6.70 <sup>a</sup>

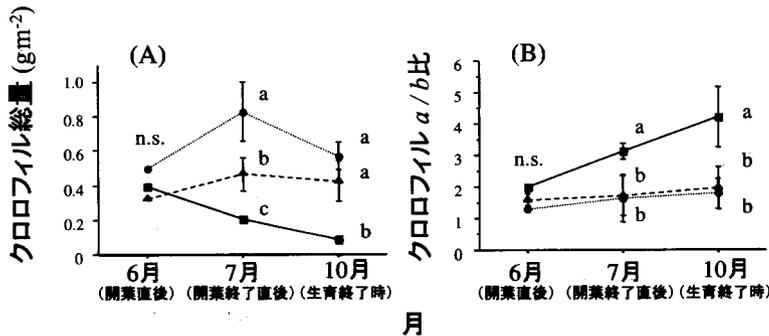


図1 (A)クロロフィル総量の季節変化 (B)クロロフィル a/b 比の季節変化

相対光量子密度: 100% = ■ 10% = ▲ 2% = ●

\*アルファベットの違いは光条件間の有意差 (P<0.05) を示す。

3-4. 光合成と蒸散速度

光合成速度は1日3回の測定のうち、正午の測定が最も高い光合成速度を示したため、正午の測定結果のみ示す。6月の飽和光合成速度 (Psat) は光条件が良いほど高くなる傾向が見られた (P=0.0426)。一方、8月では10%区が最も高い値を示し、100%区は2%区と変わらなかった (P=0.0262) (表3)。光-光合成曲線の0~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 付近の勾配から推定した見かけの量子収率は、6月 (P=0.0152) は100%区のみが他より低い傾向を示したが、8月では有意差は見られなかった (表3)。光補償点は6月での測定値は暗いほど低い傾向が見られたが (P=0.0052)、8月では有意差は見られなかった (表3)。暗呼吸速度は6月も8月でも有意差は見られなかった (表3)。また、光合成速度測定時の気孔コンダクタンスにも有意な差は見られなかった (表3)。

蒸散速度も光合成速度と同様に正午がピークであったため、12時からの測定結果のみ示す。蒸散速度は明条件ほど有意に高かった (P=0.0048) (表3)。

3-5. 光阻害

100%区でのみ日中の Fv/Fm の値が光が強くなる

日中の10時から13時頃にかけて最低0.43にまで低下したが、日没の19時には明け方の水準まで回復した。一方、10%区や2%区の実生では、それぞれの個体が置かれた環境では、Fv/Fmの値がほぼ0.8で推移した (図2)。

さらに、チラコイド膜に含まれる APX の活性を測定したところ、一回目の調査時点と開業終了直後では光条件間で大きな違いは見られなかったが、生育終了時になると、100%区だけが他の処理に比べ10倍近く高い値を示した (P=0.0013) (図3 A)。一方、可溶性の APX 活性は、チラコイド膜の APX より極端に値が低く、一定の傾向は見られなかった (図3 B)。

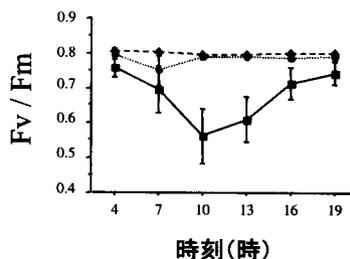


図2 9月初旬の Fv/Fm 日変化  
 相対光量子密度：100% = ■ 10% = ▲ 2% = ●

表3 6月中旬と8月下旬の異なる光環境における光合成および蒸散速度  
 \*アルファベットの違いは光条件間の有意差 (P<0.05) を示す。

相対光量子密度	6月中旬			8月下旬		
	2%	10%	100%	2%	10%	100%
Psat ( $\mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	2.27 <sup>b</sup>	3.54 <sup>ab</sup>	4.21 <sup>a</sup>	3.18 <sup>b</sup>	6.71 <sup>a</sup>	3.18 <sup>b</sup>
見かけの量子収率(φ)	0.023 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	0.008 <sup>b</sup>	0.026	0.016	0.008n.s.
光補償点 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	13.98 <sup>b</sup>	50.86 <sup>a</sup>	81.45 <sup>a</sup>	18.84	34.72	75.79n.s.
暗呼吸速度 ( $\mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	0.288	0.767	0.586n.s.	0.427	0.52	0.233n.s.
気孔コンダクタンス ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )				0.197	0.369	0.353n.s.
蒸散速度 ( $\text{mmolH}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )				11.78 <sup>c</sup>	61.94 <sup>b</sup>	100.28 <sup>a</sup>

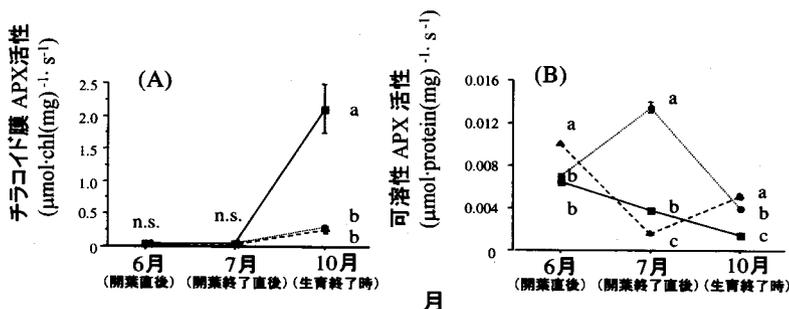


図3 (A) チラコイド膜 APX 活性の季節変化 (B) 可溶性 APX 活性の季節変化  
 相対光量子密度：100% = ■ 10% = ▲ 2% = ●  
 \*アルファベットの違いは光条件間の有意差 (P<0.05) を示す。

## 4. 考察

### 4-1. 光に対する形態的順化

苗高は、最も早い段階から光条件間の違いが見られ、暗条件ほど高かった(表1)。この傾向は、比較的大きな種子を持つ遷移後期に出現する木本種の実生でよく見られており(Seiwa and Kikuzawa 1996)、光資源が限られた林床環境で競争に勝つための適応と考えられている。明条件ほど根/茎比が高くなる傾向は、遷移初期、後期を問わず多くの種で見られている(Osunkoya et al. 1994, Kitajima 1994, Broncano et al. 1998)。この理由としては、明条件では水分、栄養分など光以外の資源が相対的に不足しており、その獲得のために根への投資が大きくなると考えられる(Bloom et al. 1985)。しかし、ミズナラの場合はそれ以上に根の貯蔵器官としての役割が大きいと考えられている。ミズナラの根はもともと直根型だが(斉藤1980)、100%区の根の材密度(体積当たりの乾重量)は他の区より高く(表1)、また細根よりも直根の発達が顕著だった。コナラ属の実生は動物による地上部や根茎の食い切りの被害に頻繁にさらされているが、食い切りにあった実生は、そのほとんどが萌芽によって再成長することが確認されている(Crow 1988)。根は再成長のために必要な貯蔵物質を蓄える器官としての役割を果たしていると考えられる。

葉への投資は暗条件ほど大きくなる傾向を示した(表1, 2)。本研究でも見られた、苗高やLARが被陰下で高くなる傾向は多くの植物で見られており(Osunkoya et al. 1994, Kitajima 1994, Broncano et al. 1998, Pattison et al. 1998)、暗条件でより集光性を高めるための順化と考えられている。

### 4-2. 光に対する葉の機能的順化

2%区と10%区で生育した個体は、8月には有意では無かったものの、6月には見かけの量子収率が高く光補償点が低かった(表3)。このように、暗条件で弱光利用効率が高くなるのは、明条件よりもクロロフィル(a+b)量が多く、クロロフィルbのクロロフィルaに対する割合が高いという質的な順化によるものであると考えられる(図1)。

一方、100%区のミズナラ実生は、SLWや葉厚は被陰区よりも高く、個体あたりの葉量も多いことから、葉の形態的には明条件への順化が見られた(表2)。また光合成機能についても、6月中旬には100%区が最も高い飽和光合成速度を維持していた(表3)。明

条件で生育した植物は、暗条件よりも多くの葉数を持ち、個葉の面積は小さく、SLWは大きく、葉面積あたりのクロロフィル量や飽和光合成速度は高いことが草本や先駆的な木本種で数多く見られている(Bazzaz and Carlson 1982, Kitajima 1994, Osunkoya et al. 1994, Wang 1994, Zipperlen and Press 1996, Broncano et al. 1998, Pattison et al. 1998, Huante and Rincon 1998)。しかし、8月下旬には、10%区の飽和光合成速度は、Kitao et al. (2000) が示した8月の10%区ミズナラ実生(2年生)と同程度の値を示していたにも関わらず、100%区の光合成速度は低下し、10%区よりも低い値を示した(表3)。強光条件での光合成速度の低下には、土壌の乾燥による気孔閉鎖が考えられる(Muraoka et al. 2000)。しかし、8月下旬の光合成速度測定時の気孔コンダクタンスの値は被陰区との違いが見られず、蒸散速度も被陰区よりも高い値を示していることから、100%区実生の光合成速度低下には、乾燥以外の要因が影響していると考えられる(表3)。

今回得られた結果と反して、Kitao et al. (2000) は2年生ミズナラ実生の8月の飽和光合成速度は、相対光量子密度10%の被陰区よりも100%区で高いことを示している。また大原・桜井(1983)や水井(1985)も、明条件ほどミズナラ実生の成長量が高まることを示している。本実験では、用いた培土に窒素が含まれていたものの、強光条件の実生は相対的に窒素不足に陥っている可能性がある。一般に、植物の光合成産物の分配は窒素の供給と炭素の吸収とのバランスに強く影響されるが、窒素が不足すると、過剰な炭水化物の蓄積が見られ、葉が堅く小さくなり、苗高が低くなる等の現象が生じることが知られている。(Fisher et al. 1995, Schulze and Schulze 1995)。Kitao et al. (2000) は、ミズナラ2年生苗木を一定の総合肥料を与えたくえで異なる光環境で生育させ、それらのクロロフィル(a+b)量を指標値であるSPAD値から示し、100%区のクロロフィル(a+b)量は10%区よりも低い値であり、その低下率は10%区のおよそ3分の2であったことを紹介した。本実験でも、生育が進むにつれて100%区実生のクロロフィル(a+b)量は低下し、実験終了時の10月には10%区の6分の1程度にまで減少していた。これらのことから、本実験の100%区ミズナラ実生では、相対的に窒素不足に陥っていたと考えられる。

ところで、面積当たりのクロロフィル(a+b)量は、葉内の窒素不足だけでなく、強い光環境によっ

でも制御されると考えられる。集光機能に重要なクロロフィルはチラコイド膜上にあり、二酸化炭素固定反応に直接関与するルビスコ (Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) は、可溶性タンパク質に含まれている。葉内の窒素は、明条件では可溶性タンパク質に、暗条件ではチラコイド膜に費やされる量が増加することが知られている (例えば, Evans 1989, Amthor 1995)。強光条件では供給される光子量に見合った多くのルビスコが必要となるため、チラコイド膜上のクロロフィルに費やされる窒素は相対的に少なくなると考えられる。また、「光傷害」が生じる原因としては、光合成産物であるデンプンが細胞に貯まりすぎると葉緑体内部での変形が起きたり、強光や紫外線によって光合成色素やチラコイド膜が破壊されることも一因とされる (Larcher 1994)。このように、強光条件はクロロフィル形成に好ましい条件ではないことが知られている。

また、強光条件下での相対的な窒素不足は、光合成の酵素反応系の律速になるため、強光条件下での光阻害を促進していたと考えられる。ミズナラ実生の100%区の葉では、日中にかけて光阻害が生じていたことは  $F_v/F_m$  の低下 (図2) から推察されるが、夕方に向かって  $F_v/F_m$  値が0.7程度にまで回復していた。Matsuki et al. (2003) は100%区実生の葉ではキサントフィル・サイクルに関わる色素 (ビオラキササンチン (V; Violaxanthin), アンテラキササンチン (A; Antheraxanthin) そしてゼアキササンチン (Z; Zeaxanthin)) の総量は、他の光条件区と変わらないが、 $(A+Z)/(V+A+Z)$  値が他よりも高いことから、過剰なエネルギーを消化する光防御機構が働いていることを明らかにしており、これらが  $F_v/F_m$  値の回復に貢献していたと考えられる。キサントフィル・サイクルとはチラコイド膜上で触媒される反応であり、光エネルギーの熱拡散に関わる重要な反応である。葉に強光が当たるとビオラキササンチンが脱エポキシ化され、アンテラキササンチンを経てゼアキササンチンに変換される。また弱光下では、ゼアキササンチンとアンテラキササンチンはエポキシ化されビオラキササンチンが再生される (Demming-Adams and Adams 1996)。

しかし、生育終了時の100%区ミズナラ実生においてはチラコイド膜 APX の著しい上昇 (図3 A) が見られたことから、熱拡散によって除去しきれなかった光エネルギーが活性酸素となり、光化学系にストレスを与えていたことが推察された。

## まとめ

ミズナラ実生は被陰条件下では光を獲得するための順化が形態、生理的機能の両面で見られた。しかし、強光条件では、今回の実験では窒素制限下にあったために、葉のクロロフィル (a+b) 量が極めて少ない上に飽和光合成速度も低下していた。本実験では、窒素不足が強光下の光合成機能の低下をより促進していた可能性を示唆した。一般的に、自然環境下は必ずしも窒素は飽和状態ではなく、土壌の窒素条件によっては今回見られたような光合成機能の制限を受ける可能性も考えられる。Osunkoya et al. (1994) や Broncano et al. (1998) は、光条件が良好になるに従って実生の成長量は上昇傾向にあるが、その傾向は先駆的な種に比べて遷移後期種では小さいことを報告している。ミズナラ実生においても、ある程度以上の光の供給は成長量増加には貢献しないと言えるだろう。ミズナラのような遷移後期種は、先駆種に見られるような強い光への順化よりも、小規模なギャップに見られるようなある程度被陰された環境下で成長を最大にするメカニズムが発達していると考えられる。

一方、100%区で見られたように根への高い光合成産物の配分比や各器官の高い材密度 (硬さ) は、ネズミなどによる動物の被食圧が高い環境では、その後の生存に有利に働く可能性がある。鈴木・大住 (1990) も、ミズナラ稚樹の消長の主要因は、陽光不足よりも、むしろネズミ類による根部の摂食被害であることを報告している。森林形成過程においてミズナラに最も適している環境を探る上では、単に地上部の成長量増加だけではなく、根部の発達や、葉や茎の防御物質にも注目する必要があると考えられ、今後の課題としたい。

## 謝辞

北海道大学北方生物圏フィールド科学センター森林園ステーション雨龍研究林の皆様には、材料の採取から生育環境の情報など、数々のご支援をいただいた。同じく北方生物圏フィールド科学センター生物群集生態学領域の小池孝良教授と植村滋助教には種々の助言をいただいた。最後に数々のコメントをいただいた審査者にも深く感謝する。

## 引用文献

Amthor, J.S. (1995) : Higher plant respiration and its relationships to photosynthesis. *Ecophysiology of Photosynthesis*. Springer-Verlag, Berlin. 71-101pp

- Anderson J.M., and Osmond, C.B. (1987) : Photo-inhibition. Elsevier, Amsterdam. 1-38pp
- 浅田浩二 (1999) : 「葉の光環境変動に対する迅速適応」 植物の環境応答—生存戦略とその分子機構—, 107-119pp, 秀潤社
- Ballare, C.L., Scopel, A.L., and Sanchez R.A. (1991) : Photocontrol of stem elongation in plant neighborhoods effects of photon fluence rate under natural condition of radiation, *Plant, Cell and Environment* 14, 57-65
- Bazzaz, F.A., and Carlson, R.W. (1982) : Photosynthetic Acclimation to Variability in the light environment of early and successional plants, *Oecologia* 54, 313-316
- Bloom, A.J., Chapin III, F.S. and Mooney, H.A. (1985) : Resource limitation in plants-an economic analogy-, *Annual Review of Ecology and Systematics* 16, 363-392
- Broncano, M.J., Riba, M., and Retana, J. (1998) : Seed germination and seedling performance of two Mediterranean tree species, holm oak (*Quercus ilex* L.) and Aleppo Pine (*Pinus halepensis* Mill.) : a multifactor experimental approach. *Plant Ecology* 138, 17-26
- Crow, T. R. (1988): Reproductive mode and mechanisms for self-replacement of northern red oak (*Quercus rubra*) -A Review, *Forest Science* 34 (1), 19-40
- Demming-Adams, B. and Adams, W.W.III (1996) : The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis, *Trends in Plant Science* 1, 21-26
- Evans, J.R. (1989) : Photosynthesis and nitrogen relationship in leaves of C3 plants, *Oecologia* 78, 9-19
- Fisher, K., Koch, G.W. and Mooney, H.A. (1995) : Photosynthesis, storage and allocation. *Ecophysiology of Photosynthesis*, 133-144pp, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Hikosaka, K. and Terashima, I. (1995) : A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C-3 plants to sun and shade with respect to nitrogen use, *Plant, Cell and Environment* 18, 605-618
- Huante, P., and Rincon, E. (1998) : Responses to light changes in tropical deciduous woody seedlings with contrasting growth rates, *Oecologia* 113, 53-66
- Kitajima, K. (1994) : Relative important of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees, *Oecologia* 98, 419-428
- Kitao, M., Lei, T. T., Koike, T., Tobita, H. and Maruyama, Y. (2000) : Susceptibility to photo-inhibition of three deciduous broadleaf tree species with different successional traits raised under various light regimes, *Plant, Cell and Environment* 23, 81-89
- Koike, T. (1986) : Photosynthetic responses to light Intensity of deciduous broad-leaved tree seedlings raised under variou artificial shade, *Environmental Control in Biology* 24, 51-58
- Larcher, W. (1994) *Physiological Plant Ecology*, Springer Verlag. 植物生態生理学 (佐伯敏朗監訳), 242-247pp, シュプリンガー・フェアラーク東京株式会社, 東京
- Lei, T.T., Tabuchi, R., Kitao, M., and Koike, T. (1996) : Functional relationship between chlorophyll content and leaf reflectance, and light-capturing efficiency of Japanese forest species, *Physiologia Plantarum* 96, 411-418
- Matsuki, S., Ogawa, K., Tanaka, A. and Hara, T. (2003) : Morphological and photosynthetic responses of *Quercus crispula* seedlings to high light conditions, *Tree Physiology*, 23, 769-775
- 水井憲雄 (1985) : 「庇陰下におけるミズナラ苗の生長」 第96回日本林学会論文集, 369-370
- Muraoka, H., Tang, Y., Terashima, I., Koizumi, H. and Washitani, I. (2000) : Contributions of diffusional limitation, photo-inhibition and respiration to midday depression of photosynthesis in *Arisaema heterophyllum* in natural high light, *Plant Cell and Environment* 23, 235-250
- 大原偉樹・桜井尚武 (1983) : 「ミズナラ稚苗の生長に対する被陰効果」 第94回日本林学会論文集, 361-362
- Osunkoya, O.O., Ash, J.E., Hopkins, M.S., and Graham, A.W. (1994) : Influence of seed size and

- seedling ecological attributes on shade-tolerance of rain-forest tree species in northern Queensland, *Journal of Ecology* 82, 149-163
- Pattison, R.R., Goldstein, G., and Ares, A. (1998) : Growth, biomass allocation and photosynthesis of invasive and native Hawaiian rainforest species, *Oecologia* 117, 449-459
- Pickett, S.T.A., and McDonnell, M.J. (1989) : Dynamics in Temperate Deciduous Forest. *Ecology of Soil Seed Banks*, 123-147pp, Academic Press, Inc, San Diego
- Porra, R. J., Thompson, W. A., and Kriedemann, P.E. (1989) : Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equation for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy, *Biochimica et Biophysica Acta* 975, 384-394
- 斉藤新一郎 (1980) : 「ミズナラの稚苗の形態について」第28回日本林学会北海道支部会講演集, 48-50
- Schulze, W., and Schulze, E.-D. (1995) : The significance of assimilatory starch for growth in *Arabitopsis thaliana* wild-type and starchless mutants, *Ecophysiology of Photosynthesis*, 123-131pp, Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, and New York
- Seiwa, K., and Kikuzawa, K. (1996) : Importance of seed size for the establishment of seedlings of five deciduous broad-leaved tree species, *Vegetatio* 123, 51-64
- Seiwa, K., and Kikuzawa, K. (1991) : Phenology of tree seedlings in relation to seed size, *Canadian Journal of Botany* 69, 532-538
- Snel, J. F. H., and van Kooten (1990) : The use of chlorophyll fluorescence and other non-invasive spectroscopic techniques in plant stress physiology, *Photosynthesis Research* 25, 146-332
- 鈴木和次郎・大住克博 (1990) : 「ミズナラ稚樹の消長と物質分配様式」第101回日本林学会論文集, 437-438
- 竹中明夫 (1999) : 「光合成器官のマクロな構造」, 植物の環境応答—生存戦略とその分子機構—, 12-17pp, 秀潤社, 東京
- Tang, Y., and Washitani, I. (1995) : characteristics of small-scale heterogeneity in light availability within a *Miscantbus sinensis* canopy, *Ecological Research* 10, 189-197
- Wang, G. G. (1994) : Growth of *Thuja plicata* seedlings along a light gradient, *Canadian Journal of Botany* 72, 1749-1757
- Zipperlen, S.W., and Press, M.C. (1996) : Photosynthesis in relation to growth and seedling ecology of two dipterocarp rain forest tree species, *Journal of Ecology* 84, 863-876

### Summary

Morphological and physiological response to different light conditions in Mizunara oak (*Quercus mongolica* var. *grosseserrata* Blume) seedlings were examined. *Q. mongolica* seedlings were grown under three light conditions (RPPFD 2%, 10% and 100%) from seeds. In final of growing season, dry masses of seedlings under 2% were the lowest and there was no difference in dry masses between 10% and 100%. Morphological acclimation (higher stem, lower root / shoot ratio and larger leaf area ratio) and physiological acclimation (higher total chlorophyll content, lower chlorophyll a/b ratio and higher photosynthetic availability under low light) to low light were observed in seedlings under 2% and 10%. On the other hand, seedlings under 100% had higher root/shoot ratio and harder stem and root than those under 2% or 10%. Seedlings under 100% were suffering from photoinhibition (lower Fv/Fm and higher activity of membrane-bound APX) and had lower Psat measured in August than that under 10%.

Keywords : light acclimation, photoinhibition, *Quercus mongolica* var. *grosseserrata* seedling, Fv/Fm and Ascorbate peroxidase (APX)