



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	多樹種の生物起源揮発性有機炭素（BVOC）の計測と植食性昆虫の動態解明
Author(s)	増井, 昇; 谷, 晃; 松浦, 英幸 他
Citation	北方森林保全技術, 39, 1-5
Issue Date	2021-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83341
Type	departmental bulletin paper
File Information	01-1.pdf



I-1 多樹種の生物起源揮発性有機炭素 (BVOC) の計測と

植食性昆虫の動態解明

増井 昇¹, 谷 晃², 松浦 英幸³, 渡部 敏裕³, 藤戸 永志⁴, 佐々木 圭子⁴, 佐藤 冬樹⁴,
高木 健太郎⁴, アガトクレオス・エフゲニオス^{1, 5}, 小池 孝良³

¹ 北海道大学・大学院農学院, ² 静岡県立大学・食品栄養科学部, ³ 北海道大学・大学院農学研究院

⁴ 北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター, ⁵ 現所属: 南京信息工程大学・応用気象学部

はじめに

局所的に増加している対流圏 (地表付近) オゾンによって、アジア地域では陸上生態系の総光合成生産速度は 30% 以上抑制されると推定されている (Sitch ら 2007)。ドイツ南東部に位置するミュンヘン工科大学の約 50 年生の欧州ブナ・トウヒ林では、近隣の 2 倍濃度のオゾン付加を 8 年間行った結果、ブナ樹冠内部の成長が抑制され梢殺 (ウラゴケ: 元口に比べ尖端が細く痩せている形状) の状態を示した (Pretzsch ら 2010)。近年になって、アジア地域を中心とした大気環境変化の植物への影響は総括された (伊豆田 2020) もの、20 年前には激害がみられた神奈川県丹沢山系では枯死木は既に処理され、対流圏 (= 地表付近) オゾンへの関心は失われつつある。

一方、大気環境化学に基づく解析からは、オゾンの環境攪乱物質としての影響が指摘された (Fuentes et al. 2013, Vanderplanck et al., 2021)。例えば、オゾンによって“花の香り”の“芳香誘因”機能が失われ、結果として花へたどり着けず、受粉率が低下して昆虫媒花作物の収量の低下が示唆された。さらに、これまでに調査した狭食者のハムシ類に共通しているが、80 ppb 付近の高いオゾン濃度では、宿主植物へたどり着けなくなる現象が見られた (Agathokleous ら 2017, Masui ら 2020, 2021, Sugai ら 2019)。

これまで、ハンノキハムシ、ニレハムシ、ドロノキハムシの挙動を高オゾン環境下で調べてきたが、これらのハムシ類はいずれも狭食者である (小池 2021, 小池・増井 2021, 増井・小池 2020)。従って調べたハムシ類は宿主の葉から放出される香りを識別し、餌となる葉へたどり着いていると考えられる。なお、植物の葉や花から放出される香り成分は、特に、生物起源揮発性有機炭素 (Biological Volatile Organic Compounds; 以下、BVOCs) として論じられる。なお、本試験で着目したハンノキハムシは、シラカンバ以外にも名称のとおりハンノキ属の樹木を中心に食害することが判明している (林業試験場北海道支場保護部 1985)。

よって、本研究では対象樹種数を増やし、「食害対象樹種中で共通する成分や比率が存在するのか」を解明することを目的とした。そこで、北海道の森林に広く生育する落葉広葉樹数種を対象樹種に、ハンノキハムシの各樹種の BVOC に対する挙動を Y 字管試験装置で調査した (小池 2017, Masui ら 2020, Masui ら, Online)。また、併せて対象とした樹种群の BVOC のプロファイル調べた。そして、放出される BVOC の類似性を検討した。

材料と方法

1. 植物

本試験では、食害対象の樹种群 (樹种群 A) と非対象樹种群 (樹种群 B) の 2 グループを設定した。樹种群 A にはシラカンバ (*Betula platyphylla* var. *japonica*)、ヤマハンノキ (*Alnus hirsuta* var. *sibirica*)、ハンノキ (*Alnus japonica*) の 3 樹種を選定した。一方、

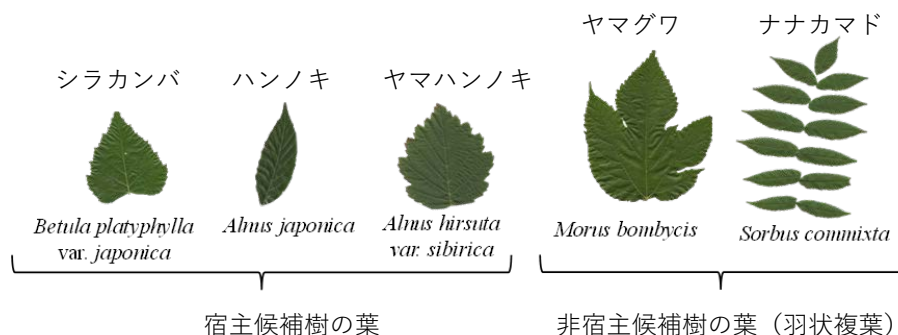


図 1. BVOC とハンノキハムシの宿主候補樹の個葉の例 (Masui ら 2021 から改作)

野外においてシラカンバ群落内においてもハンノキハムシによる食害が発生していないことから、ヤマグワ (*Morus australis*)、ナナカマド (*Sorbus commixta*) の 2 樹種を非食害対象樹種（樹种群 B）として選定した（図 1）。

各樹種サンプル数は 5 個体とし、食害後の誘導防御として特異的な BVOC が放出される可能性を避けるため、特に、樹种群 A は食害影響の少ない加温していないガラス室内で管理した。

陽樹冠の先端から 60~80cm 長のシュートを採取し、水を満たしたボトルへ漬け、水分状態を保持した (Koike 1996)。その後、農学研究院の人工気象室へ搬入し、Y 字管試験装置によってハンノキハムシに対する誘因効果を検定した（図 2，図 3）。

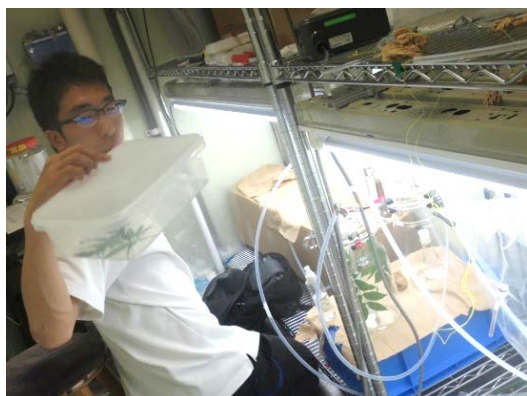


図 2. 農学研究院人工気象実験室に設けたハンノキハムシに対する嗜好性検査装置（図 2 参照）。ナナカマドを試験対象にしている様子。人物は第一著者。

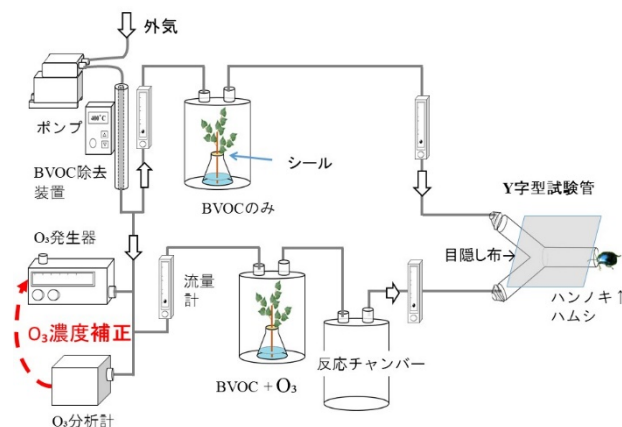


図 3. ハンノキハムシへの BVOC の誘因効果を調べる Y 字管試験装置（増井原図）

2. 昆虫

ハンノキハムシは北方生物圏フィールド科学センター札幌研究林の実験苗畑の開放系 O₃ 付加施設対照区より採集した。生物検定に使用する直前のハンノキハムシには、2 時間の絶食期間を設けた (Masui et al. 2020)。

実験時期はハンノキハムシの生活史に合わせ（林業試験場北海道支場保護部 1985）、成虫の出現する 6 月と 9 月とした。7 月の中旬に出現する幼虫に関しては、孵化後の移動性は極めて低く BVOC の影響を受けにくいことから本研究の対象からは除外している。以下、いずれの試験も農学研究院本館北棟内に設置された人工気象室の LED 照明下（光合成有効放射： $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ）の実験室内で行い、測定時間中のチャンバー内の温度（25~28℃）を記録

した。

3. BVOC の同定と誘因性検定

各樹種 BVOC のハンノキハムシに対する誘因性の検定として、Y 字型試験管を用いた選好性試験を行った。検定完了個体数は各試験で 30 個体とし、詳細は先行研究（Masui ら 2020）になった。統計解析には、二項検定（理論分布 0.5 : 0.5）を用いた。

BVOC 測定は枝チャンバー法（図 4）を採用し、各個体 30 分間測定×2 サンプル捕集した。サンプルは熱脱着装置（Turbo Matrix ATD 650, Perkin Elmer Instruments, USA）付きガスクロマトグラフィー質量分析計（GCMS-QP2010、島津、京都）を用いて定性及び定量分析を行い、各樹種における各成分の放出比率を算出した。

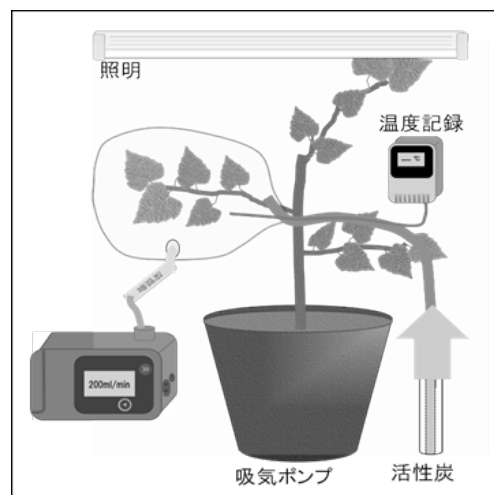


図 4. 枝チャンバー法の概略図
（増井原図）左下：ポンプ

結果と考察

Y 字管 BVOC 選好性試験の結果、6 月、9 月ともにハンノキハムシは樹種群 A（ハンノキ類 2 樹種とシラカンバ）の BVOC を選好する傾向にあることが明らかになった（表 1）。これに対して、樹種群 B（ヤマグワ、ナナカマド）では、6、9 月ともに誘因性も忌避性も見られなかった。

測定の結果、全樹種において BVOC の放出組成の変化が得られた。また、各樹種の BVOC 組成の比較からは、樹種群 A のみで放出される成分は検出されなかった。つまり、ハンノキハムシの誘引において「特定成分の存在」が行動を規定しているわけではないと考えられる。しかし、ヤマハンノキ及びハンノキという同属内に限定してみれば、6 月と 9 月ともに共通した優占順位（6 月の事例：Geranyl nitrile > linalool > (Z)- β -ocimene > sabinene > β -pinene）が見られた。

従って、食害対象樹種群内でも属などの階級単位でハンノキハムシは植物識別を行っている可能性が示唆された。

表 1 □Y 字管試験結果
統計方法：二項検定 * < 0.05, ** < 0.01

6月	BVOC	浄化空気	p 値
シラカンバ	21	9	*
ヤマハンノキ	24	6	**
ハンノキ	21	9	*
ヤマグワ	13	17	0.58
ナナカマド	13	17	0.58

9月	BVOC	浄化空気	p 値
シラカンバ	22	8	*
ヤマハンノキ	20	10	0.10
ハンノキ	22	8	*
ヤマグワ	16	14	0.86
ナナカマド	16	14	0.86

まとめ

食害対象の樹種群 A は BVOC の選好性試験ではいずれもハンノキハムシに対する誘因性を示したものの、樹種群 A に特有の成分放出は検出されなかった。他の植物種—昆虫種間の研究事例においても「特有成分の放出が宿主探索を決定づける」ことは極めて少なく、一般的な成分群の組成全体の差異が重要であることが示唆されている（Bolter ら 1997, Šimpraga et al. 2016）。今後、属内での測定樹種を増やすことによって共通放出比率の絞り込みを進めていくことが期待される。

最後に、虫害の発生に伴う害虫誘引の二次効果に関して述べる。本研究では食害影響を排除

した虫害開始段階での誘因性を検証したが、野外では食害後応答としての BVOC 放出が前提となる (Copolovici ら 2010, Vuorinen 2005)。実際に特定のハムシが食害後の同一植物種への応答頻度が高くなる事例が報告されている (Copolovici ら 2010)。9 月の調査では、樹種群 A の食害前後で(Z)-ocimene, β -linalool 等の O₃ と反応性の高い成分の放出が絶対量・比率ともに増加していた (Masui ら, 未発表)。これら O₃ 反応性の高い成分群が鍵となっている場合、食害の継続する対照区と O₃ 区で食害差が拡大していく可能性がある。したがって、食害影響や季節的变化も含めた BVOC 放出と、これらの変化に対するハンノキハムシの応答を見ていくことが必要である。

謝辞

本研究は栗林財団と科学技術振興財団の戦略的国際共同研究プログラム (SICORP) 日本・中国 (環境・エネルギー分野) のサブ課題: 都市生態へのオゾン汚染の影響: モニタリング・影響評価・適応策 (No. JPMJSC18HB 代表・渡辺 誠・東京農工大学; 分担者・渡部敏裕・北海道大学) の一部支援を得た。また施設の管理には、北海道大学北方生物圏フィールド科学センター、故市川一氏の協力があつた。記して感謝する。

引用文献

- Agathokleous E, Sakikawa T, Abu ElEla S.A, Mochizuki T, Nakamura M, Watanabe M, Kawamura K, Koike T (2017) Ozone alters the feeding behavior of the leaf beetle *Agelastica coerulea* (Coleoptera: Chrysomelidae) into leaves of Japanese white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*). Environ. Sci. Pollut. Res. **24**: 17577–17583.
- Atkinson R, Arey J (2003) Gas-phase tropospheric chemistry of biogenic volatile organic compounds: a review. Atmos. Environ. **37**: 197-219.
- Bolter CJ, Dicke M, Van Loon JJA, Visser JH, Posthumus MA (1997) Attraction of Colorado potato beetle to herbivore-damaged plants during herbivory and after its termination. J. Chem. Ecol. **23**: 1003-1023.
- Bruce T JA, Wadhams LJ, Woodcock C M (2005) Insect host location: A volatile situation Trends in Plant Sci. **10**: 269-274.
- Copolovici L, Kännaste A, Remmel T, Vislap V, Niinemets Ü (2010) Volatile emissions from *Alnus glutinosa* induced by herbivory are quantitatively related to the extent of damage. J. Chem. Ecol. **37**:18–28.
- 伊豆田 猛 (2020) 大気環境と植物、朝倉書店、東京 162pp.
- Fuentes JD, Roulston TH, Zenker J (2013) Ozone impedes the ability of a herbivore to find its host. Environ. Res. Lett. **8**: 014048.
- Koike T, Watanabe M, Hoshika Y, Kitao M, Matsumura H, Funada R, Izuta T (2013) Effects of ozone on forest ecosystems in East and Southeast Asia. Dev. Environ. Sci. **13**: 371-390.
- 小池孝良 (2017) 街路樹シラカンバの虫喰いは、なぜ都心で目立つのか? 樹木医学研究 **23**: 74-175
- 小池孝良・菅井徹人・渡部敏裕・市川 一・藤戸永志・佐々木圭子・曲 来葉・渡辺 誠・荒川圭太・佐藤冬樹 (2020) 都市生態系へのオゾン汚染の影響: 実験的研究による J S T へのとり組み. 北方森林保全技術 **37**: 11–17.
- 小池孝良・増井 昇 (2021) 樹林地の健全性の維持 – 無機環境の変化の視点から虫害発生を化学する-. ツリー・ドクター **28**: 37-42.
- Lindroth RL (2010) Impacts of elevated atmospheric CO₂ and O₃ on forests:

- phytochemistry, trophic interactions, and ecosystem dynamics. *J. Chem. Ecol.* **36**: 2-21.
- 増井昇・小池孝良 (2017) ハンノキハムシの行動選択に及ぼす対流圏オゾンの影響. 北方森林研究 **66** : 47-50.
- Masui N, Agathokleous E, Mochizuki T, Tani A, Matsuura H, Koike T (2021) Ozone disrupts the communication between plants and insects in urban and suburban areas: an updated insight on plant volatiles. *Jour. Forestry Res.*; open access, doi.org/10.1007/s11676-020-01287-4
- Masui N, Mochizuki T, Tani A, Matsuura H, Agathokleous E, Watanabe T, Koike T. (2020) Does ozone alter the attractiveness of Japanese white birch leaves to a leaf beetle (*Agelastica coerulea*) via changes in biogenic volatile organic compounds (BVOCs): An examination with the Y-tube test. *Forests* **11**; <https://www.mdpi.com/1999-4907>.
- 増井昇・小池孝良 (2020) 大気汚染が植物 - 昆虫間のコミュニケーションを阻害する - 植物由来揮発性物質の役割 -. 樹木医学研究 **24**: 213-214.
- 増井 昇・菅井徹人・渡邊陽子・渡部敏裕・塩尻かおり・佐々木圭子・藤戸永志・荒川圭太・佐藤冬樹・小池孝良 (2021) 高オゾン環境下でのヤマナラシ属 2 種の成長と病虫害. 北方森林保全技術 **38**: 1-8.
- Masui N, Agathokleous E, Tani A, Matsuura H, Koike T (2021) Plant-insect communication in urban forests: Similarities of plant volatile components among host trees for alder leaf beetle *Agelastica coerulea*. *Env Sci.* (in press) online first <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111996>
- Pretzsch H, Dieler J, Matyssek R, Wipfler P. (2010) Tree and stand growth of mature Norway spruce and European beech under long-term ozone fumigation. *Env. Pollut.* **158**:1061–1070.
- 林業試験場北海道支場保護部 (1985) 北海道樹木病虫獣図鑑. 北方林業会, 札幌, 223pp.
- Sakikawa T, Nakamura M, Watanabe M, Oikawa M, Satoh F and Koike T (2016) Leaf phenology and insect grazing of Japanese white birch saplings grown under free-air ozone exposure. *J. Agr. Meteorol.* **72**: 80-84.
- Šimpraga M, Takabayashi J, Holopainen J.K (2016) Language of plants: Where is the word? *J. Integr. Plant Biol.* **58**: 343–349. <https://doi.org/10.1111/jipb.12447>.
- Sitch S, Cox P, Collins WJ, Huntingford C (2007) Indirect radiative forcing of climate change through ozone effects on the land-carbon sink. *Nature* **448**: 791–794. <https://doi.org/10.1038/nature06059>
- Sugai T, Okamoto S, Agathokleous E, Masui N, Satoh F, Koike T (2019) Leaf defense capacity of Japanese elm (*Ulmus davidiana* var. *japonica*) seedlings subjected to a nitrogen loading and insect herbivore dynamics in a free air ozone-enriched environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, DOI 10.1007/s11356-019-06918-w.
- Vanderplanck M, LapeyreB, Brondani M, Opsommer M, Dufay M, Hossaert-McKey M, Proffit M (2021) Ozone Pollution Alters Olfaction and Behavior of Pollinators. *Antioxidants* **10**, 636. <https://doi.org/10.3390/antiox10050636>.
- Vuorinen T (2005) VOC emissions induced by herbivory, pathogen infection, and O₃ exposure from two silver birch clones and the host-searching behavior of the generalist predator. *Kuopio Univ. Publ. C. S. Nat. Environ. Sci.* **183**: 67-80.