



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	開放系オゾン付加施設を用いた植物-昆虫間の関連解析ーハンノキハムシーシラカンバの事例ー
Author(s)	増井, 昇; 小池, 孝良; 松浦, 英幸 他
Citation	北方森林保全技術, 42, 44-49
Issue Date	2024
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/93948
Type	departmental bulletin paper
File Information	2023_42 (9).pdf



I - 9 開放系オゾン付加施設を用いた植物-昆虫間の関連解析

—ハンノキハムシ-シラカンバの事例—

増井 昇¹, 小池 孝良², 松浦 英幸², 佐々木 圭子³, 藤戸 永志³, 渡部 敏裕²

1 北海道大学農学院 (現在・静岡県立大学), 2 同・農学研究院, 3 同・北方生物圏フィールド科学センター

はじめに

生物多様性保全が国家戦略に位置づけられ(環境省 URL)、愛知議定書(COP10)から2022年に開催されたCOP15によって昆明・モントリオール議定書が出され、自然を基盤とした解決策(NbS: Nature-based solutions)*が、強く求められている。シラカンバは、北海道では都市緑化に利用され、最近、加工法が大きく発展し(秋津 2023)、循環林施業も進展してきた(森林総研北支 2022)。そこでシラカンバに注目し、都市域で目立ってきた植食性昆虫の食害について、新知見を得ることが出来た(小池・増井 2021)。これらを基礎に一連の研究成果としてとりまとめたが(増井 2023)、その概要と展望を報告したい。

*: 社会課題に効果的かつ順応的に対処し、人々の幸福と生物多様性による恩恵を同時にもたらす、自然・人為的に改変された生態系の保護、持続可能な管理、回復のための行動を意味する。

2. 背景

紫外線から生命を保護してくれる成層圏オゾンとは異なり、対流圏オゾン(地表0~11 km 付近のオゾン; 以下O₃)は、強力な酸化剤であり植物に対して負の影響を引き起こす大気中の環境ストレスである。紫外線存在下でのNOタイトレーション効果によって(NO+O₃⇌NO₂+O₂)、交通量の多い都心部の方がO₃濃度は低く、一見、空気の澄んで見える郊外の方がO₃濃度は高い(吉門 2019)。事実、札幌市周辺のトドマツ植栽木の年輪解析と地域の気象環境データと相関を調べると、郊外のトドマツ胸高部位の年輪幅が最近狭くなっており、NOタイトレーション効果が確認された(Moser-Reischl et al. 2019)。北方生物圏フィールド科学センター札幌研究林・実験苗畑では、これまで、開放系O₃付加施設(O₃-FACE: free-air controlled ozone enrichment)を利用して「野外の高濃度O₃環境が植物の生理機能や当該植物の植食性昆虫による食害度に与える影響」を2013年から調査してきた(Sakikawa et al. 2015; 増井 2023)。

光合成生産量は、葉の光合成機能と単位面積当たりの葉面積(LAI)に依存する。さらに葉の寿命に直結する防御形質は光合成産物に依存する。このため、研究の当初は、オゾン付加区で虫害が増え、成長が抑制されると予想していた。事実、北海道に広く生育するシラカンバ(*Betula platyphylla* var. *japonica*)では、高濃度O₃によって光合成速度の低下や落葉の早期化だけでなく、葉内の化学防御物質(縮合タンニン、総フェノール量など)の低下が起こる(Sakikawa et al. 2016)。実験室内のバイオアッセイ(生物検定)試験では、高O₃下で生育したシラカンバの葉は、防御に係わる物質量が低下しており、ハンノキハムシ(*Agelastica coerulea*)の摂食嗜好性が高くなること、野外でのO₃曝露葉を摂食した場合に成長率が向上することが認められた(Abu-AI-EL et al. 2019)。

しかし、シラカンバを食害するハンノキハムシは、O₃-FACEでは、上記の結果とは対称的

にO₃付加区のシラカンバへの食害の程度が低下していた。したがって、「ハンノキハムシは野外では何らかの要因によって、本来、光合成が抑制され防御力が低くなって食べやすいはずのO₃ 曝露されたシラカンバ葉への食害行動が少なくなっている」ことを、新たな問いとして提示した。

植食性昆虫の食害は森林生態系における純一次生産量の最大 15%の損失に相当しており(小池ら 2023)、森林生産性の将来予測においても、高濃度 O₃ 環境下における植食性昆虫の行動変化の要因を解明する意義がある。一連の研究から(Masui et al. 2020 ; Masui et al. 2022 ; 増井 2023)、植物由来の揮発性香気シグナルと O₃ 曝露影響に着目し、以下に示す 1)~4)の研究から、上記にあげた問いの解明を試みた。

材料と方法

植物：

2年生のシラカンバ苗木を北海道園芸緑化センターから購入し、開葉前に植え付けた。シラカンバは春葉と夏葉を有する異型葉タイプの樹種で(図1)、春葉が完全に展開してから夏葉を順次展開する(Koike 1995)。

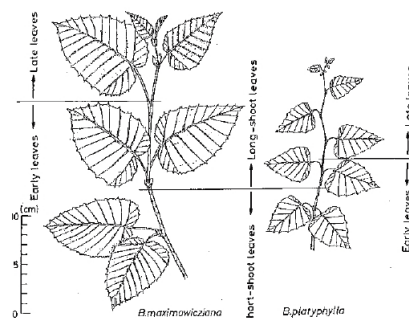


図 1. ウダイカンバとシラカンバの春葉 (early leaf) と夏葉 (late leaf) (Koike & Sakagami 1985)



写真 1. 実験苗畑にオゾン付加区と対照区を各 3 基ずつ設置された開放系オゾン付加施設

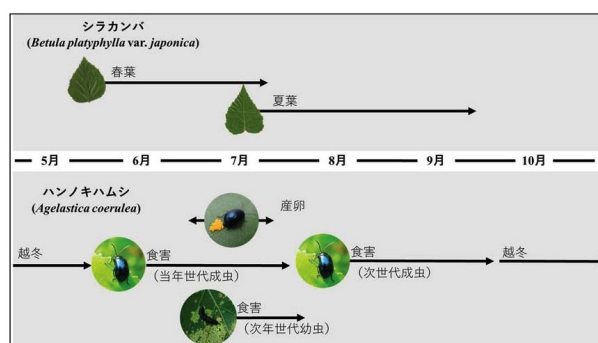


図 2. シラカンバとハンノキハムシの生物季節

実験施設：北方生物圏フィールド科学センター実験苗畑に設けられたO₃-FACE施設を利用した。オゾン付加区の例(写真1)。

植食者としての昆虫：

実験苗畑には、シラカンバとケヤマハンノキが植栽されていた。そこにハンノキハムシが生息し、実験材料としては十分な頭数を確保できた。宿主としたシラカンバの葉の生物季節とハンノキハムシの生活史を大まかにまとめると(図2)、越冬したハンノキハムシが餌として春葉を、その後、土中で蛹から成虫になった成虫は、主に夏葉を食していた(増井 2023)。

結果

1) 植物由来揮発性有機化合物 (BVOCs) の放出に対する高O₃ の影響

草本・木本植物は、葉からの揮発性有機化合物 (BVOCs ; Biogenic Volatile Organic Compounds) を大気中に放出しており、イソプレン (C₅H₈) 以外のテルペン類、特にモノテルペン

(MT;C₁₀H₁₆) は、昆虫に対する長距離の香気シグナルとしての機能が多く認められている(増井・谷 2023)。野外のシラカンバを測定した本研究の結果から、シラカンバは MT を主に放出する樹種であることを確認した(Masui et al. 2022)。さらに、O₃-FACEにおける対照区(O₃濃度:約 30 ppb)及びO₃付加区(O₃濃度:60-70 ppb)に生育するシラカンバ個体のBVOCs 基礎放出速度(標準化温度30°CにおけるBVOCs の放出速度)を比較した。この結果、MTを含む、いずれの放出成分に関しても基礎放出速度や放出組成に処理区間差は認められなかった。したがって、BVOCsの放出自体が O₃ 曝露によってハンノキハムシの行動を改変している可能性は除外された。

2) 葉内の長鎖脂肪酸(LCFAs)に対する高O₃の影響

長鎖脂肪酸(LCFAs ; Long-Chain Fatty Acids)は葉の周辺など近接距離の香気シグナルとして、ハンノキハムシの行動選択に影響し得る要因であることから、シラカンバの葉に含まれるLCFAsの季節的变化と O₃ 曝露影響を調査した(Masui et al. 2023a,b)。特に、LCFAs 由来の過酸化物の存在量をベースとしたO₃ 曝露影響の推定ではなく、野外における実際の LCFAs 含有量・組成に関する O₃ 曝露影響を本研究において初めて明らかにできた。

LCFAs の季節変化として、いずれの処理区でもシラカンバの展葉の初期～後期にかけて LCFA 量は経時的に減衰し、脂肪酸(炭素C)の不飽和度(表示は、C炭素数一下付;二重結合数)の高いリノレン酸C_{18:3} [CH₃(CH₂CH:CH)₃(CH₂)₇COOH] やリノール酸C_{18:2} [CH₃(CH₂)₃(CH₂CH:CH)₂(CH₂)₇COOH] の経時的減衰率が高かった。O₃曝露影響に関しては、春葉のLCFAsの経時的減衰率がO₃曝露で加速されるのに対し、夏葉では差は認められなかった。さらに、前年度もしくは夏葉における当年春葉(夏葉の発達は春葉の光合成活動に依存する(Koike 1995)への O₃ 曝露歴から、当年の O₃ 曝露影響をほとんど受けていない展葉初期であってもO₃ 曝露の間接的影響が発生することを明らかにした。例えば、春葉では展葉初期に飽和 LCFAs のパルミチン酸C_{16:0} [CH₃(CH₂)₁₄COOH] やステアリン酸C_{18:0} [CH₃(CH₂)₁₆COOH] が O₃曝露区で有意に増加した(Masui et al. 2023b)。

夏葉の展葉の初期では有意な差ではなかったが、LCFAs 量は対照区よりもO₃ 曝露区でやや低下した。したがって、LCFAsのO₃ 曝露による影響は、シラカンバの異型葉性(春葉、夏葉)によって異なることを明らかにした。しかし、LCFAsについては、春葉と夏葉との間において一貫性のある傾向は認められなかったことから、LCFAs はハンノキハムシの行動変化における主要因ではないと結論付けた(Masui et al. 2023b)。

3) BVOCsの大気中の減衰反応と昆虫に対する誘引性

オゾンがBVOCsの生物学的機能を改変する可能性は、1)のBVOCsの放出自体への影響以外に、放出後の大気中O₃反応によるBVOCsの減衰が挙げられる。本研究では、香気シグナルに対する選好性を調査するY字管試験を行ったところ(図2; Masui et al. 2021)、O₃ 単体(≤120 ppb)がハムシの行動を制限する要因ではなく、シラカンバの BVOCs はハンノキハムシに対して誘引性を示すことが認められた。

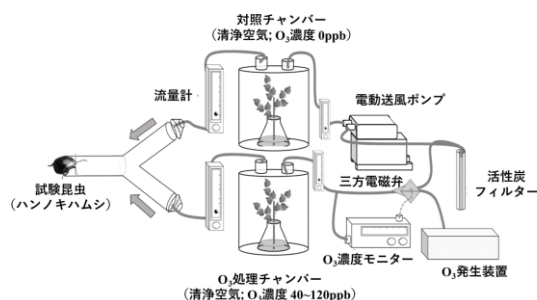


図 2. Y 字管試験の模式図

(Masui et al. 2021 から作成)

さらに、シラカンバの BVOCs は、特に 80 ppb (野外O₃ 曝露区の設定濃度) の O₃ 濃度条件下でハシロキハムシに対する誘引性が低下することを明らかにした (Masui et al. 2021)。シラカンバ春葉及び夏葉のBVOCs放出成分の解析から、O₃に対するBVOCs各成分の反応速度係数に基づき、ハシロキハムシを誘引し、かつ高濃度 O₃ 環境下において減衰する可能性の高い放出成分の候補 (e.g., *β*-ocimene, *β*-

linalool, 2-carene, limonene) を選んだ。

4) 樹種間の BVOCs 放出組成比較による誘引組成の探索

食害対象樹種 (シラカンバ、ハシロキ類 *Alnus* sp.) と非食害対象樹種 (ヤマグル *Morus australis*、ナナカマド *Sorbus commixta*) の Y 字管試験 (図2) からハシロキハムシは非食害対象樹の BVOCs には誘引されず、食害対象樹種の BVOCs のみに誘引されることが認められた (Masui et al. 2022; Masui et al. 2023a)。したがって、ハシロキハムシはBVOCs を単に「植物である」というシグナルではなく、食害対象の樹種のシグナルとして識別していることが明らかとなった。

さらに、食害対象樹種と非食害対象樹種の BVOCs 組成は顕著に異なり、上記の誘引性の結果を裏付けた。但し、食害対象樹種の中でもハシロキ類2種 (ハシロキ *Alnus japonica*、ヤマハシロキ *Alnus hirsuta* var. *sibirica*) は葉の形態が大きく異なるにも関わらず BVOCs 組成に類似性が認められた一方で、シラカンバとハシロキ類は、BVOCs 組成が明らかに異なった (Masui et al. 2022)。各樹種の BVOCs 放出組成の結果から、ハシロキ類も高濃度の O₃ 曝露によってハシロキハムシに対する誘引性は低下することが示唆された。

以上の結果より、野外の高濃度 O₃ 環境におけるハシロキハムシの行動変化の要因は、1) BVOCsの放出や、2) LCFAsに対する O₃曝露影響ではなく、3) 「O₃ に対する反応性の高い BVOCsの大気中 O₃ 反応により放出後の BVOCs の誘引性が低下することでハシロキハムシの植物探索が阻害されている」と結論付けられた。また、4)食害対象樹種内における BVOCs 組成が異なることは「高濃度O₃環境下における BVOCs誘引性の低下に樹種間差が生じる」ことを意味する。高濃度 O₃環境における特定の樹木の誘引性が低下したために、植食性昆虫の食害は、誘引性が比較的維持されている同一生態系内の他の食害対象樹種に集中する可能性を提示した。

謝辞

本研究費の一部は、栗林財団 (代表・増井昇) の支援、「オゾン増加環境での落葉樹の植物起源揮発性有機化合物と食葉性昆虫の動態解明」 (科研費・挑戦的萌芽: 16K14932;代表・小池孝良) による。また、実験の初期から数々の支援を得た、南京信息工程大学のE.アガト

クレオス教授、静岡県立大学の谷晃教授、北大・平野高司教授らに、特に第1,2著者は、感謝する。

引用文献

- 秋津裕志. 2023. シラカンバとダケカンバの高価値用途の紹介ー 家具, 楽器, バットー, 道総研林産試, <https://www.hro.or.jp/upload/43754/2312-1.pdf>.
- Abu ElEla A. S, Agathokleous E, Ghazawy NA, Amin TR, ElSayed WM, Koike T. 2019. Enzyme activity modification in adult beetles (*Agelastica coerulea*) inhabiting birch trees in an ozone-enriched atmosphere. Environmental Science and Pollution Research, 25: 32675-32683.
- 環境省 URL: 30by30 ロードマップ <https://www.env.go.jp/content/900518835.pdf> (2024 年 6 月 1 日訪問)
- Koike T. Sakagami Y. 1985. Comparison of the photosynthetic responses to temperature and light of *Betula maximowicziana* and *Betula platyphylla* var. *japonica*. Canadian Journal of Forest Research. 15 : 631-635.
- Koike T. 1995. Vegetation Science in Forestry: Global Perspective based on Forest Ecosystems of East & Southeast Asia. E.O. Box et al. eds., "Physiological ecology of the growth characteristics of Japanese mountain birch in northern Japan: a comparison with Japanese mountain white birch", Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 409-422.
- 小池孝良・増井昇. 2021. 樹林地の健全性の維持ー無機環境の変化の視点から虫害発生を化学するー, ツリー・ドクター, 28:37-42.
- 小池孝良・増井昇・渡辺誠. 2023. 変動環境と被食防衛、収録：木本植物の被食防衛ー変動環境下でゆらぐ植食者との関係、共立出版、東京、1-11.
- 増井昇. 2023. 高濃度オゾン環境下におけるシラカンバの虫害と植物由来揮発性有機化合物の関係性に関する研究. 北海道大学・大学院農学院・博士（論博第 7188 号）、<https://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/handle/2115/91196>.
- Masui N, Mochizuki T, Tani A, Matsuura H, Agathokleous E, Watanabe T, Koike T. 2021. 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; special issue "Impacts of O₃(58) <https://www.mdpi.com/1999-4907-58>.
- Masui N, Agathokleous E, Tani A, Matsuura H, Koike T. 2022. Plant-insect communication in urban forests: Similarities of plant volatile compositions among tree species (host vs. non-host trees) for alder leaf beetle, *Agelastica coerulea*. Environmental Research 2022, Mar;204(Pt A):111996. doi: 10.1016/j.envres.2021.111996.
- Masui N, Shiojiri K, Tani A, Agathokleous E, Koike T. 2023a. Elevated O₃ threatens biological communications mediated by plant volatiles: A review focusing on the urban environment. Critical Reviews in Environmental Science and Technology (CREST) , 53: 182-200.
- 増井昇・谷晃. 2023. 香気シグナル攪乱物質としてのオゾンー植物由来香気成分がつなが植物ー昆虫コミュニケーションへの影響. 収録：木本植物の被食防衛、共立出版、東京、157ー162.
- Masui N, Inoue S, Agathokleous E, Matsuura H, Koike T. 2023b. Elevated ozone alters long-

chain fatty acids in leaves of Japanese white birch saplings. Environmental Science and Pollution Research, 30:79161-79170.

Moser-Reischl A, Rötzer T, Biber P, Ulbricht M, Uhl E, Qu LY, Koike T, Pretzsch P. 2019. Growth of *Abies sachalinensis* along an urban gradient affected by environmental pollution in Sapporo, Japan. Forests 10 707; doi:10.3390/f10080707.

Sakikawa T, Shi C, Nakamura M, Watanabe M, Oikawa M, Satoh F, Koike T. 2016. Leaf phenology and insect grazing of Japanese white birch saplings grown under free-air ozone exposure. 72:80-84. <https://doi.org/10.2480/agrmet.D-14-00031>.

森林総研北支. 2022. 循環的なカンバ林業をめざして.交付金プロジェクト、

<https://www.ffpri.affrc.go.jp/hkd/documents/20220331jyunkantekinakanba.pdf>.

吉門 洋 2019. 都市圏周辺のオゾン濃度変化と NO タイトレーション（首都圏を中心に）. 大気環境学会誌. 54 : 185-193.