

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03036

研究課題名(和文)紅葉は樹冠内部の葉を守り、樹冠全体での炭素獲得と窒素回収に貢献する

研究課題名(英文)Outer-canopy autumn leaves protect inner-canopy leaves from strong light, contributing to carbon gain and nitrogen remobilization

研究代表者

北尾 光俊 (Kitao, Mitsutoshi)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：60353661

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：ハウチワカエデ成木樹冠内の異なる光環境に生育する葉を対象として、光合成活性、糖・デンプン含量、窒素含量および色素組成の季節変化を測定した。アントシアニンの生理生態学的機能として、秋季のデンプン合成停止状態において、光合成産物の消費先となり糖濃度の上昇を抑えるとともに、電子伝達で生じたエネルギーをアントシアニン合成過程で消費することで光阻害を回避することが示唆された。アントシアニンの集積により樹冠表層葉の糖誘導による老化が抑制されるとともに、光阻害を防ぐことで早期落葉が抑えられる。その結果、樹冠内部の葉を庇陰状態に保つことで、樹冠全体としての効率的な窒素回収に貢献していると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

紅葉現象の原因であるアントシアニンの機能については、1)光阻害の回避のための日陰効果(光防御仮説)、と2)昆虫忌避のためのシグナル(共進化仮説)、の2つの仮説を中心に研究が進められてきた。本研究によって、新たなアントシアニンの機能として、糖濃度の上昇を抑えることによる老化抑制および電子伝達によって生じたエネルギーの消費による光阻害の回避が示唆された。また、樹冠表層葉の早期落葉を想定したポット試験により、樹冠内部の葉の紅葉期の光阻害は窒素回収を阻害することが示された。アントシアニンにより樹冠表層の葉が守られ、樹冠表層の葉の遮光効果により樹冠内部の葉が守られるという「全樹冠仮説」を新たに提唱する。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that outer-canopy leaves protect themselves against photooxidative stress via anthocyanins while simultaneously shading inner canopy leaves and protecting them from strong light (holocanopy hypothesis). Based on seasonal changes in photosynthetic traits, leaf N, carbohydrates, and pigments in leaves grown under different light conditions within the canopy of an adult tree of fullmoon maple (*Acer japonicum*), anthocyanins accumulated in sun-exposed leaves might have a regulative role as a sugar buffer, retarding leaf senescence, and an indirect photoprotective role as an alternative sink for electron consumption, preventing photoinhibition under the seasonally-programmed starch depletion. Furthermore, based on an experiment transferring shade-grown seedlings to full sun, the photoprotective role of anthocyanins in outer-canopy leaves of fullmoon maple might also contribute to allow a safe N resorption in inner-canopy leaves by prolonged shading.

研究分野：樹木生理

キーワード：光阻害 窒素回収 糖集積 アントシアニン デンプン

## 1. 研究開始当初の背景

落葉広葉樹の紅葉現象は、赤い色素であるアントシアニンが葉内に集積することにより生じる。秋の低温により光合成活性が低下した際に、葉の内部に届く光の量を抑え、光合成で使い切れない光エネルギーの増加による光阻害を防ぐ「日傘効果」を与えると解釈されている。紅葉現象により光阻害が抑えられることで、秋季のより長い期間にわたり光合成活性を維持するとともに、窒素養分の効率的な回収に貢献すると考えられている。アントシアニンの合成には葉内に高濃度の糖が集積する必要があり、秋季の長夜(短日)と気温の低下をシグナルとして葉柄での離層形成が進み、師管まで到達することで光合成産物の転流が抑えられ、葉に糖が集積することで紅葉現象が誘発されると考えられてきた。一方で、紅葉による日傘効果で光合成活性を維持できたとしても、獲得した光合成産物の転流が阻害されているため樹木の成長には寄与できないという矛盾が存在する。紅葉現象の生理生態学的意味は未だ解明されていない。

## 2. 研究の目的

紅葉は樹冠表層の日当たりのよい葉で顕著であり、樹冠内部の日陰の葉では赤色が薄くなるという野外観測の結果から、本研究では、新たに樹冠レベルの反応に着目し、樹冠表層部の紅葉現象は樹冠表層の葉だけではなく、樹冠内の葉を光阻害から守り、樹冠全体として効率的な窒素回収に寄与するという仮説を立てた。そこで、樹冠表層の明るい環境で生育する葉および樹冠内部の暗い環境で生育する葉を対象として、1) 葉柄での離層の形成、2) 光合成と光阻害、3) 光合成産物の挙動と窒素の回収、4) 光合成色素系分解に関する生理反応について、特にそれぞれの現象が生じる時系列に着目して秋季の季節変化を調べることで、紅葉の持つ生理生態学的機能を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) ハウチワカエデは、紅葉する樹種として代表的な樹種であり、一斉開葉型の成長特性を持ち、春に樹冠内すべての葉が一斉に開葉する。樹冠内の葉の成熟度合いが揃うため、樹冠内の光環境の違いが生理反応に与える影響を抽出することが可能である。本研究では、森林総合研究所北海道支所の樹木園に生育するハウチワカエデ成木の樹冠内の異なる光環境に生育する葉を対象として、秋季の離層形成、光合成活性、光阻害、糖・デンプン量、窒素量、光合成関連色素量の季節変化を測定した。光阻害の指標として、一晩暗順化した葉を対象にクロロフィル蛍光反応測定で得られる光化学系 II の最大光化学効率 ( $F_v/F_m$ ) を用いた。

(2) 庇陰条件下で生育したハウチワカエデの苗木を紅葉期に全天環境に移すことで、樹冠表層葉が早期に落葉して直射日光が樹冠内部の葉に当たる条件を実験的に作り出した。樹冠内部の葉を想定して庇陰下で生育させたハウチワカエデ苗木の光阻害と窒素回収との関係について時系列的解析を行った。

## 4. 研究成果

(1) 顕微鏡を用いて離層形成の季節変化を観察した結果、葉柄の周皮細胞の崩壊を確認したが、離層形成による維管束の分断は確認することができなかった。これまでは維管束の分断による糖の集積がアントシアニンの合成誘導による紅葉の原因と考えられてきたが、葉での窒素回収

が糖の集積後も十分に行われていたこととあわせて、糖集積には離層の形成が関与しないことが示唆された。

(2) 森林総合研究所北海道支所樹木園に生育するハウチワカエデ成木を対象として、樹冠表層および樹冠内部の葉の光合成速度および光障害、糖・デンプン量、窒素量、光合成関連色素量の季節変化を測定した。測定は南向き樹冠表層の葉 (HL: high light), 北向き樹冠表層の葉 (IL: intermediate light) と北向き樹冠内部の葉 (LL: low light) を対象として行った。生育光強度は  $HL > IL > LL$  であった。夏季には、糖およびデンプン量は全般的に樹冠表層葉 (HL, IL) が樹冠内部葉 (LL) よりも多かった。その後、紅葉期に向けてすべての葉で糖濃度の上昇とデンプン含量の低下が見られた。糖とデンプン量を合計した非構造的炭水化物量 (non-structural carbohydrate) に対する糖の割合には光環境による違いは見られず、すべての葉で10月初めから落葉にかけて増加する傾向を示した。顕微鏡観察により、離層形成による維管束の分断が認められなかったこととあわせて、アントシアニン合成に必要な糖の集積は、葉での糖・デンプン代謝の変化が原因であることが示唆された。また、乾重当たりの光合成速度と窒素量についても光環境による違いは小さく、葉の老化にともない同じタイミングで低下していく傾向が見られた。光障害の指標となる  $F_v/F_m$  の季節変化も同様に光環境による違いは見られず、光合成速度や窒素含量の低下より少し遅れて低下することが明らかになった。デンプンの消失後に樹冠表層葉 (HL, IL) でアントシアニンの集積が顕著に見られること (図1A), さらに、アントシアニンの集積に対して糖濃度の上昇が頭打ちになることから (図1B), 秋季のデンプン合成が停止している状態において、アントシアニンは光合成産物の消費先となり糖濃度の上昇を抑えるとともに、電子伝達で生じたエネルギーをアントシアニンの合成過程で消費することで光障害を回避する働きを持つ可能性が示唆された。

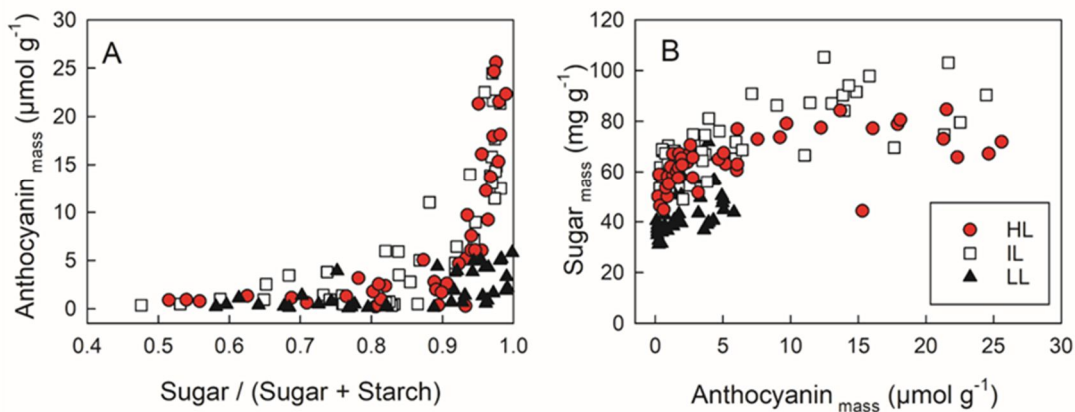


図1 .アントシアニン集積と糖:(糖+デンプン)比との関係 (A), および糖濃度とアントシアニン集積との関係 (B). 赤丸:ハウチワカエデ成木の南向き樹冠表層で生育した葉 (HL), 白四角:北向き樹冠表で生育した葉 (IL), 黒三角:北向き樹冠内部で生育した葉 (LL).

(3) 庇陰条件で生育したハウチワカエデのポット苗の葉を樹冠内部の葉に相当するものと考え、全天条件へ移すことで樹冠表層葉の早期落葉を想定して、光障害が紅葉期の窒素回収へ与える影響を調べた。庇陰条件 (相対照度約 13%) の下で落葉まで生育した個体 (L0) を対照として、秋季の10月5日 (LH1), 10月12日 (LH2), 10月18日 (LH3) に全天条件へ移動した個体について、光障害と窒素濃度の季節変化を調べて比較を行った。夏季の葉内窒素濃度がおよそ 30 mg

$\text{g}^{-1}$ であったのに対して、落葉時の窒素濃度は L0 : 11.1 , LH1 : 12.0 , LH2 : 14.6 , LH3 : 10.1  $\text{mg g}^{-1}$  となり、10月12日に全天環境に移した LH2 で落葉時の窒素濃度が顕著に高く、窒素回収が阻害されていることが示唆された(図2A)。一方で、窒素回収途中の10月19日(回収可能な窒素のおよそ半量を回収済み)の時点で  $F_v/F_m$  は L0 : 0.72 , LH1 : 0.45 , LH2 : 0.25 , LH3 : 0.56 となり、窒素回収が阻害された LH2 で顕著な光阻害が生じていることが示唆された(図2B)。光阻害の程度が大きいほど可溶性糖濃度が低くなり、タンパク質のカルボニル化を指標とする酸化ストレスを強く受けていたことから、光阻害に起因する窒素回収に必要なエネルギーの減少と細胞膜などの酸化による窒素移送の機能不全が窒素回収効率の低下の原因であると考えられた。紅葉現象は樹冠表層部の葉を光阻害から守り、早期落葉を防ぐだけでなく、樹冠内部の葉を庇陰することで樹冠全体としての効率的な窒素回収に貢献していることが明らかとなった。

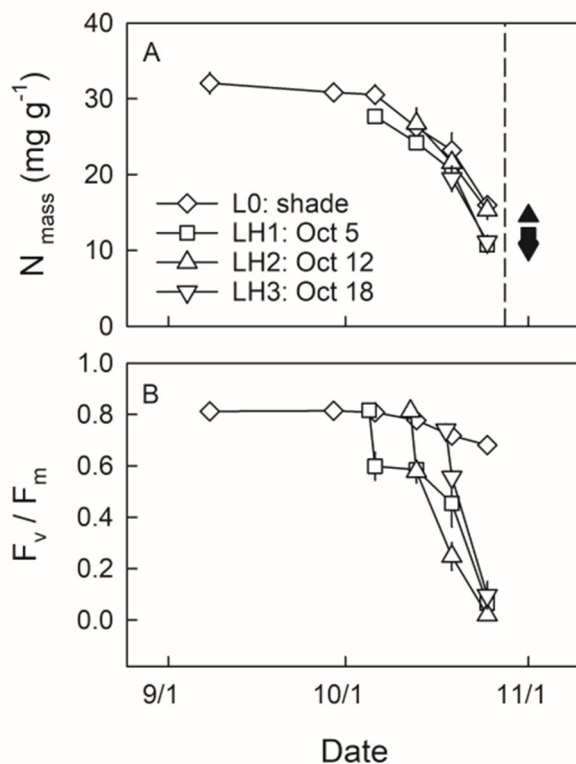


図2 .ハウチワカエデ苗木の葉内窒素含量(A)と  $F_v/F_m$ (B)の季節変化 .L0: 庇陰条件(◇), LH1: 10月5日に庇陰から全天条件へ移動(□), LH2: 10月12日に庇陰から全天条件へ移動(△), LH3: 10月18日に庇陰から全天条件へ移動(▽). 白抜きシンボルは着葉を表しており ( $n = 3 - 6$ ), 黒シンボルは落葉を表す ( $n = 9 - 12$ ). 値は平均値  $\pm$  標準誤差 .

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kitao Mitsutoshi, Yasuda Yukio, Kodani Eiji, Harayama Hisanori, Awaya Yoshio, Komatsu Masabumi, Yazaki Kenichi, Tobita Hiroyuki, Agathokleous Evgenios	4. 巻 254
2. 論文標題 Integration of electron flow partitioning improves estimation of photosynthetic rate under various environmental conditions based on chlorophyll fluorescence	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Remote Sensing of Environment	6. 最初と最後の頁 112273 ~ 112273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.rse.2020.112273	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kitao Mitsutoshi, Agathokleous Evgenios, Harayama Hisanori, Yazaki Kenichi, Tobita Hiroyuki	4. 巻 147
2. 論文標題 Constant ratio of Cc to Ci under various CO2 concentrations and light intensities, and during progressive drought, in seedlings of Japanese white birch	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Photosynthesis Research	6. 最初と最後の頁 27 ~ 37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11120-020-00788-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kitao Mitsutoshi, Yazaki Kenichi, Tobita Hiroyuki, Agathokleous Evgenios, Kishimoto Junko, Takabayashi Atsushi, Tanaka Ryouichi	4. 巻 13
2. 論文標題 Exposure to strong irradiance exacerbates photoinhibition and suppresses N resorption during leaf senescence in shade-grown seedlings of fullmoon maple ( <i>Acer japonicum</i> )	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1006413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2022.1006413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北尾光俊、矢崎健一、飛田博順、高林厚史、田中亮一
2. 発表標題 紅葉は樹冠内部の葉を守り、樹冠全体での炭素獲得と窒素回収に貢献する
3. 学会等名 日本森林学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢崎健一、張春花(森林総研PD)、安部久、北尾光俊
2. 発表標題 ハウチワカエデの紅葉に伴う離層の形成過程
3. 学会等名 日本森林学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北尾光俊、矢崎健一、飛田博順、岸本純子、高林厚史、田中亮一
2. 発表標題 ハウチワカエデ紅葉期のアントシアニンの挙動と役割
3. 学会等名 日本森林学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	飛田 博順  (Tobita Hiroyuki)  (10353781)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等   (82105)	
研究分担者	田中 亮一  (Tanaka Ryouichi)  (20311516)	北海道大学・低温科学研究所・教授   (10101)	
研究分担者	矢崎 健一  (Yazaki Kenichi)  (30353890)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等   (82105)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------