

平成30年6月18日現在

機関番号：13801

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14753

研究課題名(和文)強度間伐によるヒノキの衰退・枯死メカニズム：風を主要因とする複合環境変化への応答

研究課題名(英文) Mechanisms of tree decline and death after intensive thinning in *Chamaecyparis obtusa*: Responses to environmental changes which include changes of wind environment.

研究代表者

榎本 正明 (naramoto, masaaki)

静岡大学・農学部・准教授

研究者番号：10507635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：送風処理と乾燥処理に対するヒノキ苗木での生理・成長応答について把握すると同時に、次世代シーケンサーを用いて関連する候補遺伝子を探索した。送風処理によりキャビテーション発生は増加したが、最大光合成速度や気孔コンダクタンスに変化は見られなかった。成長に関しては、有意な差は確認されなかったが、送風処理により側方への成長が促進される傾向が得られた。無処理区に対し発現量が2倍増加した転写産物は、送風・乾燥区で2572個、湿潤・送風区で1185個となった。また、ヒノキ成木を対象とした実験では、送風環境下においてキャビテーション発生が増加し、樹液流の増加だけでなく、風による樹体振動の影響が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Physiological and growth responses under wind and drought treatments were measured for saplings of *Chamaecyparis obtusa*. And transcriptome which may relate to some stress after these treatments were collected by using RNA-sequencing. Although the frequency of cavitation increased, photosynthetic rate and stomatal conductance didn't change under wind treatment. Saplings of wind treatment had prevailing laterally extension growth, though there were no significant differences. There were differences in the amount of gene expression level between control and treated trees. For example, expression level of 2572 genes increased in saplings under wind and drought treatment. The frequency of cavitation increased under natural windy conditions, too for a mature tree of *Chamaecyparis obtusa*. The effects of not only the increases in sap flow but stem shaking on cavitation occurrence were suggested by SEM analysis.

研究分野：森林科学

キーワード：風環境 遺伝子発現 生理応答 キャビテーション

### 1. 研究開始当初の背景

スギ・ヒノキは日本の重要な造林樹種であるが、林業の担い手の減少や高齢化により間伐などの手入れが不十分な過密林分が増加している。このような過密林分を放置することは、森林が持つ木材生産機能や水土保持機能の低下を招くと懸念されている。そのため、近年、過密林分を対象に、間伐回数を減らすことで作業コストを削減させる強度間伐が実施されている。この強度間伐は、樹木の成長促進や生物多様性の増大などの効果も期待されている。しかしながら、過密林分を高い間伐率で伐採するため、残存木への様々なストレスの増大が懸念されている。特に、間伐によって新たに創出された林縁木への強光や強風ストレスの増加が考えられる。そのため、この創出された林縁木が間伐後に枯死することも報告されている。このような間伐後に残存木が枯死するのはどのようなメカニズムによるものなのか？また、これらのストレス応答や枯死過程においてどのような遺伝子が関連しているのだろうか？

これまでの一般的な研究では、植物が強光ストレスにさらされると、光化学系 II で活性酸素が発生し、光化学系 II が阻害され、光合成速度が低下することが知られている。一方、強風ストレスでは、強風が過蒸散を誘導し、これにより気孔閉鎖が生じ、光合成速度の低下を招くと想像できる。しかし、これらのストレス応答がどの程度残存木の衰退・枯死に影響を及ぼしているかは不明である。また、モデル植物を中心に、様々なストレス応答に関係する遺伝子は特定されているが、樹木、特にスギ・ヒノキを含む針葉樹ではほとんど単離されていない。

### 2. 研究の目的

1) 強度間伐に伴う環境変化によるストレス応答・枯死メカニズムを明らかにするため、生理・成長応答を明らかにするほか、次世代シーケンサーを用いた網羅的な塩基配列収集を行い、ストレスや枯死に関連する候補遺伝子を探索する。

2) 生理機能の変化と発見した候補遺伝子の発現機能との関連について検討する。

### 3. 研究の方法

ポットに植栽されたヒノキ苗木を用いて、風および乾燥ストレスに対する生理応答について測定を行うと同時に環境ストレスに対する遺伝子発現解析を行ったほか、苗木の成長調査を行った。また、成木を対象に、樹液流速とキャビテーション発生、環境要因の測定を行い、樹体振動による通水機能への影響について検討した。ポット苗を用いた実験は静岡大学農学部圃場にあるビニルハウス内で行われ、成木を対象とした実験は静岡大学農学部附属天竜フィールドの 35 年生ヒノキを対象に実施した。

### ①ポット苗による送風・乾燥処理の生理応答と遺伝子発現

苗木の生理応答試験では、十分な灌水を行い送風処理を行わない無処理区のほか、送風処理区（十分な灌水）、乾燥処理区、送風+乾燥処理区の 4 処理区として、水ポテンシャルとガス交換測定を行った。また、桜谷センサ（茎熱収支法）を用いて樹液流速を、AE センサを用いてキャビテーションの発生を観測した。乾燥処理区では、実験開始後に灌水を停止した。各ストレス処理区より採取した針葉より total RNA を抽出し、RNA-seq による網羅的な発現遺伝子の収集を行った。

### ②ポット苗による送風・乾燥処理の成長応答

苗木成長試験では、灌水間隔の異なる 2 処理に加え、送風機からの距離を変えることで風速を 4 段階に設定した (5 m/s、2 m/s、1 m/s、無風)。樹高、地際径、頂芽と側軸の伸長成長を測定した。

### ③成木における通水機能変化とその要因

高さ 1m に設置した樹液流センサを用いて、樹液流速を計測すると同時に、高さ 8m に AE センサを設置してキャビテーションの発生を観測した。このほか、環境要因として、気温、湿度、風速、光量子束密度を測定したほか、傾斜計を用いて樹体の振動（傾き）を計測した。

また、高さ 9m にはロープを固定し、地上からロープを引っ張ることで樹体の振動を操作した。

### 4. 研究成果

#### ①ポット苗による送風・乾燥処理の生理応答と遺伝子発現

乾燥処理区では、乾燥に伴う水ポテンシャルの低下により光合成速度、気孔コンダクタンスの低下が確認された。しかし、灌水処理、および乾燥処理のそれぞれにおいて、送風処理による水ポテンシャル、生理特性に違いは見られなかった (図 1)。

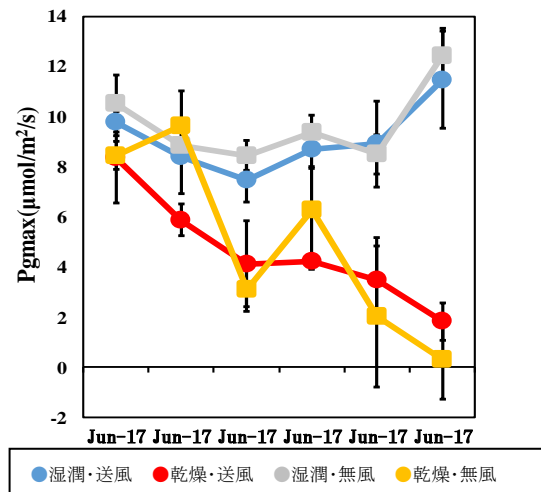


図 1 最大光合成速度の変化

苗木における樹液流速にも、送風処理による影響は確認できなかったが、送風処理によりキャビテーションの発生回数は増加した(図2)。

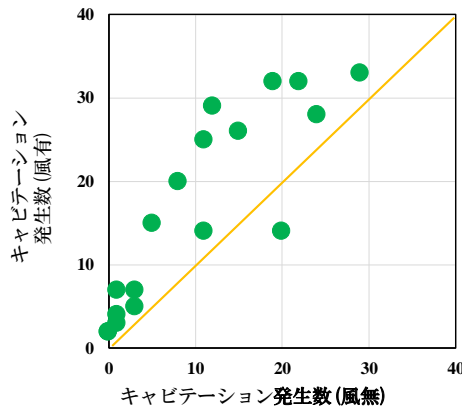


図2 キャビテーション発生数の比較

全ての処理区を合わせて約 75,000 の転写産物を得ることができた。また、これらの転写産物の発現解析をおこない、無処理区に対し発現量が2倍増加した転写産物は、送風・乾燥区で2572個、乾燥・無風区で885個、湿潤・送風区で1185個であった(処理区間の重複は除く)(図3)。

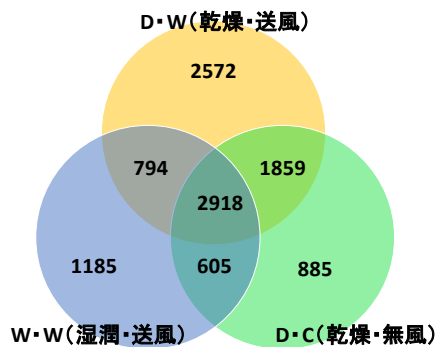


図3 無処理に対して発現量が2倍以上増加した転写産物数

②ポット苗による送風・乾燥処理の成長応答  
 灌水間隔の違いによる樹高成長への影響は見られなかったが、地際での肥大成長は乾燥処理により有意に低下した。頂芽の伸長成長に対する側軸の合計伸長を見ると、乾燥処理により有意に低下し、送風処理では増加する傾向が見られた。乾燥処理での低下は、全体での成長低下によるものと考えられ、送風処理による増加は、縦方向よりも横方向へ成長が促進されたためと考えられる。

③成木における通水機能変化とその要因  
 操作実験により樹体を振動させた日をSWAY、風速  $2\text{ms}^{-1}$  以上の風を1日5回以上観測した日をWIND、無風の日をCALMとし、それぞれの樹液流速やキャビテーションの発生頻度を比較した。CALMにおいてはいずれの樹液流速でもキャビテーションの

発生は少なく、SWAY・WINDではCALMよりキャビテーションの発生が多く見られ、同じ樹液流速の時でもキャビテーション発生頻度は高くなった(図4)。

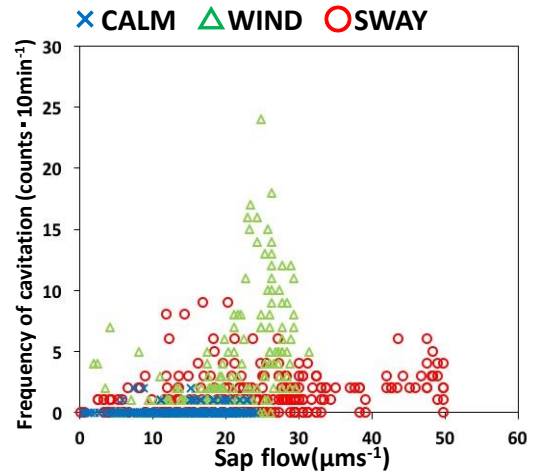


図4 樹液流速とキャビテーション発生頻度の関係

風が樹液流速やキャビテーション発生にどのようなメカニズムで影響を与えるかを考えるため、SEMによる解析を行った。樹液流速に対するの説明変数を蒸散環境変数、風速  $2\text{ms}^{-1}$  以上の風の有無、 $0.5^\circ$  以上の揺れの有無とし、風の有無が他の説明変数にも影響することを想定した解析を行った。また、キャビテーション発生頻度に対するの説明変数は樹液流速、 $0.5^\circ$  以上の揺れの有無とし、キャビテーション発生頻度が樹液流速に影響することを想定した解析を行った。

樹液流速に対する影響については、蒸散環境変数(飽差 $\times\sqrt{\text{光子束密度}}$ )が0.905と最も大きい貢献度を示したが、樹体の振動もわずかではあるが正に影響していた。また、キャビテーションの発生は樹液流速に対して負に影響していた。さらに、樹液流速だけでなく、樹体の振動もキャビテーションの発生を促進することが示された(図5)。

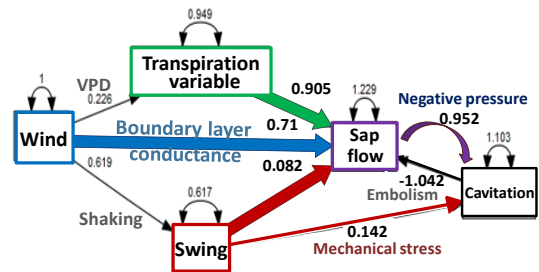


図5 風が樹液流及びキャビテーションの発生に及ぼす影響(SEM解析によるパス図)

5. 主な発表論文等  
 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕（計0件）

〔学会発表〕（計3件）

①杉田昂駿，野口夏美，水永博己，片畑伸一郎，榎本正明．2018．風に起因するヒノキの遺伝子発現と生理・成長への影響．第129回日本森林学会大会

②杉田昂駿，野口夏美，水永博己，片畑伸一郎，榎本正明．2017．風がヒノキ苗の生理・成長に及ぼす影響．第5回中部森林学会大会

③中島義明，江坂皓介，菌部礼，王権，榎本正明．2015．乾燥・送風ストレス処理によるヒノキ苗の生理特性と分光反射特性の関係．第5回中部森林学会大会

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

榎本 正明 (NARAMOTO, Masaaki)

静岡大学・農学部・准教授

研究者番号：10507635

### (2) 研究分担者

片畑 伸一郎 (KATAHATA, Shinichiro)

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：80648395

### (3) 連携研究者

### (4) 研究協力者