

スギクローン苗木樹幹における膨潤・収縮挙動の概日リズム

中井 毅尚¹⁾, 安部 久²⁾, 中尾 哲也¹⁾, 小林 江利子¹⁾

¹⁾ 島根大学総合理工学部 材料プロセス工学科

²⁾ 独立行政法人国際農林水産業研究センター林業部

Circadian rhythms of the swelling and shrinkage behaviors for the stems of *Cryptomeria japonica* cloned saplings

Takahisa NAKAI¹⁾, Hisashi ABE²⁾, Tetsuya NAKAO¹⁾, and Eriko KOBAYASHI¹⁾

¹⁾ Department of Natural Resource Process Engineering, Faculty of Science and Engineering, Shimane University

²⁾ Japan International Research Center for Agricultural Sciences

Abstract

The circadian rhythms of the swelling and shrinkage behaviors for the stems of *Cryptomeria japonica* cloned saplings grown in a phytotron were investigated in this study. The results obtained were summarized as follows.

- 1) The diurnal fluctuations of tangential strain on the surface of the inner bark were remained in constant permanent light and darkness.
- 2) The irrigation preceded further than physical stimulus and circadian rhythm.
- 3) The circadian rhythm of tangential strain on the surface of the inner bark in constant permanent light was 22 hours 58 minutes 20 seconds. In this case, the lighting and dark considerable period were 11 hours 33 minutes 20 seconds and 11 hours 25 minutes, respectively.
- 4) The circadian rhythm of tangential strain on the surface of the inner bark in constant permanent darkness was 29 hours 50 minutes. In this case, the lighting and dark considerable period were 14 hours 56 minutes 40 seconds and 14 hours 53 minutes 20 seconds, respectively.
- 5) The circadian rhythm of tangential strain on the surface of the inner bark in constant permanent light shortened from 24 hours and that in constant permanent darkness lengthened from 24 hours. The time difference between the circadian rhythm of tangential strain on the surface of the inner bark in constant permanent light and that in constant permanent darkness was 6 hours 51 minutes 40 seconds.
- 6) The amplitude of diurnal fluctuation of tangential strain on the surface of the inner bark in constant permanent light was the almost double of that in constant permanent darkness.
- 7) In constant permanent light, the circadian time, which divided a period for 24 hours equally, of tangential strain on the surface of the inner bark was 12 hours 04 minutes 21 seconds and 11 hours 55 minutes 39 seconds for the lighting and darkness considerable period, respectively. In constant permanent darkness, the circadian time of tangential strain on the surface of the inner bark was 12 hours 12 minutes and 11 hours 48 minutes for the lighting and darkness considerable period, respectively.
- 8) In natural light, the circadian time of tangential strain on the surface of the inner bark was 12 hours 11 minutes and 11 hours 49 minutes for the lighting and darkness considerable period, respectively, and the lighting considerable period was longer than the darkness considerable period. This tendency was same with the results in artificial light as mentioned above. Namely, it seemed to memorize the period of natural light which lived before under the artificial light.
- 10) For the circadian rhythm of tangential strain on the surface of the inner bark under the artificial light, the period that was similar to the natural light was that in constant permanent light quantitatively, and was that in constant permanent darkness qualitatively.

Key words: circadian rhythm, tangential strain, cloned sapling, constant permanent light, constant permanent darkness

1. 緒 言

生物をとりまわっている物理環境の中には、昼夜の交代、四季の変化、および月の満ち欠けによる潮の干満や大潮小潮の交代などのように、周期的に変動する要因がある。この物理環境の振動現象に対する適応力を高めるために、生物が獲得し、一般に自然環境の周期に同調して変動している生物現象は、日周、潮周、月周、および年周リズムと呼ばれており、一括して生物学的リズムと呼ばれている。特に一日を周期とするものを概日リズム(Circadian rhythms)といい、体温、ホルモンの分泌、細胞分裂、植物の光合成などが挙げられる。そもそも概日リズムとは、30億年以上前の地球上で生まれたシアノバクテリアから、脊椎動物の進化の頂点にいる我々人間や、無脊椎動物の進化の頂点にいる昆虫に至るまで備えているリズムであり、約24時間周期の生物の内生リズム(Endogenous rhythms)を概日リズムと呼ぶ。この生物学的リズムの最も大きな特徴のひとつは、外部から強制された結果出てくる振動ではないということである。すなわち、これらのリズムは生物が一定環境下に置かれても、あるいは全く位相の異なる、すなわち時差のあるような環境に急に移されても、その本来のリズムを保持することができる。これは、リズムの発信源が生物体内にあるので、実験的に外周の周期を取り除いても(恒常的条件のもとにおいても)生物は、その生物に遺伝的に備わった本来のリズムを保持し刻むことになる。これが、内生リズムとも呼ばれる由縁である。このような環境変化の時間的変化に対する適応については、十分な解析があまり行われていない比較的新しい分野である。これまでの研究によって、草本植物のリズムの周期はフリーランの状態では、厳密には24時間ではなく、大体19時間から28時間までの特有の周期を示すということがわかっている¹⁾。動物におけるリズムの周期はフリーランの状態では、多くの場合23~26時間で、24時間からそれほどずれないことが知られている²⁾。ここでフリーランとは、一定条件下で生物それぞれが固有の周期で振動するリズムのことである。このような生物学的リズムの研究は、ラット³⁾やショウジョウバエ⁴⁾などの動物や昆虫、コリウス⁵⁾などの草本植物において多く行なわれてきたが、木本植物、すなわち樹木(苗木)についてはほとんど行なわれていない。

そこで、本研究では、木本植物それ自身が有する生体時計のリズムについて明確にすることを目的とし、若齢のスギクローン苗木を通常運転から連続明運転・連続暗運転に切り替えて、接線方向ひずみの日変動を観察した。また今回の実験では、通常運転から、様々に日長を変化させた光環境下においても同様な観察実験を行なった。なお、針葉の水ポテンシャルも一部同時測定した。

2. 実 験

2.1 供試苗木

実験には2年生および3年生クローンスギ苗木を用いた。

これら苗木を、バーミキュライトを入れたポットに植え付け、人工気象室内において栄養水(N 50.0 ppm、P₂O₅ 25.0 ppm、K₂O 30.0 ppm、CaO 20.0 ppm、MgO 10.0 ppm、Fe₂O₃ 2.0 ppm、Cu 0.1 ppm、Mn 0.1 ppm、Zn 0.1 ppm、B 0.2 ppm、Mo 0.1 ppm、初期pH: 5.2)を与えながら育成した。実験風景は図. 1の通りである。また、実験開始直前の供試苗木の地上高、樹幹直径、および樹幹周囲長は平均で、122cm、17.9cm、および5.64cmであった。



図. 1. 供試苗木。

2.2 装置及び測定

実験は、環境制御可能な人工気象室(GC-2、(株)小糸工業製)内において行い、温度・湿度設定は、明運転時: 23 ± 1.0°C、75 ± 5.0% R.H.一定、暗運転時: 20 ± 1.0°C、75 ± 5.0% R.H.一定とした。室内の人工光源は、水銀ランプ(1kW)と日光ランプ(400W)とを組み合わせ合わせた混合光とした。なお、光源から0.8mの高さにおける光量は、曇天時並の約490.0 ± 5.0 μmol·s⁻¹·m⁻²/μA(光量計:L1-189、LI-COR社製)であった。また、日長条件は、以下の5条件とした。

- ◎ 通常運転:
14時間(明運転)/10時間(暗運転)
- ◎ 日長変更運転:
16時間(明運転)/8時間(暗運転)
20時間(明運転)/4時間(暗運転)
24時間(明運転)/0時間(暗運転)(連続明運転)
0時間(明運転)/24時間(暗運転)(連続暗運転)

2.2.1 接線方向ひずみ

蒸散に伴う接線方向の膨潤・収縮量の測定は、図.2に示すように、外樹皮をはいで滑らかにした内樹皮表面にひずみゲージ(ゲージ長:5mm、東京測器研究所(株)、1ゲージ3線法)を、シアノアクリレート接着剤(CN-E、東京測器(株))で貼付して行い、貼付したひずみゲージの上から乾燥を防ぐためにワセリンを塗布した。



図. 2. 内樹皮表面に貼り付けたひずみゲージ。

注釈: 下側のひずみゲージで接線方向のひずみを実測した。なお、参考までに上側のひずみゲージで繊維方向のひずみも実測した。

2. 2. 2 水ポテンシャル

針葉の水ポテンシャルの測定は、Scholanderら⁷⁾が導入した、プレッシャーチャンバー法を用いて行った。

測定理論は、切りたての葉、小枝、あるいは根などの試料の切り口を外に出してプレッシャーチャンバーに密封し、ポンペから窒素ガスを送って圧力をかける。枝から切断前に針葉内に負圧が生じていれば、切断と同時に水は針葉内に引き込まれるが、針葉の外側から圧力を加えることによって徐々に切り口に戻ってくる。切り口をルーペ等で観察し、水が切り口に達したときの圧力を圧力計から読み取る。この値に負の符号をつけたものが、切断時に針葉内に生じていた負圧で、木部圧ポテンシャルと呼ばれる。さらに、圧力を加えて切り口からえられる木部液の浸透ポテンシャルを、木部圧ポテンシャルの値に加えれば、針葉の水ポテンシャルがえられる。

実際には浸透ポテンシャルはほとんど0に近く無視できるため、木部圧ポテンシャルの値がそのまま水ポテンシャルに代用できる。

3. 結果および考察

3. 1 明・暗複合運転下における接線方向ひずみの日変動

図. 3 に接線方向ひずみの日変動を、針葉の水ポテンシャルの日変動と併せて例示した。横軸は経過時間、縦軸は接線方向ひずみ、および針葉の水ポテンシャル、バーは明・暗運転の切り替えを示しており、白いバーは明運転期間、黒いバーは暗運転期間である。図には日長を常に固定した通常運転における苗木の接線方向ひずみの日変動(黒線)と、通常

運転から日長を変更させた苗木の接線方向ひずみの日変動(赤線)を併せて例示した。

その結果、いずれの測定日も両苗木の日変動は、明運転から暗運転へと切り替えた後に、接線方向ひずみが漸増し、逆に、暗運転から明運転へ切り替えた後に、接線方向ひずみは漸減した。

次に、日長を変化させた Day 3 以降を詳しくみる(赤線)。Day 3 については光刺激や概日リズムより灌水が優先されたため、Day 4 をみると、通常運転時に暗運転が開始される時刻より少し前から接線方向ひずみは漸増し始め、実際に暗運転に切り替わるとさらに急激な漸増が認められた。この苗木の通常運転時(Day 1)における、明運転から暗運転への切り替え時をみると、暗運転への切り替えの少し前から接線方向ひずみは漸増し始め、実際に暗運転に切り替わるとさらに急激な漸増が認められた。すなわち、前述の Day 4 に現れた変動は、Day 1 の変動と類似しており、苗木自身が光刺激(日長)の変化に関らず、以前の日変動を記憶していたと推測できる。なお、この傾向は Day 4 と比較すると若干明確さを欠くものの Day 5 にも認められた。

また、従来の研究と同様⁸⁾、本研究においても、針葉の水ポテンシャルと接線方向ひずみの日変動は類似しており、水ポテンシャルの変化が引き金となって接線方向ひずみ変動したと考えられる。

3. 2 連続明運転下における接線方向ひずみの日変動

図. 4 に連続明運転下における接線方向ひずみの日変動を例示した。ここで例示した結果は、通常運転(明運転 14 時間/暗運転 10 時間)から連続明運転へと切り替えた苗木の接線方向ひずみの日変動である。なお、図中の白黒のバーは、参考までに示した通常運転下の明・暗複合運転期間である。

本来、通常運転下での明運転期間中は、人工光源の点灯により蒸散が開始され、接線方向ひずみは減少するが、連続明運転期間中においても同様に、暗運転に切り替えていないにも関わらず、接線方向ひずみの漸増が認められた。すなわち、消灯という光(物理)刺激がなく、光条件が連続明運転で一定の環境下にある苗木の接線方向ひずみにおいても、物理環境に影響されない日変動が刻まれていることが明らかとなった。ただし、連続明運転下における接線方向ひずみの振動は、連続明運転への切り替え直前の明・暗複合運転における明運転期間が長い程、本研究では早く減衰した。

3. 3 連続暗運転下における接線方向ひずみの日変動

図. 5 に連続暗運転下における接線方向ひずみの日変動を例示した。ここで例示した結果は、通常運転時(明運転 14 時間/暗運転 10 時間)の明運転期間の途中から連続暗運転へと切り替えた苗木の接線方向ひずみの日変動である。なお、図中の白黒のバーは、先と同様、参考までに示した通常運転下の明・暗複合運転期間である。

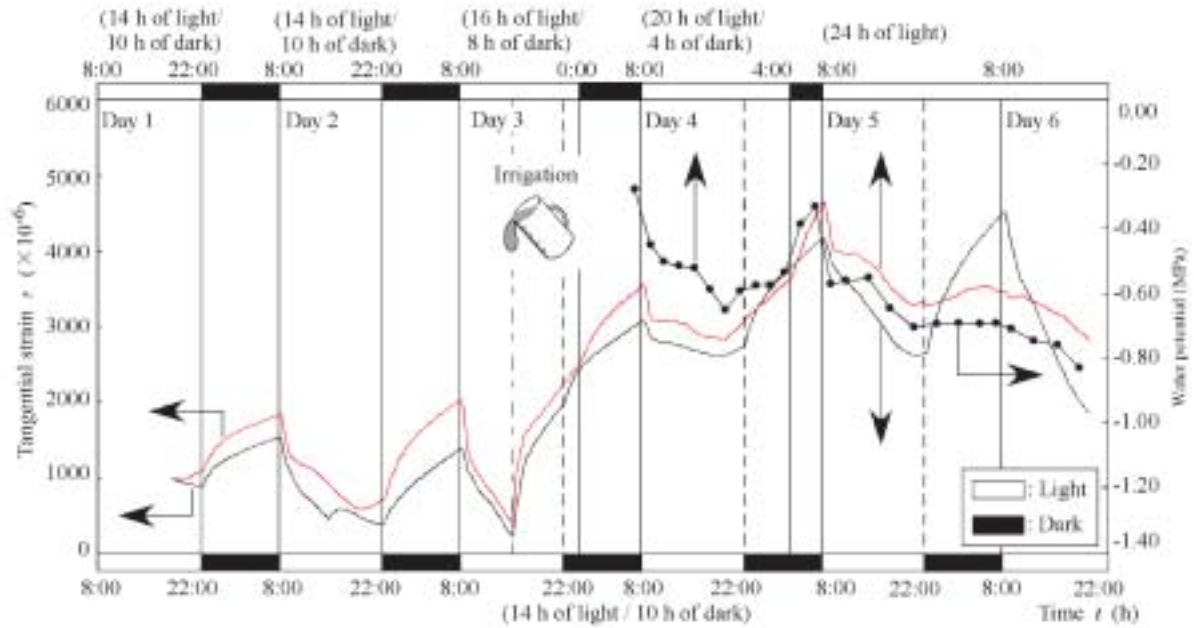


図. 3. 様々な光条件下における接線方向ひずみ(針葉の水ポテンシャル)の日変動(Day1~6)。

注釈: 白バー: 明運転, 黒バー: 暗運転, 黒線: 通常運転(14時間(明運転)/10時間(暗運転)), 赤線: 日長変更運転; 16時間(明運転)/8時間(暗運転)、20時間(明運転)/4時間(暗運転)、24時間(明運転)/0時間(暗運転)(連続明運転)、黒プロット: 赤線の条件下における針葉の水ポテンシャルの日変動。

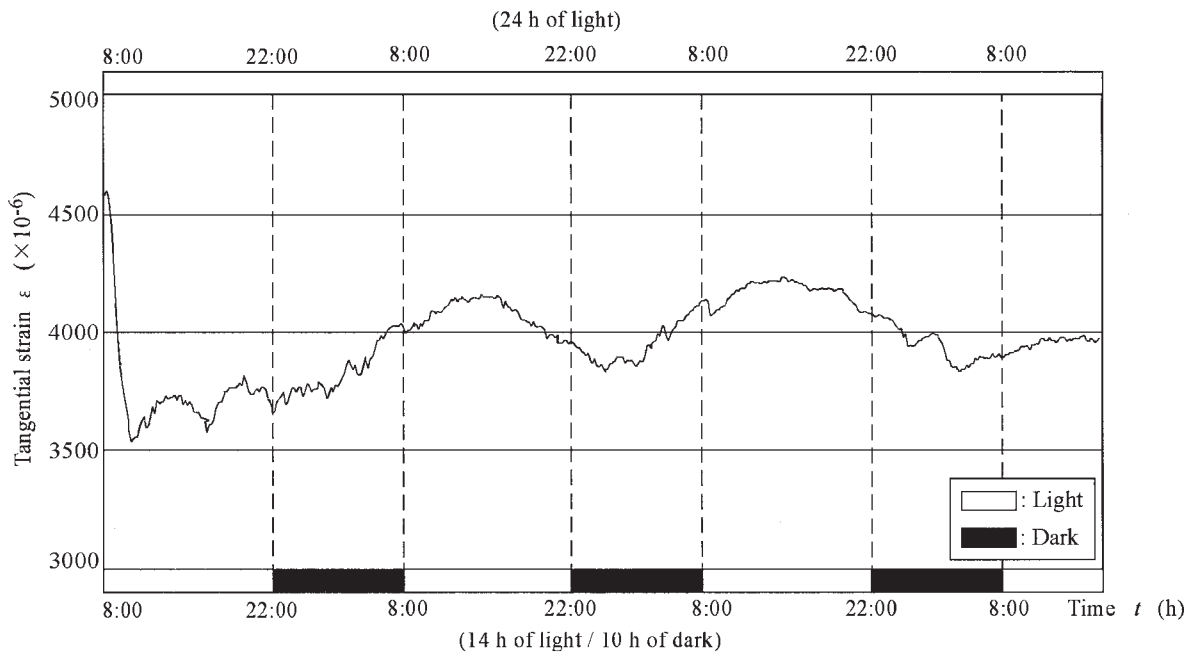


図. 4. 連続明運転下における接線方向のひずみの日変動。

注釈: 白バー, 黒バー: 図. 3 参照, 黒線: 通常運転(14時間(明運転)/10時間(暗運転))から連続明運転へと移行した場合の結果、下部の白黒バー: 通常運転下の日長条件。

その結果、連続暗運転開始後間もなく接線方向ひずみは漸増し始めた。その後、連続明運転時同様、点灯という光(物理)刺激がなく、光条件が連続暗運転で一定の環境下における苗木の接線方向ひずみにおいても、物理環境に影響されな

い日変動が刻まれることが明らかとなった。なお、認められた振動は、連続明運転時と比較すると、振幅は小さいが、減衰に要する時間は長かった。この点については後ほど詳しく検討する。

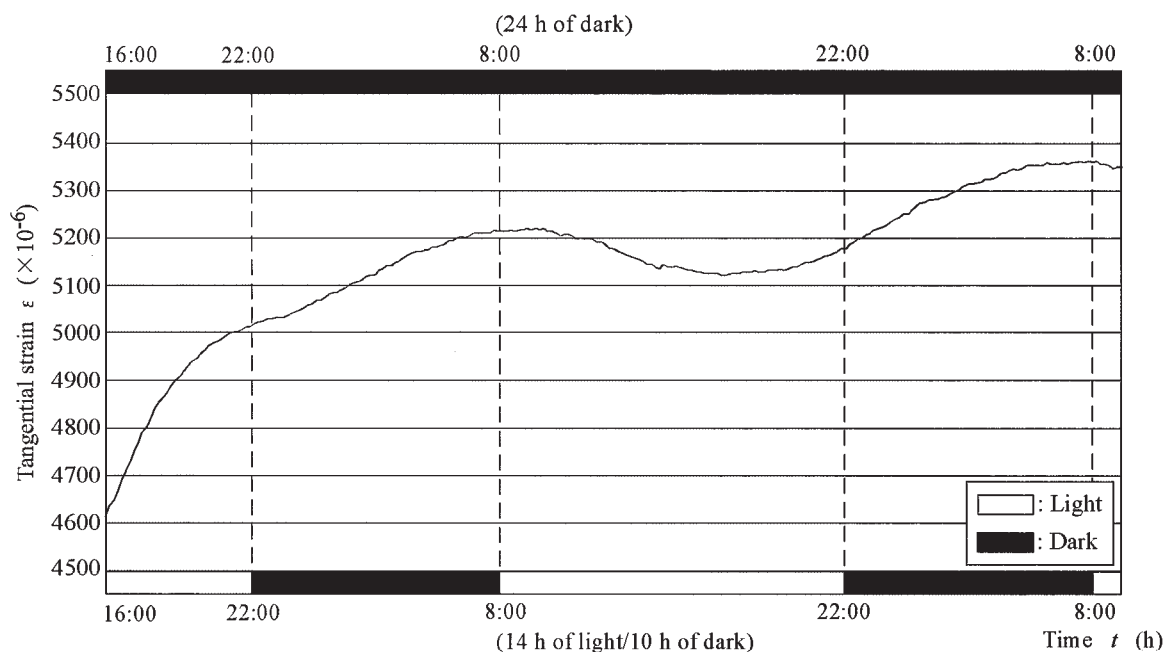


図. 5. 連続暗運転時における接線方向のひずみの日変動。

注釈: 白バー、黒バー: 図. 3 参照、黒線: 通常運転時(14 時間(明運転)/10 時間(暗運転))の明運転期間の途中から連続暗運転へと移行した場合の結果、下部の白黒バー: 通常運転下の日長条件。

3.4 接線方向ひずみの概日リズム

本研究で用いたスギクローン苗木では、前述した通り、光刺激を一定にした連続明運転下、および連続暗運転下いずれの場合においても、接線方向ひずみの振動現象が認められたことから、木本植物においては、光刺激(物理的な刺激)は概日リズムには影響しないと現段階では考えられる。

ここでは、さらに上述の振動現象を定量的に評価するために、連続明運転下、および連続暗運転下における接線方向ひずみの波形解析を行い、半周期まで、および1周期までの経過時間を求めた。その結果をまとめると表 1、および表 2 の通りである。

その結果、半周期までの経過時間は平均で、11 時間 33 分 20 秒(連続明運転時)、および 14 時間 53 分 20 秒(連続暗運転時)であるのに対して、1 周期までの経過時間は平均で、22 時間 58 分 20 秒(連続明運転時)、および 29 時間 50 分 00 秒(連続暗運転時)であった。これらの結果を元に、明(暗)運転相当期間を算出すると、11 時間 33 分 20 秒(11 時間 25 分 00 秒)(連続明運転時)、および 14 時間 56 分 40 秒(14 時間 53 分 20 秒)(連続暗運転時)であり、連続明・暗運転いずれの場合においても、明運転相当時間の方が、暗運転相当時間より長かった。また、一周期の時間が、連続暗運転時の方が連続明運転時よりも 6 時間 51 分 40 秒長い値を示した。一般に草本植物では連続明運転時と連続暗運転時における周期の長さの差は僅か 2~3 時間かもっと短く、連続暗運転時の方が長い、動物では、暗黒のときに活動的であると連続明運転時

での周期が長くなるといわれている⁹⁾。本実験では、連続明運転時と連続暗運転時の概日リズムの差は草本植物に比べてかなり長かったが、草本植物同様、概日リズムは連続暗運転時の方が長かった。

概日リズムが連続暗運転時の方が長くなる原因を探るため、連続明運転時と連続暗運転時における、接線方向ひずみの変動幅を比較した。その結果、連続明運転時の変動幅は平均で、連続暗運転時のほぼ 2 倍弱の大きな値を示したことから、連続明運転時と連続暗運転時とでは、振動現象に消費するエネルギー量に差がある可能性が高い。つまり、連続明運転時におけるエネルギー消費量が、連続暗運転時に比べて大きい、苗木が自発的にエネルギー消費量を抑え、本来暗運転であるべき周期に早めに切り替え、その結果、一周期の

表 1. 連続明運転時における波形解析結果。

苗木番号	半周期	1 周期
1	11:53:20	23:30:00
2	11:50:00	23:20:00
3	11:56:40	23:40:00
4	11:00:00	22:00:00
5	11:15:00	22:30:00
6	11:25:00	22:50:00
平均	11:33:20	22:58:20

表 2. 連続暗運転時における波形解析結果。

苗木番号	半周期	1 周期
1	15:55:00	31:50:00
2	15:55:00	31:50:00
3	16:15:00	32:30:00
4	14:10:00	28:20:00
5	13:20:00	26:40:00
6	13:45:00	27:30:00
平均	14:53:20	29:50:00

時間が、連続明運転時の方が短くなったと予想される。また、本研究における概日リズムの消失は、連続明運転時では平均で2日目より、連続暗運転時では平均で3日目より認められ、連続明運転時の方が短かった。草本植物のリズムの消失は連続暗運転時よりも連続明運転時で早く起こることが非常に多いことが知られている¹⁰⁾が、本実験においても同様な結果が得られた。これもエネルギー消費量の影響が大きいと考えられるが、これらの仮説は今のところ推論に過ぎず、今後の継続課題としたい。

ここで、波形解析によって求めた概日リズムより、CT24(1周期を24時間に等分割した時間)を求めた(表3)。その結果、連続明運転時では、明運転相当期間:12時間04分21秒、暗運転相当期間:11時間55分39秒であった。一方、連続暗運転時では、明運転相当期間:12時間12分00秒、暗運転相当期間:11時間48分00秒であった。本研究で用いた供試苗木は、約30年生のスギ生立木の枝から切り取られたものを、2年生は約1年半、3年生は約2年半の間、自然光の温室の中で生育し、その後、日長を明運転14時間/暗運転10時間に設定した人工気象室内において約半年間生育して実験に供している。人工気象室以外の外環境(自然光)の日長は、日の出

から日の入りまでを日照時間と定義し算出したところ(国立天文台天文情報センター)、2001年、2002年、および2003年の一日あたりの日照時間は、それぞれ12時間11分30秒、12時間11分30秒、および12時間14分18秒であった。これらのデータより、自然光の日照時間は平均で、およそ12時間11分(明運転相当時間)であり、これより暗運転相当時間は11時間49分と算出できる。すなわち、自然光の日長は明運転相当時間の方が長いことが分かる。また、前述した人工気象室内での連続明・暗運転時いずれの結果においても、明運転相当時間の方が長かった。

以上のことを総括すると、スギ苗木の概日リズムは、約半年間生育させた人工気象室内よりも、自然光による日長のリズムを記憶している可能性が高いと思われる。実際、明暗周期によって引き起こされた内発性概日リズムは、恒常的環境条件に移された後もしばらくの間持続し、対象によって異なるが、多くの場合それは2~3日間、ときには1週間~数週間であること¹⁰⁾からも、今回の実験結果は非常に興味深いと言える。

なお、今回の接線方向ひずみの概日リズムにおいて、自然光に近い周期を刻むのは、定量的には(ZT時間より)、連続明運転時であり、定性的には(CT時間より)、連続暗運転時であった。

4. 結 論

本研究では、樹木の内生リズムに関する研究の第一段階として、人工気象室内において、光量、温度、湿度を一定、および無機養分を含んだ供給水分を制御しながら、スギクローン苗木樹幹の膨潤・収縮挙動の概日リズムを調べた。

その結果、通常運転では、蒸散の開始・停止に対応して接線方向ひずみは漸減・漸増すること、および、通常運転から引き続き連続明運転・連続暗運転に切り替えても、接線方向ひずみが漸減・漸増する傾向、すなわち光(物理)環境に左右されない振動(概日リズム)が残っていることが分かった。

この場合、連続明運転では概日リズムが短くなり、連続暗運

表 3. スギクローン苗木の概日リズムと明(暗)運転相当期間。

		自然光	連続明運転	連続暗運転
ZT24	概日リズム	24時間00分00秒	22時間58分20秒	29時間50分00秒
	明運転相当時間	12時間11分00秒	11時間33分20秒	14時間56分40秒
	暗運転相当時間	11時間49分00秒	11時間25分00秒	14時間53分20秒
CT24	明運転相当時間	12時間11分00秒	12時間04分21秒	12時間12分00秒
	暗運転相当時間	11時間49分00秒	11時間55分39秒	11時間48分00秒

凡例: ZT: Zeitgeber time, CT: Circadian time.

注釈: ZT24: 実際の時間に等しい、CT24: 1周期を24時間に等分割した時間、ここでは、自然光の概日リズムは24時間00分00秒と定義した。

転では概日リズムが長くなり、草本植物同様の結果が得られた。また、概日リズムの消失は連続暗運転よりも連続明運転で早く現れ、この結果も草本植物と同様であった。

参 考 文 献

- 1) 新免輝男, 現代植物生理学④ 環境応答, 朝倉書店, 179 (1991).
- 2) Lowe, Ch. H., Hinds, D. S., Lardar, P. J., and Justice, E. J., *Science*, 156, 531-534 (1967).
- 3) Aschoff, J., *Naturwiss*, 42, 569-575 (1955b).
- 4) Bruce, V. G. and Pittendrigh, C. S., *Science*, 131, 728 (1960).
- 5) Ruth Halaban, *Plant Physiology*, 43, 1883-1887 (1968).
- 6) Tanaka, T., Uchida, E., Siaw, O.-A., Takeda, Y., and Tomatsu, O., *J. Jpn. For. Soc.*, 75(6): 554-557 (1993).
- 7) Scholander, P. F., Hammel, H. T., Bradstrsst, E. D., and Hemmingsen, E. A., *Science*, 148, 339-346 (1965).
- 8) 村本健, 中井毅尚, 安部久, 中尾哲也, 島根大学総合理工学部紀要(シリーズ A), 38, 85-91 (2004).
- 9) Achoff, J., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 25, 11-28 (1960).
- 10) E. ビュニング, 生理時計, 学会出版センター, 38-40 (1990).