

(千葉大学審査学位論文)

葉のフェノロジーと養分動態からみた  
常緑広葉樹稚樹の養分利用特性に関する研究

2015年 7月

千葉大学園芸学研究科  
環境園芸学専攻緑地環境学コース

水崎大二郎

## 目次

第1章 序章.....	1
1.1 研究の背景と目的.....	1
1.1.1 落葉について.....	3
1.1.2 クロロフィル・窒素含量の測定方法について.....	4
1.1.3 クロロフィル・窒素含量の季節変動、長期変動について.....	5
第2章 常緑広葉樹稚樹5種の開葉、落葉フェノロジーの4年間のモニタリング.....	10
2.1 はじめに.....	10
2.2 方法.....	13
2.2.1 測定地と対象木.....	13
2.2.2 モニタリング.....	14
2.2.3 面積当たりの乾燥重量(LMA)の測定.....	14
2.2.4 齢ごとの落葉率の算出.....	15
2.2.5 気象.....	15
2.2.6 有効積算温度による開葉日の推定について.....	15
2.2.7 開葉日に関する統計.....	16
2.2.8 落葉率と降水量の関係に関する統計.....	17
2.3 結果.....	18
2.3.1 開葉のパターン.....	18
2.3.2 開葉時期の種差と年ごとの違い.....	21
2.3.3 開葉時期の個体ごとの年変動の違い.....	24
2.3.4 開葉時期の種差とLMA.....	26
2.3.5 開葉時期と成長量の関係.....	27
2.3.6 有効積算温度、日照時間.....	29
2.3.7 落葉のパターン.....	33
2.3.8 落葉率と齢との関係.....	36
2.3.9 落葉率と降水量との関係.....	38
2.4 考察.....	41
2.4.1 開葉時期.....	41
2.4.2 開葉の年変動.....	44
2.4.3 落葉のパターン.....	45
2.4.4 落葉率と降水量.....	49
2.4.5 落葉率と齢.....	50
2.4.6 結論.....	51

第3章 葉のクロロフィル含量と窒素含量の推定モデルの構築.....	53
3.1 はじめに.....	53
3.2 研究の方法.....	57
3.2.1 対象種.....	57
3.2.2 採集.....	57
3.2.3 測定.....	58
3.2.4 統計分析.....	60
3.2.4.1 モデル選択.....	60
3.2.4.2 モデル.....	60
3.2.4.3 ベイズ推定.....	64
3.3 結果.....	66
3.3.1 面積当たりのクロロフィル量 ( $\text{Chl}_{\text{area}}$ ) のモデル.....	66
3.3.2 面積当たりの窒素含量 ( $\text{N}_{\text{area}}$ ) のモデル.....	69
3.3.3 クロロフィル a/b 比の季節変動、LMA の季節変動.....	75
3.4 考察.....	78
第4章 葉のクロロフィル含量と窒素含量の時系列変動.....	83
4.1 はじめに.....	83
4.2 研究の方法.....	86
4.2.1 種と調査地.....	86
4.2.2 測定.....	86
4.2.3 葉齢の決定.....	87
4.2.4 当年葉の成熟.....	88
4.2.5 クロロフィル含量と窒素含量の時系列変動のモデル.....	91
4.2.6 $\Delta\gamma$ と $365\beta$ .....	93
4.3 結果.....	94
4.3.1 葉齢1年以上の葉のクロロフィル含量、窒素含量の時系列変動.....	94
4.3.3 モデルのあてはめ.....	99
4.3.4 季節変動 ( $\gamma$ ).....	102
4.3.5 $\Delta\gamma$ の種間差、 $\Delta\gamma$ と葉齢との関係.....	105
4.3.6 $\Delta\gamma$ とクロロフィル・窒素含量の最大量との関係.....	107
4.3.7 $\beta$ の種間差、 $\beta$ と葉齢との関係.....	109
4.3.8 $\Delta\gamma$ と $\beta$ の関係.....	112
4.4 考察.....	115
4.4.1 線形のトレンドと季節変動の分離.....	115
4.4.2 季節変動と可能性のある原因.....	115
4.4.3 季節変動の量について.....	118

4.4.4	$\Delta\gamma$ と齡、クロロフィル・窒素含量の最大値との関係	120
4.4.5	$\Delta\gamma$ と $\beta$ の関係	124
5.1	新葉の成熟期の養分動態について	126
5.2	新葉の成熟期以降の養分動態について	130
5.3	落葉のパターンの違いの原因についての考察のまとめ	133
5.4	個体内の窒素の分配の理論について	135
5.5	まとめ：養分利用の特性について	139
	謝辞	156

# 第1章 序章

## 1.1 研究の背景と目的

植物の生育には土からの養分の吸収が欠かせない。しかし、土からの養分は限られている。特に窒素やリンは植物の成長の制限要因になっていることが知られている (Chapin 1980)。このような状況で、植物は養分を有効利用するように進化していると考えられ、植物は一度吸収した養分を有効利用する性質をもっている。土からの吸収や光合成で得た養分のみを新たな成長へ使うのではなく、すでに体内にある炭水化物や窒素、リン、カリウムなどの養分を新しい器官に転流させ、再利用するという方法で養分利用効率を上げている (Nambier and Fife 1991, Millard 1995)。養分の再利用方法には落葉前に葉を構成する物質を分解し養分として回収して新たな成長に使う方法と、根、茎、葉などの器官を枯死・脱落させないで、器官に貯蔵されている養分を回収し、新たな成長に使う方法がある。よって葉の開葉・落葉パターン、葉の物質量の季節変動、長期変動は植物がどのように養分を有効に利用するのかについての戦略、養分利用戦略と深く関係する。

葉の窒素含量の動態を知ることは、植物の養分利用戦略にもとづいた物質生産戦略を理解することにつながる。なぜならば、葉の窒素含量は植物の重要な機能と密接に関連しているからである。たとえば葉の窒素含量は光飽和時光

合成速度 (Field and Mooney 1986、Ellsworth and Reich 1992、Reich et al. 1997、Wright et al. 2004) や呼吸速度 (Reich et al. 1997、Lusk and Reich 2000、Wright et al. 2004) といった重要な葉の機能量と密接に関連している。葉の光合成関連タンパク質やミトコンドリアに多くの窒素が分配されているからである。このことから葉の窒素含量の動態の理解は、物質の有効利用戦略の上での生涯を通じた機能量の推定 (Kikuzawa and Lechowicz 2006、Sleeya and Anten 2010、Umeki et al. 2010)、個体や樹冠の葉の機能量が統合された機能の推定 (Koyama and Kikuzawa 2009) などへつなげることができる。

光合成機能を決定する重要な要因として、タンパク質を構成する窒素含量の他にクロロフィル含量がある。クロロフィルは光を捕捉し光合成の駆動エネルギーに変える重要な役割を持つ物質で、葉の光の吸収量を決める (Niinemets 2010)、重要な光合成関連物質の一つである。クロロフィル関連タンパク質には葉内の多くの窒素が投資されている。窒素含量とクロロフィル含量は相関関係があり、葉の窒素状態を調べるためにクロロフィルを調べる事が盛んに行われている (Nielsen et al. 1995、Schlemmer et al. 2005)。クロロフィルは光合成機構において重要であると同時に、クロロフィル関連タンパク質に多くの窒素が投資されていることから植物の窒素動態と関連の深い物質である。葉のクロロフィル含量の大きさや変化は植物の養分利用戦略を反映する。植物はクロ

ロフィルに投資された物質を有効利用しながら、樹冠内でのクロロフィル量の配分を決めている。葉のクロロフィルの動態の理解もまた植物が限られた養分を用いてどのように物質生産を行っているのかを理解することにつながる。

常緑広葉樹にとって稚樹は死亡率の高い段階である。厳しい稚樹のステージを生き残ることは種の存続を維持していくうえで決定的に重要である。種の個体群維持機構の解明のためには、稚樹段階の生態の解明が決定的に重要となる。本研究では林床に生息している常緑広葉樹、スダジイ (*Castanopsis sieboldii* (Makino) Hatus. (CaS))、ヤブニッケイ (*Cinnamomum tenuifolium* (Makino) Sugim. ex H.Hara (CiT))、ヒサカキ (*Eurya japonica* Thunb. (EuJ))、タブノキ (*Machilus thunbergii* Siebold et Zucc. (MaT))、シロダモ (*Neolitsea sericea* (Blume) Koidz. (NeS)) の 5 種の稚樹が限られた養分をどのように有効利用しているかを理解することを目的に、葉の開葉・落葉パターン、葉のクロロフィル含量・窒素含量の季節変動・長期変動を解明する。

### 1.1.1 落葉について

窒素など葉の養分を最大限有効利用する戦略は、葉の窒素含量の長期変動や季節変動にみられる養分の再分配だけでなく、葉の落葉にもみられる。植物は葉を落とす時、葉をそのまま捨ててしまうのではなく、葉を落とす前に葉に含まれている物質を分解し、回収し、再利用する (Aerts 1996)。多くの窒素が

落葉する直前に回収されることが知られている。クロロフィルは落葉時に分解され、葉の色は緑色から黄色や赤色に変色する。分解されたクロロフィルを構成していた物質は樹体内に取り込まれ、再利用されていると考えられる。いづれほどの量が落葉するかは、植物の養分利用戦略についての性質として考えることができる。

本研究第 2 章において、植物の物質利用の性質を理解するため、常緑広葉樹稚樹の開葉・落葉フェノロジーを調べた。第 2 章では開葉・落葉パターンを解析し、種差と環境に対する反応を論じる。

### 1.1.2 クロロフィル・窒素含量の測定方法について

窒素含量、クロロフィル含量の動態を調べるために 2 つの方法がある。一つは葉を破壊する方法、もう一つは葉を破壊しない方法である。破壊的方法では、測定時に葉は植物から採集された後、破壊される (Porra et al. 1989、Cornelissen et al. 2003)。このタイプの測定方法は時間とお金がかかる。さらに一つの葉を繰り返し測定することが不可能である。同じ個体を測定する場合葉の採集の影響を除外できない。葉の窒素含量の時系列変動の把握には、各測定日において信頼できる平均値を得るために、同じ環境、生息状況にある多くの小さな個体から、もしくは大きな個体から多くの葉を採集する必要があり、時系列変動を把握するにはより多くの葉のサンプリングが必要である。自然に生

息していて個体数の少ない、かつ一個体につき多くとも葉を数十枚程度しかつけない稚樹を対象に時系列変動を調べることは破壊的方法では不可能である。

一方で、光学的機器を用いて、葉内クロロフィル含量や窒素含量を迅速に、非破壊的に測定する方法がある（例えば Yadava 1986、Cambell et al. 1990、Ichie et al. 2002）。これらの方法は野外において一つ一つの葉のクロロフィル含量と窒素含量を迅速に大量のデータを取得することが可能であり(Yadava 1986、Yamamoto et al. 2002)、葉の一生をかけた様子も一枚一枚測定することができる。破壊的方法では平均値としてしか知ることができない時系列変動を葉一枚の挙動から把握することができる。野外に生息している稚樹のような破壊的方法では簡単に絶滅してしまうような比較的少数の個体のクロロフィル・窒素含量の時系列変動を把握することができる。

本研究は、対象としている稚樹の個体数が少なく、葉も多くないため、非破壊測定を選択した。非破壊測定に必要な推定モデルに季節ごとの調整が必要かどうかについて一貫した結論が得られていない。第 3 章において季節ごとに調整したモデルが必要かどうかを検討し、種毎にクロロフィル・窒素含量の推定モデルを作成した。

### 1.1.3 クロロフィル・窒素含量の季節変動、長期変動について

植物の葉の窒素含量は、樹冠内の位置 (Niinemets 1997)、光の強さ

(Hikosaka et al. 1994) によって異なり、そして葉齢、季節などによって変化する (Chapin and Kedrowsiki 1983、Silla and Escudero 2003、Milla et al. 2005)。これらの現象は物質生産をするうえで欠かせないかつ量的に限られた窒素を使って最大限物質生産をするための戦略が反映されたものだと考えられている。クロロフィル含量も樹冠内の位置や光強度 (Niinemets 2010)、葉齢 (Šwarák and Čatsky 1962) によって異なることが報告されている。このことから物質の最適分配の機構がクロロフィルにおいても働いていると考えられる。

葉に含まれる窒素含量は葉齢に伴って変化する (Field et al. 1983、Hikosaka et al. 1994)。植物の葉の窒素分配は光がよく当たる葉に多くの窒素を投資するのが最適であると予測した理論 (Field 1983、Hirose and Werger 1987) が発表されている。窒素含量と光合成速度が強い相関関係にあることに基づいた理論的予測である。この理論によれば常緑広葉樹の葉は古くなるにしたがって新しい器官に被陰され、徐々に暗くなっていくので、窒素は新しい葉へ転流し、古い葉の窒素含量は低下することが予想される。Field et al. (1983) は常緑広葉樹において古い葉の窒素含量が低下していることを報告している。しかし、常緑針葉樹において、葉の窒素含量は齢の上昇にともなって低下しないという報告がある (Escudero and Mediavilla 2003、Ethier et al. 2006、Han et al. 2008)。このように常緑樹においては Field (1983)、Hirose and

Werger (1987) の理論は成り立たなっていない種があることが示されている。これら先行研究群から、葉の窒素含量の長期変動が環境や種によって異なり、古い葉の窒素をどうするかについての窒素利用戦略には種差があることが予想される。

窒素含量は葉の光合成や暗呼吸速度といった重要な機能と密接に関連しているため、その季節変動は良く調べられている (Chapin and Kedrowski 1983, Silla and Escudero 2003, Milla et al. 2005)。これらの研究では常緑樹の葉の窒素含量の季節変動は落葉樹とは異なっていること (Cherbuy et al. 2001) が示された。常緑樹の葉の窒素含量の季節変動のよく見られるパターンは次のように要約される：展葉する前の時期、すでに形成されている葉の窒素含量は上昇する、新しいシュートの形成に対応して春から夏に減少する、そして当年枝の成長がおわるとまた上昇を再開する (Fife and Nambiar 1982、 Millard and Proe 1992、 Silla and Escudero 2003)。これら常緑樹の葉についての研究は、古い葉が窒素含量の貯蔵の役割を持っていることを明らかにした (Fife and Nambiar 1982、1984、Chapin and Kedrowski 1983、Millard and Proe 1993)。春から夏にかけての葉の窒素含量の減少は新しいシュートの成長への窒素の転流のためである。落葉樹は窒素を木質器官や根や幹の樹皮に貯蔵する一方で、常緑樹は窒素を主に葉に貯蔵する (Millard and Grelet 2010)。状況によっては、

古い葉からの窒素の転流の量は新しい枝の窒素の大部分を占める (Cherbuy et al. 2001)。窒素は葉の生涯を通じて、葉が落ちるまでの間、新しい葉が展葉するたびに繰り返し転流する。上記の研究結果は、主に人工的に飼育した常緑針葉樹で得られており、林床下で自然繁殖している常緑広葉樹稚樹の知見はきわめて少ない。

常緑広葉樹のクロロフィルの齢に伴った変化はあまり報告されていない。草本植物において、クロロフィル含量も窒素と同様に低下するという報告 (Šwarák and Čatsky 1962、 Ciganda et al. 2008) があり、Šwarák and Čatsky (1962) クロロフィル含量の低下に伴って光合成も低下していると報告した。クロロフィル含量が低下する原因はクロロフィルは分解され葉のクロロフィルを構成する物質が新しい器官へ転流するためであろう。クロロフィルの長期変動も窒素と同様に植物の養分利用戦略を反映していると考えられる。しかし、窒素と同様に、長期変動には種間差や環境による違いがあり、長期的に葉のクロロフィル含量が低下しない種が存在する可能性もあるだろう。

クロロフィルの季節変動についての研究はいくつかなされているが、その研究の多くは、低温 (Senser et al. 1975、 Ottander et al. 1995、 Öquist and Huner 2003)、もしくは乾燥 (Gratani et al. 1998、 Munnè-Bosch and Alegre 2000) など様々なストレスが原因となるクロロフィル量の変化を報告したもの

である。極端なストレスのない状況における時系列変動を養分利用戦略との関連で観察した研究はとてすくなく、それらの研究では意義のある季節変動や長期変動が見いだせていない (Fife and Nambiar 1982、Wendler et al. 1995、Muller et al. 2011)。しかし、展葉期に古い葉のクロロフィルの減少がみられる報告 (Gond et al. 1999) もある。クロロフィルの季節変動の実態解明にはさらなる調査が必要である。

以上のように、葉のクロロフィル・窒素含量は植物の養分利用戦略と関連する。しかし、検討が十分でなかったり、調査が不足していたりするところがある。林床下で自然繁殖した個体の時系列変動はほとんど調べられていない。第 4 章では、常緑広葉樹稚樹の養分利用の性質がどうなっているのかを理解するため、常緑広葉樹稚樹のクロロフィル・窒素含量の季節変動と長期変動を調べ、その性質や種差を分析し、窒素の季節変動の普遍性の確認、クロロフィルの季節変動の有無の確認をし、今まであまり再検証がなされていないクロロフィル・窒素含量の季節変動の性質について検証をした。

## 第2章 常緑広葉樹稚樹5種の開葉、落葉フェノロジーの4年間のモニタリング

### 2.1 はじめに

植物は限られた栄養分を有効利用していると考えられている。落葉時、葉から栄養分が吸収され、別の器官に移動し再利用されることが知られている (Aerts 1996)。この現象は栄養分を有効利用するために進化した植物の戦略と理解される。葉は齢が上昇すると光合成能力を下げ、機能が低下する。機能の低下した葉から養分を回収しその葉は落葉させ、新しい葉に回収した養分を使いまわしたほうが個体全体の光合成速度が向上する (菊澤 2005)。落葉する際には機能の劣化した古い葉が選択的に落とされていると予想される。開葉する際には植物は新しく出現する葉や枝に養分を運んでいく必要があり、開葉は養分の新しいシンクの出現といえる。よって開葉と落葉は植物体内の養分のダイナミズムと深く関係する。開葉と落葉のタイミングや動態を知ることは植物の養分利用の性質を明らかにすることにつながる。

日本の暖温帯常緑広葉樹林における開葉フェノロジーの研究に Nitta and Ohsawa (1997) の研究がある。彼らの研究によれば、常緑広葉樹の開葉のタイミングは、シングルフラッシュとマルチプルフラッシュがあり、春に開

葉が始まることが報告されている。しかし、一般的に開葉日の種間差、そしてその要因についてはあまり注目されていなく、検討もされていない (Panchen et al 2014)。常緑広葉樹においてどの種の開葉が早いのか、どの種が遅いのか、またその違いに地域差はないのかといったことはあまり検討されていない。種間差の要因、例えば葉の面積当たりの乾燥重量 (LMA)、葉密度、葉のサイズなどの種間の違いが開葉の種間の違いと関連があるかどうかなどはほとんど検討されていない。

開葉日は温度と重要な関連があり (Doi 2008)、気温の年変動に伴って開葉日も年変動すると思われる。開葉日の予測には、ある限界温度以上 (5°Cが多い) の一日の平均気温を起算日から開葉日まで積算した有効積算温量がよく使われる (藤本 2007)。ある一定の有効積算温度に達したら開葉すると考えるモデルである。しかし、開葉の年変動を温度で完全に説明できるかどうかの検討がなされているとはいえない。このモデルを用いて開葉が温度環境と関連があるかどうかを調べることができる。

日本の常緑広葉樹の落葉パターンの研究は、リタートラップを用いた研究も含めていくつかの事例がある。常緑広葉樹の多くの落葉パターンは開葉時期と夏から秋にかけてと2つピークがある2山型 (只木・香川 1968, Nitta and Ohasawa 1997) であったことが報告されている。春に大きなピークがあり、夏

から秋にかけて小ピークがあるというパターンが Xu (2004) によっても報告されている。落葉の 2 つのピークの内、春のピークでは、新しい器官に養分を転流させるため、古い葉が落葉すると考えられている。夏から秋にかけてのピークは乾燥や台風のため生じると Nitta and Ohaswa (1997) は考えている。一方で長尾ら (2003) はタブノキ (*Machilus thunbergii*) は春から夏にかけて一定の多くの落葉があり、スダジイ (*Castanopsis sieboldii*) では春の多くの落葉がある一山型のピークで春型の落葉パターンであったことを報告している。Nitta and Ohasawa (1997)らは、スダジイが春型であったことを報告している。常緑広葉樹において夏から秋にピークがないという報告もあり、場所や環境によって落葉パターンが異なる可能性がある。日本の常緑針葉樹アカマツでは秋に 1 つのピークを持つ (斉藤 1980、1990) 秋型である。種によって落葉パターンは異なる。また水分が枯渇したとき植物は葉を落とし蒸散量を減らそうとすることが考えられる。よって降水量の多寡が落葉率の年変動と関連する可能性がある。特に気温の高い夏の落葉は降水量とより密接に関連する可能性があるだろう。

この章では、日本の暖温帯地域の森林の主たる構成要素である *Castanopsis sieboldii* (Makino) Hatus. (CaS)、 *Cinnamomum tenuifolium*。 (Makino) Sugim. ex H.Hara (CiT)、 *Eurya japonica* Thunb. (EuJ)、 *Machilus thunbergii*

Siebold *et Zucc.* (MaT), and *Neolitsea sericea* (Blume) Koidz. (NeS)の 5 種を対象に開葉と落葉のフェノロジーから養分動態を把握することを目的におよそ 4 年間の開葉落葉フェノロジーのモニタリングし、開葉・落葉フェノロジーにおけるパターンの種間差や年変動を解析した。有効積算温度により開葉開始日の年変動が説明できるかどうかを調べた。そして、落葉パターンについて気象との関連を調べ、調査したパターンと先行研究とを比較することにより、種や環境によってパターンが異なる可能性を検討した。最後に常緑広葉樹稚樹の養分動態について開葉・落葉の面から考察した。

## 2.2 方法

### 2.2.1 測定地と対象木

フェノロジーのモニタリングは日本の千葉大学園芸学部キャンパス内の樹林地 (35°46' 58''N, 139°54' 2''E, 20 m a.s.l) で行った。モニタリング対象種として 5 種 (シロダモ、スダジイ、タブノキ、ヒサカキ、ヤブニッケイ) の常緑広葉樹稚樹を選んだ。これらは日本の暖温帯域において主たる構成要素である。耐陰性があり、林冠木(スダジイとタブノキ) か亜林冠木(ヤブニッケイ、ヒサカキ、シロダモ)である。林床の生えている稚樹を各種およそ 10 個体選び、フェノロジーのモニタリングを行った。

### 2.2.2 モニタリング

選んだ個体の主軸についている葉をモニタリング対象とした。モニタリング期間中に主軸が枝分かれした場合、側枝についている葉は測定せず、頂枝についている葉のみをモニタリング対象とした。各個体の主軸において、芽鱗痕に基づいて各シュートの齢を推定し、葉の齢とした。

春には月 2 回、その他の季節には月 1 回のモニタリングを 2005 年 4 月から 2008 年 11 月まで行なった。開葉日は開葉が観察された日とした。また落葉日は落葉が観察された日とした。開葉・落葉調査時に当年シュートの長さを測定した。

### 2.2.3 面積当たりの乾燥重量 (LMA) の測定

LMA の測定は年に 6 回 (2007 年 6 月、8 月、10 月、12 月、2008 年 2 月、4 月) に行った。各測定において、千葉大学園芸学部キャンパスの樹林内においてモニタリング対象にしている個体とは別の個体をランダムに選び、葉を各種 9~18 枚採集した。葉を実験室に持ち帰り、葉をデジタルスキャナー (PM-A850、エプソン) でスキャンし、葉面積を求めた。葉は 80°C で 72 時間以上乾燥させ、電子天秤で乾燥重量を測定した。得られた乾燥重量をもとに葉面積

当たりの乾燥重量、LMA を算出した。

#### 2.2.4 齢ごとの落葉率の算出

葉の齢に伴って落葉率がどう変化するかを調べるため、各観測年の4月の時点での各葉齢クラスの各種についての葉の枚数の総計に対するその年の11月までに落葉した葉の枚数の総計の割合を算出し、各観測年ごとに各葉齢での落葉率を種ごとに求めた。

#### 2.2.5 気象

2005年から2008年までの気象データ（降水量、日射量、平均気温）を最寄りのアメダス（千葉県船橋市）の観測データから取得した。

#### 2.2.6 有効積算温度による開葉日の推定について

有効積算温度により開葉日の年変動を説明できるかどうかを検討するために、有効積算温度から開葉日を推定するモデルを作った。まず、起算日から開葉日までの日平均気温を、日平均気温が $5^{\circ}\text{C}$ 以上の日について積算して、個葉ごとに有効積算温度を求めた。それを種ごとに平均し、種に固有の有効積算温度とした。こうして求めた種に固有の有効積算温度を用いて、各年ごとに

気象データから開葉日を推定した。起算日は1月1日、2月1日、3月1日、4月1日の4つを用意し、モデルによる推定開葉日と実測の開葉日の平均自乗誤差 (RMSE) が最も小さくなる起算日を探した。

### 2.2.7 開葉日に関する統計

個体ごとに1枚目の葉の開葉が観察された日 (開葉開始日) を応答変数に、種と年を説明変数にした2元配置分散分析を行った。開葉開始日は周期変数であり、原則的には単純な連続変数として取り扱うことはできないが、データが1月1日から遠い場所に、狭く分布しているため、データを周期変数とみなさずに計算しても支障がないと判断し、通常の2元配置分散分析を行った。種と年の交互作用項は有意でなかったのを除いた。分散分析のあと Tukey の多重比較をおこない要因間の違いを調べた。各個体について、各年の開葉開始日と各年の当年枝の伸長量の関係を単回帰分析で調べ、係数の t 検定の結果を調べた。統計はすべて統計ソフト R を用いて行った。ヒサカキはマルチプルフラッシュであり、開葉を開始する最初のシュートの成長量を特定できなかった。そのため開葉開始日と当年押しの成長量の関係の解析から除外した。

## 2.2.8 落葉率と降水量の関係に関する統計

各月の降水量と落葉率に関連するかどうかを検討するために以下の3つの一般化線形モデル(ロディスティック回帰)を作成し、AIC(赤池情報量基準)によるモデル選択を行った。式1は降水量と落葉率には関係がないというモデル、式2は降水量の1次関数で落葉率を説明するモデル、式2は降水量の2次式で落葉率を説明するモデルである。各種の各月における落葉率は月の初めの葉の枚数に対するその月で起こった落葉の数と定義した。降水量は各月の総降水量を用いた。モデルは各月ごとに別々に作成した。6月、7月に関してはヒサカキの落葉率が大きく外れていたため、ヒサカキのデータを抜いたモデルも作成した。種ごとの違いは検討しなかった。解析は統計ソフトRを用いて行った。

$$1) \text{logit}(p_j) = a$$

$$2) \text{logit}(p_j) = a + b \cdot \text{Precipitation}_j$$

$$3) \text{logit}(p_j) = a + b \cdot \text{Precipitation}_j + c \cdot \text{Precipitation}_j^2$$

$p_j$  : 落葉率、 $j$ :年、Precipitation : 降水量

## 2.3 結果

### 2.3.1 開葉のパターン

ヒサカキ以外の種の開葉パターンは一斉開葉型であり、少しの例外を除いて、シュートを年に1度だけ伸張させた(図 2.1)。ヤブニッケイでは2005年、2007年に9月ごろに2度伸びが観察された。条件によっては年に複数回展葉することを示した。ヒサカキは既存研究とおなじく年に数回芽を伸長させるマルチプルフラッシュであった。ヒサカキはその展葉の仕方には季節性があった。ヒサカキの開葉は4月がピークで、もう一つ、9月あたりに展葉のピークがあり、開葉パターンは二山型であった(図 2.1)。4月のピークと9月のピークの間には少ない数の葉が展葉する年(2005年、2007年)と、ほとんど葉が出ない年(2006年、2008年)があった(図 2.1)。

2005年から2008年にかけて各年における各種内で最も開葉が早かった個体と最も開葉が遅かった個体の開葉開始日の違いは、スダジイでは21日から35日、ヤブニッケイでは21日から36日、ヒサカキでは7日から18日、タブノキでは13日から24日、シロダモでは2005年から2007年にかけては21日から42日だったが、2008年は75日違った。シロダモの2008年の75日の違いは1個体、展葉が非常に遅かった個体がいたことによる。ヒサカキ、タブノキは最も早かった個体ともっとも遅かった個体の違いが小さく、より短い時間

に種内で同調的に展葉していた。それに比較して、スダジイ、ヤブニッケイ、シロダモは個体差が大きかった。各種、おおよそ1か月以内に全個体が展葉し、種内ではこの範囲で同調的だった。

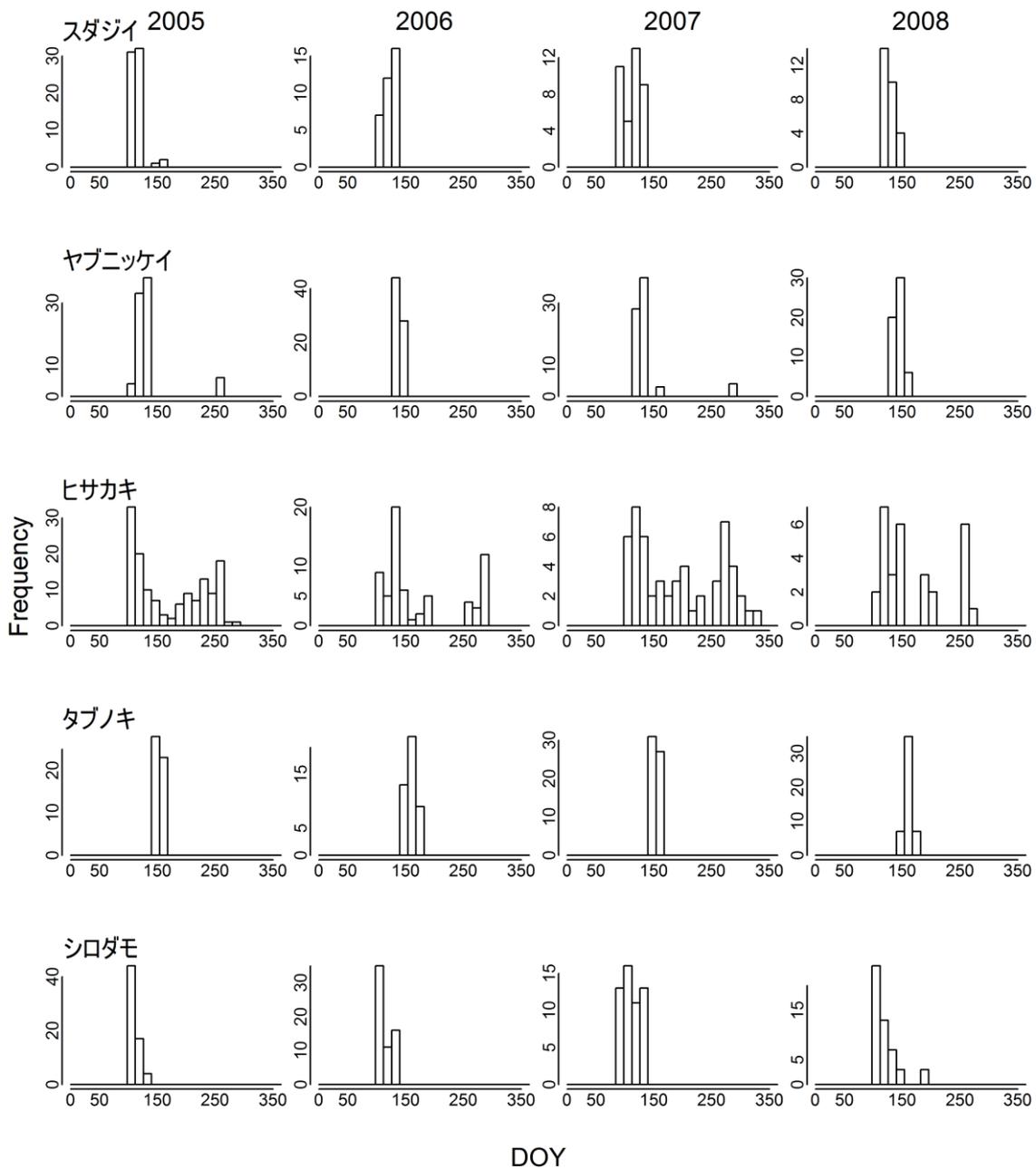


図 2.1 展葉開始日の各年の頻度分布。横軸は1月1日からの日数。

### 2.3.2 開葉時期の種差と年ごとの違い

開葉日を応答変数とし、種と年を効果として扱った 2 元配置分散分析の結果、種・年の効果はともに有意だった ( $p < 0.001$ )。Tukey の多重比較の結果 (図 2.2)、開葉開始日はヒサカキが最も早く、次にシロダモ、スダジイが続き、ヤブニッケイ、タブノキは有意に遅かった。種内では 1 か月以内の範囲で開葉開始日は同調する傾向があった。しかし種間差をみると最も開葉開始が早かったヒサカキと最も遅かったタブノキの開葉開始の違いは 50 日ほどで種内差よりも大きく、種間では開葉日は同調していないという結果だった。年の効果については、2008 年の平均的な開葉日は 2005 年、2007 年に比べて有意に開葉が遅く、その違いは 8 日ほどであった。2006 年は 2005 年・2007 年と 2008 年の中間だった。

種ごとに年ごとの開葉日の違い (図 2.3) をみると、シロダモはあまり開葉日に差がないようだった。ヒサカキは 2007 年に開葉が早かった。ヒサカキでは 2008 年に非常に開葉が遅いという結果になったが、これはサンプル数が減少し、開葉の遅い個体が残ったことが反映している。スダジイ・タブノキ・ヤブニッケイではデータすべてを合わせた解析と同じ傾向で、2005・2007 年の開葉が早く、2006・2008 年の開葉が遅いという結果だった。

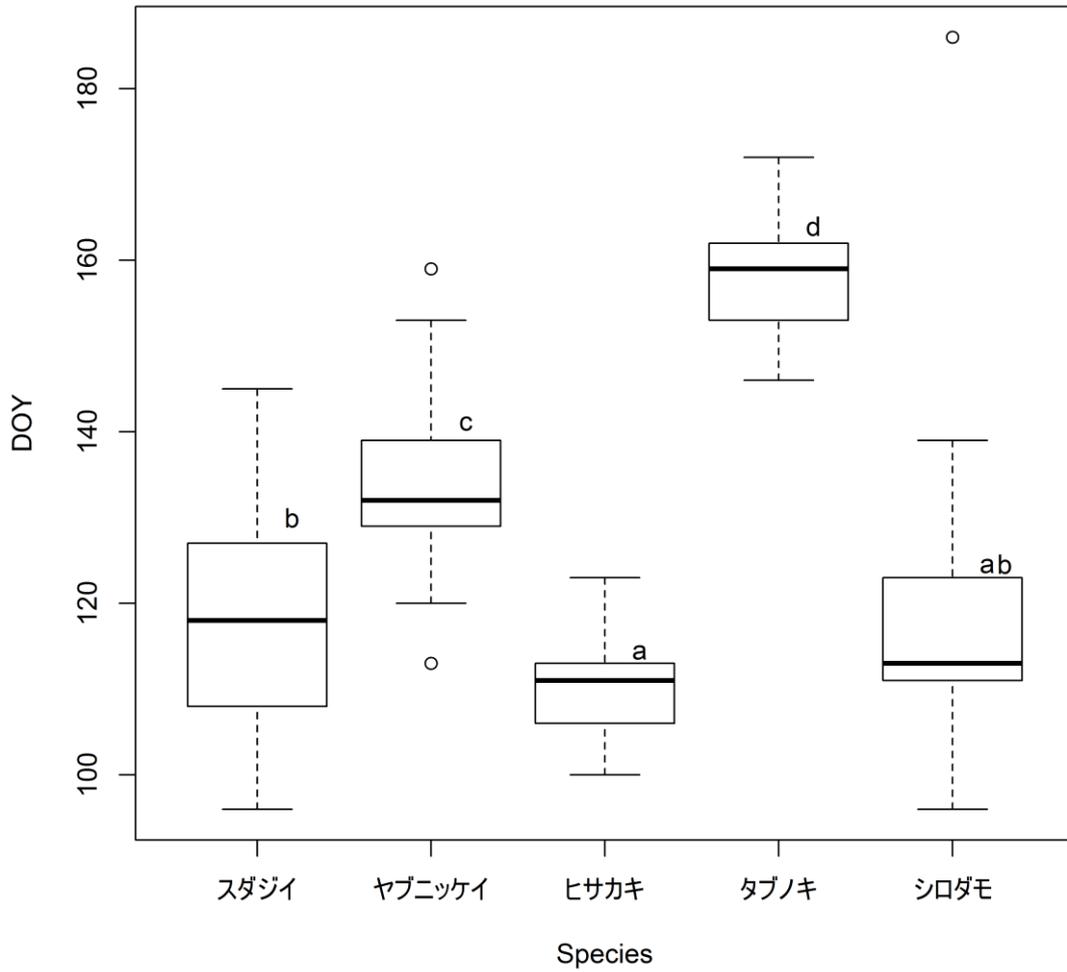


図 2.2 種毎の開葉開始日。図中の異なる文字は Tukey の多重比較の結果、有意に異なることを表す。

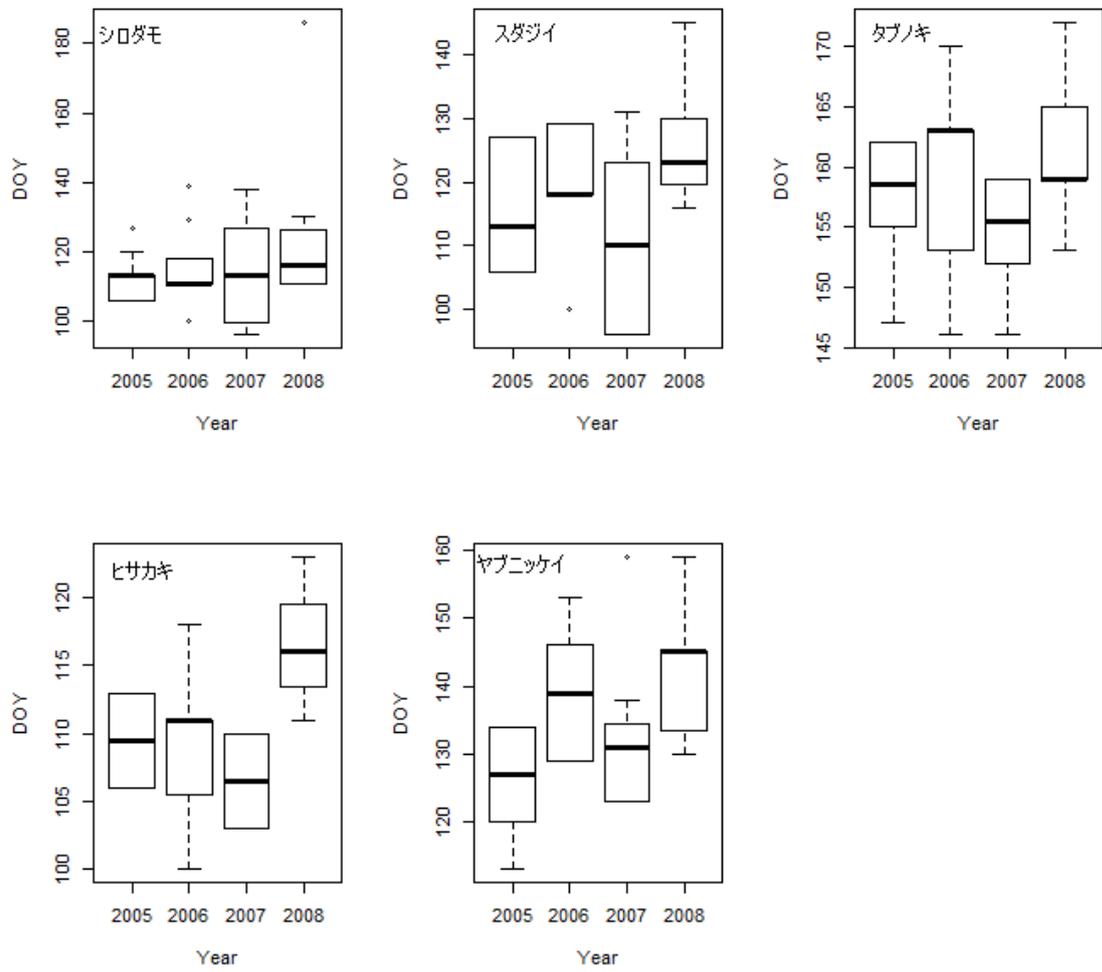


図 2.3 各年における開葉開始日の分布。

### 2.3.3 開葉時期の個体ごとの年変動の違い

開葉日の年変動の幅（4年間のうちで開葉が最も早かった年と開葉が最も遅かった年の開葉開始日の差；ただし、ヒサカキのいくつかの個体については4年よりも短い期間に見られた差）は、個体によって大きく異なっていた（図2.4）。4年間の間でもっとも開葉開始日の差が少なかった個体における開葉開始日の違いは、スダジイでは4日、ヤブニッケイでは6日、ヒサカキでは2日、タブノキでは4日、シロダモでは10日だった。全種ともに毎年ほとんど同じ日に開葉している個体があることがわかった。一方でもっとも開葉開始日の違いが大きかった個体については、その差はスダジイでは33日、ヤブニッケイでは27日、ヒサカキでは19日、タブノキでは18日、シロダモでは74日となった。シロダモは一個体だけ2008年にきわめて開葉が遅れた。スダジイ・ヤブニッケイには一か月近い幅で開葉開始日が年変動する個体があったのに対し、タブノキ・ヒサカキの各個体は他種に比べて年変動が少なかった。

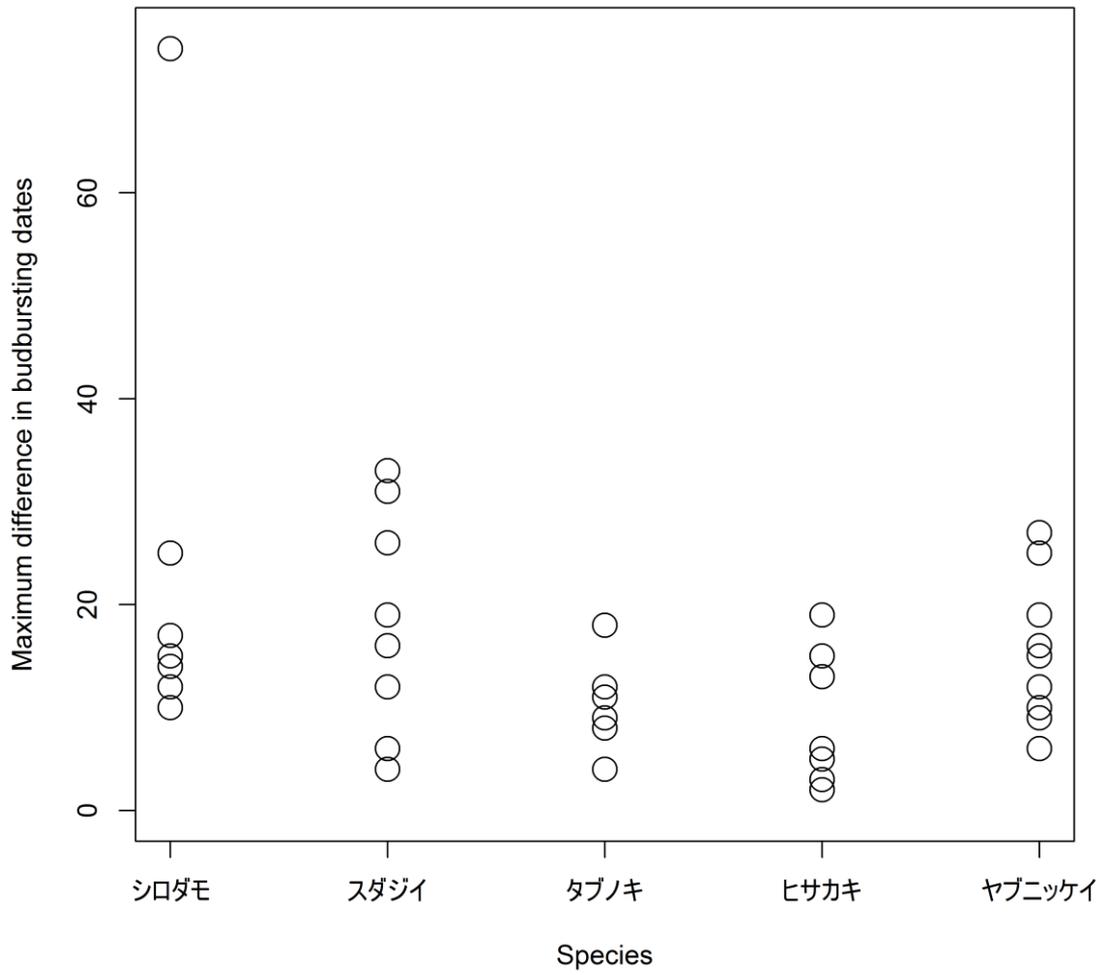


図 2.4 各個体の開葉が最も早かった年と最も長かった年の開葉日の差。

### 2.3.4 開葉時期の種差と LMA

4年間の開葉開始日の平均と LMA の種毎の平均を比較した結果(図 2.5)、概ね、LMA が低い種で展葉が速いという傾向が見られた。

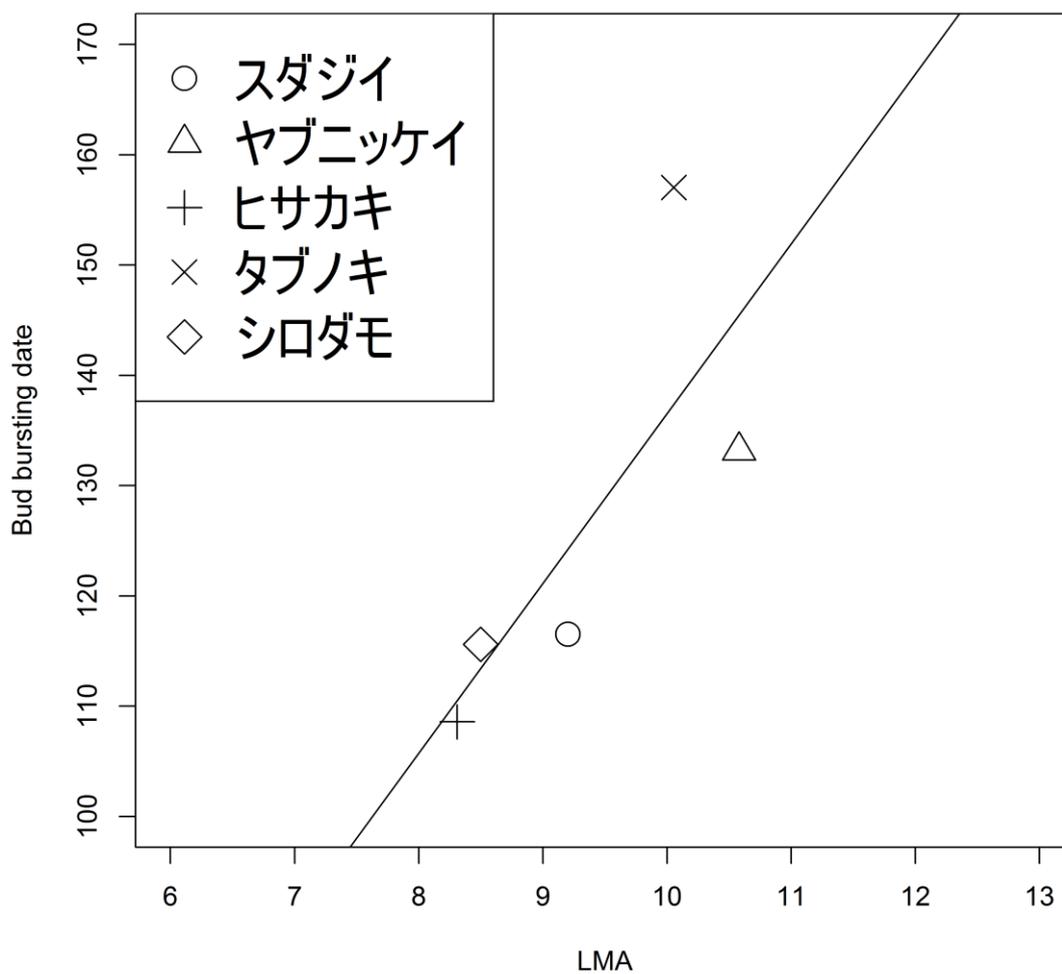


図 2.5 LMA と開葉開始日の関係。線は単回帰直線。

### 2.3.5 開葉時期と成長量の関係

ヒサカキ以外の一斉開葉型である4種で開葉日と枝の伸長量との関係を検討した。ヒサカキはマルチプルフラッシュであり、開葉を開始する最初の芽の伸長量を特定できないため解析から除外した。ヤブニッケイとタブノキで伸長量の係数が5%水準で有意(t検定)に0と異なり、両者の有意な関係が認められた(図2.6)。スダジイとシロダモでは有意な関係が認められなかった。伸長量を説明変数に含めない平均値だけのモデルと伸長量を説明変数に含んだモデルのAICを比較した結果、スダジイでは平均値だけのモデルのほうがAICが低く、シロダモは同程度だった。伸長量はモデルに必要なことを示した。一方で、ヤブニッケイ、タブノキはそれぞれ伸長量を含めたモデルのほうがAICが3.2、2ポイント低かった。伸長量を含めたモデルのほうが開葉日の予測が優れていることを示した。

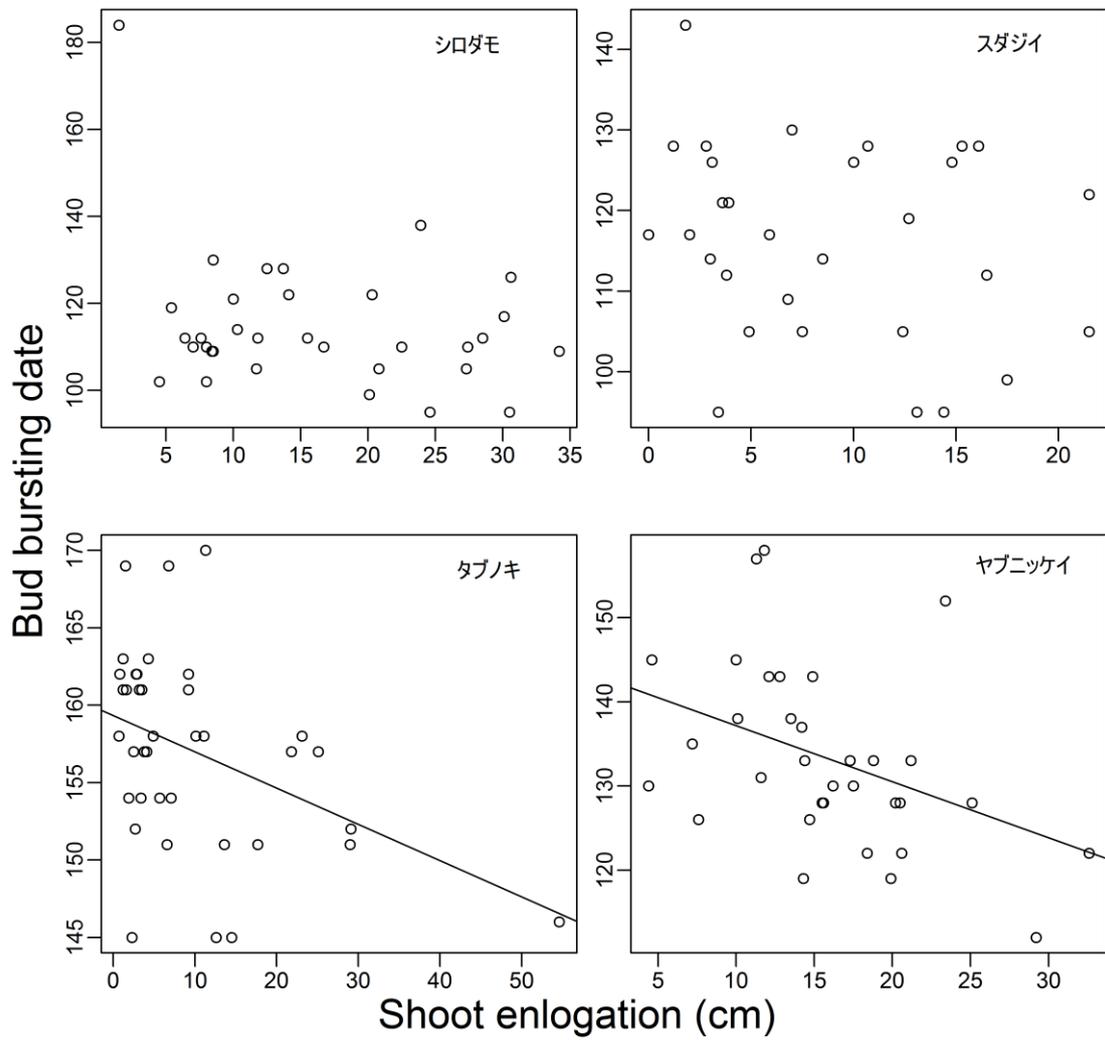


図 2.6 開葉開始日と枝の伸長量の関係。図中の線は、成長量の係数が t 検定で有意だった種の単回帰直線。

### 2.3.6 有効積算温度、日照時間

1月1日、2月1日、3月1日、4月1日を起算日にしたモデルによる推定開葉日の平均2乗誤差(RMSE)を比較すると、スダジイでは2月が起算日のモデル、他の種では4月が起算日のモデルが最も低かった(表2.1)。しかし、起算日を1月にしたモデル以外ではRMSEの違いはほんのわずかだった。RMSEはタブノキ・ヒサカキは6日ほどであったが、スダジイ・ヤブニッケイ、外れ値のあるシロダモは10日以上と高い測定誤差を示した。

推定した開葉日と実測値とのずれを年ごとにみると、スダジイにおいて選ばれた2月が起算日のモデルでは2005年の予測が実測よりも遅くなっていた(図2.7)。2005年は2月からの実際の有効積算温度が他の年よりも低い状態で開葉したことを示す。他の種で選ばれた4月が起算日のモデルでは、ヤブニッケイにおいて開葉が遅い年は実際の有効積算温度は大きく、開葉が早い年は実際の有効積算温度が小さくなり、開葉日の違い(図2.3)がそのまま実際の有効積算温度の違いを表した。ヤブニッケイでは結果的に、開葉が早い年では有効積算温度の平均を用いたモデルによる開葉日の推定は実際より遅くなり、開葉が遅い年では実際よりも早く推定することになり、実測のずれのパターンと実際の開葉日の年変動のパターンが逆転して一致した。4月からの有効積算温度によるモデルでは年ごとの開葉日の違いを完璧に説明できなかった。2月が起

算日でも 4 月が起算日でも起算日から開葉日までの実際の有効積算温度の量は年ごとに増減し、一定ではないことを示した。

4, 5 月の日照時間は 2005 年:364.2 時間、2006 年:242.8 時間、2007 年:312.6 時間、2008 年:289.7 時間だった。開葉が早かった 2005 年、2007 年は 4 月と 5 月の日照時間が長く、特に 2005 年の日照時間が長かった。

表 2.1 各起算日から有効積算温度モデルにより推定した開葉日と実測値の平

起算日	シロダモ	スタジイ	タブノキ	ヒサカキ	ヤブニッケイ
1月	17.4	12.4	8.0	8.9	13.0
2月	16.7	11.9	7.0	6.7	12.2
3月	16.7	12.6	6.8	6.3	12.0
4月	16.4	12.3	6.5	6.1	11.1

均自乗誤差 (日)

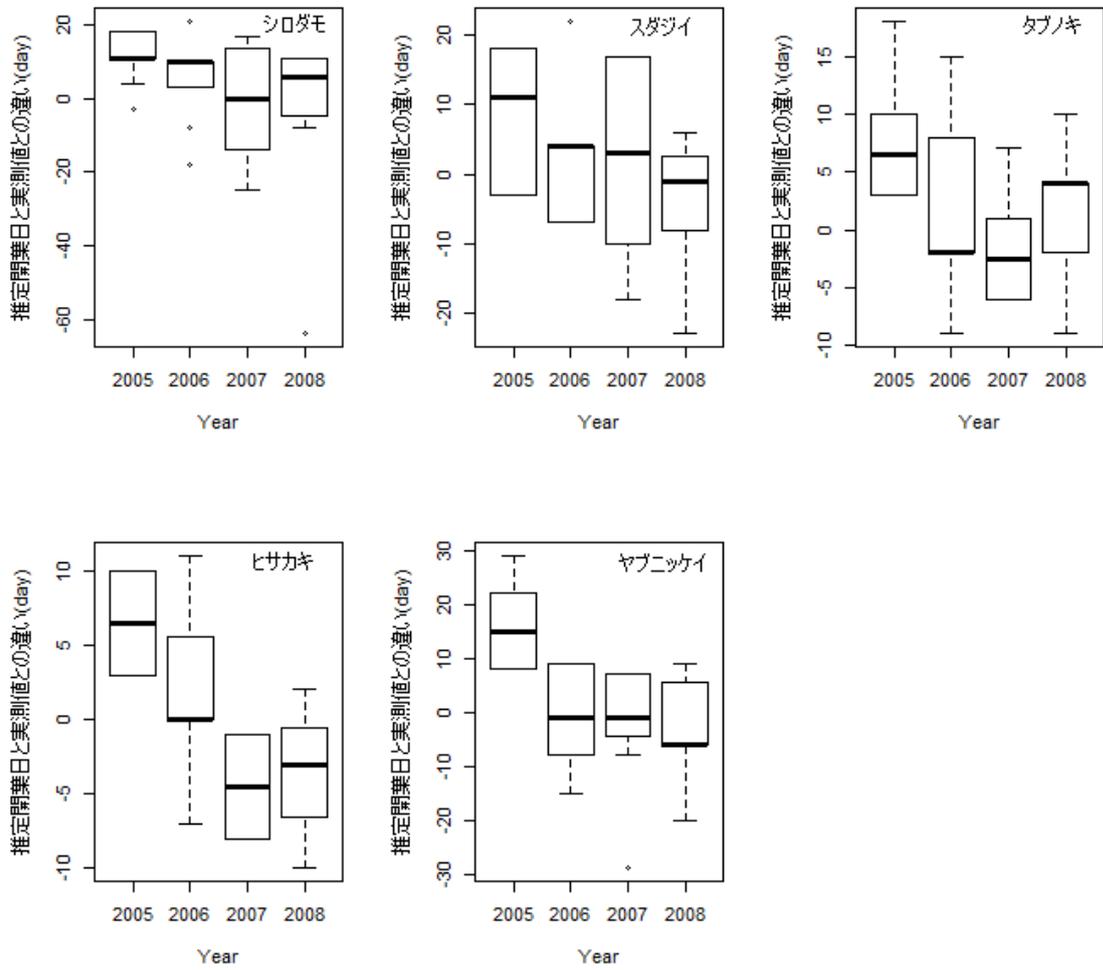


図 2.7 2月1日を起算日にした有効積算温度のモデルによる開業開始日の推定値と実測値との違い。

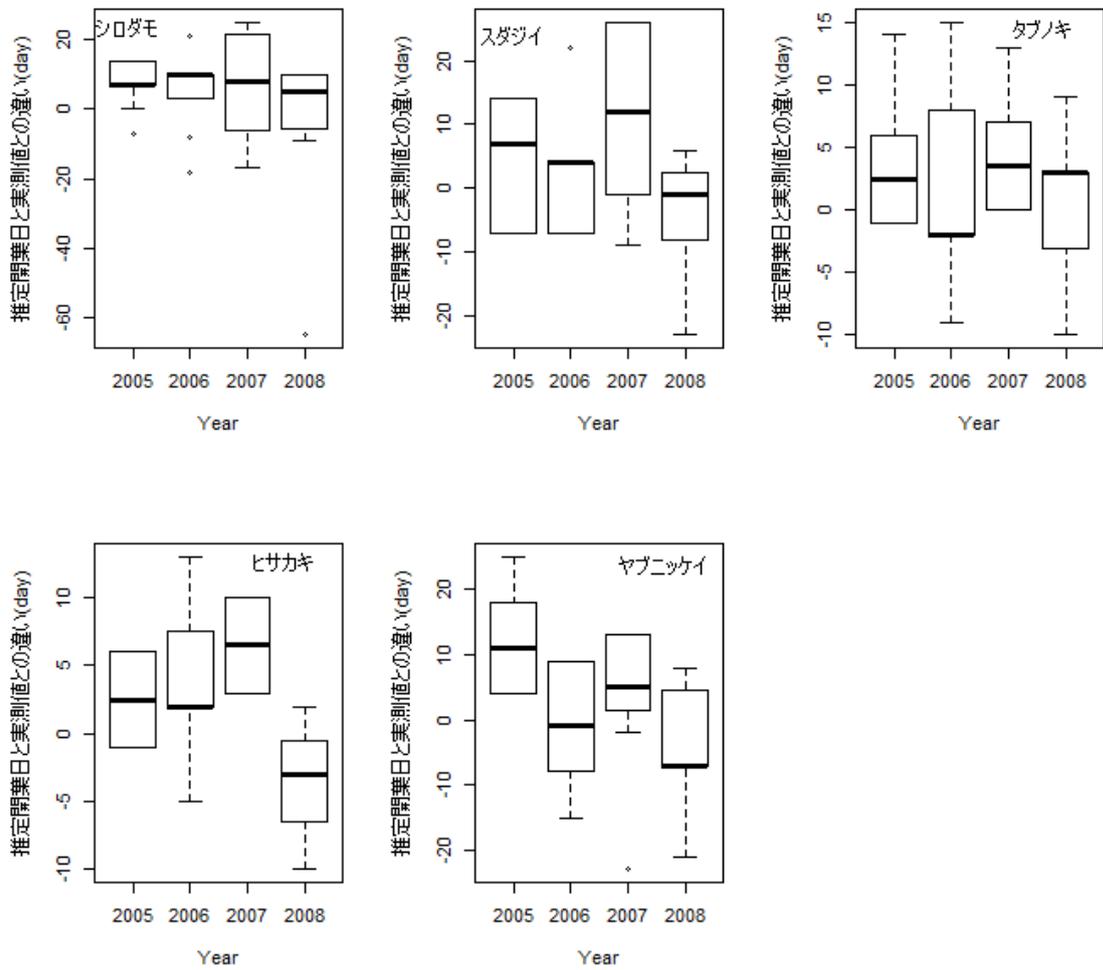


図 2.8 4月1日を起算日にした有効積算温度のモデルによる開葉開始日の推定値と実測値との違い。

### 2.3.7 落葉のパターン

落葉のパターンは年によって似た傾向にあるものの細かく見ると異なっていた（図 2.9）。4 年間を通して、落葉パターンをまとめると以下のようになった。

スダジイでは 2005 年に展葉期に落葉の鋭いピークがあり、それ以降落葉はほとんど観察されなかった。しかし、2006 年以降の落葉のパターンは異なり、展葉の時期の落葉はあるが数は少なく、夏から秋にかけて、特に 8 月に多くの葉が落葉するというものだった。2006 年以降のパターンは夏から秋型の落葉パターンだった。4 年間の傾向から、総じてスダジイは 8 月に落葉のピークが一つあるパターンで、夏型の落葉パターンといえる。

ヤブニッケイでは展葉期を境に落葉が突然起こり始め、その時が落葉のピークであるというパターンが続いた。落葉のピークは 5 月から 6 月にかけてであった。2005 年から 2007 年までは展葉期に落葉が多く、それ以外の季節は少しだけ落葉するという一山形のピークを持つパターンであったが、2008 年は展葉期がピークとは言えず、展葉期と同程度の落葉が秋にかけて起こり、8 月の落葉が特に多かった。4 年間の傾向から、ヤブニッケイは 5 月から 6 月に落葉が多い初夏型の落葉パターンだといえる。

ヒサカキでは 2005 年においては展葉期に落葉のピークが一つあり、ま

た秋にもう一つピークがあるという 2 山型の落葉パターンだった。しかし、他の年は、展葉期から少し遅れた 6 月に落葉のピークがあり、ピーク以外の季節は少ない葉が落葉するという一山型のピークを持つ落葉パターンだった。4 年間の傾向から、ヒサカキは 6 月に落葉が多い初夏型の落葉パターンといえる。

タブノキでは展葉期に落葉が多くおこるということはなく、新葉の展開のない秋に落葉のピークがあるというパターンが 4 年間続いた。タブノキのピークは 2006 年から 2008 年までは、どの年も少し遅く 9 月以降だった。2006 年ではそれ以外の年ではあまり落葉のおこらない冬に落葉が多かった。4 年間の傾向から、タブノキは 9 月に落葉が多い秋型の落葉パターンといえる。

シロダモでは 4 年間をとおして共通に冬にまったく落葉が観察されなかった。2005 年と 2008 年は展葉から少し遅れて落葉のピークになり、その後葉の落葉数が少ない期間が続き、夏から秋にかけてもう一回ピークがあるという 2 山型だった。しかし、2006 年は展葉期のピークのあと、少なくない数の落葉が起り続け、秋には落葉数が減り、秋にピークがあるとは言えないパターンだった。2007 年は展葉期のあと、葉の落葉数はそれほど落ち込まず、少なくない葉が落葉し続け、秋に小ピークがあるというパターンだった。4 年間の傾向としてシロダモは 5 月から 6 月と 8 月に落葉が多い、初夏・夏型の落葉パターンといえる。

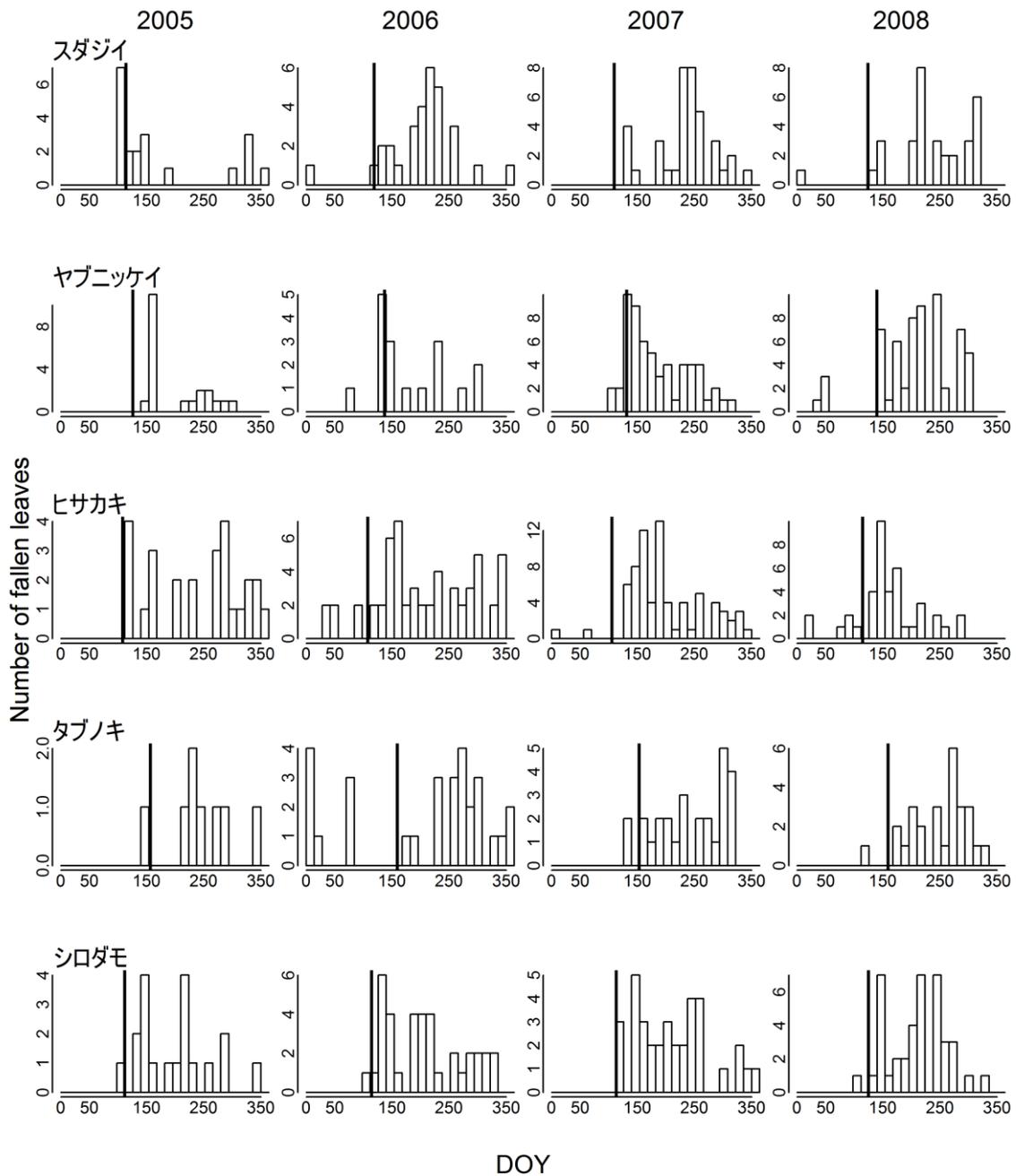


図 2.9 各年の落葉数のヒストグラム。2005 年のデータは 4 月から、2008 年のデータは 11 月まで。図中の縦線は各年の平均開葉開始日を表す。

### 2.3.8 落葉率と齡との関係

1年間の落葉率と葉齡との関係を図 2.10 に示す。図 2.10 では養分の回収がおこり黄化したのちに起こる生理的な落葉のほか、枯損や虫食いによる消失も落葉に含めた。スタジイ、ヒサカキでは当年葉の落葉が他種に比べて多かった。その他の種では当年葉の落葉はほとんど確認されなかった。スタジイ、ヒサカキでは展葉したばかりで未成熟の当年葉が虫に食われた結果の損失が多かった。一方、ヤブニッケイ、シロダモでは新葉がまだ未成熟の時期からゴールの形成は見られたが、虫食いによる消失は少なかった。タブノキではカイガラムシの付着があったが落葉は少なかった。

1年生の葉は全種共通で極めて落葉率が小さく、1年生以降は古い葉のほうがより落葉率が高くなっていくという傾向が全種で見られた。そのパターンには種差があった。スタジイ、ヒサカキ、シロダモでは齡の増加とともに落葉率の増加は急激で、ばらつきはあるものの古い葉では4年間の落葉率の中央値が50%を超えた。一方、ヤブニッケイ、タブノキでは、加齢にともなった落葉率の上昇は緩やかだった。モニタリング対象における最も古い葉の落葉率は50%を超えなかった。とくにヤブニッケイは落葉率が低く、当年葉から6年葉までほとんど落葉率に変化がなかった。ヤブニッケイ、タブノキの落葉率が低い傾向は他種に比べて長い葉寿命を反映しているからだろう。

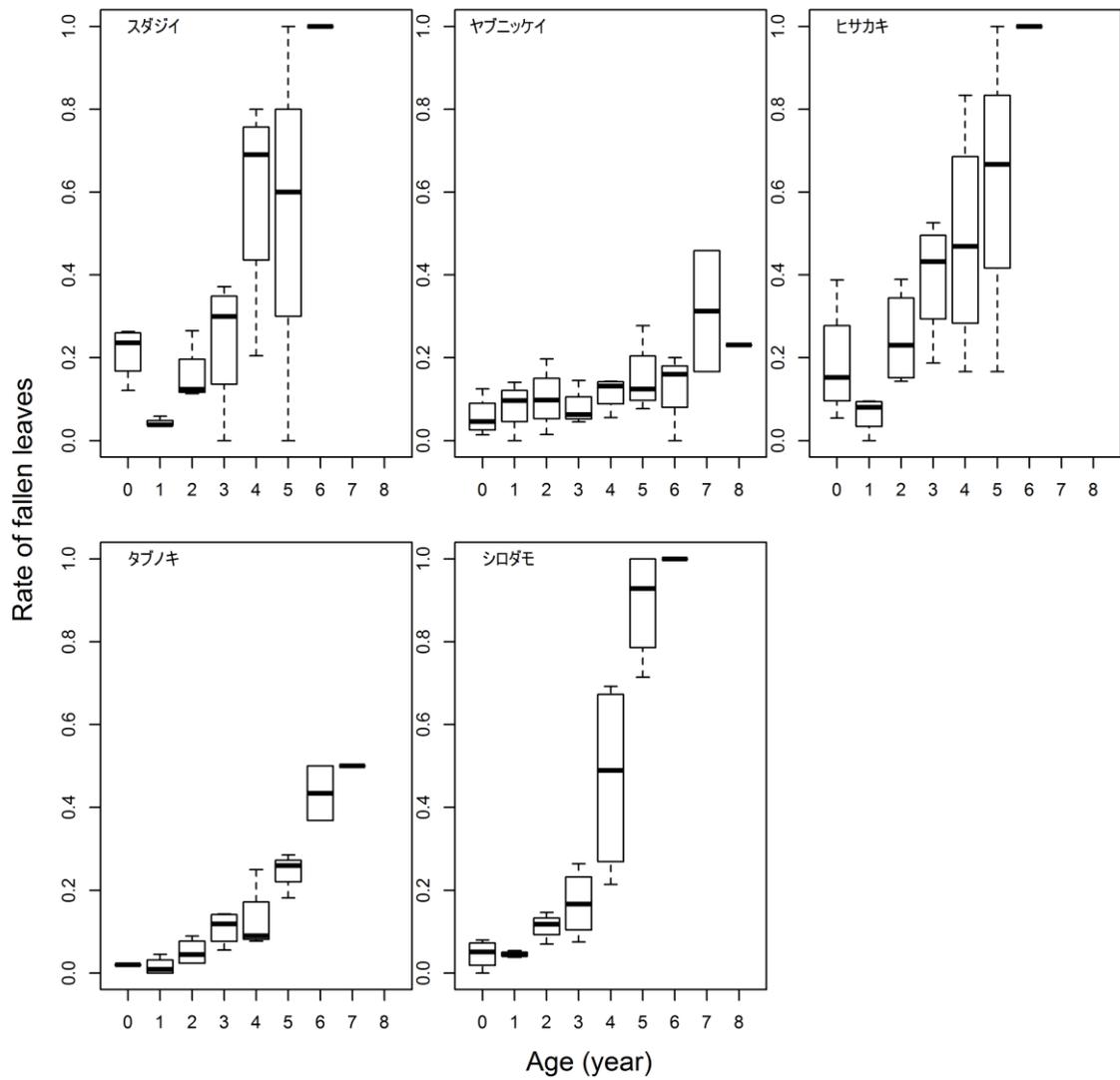


図 2.10 齢と落葉率の関係。落葉率は各年の 4 月から 11 月までの落葉数から算出。

### 2.3.9 落葉率と降水量との関係

各月ごとに算出した落葉率と降水量の関係についてのモデルのモデル選択の結果、7月、10月は切片だけのモデルが選ばれ、7月のヒサカキを抜いたデータでは1次式が選ばれた（表 2.2）。他の月では降水量の2次式が選ばれた。顕著に降水量が低くて、乾燥していた年の落葉率が高いという結果になったのは、8月のみだった（図 2.11）。しかし、8月のもっとも雨が深い年に多少、多くの落葉がみられた。この年は7月に大変乾燥した年であり、7月の乾燥の影響が8月にも及んだ結果である可能性がある。7月に大変乾燥した年があるが、この年の7月の落葉率は高くはならなかった。6月はほんのわずかであるが、降水量が少ないほうが落葉率が高いという傾向だった。11月もわずかであるが最も降水量が多かった年の落葉率が低い。7月はヒサカキを抜いたデータでは降水量が多くなるとほんのわずかに落葉率が低くなる傾向だった。9月は非常に落葉率が低いものの、降水量が高いほど落葉率が高いという逆の結果になった。6月、7月に降水量が低いわけではないのにヒサカキにおいて飛びぬけて落葉率が高い年がある。これは成長が旺盛で、その成長のために養分を取られた結果、古い葉の落葉が多かったためと考えられる。

表 1.2 降水量と落葉率の関係を表すモデルの内、各月において AIC により選  
 択されたモデル。カッコ内のモデルはヒサカキのデータを抜いて作成したモデ  
 ル。

月	選択されたモデル
5	$\text{logit}(p_j) = -6.0 + 0.034 \cdot \text{Precipitation}_j - 0.00011 \cdot \text{Precipitation}_j^2$
6	$\text{logit}(p_j) = -0.32 - 0.048 \cdot \text{Precipitation}_j + 0.00016 \cdot \text{Precipitation}_j^2$ $(\text{logit}(p_j) = -1.1 - 0.040 \cdot \text{Precipitation}_j + 0.00013 \cdot \text{Precipitation}_j^2)$
7	$\text{logit}(p_j) = -3.74$ $(\text{logit}(p_j) = -3.47 - 0.0031 \cdot \text{Precipitation})$
8	$\text{logit}(p_j) = -2.2 - 0.031 \cdot \text{Precipitation}_j + 0.00014 \cdot \text{Precipitation}_j^2$
9	$\text{logit}(p_j) = -8.6 + 0.048 \cdot \text{Precipitation}_j - 0.00011 \cdot \text{Precipitation}_j^2$
10	$\text{logit}(p_j) = -3.90$
11	$\text{logit}(p_j) = -7.6 + 0.11 \cdot \text{Precipitation}_j - 0.00072 \cdot \text{Precipitation}_j^2$

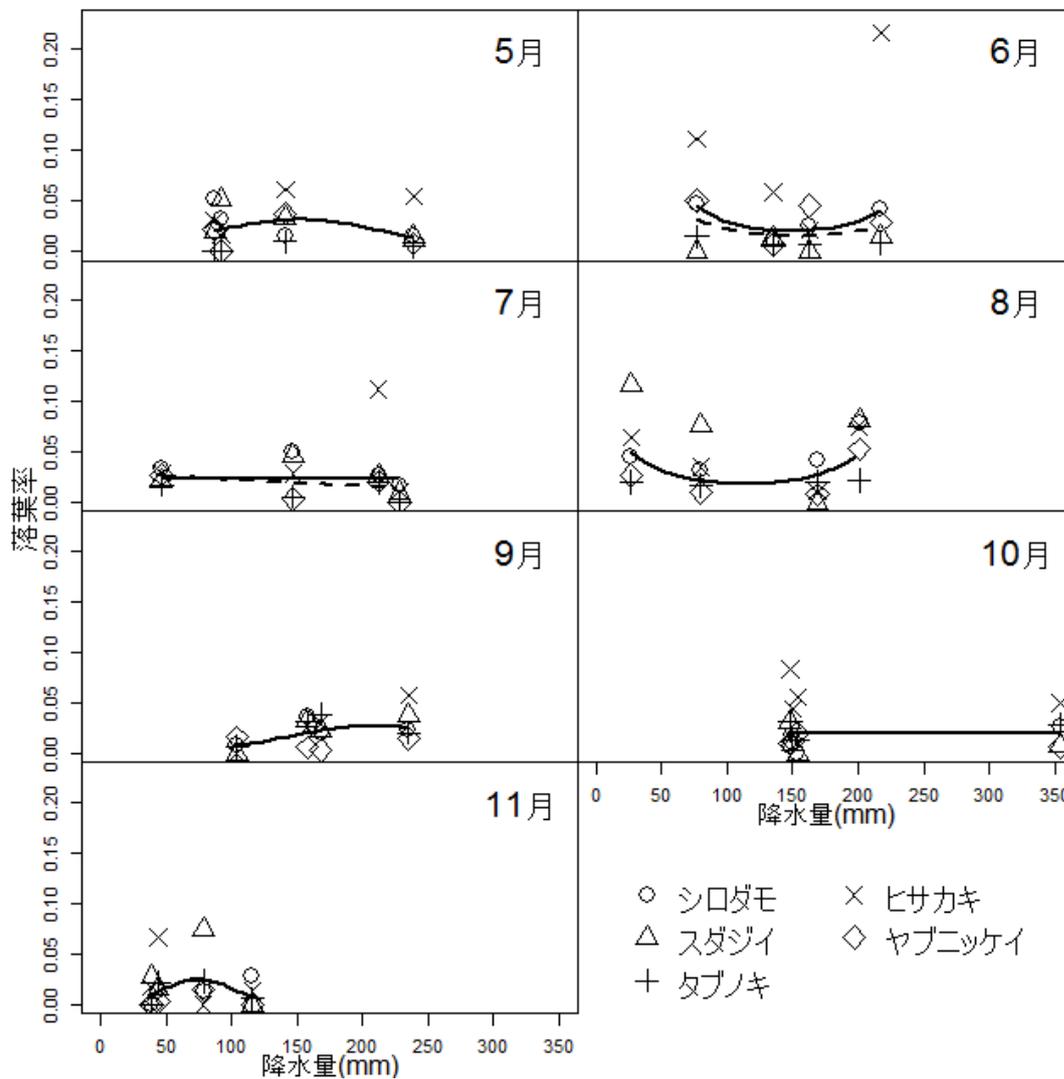


図 2.11 各月ごとの落葉率と降水量の関係。図の実線は AIC により選択された一般化線形モデルの予測。点線はヒサカキを除いたデータを用いて作成され、選択されたモデルの予測。

## 2.4 考察

### 2.4.1 開葉時期

先行研究 (Nitta and Ohsawa1997) にあるとおり、ヒサカキ以外の 4 種は一斉開葉型でヒサカキはマルチプルフラッシュだった。ヤブニッケイの一部の個体が 9 月に二度伸びをした。ヒサカキはマルチプルフラッシュであったが、同じような数の葉がコンスタントに毎月でてくるのではなく、春と秋にピークのある 2 山型であり、冬には開葉が止まった。順次開葉とは異なっていると思われる。ヒサカキは光合成がもっとも盛んな夏に炭素化合物をおおく蓄積し、余剰生産物が生まれ、その養分を使って開葉をするために秋に 2 度目のピークがおこるものではないだろうか。ヤブニッケイでみられた二度伸びも同様に夏によく光合成ができ余剰生産物ができたためにその養分を使って秋に葉を生産したのではないかと考えられる。マルチプルフラッシュするといわれているヒサカキであるが、春から夏にかけて光合成があまりできければ、異なる開葉パターンになるかもしれない。

開葉時期の個体間差はスダジイ、ヤブニッケイ、シロダモでは毎年 1 か月ほどあり、開葉時期の個体間の違いがみられた。同所的に生息している個体群とはいえ、微環境や生育条件のミクロな違いによって 1 か月近く、個体どうしで異なってくるものとおもわれる。温度など環境条件が要因として考えられ

るが、個体間の開葉日のずれの原因は明らかでない。タブノキ、ヒサカキの個体の違いはそれぞれ4年間で13日から24日、7日から18日と種内での同調性は高かった。

開葉の時期と展葉した枝の伸長量との関係を検討した結果、スタジイ、シロダモで両者は有意な関係をもたず、ヤブニッケイ、タブノキでは有意な関係が見られた。旺盛な成長をする、勢いのある個体ほど展葉が早く、あまり生育が芳しくない、勢いのない個体ほど展葉が遅いという関係が、ヤブニッケイ、タブノキにおいてありうることを示唆した。しかし、ヤブニッケイ、タブノキで枝の伸長量によって説明された開葉開始日の分散は小さく、多くの分散が説明されずに残った。開葉時期を決める要因には温度が重要 (Doi 2008) と考えられている。これら2種は光環境がよく、そのため葉の温度が高く、成長の条件がいいところで開葉日が早まったのかもしれない。

開葉日の種間差は種内差よりも大きく、種間差は有意だった。常緑広葉樹稚樹は開葉時期が種間で同調していなかった。寒い地方の種は開葉時期が遅いと思われる。種ごとに分布域やニッチが異なっていてニッチが重複したために同所的に生息しているが、それぞれの分布域やニッチに対応した異なるフェノロジーをもっていて、開葉日が異なった可能性が考えられる。しかし、同所的な環境にもかかわらず種ごとに最適なスケジュール戦略が異なっている可能

性もある。開葉日は低木種のほうが早い (Liu et al. 2011, Punchen et al. 2014) といわれている。本研究ではヒサカキの開葉開始日が最も早かった。ヒサカキは樹高 15m の亜高木まで育つが、低木の段階から繁殖を開始し、それほど高い樹高はあまり観察されず、低木種としての性質が強い。ヒサカキの早い開葉は低木種が早いという先行研究を裏付ける結果だろう。5 種の種間の比較であり一般性を主張するには乏しいデータ数であるが、LMA と開葉日に正の相関があった。新葉の成熟期は葉はまだ柔らかく貧弱であるために、なるべく早く硬く成熟した葉を完成させる必要がある。LMA の高い葉を作るのに同じ代謝速度では時間がかかることが予想される。展葉してからなるべく早く葉を完成させるため LMA の高い葉は速い代謝速度を必要とし、そのために温度が必要なために、春から少し遅い時期に開葉する可能性があるのではないだろうか。低木種で開葉が早いこと、LMA が高いと開葉が遅いことから、同所的に生息しているが種の形質が異なることが原因で、最適なスケジュールが異なる可能性が示唆される。しかし、LMA と開葉日の関係を調べた研究はほとんどなく、Liu et al. (2011) の研究では、LMA と開葉日は負の相関であったことを報告している。本研究はこの結果と矛盾する。LMA を含めた葉の特性と開葉日との関係は調べられておらず、さらなる調査の蓄積が必要である。

#### 2.4.2 開葉の年変動

2元配置分散分析の結果、2008年は2005年に比べ全体の開葉の平均が8日ほどおそかった。平均でみると1週間ほどのわずかな違いであるが、毎年の気象条件の違いを反映して、開葉日に変化することが示唆された。

各年の各個体の開葉日までの有効積算温度を種ごとに平均し、その平均有効積算温度による開葉日の推定をおこなった結果、各年の開葉日の違いを説明することができなかった。本研究では開葉開始日と気象との密接な関連を見つけることができなかった。スダジイで選ばれた2月が起算日のモデルでは、特に2005年の推定が実際よりも遅かった。年ごとに起算日から開葉日までの有効積算温度が異なることを示した。スダジイ以外の種で2月1日を起算日にしたモデルのRMSEが他のモデルよりも高くなったのは、特に2005年の開葉日の推定が実際の開葉日とずれていて、実際は他の年よりも低い有効積算温度で開葉したことが原因だと思われる。有効積算温度モデルによる開葉日の推定は年変動を説明するのに適切ではないのかもしれない。また温度以外の要因が開葉日に影響する可能性も考えられる。2005年は開葉が始まる4月、5月において日照時間が他の年よりもよりも長かったという特徴がある。日照時間の長さ、開葉可能な有効積算温度を低くしたことも考えられる。常緑広葉樹の開葉日を温度だけで説明するのは難しく、他にも開葉日に影響する要因があるだろ

う。

個体ごとに4年間の開葉日の違いをみると、個体によって大きく異なっていた。年変動の少ない個体では、ヒサカキの2日の違いから、スタジイ、タブノキの4日の違いであり、毎年ほとんど同じ日に展葉している個体があった。しかし一方で、年変動の大きい個体ではおよそ1か月開葉日がずれていて、シロダモでは70日以上ずれたものもあった。場所によっては一か月近く開葉日に変動を起こすような環境要素のなにかが大きく年変動していることが示唆される。

#### 2.4.3 落葉のパターン

落葉は一部の例外をのぞいて、全種共通で冬はほとんどみられなかった。冬は植物の活動レベルが低下しているために、体内の物質を分解し回収するという複雑な代謝が必要な落葉は起きにくいものと思われた。落葉パターンは年ごとに異なっていた。毎年環境変動が影響し、落葉パターンは変化する可能性が示唆された。

年ごとに落葉のパターンは異なるが、大まかに4年間の傾向を捉えたときに、開葉時期にピークがあるものと、そうでないものにわかれた。ヤブニッケイ、シロダモ、ヒサカキは展葉期や展葉期から少し遅れた5月や6月に落葉のピークがあった。ヤブニッケイ・ヒサカキは初夏の一山形の落葉パターン、

シロダモは初夏と夏の二山型の落葉パターンだった。シロダモ・ヤブニッケイでは先行研究 (Nitta and Ohsawa 1997) とほぼ一致しているといえる。ヒサカキは先行研究では落葉パターンは多峰型とされ先行研究と一致していないかった。一方でスタジイでは 2005 年春にはピークがあったものの他の 3 年間では春の落葉数は少なく、タブノキでは 4 年を通じて春の落葉数は少なかった。その代り、夏から秋にかけて落葉のピークが一つあった。先行研究ではスタジイは春に落葉の大きなピークがある (長尾 2003、Nitta and Ohsawa 1997)、タブノキは春から夏にかけて多くの落葉がある (長尾 2003)、または春と夏から秋にかけての 2 山型のピークがある (Nitta and Ohsawa 1997) と報告されている。先行研究と本研究の調査結果は異なった。日本の常緑広葉樹において夏に 1 つのピークといったパターンや秋に 1 つのピークといった夏型、もしくは秋型落葉パターンの報告は過去にみられないが、本研究では夏型もしくは秋型の落葉パターンというあまり見られないパターンがみられた。本研究では何が落葉パターンを変えたのか明らかではないが、土壌養分量や水分量の違いなど、生息している環境により落葉パターンは異なる可能性が考えられる。本研究は落葉パターンの普遍性について疑問を投げかけ、種内、種間でより多様である可能性を示している。

ヤブニッケイ・シロダモ・ヒサカキでは展葉が開始するタイミングに、

もしくはそれから少し遅れて落葉のピークがあった。この時期は落葉しない古い葉からも養分が新葉へ転流する（詳しくは第4章）。このことから新葉が強く養分を要求し、古い葉は新葉に養分を奪われるために落葉が多くなることが推察される。展葉期に落葉が多かったことは、春に個体が持っていた養分量が新葉生産量に対して小さく、余裕の少ない成長をしていると考えることができる。

シロダモ・ヒサカキは落葉のピークが開葉開始日から少し遅れていた。葉は出現してから直後はまず構造の構築を行い、その後、葉の内容を充実させるという遅延緑化が知られている（Numata et al. 2004）。そのため葉の展開直後よりも少し後の6月のほうが栄養分のシンクが強く落葉が多くなるのではないだろうか。ヒサカキはマルチプルフラッシュなので展葉開始後しばらく葉の出現が続き新葉の数が徐々に増えていく。そのためシンクの最も強い時期が、展葉開始から少し後にずれていて、落葉のピークが開葉開始日の後なのかもしれない。スダジイ、タブノキでは新葉の成長という強い養分のシンクが存在するにもかかわらず、古い葉を落としてその養分を新葉に転流させるという現象がおきていなかったといえる。新葉の強いシンクの影響は古い葉の養分動態に影響しないわけではない。新葉の成長期には古い葉の養分量は新葉が吸い取るために減少する（詳しくは第4章）。それにもかかわらずスダジイ・タブノキでは落葉が起きていなかったといえる。落葉する葉からは生存に必要なたんぱく質も

分解され転流するために、落葉しない葉よりもより多くの物質が転流する。これら 2 種は展葉時期に多くの落葉をさせずとも、新葉の成長に必要な養分を賄うことができたと考えられる。よって春に個体が持っている養分量が新葉生産量に対して豊富で、余り気味であった可能性がある。

夏から秋の落葉の要因としては、新葉の強いシンクが原因と指摘される春の落葉と異なった要因が予想されていて、夏に蒸散が多くなることによる乾燥や台風などの要因 (Nitta and Ohsawa 1997) が考えられている。台風は同所的に生息しているすべての個体に対して影響があるために、種ごとに影響が偏るとは考えにくい。8月の落葉率は降水量と強い関係がみられたことから、8月は水分量が原因による落葉が起きやすいことを示唆する。夏から秋にかけての落葉が多かった種と少なかった種があったのは、乾燥の影響が種ごとに異なっていたのではないだろうか。乾燥が原因だとするとヒサカキ、ヤブニッケイは展葉以降の初夏に落葉が多いためにもともと蒸散面が少なく、蒸発散量が多くなる乾燥する夏に葉を減らして蒸散量を減少させる必要がなかったのではないかと考えることができる。しかし、ヤブニッケイも 2008 年には夏の落葉が多かった。2008 年は 7 月に 4 年間の中でも際立って強く乾燥した年で、7 月の落葉数には反映していないが、翌月の 8 月に影響がでたのではないだろうかと思われる。一方でスダジイ・タブノキは断定はできないが、春から初夏にかけて落

葉が少ない分、蒸散量の多い季節に根からの水分吸収量をつりあわせるため、多くの葉を落葉させる必要が夏にあったのかもしれない。個体が持つ葉量を制限する要因が栄養分の量であったり、水分量であったりと種ごとに異なっているため、種ごとに落葉パターンが異なっていたのではないだろうか。測定個体が林床に生息している樹高 3m 以下の稚樹であり、光が個体の成長を強く律速することが養分利用の性質を変え、落葉パターンに影響した可能性もあるだろう。

夏から秋にかけての落葉も葉はまず黄化し、養分の回収がなされる。春に落葉が少なく、夏から秋に落葉が多かったスダジイ、タブノキは秋落葉の養分を体内に貯蓄したと予想される。春、もしくは夏から秋、いつ落葉がおおいかどうかは個体全体の養分利用効率には関係がないだろう。

#### 2.4.4 落葉率と降水量

降水量が多く、湿潤であるほど落葉が少ないという関係が顕著にみられたのは8月のみであった。7月と11月、そして落葉が新葉への物質の転流のためにおると考えられる5月、6月にもほんのわずかではあるがこの傾向は見られた。8月の顕著な傾向は乾燥が落葉に影響する可能性を示唆する。他の月は降水量の違いのよらずほぼ落葉率は一定だった。8月に顕著な降水量と落葉率の関係を示したことは、土壤の乾燥は最も気温が高く蒸散量が多い8月において特に影響

が大きく、気温が低いと乾燥の落葉率への影響は小さくなることを示唆する。

#### 2.4.5 落葉率と齡

スダジイとヒサカキで当年葉の落葉数が比較的多く、落葉率が比較的高かった。一方で1年葉の落葉率は非常に低いレベルだった。当年葉の展開した直後のまだ葉が未成熟な時期は、虫による食害にあう可能性が非常に高く、危険な時期であることが示された。また成熟し葉が完成すると、落葉率が減ったことから、細胞壁の構築など葉の成熟が食害のリスクを大きく低減することが示された。この結果はまた食害のリスクを回避するために葉をなるべく早く完成させることが重要であることを示唆する。

スダジイ、ヒサカキの当年葉を除き、調べたすべての種において落葉率は齡が上がるほど高まった。スダジイ、ヒサカキは2年生の葉から、シロダモは3年生の葉から落葉率が急激に上昇した。このことは、植物が古い葉を積極的に選んで落葉させていることを示している。葉は齡が上昇すると光合成能力を下げることが知られている(菊澤 2005)。葉は古くなると上部にでてくる新しい葉に被陰され、暗くなり、光合成をするために必要な環境が劣化していく。また古い葉は老化が原因により光合成能力を下げ、窒素利用効率を下げる(Ethier et al 2006、Han et al. 2008)。古い葉に投資されている窒素を新しい

光環境の良い葉に回した方が個体の光合成量が向上すると考えられる (Field 1983、Hirose and Werger 1987)。植物は古い葉を選択的に落葉させていることは、個体全体での物質生産を効率的にしているだろう。

#### 2.4.6 結論

耐陰性のある常緑広葉樹という同じ生態的性質にもかかわらず開葉時期は種ごとに異なっていた。同所的環境に生息しているにも関わらず種ごとにスケジュールの戦略が異なるか、分布域が異なっていることを反映しているかだと予想される。低木種の開葉が早いという一般的傾向 (Liu et al. 2011, Punchen et al. 2014) とヒサカキの開葉の早さが対応すること、LMA と開葉時期に相関があったことから種の形質が開葉時期の違いと関係し、同所的な環境の中で最適スケジュールが異なる可能性が示唆された。齢が高いほど葉の落葉率が高いことから、植物は光合成能力が低下し、樹冠の下部の方に位置する被陰されたもっとも古い葉を選択的に落葉させ物質利用効率を高めていると思われた。有効積算温度は開葉日の年ごとの違いを完全に説明できなかった。温度以外の要因が開葉開始日に影響している可能性を示唆する。新葉の成熟期に落葉のピークがあったヤブニッケイ、ヒサカキ、シロダモは、貯蔵物質の転流、落葉させない葉からの転流、根からの吸収だけではなく、落葉からの養分回収

も使って新葉の成長が要求する養分を満たしていると考えられる。春に個体が持っている養分量に対する新葉生産量が大きく、余裕の少ない養分利用をしていると推察される。一方で、スタジイ、タブノキは展葉期に落葉が少なかった。新葉の成熟には、落葉からの養分の回収を使わずに、貯蔵物質の転流、落葉させない葉からの転流、根からの吸収だけで十分であったと思われた。すなわち春に個体が持っている養分量に対する新葉生産量が小さく、余裕を持った養分利用をしていると推察される。種ごとの落葉パターンの違いまた先行研究との落葉パターンの違いの原因はなんなのか本研究では明らかではないが、春に個体が持っている養分量に対する、新葉生産量に種差があることが推察された。スタジイ・タブノキ・シロダモでは夏から秋にかけて落葉のピークがあった。夏から秋の落葉は乾燥が原因だという指摘 (Nitta and Ohsawa 1997) がある。養分量か水分量などその他環境要因か、何が葉量を律速しているかで落葉パターンは異なっているのではないだろうか。8月は降水量の落葉率への影響がみられ、気温が高いと植物が持てる葉量に対して水分量を与える影響が強くなることを示唆する。

## 第 3 章 葉のクロロフィル含量と窒素含量の推定モデルの構築

### 3.1 はじめに

光や窒素が制限された環境における光合成についての適応や順応を理解するためにクロロフィル含量の測定は重要である (Niinemets 2010)。葉の重要な機能である最大光合成速度 (Field and Mooney 1986、Ellsworth and Reich 1992、Reich et al. 1997、Wright et al. 2004) や呼吸速度 (Reich et al. 1997、Lusk and Reich 2000、Wright et al. 2004) と密接な関係にあることから、窒素含量の測定もまた重要である。また、葉の養分利用戦略を理解するうえで、クロロフィル含量・窒素含量の時系列変動を測定することは有効である。葉のクロロフィル含量、窒素含量の普通よく実施される測定方法は破壊的な測定である。測定時に葉は採集された後、破壊される (Porra et al. 1989、Cornelissen et al. 2003)。このタイプの測定方法は時間とお金がかかる。またさらに一つの葉を繰り返し測定することが不可能である。そこで、光学的機器を用いて、葉内クロロフィル含量や窒素含量を迅速かつ非破壊的に測定する方法が開発されてきた (例えば Yadava 1986、Cambell et al. 1990、Ichie et al. 2002)。これらの方法は野外において一つ一つの葉のクロロフィル含量と窒素含

量を迅速に大量のデータを取得することが可能であり (Yadava 1986、Yamamoto et al. 2002)、葉の一生をかけた様子も測定することができる。

光学的機器の測定値とクロロフィル、窒素含量との関係の重要な特徴は、これらの関係が種特異的であり、品種特異的であることであり (Jifon et al. 2005、Marenco et al. 2009、Coste et al. 2010)、また生育状況の影響を受けることである (Cambell et al. 1990、Martinez et al. 2004、Pinkard et al. 2006、Marenco et al. 2009)。それゆえに、種ごとに別のモデルを構築する必要がある。

光学的機器を用いて正確にクロロフィル含量と窒素含量を測定するためには、光学的機器の測定値とクロロフィル含量と窒素含量の関係が季節変動するかもしれないことを考える必要がある。今までの既往研究ではこれらの関係の季節変動について、一貫した結果が得られていない。Neilsen et al. (1995) はいくつかのリンゴの品種において 5 月から 8 月までの 4 つの時期において SPAD 値と窒素含量の関係式を構築し、時期の効果を観察した。Chang and Robinson (2003) もまた落葉樹 (*Liquidambar styraciflua*) において SPAD 値とクロロフィル含量の関係が季節的に変化することを発見した。対照的に、Eguchi et al. (2006) は落葉樹種 (*Betula platyphylla* と *Betula maximowicziana*) においてアグリエキスパートの測定値と葉の窒素含量の関係は成長期(5 月と 6 月に採集)の葉と成熟した葉(7 月と 8 月に採集)で変わらなか

ったことを見出した。しかしながら、これらの研究は研究対象種が落葉樹であるために季節変動と葉の齢の効果を区別できていない。吸光度にはクロロフィル a/b 比や葉の厚さの指標となる葉の面積当たりの乾燥重量が影響するかもしれない。これらの季節変動は推定式に影響する可能性があるだろう。

葉寿命は一般的に常緑樹種のほうが落葉樹種よりも長く (Kikuzawa and Lechowicz 2011)、葉の一生の中で葉の機能は時間とともに変化をする (Niinemets 2010, Kikuzawa and Lechowicz 2011)。長い葉寿命があり、機能が大きく変化するなかで、常緑樹の形質の非破壊的な測定方法は葉の一生を通じた葉の機能の評価を可能にするために、特に有用である。特に常緑広葉樹にとっては、光学的機器の測定値と葉のクロロフィルや窒素含量との関係に季節変動がある可能性を調べることは重要である。なぜならば関係式は 1 年をとおして使われるからである。またさらに、常緑広葉樹では季節の効果を葉齢の効果と切り離すことができる。

本章の目的は、日本の暖温帯に生息する5種の常緑広葉樹(*Castanopsis sieboldii* (Makino) Hatus. (CaS)、 *Cinnamomum tenuifolium*。 (Makino) Sugim. ex H.Hara (CiT)、 *Eurya japonica* Thunb. (EuJ)、 *Machilus thunbergii* Siebold et Zucc. (MaT), and *Neolitsea sericea* (Blume) Koidz. (NeS)) の面積当たりのクロロフィル含量と窒素含量を光学的機器の測定値から予測するモデルを構築することで

ある。モデル選択の結果に基づいて、モデルに季節的な調整を含める必要性があるかどうかを検討した。またSPADとクロロフィルa/b比の季節変動、アグリエキスパートとLMAの季節変動の関係を検討した。

## 3.2 研究の方法

### 3.2.1 対象種

研究対象として、常緑広葉樹 5 種（シロダモ(NeS)、スタジイ (CaS)、タブノキ (MaT)、ヒサカキ (EuJ)、ヤブニッケイ (CiT)) を選んだ。これらは日本の暖温帯域において主たる構成要素である。耐陰性があり、林冠木(スタジイとタブノキ) か亜林冠木(ヤブニッケイ、ヒサカキ、シロダモ)である。商業的にはそれほど重要な種ではないけれども、たまに木材やそのた木製の製品に使われ(スタジイ、タブノキ、シロダモ)たり、園芸用の木として使われる (ヤブニッケイとヒサカキ)。

### 3.2.2 採集

日本の千葉大学園芸学部キャンパス内の樹林地 (35°46' 58''N,139°54' 2''E, 20 m a.s.l) に生息している稚樹から葉を採集した。選んだ稚樹は自然に発生したもので、30cm–3mの高さであった。サイズから4年から15年の齢であると推察される。稚樹は林冠木により被陰されていた。稚樹は施肥されていない。葉を1年に6回(2007年の6月、8月、10月、12月、2008年の3月と4月)採集した。タブノキの窒素含量についての4月のデータのみ取得できなかった。葉はほぼランダムに採集したが、広い範囲の齢と葉色をカバーできるように採集した。各調

査日に、クロロフィル含量測定用に葉を各種およそ20枚、窒素含量測定用に葉を9枚から18枚集めた。

### 3.2.3 測定

面積当たりのクロロフィル含量、窒素含量を推定するために *SPAD-502*(コニカミノルタ株式会社；以後 SPAD)とアグリエキスパート *PPW-3000*(株式会社サタケ；以後 アグリエキスパート)をそれぞれ使用した。SPAD は樹木の葉のクロロフィル含量を測定するのに広く使われている(例えば、Cambell et al. 1990、Markwell et al. 1995、Martinez and Guiamet 2004、Coeste et al. 2010)。アグリエキスパートは葉の窒素含量を測定する道具として開発された (Ichie et al. 2002、Eguchi et al. 2006、Kitahashi et al. 2008)。両方とも選択された波長の吸光度を測定する：SPAD は 2 つの波長の光(650 と 940nm)の葉の吸光度を測定し SPAD 値を計算する(Udding et al. 2007)。アグリエキスパートは 4 つの波長の光(560,660,900,950nm: Ichie et al. 2002、Eguchi et al. 2006)の吸光度を測定する。これら光学的機器の測定値と葉のクロロフィル含量、窒素含量を結びつける推定式は機器の使用者が構築しなければならない。

クロロフィル用にとったおよそ 20 枚のサンプルを実験室に持ち帰り、

葉一枚につき 1 枚～2 枚のリーフディスク(0.785cm<sup>2</sup>)を取った。それぞれのディスクの上で SPAD を 3 か所測定し、平均を計算した。SPAD 値は 1 日の間に变化する可能性がある(Martinez and Guamet 2004、Nauš et al. 2010)ため、測定は 10:00 から 12:00 の間に行った。SPAD を測定したあと、リーフディスクから破壊的に N,N'-dimethylformamide を溶液としてクロロフィルを抽出し、Porra et al. (1989)の方法によってクロロフィル量を決定した。常緑広葉樹は溶液に抽出しにくい構造をもっていることから、クロロフィルはただ溶液に浸すだけでは抽出できない、そこで、ホモジナイザーを用いてディスクを破壊し溶液に浸した。その後、溶液を遠心分離機にかけ、分光光度計(V-550, 株式会社 JASCO、東京、日本)でクロロフィル a、クロロフィル b の濃度を測定した。測定後、単位面積あたりのクロロフィル量を算出した。

各種 9–18 枚の葉の面積当たりの窒素含量を各測定日に測定した。560、660、900、そして 950nm の波長の吸光度を各葉 5 点、アグリエキスパートで測定した。つぎに、葉をデジタルスキャナー(PM-A850、セイコーエプソン株式会社)でスキャンをし、葉面積を求めた。葉は 80°C で 72 時間以上乾燥させ、電子天秤で乾燥重量を測定し、単位面積あたりの乾燥重量 (LMA) を算出した。乾燥した葉を粉々にし、CN コーダー(MT-700、ヤナコテクニカルサイエンス株式会社)をつかって窒素含有量を測定した。その後、面積当たりの窒素含量を計算

した。

### 3.2.4 統計分析

#### 3.2.4.1 モデル選択

クロロフィル含量と窒素含量を推定するモデルは、ベイズ統計に基づいて複数のモデルを作成し、そしてモデル選択を用いて作られた。候補モデルの中の最良のモデルは deviation information criterion (DIC)(Speigelhalter et al. 2002)によって選択した。候補モデルのいくつかは季節の調整項を含んでいる。もし最良のモデルが季節の調整項を含んでいたならば、光学的機器と面積あたりのクロロフィル含量、窒素含量の関係は季節変動することを示すとした。

#### 3.2.4.2 モデル

**基礎モデル：**SPAD 値とクロロフィル含量を関連させる基礎モデルには 2 次式または 3 次式を用いた。アグリエキスパートの測定値と窒素含量を結びつける式は 1 次式または 2 次式を用いた。2 次式または 3 次式を SPAD 値とクロロフィル含量を関連させる式に用いたのは、これらの関係はしばしば曲線である (Markwell et al. 2010、Jifon et al. 2005、Uddling et al. 2007、Coste et al. 2010、Nauš et al. 2010)からである。式は以下に示す

$$Chl_{area} = b_0 + b_1 SPAD + b_2 SPAD^2$$

$$Chl_{area} = b_0 + b_1 SPAD + b_2 SPAD^2 + b_3 SPAD^3$$

$Chl_{area}$  は面積当たりのクロロフィル含量( $\mu\text{gcm}^{-2}$ )で、SPAD は SPAD-502 の測定値、 $b_0$ - $b_3$  は統計解析によって推定されるモデルのパラメーターである。

窒素含量についての 1 次式、2 次式のモデルは以下に示す。

$$N_{area} = b_0 + \sum_{i=1}^4 (b_i LED_i)$$

$$N_{area} = b_0 + \sum_{i=1}^4 (b_i LED_i) + \sum_{i=5}^8 (b_i LED_{(i-4)}^2)$$

$N_{area}$  は面積当たりの窒素含量( $\mu\text{gcm}^{-2}$ )を表し、 $LED_i$  はアグリエキスパートの 4 つの波長の測定値の内  $i$  番目の測定値を表す、そして  $b_0$ - $b_8$  は推定する必要のあるモデルのパラメーターである。

**季節の効果のあるモデル：** 光学的機器と面積当たりのクロロフィル含量、窒素含量の関係にあるかもしれない季節変動を表現するのに、基礎モデルのパラメーターが季節的に変化すると仮定して計算した。式は以下に示す。

$$b_i = \alpha_i \sin\left(\frac{2\pi}{365} DOY\right) + \beta_i \cos\left(\frac{2\pi}{365} DOY\right) + \gamma_i \quad (i = 1-8) \quad (1)$$

$b_i$ は基礎モデルのパラメーター、DOYは年間通算日、 $\alpha_i$ 、 $\beta_i$ 、 $\gamma_i$ はモデルのパラメーターである。式(1)は以下のように変形できる

$$b_i = B_i \left\{ \cos\left(\frac{2\pi}{365} DOY - \theta_i\right) + \gamma_i' \right\} \quad (2)$$

$$\gamma_i' = \gamma_i / B_i \quad (3)$$

$$\theta_i = \begin{cases} \arctan|\beta_i/\alpha_i| & (\alpha_i \geq 0, \beta_i \geq 0) \\ -\arctan|\beta_i/\alpha_i| & (\alpha_i \geq 0, \beta_i < 0) \\ \pi - \arctan|\beta_i/\alpha_i| & (\alpha_i < 0, \beta_i \geq 0) \\ \pi + \arctan|\beta_i/\alpha_i| & (\alpha_i < 0, \beta_i < 0) \end{cases} \quad (4)$$

ここで  $B_i$  は振幅、 $\theta_i$  は位相のずれ、そして  $\gamma_i'$  は定数を表す。これらは以下のように計算される

式(2)–(4)はパラメーター $b_i$ がコサイン関数に従って決まった周期(1年)で季節変動をする様子を示している。振幅( $B_i$ )、位相のずれ( $\theta_i$ )、定数( $\gamma_i'$ )はデータに対してモデルをフィッティングさせることを通して推定した。今後、この周期関数をもったクラスのモデルを“季節変動項を持ったモデル”と呼ぶ(例え

ば、季節変動項をもった2次式)。光学的機器とクロロフィル、窒素含量の関係式に季節性が必要かどうかは、基礎モデルと各基礎モデルに対応する季節変動項をもったモデルを比較することで評価する。

**ランダム変数をもった混合モデル**: 1年に6回データを集めたので、データには各測定機会に関連した原因が未知のランダムエラーが含まれている。これらのランダムエラーは光学的機器とクロロフィル含量、窒素含量の関係にバイアスをかける。この測定日に関連したランダム効果を取り出すために、ランダム効果の項をモデルに付け加えた。今後、このクラスのモデルを混合モデルと呼ぶ(たとえば線形混合モデル)。ランダム効果を項に持つモデルは、対応するランダム効果モデルを持たないモデルと違うものと考えられるが、クロロフィル含量、窒素含量と光学的機器の測定値の関係は共通なために、両者は本質的に似ている。ランダム効果を処理するために、階層ベイズモデルを使った。

**ランダム効果と季節の変動項を持ったモデル**: 最後のクラスのモデルとして、光学的機器の測定値とクロロフィル含量、窒素含量の関係に季節変動項を持ち、また各測定日に関連したランダム効果を持ったモデルを考えた。数学的には、季節変動項を持ったモデルにランダム効果を表す項を付け足す形で表した。今

後このモデルを“季節変動項をもった混合モデル”とよぶ(例えば、季節変動項をもった2次混合モデル)。

### 3.2.4.3 ベイズ推定

本研究でつかったベイズ推定についての詳細を説明する。クロロフィル含量、窒素含量の観測値は3.2.4.2節で説明したモデルによってもたらされる平均をもった正規分布に従うとみなした。正規分布の精度(分散の逆数)は無情報の事前分布(ガンマ分布で形状母数 $1.0 \times 10^{-4}$ 、尺度母数 $1.0 \times 10^{-4}$ )に従う確率変数とした。またすべてのモデルパラメーターは無情報事前分布(平均が0で精度が $1 \times 10^{-6}$ )に従うとした。ランダム効果をもった階層ベイズモデルでは、平均0で精度が無情報超事前分布(ガンマ分布で形状母数 $1.0 \times 10^{-4}$ 、尺度母数 $1.0 \times 10^{-4}$ )に従うものとした。

クロロフィル含量をもっともよく説明するモデルは各種に対して8つ(2つの基礎モデル(2次式と3次式) x 4つのモデルタイプ(基礎モデル, 季節変動項を持ったモデル, 混合モデル, 季節変動項を持った混合モデル)の中から選ばれた。窒素含量を最もよく説明するモデルは各種に対して8つ(2つの基礎モデル(1次式と2次式) x 4つのモデルタイプ(基礎モデル, 季節変動項を持ったモデル, 混合モデル, 季節変動項を持った混合モデル)の中から選ばれた。

モデル選択の際にはもっとも低い DIC を持ったモデルを最良とした。選ばれたすべてのモデルについて、決定係数 ( $R^2$ ) を相対的なあてはめりのよさを表す指標として、平均 2 乗誤差 (RMSE) を絶対的なモデル推定の正確さを表す指標として計算した。

事後確率分布からのサンプリングはマルコフ連鎖モンテカルロ法 (MCMC) をソフトウェア *WinBUGS* (Speigelhalter et al. 2003) を用いて行った。ほとんどのモデルに対しては 3 つの独立した MCMC チェインを計算し、5,0000 のバーンインのあと 2,0000 サンプルを記録した。事後分布から自己相関のない独立したサンプル値が得られるように、20 サンプルごと 1 つの値を記録し、その他の値は間引いた。いくつかの窒素含量のモデル (季節変動項をもった 1 次混合モデルと季節変動項をもった 2 次混合モデル) は前記の方法では MCMC サンプリングが収束しなかったため、3 つのチェインそれぞれでバーンイン 2,0000 回のあと 10,0000 回サンプリングをし、100 サンプルごとに 1 つの値を記録する割合でチェインを間引いた。それぞれのパラメーターの MCMC チェインの収束は  $\hat{R}$  (Gelman et al. 2004) で判定した。それぞれのパラメーターの事後平均と 95% ベイジアン信用区間を事後分布のサンプリングから算出した。

### 3.3 結果

#### 3.3.1 面積当たりのクロロフィル量 ( $\text{Chl}_{\text{area}}$ ) のモデル

もっとも DIC が低かったモデルは、ヤブニッケイ、シロダモに対しては 2 次混合モデル、スダジイ、タブノキに対しては 3 次式、ヒサカキに対しては、季節変動項をもった 2 次式だった (図 3.1)。ヒサカキでは、もっとも DIC が低かったモデルと、2 番目に低かったモデルの差は無視できるほど小さかった。

DIC のパターンは種間で似た傾向と異なる傾向があった。スダジイを除くすべての種では、ランダム効果をもったモデルのほうが対応するランダム効果のないモデルよりも DIC が一般的に低かった。スダジイ、タブノキ、そしてシロダモでは、季節変動項がないモデルのほうが対応する季節変動項を持つモデルよりも DIC が低かった。ヤブニッケイ、ヒサカキでは逆のパターンが見られた。

スダジイ、タブノキに対しては同じモデルが選択されたにもかかわらず、推定されたモデルのパラメーターは非常に異なっていた (Table 3.1)。例えば、タブノキの推定結果における  $b_1$  の 95%信用区間には、スダジイの  $b_1$  の事後平均を含んでいない。

$\text{Chl}_{\text{area}}$  モデルの決定係数 ( $R^2$ ) は本研究で調べたすべての種で 0.9 よりも高かった。平均 2 乗誤差 (RMSE) は 3.90 から 5.99 $\mu\text{g}$  だった (図 3.2)。

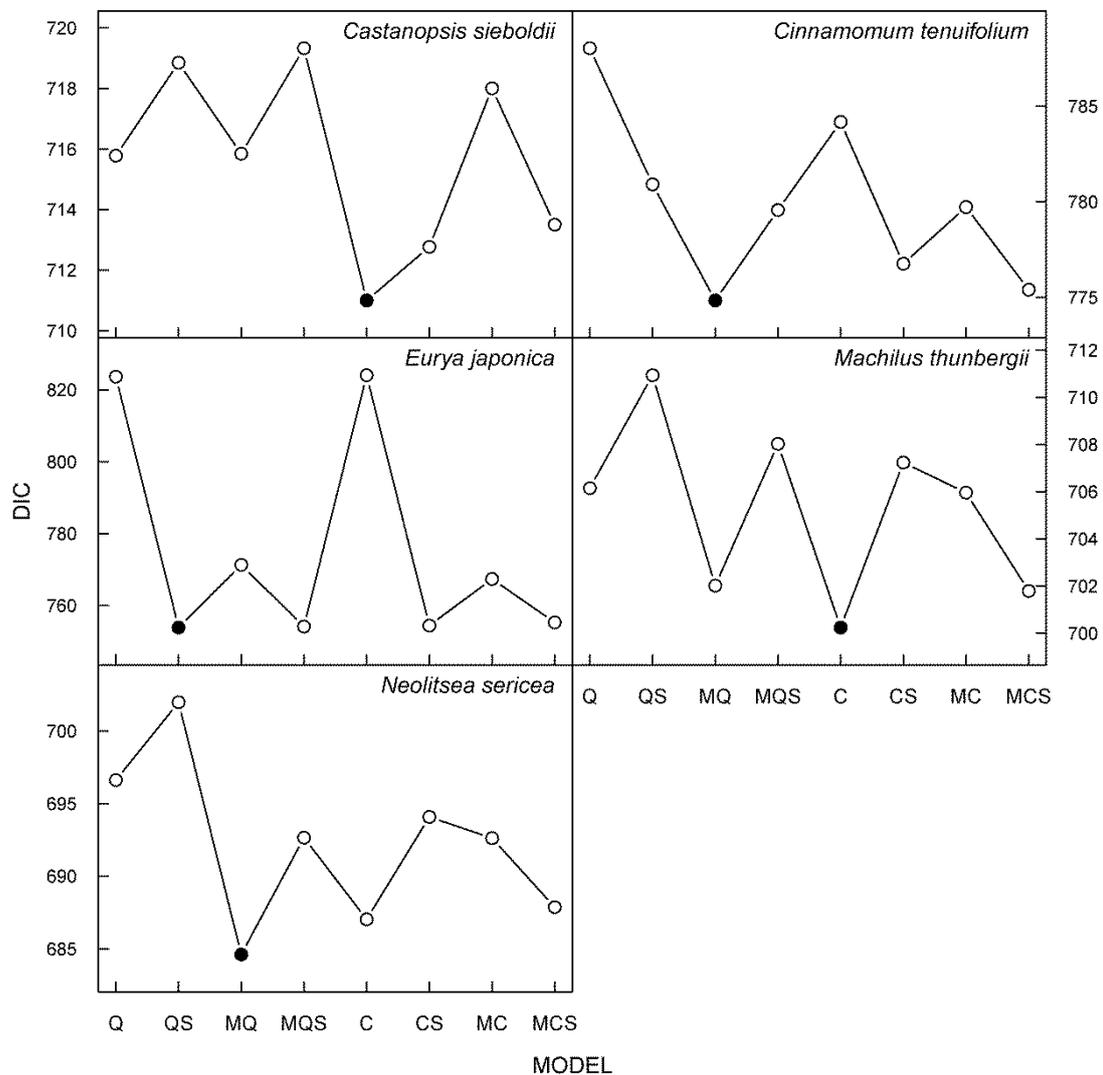


図 3.1 SPAD-502 の読み値を使用した面積当たりのクロロフィル含量 ( $\text{Chl}_{\text{area}}$ ) を推定するための各モデルの DIC。Q-2 次式、QS-季節変動項を持った 2 次式、MQ-2 次混合モデル、MQS-季節変動項をもった 2 次混合モデル、C-3 次式、CS-季節変動項を持った 3 次式、MC-3 次混合モデル、MCS-季節変動項を持った 3 次混合モデル。

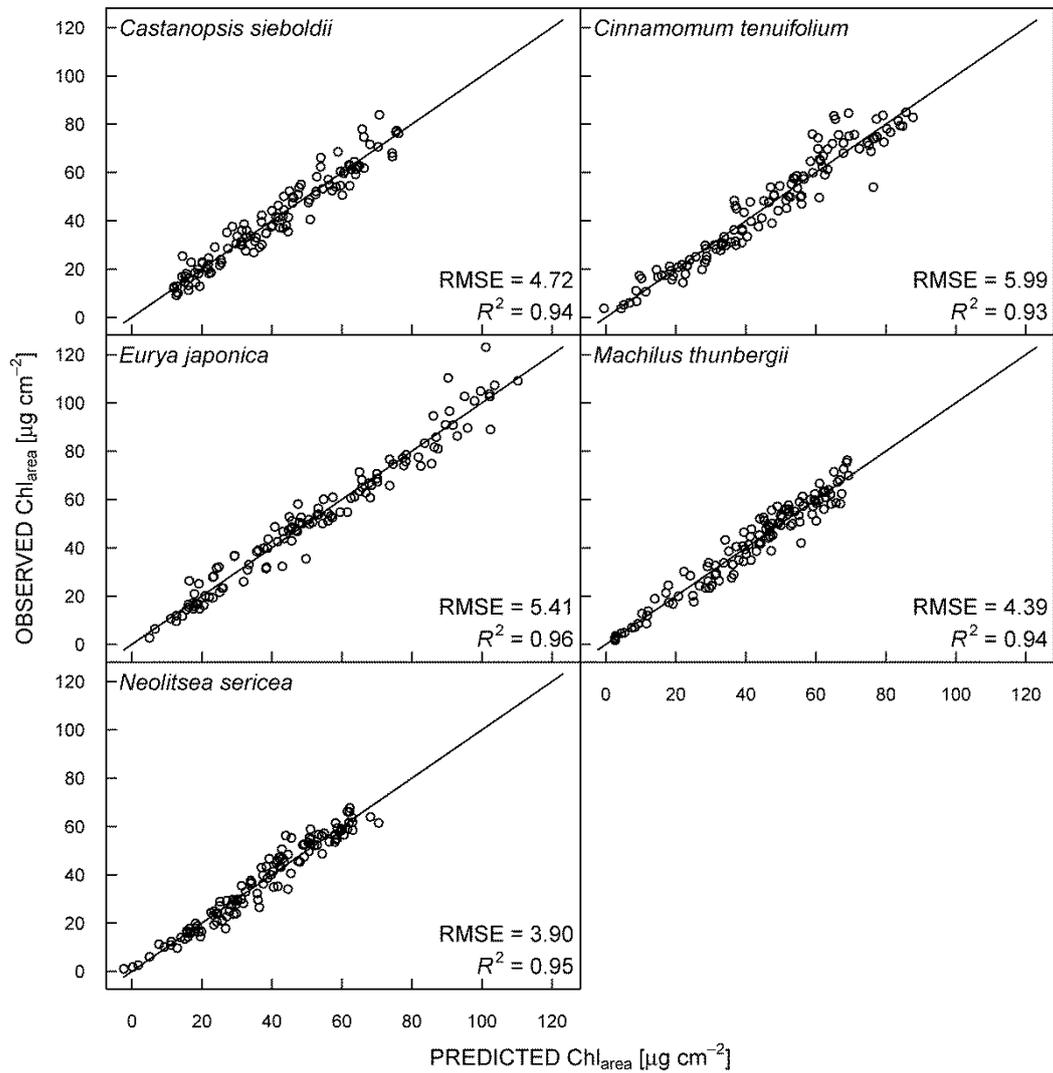


図 3.2 面積当たりのクロロフィル含量 (Chl<sub>area</sub>) 観測値と推定値の関係。推定値は Table 3.1 に示されたベストモデルのパラメーターを用いて計算した。実線は 1:1 の関係を表す。R<sup>2</sup>—決定係数 ; RMSE—平均 2 乗誤差

### 3.3.2 面積当たりの窒素含量 ( $N_{\text{area}}$ ) のモデル

最も低い DIC だったモデルは、スダジイは 2 次式、ヤブニッケイ、タブノキに対しては混合 1 次式、ヒサカキ、シロダモに対しては混合 2 次式だった (図 3.3)。スダジイ、ヒサカキでは DIC がもともと低かった最良モデルと 2 番目に低かったモデル (それぞれ、ランダム効果を含むモデルもしくは含まないモデル) の違いは無視できるほど小さかった。すべての種において季節変動項を持つモデルは最良モデルとして選択されなかった。

DIC のパターンは 2 つのグループに分けられた (図 3.3)。最初のグループはスダジイとヒサカキで、これらのモデルは季節変動項を持ったモデルが対応する季節変動項のないモデルよりも DIC が高い傾向があった。これらの種ではランダム効果を含むモデルと対応するランダム効果のないモデルの DIC は似たような値になった。ヤブニッケイ、タブノキ、シロダモを含む次のグループでは、ランダム効果を含むモデルが対応するランダム効果のないモデルにくらべて DIC が低くなる傾向になっている。これらの種では、季節変動項の効果が、ランダム効果があるかないかによって大きく異なっていた。

DIC が最も低い最良モデルと選択されたものが同じモデルだった種の間では、大部分の推定されたパラメーターは似ていた。ある種のパラメーターの 95%信用区間には、別の種の同じパラメーターの事後平均が含まれていた。しかし、すべての場合でこれが当てはまるわけではなかった。例えば、ヤブニ

ツケイの  $b_0$  の 95%信用区間にはタブノキの  $b_0$  の事後平均を含んでいない。選択されたモデルの決定係数 ( $R^2$ ) は 0.64 から 0.82 だった (図 3.4)。選択された窒素含量推定モデルの平均 2 乗誤差は、13.7 から  $22.6\mu\text{g cm}^{-2}$  だった。

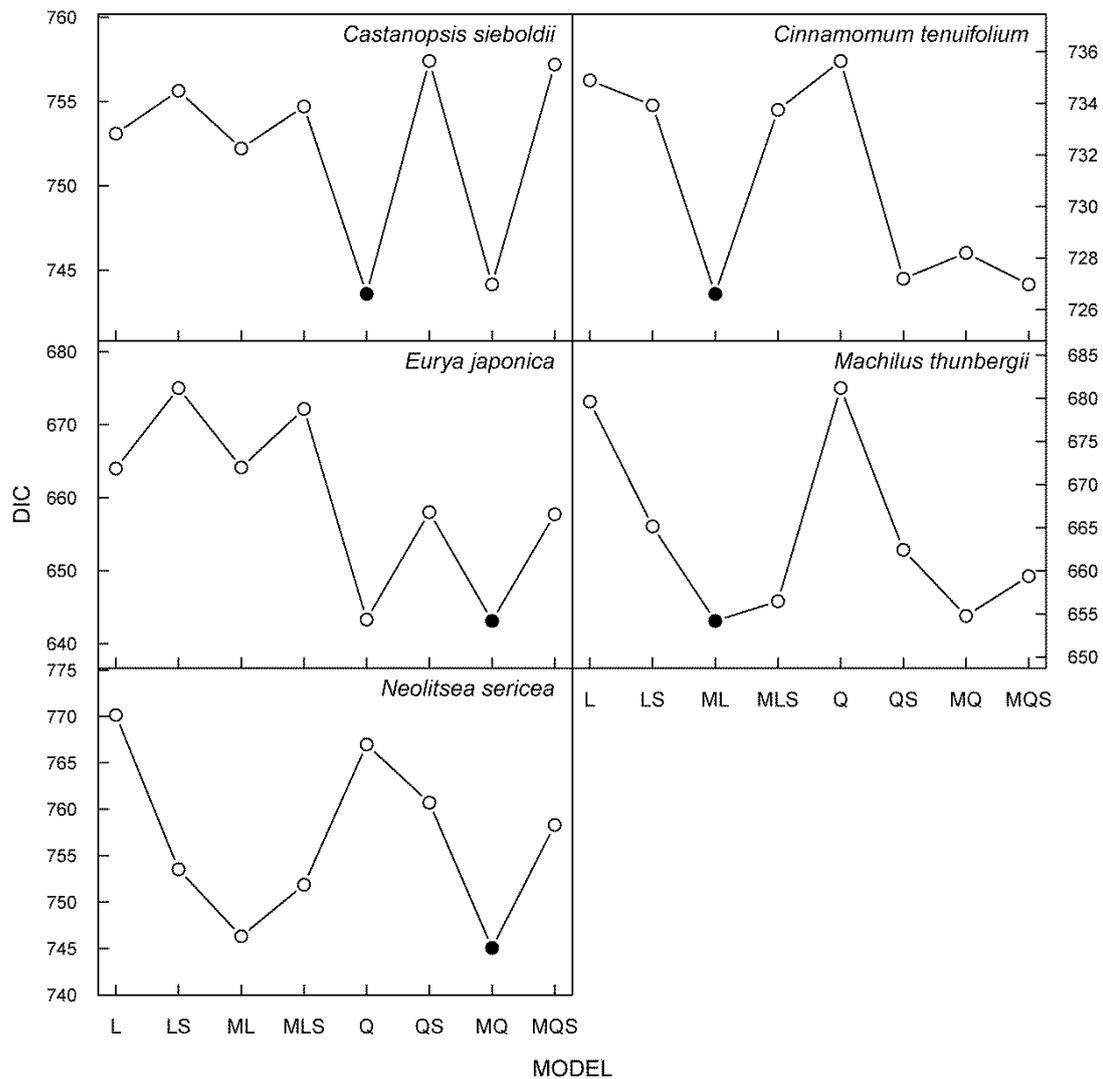


図 3.3 アグリエキスパートの読み値を使用して面積当たりの窒素含量 ( $N_{area}$ ) を推定するのに使ったモデルの DIC。L—1 次式、LS—季節変動項を持った 1 次式、ML—1 次混合モデル、MLS—季節変動項を持った 1 次混合モデル、Q—2 次式、QS—季節変動項を持った 2 次式、MQ—2 次混合モデル、MQS—季節変動項を持った 2 次混合モデル

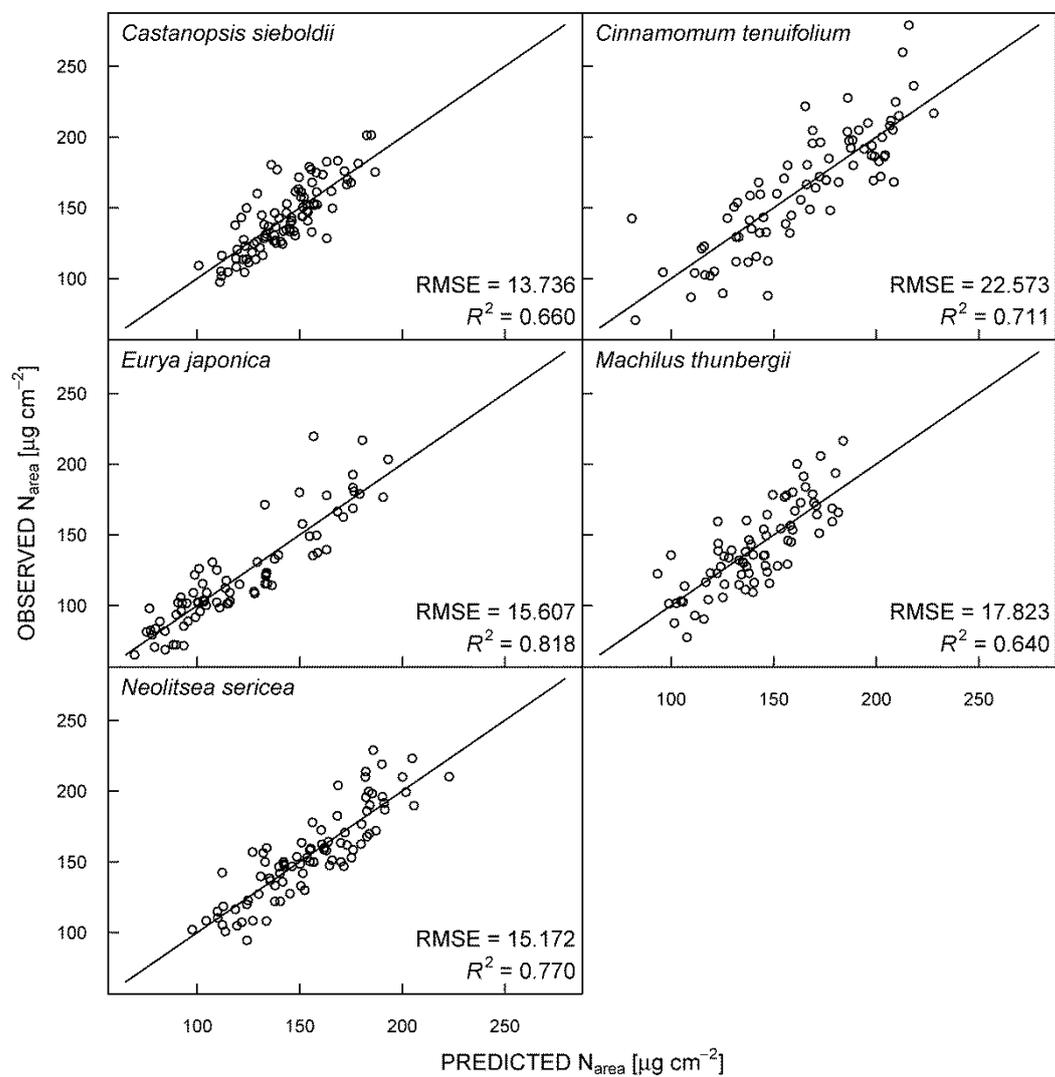


図 3.4 面積当たりの窒素含量 (N<sub>area</sub>) の観測値と推定値の関係。推定値は Table3.2 にあるベストモデルのパラメーターを用いて計算した。実線は 1:1 の関係を表す。R<sup>2</sup>—決定係数 ; RMSE—平均 2 乗誤差。

Table 3.1 SPAD-502 の読み値を用いたクロロフィル推定モデルの DIC によるベストモデルのパラメーターの事後平均と 95%信用区間 (カッコ内)

	<i>Castanopsis sieboldii</i>		<i>Cinnamomum tenuifolium</i>		<i>Eurya japonica</i>		<i>Machilus thunbergii</i>		<i>Neolitsea sericea</i>	
b0	47.710	(3.024, 80.312)	0.063	(-10.281, 10.031)			4.525	(-4.504, 13.682)	-3.097	(-10.100, 4.002)
b1	-3.074	(-5.768, -0.352)	0.073	(-0.408, 0.575)			-0.623	(-1.584, 0.373)	0.275	(-0.115, 0.666)
b2	0.091	(0.0306, 0.151)	0.0202	(0.0141, 0.026)			0.0530	(0.0227, 0.0831)	0.0189	(0.0134, 0.0243)
b3	-0.000571	(-0.00100, 0.000134)					-0.000415	(-0.000698, -0.000123)		
$\alpha_0$					6.798	(-1.046, 14.71)				
$\beta_0$					9.885	(-3.851, 23.362)				
$\gamma_0$					7.1271	(-3.8882, 17.9805)				
$\alpha_1$					-0.0341	(-0.3668, 0.2928)				
$\beta_1$					-0.476	(-1.029, 0.078)				
$\gamma_1$					-0.351	(-0.784, 0.093)				
$\alpha_2$					0.0146	(0.0115, 0.0178)				
$\beta_2$					0.00578	(0.000366, 0.01119)				
$\gamma_2$					0.00196	(-0.00219, 0.00598)				
$\sigma$	4.828	(4.249, 5.330)	6.236	(5.470, 7.118)	5.675	(4.992, 6.485)	4.505	(3.946, 5.144)	4.064	(3.546, 4.637)
$\sigma_{re}$			3.081	(0.581, 7.084)					1.942	(0.280, 4.429)

Table 3.2 アグリエキスパート *PPW-3000* の読み値を使った窒素推定モデルの DIC によるベストモデルのパラメーターの事後平均と 95%信用区間 (カッコ内)

	<i>Castanopsis sieboldii</i>	<i>Cinnamomum tenuifolium</i>	<i>Eurya japonica</i>	<i>Machilus thunbergii</i>	<i>Neolitsea sericea</i>
b0	102.7 (-29.8, 236.3)	-54.0 (-107.2, -0.3)	137.7 (-56.1, 339.7)	9.1 (-39.6, 59.6)	172.2 (-80.1, 450.5)
b1	51.0 (-1082, 1203)	-189.4 (-1460.3, 1146.1)	386.5 (-886.6, 1653.1)	886.3 (-339.3, 2136)	369.4 (-810.0, 1587.1)
b2	-154.4 (-282.6, -20.6)	106.2 (63.4, 151.6)	-161.7 (-248.4, -78.4)	90.5 (42.7, 136.2)	-240.5 (-546.7, 49.2)
b3	-1456 (-2580.2, -335.5)	-59.9 (-1358.1, 1175.1)	-936.1 (-2131.1, 216.1)	-670.8 (-1868.1, 508.1)	-649 (-1785.1, 506.5)
b4	1483.9 (569.3, 2350)	249.9 (-475, 899.3)	627.5 (-354.4, 1631.1)	-198.5 (-789.6, 392.1)	455.9 (-481.4, 1396)
b5	1192.2 (-150.3, 2443.1)		497.1 (-986.2, 1914.1)		371.8 (-1034.2, 1714)
b6	48.4 (11.9, 83.7)		53.7 (33, 75.2)		106.6 (15.6, 202)
b7	-126.8 (-1345, 1112)		-277.7 (-1710.2, 1126.1)		-333.6 (-1630.0, 1022)
b8	-831.8 (-1590.1, -31.6)		-256.2 (-1399, 852.3)		-135.3 (-1100.1, 834.2)
$\sigma$	14.5 (12.3, 17)	24.1 (20.4, 28.9)	16.6 (14, 19.8)	19.1 (16.1, 22.7)	16.4 (14, 19.3)
$\sigma_{re}$		12.3 (0.0, 30.6)	2.2 (0.0, 11.3)	19.1 (7.5, 47.3)	12.8 (5.3, 27.5)

### 3.3.3 クロロフィル a/b 比の季節変動、LMA の季節変動

クロロフィル a/b 比は、すべての種で季節変動していた。季節変動のパターンはすべての種で似たようなパターンだった (図 3.5)。タブノキ以外の種では、6 月から徐々にクロロフィル a/b 比が上昇をし、12 月で最大になり、その後減少した。タブノキも似たようなパターンであるが a/b 比の最大値は 3 月で、他の種とピークがずれていた。シロダモは他の種と比べて a/b 比の変動が小さかった。

LMA の季節的変動が観察された (図 3.6)。ヤブニッケイ、ヒサカキ、シロダモでは 6 月から 10 月にかけて LMA が低下し 10 月以降上昇するというパターンがあった。スダジイでは 6 月から 10 月にかけての減少は見られないが、10 月から 4 月にかけて上昇した。タブノキは 8 月の LMA が低く、4 月に向かって上昇しているようなパターンであった。

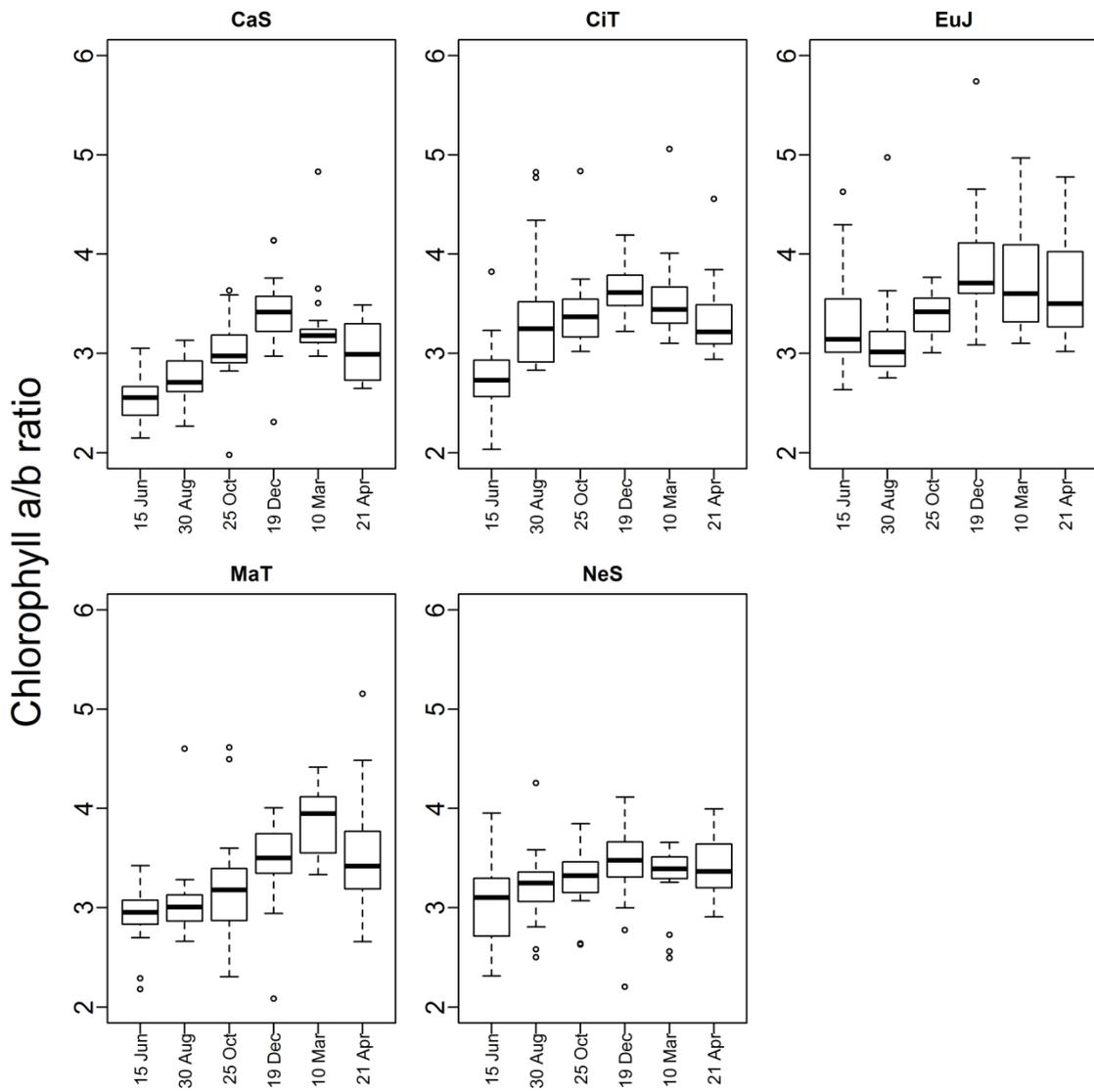


図 3.5 季節ごとのクロロフィル a/b 比

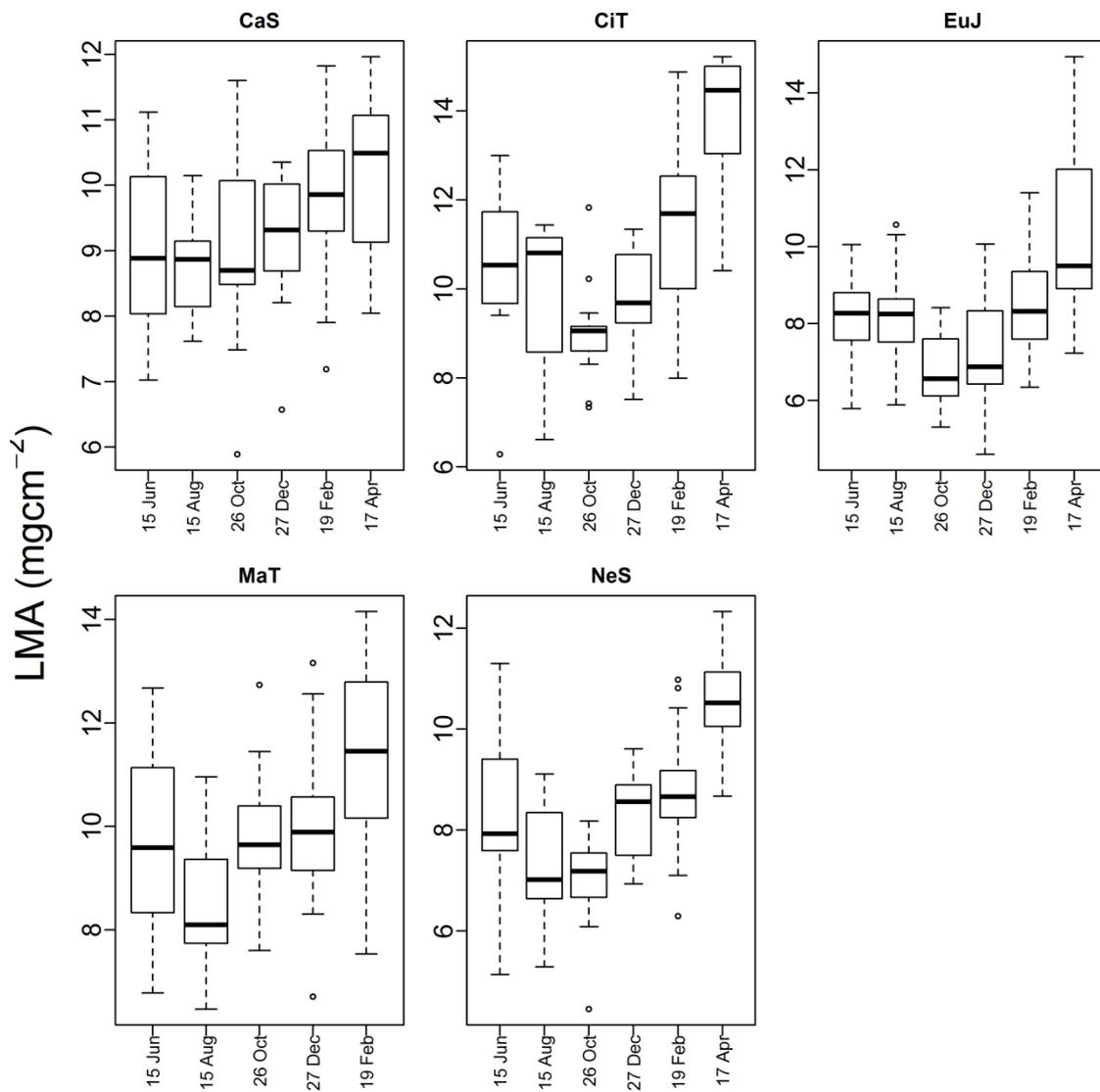


図 3.6 季節ごとの LMA

### 3.4 考察

$\text{Chl}_{\text{area}}$  を推定するモデルの決定係数  $R^2$  は、本研究で調べた全種において 0.90 以上であり、信頼して使用できることを示した。SPAD を使って  $\text{Chl}_{\text{area}}$  が精度よく推定できることは、1 年草から常緑、広葉樹にわかって証明されてきた（例えば、Yadava 1986、Cambell et al. 1990、Ichie et al. 2002、Ymamoto et al. 2002、Haripriya Anand and Byju 2008、Mrenco et al. 2009）。 $R^2$  は高いが値だが、推定誤差は指摘されなければならない。なぜならば、平均 2 乗誤差 (RMSE) は 3.90 から  $5.99\mu\text{gcm}^{-2}$  だったからだ。推定された  $\text{Chl}_{\text{area}}$  の違いが RMSE よりも小さい時は本質的に意味がない。ヒサカキはベストモデルと 2 番目のベストモデルの DIC 違いが無視できるほど小さかったので、2 番目のベストモデルも使用可能である。

$\text{N}_{\text{area}}$  を推定するモデルの  $R^2$  は  $\text{Chl}_{\text{area}}$  のモデルの  $R^2$  に比べると小さく、推定はクロロフィル含量を推定するほど正確ではないことを示したが、窒素含量推定の精度は受け入れられるレベルだった。本研究で計算した  $R^2$  (0.64-0.82) は、Ichie et al. (2002) や Eguchi et al. (2006) によって報告された温帯や熱帯地域の落葉、常緑広葉樹における  $R^2$  の範囲内であった。窒素推定にはこれ

まで 1 次式のみが使用されていた (Ichie et al. 2002、Eguchi et al. 2006) が、本研究で 2 次式のモデルがいくつかの種ではよりよいことが示された。推定誤差は指摘されなければならない、なぜならば、RMSE は 13.7 から 22.6 $\mu\text{gcm}^{-2}$  にわたっていたからだ。スダジイとヒサカキについてはベストモデルと 2 番目のベストモデルの DIC の差が無視できるほど小さかったため、2 番目のベストモデルもまた使用可能である。

本研究の結果は、光学的機器の読み値と  $\text{Chl}_{\text{area}}$ 、 $\text{N}_{\text{area}}$  との関係がさまざまなレベル (選択されたモデルの形、季節変動項の有意性、モデルごとの DIC のパターン、推定されたパラメーターの値など) で種特異的であることを示した。先行研究でも  $\text{Chl}_{\text{area}}$ 、 $\text{N}_{\text{area}}$  と光学的機器の読み値との関係は種特異的、品種特異的である (Neilsen et al. 1995、Pikkard et al. 2006、Uddling et al. 2007、Mrenco et al. 2009、Coste et al. 2010) ことが示されてきた。よって、光学的機器を用いて  $\text{Chl}_{\text{area}}$ 、 $\text{N}_{\text{area}}$  を調べる場合、種特異的なモデルを構築することがまず必要になることである。

ほとんどの場合において、選択されたモデルは季節の調整項を含まなかった。本研究ではクロロフィル a/b 比や LMA が全種で季節変動をしていた。し

かし、ヒサカキ以外の種で SPAD 値とクロロフィル含量の關係に季節変動項が必要なかったことから、クロロフィル a/b 比や LMA の違いは、この關係に大きな影響を与えないものと思われた。LMA はアグリエキスパートの吸光度に影響を与えないか、複数の吸光度の線形結合により LMA の影響を取り除くことができているのかのどちらかである。一方で、ヒサカキの  $Chl_{area}$  と SPAD 値との關係において、明確に季節変動があることが示された。このことは、光学的機器の読み値と  $Chl_{area}$  の關係において季節変動の程度がまた種特異的に異なることを示している。同様に、落葉樹種を用いた先行研究でも  $Chl_{area}$ 、 $N_{area}$  と光学的機器の読み値との關係における季節変動についての結果は首尾一貫したものではない (Neilsen 1995、Chang and Robison 2003、Ichie et al. 2006)。ヒサカキの SPAD と  $Chl_{area}$  の關係における季節変動のメカニズムは明らかではない。今日までに、この關係に影響を与えるさまざまな要因、光強度、葉の水分量、葉の厚さ、測定する時間、生育条件、クロロプラストの移動、などが報告されている (Cambell et al. 1990、Martinez and Guiamet 2004、Jifon et al. 2005、Schlemmer et al. 2005、Marenco et al. 2009、Nauš et al. 2010)。これらの要因の中で、葉の水分含量がヒサカキの關係式の変化の要因だったかもし

れない。なぜならば、本研究の調査地では利用可能な水分量が季節変動をし、葉が脱水したり、水が豊富になったりすることが、SPAD と  $\text{Chl}_{\text{area}}$  の関係にたとえ、葉が成熟した後も影響を与える (Martinez and Guiamet 2004) 可能性があったからである。

本研究ではクロロフィル a/b 比、LMA が季節変動をしていた。このことは推定モデルには影響がないようだった。クロロフィル a/b 比は暗い環境だと低くなり、明るい環境だと高くなる (Porra 2005)。よって林床内の光環境に応じて季節変動すると推察される。しかし、6月に最少になり葉が出現し茂り暗くなっていく過程で、a/b 比は上昇し、落葉樹の落葉がおこる12月や、春先の3月に最大になるといった傾向は光環境と対応していないように思われる。本研究で見られた a/b 比の季節変動は光とは別の要因で決まっている可能性が考えられる。LMA に季節変動があるという報告はほとんどなく、LMA の季節変動がみられた本研究の再現性について疑問が多い。しかし、葉の6月から10月にかけての LMA の減少は古い葉の養分が新葉へと転流する時期とかさなり、また10月以降は古い葉の養分が再充填する時期と重なる (第3章)。本研究で認められた LMA の季節変動は葉の養分量の季節変動のパターン (Nambier and Fife

1991) と一致する。炭水化物を含めた多くの養分が移動するために、LMA が減少したことが考えられる。一般性の検討のためにはさらなるデータが必要である。

本研究の結果、5種の常緑広葉樹において、 $\text{Chl}_{\text{area}}$ 、 $\text{N}_{\text{area}}$  を推定する種特異的なモデルを構築した。モデルはさまざまなレベル、選択されたモデルの形、季節変動項の有意性、異なったモデル間での DIC のパターン、推定されたパラメーターの値において種特異的だった。複数種の推定モデルが将来構築される必要がある。

## 第4章 葉のクロロフィル含量と窒素含量の時系列変動

### 4.1 はじめに

植物は体内に取り込んだ物質を有効に利用するために、ある器官に貯蔵、もしくは使われている物質を別の器官に移動させる。葉の窒素や、クロロフィルを構成する物質の植物体内の移動が葉の機能の季節変動と齢に伴った長期変動に影響を与えるため、植物の養分利用の性質を理解するために、葉のクロロフィル・窒素含量の季節・長期変動を調べることは有効である。

常緑樹の葉の窒素含量は季節変動をし、その変動は新葉の成長に使うための窒素の転流によっておこる (Nambiar and Fife 1991)。その窒素の転流量はシンクソースバランスや葉の齢などの要因に影響されることが知られている。例えば、転流量は転流前の葉の窒素含量と正の相関関係がある (Millard and Proe 1993、 Saur et al. 2000、 Milla et al. 2005、 Fife et al. 2008)。また、その転流量は窒素の強いシンクであるに違いないシュートの成長量と正の相関関係がある (Nambiar and Fife 1991、 Miyazawa et al. 2004)。窒素は主に最も若い齢クラスから転流が起こる (Fife and Nambiar 1984、 Greenway et al. 1992、 Millard 1996、 Cerbuy et al. 2001)。窒素の季節変動について調べられたことは

常緑針葉樹での研究が多く、自然に生息している林床の稚樹についての測定例はない。季節変動の普遍性についてや上記の季節変動の性質については常緑広葉樹で十分多く検討されているとはいえない。

葉の窒素含量・クロロフィル含量において齢にともなった減少が草本、常緑樹において報告されている (Field et al.1983、Hikosaka et al. 1994、Šwarák and Čatsky 1962、 Ciganda et al. 2008)。古い葉は老化し、新しい葉に被陰されることにより光環境が悪くなる。古い葉のクロロフィルに使われている物質や窒素を新しい葉に回した方が個体全体の物質生産が向上するために、転流するものと思われる。しかし、古い葉の窒素含量は低下しないという報告が常緑樹において報告されている (Esucudero and Mediavilla 2003、Ethier et al. 2006、Han et al. 2008)。クロロフィルも同様に長期的に変化しない種がある可能性があるだろう。先行研究から常緑広葉樹内において葉の窒素の長期変動は環境や種によって異なり、古い葉の窒素をどうするかについての養分利用戦略には種差があることが予想される。

常緑広葉樹は長年にわたって葉をつけるため、その葉のクロロフィル・窒素の長期変動は齢の上昇に伴うゆったりとした変化が、毎年繰り返される季節

変動を通しておこる。よって常緑広葉樹の葉の時系列変動の解明とそれにもとづく養分利用戦略の研究には、葉に含まれた物質の季節変動と齢に伴った長期変動の双方を同時に調べるのが重要であるが、双方を同時に着目した研究は行われていない。しかし、落葉のパターンと葉に含まれた物質の季節変動、長期変動を同時に測定することにより、より包括的に植物の養分利用戦略を考えることができる。

本章では、時系列自己相関構造をもったデータに空間自己相関モデル（階層ベイズモデルの一種）を適用することで、葉のクロロフィル含量と窒素含量の季節変動と葉齢にともなった変化を時系列データから分離した。分析結果を用いて（1）クロロフィル含量と窒素含量の時系列変動に季節変動があるかどうか、その変動は新しい葉へ物質の転流と関連するものかどうか、（2）季節変動の大きさは葉齢や葉のクロロフィル・窒素含量量の最大値と関係があるかどうか、（3）クロロフィル・窒素含量量の1年間の収支は葉齢や季節変動と関係があるかどうか、（4）葉のクロロフィル・窒素含量の年内での最大値と比較して季節変動や1年間の収支はどれくらいの大きさかを調べた。そしてこれから季節変動と長期変動には種差があるかどうかを検討した。

## 4.2 研究の方法

### 4.2.1 種と調査地

日本の暖温帯に生息する常緑広葉樹稚樹 4 種を選んだ。種はスダジイ (*Castanopsis sieboldii* (Makino) Hatus. ex T. Yamaz. Et Mashiba)、ヤブニッケイ (*Cinnamomum tenuifolium* (Makino) Sugim. ex H. Hara)、タブノキ (*Machilus thunbergii* Siebold et Zucc.)、そして シロダモ (*Neolitsea sericea* (Blume) Koizumi) (今後、図中でそれぞれ CaS、CiT、MaT、NeS と呼ぶ。) である。スダジイは日本の暖温帯に優占する林冠木である。タブノキもまた林冠木で海岸林において優先する。ヤブニッケイ、シロダモは亜高木で温帯林によく見られる種である。

調査は千葉大学園芸学部松戸キャンパス (35°46'34"N, 139°54'0"E) で行った。

### 4.2.2 測定

2006 年 4 月にフェノロジーのモニタリングと同じ個体、各種およそ 10

個体の稚樹を測定対象として、測定を始めた。稚樹は自然に発生してきたものであり、林床に生息していた。施肥などは行っていない。高さは0.2mから3mであった。選んだ稚樹は落葉樹の林冠下にあるものと常緑樹の林冠下にあるものがあつた。

選んだ稚樹の主軸についているほぼすべての葉のクロロフィル含量と窒素含量を測定した。測定した葉はフェノロジーのモニタリングをしている葉と同じものである。測定にはクロロフィル含量や窒素含量を推定する光学的機器を用いた。クロロフィルはSPADで窒素含量はアグリエキスパートで測定した。測定対象の葉を月に1度から2度、繰り返し測定した。葉の面積当たりのクロロフィル含量と窒素含量を第2章で構築したモデルを用いて推定した。クロロフィル含量の測定は2006年4月から2008年3月まで、窒素含量の測定は2007年4月から2008年12月まで行った。

#### 4.2.3 葉齢の決定

葉が出現した年を主軸の芽鱗痕を用いて決定した。推定した葉の出現した年は、2000年から2008年に及んだ。

本研究では年齢と日齢という 2 つの種類の齢をつかった。年齢は葉が出現した年から葉を測定した年の差を整数で表したもので離散変数である。この量は今後葉の齢クラスと呼ぶ。葉の齢クラスは主に分析をする際に、葉を同齢集団に分けるために使った。本研究では当年葉のデータを解析から除いたため、最も小さい齢クラスは 1 であった。分析に使った齢クラスはスタジイ、シロダモは 4 まで、ヤブニッケイとタブノキは 6 までである。日齢は葉が出現した日から測定日までの間の日数の差で、連続変数である（以降簡略のため葉の齢と呼ぶ）。葉の齢は主にクロロフィル含量と窒素含量に影響を及ぼす説明変数として使った。葉が出現した日を葉の齢の計算のために使った。2005 年、2006 年、2007 年、2008 年に出現した葉については、葉の出現した日はモニタリングによって観察されているため、それをつかって葉の齢を算出した。2005 年以前に出現した葉については個体ごとに葉が出現する日の平均値をモニタリングデータから算出し、それを葉が出現した日とした。

#### 4.2.4 当年葉の成熟

本研究では葉齢 1 年以上のクロロフィル含量と窒素含量に焦点を当て、

当年葉のデータは古い葉の時系列変動と比較する参照として使った。当年葉の成熟期間（平均展葉日から平均成熟完了日）を各種について計算し、古い葉のクロロフィル含量や窒素含量が成熟期間の外側と内側でどのように変化するかを調べた。

平均展葉日を決定するため、2005年から2008年のフェノロジーのモニタリングデータを使って、各種ごとに平均展葉日を算出した。クロロフィルの分析には2006年から2007年までの平均展葉日を、窒素含量の分析には2007年から2008年の平均展葉日を計算した。平均展葉日は4月後半から6月前半（2006年と2007年の平均は、スタジイは4月23日、ヤブニッケイは5月12日、タブノキは6月5日、シロダモは4月25日）であった。

葉の成熟完了日を計算するため、本研究では最大値に漸近線を持つ以下のモデルをクロロフィル含量と窒素含量のデータにあてはめた。

$$y = a - b \cdot e^{-c \cdot age}$$

ここで  $y$  はクロロフィル含量、もしくは窒素含量の平均、 $age$  は葉の齢（日齢）、

a は漸近する値で最大値を表し、b、c は係数である。クロロフィル含量、窒素含量の実測値は平均が  $y$  であるところの正規分布に従うとした。モデルの計算はベイズ推定法でおこなった。パラメーターa、b、cは無情報事前分布（平均0、精度（分散の逆数） $10^{-6}$ の正規分布）に従うとし、モデルの分散は無情報事前ガンマ分布（形状母数  $10^4$  尺度母数  $10^4$ ）に従うとした。事後分布の計算はMCMC 法によるサンプリングを用い、ソフトウェア WinBUGS を使って行った。事後分布の平均値をパラメーターの点推定値とした。

推定されたパラメーターを用いて、クロロフィル含量、窒素含量が漸近線の90%に達する日を計算し、この日を成熟完了にかかった日数とした。この値を平均展葉日に足すことによって、クロロフィル含量と窒素含量の成熟完了日を計算し、クロロフィル含量と窒素含量の時系列変動の分析に用いた。クロロフィル含量に関する成熟完了日はスタジイ：7月31日、ヤブニッケイ：9月11日、タブノキ：9月2日、シロダモ：9月2日であった。窒素の関してはスタジイ：8月10日、ヤブニッケイ：8月3日、タブノキ：7月19日、シロダモ：8月30日だった。

#### 4.2.5 クロロフィル含量と窒素含量の時系列変動のモデル

葉のクロロフィル含量、窒素含量の時系列変動を分析するため、以下のモデルを葉齢 1 年以上の葉のクロロフィル含量、窒素含量のデータにあてはめた。モデルは 1 年間の直線的な変化、季節変動、個葉ごとのランダム効果を含んでいる。

$$y_{i,j,k} = \alpha_i + \beta_i \cdot age_{ij,k} + \gamma_{i,l} + leaf_j$$

ここで、 $y_{i,j,k}$  は  $k$  回目の測定日における  $i$  葉齢クラスにおける  $j$  番目の葉のクロロフィル含量もしくは窒素含量の期待値であり、 $age_{i,j,k}$  は葉齢(日数)をあらわし、 $\gamma_{i,l}$  は時間的に自己相関のある  $l$  (エル) 番目の区間のランダム効果であり、季節変動を表現する (後に詳細に説明)。 $leaf_j$  は  $j$  番目の葉のランダム効果を表している。モデルの最初の項と 2 番目の項 ( $\alpha_i + \beta_i \cdot age_{i,j,k}$ ) は合わせて、各葉齢クラスにおけるクロロフィル含量と窒素含量の 1 年間の直線的な変動 (増加もしくは減少) を表現している。

クロロフィル含量と窒素含量の季節変動を表現するため、1 年間を 2 週

間ごと 26 の区間に分け、intrinsic Gaussian conditional autoregressive model (intrinsic CAR ; Besag et al. 1991) という確率分布に従った自己相関のあるランダム効果を各期間に割り当てた。 $\gamma_{i,l}$  の条件付き確率分布は以下のように表せられる。

$$\gamma_{i,l}/\gamma_{i,L} \sim N\left(\frac{\sum_{L \in \delta_l} \gamma_{i,L}}{2}, \frac{\sigma_{\gamma_i}^2}{2}\right)$$

ここで $\delta_l$ は区間1のランダム効果 $\gamma_{i,l}$ に隣接した区間(対象の区間のひとつ前の区間とひとつ後の区間)の組みを表す。 $\sigma_{\gamma_i}^2$ は葉齢クラスごとに算出される条件付き分散である。 $\gamma_{i,l}$ は隣接した2つの区間の効果の平均を期待値にもった正規分布に従う。本研究では $\gamma_{i,l}$ の環状の相互依存関係を仮定した。つまり、1年の最初の区間と1年の最後の区間は隣接した区間であると設定した。

直接観察したクロロフィル含量と窒素含量 ( $Y_{i,j,k}$ ) は正規分布： $Y_{i,j,k} \sim N(y_{i,j,k}, \sigma^2)$ に従うとした。ここで $\sigma^2$ は正規分布の分散項である。モデルの推定にはベイズ推定法を用いた。パラメーター $\alpha_i$ 、 $\beta_i$ 、 $leaf_j$ は階層構造を持った確率分布である。パラメーター $\alpha_i$ 、 $\beta_i$ の事前分布は、それぞれ平均 $\mu_\alpha$ 、 $\mu_\beta$ で、分

散が  $\sigma_\alpha$ 、 $\sigma_\beta$  の各正規分布と仮定した。 $\mu_\alpha$ 、 $\mu_\beta$  の超事前分布は平均 0、精度が  $10^6$  の無情報正規分布に従うとした。また精度  $1/\sigma_\alpha^2$ 、 $1/\sigma_\beta^2$  の超事前分布は形状母数、尺度母数ともに  $10^4$  の無情報ガンマ分布に従うとした。 $leaf_j$  は平均が 0 で分散が  $\sigma_{leaf}^2$  の正規分布に従うとし、 $1/\sigma_{leaf}^2$  の超事前分布は形状母数、尺度母数ともに  $10^4$  の無情報ガンマ分布に従うとした。事後分布の計算は MCMC 法を用い、ソフトウェア WinBUGS を用いて行った。各パラメーターの事後分布の平均値をパラメーターの点推定値とした。

#### 4.2.6 $\Delta\gamma$ と $365\beta$

季節変動の規模を定量化するために、本研究では 1 月から 8 月までの  $\gamma_{i,l}$  の最大値と 5 月から 12 月までの  $\gamma_{i,l}$  の最小値の差 ( $\Delta\gamma$ ) を計算した。この最大値と最小値の期間は、春から秋にかけて起こる古い葉から新しい葉への養分の転流を反映して、クロロフィル量と窒素含量が、春に最大になり、秋の初めごろに最少になるという典型的な季節変動のパターンに基づいて決めた (パターンの詳細は結果の節で示す)。 $\gamma_{i,l}$  は 1 年間たった後も同じ値になる。クロロフィル含量、窒素含量の正味の変化を表現しない。1 年間の正味の変化はモデルの  $\beta$  を

用いて  $365\beta$  であらわすことができる。本研究ではまた、夏前のクロロフィル・窒素含量の最大値に対する  $\Delta\gamma$  の割合（今後、相対的  $\Delta\gamma$  と呼ぶ。）をクロロフィル含量、窒素含量それぞれに対して計算した。同様に、相対的  $\beta_i$ 、夏前のクロロフィル・窒素含量の最大値に対する  $\beta_i$  の割合を計算した。種毎にクロロフィル・窒素含量の絶対値が異なっているが、これらの相対的値により正味の変化と 1 年間の季節変動の程度の比較を可能にし、またクロロフィル含量と窒素含量の比較を可能にした。

## 4.3 結果

### 4.3.1 葉齢 1 年以上の葉のクロロフィル含量、窒素含量の時系列変動

葉齢（日齢）に伴ったクロロフィル含量・窒素含量の全体の傾向は種毎に異なっていた（図 4.1）。データのバラつきがとても大きかった。この違いは葉ごとの違いがとても大きいことによる。クロロフィル含量、窒素含量ともにスダジイ、シロダモではあまり変化がないように見えた。またヤブニッケイでは葉齢 365 日以降、クロロフィル含量、窒素含量ともに上昇し、その後減少した（図 4.1）。タブノキはクロロフィル含量、窒素含量ともに葉の一生を通して

わずかずつ上昇する傾向であった。また、クロロフィル含量、窒素含量は落葉前に大きく低下していた。後に齡クラスごとに統計モデルを当てはめた詳細な解析を示す。

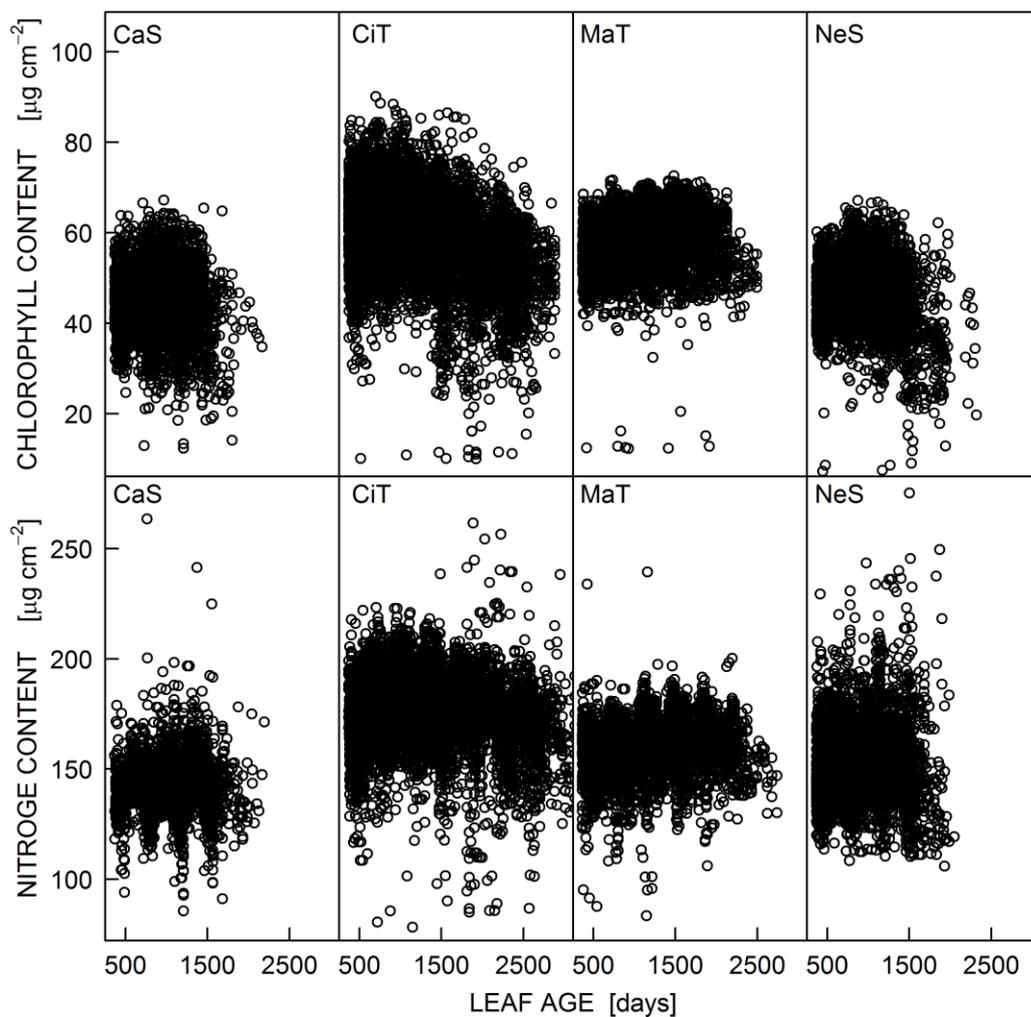


図 4.1 葉齢とクロロフィル（上）と窒素（下）の関係。当年葉を除く全個体、全葉のデータをプロットした。

#### 4.3.2 葉齢1年の葉のクロロフィル含量、窒素含量の時系列変動

新葉の成長の全体の様子はクロロフィル含量、窒素含量ともに、展葉時その量は小さく、展葉してから急激にその量を増やし、ある程度まで成熟すると上昇傾向がなくなりほぼ一定になった（図 4.2）。クロロフィル・窒素含量の側面からみた生育期間はモデルによる計算の結果、3 か月から 4 か月ほどだった。成熟完了日は 7 月から 9 月にかけてだった。

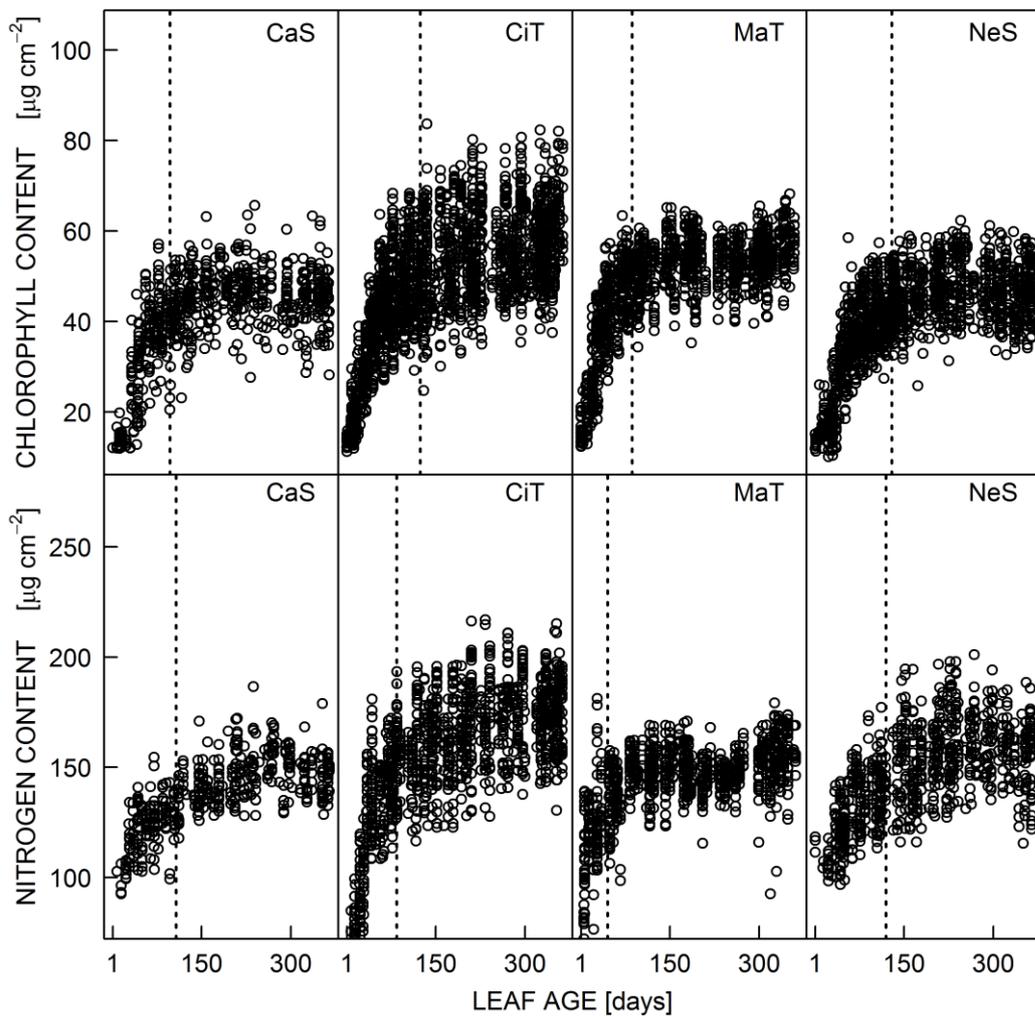


図 4.2 当年葉のクロロフィル（上）、窒素含量（下）の成熟。図の縦線は成熟完了の齢を表す。

### 4.3.3 モデルのあてはめ

季節変動と長期変動を表すモデルの計算の結果、すべてのパラメーターにおいて、MCMC サンプリングの収束を表す  $R\text{-hat}$  値は 1.1 以下になり、サンプリング結果は収束した。

クロロフィル含量のモデルの決定係数  $R^2$  は相対的に大きく、スダジイ：0.717、ヤブニッケイ：0.7461、タブノキ：0.7751、シロダモ：0.7169 だった (図 4.3)。推定結果とクロロフィル含量の関係は 1:1 のラインに均等に乘っていた。クロロフィル含量が低い点において、モデルによる推定が過大評価になっている点があるが、これは落葉するさいに葉を構成する物質が分解され植物体内に再吸収された結果、クロロフィル含量が低下した葉のものだとおもわれる。窒素含量のモデルの  $R^2$  はスダジイ：0.458、ヤブニッケイ：0.6844、タブノキ：0.6374、シロダモ：0.5655 でクロロフィルのモデルに比べ小さな値だった。モデルによる推定値と窒素含量の関係はおおむね 1:1 のラインの乗っていた (図 4.4) が、スダジイは多少はずれていた。スダジイでは窒素含量が低いときモデルは過大評価をし、窒素含量が高いときモデルは過小評価をしていた。落葉する際に窒素が回収され窒素含量が低下している葉に対しても過大評価になって

いる。しかし、相対的に  $R^2$  はおおきく、クロロフィル含量、窒素含量のデータのばらつきのほとんどは3つの要素：1年間の線形項、季節変動、葉ごとのランダム効果で説明できたことを示している。

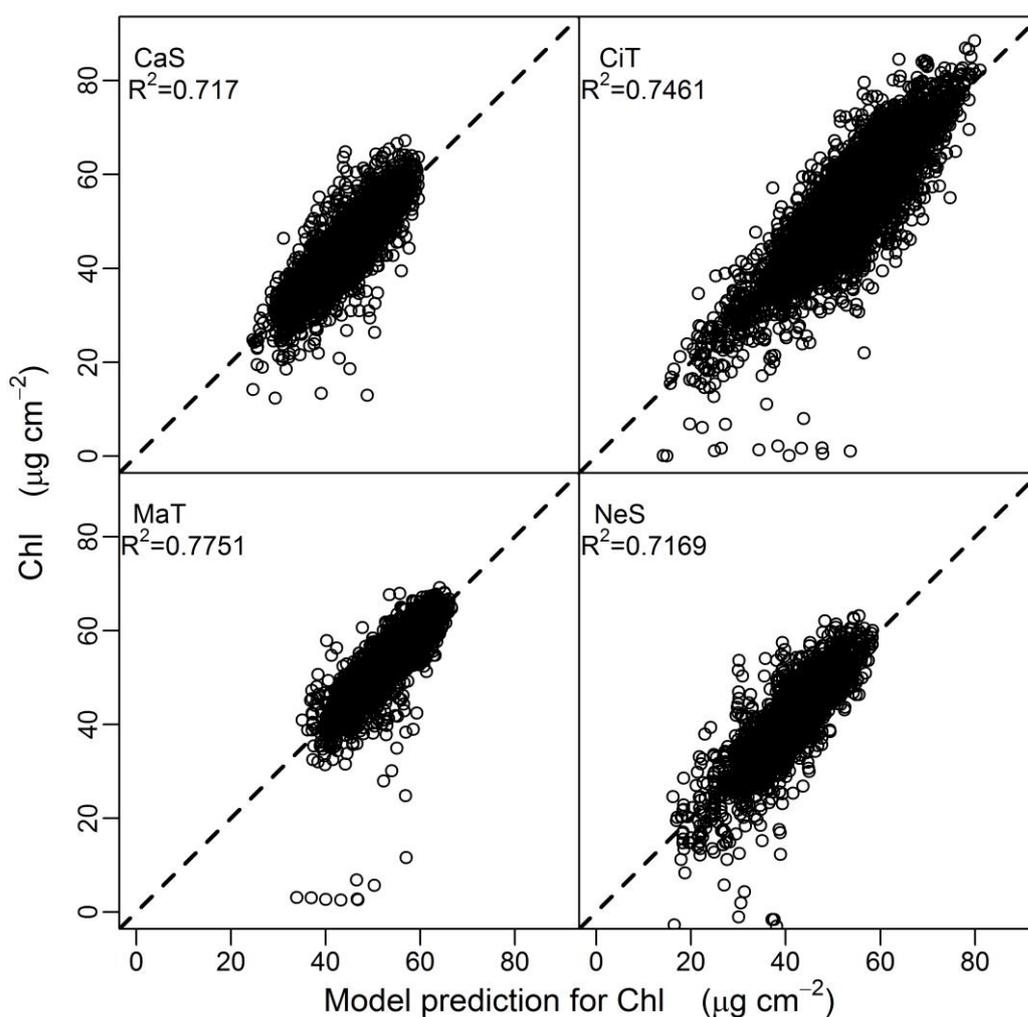


図 4.3 クロロフィル含量の実測値と時系列変動モデルによるクロロフィル含

量推定値の関係。線は 1:1 の関係を表す。 $R^2$  はモデルの決定係数。

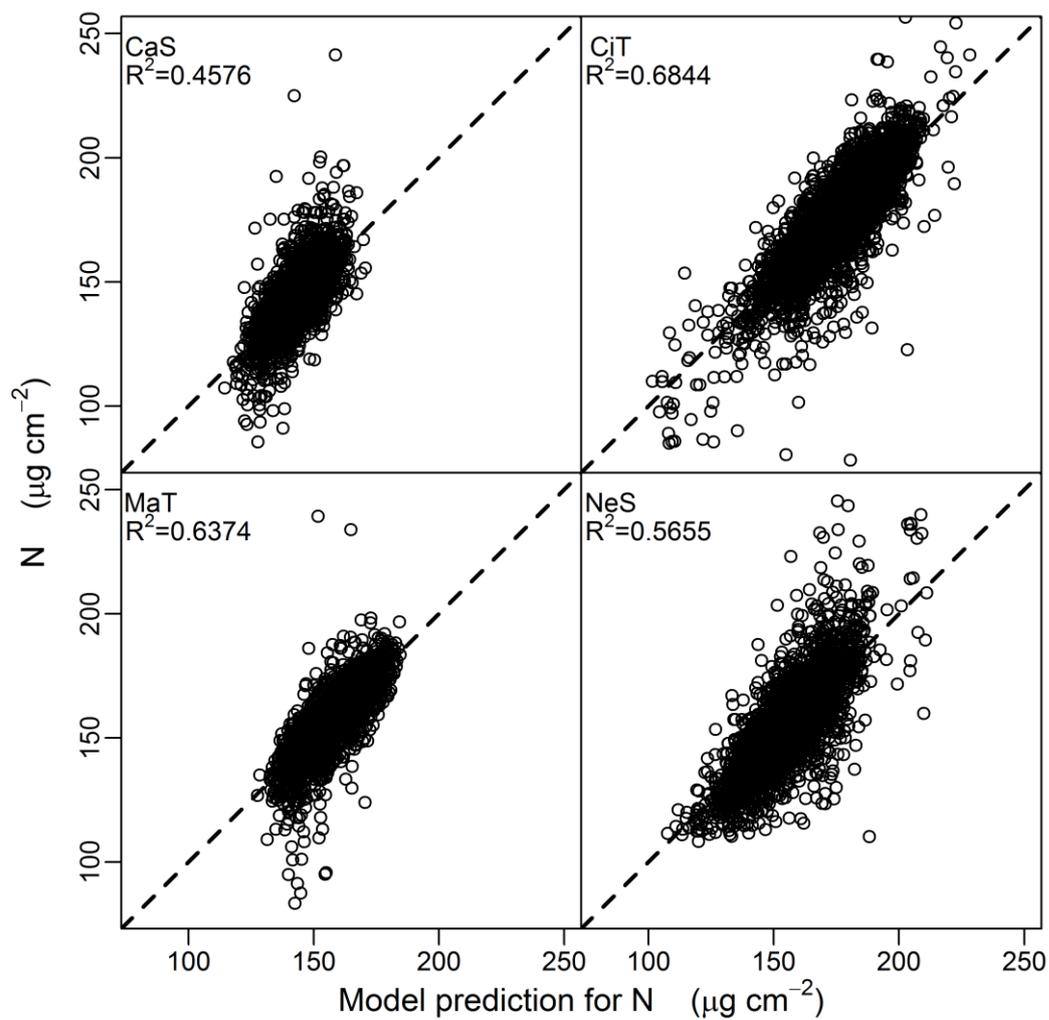


図 4.4 窒素含量の実測値と時系列変動モデルによる窒素含量推定値との関係。線は 1:1 の関係を表す。 $R^2$  はモデルの決定係数。

#### 4.3.4 季節変動 ( $\gamma$ )

モデルの自己相関をもったランダム項 (CAR モデル)  $\gamma$ によりクロロフィル含量、窒素含量の季節変動要素を齡クラスごとに計算した結果 (図 4.5)、クロロフィル含量には顕著な季節変動があり、その季節変動はよく新葉のフェノロジーと対応していた。クロロフィル含量は葉が開く時期 (4月後半から6月前半) あたりにピークになり、その後減少し、最低値になった。最低値になる時期 (7月通準から9月前半) は新葉の成熟が完了した日と対応していた。最低になったあと、残りの期間は上昇、もしくは一定の値を保った。減少が始まる時期、減少が終わる時期ともによく新葉の成熟のフェノロジーのパターンとあっていた。このパターンはヤブニッケイ、タブノキのすべての齡クラスの葉で見られ、スダジイのほとんどの齡クラスの葉で見られた。シロダモにおいてもクロロフィル含量に関しては他種と似たような、春から夏にかけて減少し、その後冬に向かって上昇する変動がみられるが、変動幅はとても小さく、また減少している期間は新葉の成熟のフェノロジーと明確に対応しているわけではなかった。

窒素含量についての齡クラスごとに計算した $\gamma$ も明確な季節変動を示し

ていた。窒素含量も葉が展葉する時期あたり（4月後半から6月前半）から減少し、最低値まで減少する（7月中盤から9月前半）。この最低値の時期は葉の成熟が完了する時期によく合っていた。そして最低値のあと（新葉の成熟が終わった後）、残りの期間は、増加をするかもしくは、一定の似たような値を保った。減少が始まる時期、減少が終わる時期もよく新葉の成熟のフェノロジーのパターンとあっていた。このパターンはスタジイ、ヤブニッケイ、タブノキで見られた、しかしながらスタジイのいくつかの齡クラスの葉では1月に窒素含量の減少が見られた。シロダモの窒素含量のパターンにも季節変動がみられた。その傾向はシロダモのクロロフィル含量の季節変動とある点で似ている。窒素含量は春から夏にかけて減少し、その後冬に向かって上昇する。しかし、窒素含量の減少の始まりや終わりは、新葉の成熟フェノロジーと合っているとはいえなかった。シロダモの窒素含量減少の始まりは、新葉の展開時期よりも若干おそく、減少の終わりは新葉の成熟が完了する日よりも若干早かった。

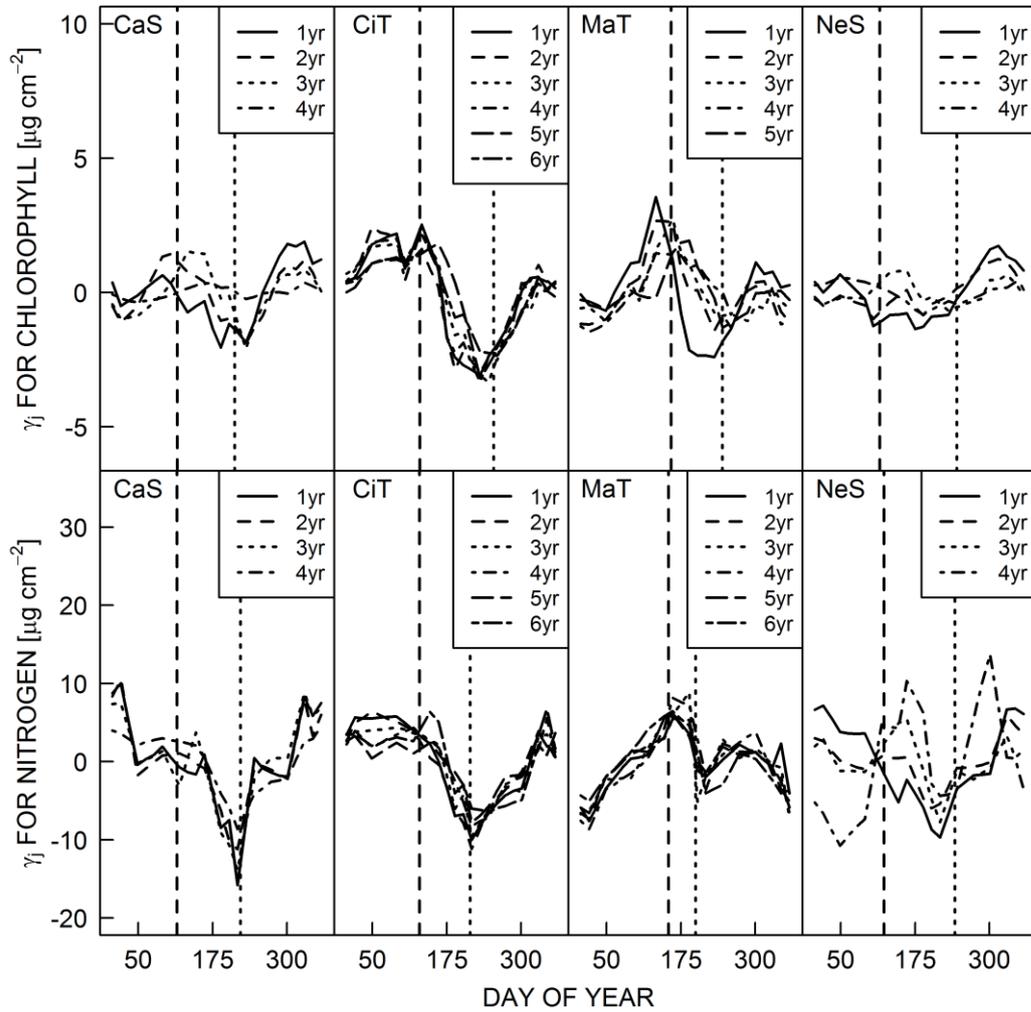


図 4.5 時系列変動モデルの季節変動項 ( $\gamma$ ) の値。上段は各種のクロロフィル含量の $\gamma$ 、下段は各種の窒素含量の $\gamma$ 。縦のダッシュラインは平均展葉日を表し、ドットラインは平均成熟完了日を表す。

#### 4.3.5 $\Delta\gamma$ の種間差、 $\Delta\gamma$ と葉齢との関係

クロロフィルに関する $\Delta\gamma$ の値はスダジイの葉齢クラス3から4にかけて急激に減少していて、タブノキは葉寿命全体を通して多少の減少傾向であったが、 $\Delta\gamma$ の値は全体的にあまり葉齢に伴って変化しないという傾向だった(図4.6)。若い葉のほうが季節変動幅が大きいということにはなかった。クロロフィル含量に関する $\Delta\gamma$ の大きさの順番はシロダモ<スダジイ<タブノキ<ヤブニッケイだった。

窒素に関する $\Delta\gamma$ は、スダジイにおいてははっきりと年齢クラスが上がるとともに減少し、ヤブニッケイにおいてはわずかに減少した(図4.6)。タブノキとシロダモではいくつかの例外を除いて、同じような値を各年齢クラスで示した。若い葉のほうが季節変動幅が大きく古い葉は小さいというような傾向が一部の種で確認できたが、本研究では一般的ではなかった。窒素含量に関する $\Delta\gamma$ はスダジイが大きく、他の種は似たような値になった。

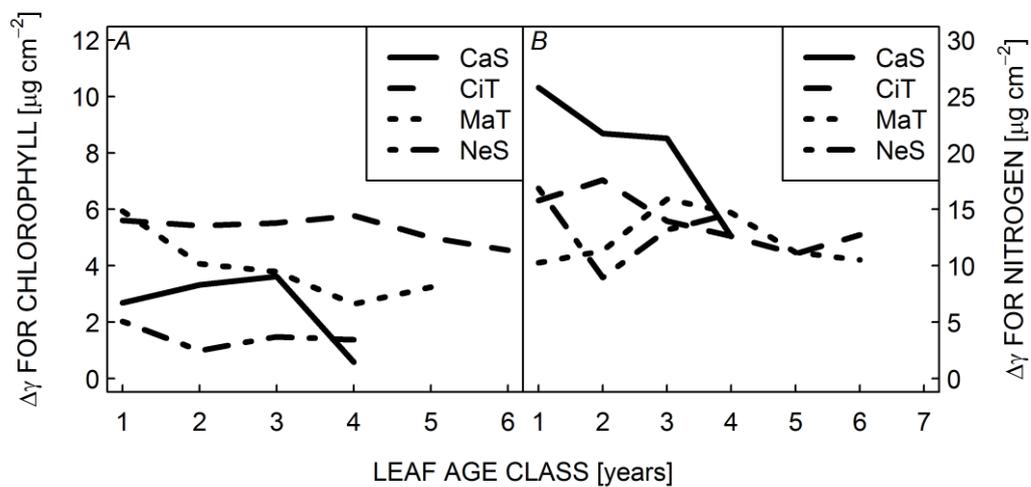


図 4.6  $\Delta\gamma$ と齢クラスとの関係。(A) はクロロフィルについて、(B) は窒素について。各線は異なる種を表す。 $\Delta\gamma$ は1月から8月までの $\gamma$ の最大値と5月から12月までの $\gamma$ の最小値との差。

#### 4.3.6 $\Delta\gamma$ とクロロフィル・窒素含量の最大量との関係

各齢クラスに対して計算した $\Delta\gamma$ と、夏前の期間のクロロフィル含量の齢クラスごとの平均の値の最大値との関係を検討した(図 4.7A)。最大値の季節はおおよその種において新葉が展葉する春である。クロロフィル含量の夏前の最大値と $\Delta\gamma$ には種間で正の相関関係があったが、一方で、種内では明瞭な線形関係はなかった(図 4.7A)。 $\Delta\gamma$ もクロロフィル含量の最大値も、ばらつきのおおきさは種内差よりも種間差のほうが大きかった。散布図において各種のデータ点が種ごとに狭い範囲に固まる傾向があった。

$\Delta\gamma$ と窒素含量の夏前の最大値ととの関係を検討した結果、スタジイとシロダモとヤブニッケイにおいて $\Delta\gamma$ と窒素含量の最大値に正の相関がみられたが、種間差ではクロロフィルのときのような相関関係がなかった(図 4.7B)。窒素含量の種間のばらつきもまた種内差よりも大きかった。

クロロフィルの最大値に対する $\Delta\gamma$ の比はスタジイの 1.4%からタブノキの 10.7%の範囲に及んだ(表 4.1)。窒素含量の最大値に対する $\Delta\gamma$ の比はヤブニッケイの 6.1%からスタジイの 16.6%に及んだ。

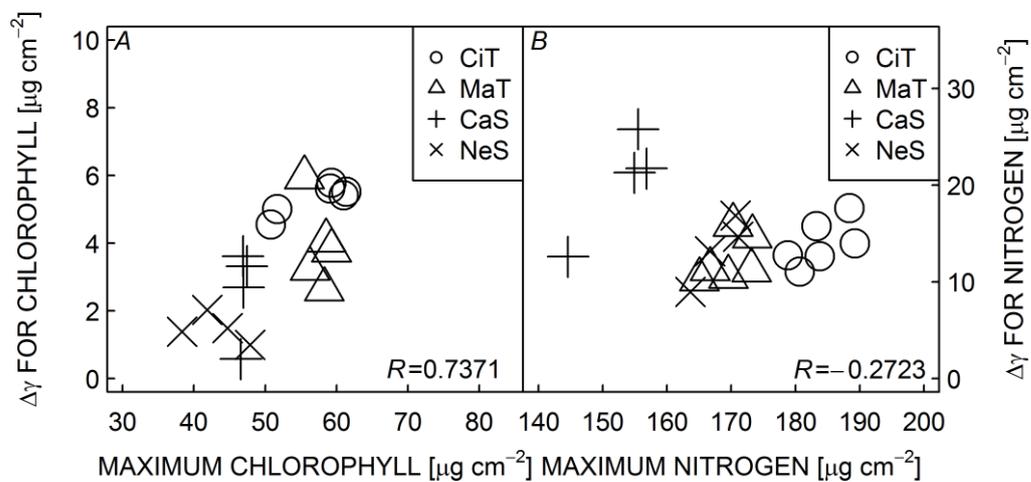


図 4.7 (A) クロロフィルの夏前の最大の量と $\Delta\gamma$ との関係、(B) 窒素の夏前の最大量と $\Delta\gamma$ の関係。 $R$ はすべてのデータポイントを使って計算した相関係数。

#### 4.3.7 $\beta$ の種間差、 $\beta$ と葉齢との関係

ほんの少しの例外をのぞいて、クロロフィルに関する $\beta$ は1年生のときは高い値で、葉の齢があがると減少した。シロダモを除いて、齢クラス1の葉の $\beta$ は正の値であり、葉が出現してから2年目の年でもクロロフィル含量は上昇することを示している(図4.8、表4.1)。スタジイ、ヤブニッケイにおいて $\beta$ は齢クラスがあがると負の値になり、クロロフィル含量は葉が齢を重ねると減少し始めることを示した。しかし、スタジイは減少の程度が小さく(図4.9、表4.1)、むしろ、一生を通してクロロフィル含量はあまり変化しなていないといえた。シロダモは全齢クラスにおいて $\beta$ は負の値でわずかずつながら葉の齢が上昇するとともにクロロフィル含量を減少させる傾向であった。一方で、齢クラスがあがってもタブノキは正の値のままであった。葉の齢が上昇してもクロロフィル含量が上昇することを示す。クロロフィルの $\beta$ に関する種の順位はおおよそシロダモ<ヤブニッケイ<スタジイ<タブノキであった。

窒素においてもクロロフィルと同様、1年生のとき $\beta$ は高い値を示し、齢が上昇すると値が低下するという傾向だった。ヤブニッケイにおいて $\beta$ は最初正の値で、2年生の葉から0に近い値に低下した。窒素含量は当年葉だけでなく、

出現してから 2 年目の葉も上昇することを示している。窒素含量の全体のプロット (図 4.1) ではヤブニッケイは齢が上昇すると減少の傾向を示しているように見えるが、本研究のモデルによる解析の結果は高い齢のとき $\beta$ は 0 に近く、窒素含量は変化しないという結果になった。シロダモに関しては、 $\beta$ は 0 に近い値だった。窒素含量は目に見えて変化しないことを示している。タブノキ、スダジイにおいて窒素に関する $\beta$ は減少するものの高い齢クラスまで正の値だった。

(図 4.9、表 4.1)。葉が古くなっても窒素含量が上昇するが、上昇する程度は齢とともに減少することを示唆している。しかし、タブノキに比べるとスダジイの $\beta$ は 0 に近い値で (図 4.8、表 4.1) 一生を通じて変化しないともいえる程度であった。窒素に関する $\beta$ の値の種の順位はおおよそ、シロダモ<ヤブニッケイ<スダジイ<タブノキであった。

クロロフィルに関する 1 年の正味の変化 ( $365\beta$ ) の夏前の最大値に対する割合は、シロダモの-9.09%からヤブニッケイの 2.57%におよんだ。窒素に関する 1 年の正味の変化 ( $365\beta$ ) の窒素含量の最大値に対する割合は、シロダモの-0.96%からタブノキの 5.27%に及んだ (表 4.1)

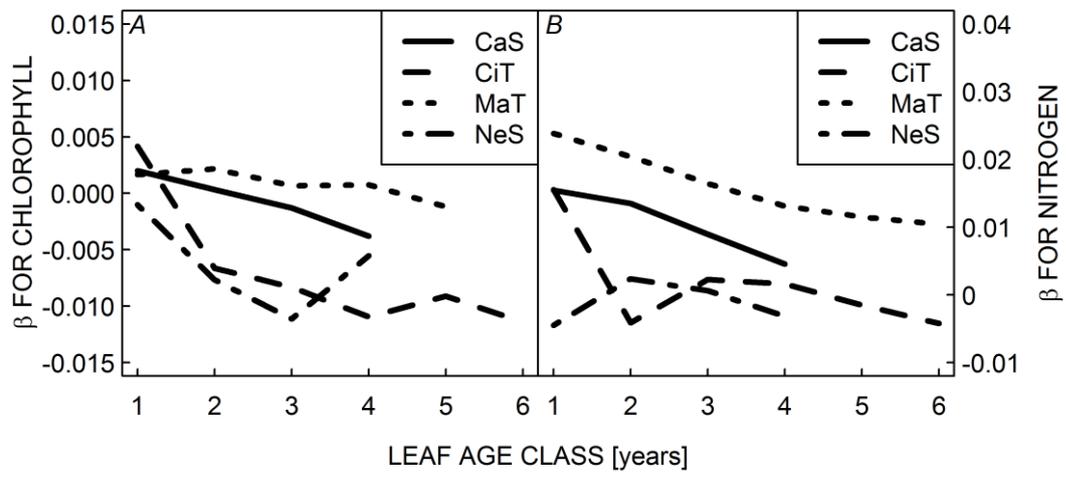


図 4.8  $\beta$ と齡クラスの関係。(A) はクロロフィル、(B) は窒素について。

#### 4.3.8 $\Delta\gamma$ と $\beta$ の関係

クロロフィルに関する $\Delta\gamma$ と $\beta$ の関係には明瞭な種内、種間差がなかった(図 4.9)。 $\Delta\gamma$ と $\beta$ のばらつきはともに、種間のほうが種内よりも大きかった。散布図では各種の点が狭い範囲に固まっていた。

窒素に関する $\Delta\gamma$ と $\beta$ の関係においても明瞭な種間関係はなかった。 $\beta$ のばらつきは種内よりも種間のほうが大きかった。

$\Delta\gamma$ と  $365\beta$ の絶対値とを比較すると、各種についてのクロロフィル含量、窒素含量の結果ともに $\Delta\gamma$ のほうが大きい値を示した。季節変動の程度は正味の 1 年間の変化よりも大きいことを示している。

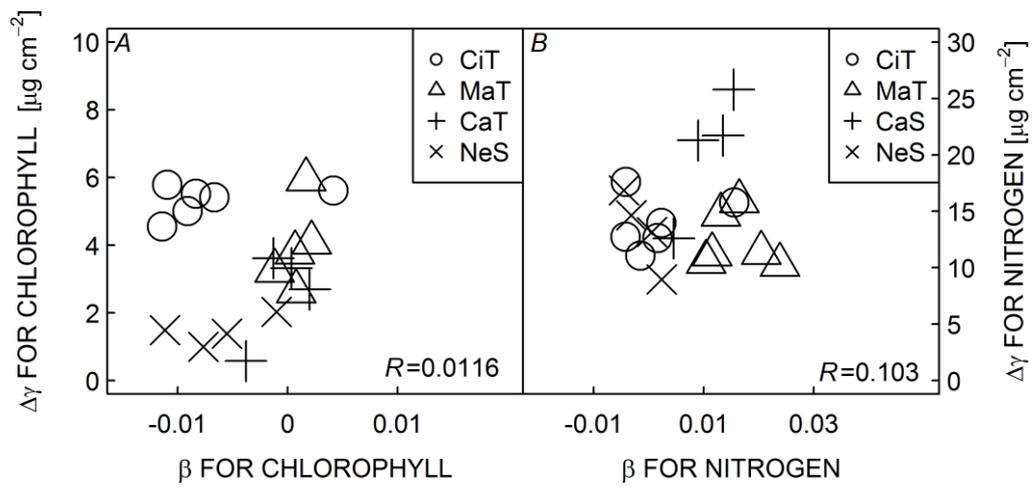


図 4.9  $\Delta\gamma$ と $\beta$ の関係。(A) はクロロフィル、(B) は窒素について。 $R$ はすべてのデータポイントを使って計算した相関係数。

表 4.1 クロロフィル、窒素含量の季節変動の量 ( $\Delta\gamma$ ) と年間の総変化量 ( $365\beta$ )。

カッコ内の値は各齡クラスの葉の夏前の最大クロロフィル・窒素含量に対する比。

species	age class (year)	Chl		N	
		$\Delta\gamma$ ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	$365\beta$ ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	$\Delta\gamma$ ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	$365\beta$ ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
CaS	1	3.94 (5.73)	0.73 (1.55)	25.78 (16.58)	5.64 (3.62)
	2	3.32 (7.00)	0.12 (0.26)	21.71 (13.85)	4.93 (3.14)
	3	3.61 (7.71)	-0.48 (-1.02)	21.28 (13.73)	3.27 (2.11)
	4	0.72 (1.24)	-1.39 (-2.97)	12.60 (8.72)	1.65 (1.14)
CiT	1	5.61 (9.49)	1.52 (2.57)	15.77 (8.61)	5.68 (3.10)
	2	5.41 (8.87)	-2.43 (-3.98)	17.61 (9.35)	-1.51 (-0.80)
	3	5.52 (8.99)	-3.04 (-4.95)	13.96 (7.37)	0.84 (0.44)
	4	5.78 (9.75)	-3.99 (-6.74)	12.62 (6.87)	0.59 (0.32)
	5	5.01 (9.69)	-3.32 (-6.42)	11.05 (6.12)	-0.54 (-0.30)
	6	4.55 (8.96)	-4.17 (-8.21)	12.74 (7.12)	-1.53 (-0.85)
MaT	1	5.94 (10.71)	0.61 (1.09)	10.27 (6.22)	8.70 (5.27)
	2	4.08 (6.97)	0.79 (1.35)	11.32 (6.79)	7.46 (4.47)
	3	3.79 (6.39)	0.24 (0.41)	15.90 (9.34)	6.00 (3.53)
	4	2.93 (4.53)	0.28 (0.48)	14.70 (8.48)	4.78 (2.76)
	5	3.25 (5.77)	-0.435 (-0.77)	11.16 (6.45)	4.21 (2.43)
	6			10.53 (6.21)	3.80 (2.24)
NeS	1	3.09 (4.85)	-0.37 (-0.88)	16.86 (9.88)	-1.64 (-0.96)
	2	2.23 (2.08)	-2.79 (-5.83)	8.97 (5.48)	0.87 (0.53)
	3	1.49 (3.32)	-4.07 (-9.09)	13.17 (7.90)	0.23 (0.14)
	4	1.38 (3.60)	-2.01 (-5.25)	14.65 (8.57)	-1.15 (-0.67)

## 4.4 考察

### 4.4.1 線形のトレンドと季節変動の分離

クロロフィル含量と窒素含量のおおきな変動を3つの要素:1年間の線形の変動、季節変動、葉ごとのランダム効果をもつ統計モデルによってうまく説明できた。変動パターン、季節変動の量、そしてモデルの線形項によって抽出した1年間の正味の変動は、 $\gamma$ 、 $\Delta\gamma$ 、 $365\beta$ によって表現することができた。よって、本研究で構築したモデルにより、クロロフィル含量と窒素含量のパターンを理解するのを容易にし、種間、種内の比較をすることができた。このモデルリング方法は葉寿命が1年よりも長い葉の機能的形質の時系列変動の解析にも適用できる。

### 4.4.2 季節変動と可能性のある原因

窒素含量の季節変動についてたくさんの先行研究により常緑樹種において見出されている現象 (Nambiar and Fife 1991、Millar and Proe 1992、Cherbuy et al. 2001、Miyazawa et al. 2004、Yasumura et al. 2011) と同じような新葉のフェノロジーと対応した季節変動を本研究では見出した。若干の先行研究においてはクロロフィル含量の新葉のフェノロジーと対応した季節変動

が見いだされなかった (Fife and Nambiar 1982、Wender et al. 1995) が本研究では季節変動が見いだされた。本研究で構築した方法は個葉ごとのバラつきを考慮したため、バラつきの多い雑音の多いデータから季節変動の検出をより容易にしたのかもしれない。しかし、クロロフィル含量の季節変動は種や環境に依存しているかもしれない。

種ごとに葉の展葉時期と成熟が終わる時期が異なっていたにも関わらず、古い葉のクロロフィル、窒素含量が減少する時期は当年葉が発達する時期と同時によく対応していた。この結果は、本研究で観察された季節変動はクロロフィル、窒素含量の減少が葉からの溶脱や変化する環境への順応 (Muller et al. 2011) ではなく、古い葉から新しい葉への物質の転流によることを強く示している (Fife and Nambiar 1984、Nambiar and Fife 1987、1991、Helmissari 1992)。クロロフィルは分解されはするが、分解された物質は転流していない可能性も考えられる。しかし、新葉の成長と対応した減少であること、窒素の転流が同時に観察されることから、分解されたクロロフィルは新葉へ転流している可能性が高いであろう。クロロフィルは大きな分子でそのままでは細胞膜を通過できず移動できないと考えられるが、分解され、移動可能な小さな分子と

なり、シンクに運ばれるのだろう。(このプロセスを簡単のため以後クロロフィルの転流と呼ぶ。) 当年葉はその成熟期間は強いシンクであり、多くの窒素やクロロフィルの分解された物質を古い葉から吸い出すことができ、既存の器官の養分動態に強い影響を与えている。これはおそらく古い葉の老化の原因になり、当年葉が出現してから直後の落葉のピーク (Nitta and Ohsawa 1997、Miyazawa et al. 2004) の原因であるだろう。クロロフィル・窒素の転流は新葉の成熟期間ずっと続き、ゆっくりとした、安定した過程であり、2 か月から 4 か月続いた。最終的に新葉が必要な量の物質ををいっぺんに送ってしまうのではなく、新葉のゆっくりとした成長に合わせて徐々に窒素やクロロフィルが分解された物質を送っていることを示している。当年葉が成熟を終えたとき、強いシンクが消えたため、古い葉のクロロフィルと窒素含量の減少は止まったと考えられる。

クロロフィルと窒素含量の減少が止まった後、再び上昇を開始した。先行研究でも同じような上昇の段階が報告されていて (Nambiar and Fife 1987、1991)、再充填と呼ばれている。根が吸収した窒素が古い葉の窒素含量の上昇に貢献し、クロロフィルは古い葉で、分配された窒素やマグネシウムなどを使っ

て合成をしているのだろう。当年葉の成熟が終わった直後の上昇の段階はすべての種で見いだされたが、冬の季節変動のパターンは種間で異なっていた。例えば、ヤブニッケイにおいて冬の窒素含量は変動がなかったが、スダジイでは減少した。これらの違いは、低温に対する根の感受性の違いや、その他の器官の活動性の違いを反映しているかもしれない。

シロダモは季節変動の幅が最も小さく、またクロロフィル、窒素含量の減少の期間が、この種の当年葉の成熟フェノロジーと明瞭に合致していなかった。これは、当年葉の成熟フェノロジーが本研究で対象にした種では最も長く（図 4.5；窒素に関して、スダジイは 106 日、ヤブニッケイは 85 日、タブノキは 45 日、シロダモは 119 日）、この間延びたフェノロジーが原因かもしれない。この間延びた成熟フェノロジーがクロロフィルや窒素の吸収率をさげていて、新しいシュートのシンクの強さを弱くしているかもしれない。

#### 4.4.3 季節変動の量について

窒素に関して、相対的な $\Delta\gamma$  (5–17%) は他の常緑針葉樹における先行研究の報告 (*Pinus strobos* の 42%、*Picea glauca* の 32%、*Picea radiata* の

25.8-42.5%) (Nambiar and Fife 1991、Munson et al. 1995) よりも小さい値だった。これらの違いは研究対象にした種の違いが原因でありうる。本研究の対象種は同じ葉の特徴（季節がある環境で生育する常緑広葉樹）、そして同じ生息域に生育していたにもかかわらず、 $\Delta\gamma$ が大きく種間で異なっていた。環境要因の違いが転流の量に影響する可能性もある。Yasumura et al. (2011) は *Quercus myrsinaefolia* において樹冠の外側のほうが樹冠の内側よりも窒素の転流の量がおおいことを示した。この結果は被陰された葉よりも被陰されていない葉のほうが移出する窒素が多いことを示している。本研究の対象種と同様に被陰された環境では樹木の生長はとても遅いものである。こういった状況ではシンク（新しいシュート）はより小さく、活動的でなく、結果的に相対的な窒素の要求量が小さくなるだろう。窒素含量において本研究で見られたちいさな相対的 $\Delta\gamma$ は被陰された環境下で成長が制限されていたことが原因でもありうる。

クロロフィル含量の季節変動の可能性を調べた研究は非常にわずかである (Fife and Nambiar 1982、Wendler et al. 1995)。これらの研究ではクロロフィル含量において季節変動を見出していない。これらの結果は本研究におけるクロロフィル含量の相対的 $\Delta\gamma$ が1%から11%の範囲であって窒素含量に匹

敵する量であったことと一致しない。クロロフィルの転流については一般化する前に、より多くのデータが蓄積されるべきである。

#### 4.4.4 $\Delta\gamma$ と齡、クロロフィル・窒素含量の最大値との関係

Millard (1996) は老化とは関わりのない窒素の転流（流出）は、古い葉からよりも若い葉からのほうが大きいと報告したが、本研究での結果ではクロロフィル、窒素量の両者の $\Delta\gamma$ は葉が古くなるにつれて大きく減少するということはなかった（スタジイとヤブニッケイの窒素の含量についての $\Delta\gamma$ は例外）。本研究で調べた種の古い葉は窒素の供給について比較的重要な役割をはたしていた。Fife and Nambiar (1984) は展葉してから 4-6 か月目の葉から転流した窒素の割合は 12-16 か月目の葉から転流した窒素の割合の半分でしかなかったと報告している。よって、葉の齡と転流するクロロフィル含量や窒素含量との関係はさまざまであるように思える。より詳細な生理学的研究がこの違いを説明するであろう。

本研究において、クロロフィルの夏前の最大値と $\Delta\gamma$ の間に種間で正の相関関係があった（図4.7）。先行研究では転流した窒素の量は葉の窒素含量の最大

量と正の相関があることが、*P. radiata* の種内比較 (Nambiar and Fife 1991) で、また常緑広葉樹の複数種の比較 (Fife et al. 2008) で報告されている。クロロフィル含量に関する本研究の結果は、葉に含まれたクロロフィル・窒素含量は転流の大きさを決める一つの決定要因であることを示唆する。転流が起こる前のクロロフィル・窒素の量は転流のために貯蔵されたクロロフィル・窒素の量を反映していると考えられる。

先行研究 (Nambiar and Fife 1991) と矛盾なく、窒素に関する $\Delta\gamma$ は各種内 (スダジイ、ヤブニッケイ、そしてシロダモ) では葉の窒素含量の最大値と正の相関がみられた。しかし、クロロフィルとは違って、種間の相関関係を見出すことはできなかった (図 4.8)。種間の相関関係がみられなかったのは、葉の窒素の様々な形態の割合が種によって異なることによって説明できるかもしれない。葉にある様々な窒素の形態の中で、可溶性タンパク質に含まれる窒素は構造タンパク質の窒素よりもより転流されやすい。可溶性タンパク質量の構造タンパク質量に対する比は種間で異なることが知られている (Takashima et al. 2004)。もし、本研究で扱った種間でこの比が大きく異なるならば、 $\Delta\gamma$ と窒素の最大量はたとえ、種内では相関があっても、種間では相関関係は見られ

ないであろう。一方で、クロロフィルは様々な形態を持っていないことが、 $\Delta\gamma$ と最大量の間で明瞭な種間の相関関係を導いていると考えられる (図4.8)。

### 3.4.5 $\beta$ の時系列変動

モデル内の1年ごとの線形項 ( $\beta$ ) で表現されたクロロフィルの年間の総変化量についての典型的なパターンは、クロロフィル含量は葉が若い時は齢とともに上昇し、葉が古くなると齢とともに減少する (図 4.8) というものだった。このパターンは、葉が若い時は養分のシンクであり、葉が古くなるにつれ養分のシンクとしての機能が弱くなる、もしくはソースになることを示している。当年葉は強いシンクであると考えられてきたし、本研究でもそうだった。1年生の葉のクロロフィル含量も、当年葉の成熟を終えた後は上昇し、年間の収支はプラスになった。1年生の葉は年間を通してみるとクロロフィルが増加していたことから物質のシンクとして機能していたと考えられる。古い葉におけるクロロフィル含量の負の総変化量 ( $365\beta < 0$ ) は先行研究 (Šwarák and Čatský 1962, Ciganda et al. 2008) と一致している。似たようなパターンが窒素含量でも見つかった。1年生葉の $\beta$ は正で、齢クラスが上昇すると $\beta$ は減少した (図4.9)。

しかし、いくつかの種において一年生葉のの $\beta$ が比較的大きく、そのため、もっとも古い齡クラスの葉でも正であり、窒素含量は葉の一生を通して上昇することを示した。

タブノキ、スダジイで見られた、葉の一生を通じて窒素含量が上昇するという時系列変動のパターンは、理論モデル (Field 1983、Hirose and Werger 1987) によって予測されたパターンと異なる。古い葉がより若い葉により被陰され、光合成速度が窒素含量と正の相関関係がある場合、葉の齡が上昇すると窒素含量が低下することを理論モデルは予測している。しかし、窒素が豊富だと齡に伴った窒素含量の勾配ができないことがアサガオで示されている (Hikosaka et al. 1994)。本研究の理論との乖離は本研究で対象にした稚樹は被陰されていて、それらの成長は窒素よりも光によって制限されていることが原因で起きたかもしれない。窒素は研究対象地では比較的豊富であり、根によって吸収された窒素は古い葉を再充填するには十分な量だった可能性がある。また、モデルの前提条件が本研究には適応できなかった可能性がある。モデルでは光合成速度は窒素含量と正の相関関係があると考えている。しかしながら、光合成速度の齡に伴った低下は必ずしも窒素の減少を伴わない (Escudro and

Mediavilla 2003、Ethier et al. 2006)。この状況では、窒素と光合成の相関関係を前提にしたモデルの予測と、実際の窒素含量の変化傾向はずれる。常緑広葉樹においては一般的に Field (1983)、Hirose and Werger (1987) のモデルは成り立たない。しかし、クロロフィルにおいて減少傾向であり、窒素においても古い葉の年間の収支が低い値を示したヤブニッケイやシロダモは理論の予測にそっているようでもあり、窒素の分配の仕方には種間差があるようだ。

#### 4.4.5 $\Delta\gamma$ と $\beta$ の関係

クロロフィル、窒素含量の両方において $\Delta\gamma$ と $\beta$ の間に明瞭な種内関係はみられなかった (図4.9)。もしある種の $\Delta\gamma$ と $\beta$ が齢クラスの間数として同じ形で表すことができたなら、 $\Delta\gamma$ と $\beta$ の関係は種内において線形になるはずであった。しかし、本研究はこういった事例ではなく、種内の $\Delta\gamma$ と $\beta$ の間に明瞭な関係はなかった。

クロロフィル、窒素含量両方において $\Delta\gamma$ と $\beta$ には種間で大きさの順序があるように見えた。もし種の順位が $\Delta\gamma$ と $\beta$ で共通ならば、 $\Delta\gamma$ と $\beta$ は種間で相関関係がみえるはずである。しかしながら、 $\Delta\gamma$ と $\beta$ において大きさについての種の順

位が異なり、結果的にこれらパラメーターに明瞭な種間関係がなかった。

$\Delta\gamma$ と $\beta$ に間に明瞭な関係がなかったことは、季節変動の量と年間の総変化量は互いに独立であることを示している。おおきな転流量は必ずしも、古い葉のクロロフィル・窒素含量の大きな減少という結果になるわけではなかった。これは当年の成熟が終わった後におこる古い葉のクロロフィル・窒素の再充填が葉のクロロフィル・窒素含量の年間の総変化量を決めるのに重要な要素であることを示している。

## 第5章 総合考察

常緑広葉樹の養分利用特性は開葉落葉パターン、そして葉の窒素含量やクロロフィル含量の齢に伴った長期変動、季節変動に反映する。常緑広葉樹稚樹の養分利用特性を理解するために、第2章で葉の開葉・落葉フェノロジー、第3章で非破壊的に窒素含量、クロロフィル含量を測定する方法を構築し、第4章で窒素含量、クロロフィル含量の季節変動・長期変動を測定し、葉から見た常緑広葉樹稚樹のクロロフィル・窒素動態について解明した。第2章から第4章までの結果を受けて、各章で触れなかった部分も含めて、新葉の成熟期、成熟以降の養分動態、そして新しい葉から古い葉までの窒素の分配様式についてまとめ、最後に養分利用の違いについて議論をする。

### 5.1 新葉の成熟期の養分動態について

第2章の結果、落葉パターンには種差があった。ヤブニッケイ、ヒサカキ、シロダモでは、落葉のピークは展葉から若干遅れたが、展葉に近い時期に落葉のピークがあり、新葉の展葉時に古い葉を構成する物質が分解、そして回収され、落葉が発生しているように思われた。一方で、スダジイ、タブノキは新葉の展葉時に落葉が観察されたものの、その数は多くなく、古い葉の物質を

より多く新葉に送り、落葉させてまで新しい葉を作っているようではなかった。落葉は新葉が成熟して以降の夏から秋に多かった。スダジイ・タブノキは春に多く落葉するという報告（長尾 2003、Nitta and Ohsawa 1997）があることから環境によって落葉パターンは変わることが示唆される。

第4章で解明した落葉しなかった葉の新葉の成熟期のクロロフィル・窒素動態では、クロロフィル含量についてはシロダモではあまり減少が見られなかったが、ヤブニッケイ、タブノキで特に顕著に季節変動をし、窒素含量については、解析していないヒサカキを除く4種すべてで季節変動が観察された。展葉から成熟までの期間とクロロフィル含量・窒素含量が減少している期間が一致していることから、古い葉から新葉の成長への物質の転流のためと思われる。本研究で調べた常緑広葉樹は、常緑針葉樹（Nambiar and Fife 1991）やオーストラリアの常緑広葉樹（Fife et al. 2008）、日本の *Quercus myrsinaefolia*（Yasumura and Ishida 1011）と同様に、新葉の展開時に古い葉から窒素を新しい器官に送っていた。シロダモのクロロフィルにおいて季節変動がほとんど見られなかったものの、窒素については全種で減少が確認できた。落葉しない葉においてみられる古い葉から新しい葉への物質の転流は常緑針葉樹における報告

が主であったが、常緑広葉樹稚樹でも確認ができ、古い葉からの窒素の転流に関しては普遍的だと思われた。常緑樹において葉は新葉の展開に備えた養分の貯蔵庫の役割を持っていることを示し、このことが常緑樹において普遍であることを本研究は示唆する。

第2章と第4章の結果を比較すると、ヤブニッケイ・シロダモでは展葉期に落葉が多くなる理由は、この時期に古い葉のクロロフィル・窒素含量が減少していたことから、新葉が古い葉から養分を奪うために、特に一部の古い葉の養分が多く奪われ、落葉が多くなるのであろうと考えることができる。展葉期に個体が持っている養分量に対して新葉生産量が多いために古い葉から養分を多く奪うものと考えられ、余裕の少ない生育をしていると推察される。一方で、スダジイ・タブノキは展葉期に落葉のピークがなかった。春に落葉の少なかった両種においても、クロロフィル含量、窒素含量の低下が観察されたことから、落葉が少ないからと言って新葉の展開が古い葉に影響していないわけではなかった。1年生の葉から6年生の葉まで新葉の成熟期間にクロロフィル・窒素含量が減少していたことから、新葉への物質の移動は落葉する葉、落葉しない葉に関わらず全葉からであり、新葉のシンクの強さは個体全体に影響するほど

強いものであった。新葉は古い器官に対して養分を要求し、その影響は全植物に及ぶが、必ずしも落葉を誘引するわけではないことが明らかになった。日本の常緑針葉樹も落葉のピークは秋にあり、新葉の成長の影響による落葉が必ず起こるわけではないことは広くみられる現象であろう。スダジイ・タブノキで展葉期に落葉が少なかった原因としては、展葉期に個体が持っている養分量に対して新葉生産量が小さいために、養分が比較的余剰となり、余裕のある生育をしていたと考えることができる。本研究の落葉パターンは先行研究と異なっている。一般的にスダジイ・タブノキは展葉期に落葉が多いとされている。本研究は林床の稚樹を対象としたことが特徴である。光の少なさが新葉の成長量のボトルネックになり、個体が持っている養分量が制限にならない状況が作られやすいと思われる。養分状態の違いが、落葉パターンを変化させた可能性が推察される。

新葉のクロロフィル含量の増加量を元にとするとクロロフィル含量に関する新葉成熟完了日は、スダジイ：7月31日、ヤブニッケイ：9月11日、タブノキ：9月2日、シロダモ：9月2日であり、展葉から3か月から4か月ほどかかっていた。窒素に関する成熟完了日は、スダジイ：8月10日、ヤブニッケイ：

8月3日、タブノキ：7月19日、シロダモ：は8月30日で、成熟期間は2か月から4か月ほどだった。葉のクロロフィル・窒素含量の面からみた成熟はきわめて長い時間がかかることがわかった。この間古い葉から徐々にクロロフィル・窒素は新葉へ転流していた。成熟に長い時間がかかるのは、一気に成熟させるには準備している養分では足りず、根からの養分吸収速度が成熟速度をきめているのか、成熟には準備している養分量以外のなんらかの制約があり、時間をかけざるを得ず、徐々に持っている養分を新葉に送りながら成熟するのかわちらかだらう。実際には、古い葉からクロロフィルや窒素がその都度必要な分だけ徐々に転流していくようであった。このことから次のことが考えられる。新葉の成熟のために準備している個体が確保している養分量が十分ではなために根からの吸収量が成熟の速度を決めているということが新葉の成熟期間の長さの原因ではなく、新葉の成熟のために使える養分は十分に確保されているにも関わらず成熟に時間がかかっていると考えられる。養分量以外のなんらかの要因によって一気に新葉を成熟させることができないのだらう。

## 5.2 新葉の成熟期以降の養分動態について

成熟期以降、古い葉のクロロフィル・窒素含量は減少から上昇に転じた。

これは本研究で扱った種すべてで共通の現象であった。新葉の成熟は強いシンクとなって個体全体に影響するが、その成熟が終わったとき、個体内にある強いシンクが消え、根から吸収された養分の分配が古い葉にもたらされ、蓄積が開始するものと思われた。比較的新しい葉から古い葉まで再充填が起こっていた。この時期、個体内のもっとも古い葉も個体内におけるシンクとして働いていたということである。成熟期以降の古い葉のソースからシンクへの変化は、個体内のシンク・ソース関係は相対的であり強いシンクがあるときにはソースとなる器官がその強いシンクがなくなるとシンクに変化することを示している。

すべての種においてクロロフィル・窒素の増加減少の年間の収支は1年生で正の大きい値を示し、古い葉は小さい値を示したことから、新葉の成熟が終わって古い葉のクロロフィルや窒素が再充填される際、葉が古いほどこの時期に蓄えられるクロロフィルや窒素量が少なく、葉の齢によって根から吸収された養分の分配量が異なることを示唆している。比較的新しい葉と古い葉で新葉の成熟が終わって以降のそれぞれの葉のシンクの強さ、もしくはそれぞれの齢の葉に対する根からの養分の分配量に差があるかどうかのきちんとした検証はこれからの研究課題である。新葉の成熟を終えてから葉にまた再充填されて

いった養分は、次の春の成長にまた転流し、使われるであろう。

葉が古くなるほどクロロフィル・窒素の年間の収支が低下することは全種共通であったが、収支が低下しマイナスの傾向になる種（ヤブニッケイ・シロダモ）からプラスの傾向を保つ種（タブノキ・スタジイ）まで種差があった。古い葉における新葉成熟期以降の養分の再充填の時期、新葉に奪われた養分以上の量を根からの吸収によって補てんできるか、できないかで異なっているといえる。第 4 章では、ヤブニッケイは古い葉のクロロフィル・窒素含量が減少する傾向だったので、多くの 1 年生より古い葉は新葉に奪われた養分を秋以降に補てんできていないといえる。一方でタブノキは古い葉のクロロフィル・窒素含量が増加する傾向だったので多くの葉が新葉に奪われた養分以上の養分を秋から冬にかけて回収できたものと思われる。シロダモは収支が低い傾向で、スタジイの収支はタブノキより低いものの高い値を示す傾向だった。これらのことから、養分利用について落葉フェノロジーにおける推察と同様のことが推察できる。ヤブニッケイ・シロダモは根からの養分吸収量に対して新葉生産量が大きく、余裕の少ない養分利用をしていることが推察される。一方でスタジイ・タブノキは根からの養分吸収量に対して新葉生産量が小さい傾向で余裕を

もった養分利用をしていると推察される。

ヤブニッケイについては 2008 年で、またスダジイ、シロダモについては多くの年で、DOYにして 200 から 250、月にして 8月から 9月に多くの落葉が観察された。タブノキは 9月以降に落葉のピークがあった。8月・9月と、新葉のクロロフィル・窒素含量の成熟スケジュールとを照らし合わせると、8月は成熟のちょうど終わるころにあたり、9月は完全に新葉の成熟が終了したころにあたる。この時期の落葉は新葉の強いシンクがないころであり、個体内の養分のシンク・ソース関係で起こっているものではない可能性が高い。この時の落葉は養分動態とは異なる原因である可能性が高い。夏は蒸散量が多くなる時期であり、たとえば個体を使うことができる水分量と蒸散量のバランスなどが個体が持てる葉の枚数を決め、落葉数を決める原因である可能性が仮説として考えられる。

### 5.3 落葉のパターンの違いの原因についての考察のまとめ

第 2 章において明らかになった落葉パターンに年変動があること、また先行研究のパターンと異なることは、環境による違いが落葉パターンを変えることが示唆される。

5.1 で指摘したように、第 2 章と第 4 章の結果の比較からヤブニッケイ・シロダモで観察された春の落葉のピークは新葉に養分を奪われるために起きたと考えられる。個体が確保している養分量が個体が持てる葉数を制限し、新たに生まれる葉に個体が持っている養分の多くが使われるため、その分古い葉が持っている養分が多く奪われ、落葉していると考えることができる。展葉期に落葉が少なかったスタジイ・タブノキも、古い葉からのクロロフィル・窒素の転流が起こっていたが、古い葉が持っている養分量が新葉が要求する量に対してもともと多く、死んでしまうほど多くの養分を新葉に奪われなかったために落葉が少なかったのかもしれない。スタジイ・タブノキについては個体が持っている養分量は個体が持てる葉の枚数の制限要因になっていなく、別の要因が葉の枚数の制限要因になっている可能性を考えることができる。他の研究では展葉期における落葉のピークが報告されていることから、養分状態の違いにより落葉パターンは変化することが示唆される。5.2 の考察で指摘したように、スタジイ・タブノキ・シロダモで見られた夏から秋にかけての落葉は新葉の強いシンクがなくなる時期の落葉であり、養分を強く要求する器官があることによる落葉とは異なると考えられる。夏から秋にかけての落葉は蒸散量が多い時期

の落葉であり、原因としては個体が使える水分量の総量が葉の枚数を制限するため、落葉が起こることが仮説に挙げられるだろう。栄養分の量が葉の量を律速する場合は新葉という新たに養分を要求する器官が展開する時期に葉の枚数を調整するために落葉が起こり、春落葉となり、水分量が葉の量を律速する場合は、蒸発散量が多い季節に葉の枚数を調整するために落葉が起こり、秋落葉となるのではないだろうか。秋の落葉から回収される養分も貯蔵養分になる。春、秋、どちらで落葉しようとも個体全体の窒素利用効率は変化しないかもしれない。

#### 5.4 個体内の窒素の分配の理論について

個体内の葉への窒素分配に関する理論 (Field 1983、 Hirose and Werger 1987) によれば植物の葉の窒素分配は光がよく当たる葉に多くの窒素を投資するのが最適である。葉は古くなるにつれ新しい葉や枝が上部にかぶさり被陰されていくので、老化をすると窒素含量を低下させることがこの理論から予想される。このように葉の加齢に伴った窒素含量の変動や、窒素含量と相関が強く窒素動態と深く関連するクロロフィル含量の変化は、個体の窒素利用戦

略を反映すると考えられる。葉の窒素含量、クロロフィル含量は季節変動をし、新葉の成熟期に古い葉のクロロフィル・窒素は減少し、成熟期以降に上昇する。よって葉の窒素含量、クロロフィル含量の長期変化は、成熟期の減少と成熟期以降の上昇の関係で決まると思われる。このバランスの中で個体の光合成能力を最大にするように、窒素の分配が行われると考えられる。

本研究第4章の結果、全種において共通の傾向として当年葉のみならず、当年葉に被陰されている1年生の葉においても、年間の収支としてはプラスの傾向で、成熟した当年葉よりも1年生の葉のほうがクロロフィル・窒素含量が高い傾向があった。よって光の勾配によって窒素の各葉への分配量が決まっているという Field (1983) や Hirose and Werger (1987) の理論は厳密には成り立っていない。しかし、ヤブニッケイにおいては1年生以降の齢の葉ではクロロフィルでは年間の収支としては減少傾向であった。ヤブニッケイにおける窒素動態では統計モデルによる傾向の抽出では変化なしという結果ではあったが、図4.1からは窒素動態は長期的に減少傾向である。またシロダモにおいても古い葉の年間のクロロフィルの収支は負で、窒素の収支は全体的に低い値だった。おおまかにいって、特にクロロフィル含量についてはヤブニッケイ、シロ

ダモは理論の予測されるような齢にともなった減少を示している。一方でスタジイ・タブノキでは窒素含量・クロロフィル含量ともにあまり変化しない、もしくはタブノキのように上昇するという傾向で、理論の予測や草本植物で報告されている葉の齢上昇に伴う窒素含量の減少 (Hikosaka et al. 1994) は観察されなかった。常緑樹のいくつかの種において齢に伴った窒素含量の減少が本研究と同様に観察されていない (Esucudero and Mediavilla 2003、Ethier et al. 2006、Han et al. 2008)。これらの報告では窒素最適分配の理論の基礎となる窒素含量と光合成速度の相関関係が葉齢との関連においては認められないということである。本研究において葉のクロロフィル・窒素の長期変動、または新しい葉から古い葉までのクロロフィル・窒素の分配様式に種差があったことは、被陰され、老化した古い葉の窒素を減らし光環境の良い新しい葉へ転流させ物質生産を高めるという理論で予想された適応的な戦略が、成り立つ種と成り立たない種が常緑広葉樹内に存在している可能性を示している。本研究で検出された種差は、窒素が制限するであろう高木では成り立たない可能性があり、被陰された稚樹に限った種差でしかない。

草本植物における研究で窒素が豊富だと古い葉の窒素含量がさがらな

いという報告がある (Hikosaka et al. 1994)。この報告をあてはめると、スタジイ、タブノキで見られたクロロフィル・窒素の上昇の傾向は、根からの窒素吸収量に対して新葉生産量が小さく、相対的に窒素量が余っているからだと予想できる。一方で、クロロフィル含量や窒素含量で葉齢の上昇に伴う低下の確認されたヤブニッケイでは、Hikosaka et al. (1994) に従うとすると、根からの窒素吸収量に対して新葉生産量が多く、相対的に窒素が制限的で個体全体で比較的不足している状況であるために、光が多く当たる比較的新しい葉に多くの窒素が多くあるように再分配が起きていたと予想される。クロロフィルが減少傾向で、窒素では年間の収支がスタジイ・タブノキに比べて小さかったシロダモも余裕の少ない窒素利用をする傾向にあったと推察できる。なぜ土壌窒素量が豊富だと、理論的には進化的に意義があると考えられる、新しい葉から古い葉までの窒素の勾配ができないかについては未知である。過剰な窒素は光合成速度を上昇させないのかもしれない。そのため、窒素が豊富な場合、新しい葉により多くの窒素を投資するのは物質生産上意味がなく、古い葉にも窒素がたまっていくのではないだろうか。新しい葉において過剰な窒素を確保する葉内のスペースが枯渇する結果、余った窒素は古い葉にたまる可能性も考えられ

る。

## 5.5 まとめ：養分利用の特性について

本研究は林床に生息している常緑広葉樹稚樹を対象にしたものである。本研究で示唆された種差は光の不足が成長のボトルネックになっている林床の稚樹の調査に限定されている。光が成長を制限しない環境にある植物、例えば林冠に達するほどの高木や、土壤養分状態が異なると、葉のクロロフィル・窒素動態も異なる結果になるだろう。

古い葉のクロロフィル・窒素含量が秋、冬と蓄積され上昇し、それを新葉に使うのは全種共通の養分利用特性であったが、葉の開葉・落葉パターン、クロロフィル・窒素の長期変動の種差を踏まえると養分利用の性質について種間差があることが推察された。ヤブニッケイ、シロダモは新葉が芽生える春に多くの古い葉が落葉した。そしてヤブニッケイは葉のクロロフィル含量・窒素含量を長期的に低下させた。シロダモはクロロフィルについては減少傾向、窒素については古い葉の窒素含量の年間の収支は 0 に低い値だった。ヤブニッケイのクロロフィル・窒素、そしてシロダモのクロロフィルにおいては比較的新しい葉のほうがより古い葉よりも量が多い傾向でもある。これらのことはすべて、

5.1、5.2、5.4の考察から、ヤブニッケイ・シロダモは根から吸収する養分量に対して新葉生産量が大きく、余裕の少ない養分利用をしていることを示唆する。一方、本研究でスタジイ・タブノキは春に落葉が少なく、クロロフィル含量・窒素含量が年間の収支では低下せずに増加傾向を示し、新しい葉のクロロフィル・窒素含量と古い葉のクロロフィル・窒素含量が同程度か、むしろ古い葉のほうが多くなった。これらの現象はすべて、5.1、5.2、5.4の考察から、根からの養分吸収量に対して新葉生産量が小さく、余裕のある養分利用をしていることを示唆する。窒素制限的な成長ではなく、おそらくは炭素制限的（光制限）な生育をしているとも考えられる。

本研究における被陰された稚樹における葉のフェノロジーや長期変動から考えられる養分利用に関する種差が、遺伝的に固定された種の特徴の差であるのか、共通した反応基準を持つ種が異なった環境に対応して生じた差なのかは判別できない。しかし、本研究は同所的な環境でランダムに選択した稚樹を対象としていて、環境が種ごとに大きく偏るとは考えにくく、稚樹の養分の分配様式における種差は遺伝的な種差によるものである可能性が高い。つまり、余裕の少ない養分利用をしていると推察されたヤブニッケイ・シロダモと余裕

のある養分利用をしていると推察されたスタジイ・タブノキの違いは、種の養分利用の戦略の違いを反映した違いである可能性がある。

耐陰性が高く、林床の暗い環境に生息している稚樹の間で、葉のフェノロジー、クロロフィル・窒素の長期変動、もしくは古い葉から新しい葉までのクロロフィルや窒素の分配様式、すなわち養分利用戦略に違いがあることがわかった。耐陰性を獲得するにあたって、持ちうる養分利用戦略は一つではなく、多様である。

本研究における養分利用の違いが、遺伝的な種差か環境差かを見極めるには、新しい葉から古い葉までの分配様式や落葉フェノロジーが土壤養分量により異なるかどうか、そして同じ環境に厳密にコントロールしたうえで、落葉パターンや新しい葉から古い葉までの養分の分配様式に種差がでるかどうかを判定する綿密な実験が必要である。また同じ環境で育てたとき、各種の地上部・地下部のバランスが異なるかどうかを検証することも養分利用戦略を解明する上で、重要であろう。本研究で得られた種差が一般的に成り立つかどうかを解明することはこれからの課題である。環境によって落葉パターンや葉のクロロフィルやその他養分の長期変動が異なるかどうか、種によって異なるかどうか、

また生育段階において異なるかどうかをきちんと検証し解明することが将来の課題として挙げられる。

引用文献

Aerts R (1996) Nutrient resorption from senescing leaves of prennials: are there general patterns? *J Ecol* 84:597-608.

Besug J, York J, Mollie A (1991) Bayesian image restoration, with two applications in spatial statistics. *Ann inst Statist Math* 43(1) :1-20.

Cambell RJ, Mobley KN, Marini RP, Pfeiffer DG (1990) Growing condition alter the relationship between SPAD-501 values and able leaf chlorophyll. *Hortiscience* 25:330-331.

Chang SX, Robison DJ (2003) Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD-502 chlorophyll meter. *Forest Ecol Manag* 181:331-338.

Chapin FS III (1980) The mineral nutrition of wild plants. *Ann Rev Ecol Syst* 11:233-260.

Cherbuy B, Joffre R, Gillon D, Rambal S (2001) Internal remobilization of carbohydrates, lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex*. *Tree Physiol* 21:9-17.

Ciganda V, Gitelson AA, Schepers JS (2008) Vertical profile and temporal variation of chlorophyll in maize canopy: quantitative “crop vigor” indicator by means of reflectance-based techniques. *Agron J* 100:1409-1417.

Cornelisenn JHC, Lavorel S, Garnier E (2003) A handbook of protocols for standardized and easy measurement of plant functional traits world wide. *Aust J Bot* 51:335-380.

Coste S, Baraloto C, Leroy C, Marcon E, Renaud A, Richardson AD, Roggy JC, Schimann H, Uddling J, Herault B (2010) Assessing foliar chlorophyll contents with the SPAD-502 chlorophyll meter: a calibration test with thirteen tree species of tropical rainforest in French Guiana. *Ann Forest Sci* 67  
DOI:<http://dx.doi.org/10.1051/forest/2010020>.

Doi H, Katano I (2008) Phenological timings of leaf budburst with climate change in Japan. *Agric Forest Meteorol* 148:512-516.

Eguchi N, Ichie T, Ji D, Karatsu K, Koike T (2005) Accurate estimation of nitrogen concentration in deciduous tree leaves in a field study using a portable non-destructive nitrogen detector. *J Plant Physiol* 163:680-683.

Ellsworth DS, Reich PB (1992) Leaf mass per area, nitrogen content and photosynthetic carbon gain in *Acer saccharum* seedlings in contrasting forest light environments. *Funct Ecol* 6:423-435.

Escudero A, Mediavilla S (2003) Decline in photosynthetic nitrogen use efficiency with leaf age and nitrogen resorption as determinants of leaf life span. *J Ecol* 91:880-889.

Ethier GJ, Livingston NJ, Harrison DL, Black TA, Moran JA (2006) Low stomatal and internal conductance to CO<sub>2</sub> versus Rubisco deactivation as determinants of the photosynthetic decline of ageing evergreen leaves. *Plant Cell Environ* 29:2168-2184.

Field C (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: Leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* 56:341-347.

Field C, Merino J, Mooney JA (1983) Compromises between water-use efficiency and nitrogen-use efficiency in five species of California evergreens. *Oecologia* 60:384-389.

Field C, Mooney HA (1986) The photosynthesis – nitrogen relationship in wild plants.

In Givinish TJ (ed): On the Economy of Plant Form and Function. Pp.25-55.

Cambridge University Press, Cambridge.

Fife DN, Nambiar EKS (1982) Accumulation and retranslocation of mineral nutrients in developing needles in relation to seasonal growth of young radiata pine tree. Ann Bot 50:817-829.

Fife DN, Nambiar EKS (1984) Movement of nutrients in radiata pine needles in relation to the growth of shoots. Ann Bot 54:303-314.

Fife DN, Nambiar EKS, Saur E (2008) Retranslocation of foliar nutrients in evergreen tree species planted in a Mediterranean environment. Tree Physiol 28:187-196.

藤本 征司 (2007) 広葉樹 29 種の 10 年間の開芽フェノロジー観測に基づく開芽日予測用の検討. 日林誌 89:253-261

Gelman A, Carlin JB, Stern HS, Rubin DB (2004) Bayesian data analysis. Choapman & Hall, Boca Raton.

Greenway KJ, MacDonald SE, Lieffers VJ (1992) Is long-lived foliage in *Picea mariana* an adaptation to nutrient-poor conditions? Oecologia 91:184-191.

Gond V, De Pury DGG, Veroustrate F, Ceulemans R (1999) Seasonal variations in leaf

area index, leaf chlorophyll, and water content; scaling-up estimate fAPAR and carbon balance in a multilayer, multispecies temperate forest. *Tree Physiol* 19:673-679

Han Q, Kwasaki T, Nakano T *et al.* (2008) Leaf-age effects on seasonal variability in photosynthetic parameters and its relationships with leaf mass per area and leaf nitrogen concentration within a *Pinus densiflora* crown. *Tree Physiol* 28: 551-558.

Haripriya Anand M, Biju G (2008) Chlorophyll meter and leaf colour chart to estimate chlorophyll content, leaf colour, and yield of cassava. *Photosynthetica* 46:511-516.

Helmisaari H-S (1992) Nutrient retranslocation within the foliage of *Pinus sylvestris*. *Tree Physiol* 10:45-58.

Hikosaka K, Terashima I, Katoh S (1994) Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia* 97:451-457.

Hirose T, Werger MJA (1987) Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to the leaf nitrogen allocation pattern in the canopy. *Oecologia* 72:520-526.

Ichie T, Kitahashi Y, Matsuki S, Maruyama Y, Koike T (2002) The use of a portable non-destructive type nitrogen meter for leaves of woody plants in field studies. *Photosynthetica* 40:282-292.

Jifon JL, Syvertsen JP, Whaley E (2005) Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and nitrogen in *Citrus* sp. leaves. *J Amer Soc Hortic Sci* 130:152-158.

菊澤喜八郎 (2005) 葉の寿命の生態学—個葉から生態系へ—. 共立出版.

Kikuzawa K, Lechowicz MJ (2011) *Ecology of Leaf Longevity*. Springer, Tokyo.

Kitahashi Y, Ichie T, Maruyama Y, Kenzo T, Kitaoka S, Matsuki S, Chong L, Nakashizuka T, Koike T (2008) Photosynthetic water use efficiency in tree crowns of *Shorea beccariana* and *Dryobalanops aromatic* in a tropical rain forest in Sarawak, East Malaysia. *Photosynthetica* 46(1):151-155.

Liu Z, Li K, Cai Y, Fang Y (2011) Correlation between leafing phenology and traits: woody species of evergreen broad-leaved forests in subtropical

china. *Pol J Ecol* 59:464-473.

Lusk CH, Reich PB (2000) Relationships of leaf dark respiration with light environment and tissue nitrogen content in juveniles of 11 cold-temperate tree species.

*Oecologia* 123:318-329.

Markwell J, Osteman J, Mitchell JL (1995) Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynth Res* 46:467-472.

Marenco RA, Antezana-Vera SA, Nascimento HCS (2009) Relationship between specific leaf area, leaf thickness, leaf water content and SPAD-502 readings in six Amazonian tree species. *Photosynthetica* 47:184-190.

Martinez DE, Guiamet JJ (2004) Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. *Agronomie* 24:41-46.

Milla R, Castro-Díez P, Maestro-Martínez M, Montserrat-Martí G (2005) Relationships between phenology and the remobilization of nitrogen, phosphorus and potassium in branches of eight Mediterranean evergreens. *New Phytol* 168:167-178.

Millard P (1996) Ecophysiology of the internal cycling of nitrogen for tree growth. *J Plant Nutr soil sc* 159:1-10.

- Millard P, Proe MF (1992) Storage and internal cycling of nitrogen in relation to seasonal growth of Sitka spruce. *Tree Physiol* 10:33-43.
- Millard P, Proe MF (1993) Nitrogen uptake, partitioning and internal cycling in *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. as influenced by nitrogen supply. *New Phytol* 125:113-119.
- Miyazawa S, Suzuki AA, Sone K, Terashima I (2004) Relationships between light, leaf nitrogen and nitrogen remobilization in the crowns of mature evergreen *Quercus glauca* trees. *Tree Physiol* 24:1157-1164.
- Muller O, Hirose T, Werger MJA *et al.* (2011) Optimal use of leaf nitrogen explains seasonal changes in leaf nitrogen content of an understorey evergreen shrub. – *Ann Bot* 108: 529-536.
- Munson AD, Margolis HA, Brand DG (1995) Seasonal nutrient dynamics in white pine and white spruce in response to environmental manipulation. *Tree Physiol* 15:141-149.
- 長尾忠泰・原田洋・目黒伸一 (2003) 埋立地に造成された照葉樹環境保全林のリターフォール量の年変動と季節変動. *森林立地* 45:7-12.

- Nambiar EKS, Fife DN (1987) Growth and nutrients retranslocation in needles of Radiata pine in relation to nitrogen supply. *Ann Bot* 60:147-156.
- Nambiar EKS, Fife DN (1991) Nutrient retranslocation in temperate conifers. *Tree Physiol* 9:185-207.
- Nauš J, Prokopová J, Řebíček J, Špundová M (2010) SPAD chlorophyll meter reading can be pronouncedly affected by chloroplast movement. *Photosyn Res* 105:265-271.
- Neilsen D, Hogue EJ, Neilsen GH, Parchomchuk P (1995) Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple trees. *Hortscience* 30:508-512.
- Niinemets Ü (2010) Review of light interception in plant stands from leaf to canopy in different plant functional types and in species with varying shade tolerance. *Ecol Res* 25:693-714.
- Nitta I, Ohsawa M (1997) Leaf dynamics and shoot phenology of eleven warm-temperate evergreen broad-leaves tree near their northern limit in central Japan. *Plant Ecol* 130:71-88.
- Numata S, Kachi N, Okuda T et al. (2004) Delayed greening, leaf expansion, and

damage to sympatric *Shorea* species in a lowland rain forest. *J Plant Res* 117: 19-25.

Panchen ZA, Primack RB, Nordt B et al. (2014) Leaf out times of temperate woody plants are related to phylogeny, deciduousness, growth habit and wood anatomy. *New Phytol* DOI:10.1111/nph.12892.

Pinkard EA, Patel V, Mohammed C (2006) Chlorophyll and nitrogen determination for plantation-grown *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* using a non-destructive meter. *Forest Ecol Manag* 223:211-217.

Porra RJ (2005) The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b.—In Govindjee J, Beatty T, Gest H, Allen JF(eds): *Discoveries in Photosynthesis*, pp 633-640. Springer, Dordrecht.

Porra RJ, Thopson WA, Kreidemann PE (1989) Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim Biophys*

Acta-B 975:384-394.

Reich PB, Walters MB, Ellsworth DS (1997) From tropics to tundra: Global

convergence in plant functioning. Proc Natl Acad Sci USA 94:13730-13734.

斉藤秀樹 (1980) 綿向山山麓にあるヒノキ林のリターフォールの季節変化.

日生態会誌 30:377-384.

斉藤秀樹 (1990) アカマツ林の落葉の季節変動と林分間にみられる同調性.

京都府立大学学術報告 農学 42:47-57.

Saur E, Nambiar EKS, Fife DN (2000) Foliar retranslocation in *Eucalyptus globulus*.

Tree Physiol 20:1105-1112.

Šesták Z, Čatský J (1962) Intensity of photosynthesis and chlorophyll content as

related to leaf age in *Nicotiana sanderae* hort. Biol Plantarum 4:131-140.

Spiegelhalter DJ, Best NG, Carlin BR, van der Linde A (2002) Bayesian measures of

model complexity and fit. J Roy Stat Soc B 64:583-616.

Spiegelhalter DJ, Thomas A, Best NG, Lunn D (2003) WinBUGS user manual version

1.4. MRC Biostatistics Unit, Cambridge 2003.

只木良也・香川照雄 (1968) 森林の生産構造に関する研究 (XIII) コジイほ

か 2, 3 の常緑樹林における落葉枝量の季節変化. 日林誌 50:7-13.

Takashima T, Hikosaka K, Hirose T (2004) Photosynthesis or persistence: nitrogen allocation in leaves of evergreen and deciduous *Quercus* species. *Plant Cell Environ* 27:1047-1054.

Uddling J, Gelang-Alfredsson J, Piiki K, Pleijel H (2007) Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthe Res* 91:37-46.

Wendler R, Carvalho PO, Pereira JS, Millard P (1995) Role of nitrogen remobilization from old leaves for new *Eucalyptus globulus* seedlings. *Tree Physiol* 15:679-683.

Wright IJ, Reich PB, Westoby M et al. (2004) The world wide leaf economics spectrum. *Nature* 428:821-827.

Xu X, Hirata E, Shibata H (2004) Effect of typhoon disturbance on fine litterfall and related nutrient input in a subtropical forest on Okinawa Island, Japan. *Basic Appl Ecol* 5:271-282.

Yadava UL (1986) A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *Hortscience* 21:1449-1450.

Yasumura Y, Ishida A (2011) Temporal variation in leaf nitrogen partitioning of a broad-leaved evergreen tree, *Quercus myrsinaefolia*. J Plant Res 124:115-123.

Ymamoto A, Nakamura T, Adu-Gyamfi JJ, Saigusa M (2002) Relationship between chlorophyll content in leaves of sorghum and pigeonpea determined by extraction method and by chlorophyll meter (SPAD-502). J plant Nutr 25:2295-2301.

## 謝辞

本研究は梅木清准教授の指導の下で行われました。途中、病気になってしまったりして、やるべきことを順調に進めることができなくて大変ご迷惑をおかけしました。順調に博士後期課程を過ごすことができませんでしたが、最後まで面倒を見てくださいました。梅木先生のをたくさん借りて、本研究をまとめることができました。ご迷惑をおかけして申し訳なかったです。ご指導ありがとうございました深く感謝いたします。また何も言わず見守ってくださった本条毅教授にも感謝いたします。一緒に博士後期課程を過ごした程希平氏そしてLUTFAR RAHMAN 氏に感謝をします。声をかけてくださった研究室のメンバーにも感謝をします。