

第23回農学部賞 受賞者

- ・御厨 志乃
生物資源生産科学コース 農学分野
- ・橋本 英里香
生物資源生産科学コース 生物生産環境工学分野
- ・高橋 柚香
応用生物科学コース 応用生命化学分野
- ・肥後 奈津子
応用生物科学コース 食糧化学工学分野
- ・浦野 優成
地球森林科学コース 森林機能開発学分野
- ・小野 菜月
動物生産科学コース 水産科学分野

第23回生物資源環境科学府賞 受賞者

- ・上森 教慈 (博士後期課程)
環境農学専攻 流域環境制御学
「Environmental responses of Aculeata assemblages in forest ecosystems
(森林生態系における有刺ハチ群集の環境応答)」
- ・小野 信太郎 (博士後期課程)
環境農学専攻 気象環境学
「Analyzing reproductive growth dynamics of greenhouse-grown strawberries based on environment and eco-physiological functions
(温室栽培イチゴにおける環境・生理生態機能に基づく生殖成長動態の解析)」
- ・安部 知純 (博士後期課程)
生命機能科学専攻 食品分析学
「質量分析法を駆使した、組織でのポリフェノール蓄積挙動の解明に関する研究」

氏 名 : 上森 教慈

論文題名 : Environmental responses of Aculeata assemblages in forest ecosystems
(森林生態系における有剣ハチ群集の環境応答)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

生態系機能や生態系サービスを支える生物多様性の喪失問題を解決するため、生物多様性を変動させる要因を明らかにする必要がある。近年、環境と種多様性の関係を種の形質を用いて明らかにするという形質生態学的手法が確立されてきた。ただし、異なる分類群間では持つ形質が異なる、あるいは形質の変化が意味する事象が異なる可能性がある。また、栄養段階などの食性を示す形質は生態系や食物網構造を反映する形質であるが、同一分類群内に異なる食性の種が属することは極めて稀であるため、食物網構造を反映する形質を扱った解析は行われてこなかった。有剣ハチは同一分類群内に多様な食性の専食者を含む生物であり、食性を示す形質を用いた群集解析を行うことができる有用指標群集であることが期待される。本研究では、有剣ハチ群集の種多様性の変化のメカニズムを、形質を使って明らかにすることを目的とし、気候の変化である標高傾度と人為的な変化である人工林化に沿った有剣ハチ群集の変化について明らかにした。

まず、有剣ハチの効率的な採集方法について検討した。イエローパントラップ法は黄色円盤に水を張り地面に一定の期間設置するもので、他の方法に比べ有剣ハチの採集効率が高いことが知られている。衝突板を取り付ける、地面より高い位置に設置するなどの方法がとられる場合もあるが、これらの方法は労力がかかる。衝突板の取付、トラップの高さについて採集効率を検討したところ、衝突板を取り付けず地面に設置する方法が個体数、種数の観点から効率的であることが明らかになった。これらの結果から、森林の有剣ハチ群集評価のための効率的な採集方法を提示することができた。

次に、有剣ハチ群集の評価に利用できる種の形質について、形質間の関係とその地域性（北海道と九州の違い）について検討した。検討した形質は、栄養段階、デトリタス依存度、体サイズ、出現期間、営巣位置、出現標高範囲、種の南北方向への偏りを示した分布域指数であった。食性に関わる栄養段階とデトリタス依存度、気候適応に関わる出現期間と出現標高範囲の間に相関関係があり、食性、気候適応、分布域は独立した形質であること、異なる地域でも類似した形質間の相関関係がみられることを示した。

異なる気候下での標高傾度の影響を明らかにするため、寒冷地である北海道と温暖地である九州において、標高に対する有剣ハチ群集の種多様性と形質の変化を解析した。北海道では、標高上昇に伴い種多様性が減少し、九州では種多様性が増加するという対照的な傾向がみられた。また、北海道では標高に対する形質の変化が分布域指数しかみられず、九州では体サイズ、出現期間、出現標高範囲、営巣位置、分布域指数の変化がみられた。両地域のデータを統合し、年平均気温に沿った種多様性の変化をみたところ、8-10°Cを頂点とする一山型の変化パターンを示すことが明らかになった。これらの種多様性の変化は、栄養段階やデトリタス依存度で示される資源利用戦略様式、出現期間で示される季節性、分布域などの多様性が寄与していた。これらの結果から、様々な食性、気候適応、分布をもつ種の共存が、気候の変化に沿った有剣ハチ群集の種多様性を高めることを明らかにできた。

最後に、森林生態系の人為的な環境変動として、落葉広葉樹林のスギ、ヒノキ人工林化が有剣ハチ群集に与える影響を検討した。その結果、落葉広葉樹林に比べ人工林の有剣ハチ群集の個体数と種数が低く、デトリタス依存が高くなることが明らかになった。落葉広葉樹林の常緑針葉樹林への転換は、植物の多様性の減少や針葉の難利用性などによって生食連鎖依存種の個体数を著しく減少させ、群集のデトリタス依存性を相対的に増大させることを示した。また、人工林における体サイズの増加から、体サイズが小さい種と餌を獲得しにくくなり餌資源の量や種類が少ない人工林に生息できなくなる可能性を示唆した。これらの結果から、人工林化による餌資源の種類や量の減少が、有剣ハチ群集の種数を減少させることを明らかにできた。

結論として、本論文は森林生態系における有剣ハチ群集の複雑な動態を形質生態学的の観点から検討し、環境の変化に対する有剣ハチ群集の種多様性の減少が食性の制限によって引き起こされることを、形質を用いた定量的解析から明らかにした初めての論文である。食物網構造を反映する形質が種多様性変動要因であることを初めて示し、有剣ハチ群集の食性形質が生態系や食物網構造の評価に有用であることを明らかにした。また、気候適応と分布の偏り、成長期間の偏りによる体サイズの偏り、餌資源減少に伴う餌探索能力の制限など、食性以外の形質も種多様性の減少に寄与していることも明らかにし、気候適応や体サイズなど、他の分類群で示されていた形質反応が有剣ハチ群集にも適応可能であることを示した。分布の偏りが種多様性創出に重要であることも、初めて定量的に示した。以上の結果は、環境の変化に対する森林生態系や食物網構造の変化や種多様性創出要因を定量的に明らかにできることを示しており、森林生態学や群集生態学分野の発展に寄与するものである。

Analyzing reproductive growth dynamics of greenhouse-grown strawberries based on environment and eco-physiological functions

(温室栽培イチゴにおける環境・生理生態機能に基づく生殖成長動態の解析)

環境農学専攻 気象環境学分野 小野信太郎

▼研究背景および内容

収穫期が周期的に訪れる温室栽培イチゴにおいて安定・計画生産を実現するには、生殖成長動態の予測モデルの構築と運用が有効と考えられる。既往研究では、環境要素に着目した統計的な予測モデルが多数報告されている (Lobell *et al.*, 2006; Khoshnevisan *et al.*, 2014)。一方で、イチゴの生殖成長には環境要素のみでは説明できない生理学的現象 (光合成, 葉から果実への光合成産物の転流など) も密接に関与する (Hidaka *et al.*, 2019)。本研究では、イチゴの生殖成長動態の普遍的かつ高精度な予測モデルの構築に向けて、各環境要素・個葉光合成速度と生殖成長動態との関係の解明を目的とし、以下の3つの問いを掲げ取り組んだ。

▶問1 | 十分に灌水されている温室栽培作物において、光合成はどのように制限されるのか？

個葉光合成速度の正確な推定に向けて、光合成の制限要因 (気孔抵抗, 葉肉抵抗, CO₂ 固定能力) の日変化を解析することで、光合成推定の際に環境ストレスを考慮する必要性について検討した。その結果、十分に灌水された条件下においても、個葉光合成速度は大気由来の環境ストレスに対する気孔抵抗の増加によって制限されることを明らかにした。また、従来は無視されることが多かった葉肉抵抗も、強い環境ストレス下では制限要因になり得ることが示唆された (Grassi *et al.*, 2009)。さらに、イチゴの環境ストレスに対する気孔応答は他の作物と比較して敏感であり (Syvertsen, 1982)、個葉光合成速度を推定する際には環境ストレスの考慮が必要であることを見出した。

▶問2 | 収穫日の予測指標として環境・生理生態機能の情報を含む積算光合成速度が有用では？

一作期を通して取得した各環境要素 (光合成光量子束密度 PPF_D, 気温, 湿度, CO₂ 濃度, 風速)、個葉光合成速度、生殖成長動態 (開花, 収穫) のデータを用いて、収穫日の予測指標として開花後の積算光合成速度の有用性について検証した。そこで、光合成生化学モデル (Farquhar *et al.*, 1980)、気孔モデル (Medlyn *et al.*, 2011)、葉面ガス拡散モデル、葉面熱収支モデル (Jones, 2013) を組み合わせたモデルに、環境要素から推定したストレス係数を導入することで、環境ストレスを考慮した個葉光合成速度の長期連続取得を行った。また、個々の果実における開花から収穫までの各指標 (PPFD, 気温, 個葉光合成速度の積算値) のばらつきに基づいて、それらの収穫予測指標としての有用性を統計的に比較した。その結果、個葉光合成速度の積算値が他の指標と比べて有用であることを初めて見出し、収穫予測モデルの構築に寄与する成果を得た。

▶問3 | 温室内環境・生理生態機能 (光合成) の履歴は開花動態に対してどのように影響する？

各環境要素と個葉光合成速度の履歴が、収穫予測において重要な基礎情報となる開花動態に及ぼす影響について評価した。三作期にわたって取得した第一果房の開花データを、指数関数と正弦関数を組み合わせた Malo model (Malo, 2002) を用いて回帰分析し、得られた各モデルパラメータ (開花動態を表す波の開始時期, 終了時期, 歪度, 尖度) と、環境要素 (PPFD, 気温, 湿度) および個葉光合成速度の履歴との関係を効用関数に基づき解析を行った (Iwao *et al.*, 2023)。その結果、開花の開始時期には PPF_D と個葉光合成速度が、終了時期には PPF_D, 個葉光合成速度と湿度 (空気飽差) が、歪度には気温と空気飽差が、尖度には気温, 空気飽差と個葉光合成速度が強く影響することを初めて明らかにし、開花動態の予測モデルの構築に寄与する成果を得た。

▼まとめ

本論文では、膨大かつ正確な環境・生理生態機能の長期連続データを取得・解析することで、温室栽培イチゴにおける生殖成長動態の予測モデル構築の基礎を築いた。今後は複数品種においても同様の解析を行い、温室栽培イチゴにおける生殖成長動態の予測モデルを構築する予定である。

▼引用文献

- Farquhar, G. D., Caemmerer, S., Berry, J. A., 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta*, 149, 78–90. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00386231>.
- Grassi, G., Ripullone, F., Borghetti, M., Raddi, S., Magnani, F., 2009. Contribution of diffusional and non-diffusional limitations to midday depression of photosynthesis in *Arbutus unedo* L. *Trees*, 23, 1149–1161. <https://doi.org/10.1007/s00468-009-0355-7>.
- Hidaka, K., Miyoshi, Y., Ishii, S., Suzui, N., Yin, Y. G., Kurita, K., Nagao, K., Araki, T., Yasutake, D., Kitano, M., Kawachi, N., 2019. Dynamic analysis of photosynthate translocation into strawberry fruits using non-invasive ¹³C-labeling supported with conventional destructive measurements using ¹³C-labeling. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01946>.
- Iwao, T., Kitano, M., Nomura, K., Saito, M., Tada, I., Yamazaki, T., 2023. [Utilization of AI in the IoP (Internet of Plants) and challenges] IoP (Internet of Plants) deno AI riyou to kadai ni tuite (in Japanese). *Proceedings of Annual Meeting of Society of Agricultural Meteorology of Japan 2023 (SAMJ2023)*, 52.
- Jones, H. G., 2013. Plants and microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology (3rd ed.). New York: Cambridge university press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511845727>.
- Khoshnevisan, B., Rafiee, S., Mousazadeh, H., 2014. Application of multi-layer adaptive neuro-fuzzy inference system for estimation of greenhouse strawberry yield. *Measurement*, 47, 903–910. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2013.10.018>.
- Lobell, D. B., Cahill, K. N., Field, C. B. 2006. Weather-based yield forecasts developed for 12 California crops. *California Agriculture*, 60, 211–215. <https://doi.org/10.3733/ca.v060n04p211>.
- Malo, J. E., 2002. Modelling unimodal flowering phenology with exponential sine equations. *Functional Ecology*, 16, 413–418. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2002.00629.x>.
- Medlyn, B. E., Duursma, R. A., Eamus, D., Ellsworth, D. S., Prentice, I. C., Barton, C. V. M., Crous, K. Y., De Angelis, P., Freeman, M., Wingate, L., 2011. Reconciling the optimal and empirical approaches to modelling stomatal conductance. *Global Change Biology*, 17, 2134–2144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02375.x>.
- Syvertsen J.P., 1982. Minimum leaf water potential and stomatal and stomatal closure in citrus leaves of different ages. *Annals of Botany*, 49, 827-834. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086309>.

氏名：安部 知純

論文題名：質量分析法を駆使した、組織でのポリフェノール蓄積挙動の解明に関する研究

区分：甲

論文内容の要旨

質量分析法 (mass spectrometry, MS) は、分子イオンを質量と電荷に基づいて分離および検出する分析手法であり、検出感度と特異性が高く、生物組織に存在する微量成分の分析に有用である。ポリフェノールは植物体で産生され、様々な健康機能を有することが報告されている食品成分であるが、動植物体内で代謝を受け、その構造が変化する。近年、植物体で環境ストレスに対する防御反応として産生されるフィトアレキシンや腸内細菌によって体内で産生されるモノフェノール酸の健康機能が報告され、食品由来の新規機能体あるいはポリフェノール摂取による健康効果の機能本体として期待される。しかし、組織におけるその存在量は僅かであり、さらに生体内では各種抱合体化反応を受けることから、ポリフェノールの組織内代謝挙動の解明には高い検出感度と特異性を有する分析法が必要である。そこで本研究では、分子の組織内分布の可視化解析に有効なマトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) -MS イメージング法 (MSI) を駆使し、大豆中フィトアレキシンの代謝産生挙動の解明を試みた。また、精密質量数に基づいてあらゆる分子イオンを検出し代謝物の予測解析に有効な高速液体クロマトグラフ-飛行時間型 (LC-TOF)/MS を駆使し、ポリフェノール (フラボノイド類) 分解産物の生体内吸収・代謝・臓器蓄積挙動の解明を行った。

まず、大豆中新規機能成分として注目されるフィトアレキシングリセオリン類について、その大豆内産生挙動の可視化を試みた。大豆組織中グリセオリン類とその前駆体イソフラボンダイゼインを同時検出可能なマトリックス剤について検討したところ、1,5-diaminonaphthalene (1,5-DAN) が最良であった。1,5-DAN を使用して麹菌感作 (*Aspergillus oryzae*, 6 日間、28°C) した発芽大豆の種子および根の切片を MALDI-MSI 分析に供したところ、前駆体イソフラボンダイゼイン ($[M-H]^- = 253.0 m/z$) は種子および根の全領域で検出された一方で、グリセオリン類 ($[M-H]^- = 337.1 m/z$) は大豆表面局所的に検出された。さらに、加熱処理で不活化した *A. oryzae* によっても大豆種子および根の表面局所的にグリセオリン類の産生が促進されることが示されたことから、大豆は表面受容体を介して菌体接触を認識し、表皮局所的にダイゼインからグリセオリン類への代謝変換を活性化すると推察された。

次に、活性フラボノイド類から共通して産生される 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propionic acid (HMPA) について、その体内吸収・代謝・臓器蓄積挙動の評価を行った。HMPA (10 mg/kg-B.W.) を経口投与した Sprague-Dawley ラットの循環血漿から HMPA の予測代謝物を一斉解析した結果、HMPA 未抱合体あるいは HMPA モノ硫

酸抱合体、HMPA モノグルクロン酸抱合体が検出された。定量の結果、HMPA 抱合体の合計濃度は HMPA 未抱合体よりも高く (HMPA、 1.8 ± 0.3 nmol·h/mL-plasma；硫酸化 HMPA、 2.9 ± 0.6 nmol·h/mL-plasma；グルクロン酸化 HMPA、 0.28 ± 0.05 nmol·h/mL-plasma)、HMPA は抱合体として優勢的に体内を循環することが明らかとなった。また、主要な循環系臓器 (肝臓、心臓、肺、ヒラメ筋、血管、腎臓) においてもこれら 3 つの HMPA 代謝物が MS 検出され、HMPA 抱合体は HMPA 未抱合体と同等の濃度レベルで臓器蓄積することが明らかとなった (HMPA、 38.0 ± 13.8 nmol；硫酸化 HMPA、 36.2 ± 6.3 nmol；グルクロン酸化 HMPA、 2.7 ± 1.6 nmol)。経口投与後の血液および臓器に存在する HMPA は経口投与量の 1.2% 以上となり、他の類似モノフェノール酸類と同程度あるいはそれ以上であることが判明した。

以上の結果から、各種 MS を駆使したノンターゲット分析によって動植物体におけるポリフェノール代謝物の組織内分布が明らかとなり、機能性食品成分の動態評価法としての MS 分析の有用性を実証した。本研究で直接分析されたグリセオリン類の大豆組織中分布は、グリセオリン類の産生機構解明を推進し、フラボノイド類の腸内細菌代謝物である HMPA の体内吸収・代謝・臓器蓄積挙動は、ポリフェノールの健康機能発現がその最終代謝産物に担われる可能性を示している。