

# クローバーとの混植がエゾノキヌヤナギの高CO<sub>2</sub>濃度下における光合成特性に与える影響

森林総合研究所 北海道支所 北岡 哲・上村 章・原山尚徳・宇都木 玄

## はじめに

ヤナギ属(*Salix*)の樹木は北半球の暖帯から寒帯にかけて広く分布する(13)。遷移初期の樹木で成長速度が速く、挿し木でも簡単に増殖する。さらに再生能力が高く、収穫後も容易に萌芽する(8, 13)。このような性質からバイオ燃料資源としての利用を目的としたヤナギの育種や栽培実験が行われている(4, 16)。生産コストの約4割を占める施肥と除草にかかるコストの低減(16)と将来の高CO<sub>2</sub>環境下で持続的にバイオ燃料資源を供給するための栽培手法の開発が課題である。

作物では主作物と被覆作物を同時に栽培し、雑草の生育を抑制する栽培方法(リビングマルチ)が行われている(15)。例えばトウモロコシは被覆作物にマメ科植物のクローバーを用いることで、施肥と除草にかかるコストを低減し、さらに収量も増加する事が報告されている(15)。ヤナギの栽培においても、クローバーと混植することで除草や施肥にかかるコストを低減できる可能性が考えられる。さらに、マメ科植物は窒素固定を行うため、高CO<sub>2</sub>下における窒素不足(7)が生じにくくなることも予想される。以上のことから本研究は、北海道でバイオ燃料資源としての利用が期待されているエゾノキヌヤナギをクローバーと混植し、その高CO<sub>2</sub>下における葉の光合成特性の解析を行った。

## 材料と方法

2011年5月上旬に挿し穂を鹿沼土:赤玉土を1:1の割合で混合したビニルポット(直径21cm)に挿しつけた。クローバーとの混植(混植区)には、根粒菌(まめぞう十勝農業協同組合連合会 帯広市)を接種したホワイトクローバー種子をポットあたり20mg播種した。植え付けた苗は森林総合研究所北海道支所の自然光人工気象室(気温昼25°C/夜16°C)で育成した。CO<sub>2</sub>濃度は370ppm, 720ppmの2条件とした。

施肥は先行研究を参考にしておこなった(5,6,17)。元肥として250mgN相当の窒素を緩効性の固形肥料(N:P:K=14:12:14)ですべての材料に与えた。クローバーと混植しない材料(対照区)は、成長に伴う養分不足が懸念されたため(5, 17)、追肥として液肥(N:P:K=5:10:5)を週1回50mgNづつ10週間計500mgN与えた。この追肥量はクローバーの年窒素固定量とほぼ同程度である(1)。展葉開始後90日目に先端より10枚目の成熟したエゾノキヌヤナギの葉を対象として、生育CO<sub>2</sub>濃度における光合成速度( $P_{\text{growth}}$ )と二酸化炭素濃度-光合成関係の測定を行った。

測定はLI-6400(Li-cor社 米国)を用い、測定手順はLong and Bernacchi (9)に従った。最大Rubisco活性( $V_{\text{cmax}}$ )と最大電子伝達速度( $J_{\text{max}}$ )(2)はOnoda et al. (11)を参考に算出した。

光合成速度の測定後、測定葉から1cm<sup>2</sup>のディスクを5枚打ち抜き、80°Cで48時間乾燥させ、LMA(Leaf Mass per Area: 面積あたりの葉乾重)の測定と窒素含有量( $N_{\text{area}}$ )の分析に供した。窒素含有量の分析は全自動元素分析装置vario MAX (Elementar Analysensysteme GmbH, 独国)を用いた。統計解析は一元配置の分散分析を用いて、高CO<sub>2</sub>とクローバーとの混植の効果の有無を5%水準で検定した。効果がみられた場合には、多重比較(テューキー法)を行って各処理間の差を検定した。

## 結果と考察

CO<sub>2</sub>濃度に関わらず、混植による成長量の増加や $P_{\text{growth}}$ の増加は確認できず、成長量は対照区よりも有意に小さくなった(表-1)。

対照区における370ppmと720ppmの光合成特性の比較では、 $P_{\text{growth}}$ に差がみられず(表-1)、光合成活性( $V_{\text{cmax}}$ ,  $J_{\text{max}}$ )が720ppmで有意に低下する光合成の負の制御現象(7, 10)がみられた(表-1)。また、成長量に関する370ppmと720ppmの比較でも有意な差はみられなかった(表-1)。720ppmの窒素含有量は370ppmの窒素含有量に比べて減少し、LMAは増加していることから(表-1)、先行研究が示しているように代謝のバランスが崩れて葉に炭水化物が蓄積し、窒素が希釈されていると考えられる(6)。

混植区における、370ppmと720ppmの光合成特性の比較では、対照区と同じように、 $P_{\text{growth}}$ に有意な差がみられず光合成活性( $V_{\text{cmax}}$ )が720ppmで有意に低下する、光合成の負の制御現象(7, 10)がみられた。これも葉の窒素含有量の減少によると考える(表-1)。しかしLMAに差がみられないにもかかわらず、葉の窒素含有量が減少していたことから、窒素の希釈は生じず樹体に含まれている窒素濃度の減少が原因であると考えられる。クローバーは窒素固定を行う植物であるが、土壌中の窒素も生育に利用する(3)。このため窒素濃度の減少の理由として高CO<sub>2</sub>条件下でクローバーの成長量が増えることで、ヤナギの利用できる養分が減少した可能性等が考えられるが、詳細については今後明らかにする必要がある。

本研究の結果では、クローバーとの混植による光合成速度や成長量の増加、高CO<sub>2</sub>下における光合成特性の低下現象の軽減とそれによる成長量の増加は、見られなかった。このような結果が得られた理由として、根粒菌に

Satoshi KITAOKA, Akira UEMURA, Hisanori HARAYAMA, Hajime UTSUGI (Hokkaido Branch Center, FFPRI, Sapporo 062-8516)

Effects of elevated CO<sub>2</sub> concentration on leaf photosynthesis of willow (*Salix pet-susu* Kimura) mixed planting of white clover (*Trifolium repens* L.)

よる窒素固定が十分に行われていなかった可能性や、液肥に比べて固定された窒素がすみやかに土壌へ還元、利用されていなかった可能性などがあげられる。クローバーなどでは根からの窒素化合物の浸潤による土壌への窒素供給も指摘されているが(14)、根粒植物の肥培機構としては窒素含有量の高い植物体や根粒の分解還元によるものが大きいと考えられている(14)。このため地上部のクローバーを刈り取り緑肥として与えることで、固定した窒素が速やかに土壌に供給され、光合成の負の制御が生じにくくなり、また成長量も増加する可能性がある。これらの可能性について今後の研究で明らかにしていきたいと考える。

謝辞: 本研究は生研センターのイノベーション創出基礎的研究推進事業と NEDO プロジェクトの支援を受けた。

引用文献

(1) Boller BC., and Nösberger J. (1987) Symbiotically fixed nitrogen from field- grown white and red clover mixed with ryegrasses at low levels of <sup>15</sup>N-fertilization. *Plant and Soil* **104**: 219-226.

(2) Farquhar GD. von Caemmerer S. and Berry JA. (1980) A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of C<sub>3</sub> species. *Planta* **149**:78-90.

(3) Heldt HW. [著]・金井龍二 [訳] (2000) 植物生化学. シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京, 503pp.

(4) Karp A. and Shield I. (2008) Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. *New Phytol.* **179**:15-32.

(5) Kitao M., Koike T., Tobita H. and Maruyama Y. (2005) Elevated CO<sub>2</sub> and limited nitrogen nutrition can restrict excitation energy dissipation in photosystem II of Japanese white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*) leaves. *Physiol. Plant.* **125**: 64-73.

(6) 北岡哲ら(2011) 大気CO<sub>2</sub>濃度の増加がエゾノキヌヤナギに与える影響. *日林北支論* **59**: 53-54.

(7) 小池孝良 (2004) 温暖化と植物の生態. 植物生態学, 朝倉書店, 東京, pp361-391.

(8) Koike T., Kohda H., Mori S., Takahashi K., Inoue MT. and Lei TT. (1995) Growth responses of the cuttings of two willow species to elevated CO<sub>2</sub> and temperature. *Plant Species Biol.* **10**:95-101.

(9) Long SP. and Bernacchi CJ. (2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error, *J. Exp. Bot.*, **54**:2393-2401.

(10) 牧野 周 (1999) CO<sub>2</sub>と光合成. 植物の環境応答 -生存戦略とその分子機構-, 秀潤社, 東京, pp134-141.

(11) Onoda Y. Hikosaka K. and Hirose T. (2005) Seasonal changes in the balance between capacities of RuBP carboxylation and RuBP regeneration affects CO<sub>2</sub> response of photosynthesis in *Polygonum cuspidatum*. *J. Exp. Bot.* **56**:755-763.

(12) Sage RF. Sharkey TD. and Seemann JR. (1989) Acclimation of photosynthesis to elevated CO<sub>2</sub> in five C<sub>3</sub> species. *Plant Physiol.* **89**:590-596.

(13) 酒井 昭 (1995) 植物の分布と環境適応. -熱帯から極地・砂漠へ-. 朝倉書店, 東京, 164pp.

(14) 植村誠次 (1977) 根粒菌と根粒植物. アーバンクボタ **14**:22-25. <http://www.kubota.co.jp/urban/pdf/14/index.html>

(15) 魚住 順・出口 新・伏見昭秀 (2004) シロクローバを用いたリビングマルチ栽培における飼料用トウモロコシの播種適期. *東北農研研報* **102**: 93-100.

(16) 宇都木 玄ら (2011) ヤナギ畑からの利用-木質バイオマス資源作物の可能性-. 森林総合研究所北海道支所 16pp. ISBN 978-4-902606-97-3.

(17) 渡辺 誠ら (2009) 高CO<sub>2</sub>処理と窒素付加がオノエヤナギの葉のメタン放出に与える影響. *日林北支論* **57**: 41-43.

表-1 異なるCO<sub>2</sub>濃度とクローバーとの混植で育てたエゾノキヌヤナギの光合成および葉の特性

Parameters (unit)	370 ppm (対照)	720 ppm (対照)	370 ppm +クローバー (混植区)	720 ppm +クローバー (混植区)	ANOVA
$P_{growth}$ (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	16.65 (1.41)	15.83 (1.33)	14.61 (0.69)	16.62 (1.33)	n.s.
LMA (g m <sup>-2</sup> )	52.66 (5.85) a	69.73 (3.55) b	58.78 (11.05) ab	61.98 (9.34) ab	p < 0.05
$N_{area}$ (g m <sup>-2</sup> )	1.28 (0.08) a	1.01 (0.10) b	1.26 (0.79) a	1.08 (0.03) b	p < 0.05
$V_{cmax}$ (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	81.81 (8.45) a	51.43 (11.86) b	76.95 (1.95) a	60.79 (3.51) b	p < 0.01
$J_{max}$ (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	107.05 (8.37) a	82.93 (9.99) b	91.61 (6.28) b	84.25 (2.43) b	P < 0.01
Shoot volume (cm <sup>3</sup> )	211.41 (29.26) a	247.35 (23.55) a	65.45 (17.74) b	22.11 (11.20) c	p < 0.01

( )内は標準偏差を示す。栽培条件の効果は一元配置の分散分析(ANOVA)で検定した。有意水準5%とし、p値を示した。n.s.は差がないことを示す。