

グイマツ雑種 F₁(グリーン)の成長と光合成特性に対する窒素付加の影響

北海道大学大学院農学院
 北海道大学大学院農学研究院 (学振特別研究員)
 北海道大学大学院農学院
 北海道立林業試験場
 北海道大学大学院農学研究院

伊森 允一
 渡辺 誠
 金 容爽・毛 巧芝
 来田 和人
 小池 孝良

はじめに

北海道では本州から導入された落葉針葉樹のニホンカラマツ (*Larix Kaempferi*; 以下カラマツ) が主要造林樹種であるが、病虫獣害などに対する抵抗性が低いなどの問題点があった。これらの問題点を解消するために改良されたのが、カラマツ属の種間雑種であるグイマツ雑種 F₁ である。グイマツ雑種 F₁ は母樹をグイマツ、花粉親をカラマツとした交配種であり、上記の問題点に対する抵抗性が高い事に加え、強度や幹の通直性はカラマツよりも優れていると報告されている (6, 12)。特に、母樹を中標津3号のグイマツ、花粉親を胆振1号のカラマツとしたグイマツ雑種 F₁ (品種名: グリーン) は、カラマツに比べ成長量も大きく、造林樹種として非常に有望な品種である。これまで北海道の民有林で造林されたグイマツ雑種 F₁ の面積は約 5,500ha と比較的小面積であるが (16)、最近では苗木の需要に対し供給が追いついていないほどの人気からも、その造林面積は今後も増え続けると考えられる。

窒素は植物にとって多量必須元素であり、従来森林域において窒素は不足しがちな養分であるとされてきた。一般に、葉内の窒素は植物の成長を左右する重要な生理機能である光合成速度と高い正の相関を示す事が知られている (2, 4)。これは、植物葉の窒素の約 7割が光合成系 (炭酸固定酵素、チラコイド膜タンパク質やクロロフィルなど) に分配されているからである (11)。従って、森林への窒素供給は植物体の利用できる窒素量を増やし、葉内の窒素濃度を増加させ、光合成能力を向上させる結果、林木の成長を増大すると考えられている。

近年、産業革命以来活発化し続ける人間活動に伴う窒素酸化物 (NO_x) 濃度の増加、酪農・堆肥からのアンモニアの揮散などにより大気から陸域への窒素沈着量は増加している (5, 17)。この増加により、一部の森林域で窒素が不足な状態から植物の要求量を超えた過剰な状態に変化しつつある事が指摘されている (1)。森林域に大量の窒素が供給されると、土壌の酸性化や細根の減少、菌根菌の感染率の低下などにより、葉内の窒素とそれ以外の養分のアンバランスや乾燥耐性の低下などの問題が生じ、最終的に森林衰退につながる可能性も指摘されている (1, 13, 18)。また、今後も陸域への窒素沈着量は増加すると予測されている事からも (5)、森林域での窒素過剰による問題はいつそう顕著になってくる可能性は高い。

以上の背景から、本研究では将来の高窒素沈着環境下において、グイマツ雑種 F₁ (グリーン) の成長と光合成特性は、どのような応答を示すのかを窒素付加実験を行う事によって解明する事を目的とした。

材料と方法

1) 試験地と材料

本研究は、北海道大学札幌研究林実験苗畑 (土壌は褐色森林土) にて行った。供試木として、3年生のグイマツ雑種 F₁ (*Larix gmelinii* var. *japonica* Pilg. × *Larix kaempferi* Carr., 品種: グリーン, 以下グリーン) を用いた。2008年5月21日に苗木を植栽し、2009年11月2日までの2年間育成した。試験地は、対照区 (n=3) と窒素付加区 (n=3) を設けた。対照区には窒素処理を行わず、窒素付加区には 50 kg N ha⁻¹ year⁻¹ 相当の窒素を硝酸アンモニウム溶液で付加した。窒素付加は各成長期間に4回に分けて行った。

2) 測定項目と方法

伸長成長量と肥大成長量は、それぞれコンベックスとデジタルノギスを用いて、2008年から計7回測定した。光合成速度、気孔コンダクタンスは、携帯型光合成蒸散測定装置 (Li-6400, LiCor社, 米国) を用いて、2009年に計5回測定した。ここで、葉温を約 25°C、光合成有効放射 (PPF) を 1600 μmol m⁻² s⁻¹、CO₂濃度を 380 ppm に設定し、測定した値を光飽和時の純光合成速度 (以下 P_{sat})、気孔コンダクタンスとした。また、葉温、PPF を上記と同様に設定し、P_{sat} と葉内 CO₂濃度の関係 (A/Ci 関係) を調べた。A/Ci 関係から、最大の炭酸固定速度 (以下 V_{cmx})、最大の電子伝達速度 (以下 J_{max}) を Farquhar (3) に従って算出した。光合成速度の測定後、測定葉を採取し、スキャナーでその画像を取り込んだ後に、画像解析用ソフト (LIA for Windows 0.33, Yamamoto, 1996) を用いて葉面積を算出した。その後、針葉をドライオープンにて 60°C、3日間以上乾燥させ乾重量を測定し、単位面積当たりの葉乾燥重量 (以下 LMA) を算出し、P_{sat} と LMA の関係から単位重量当たりの光合成速度 (以下 P_{mass}) を算出した。なお、5月の光合成測定では長枝葉がほとんど無かったため、短枝葉を用い、6月以降は長枝葉を用いた。長枝葉の光合成速度は葉齢により異なると報告されているため (12)、対象としたのは根元部から約 10 cm の長枝葉に限定し、葉齢の推移に伴う光合成速度の変化を調べた。光合成測定シュート付近の葉を採取し、ドライオープンにて 60°C、3日間以上乾燥させた後、針葉の窒素濃度を NC ナライザー (N-C 900, 島津, 京都, 日本) を用いて計5回測定し、先に算出した LMA から単位面積当たりの窒素含量を算出した。また、窒素利用効率 P_{sat} を針葉の単位面積当たりの窒素含量で割った値である。

3) 統計処理

窒素処理が各パラメーターに与える影響を同じ処理区の反復間でのばらつきを考慮した上で、測定日ごとに1元配置の分散分析で検討した。有意水準は 5%未満とし

($P < 0.05$), 10%未満は傾向ありとした ($P < 0.1$)。なお、統計解析には R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2008) を用いた。

結果

1) 伸長成長量と肥大成長量

伸長成長量と肥大成長量の季節変化の結果を図-1に示す。処理1年目, 2年目とも伸長成長量に対して窒素付加による有意な影響は認められなかった。肥大成長量では, 処理1年目から窒素付加区で対照区に比べて増加し, その傾向は処理2年目でも変わらなかった。

2) 光合成特性

2.1 光合成能力

P_{sat} , 気孔コンダクタンス, V_{cmax} , J_{max} の季節変化の結果をそれぞれ図-2, 3, 4, 5に示す。 P_{sat} , V_{cmax} , J_{max} は共に, 8月25日までは窒素付加による有意な影響は認められなかった。10月15日においては, 窒素付加区で対照区に比べ P_{sat} は有意に低く, V_{cmax} , J_{max} についても低い傾向であった。また, 気孔コンダクタンスについては, 年間を通して処理による有意な影響は認められなかった。

2.2 針葉の単位面積当たりの窒素含量

針葉の単位面積当たりの窒素含有量の季節変化の結果を図-6に示す。5月20日, 6月15日, 7月25日までは, 窒素付加による有意な影響はなく, 8月25日に窒素付加区で有意に増加したが, 10月15日には再びその差は無くなった。

2.3 窒素利用効率

窒素利用効率の季節変化の結果を図-7に示す。7月25日までは, 窒素付加による有意な影響は認められなかったが, 8月25日, 10月15日においては対照区と比較して窒素付加区で窒素利用効率が低下した。

2.4 単位面積当たりの葉乾燥重量 (LMA)

LMA に対しては窒素付加の有意な影響は認められなかった(データ示さず)。なお5月20日は短枝葉を測定したため他の測定日より低く, 対照区で 54.7 g m^{-2} , 窒素付加区で 51.3 g m^{-2} であった。また, その他の測定日(長枝葉を測定)の平均値は, 対照区で 103.0 g m^{-2} , 窒素付加区で 96.0 g m^{-2} であり, 季節変化は見られなかった。

2.5 針葉の窒素濃度と P_{mass} との関係

8月25日, 10月15日における針葉の窒素濃度と P_{mass} との関係の結果を図-8, 9に示す。8月25日, 10月15日とも対照区においては両者に正の相関が認められたが, 窒素付加区においては両者に有意な相関関係は認められなかった。

考察

グリーン苗木の伸長成長量は処理による影響は無かったものの, 肥大成長量は有意に増加した(図-1)。したがって, 少なくとも2年間に渡る $50 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ の窒素付加はグリーン苗木に対して施肥として働いたといえる。

対照区の P_{sat} は一般に純光合成速度が高いとされる夏季(7月から8月)に比べ10月において増加した(図-2)。特徴的な気象条件として, 2009年の夏季は, 例年に比べて日射量が少なく降雨量が非常に多かった(8)。香山ら(7)や北岡ら(9)は天候不良による夏季の光合成能力の低下をグイマツ雑種 F_1 やカラマツにおいて報告している。したがって, 本研究のグリーンにおいても, 夏季に天候不良に伴う光合

成能力の低下がおり, 天候が比較的良かった8月以降に, その能力の回復が見られた結果, 図-2, 4, 5に見られるような季節変化となったと推察した。なお, 2009年7月および9月の日照時間はそれぞれ82.6および183.0時間であり, 降水量はそれぞれ187.5および35.5mmであった(8)。

窒素付加区においては7月25日と10月15日の P_{sat} はほとんど変わらず, 対照区のような増加は見られなかった。この時, 気孔コンダクタンスに対して窒素付加による有意な影響は認められず, 対照区と同様の推移を示した(図-3)。これに対して, 窒素付加区における V_{cmax} や J_{max} などの葉内活性に関わるパラメーターは, 対照区のような増加傾向を示さなかった(図-4, 5)。したがって, 窒素付加区において秋の P_{sat} の増加が認められなかったのは, 気孔閉鎖ではなく葉内の活性に起因していたと言える。ここで, 窒素付加によって細根の発達や菌根菌の感染率が抑制され, 窒素と窒素以外の養分の不均衡が生じ, 窒素利用効率や光合成能力が低下するとの報告がある(1, 13, 18)。したがって, 本研究の窒素付加区においても, 細根の発達や菌根菌の感染率が抑制され, 窒素以外の養分の吸収量が対照区に比べ低下していた可能性がある。そして, そのような養分吸収能力の低下のために, 天候が良くなった8~10月においても光合成能力の回復が起こらなかったと考えられる。実際に, 積算窒素付加量が多くなる8月25日, 10月15日の窒素利用効率は対照区に比べ窒素付加区で低かった(図-7)。また, 図-8, 9に示すように, 8月25日, 10月15日において, 対照区では針葉の窒素濃度が純光合成速度の律速要因になっているが, 窒素付加区ではそのような傾向は認められなかった。その原因として, 1) 針葉内に取り込まれた窒素の, リブローズ・ビス・フォスフェイト 1,5 カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) を中心とした光合成酵素やタンパク質への分配量低下, 2) 光合成酵素の活性割合の低下(いくつかの酵素は活性化状態にならないと本来の触媒機能を発揮しない)が挙げられる。そして上記の2要因には窒素以外の養分が大きく関与する。例えば, リンは炭酸固定酵素の濃度と正の相関を持ち, マグネシウムはクロロフィルの成分元素であるとともに, Rubisco の活性化に不可欠である(10, 14, 19)。これらの事実からも, 秋における光合成能力の回復が窒素付加区で起こらなかった原因として, 窒素以外の他の養分の不足が十分に考えられる。

上述した成長量と光合成特性の結果から, 窒素付加区における肥大成長量の増加と光合成の応答との間には明確な対応関係は認められなかった。つまり, グリーン苗木は窒素付加により, 個葉の光合成能力などの質を向上させるよりも, 葉量などを増大させる事で成長を促進したと考えられる。

まとめ

本研究から, $50 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ の2成長期間にわたる窒素付加では, グリーン苗木の肥大成長は促進するが, 個葉の光合成能力は向上しない事が明らかとなった。今後は, 葉量や葉の養分濃度を調査し, グリーンの成長と光合成特性に対する窒素付加の影響を明らかにしたいと考えている。

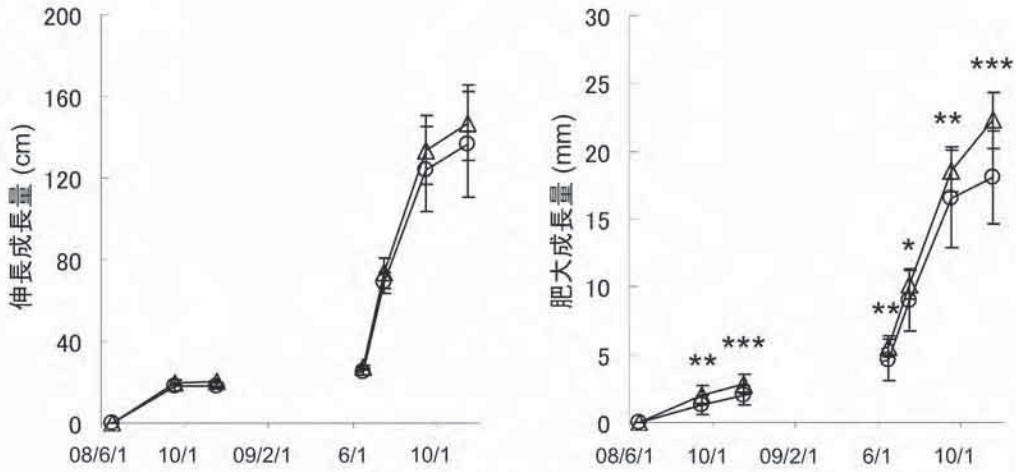


図-1 伸長成長量と肥大成長量の季節変化 (O; 対照区 n=35, Δ; 窒素付加区 n=39)

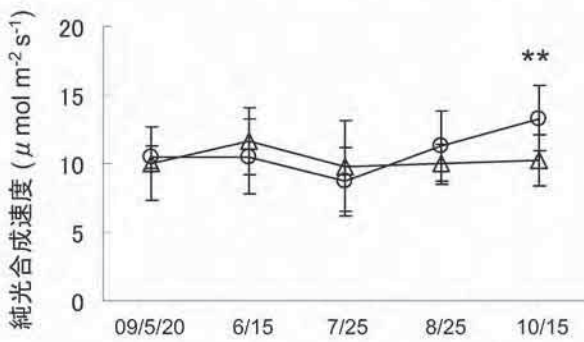


図-2 純光合成速度 (P_{sat}) の季節変化 (O; 対照区 n=7-10, Δ; 窒素付加区 n=5-9)

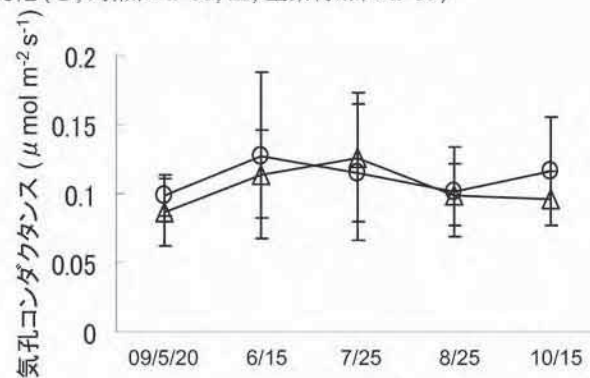


図-3 気孔コンダクタンスの季節変化 (O; 対照区 n=7-10, Δ; 窒素付加区 n=5-9)

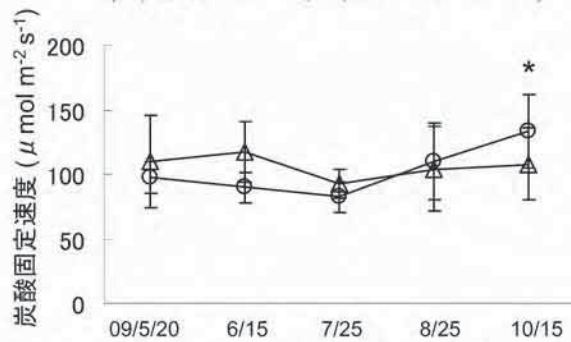


図-4 最大の炭酸固定速度 (V_{cmax}) の季節変化 (O; 対照区 n=7-10, Δ; 窒素付加区 n=5-9)

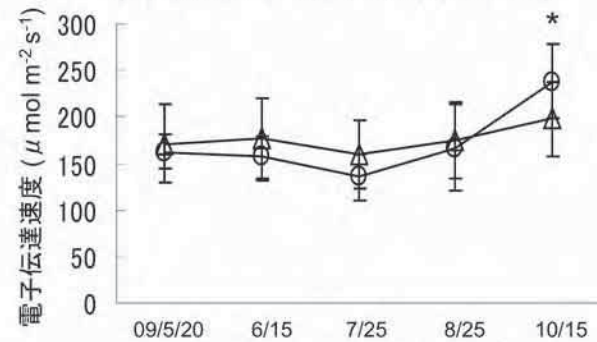


図-5 最大の電子伝達速度 (J_{max}) の季節変化 (O; 対照区 n=7-10, Δ; 窒素付加区 n=5-9)

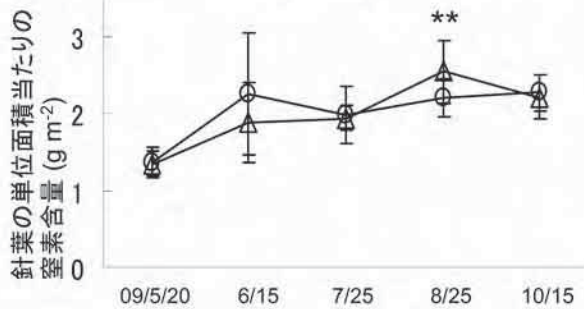


図-6 針葉の単位面積当たりの窒素含有量の季節変化 (O; 対照区 n=7-10, Δ; 窒素付加区 n=5-9)

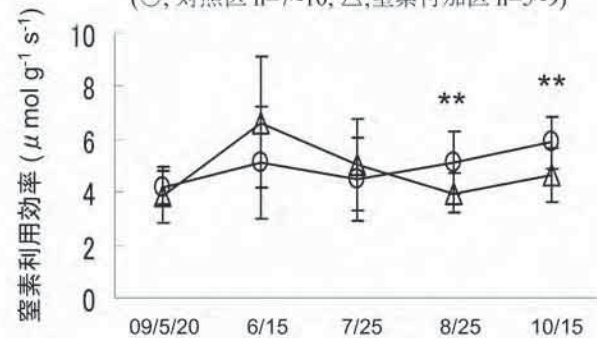


図-7 針葉の窒素利用効率の季節変化 (O; 対照区 n=7-10, Δ; 窒素付加区 n=5-9)

(図中の縦棒は各月の標準偏差を示す。* <0.1 , ** <0.05 , *** <0.01)

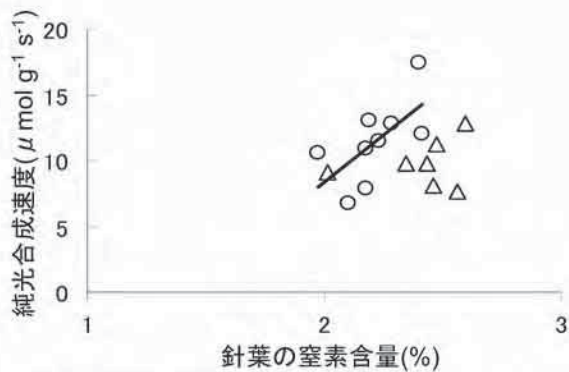


図-8 8月25日の針葉の窒素濃度と純光合成速度 (P_{mass}) の関係
 対照区: $R^2=0.4125$, $P<0.1$, 窒素付加区: $R^2=0.0388$, ns
 (○; 対照区 n=9, △; 窒素付加区 n=8)

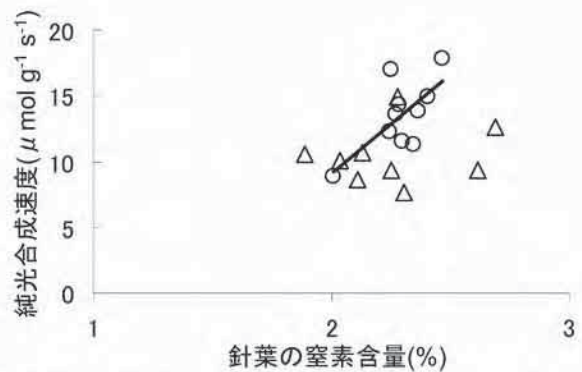


図-9 10月15日の針葉の濃度と純光合成速度 (P_{mass}) の関係
 対照区: $R^2=0.4437$, $P<0.05$, 窒素付加区: $R^2=0.0207$, ns
 (○; 対照区 n=10, △; 窒素付加区 n=9)

謝辞

本研究を遂行するにあたり日本学術振興会科学研究費補助金(新学術領域, 基盤研究B, 代表 小池 孝良), 日本学術振興会特別研究員奨励費(代表; 渡辺 誠)の支援を得た。また, 日頃ゼミなどで議論頂く造林学研究室の皆様, 圃場管理でお世話になる北方生物圏フィールド科学センターの皆様感謝する。

参考文献

(1) Aber, J., Nadelhoffer, K., Steudler, P. and Melillo, J. (1989) Nitrogen saturation in Northern Forest Ecosystems. *BioScience*. **39**:378-386
 (2) Evans, JR. (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia*. **78**:9-19
 (3) Farquhar, GD., Caemmerer, S. and Berry, JA (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta*. **149**:78-90
 (4) Field, C. and Mooney, H.A. (1986) The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plant. On the Economy of Form and Function (ed. T.J. Givnish). Cambridge University Press, Cambridge, UK, 25-55
 (5) Galloway, JN., Dentener, FJ., Capone, GP., Boyer, EW., Howarth, RW., Seitzinger, SP., Asner, GP., Cleveland, CC., Green, PA., Holland, EA., Karl, DM., Michaels, AF., Porter JH, Townsend, AR and Vörösmarty, CJ.(2004) Nitrogen cycle: past, present, and future. *Biogeochemistry*. **70**:153-226
 (6) 北海道立林産試験場 (2008) 林産試だより 4月号
 (7) 香山雅純・北岡哲・王文杰・崔東壽・池東焄・菅田定雄・北條元・浪花彰彦・高木健太郎・野村睦・笹賀一郎・小池孝良 (2005) グイマツ雑種 F1 の樹冠部における光合成特性と生産量の関係. 日本林学会北海道支部論文集. **53**:49-51
 (8) 気象庁ホームページ(<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/trn/index.php>)
 (9) 北岡哲・秋林幸男・菅田定雄・北條元・芦谷大太郎・奥山悟・浪花彰彦・笹賀一郎・小池孝良 (2000) カラマツ類の光合成能力の季節変化. 日本林学会北海道支部論文集.

48:78-80

(10) Loustau, D., Brahim, MB., Gaudillere, JP. and Dreyer, E. (1999) Photosynthetic response to phosphorus nutrition in two-year-old maritime pine seedlings. *Tree Physiology*. **19**:707-715
 (11) 牧野 周 (1999) 化学と生物 (光と炭酸ガスを獲得するための植物の窒素利用の戦略. 学会出版センター, 東京)335-340
 (12) 宮本 雅美 (1990) ハイブリッドカラマツの特性と改良. 北海道の林木育種 **33**:7~12
 (13) 大類清和 (1997) 森林生態系での Nitrogen Saturation. 森林立地. **39**:1-9
 (14) Parry, A.J., Keys A.J., Madgwick, P.J., Carmo-Silva A.E. and Andralojc, P.J. (2008) Rubisco regulation: a role for inhibitors. *Journal of Experimental Botany*. **59**:1569- 1580
 (15) 佐久間 祐子・渡辺 陽子・藤沼康実・北岡哲・一榮 智明・笹賀一郎 (2005) カラマツ壮齢林における異形型針葉の形態と光合成特性. 日本林学会北海道支部論文集. **53**: 52-54
 (16) 田村 敏昭 (2005) グイマツ雑種 F₁ の新たな挑戦と課題. 北海道の林木育種. **48**:5-8
 (17) Vistousek, PM., Aber, JD., Howarth, RW., Likens, GE., Matson, PA., Schindler, DW., Schlesinger, WH. and Tilman, DG. (1997) Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological Application*. **73**:737-750
 (18) Wallander, BH. and Nylund, JE. (1992) Effects of excess nitrogen and phosphorus starvation on the extrametrical mycelium of ectomycorrhiza of *Pinus sylvestris* L. *New Phytologist* **120**: 495-503
 (19) Warren, CR. and Adams, MA. (2002) Phosphorus affect growth and partitioning of nitrogen to Rubisco in *Pinus pinaster*. *Tree physiology*. **22**:11-19