

## 学位論文題名

## Ecophysiological study on the growth responses of larch species to changing environments

-Effects of elevated CO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> and high nitrogen loading-

(変動環境下におけるカラマツ属樹種の成長応答に関する生理生態学的研究

-高CO<sub>2</sub>, オゾン, 窒素沈着の影響-

## 学位論文内容の要旨

Larches are considered to be promising species for afforestation and woody resources because of high specific gravity of stem. They are common components in the northern hemisphere, ranging from south of China to Japan, Siberian, and South America and are recognized to be a major carbon sink. Japanese larch (*Larix kaempferi*, Japanese) is a key afforestation species; however, it has high susceptibility to biotic and abiotic stresses in Hokkaido. To overcome these problems, the hybrid larch F<sub>1</sub> (i.e. *L. gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi*, F<sub>1</sub>) was recently developed by crossing female Dahurian larch (*L. gmelinii* var. *japonica*, Dahurian) with pollen of Japanese larch.

Our environment has been drastically changing since last century due to human activities, in particular increasing atmospheric carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), ozone (O<sub>3</sub>) and nitrogen (N) deposition. CO<sub>2</sub> is an essential substrate for plant photosynthesis, and also one significant green house gases. Therefore, re-vegetation is urgently needed to increase the carbon sink for moderating atmospheric CO<sub>2</sub> as well as sustainable resources production. Under the changing environment, which kinds of eco-physiological responses will be induced?

I examined therefore the growth responses of F<sub>1</sub> to various environmental changes, firstly elevated CO<sub>2</sub>, secondly high N loading and P according to their hierarchy as resources from global to local region. Moreover, I also tested the effect of O<sub>3</sub> on larch growth under the condition of elevated CO<sub>2</sub>. I planted 3 larches: Dahurian, Japanese and F<sub>1</sub> in brown forest soil in Sapporo Experimental Forest of Hokkaido University. I used Free-Air CO<sub>2</sub> Enrichment (FACE) system, Open Top Chambers (OTC) for O<sub>3</sub> and high CO<sub>2</sub> study, and N deposition in both brown forest soil and immature volcanic ash soil in order to obtain more information for attaining sustainable forests with larch species, especially F<sub>1</sub>.

Many reports show that elevated CO<sub>2</sub> stimulates photosynthesis, delays foliar senescence in autumn, resulting above- and below-ground growth. Photosynthetic down-regulation also was reported in the plants under elevated CO<sub>2</sub> (500 ppm) with use of *A* (assimilation) / *Ci* (intercellular CO<sub>2</sub> concentration) curve. Growth enhancement of larches at FACE was found at the first year but not clearly detected for successive years. I try to understand the reason of down-regulation by nutrient status in plant body and soil nutrient condition. It may be caused by root restriction under poor nutrient condition. As I found a clear down-regulation in hybrid larch after 2-year-CO<sub>2</sub> fumigation under FACE with the reduction of *A*<sub>max</sub> (CO<sub>2</sub> and light saturation) accompanied by *V*<sub>Cmax</sub> (i.e. maximum capacity at light saturation in Rubisco: ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and *J*<sub>max</sub> (i.e. maximum rate of electron transport).

Tropospheric ozone (O<sub>3</sub>) is a phytotoxic air pollutant of major concern for forest declining, and has been increasing continuously. Although the mechanism is still under discussion, O<sub>3</sub> induces stomatal sluggish and progress in leaf senescence. As stomatal conductance is reduced at elevated CO<sub>2</sub>, I hope the reduction of stomatal conductance can induce low uptake amount of O<sub>3</sub>, thus low harmful effects of O<sub>3</sub> on larches. To confirm these suspect, I cultivated seedlings of 3 larch species under the charcoal filtered ambient CO<sub>2</sub> (385 ppm), 60 ppb O<sub>3</sub>, high CO<sub>2</sub> (600 ppm) and their combination. Significant reduction was found in diameter growth and needle mass of F<sub>1</sub> under O<sub>3</sub>. Small reduction in

these was found in  $F_1$  under  $O_3$  with high  $CO_2$ . The parent larches showed no consistent tendencies against  $O_3$  and  $CO_2$ . Except Dahurian larch, a positive correlation was found in mass-based needle N ( $N_{mass}$ ) and  $A_{max}$ .  $A_{max}$  of Dahurian larch had no correlation with  $N_{mass}$ .

Although N is an essential element for plant growth and usually a limiting macro-element for tree growth, increased N deposition in forest ecosystems usually leads to enhance net primary. However, exceed N deposition induces nutrient imbalance and declining of trees and forests. N saturation has recently occurred in parts of Asia, Europe and North America, which is due to exceeded  $50 \text{ kgN ha}^{-1}\text{year}^{-1}$  and even reached  $100 \text{ kg N ha}^{-1}\text{year}^{-1}$ . We continued N application with simulated acid rain ( $NH_4NO_3$ ) on young  $F_1$  plantation for 5 years. Except the first year of N application, no marked increase was found in  $A_{sat}$  (light saturated assimilation rate at ambient  $CO_2$ ), which may be attributed to denitrification and nutrient imbalance.  $A_{sat}$  increased with N for the first year but diameter was slightly increased with increasing needle mass. After 3 years of N loading, sun and shade crown was differentiated. N allocation differential in needles was induced not by N application but by crown position, i.e. light condition. N allocated mainly to Rubisco in sun crown while N is allocated more to electron transport in shade crown but not to light harvesting chlorophyll protein, which may be related to light demanding trait of larch. How about the nutrient imbalance of brown forest soil with high N loading, besides P deficiency?

Most soils in Hokkaido include volcanic ash, which usually induce phosphorous (P) deficiency. P is an essential macro-nutrient for all functions including photosynthesis. I planted  $F_1$  in 7 L pots filled with brown forest soils supplied with 0, 20, 50, 100  $\text{kg N ha}^{-1}\text{year}^{-1}$  with/without P application ( $50 \text{ kg ha}^{-1}\text{year}^{-1}$ ). To keep applied nutrients, I set the matched tray beneath each pot. Except P, a positive correlation was found between N, potassium and especially magnesium and  $A_{sat}$ . P had no correlation with  $A_{sat}$  which may be due to enough amount of P in plant body or the enhancement did not shown in above-ground but below-ground. Pattern of biomass allocation was not influenced by N and P treatment. Plants usually have high plasticity in allocating biomass for getting resources that have shortage for survival and growth.

To make clear the pattern of root growth of  $F_1$ , I planted 3-year-old planting stock of  $F_1$  in 15 L pot filled with Kanuma pumices and Akadama soil to simulate immature volcanic ash soil. I cultivated them with supplying 0, 50 and  $100 \text{ kgN ha}^{-1}\text{year}^{-1}$  with 0 and  $50 \text{ kg P ha}^{-1}\text{year}^{-1}$  for 2 growing seasons. I developed a new method of detecting vertical root growth and used in-growth method for detecting horizontal root growth. Vertical root growth was advanced in nutrient poor condition and followed by horizontal growth. The amount of root surface area was markedly increased by N only with existing P. I also found ectomycorrhiza infection in  $F_1$  roots at nutrient poor condition.

I confirmed the growth of 3 kinds of larch was regulated by the most shortage resources depending on soil conditions.  $F_1$  is promising species under changing environment but we should carefully select the nutrient rich condition. Future study should be paid more attention to the long-term environment changing, nutrient balance of growing condition and above- and below-ground linkage. Therefore it should be a whole scale of larch growth and a continuous monitoring in order to establish a deeply understanding of forest sustainable under changing environment.

# 学位論文審査の要旨

主査	教授	小池孝良
副査	教授	波多野隆介
副査	教授	平野高司
副査	客員教授	信濃卓郎
副査	教授	Matyssek, Rainer (ミュンヘン工科大学)
副査	准教授	高木健太郎 (北方生物圏フィールド科学センター)

## 学位論文題名

### Ecophysiological study on the growth responses of larch species to changing environments

#### -Effects of elevated CO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> and high nitrogen loading-

(変動環境下におけるカラマツ属樹種の成長応答に関する生理生態学的研究

—高CO<sub>2</sub>, オゾン,窒素沈着の影響—)

本論文は、図 28、表 9、引用文献 191 編からなる全 118 ページの英語論文である。参考論文 5 編が添えられている。

カラマツ属樹木はユーラシア大陸東側とその周辺に広く分布し、成長が速く幹の比重が高いため、大気 CO<sub>2</sub> 低減と用材生産が期待されている。ニホンカラマツは本州から北海道へ導入されたが、諸害への抵抗性に乏しいため育種によって新しいグイマツ雑種 F<sub>1</sub> (母樹・グイマツ×花粉親・ニホンカラマツ; 以降 F<sub>1</sub>) が開発された。一方、20 世紀中頃から生産環境が大きく変化してきた。大気中 CO<sub>2</sub> は増加し続けて約 400 ppm に到達し、窒素沈着量も増加の一途をたどっている。最近、対流圏 (= 地表付近: 0~11 km) オゾン濃度の上昇が続いている。このような変動環境下で持続的なカラマツ属樹木の生産を行うための基礎情報を得ることを、本研究の目標とした。

このため、これら変動環境が F<sub>1</sub> とその両親に及ぼす影響を解明し評価するために、広域に影響する生産環境から局所的なものへと調査を進めた。すなわち、大気 CO<sub>2</sub> 濃度、窒素沈着、土壌中の養分、特にリンに注目した成長試験と成長を阻害するオゾンと高 CO<sub>2</sub> の複合影響を主に北海道大学札幌研究林に設けた試験地を利用して調べた。

開放系大気 CO<sub>2</sub> 増加(FACE)実験設備 (3 反復: 褐色森林土と未成熟火山灰土壌: 大気 CO<sub>2</sub> 濃度約 380ppm と 2040 年頃を想定した 500ppm) に植栽された 2 年生 F<sub>1</sub> とその両親のグイマツとニホンカラマツの成長と夏期の光合成機能を調べた。3 生育期に高 CO<sub>2</sub> で

生育した  $F_1$  では光・ $CO_2$  飽和での光合成速度が抑制され負の制御（ダウン・レギュレーション）が生じた。しかし、これは両親では明瞭ではなかった。葉量が増えたため成長は高  $CO_2$  で増加した。葉の生産効率は2年目には高  $CO_2$  火山灰土壌で高かったが、これは生産された葉量に比べて木部乾重が大きかったためと考えられる。

オゾンと  $CO_2$  の複合影響は16基のオープントップチェンバーを用いて評価した。600 ppm の高  $CO_2$  では気孔が閉じ気味になるので、オゾン（60 ppb を日中7時間：東京近郊を想定）の取り込みが抑制されると予測した。この傾向は  $F_1$  で明確に現れ、 $F_1$  ではオゾンによる成長低下が明瞭であったが、オゾン・高  $CO_2$  での成長は高  $CO_2$  処理個体に近い値を示した。しかし、両親への影響は不明瞭であった。

窒素沈着の影響を5生育期間に渡って追跡した。札幌研究林にて実験用に4,600本/haで3年生の山行き苗  $F_1$  を植え、東京近郊で観測される合計  $50\text{kg ha}^{-1}\text{yr}^{-1}$  量の硝酸アンモニウムを生育期間の各月に付加した。光合成蒸散測定装置によって生理学的な測定を行い、針葉中の炭素・窒素、クロロフィルの組成を調べた。窒素付加の初年度のみ幹の成長は増加したが、これは光合成速度の上昇ではなく葉量の増加の結果であった。付加された窒素によって集光部位へ窒素が分配され、耐陰性が増加して下枝の枯れ上がりが抑制されることを想定した。解析の結果、針葉中の窒素が炭素固定系、電子伝達、集光部位、その他などへ、どのように分配されるかは、付加された窒素量ではなく光量によって変化することが解明された。窒素付加によって成長には他の養分からの影響が推察された。このためポット試験を実施した。

7リットルのポットに褐色森林土に満たして  $F_1$  を植え、窒素3段階（0, 50, 100  $\text{kg hr}^{-1}\text{yr}^{-1}$ ）とリン2段階（0, 50  $\text{kg hr}^{-1}\text{yr}^{-1}$ ）の付加した結果、窒素、カリウム、マグネシウムと光飽和での光合成速度との間には明瞭な正の相関が認められた。しかし、リンとの相関はなかった。本土壌にはリンが十分に存在しており、クロロフィルの骨格物質であるマグネシウムが成長の制限になることが示唆された。さらに、根系の発達を観察するための新しい実験方法を考案した。15リットルポットを2層に重ね、底部分にコアサンプル部を設置し、底部へ達した垂直根を採取した。土壌は未成熟火山灰土壌を模倣して鹿沼土と赤玉土の混交土を用いた。従来、測定の難しかった垂直方向への根の成長を定量的に測定できるようになった。リンが微量だと窒素量が増えても根の成長は抑制気味になり、リンが多量だと垂直方向の成長が8月まで増加した。一方、水平根の成長はイングロース法によって観察した。リンが存在しないと水平根は成長しなかったが、リンの存在下では窒素量が多いほど発達した。

$F_1$  は成長が速く高  $CO_2$  環境でも成長量の増加は続くが、土壌の栄養分が成長を明瞭に制限すること、オゾンの悪影響が最も生じやすいことが明らかになった。本研究の知見は変動環境での  $F_1$  などカラマツ属の植林に重要な基礎的知見を与える。よって、審査員一同は、毛巧芝が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。