

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16136

研究課題名(和文) 樹木の葉におけるCO<sub>2</sub>固定に対するオゾンのリスク評価モデルの構築研究課題名(英文) Establishment of ozone risk assessment model for leaf CO<sub>2</sub> assimilation of woody plant

研究代表者

渡辺 誠 (Watanabe, Makoto)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・特任准教授

研究者番号：50612256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：オゾンは樹木の生育に悪影響を及ぼす大気汚染物質である。本研究では森林の主要構成種である樹木の二酸化炭素固定機能に対するオゾンの影響を推定するためのモデルの作成を目的として、葉の光合成機能に対するオゾンの影響評価を行った。その結果、オゾンによる光合成速度の低下は気孔が閉じるためではなく、主に葉緑体における生化学的なプロセスの低下によるものであることが明らかになった。さらに樹冠の上部と下部に位置する葉ではオゾン感受性が異なる樹種があることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Ozone is an air pollutant that negatively affects tree growth. The responses of photosynthetic function to elevated ozone were studied to establish a model for estimating ozone effects on CO<sub>2</sub> sequestration of trees. Ozone-induced reduction of photosynthetic activity was due not to stomatal closure, but mainly due to biochemical limitation. Furthermore, in some tree species, the ozone sensitivity of photosynthesis in upper canopy leaves was higher than that in lower canopy leaves.

研究分野：樹木生理生態学

キーワード：オゾン 樹木 光合成

### 1. 研究開始当初の背景

対流圏におけるオゾンは光化学オキシダントの主成分であり、植物に対する毒性が高いガス状大気汚染物質である。現状濃度のオゾンによって、樹木の葉における光合成速度( $\text{CO}_2$  吸収速度)の低下や呼吸速度( $\text{CO}_2$  放出速度)の増加が引き起こされる。

森林の樹木には葉における光合成作用を通じて大気中の  $\text{CO}_2$  を固定し、地球温暖化の進行を抑制する機能があるが、その機能がオゾン濃度の増加により悪影響を受けている可能性は高い。しかし、現状のオゾンのリスク評価には不確実性が大きく含まれている。

不確実性を大きくする植物側の要因の一つに、樹木に対するオゾンの影響推定モデルの精度が挙げられる。従来のオゾンの影響推定モデルでは、苗木を用いた実験的研究から得られた積算オゾン暴露(濃度×時間)に対する樹木の光合成生産(乾物成長や  $\text{CO}_2$  固定量など)の低下に関する経験式が使われてきた。しかし、このモデルには植物の  $\text{CO}_2$  固定において最も重要な光合成や呼吸といった植物生理学的プロセスが含まれておらず、気温や日射量などの環境要因を考慮できない。森林を構成する樹木の  $\text{CO}_2$  固定において最も重要な要素である光合成に関して、葉に吸収されたオゾンに対する植物生理学的応答メカニズムを理解し、それらを踏まえたプロセスベースモデルを構築できれば、樹木の  $\text{CO}_2$  固定に対するオゾンのリスクを経験則ではなく、より科学的根拠に基づいた形で評価する事が可能となると考え、本研究を計画した。

### 2. 研究の目的

本研究では日本の代表的な落葉広葉樹および常緑広葉樹を対象に以下の3点の課題に取り組んだ。

- (1) 光合成特性に基づいたオゾン吸収量推定モデルの構築
- (2) 光合成モデルにおける供給関数や要求関数を構成するパラメーターの、オゾン吸収量に対する応答の定量的な解明とモデル化
- (3) 呼吸速度のオゾン吸収量に対する応答の定量的な解明とモデル化

これらの結果に基づいて、樹木の葉における  $\text{CO}_2$  固定に対するオゾンの影響推定モデルを構築する事を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、東京農工大学 FM 多摩丘陵(東京都八王子市)のオゾン暴露チャンバー(管理者: 伊豆田 猛教授)と北海道大学札幌研究林の開放系オゾン暴露設備(管理者: 小池 孝良教授)を用いた。開放系オゾン暴露とは周囲の覆いを排除し、自然環境を維持したままオゾン暴露を行う手法である(図 1)。オゾン暴露チャンバーにおいては、オゾンを除去了浄化区と野外の 1.0 倍および 1.5 倍のオゾン濃度となる合計 3 処理区を設定した。開

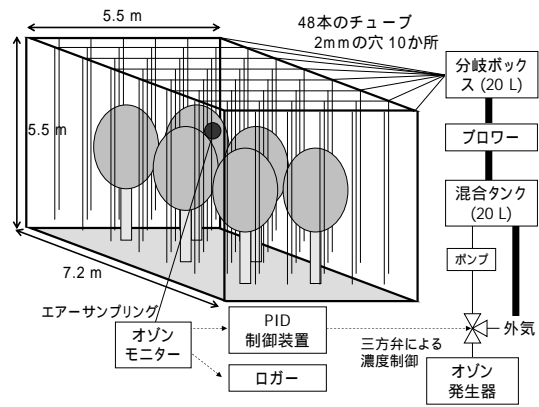


図1 開放系オゾン暴露装置の概略

放系オゾン暴露設備では、日照時に 60 ppb (光化学オキシダントの環境基準値)のオゾンを暴露した。

オゾンを暴露した樹木の葉において、光合成モデルに関わるパラメーターを調査した。本研究では、Farquhar らの光合成生化学モデルを用い、オゾン吸収量の推定には Ball ら、あるいは Jarvis の気孔コンダクタンスモデルを用いた。これらのモデルは世界中で広く用いられている。光合成における  $\text{CO}_2$  の取り込みの指標となるパラメーターとして気孔コンダクタンス(気孔の開き具合を示す)、葉緑体における生化学的な同化能力を示すパラメーターとして最大カルボキシレーション速度( $V_{\text{cmax}}$ )と最大電子伝達速度( $J_{\text{max}}$ )などを測定した。さらに、光合成に関わる酵素活性や物質含量などを測定した。光合成反応の多くは酵素によって触媒されており、酵素の構成成分である窒素の含量と光合成速度は高い相関を示す。そこで葉の窒素含量と光合成活性の関係を詳細に解析し、光合成系への窒素利用特性に対するオゾンの影響を調査した。

### 4. 研究成果

#### (1) 個葉におけるオゾン応答

オゾン暴露された葉において光合成機能の調査を行ったところ、オゾンによる純光合成速度の低下は、主として葉緑体における生化学的な同化能力である  $V_{\text{cmax}}$  や  $J_{\text{max}}$  の低下によるものであることが明らかになった。しかしながら、常緑広葉樹を対象としたオゾン暴露実験においてオゾンによる純光合成速度の低下が認められたスダジイでは、 $V_{\text{cmax}}$  の低下だけでなく、気孔閉鎖に伴う  $\text{CO}_2$  の取り込み阻害も原因となっていることが示唆された(図 2)。

光合成に対するオゾンの影響についてさらなる詳細を明らかにするために、ガス交換速度とクロロフィル蛍光の同時測定によって細胞間隙から葉緑体までの  $\text{CO}_2$  の通導性(葉肉コンダクタンス)に対するオゾンの影響をブナ苗を対象に調べた。その結果、オゾンによって葉肉コンダクタンスが低下する

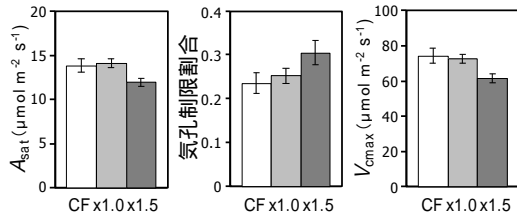


図 2 スタジイの純光合成速度( $A_{sat}$ ), 気孔による光合成の制限割合および最大カルボキシル化速度( $V_{cmax}$ ). CF: 浄化空気区, x1.0 および x1.5: 野外と比較してオゾン濃度をそれぞれ 1.0 倍および 1.5 倍に調整した処理区.

こと、葉肉コンダクタンスのオゾン感受性はその他のプロセスよりオゾンの影響を受けやすいことが明らかになった。

先行研究ではオゾンによって暗呼吸が増加する傾向が認められたが、今回の実験においては呼吸に対するオゾンの影響は認められなかった。

## (2) 葉群におけるオゾン応答

葉群光合成に対するオゾンの影響を明らかにするには、樹冠位置の違いに伴うオゾン感受性の変化を考慮しなくてはならない。先行研究よりブナにおいては樹冠上部に位置する葉(上位葉)は樹冠下部に位置する葉(下位葉)よりもオゾン感受性が高いことが明らかになっていた。本研究では上位葉と下位葉のそれぞれにおいて、オゾン吸収量と光合成機能の低下程度を詳細に解析した。その結果、同じ量のオゾンを受取した場合は下位葉の方が光合成機能の低下が著しいことが明らかになった(図 3)。そのメカニズムとして上位葉では下位葉に比べてより多くの光合成を行うことができ、それによって得られた炭水化物がオゾンに対する防御に使われている可能性が示唆された。一方で、上位葉では下位葉よりも多くのオゾンを受取した。その結果として下位葉よりも光合成機能が低下しやすいことが明らかになった。

樹冠全体を対象に、葉の窒素含量と光合成機能の関係を調査した結果、樹冠上部の葉においてより多くの窒素が分配されており、 $V_{cmax}$  などの光合成能力が高かった(図 4)。また、葉の光合成速度がオゾンによって低下した際には、光合成機能に対する窒素の分配割合が低下していた。すなわちブナにおいては、樹冠上部の窒素含量が大きい葉において光合成系への窒素利用効率が低下しやすいことが明らかになった。対象としたブナと同じ実験サイトに植栽されていたミズナラについては、葉の光合成におけるオゾン感受性の樹冠位置の違いに伴う変化は認められず、光合成系への窒素利用効率に対するオゾンの影響についても同様であった。

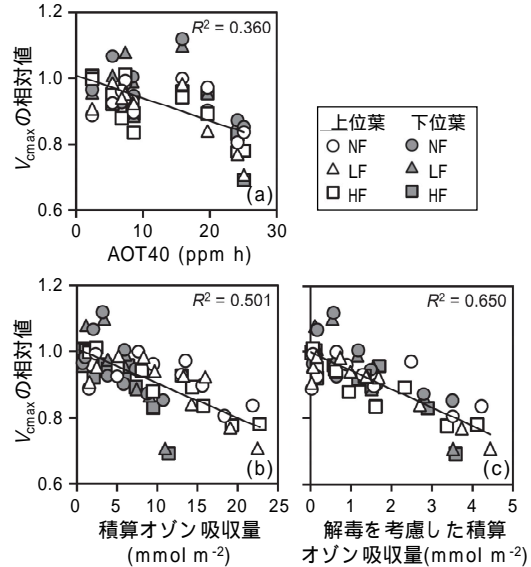


図 3 ブナ苗の葉における最大カルボキシル化速度( $V_{cmax}$ )の(a)AOT40, (b)積算オゾン吸収量および(c)解毒を考慮した積算オゾン吸収量に対する応答(オゾン暴露チャンバーの結果)。測定はブナの樹冠上部と下部の二か所において行われた。NF: 無施肥区, LF: 低施肥区, HF: 高施肥区。

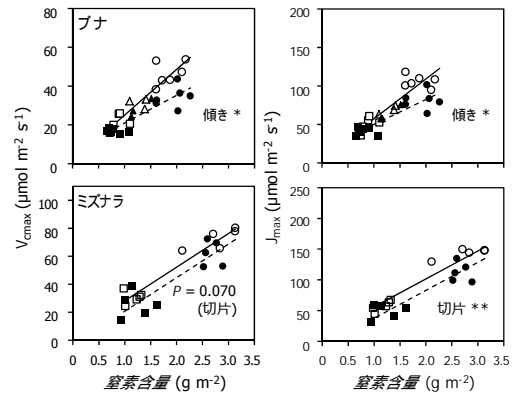


図 4 ブナ(上段)およびミズナラ(下段)幼木の最大カルボキシル化速度( $V_{cmax}$ )および最大電子伝達速度( $J_{max}$ )と葉の窒素含量の関係(開放系オゾン暴露実験の結果)。共分散分析の結果、ブナにおいては回帰直線の傾きにオゾンの有意な影響が認められたのに対して、ミズナラでは切片にオゾンの有意な影響が認められた。

## (3) 今後に向けて

本研究によって多くの個葉・葉群光合成・呼吸プロセスに対するオゾンの影響メカニズムに関する新たな知見を得ることができた。しかしながら、2年目にオゾン暴露設備の故障があり研究が滞った時期があった。そのため、得られた成果を用いたモデルシミュレーションを行うには至らなかった。今後それらについても取り組む予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

1. Wang, X., Agathokleous, E., Qu, L., Fujita, S., Watanabe, M., Tamai, Y., Mao, Q., Koyama, A., and Koike, T. Effects of simulated nitrogen deposition on ectomycorrhizae community structure in hybrid larch and its parents grown in volcanic ash soil: the role of phosphorous. *Science of the Total Environment*, 査読有, Vol. 618, 2018, 905-915.
2. Hoshika, Y., Watanabe, M., Carrari, E., Paoletti, E. and Koike, T. Ozone-induced stomatal sluggishness changes stomatal parameters of Jarvis-type model in white birch and deciduous oak. *Plant Biology*, 査読有, Vol. 20, 2018, 20-28.
3. Agathokleous, E., Sakikawa, T., Abu El-Ela, SA., Mochizuki, T., Nakamura, M., Watanabe, M., Kawamura, K. and Koike, T. Ozone alters the feeding behavior of the leaf beetle *Agelastica coerulea* (Coleoptera: Chrysomelidae) into leaves of Japanese white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*). *Environmental Science and Pollution Research*, 査読有, Vol. 24, No. 21, 2017, 17577-17583.
4. Kinose, Y., Fukamachi, Y., Okabe, S., Hiroshima, H., Watanabe, M. and Izuta, T. Photosynthetic responses to ozone of upper and lower canopy leaves of *Fagus crenata* Blume seedlings grown under different soil nutrient conditions. *Environmental Pollution*, 査読有, Vol. 223, 2017, 213-222.
5. Kinose, Y., Fukamachi, Y., Okabe, S., Hiroshima, H., Watanabe, M. and Izuta, T. Nutrient supply to soil offsets the ozone-induced growth reduction in *Fagus crenata* seedlings. *Trees*, 査読有, Vol. 31, No. 1, 2017, 259-272.
6. Shi, C., Kitao, M., Agathokleous, E., Watanabe, M., Tobita, H., Yazaki, K., Kitaoka, S. and Koike, T. Foliar chemical composition of two oak species grown in a free-air enrichment system with elevated O<sub>3</sub> and CO<sub>2</sub>. *Journal of Agricultural Meteorology*, 査読有, Vol. 72, No. 1, 2016, 50-58.
7. Watanabe, M., Kitaoka, S., Eguchi, N., Watanabe, Y., Satomura, T., Takagi, K., Satoh, F. and Koike, T. Photosynthetic traits of Siebold's beech seedlings in changing light conditions by removal of shading trees under elevated CO<sub>2</sub>. *Plant Biology*, 査読有, Vol. 18, No. S1, 2016, 56-62.
8. Wang, X., Agathokleous, E., Qu, L., Watanabe, M. and Koike, T. Effects of CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on the interaction between root of woody plants and ectomycorrhizae. *Journal of Agricultural Meteorology*, 査読有, Vol. 72, No. 2, 2016, 95-105.
9. Agathokleous, E., Saitanis, CJ., Wang, X., Watanabe, M. and Koike, T. A review study on past 40 years of research on effects of tropospheric O<sub>3</sub> on belowground structure, functioning and processes of trees: a linkage with potential ecological implications. *Water, Air, & Soil Pollution*, 査読有, Vol. 227, No. 1-33, 2016, 1-28.
10. Kam, DG, Shi, C., Watanabe, M., Kita, K., Satoh, F. and Koike, T. Growth of Japanese and hybrid larch seedlings grown under free-air O<sub>3</sub> fumigation - an initial assessment of the effects of adequate and excessive nitrogen. *Journal of Agricultural Meteorology*, 査読有, Vol. 71, No. 3, 2015, 239-244.
11. Watanabe, M., Hoshika, Y., Inada, N. and Koike, T. Difference in photosynthetic responses to free air ozone fumigation between upper and lower canopy leaves of Japanese oak (*Quercus mongolica* var. *crispula*) saplings. *Journal of Agricultural Meteorology*, 査読有, Vol. 71, No. 3, 2015, 227-231.
12. Hoshika, Y., Watanabe, M., Inada, N. and Koike, T. Effects of ozone-induced stomatal closure on ozone uptake and its changes due to leaf age in sun and shade leaves of Siebold's beech. *Journal of Agricultural Meteorology*, 査読有, Vol. 71, No. 3, 2015, 218-226.
13. Agathokleous, E., Koike, T., Watanabe, M., Hoshika, Y. and Saitanis, CJ. Ethylene-di-urea (EDU), an effective phytoprotectant against O<sub>3</sub> deleterious effects and a valuable research tool. *Journal of Agricultural Meteorology*, 査読有, Vol. 71, No. 3, 2015, 185-195.
14. Hoshika, Y., Katata, G., Deushi, M., Watanabe, M., Koike, T. and Paoletti, E. Ozone-induced stomatal sluggishness changes carbon and water balance of temperate deciduous forests. *Scientific Reports*, 査読有, Vol. 5, 9871, 2015, 1-8.

[学会発表](計 11 件)

1. Watanabe, M., Hiroshima, H., Kinose, Y., Okabe, S. and Izuta, T. (2017) Nitrogen use efficiency for growth of *Fagus crenata* seedlings under elevated ozone with different soil nutrient conditions. IUFRO Tokyo 2017: Actions for sustainable forest ecosystems under air pollution and climate change, 2017年11月24日, 府中(日本)

2. Kinose, Y., Fukamachi, Y., Okabe, S., Hiroshima, H., Watanabe, M. and Izuta, T. (2017) Photosynthetic responses to ozone of *Fagus crenata* seedlings under different soil nutrient status. IUFRO Tokyo 2017: Actions for sustainable forest ecosystems under air pollution and climate change, 2017年11月23日, 府中(日本).
3. Hoshika, Y., Katata, G., Watanabe, M., Deushi, M., Koike, T. and Paoletti, E. (2017) Ozone-induced stomatal sluggishness changes carbon and water balance of temperate deciduous forests. IUFRO 125th Anniversary Congress 2017, 2017年9月20日, フライブルグ(ドイツ).
4. Watanabe, M., Kinose, Y., Hoshika, Y., Koike, T. and Izuta, T. (2017) Difference in ozone susceptibility of photosynthesis between upper and lower canopy leaves of Siebold's beech. XIX International Botanical Congress, T3-23: Tropospheric ozone as part of global change - effects on plant growth and terrestrial ecosystems, 2017年7月24日, 深セン(中国).
5. Hoshika, Y., Katata, G., Watanabe, M., Deushi, M., Koike, T. and Paoletti, E. (2016) Global ozone impacts on forest carbon and water use. IUFRO Regional Congress for Asia and Oceania 2016, Forest for Sustainable Development: The Role of Research, 2016年10月26日, 北京(中国).
6. Kinose, Y., Okabe, S., Hiroshima, H., Watanabe, M. and Izuta, T. (2016) Nutrient supply to soil offsets the ozone-induced reduction in growth of *Fagus crenata* seedlings. The 2nd Asian Air Pollution Workshop, 2016年10月22日, 北京(中国).
7. Watanabe, M., Hiroshima, H., Kinose, Y., Okabe, S. and Izuta, T. (2016) Nitrogen use efficiency for growth of *Fagus crenata* seedlings under elevated ozone with different soil nutrient conditions. The 2nd Asian Air Pollution Workshop, 2016年10月22日, 北京(中国).
8. Watanabe, M., Hoshika, Y. and Koike, T. (2015) Difference in photosynthetic responses of Siebold's beech (*Fagus crenata*) and Japanese oak (*Quercus mongolica* var. *crispula*) saplings to free air ozone fumigation. The 1st Asian Air Pollution Workshop, 2015年10月31日, 北京(中国).
9. Kinose, Y., Fukamachi, Y., Watanabe, M. and Izuta, T. (2015) Relationship between cumulative stomatal ozone uptake and photosynthetic parameters of *Fagus crenata*. IUFRO 2015: Global Challenges of Air Pollution and Climate Change to Forests, 2015年6月3日, ニース(フランス).
10. Hoshika, Y., Watanabe, M., Carriero, G., Koike, T. and Paoletti, E. (2015) To develop

stomatal conductance modeling under elevated ozone in forest trees. IUFRO 2015: Global Challenges of Air Pollution and Climate Change to Forests, 2015年6月3日, ニース(フランス).

11. Watanabe, M., Hoshika, Y., Inada, N. and Koike, T. (2015) Difference in photosynthetic responses to ozone between canopy positions in Japanese oak. IUFRO 2015: Global Challenges of Air Pollution and Climate Change to Forests, 2015年6月2日, ニース(フランス).

〔図書〕(計3件)

1. Watanabe, M., Hoshika, Y., Koike, T. and Izuta, T. Effects of ozone on Japanese trees. Air pollution impacts on plant in East Asia (Izuta, T., ed.), Springer Japan, Tokyo, 2017, 73-100.
2. Watanabe, M., Hoshika, Y., Koike, T. and Izuta, T. Combined effects of ozone and other environmental factors on Japanese trees. Air pollution impacts on plant in East Asia (Izuta, T., ed.), Springer Japan, Tokyo, 2017, 101-110.
3. Yamaguchi, T., Watanabe, M., Noguchi, I. and Koike, T. Tree decline at the somma of Lake Mashu in northern Japan. Air pollution impacts on plant in East Asia (Izuta, T., ed.), Springer Japan, Tokyo, 2017, 135-150.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕  
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡辺 誠 (WATANABE, Makoto)

東京農工大学・大学院農学研究院・特任准教授

研究者番号: 50612256

(2) 研究協力者

伊豆田 猛 (IZUTA, Takeshi)

東京農工大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号: 20212946

小池 孝良 (KOIKE, Takayoshi)

北海道大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号: 10270919