

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660119

研究課題名(和文) オゾンとCO<sub>2</sub>複合ストレスがカラマツ属の成長と共生菌類の種多様性に及ぼす影響解明研究課題名(英文) Combination Effect of elevated O<sub>3</sub> and CO<sub>2</sub> on growth of larch species and species diversity of ectomycorrhizae

研究代表者

小池 孝良 (KOIKE, Takayoshi)

北海道大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：10270919

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：大気CO<sub>2</sub>とオゾンの増加環境におけるグイマツ雑種F1の成長と外生菌根(ECM)類の組成を調べた。3年生稚樹をオーブントップチェンバー(対照：活性炭でO<sub>3</sub>を除去、60ppbオゾン、600ppmCO<sub>2</sub>、複合影処理)で育成し、光合成、針葉のプラズマ発光による葉分析を行った。高CO<sub>2</sub>では感染した個体の成長とECMの種組成は増加したが、高O<sub>3</sub>では低下した。針葉中の多くの養分(Al, Fe, Mo, P)は高O<sub>3</sub>で減少しK, Mgは増加した。P以外は高O<sub>3</sub>とCO<sub>2</sub>の複合効果は不明瞭であった。高CO<sub>2</sub>ではジェネラリストECM(ラシャタケ属)が優占し、高O<sub>3</sub>ではカラマツ属に特異的なイグチ属が生存していた。

研究成果の概要(英文)：We studied colonization of ectomycorrhiza (ECM) fungi and the species abundance of a hybrid larch F1 (*Larix gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi*) with elevated CO<sub>2</sub> and ozone (O<sub>3</sub>). Two-year-old seedlings were planted in an Open-Top-Chamber (OTC) system with 4 gas fumigations: Control (< 6 nmol/mol), O<sub>3</sub> (60 nmol/mol), CO<sub>2</sub> (600 μmol/mol), and CO<sub>2</sub>+O<sub>3</sub>. After 2 growing seasons, ECM colonization and root biomass were positively affected by elevated CO<sub>2</sub>. Ozone impaired ECM colonization rate and species richness, and reduced stem biomass. However there was no clear inhibition on photosynthetic capacity by O<sub>3</sub>. Concentration of most elements (Al, Fe, Mo, P) in needles was reduced by O<sub>3</sub> but some increased in roots (K, Mg), which may lead to distinct alteration of ECM abundance. We found no effects of combined fumigation on all parameters except P concentration in needles. Tolerance to O<sub>3</sub> shown in hybrid larch F1 might be potentially related to ECM symbiosis changes.

研究分野：森林科学

キーワード：カラマツ属 無機栄養 外生菌根菌 光合成 種多様性 感染率 高CO<sub>2</sub> 高オゾン

## 1. 研究開始当初の背景

カラマツ属樹種は北日本の他の針葉樹と異なり強度が年輪幅にあまり左右されないため、未成熟材の欠点はあるが、木材資源として有望視されている。一方、無機生産環境 (CO<sub>2</sub>、窒素沈着、地表付近オゾン濃度) が激変してきた。

グイマツ雑種 F<sub>1</sub> は有望視されている林業品種であるが、先行研究からオゾン感受性の高いことが指摘された。一般にオゾンは光合成を低減し、結果として地下部への光合成産物の転流は抑制されるため、外生菌根菌 (ECM) の感染率も低下する。カラマツ属は養水分を ECM にも依存するが、ECM も宿主の光合成産物の動態に影響される。また、土壌菌相との相互作用も重要な要因である。

ECM は一種ではなく数種が感染することで土壌酸性化、乾燥などへのストレス耐性を宿主に付与する。先の科研補助金により、カラマツ属 3 種では高 CO<sub>2</sub> によって気孔が閉じ気味になり、オゾン取込みの抑制が示唆された。現在、低コスト造林の一環としてコンテナ苗生産に注目が集まっているが、リン資源の枯渇が指摘されている現状から、用いる林業用肥料のリン比率を見直す必要が出てきた。この場合、ECM は主に宿主のリン吸収に貢献する。

## 2. 研究の目的

進行するオゾン、窒素沈着、高 CO<sub>2</sub> の複合環境におけるカラマツ属への ECM の感染率と種組成、さらに樹体の栄養生理との関係を明らかにし、ECM を緑化資材として利用する基礎資料を得たい。

## 3. 研究の方法

グイマツ雑種 F<sub>1</sub> の 2 年生の山行き苗を入手し、直ちに感染している外生菌根菌 (ECM) を調べる。褐色森林土の試験地に設置された天井の開いたオープントップチェンバー (OTC、既存設備) にグイマツ雑種 F<sub>1</sub> クローン苗を植え、浄化空気、オゾン (60 ppb: 環境基準上限) CO<sub>2</sub> (600 ppm: 2040 年頃) オゾンと CO<sub>2</sub> の複合処理を与え、光合成機能と成長データを得つつ、最終年には掘取りを行なった。

針葉の化学分析は主にプラズマ発光法で行った。細根の調査や ECM から分離した DNA から PCR で増幅し、ITS 領域を対象に解析を行った。すなわち、従来法により光学顕微鏡下で菌根形成根端のタイプ分けを行い、形態タイプ毎に rDNA を含む ITS 領域の塩基配列によって ECM の種を同定した。得られたデータから ECM 多様性の解析や樹体の各部位ごとのリンを中心とした化学成分の解析から ECM の役割を推察した。

## 4. 研究成果

高 CO<sub>2</sub> 環境では気孔が閉じ気味になるため、空気より重い O<sub>3</sub> の取り込みは軽減され、成長

抑制は軽減されると予想した。しかし、新品種 F<sub>1</sub> の成長は高 O<sub>3</sub> で抑制され、高 CO<sub>2</sub> (600 ppm) による O<sub>3</sub> (60 ppb) の悪影響の緩和傾向は明瞭ではなかった。

宿主の養水分状態が良好に保たれていれば、樹体の生理機能は維持される。これに重要な役割を果たすのは外生菌根菌 (ECM) などの共生菌類とされる。F<sub>1</sub> を 2 生育期間、上記の高 CO<sub>2</sub> と O<sub>3</sub> の組み合わせで育成し、その成長と共生菌類の組成を調べた。この結果、樹体の成長は高 CO<sub>2</sub> 区 > 対照区 > 高 CO<sub>2</sub> + O<sub>3</sub> 区 >> O<sub>3</sub> 区の順に大きかった。感染した ECM 種数も、この順に多かった。すなわち高 CO<sub>2</sub> 区ではイグチ属を中心にラシャタケ属、*Cadophora* 属、ラッカリア属、イボタケ属などが感染していたが、高 O<sub>3</sub> 区ではイグチ属が 80 % 以上を占めていた。

生育環境が悪化し光合成が抑制されても、結局、カラマツ属のスペシャリストと考えられるイグチ属は不可欠なパートナーなのだと思う。マツ属のコツブタケ同様にカラマツ属にはイグチ属 ECM は不可欠であり、緑化資材としての期待ができると考えている。

## 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 8 件)

Agathokleous E, Watanabe M, Nakaji T, Wang XN, Satoh F, and Koike T. (2016) Impact of elevated CO<sub>2</sub> on root traits of a sapling community of three birches and an oak: A free-air-CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) in northern Japan. *Trees* 30 : 353-362、査読有、

Agathokleous E, Saitanis CJ, Wang X N, Watanabe M, and Koike T. (2016) A review study on past 40 years of research on effects of tropospheric O<sub>3</sub> on below-ground structure, functioning and processes of trees: a linkage with potential ecological implications. *Water, Air, & Soil Pollution* 227:33-D01:10.1007/s11270-015-2715-9、査読有、

藤田早紀・来田和人・斎藤秀之・渋谷正人・小池孝良 (2016) 窒素沈着がグイマツ雑種の細根動態に与える影響-リン付加の効果に注目して-, *北方森林研究*, 64:67-70、査読有、

菅井徹人・渡部敏裕・来田和人・斎藤秀之・渋谷正人・小池孝良 (2016) ニホンカラマツとグイマツ雑種 F<sub>1</sub> の光合成と成長に及ぼすオゾン暴露と硫酸アンモニウム付加の影響, *北方森林研究*, 64:63-66、査読有、

Wang XN, L Qu, Q Mao, Watanabe M, Hoshika Y, Koyama A, Kawaguchi K, Tamai Y and Koike T (2015) Ectomycorrhizal colonization and growth of

the hybrid larch  $F_1$  under elevated  $CO_2$  and  $O_3$ . Environmental Pollution 197: 116-126、査読有、  
Koike T, Watanabe M, Watanabe Y, Agathokleous E, Mao QZ, Eguchi N, Takagi K, Satoh F, Kitaoka S, and Funada R. (2015). Ecophysiology of deciduous trees native to Northeast Asia grown under FACE (Free Air  $CO_2$  Enrichment), Journal of Agricultural Meteorology 71: 174-184、査読有、  
Kam Dong-Gyu, Agathokleous E, Watanabe M, Takagi K, Satoh F, Kita K, Koike T. (2015) Production efficiency of needles of two larches sp. raised under a free air Ozone fumigation system in combination with nitrogen application. Boreal Forest Research 63: 43-44、査読有、  
小池孝良 (2015) カラマツのパートナー、樹木医学研究, 19: 60-61、査読有。

〔学会発表〕(計9件)

Koike T, Wang XN, Qu LY, Fujita S, Sugai T, Shi C. and Watanabe T. (2016) Sustainable forest production with hybrid larch  $F_1$  under changing environment: Prediction with a free-air system and OTC. Joint symposium between Nanakai University and Hokkaido University (中国・天津市), China., March 28-30, 2016,  
藤田早紀・来田和人・渋谷正人・斎藤秀之・小池孝良 (2016) ゲイマツ雑種  $F_1$  の細根の成長に及ぼす窒素沈着の影響: リン付加の有無の比較, 第128回日本森林学会「樹木根の成長の機能」日本大学生物資源科学部(神奈川県・藤沢市) 2016年3月27-31日  
Agathokleous E, Kita K, Paoletti E, Manning WJ, Saitanis CJ, and Koike T. (2016). Saplings of a hybrid larch  $F_1$  (*Larix gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi*) grown under elevated  $O_3$  levels and treated with Ethylene diurea: a free air  $O_3$  enrichment experiment in northern East Asia. The 29th Task Force Meeting of the UNECE ICP Vegetation & ozone workshop. p. 22.  
**In:** The 29th Task Force Meeting of the UNECE ICP Vegetation for Europe Convention on Long-Range Transboundary Air Pollution (Dubna, February 29 - March 4, 2016): Programme and Abstracts. - Dubna: JINR, 2016. - 87 p. ISBN: 978-5-9530-0433-6, Covensention center, Dubna, Russian Federation.  
Koike T, Agathokleous E, Shi C, Vanderstock A, Fujita S, Sugai T, Wang X and Watanabe T. (2015). Sustainable

forest production under changing environment with a free-air system and open top chambers. Joint Myanmar-Japan symposium. Pathein University, (Pathein, Myanmar) 5-6 December 2015.  
Agathokleous E, Manning WJ, Paoletti E, Satoh F, and Koike T. (2015). Growth, photosynthesis and photosynthetic pigments content of a hybrid larch  $F_1$  (*Larix gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi*) saplings exposed to  $O_3$ -enriched atmosphere and treated with ethylene di urea. 3rd International Life-Science Symposium. 26 November 2015, Hokkaido University, (北海道・札幌市), Japan.  
藤田早紀・来田和人・斎藤秀之・渋谷正人・小池孝良 (2015) 窒素沈着がゲイマツ雑種の細根動態に与える影響-リン付加の効果に注目して-, 第64回北方森林学会、札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市) 11月12日、2015(北方森林学会ポスター賞受賞)  
Sugai T, Watanabe T, Kita T and Koike T. (2015) Effects of Ozone and/or ammonium sulfate on photosynthesis of Japanese larch and its hybrid larch, The 1st Asia Pollution Workshop, The Univ of Tokyo, (東京都・文京区)、Oct 31st-Nov 2nd, 2015.  
Fujita S, Kita K, Koike T (2015) The effects of nitrogen deposition on the rhizosphere of hybrid  $F_1$  -A Preliminary experiment-, The 1st Asia Pollution Workshop, The Univ of Tokyo, (東京都文京区) Oct 31st-Nov 2nd, 2015.  
Inoue W, Vanderstock A, Satoh F and Koike T (2015) The interaction between insects and deciduous broadleaved trees under different  $O_3$  concentrations and soil fertilities. The 1st Asia Pollution Workshop, The Univ of Tokyo, (東京都・文京区) Oct 31st-Nov 2nd, 2015.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)なし  
取得状況(計 件)なし

〔その他〕ホームページ等

<http://www.agr.hokudai.ac.jp/fres/silv/index.php?Koike%20Takayoshi>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2)研究分担者

玉井 裕(TAMAI, Yutaka)

北海道大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号：50281796

研究分担者

渡辺 誠(WATANABE, Makoto)

東京農工大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号：50612256

研究分担者

佐藤冬樹

北海道大学・北方生物圏フィールド科学セン

ター・教授

研究者番号：20187230

(3)連携研究者 なし