

	ゲン コン ティン
氏 名	NGUYEN Cong Thinh
本籍（国籍）	ベトナム
学 位 の 種 類	博士（農学）
学 位 記 番 号	連研第 703 号
学位授与年月日	平成 3 0 年 3 月 2 3 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学
学 位 論 文 題 目	Effects of elevated atmospheric carbon dioxide concentration on growth, photosynthesis and morphology in Chinese yam（大気中の高濃度二酸化炭素がナガイモの生長、光合成および形態に及ぼす影響に関する研究）
学位審査委員	主査 弘前大学准教授 川崎 通夫 副査 前多 隼人(弘前 准教授),黒田 榮喜(岩手 教授),花田 正明 (帯広 准教授)

論 文 の 内 容 の 要 旨

The increase in carbon dioxide (CO₂) is widely being considered as the main driving factor that caused the phenomenon of global warming. The effects of elevated atmospheric CO₂ concentration ([CO₂]) on growth of plants such as rice, wheat, soybean, potato etc have been studied but, to date, no experiments related to the effects of elevated [CO₂] have been performed in yam, including Chinese yam. To determine the effective strategies for yam cultivation under the future climatic change, it is important to understand how Chinese yam responds to elevated [CO₂] and by which mechanism the responses occur. This study was carried out with the purpose to elucidate the effects of elevated [CO₂] on growth, photosynthesis and morphology in Chinese yam.

Firstly, to understand the effects of elevated [CO₂] on growth, photosynthesis in Chinese yam, two experiments were conducted in temperature-gradient chambers. Summer experiment was carried out from 11 July to 3 September, 2015 and autumn experiment was carried out from 23 August to 3 October, 2015 with Chinese yam line Enshikei 6 in the chambers. [CO₂] and air temperature were controlled independently in each temperature-gradient chamber. Two temperature-gradient chambers were used under two [CO₂] conditions: ambient (averaged 400 μmol mol⁻¹) and elevated (ambient [CO₂] + 200 μmol mol⁻¹ in daytime (0400 to 2030), averaged 600 μmol mol⁻¹). Each chamber was a naturally sunlit greenhouse. In each temperature-gradient chamber, two treatment plots were set along an air temperature-gradient: approximately ambient-temperature plot and high-temperature plot. Thus, in the experiments, Chinese yam was grown at ambient [CO₂] and elevated [CO₂] under approximately ambient- and high-temperature regimes in summer and autumn, separately. For comparison, rice was also grown under these conditions. Mean air temperatures in the approximately ambient- and high-temperature plots were respectively 24.1°C and 29.1°C in summer experiment and 20.2°C and 24.9°C in autumn experiment. In summer experiment, Chinese yam vine length, leaf area, leaf dry weight (DW), and total DW were significantly higher under elevated [CO₂] than ambient [CO₂] in both approximately ambient- and high-temperature regimes. Additionally, number of leaves, vine DW, and root DW were significantly higher under elevated [CO₂] than under ambient

[CO₂] in the approximately ambient-temperature regime. In autumn experiment, tuber DW was significantly higher under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] in the high-temperature regime. These results demonstrate that yam shows positive growth responses to elevated [CO₂]. Elevated-to-ambient [CO₂] ratios of all growth parameters related to size and weight in summer experiment were higher in Chinese yam than in rice. Analysis of variance revealed that elevated [CO₂] more strongly affected most growth parameters except for total DW in Chinese yam than in rice in summer experiment. The results suggest that the contribution of elevated [CO₂] is higher in Chinese yam than that in rice under summer conditions. Net photosynthetic rate in Chinese yam was significantly higher under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] in both temperature regimes in summer experiment and showed an increasing trend from ambient [CO₂] to elevated [CO₂] in autumn experiment. However, in rice, no significant differences in net photosynthetic rate were detected between ambient [CO₂] and elevated [CO₂] in summer and autumn experiments. These findings indicate that photosynthesis responds more readily to elevated [CO₂] in Chinese yam than in rice.

Secondly, to investigate the effects of elevated [CO₂] on the germination of seed bulbils and the seedling vigour of Chinese yam, two Chinese yam lines, Enshikei 6 and Shojikei, were used in this experiment in the temperature-gradient Chambers. Seed bulbils were sown at 4 June, 2016 and seedlings germinated from seed bulbils were grown until 9 July, 2016 under two [CO₂] levels, ambient (averaged 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) and elevated (ambient + 200 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ in day time (0400 to 2030), averaged 600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) and two mean air temperature conditions, 22.2°C and 25.6°C. The results showed that elevated [CO₂] did not affect bulbil germination of either Chinese yam lines. During the early growth stage, the DWs of leaves, vines, shoots, roots, belowground parts (roots + tubers) and whole plants were higher under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] for both Chinese yam lines under the approximately ambient- and high-temperature regimes. The values of vigour indexes (index I = germination % \times seedling length and index II = germination % \times seedling DW) were also higher under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] for both lines. These results indicated that Chinese yam seedlings respond positively to elevated [CO₂] during the early growth stage. The above:belowground DW ratios were lower under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] in seedlings with very small new tubers for both yam lines, indicating that elevated [CO₂] strongly affected the roots starting in the early growth stage. The DWs of post-treatment seed bulbils were higher with elevated [CO₂] than ambient [CO₂] under both temperature regimes. The results showed that Chinese yam seedling used a smaller amount of the reserves in seed bulbils under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] conditions. Therefore, the results show that elevated [CO₂] is a positive resource for seedling growth in the Chinese yam lines.

Thirdly, to investigate the effects of elevated [CO₂] on leaf morphology of these two Chinese yam lines under the same experiment conditions as described above in the “secondly” section, bright-field optical microscopy and transmission electron microscopy were used to observe the inner structure of leaf blade tissues and scanning electron microscopy was used to observe stomata density and size in yam leaf blade. The palisade layer was thicker under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] in both temperature regimes, and the whole yam leaf blade was thicker under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] in the approximately ambient temperature regime. The results indicated that elevated [CO₂] increased the yam leaf blade thickness by increasing the cell size of palisade tissues. The numbers of chloroplasts per palisade cell and spongy cell, the number of starch grains per chloroplast, profile area of the starch grain, and starch-to-chloroplast area ratio in both palisade and spongy cells were higher under elevated [CO₂] than under ambient [CO₂] in both temperature regimes. Furthermore, the stomatal density on the

abaxial side of the leaf blade in Chinese yam was greater under elevated $[\text{CO}_2]$ than under ambient $[\text{CO}_2]$ in both temperature regimes, and stomatal-pore length was higher under elevated $[\text{CO}_2]$ than under ambient $[\text{CO}_2]$ in the approximately ambient temperature regime. These results indicate that elevated $[\text{CO}_2]$ positively affects the photosynthetic apparatus and enhances photosynthesis. The results of this study provide important information and a possible explanation for the positive photosynthetic responses of Chinese yam to elevated $[\text{CO}_2]$ in our previous study.

To our knowledge, this is the first temperature gradient chamber study that investigated effects of elevated CO_2 concentration on growth and photosynthesis and morphology in Chinese yam. The study shows that elevated $[\text{CO}_2]$ increased the thickness of palisade layer and whole leaf blade, numbers of stomata, chloroplasts and starch grains in yam leaves. Consequently, elevated $[\text{CO}_2]$ enhanced the net photosynthetic rate. In addition, number of leaves and leaf blade area also increased with elevated $[\text{CO}_2]$. Thus, the results led to increase in yam plant DW, including tuber DW, under elevated $[\text{CO}_2]$ than under ambient $[\text{CO}_2]$. The knowledge on the effects of elevated $[\text{CO}_2]$ on growth, photosynthesis and morphology in Chinese yam presented in this study will contribute for understanding the characterization of responses to elevated $[\text{CO}_2]$ in yam and for yam production and breeding to make sustainable production in northern Japan under the climate change in the future.

大気中の二酸化炭素濃度(以下 $[\text{CO}_2]$ と記す)の上昇は、地球温暖化を引き起こす主要因として広く認識されている。これまで大気中の高 $[\text{CO}_2]$ がナガイモを含むヤマモ類に及ぼす影響については検証されていなかった。将来の環境変動下でのナガイモ生産に関して予測・検討する上で、ナガイモがどのように高 $[\text{CO}_2]$ に対して応答し、どのような機構でその応答がなされるのかを理解することは重要である。そこで、大気中の高 $[\text{CO}_2]$ がナガイモの生長、光合成および形態に及ぼす影響を明らかにすることを目的として本研究を実施した。

最初に、高 $[\text{CO}_2]$ がナガイモの生長と光合成へ及ぼす影響について調査した。ナガイモ系統園試系 6 を供試し、生長中期の植物体を夏期(2015 年 7 月 11 日～9 月 3 日)と秋期(2015 年 8 月 23 日～10 月 3 日)にグラディオトロンチャンバー内で次の 4 つの処理環境下で自然光を用いてポット栽培した。処理環境は(1)自然 $[\text{CO}_2]$ 区(平均約 $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$)+近自然気温区(夏期平均 24.1°C 、秋期平均 20.2°C)、(2)高 $[\text{CO}_2]$ 区(平均約 $600 \mu\text{mol mol}^{-1}$ from 4:00 to 20:30)+近自然気温区(夏期平均 24.1°C 、秋期平均 20.2°C)、(3)自然 $[\text{CO}_2]$ 区(平均約 $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$)+高気温区(夏期平均 29.1°C 、秋期平均 24.9°C)、(4)高 $[\text{CO}_2]$ 区 (平均約 $600 \mu\text{mol mol}^{-1}$ from 4:00 to 20:30)+高気温区(夏期平均 29.1°C 、秋期平均 24.9°C)とした。また、ナガイモの比較材料として水稻品種ひとめぼれも上記と同じ処理条件で栽培した。夏期では、茎長、葉面積、葉乾物重および全乾物重の値は、近自然気温区と高気温区において、自然 $[\text{CO}_2]$ 区よりも高 $[\text{CO}_2]$ 区で有意に高かった。葉数、茎乾物重および根乾物重の値は、近自然気温区で自然 $[\text{CO}_2]$ 区よりも高 $[\text{CO}_2]$ 区で有意に高かった。秋期では、塊茎乾物重が、高気温区で自然 $[\text{CO}_2]$ 区よりも高 $[\text{CO}_2]$ 区で有意に重かった。これらの結果から、ナガイモが高 $[\text{CO}_2]$ に対してポジティブな生長反応を示すことが実証された。また、上記全ての生長に関わる調査項目の結果の値において、自然 $[\text{CO}_2]$ 区に対する高 $[\text{CO}_2]$ の比率は、夏期ではイネよりもナガイモで高かった。更に夏期において高 $[\text{CO}_2]$ は、全乾物重を除く生長に関わる調査項目でイネよりもナガイモで強くポジティブに影響することが分散分析法により示された。ナガイモの純光合成速度は、夏期の両気温区において自然 $[\text{CO}_2]$ 区よりも高 $[\text{CO}_2]$ 区で有意に高く、秋期でも自然 $[\text{CO}_2]$ 区よりも高 $[\text{CO}_2]$ 区で有意差はないものの高くなる傾向が認められた。一方、イネでは夏期と秋期で自然 $[\text{CO}_2]$ 区と高 $[\text{CO}_2]$ 区との間に有意差は認められなかった。これらの結果は、イネよりもナガイモで光合成が高 $[\text{CO}_2]$ に対してポジティブな影響を強く受けることを示している。

次に、高 $[\text{CO}_2]$ がナガイモのむかごの発芽と幼植物体の生長へ及ぼす影響をナガイモ系統園試系 6 と庄司系を用いて調査した。グラディオトロンチャンバー内の次の 4 つの処理環境下で種イモ(むかご)を 2016 年 6 月 4 日にポットに植え付け、発芽により生じた植物体を自然光下

で同年7月9日までポット栽培した。処理環境は(1)自然[CO₂]区(平均約 400 μmol mol⁻¹)+近自然気温区(平均 22.2°C)、(2)高[CO₂]区(平均約 600 μmol mol⁻¹ from 4:00 to 20:30)+近自然気温区(平均 22.2°C)、(3)自然[CO₂]区(平均約 400 μmol mol⁻¹)+高気温区(平均 25.6°C)、(4)高[CO₂]区 (平均約 600 μmol mol⁻¹ from 4:00 to 20:30)+高気温区(平均 25.6°C)とした。むかご発芽率においては、近自然気温区と高気温区で自然[CO₂]区と高[CO₂]区との間に有意差は認められなかった。幼植物体では、葉、茎、シュート(葉+茎)、根、地下部(根+塊茎)および全植物体の各乾物重の値が、両気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。Vigor indexes (index I = 発芽率(%)×幼植物体長、index II = 発芽率(%)×幼植物体全乾物重)も、両気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。これらの結果から、ナガイモの生長は発芽後の生長初期においても高[CO₂]に対しポジティブに反応することが示された。地下部乾物重に対するシュート乾物重の割合は、自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に低かった。このことから高[CO₂]は生長初期において地下部に強くポジティブな影響をもたらすことが示された。上記処理後の種イモ(むかご)の乾物重は、両気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に重かった。この結果は、幼植物体による種イモ内貯蔵物質の消費量は自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で少ないことを示し、高濃度の CO₂がナガイモ幼植物体の生長に対してポジティブな資源となることを意味している。

次に、高[CO₂]がナガイモの葉身形態に及ぼす影響を調査するため、前段落で記した処理栽培で得られた植物体の完全展開葉を用い、明視野顕微鏡と透過型電子顕微鏡で葉身の内部構造を、気孔の大きさと存在密度を走査型電子顕微鏡で調査した。葉身を横断した際の柵状組織の厚さは、近自然気温区と高気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に厚く、これにより葉身の厚さは近自然気温区において有意に厚くなった。これらの結果から、高[CO₂]下では柵状組織が顕著に厚くなる特徴が示された。柵状細胞と海綿状細胞の横断面における各細胞当たりの葉緑体数、葉緑体当たりのデンプン粒数、デンプン粒の面積および葉緑体の面積当たりのデンプン粒の面積の割合、気孔密度の値は、両気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。気孔長径は、近自然気温区で自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に長かった。これらのことは、高[CO₂]は光合成に関わる構造的要素に対してポジティブに影響し、光合成速度を高めていると考えられた。

以上の研究は、大気中の高[CO₂]がナガイモの生長、光合成および形態に及ぼす影響を初めて示したものであり、得られた知見はナガイモの CO₂応答特性を理解し、且つ、将来の気象変動下でのナガイモ生産に関して予測・検討を行う上で価値あるものであると考えられた。

論文審査の結果の要旨

大気中の二酸化炭素濃度([CO₂])の上昇は、地球温暖化を引き起こす主要因として広く認識されている。将来の環境変動下でのナガイモ生産に関して予測・検討する上で、ナガイモがどのように高[CO₂]に対して応答し、どのような機構でその応答がなされるのかを理解することは重要である。そこで、大気中の高[CO₂]がナガイモの生長、光合成および形態に及ぼす影響を明らかにすることを目的として本研究が実施された。

まず、高[CO₂]がナガイモの生長と光合成へ及ぼす影響についてイネと比較し調査された。夏期では、ナガイモの茎長、葉面積、葉乾物重および全乾物重の値は、近自然気温区と高気温区において、自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。葉数、茎乾物重および根乾物重の値は、近自然気温区で自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。秋期では、塊茎乾物重が、高気温区で自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に重かった。これらの結果から、ナガイモが高[CO₂]に対してポジティブな生長反応を示すことが実証された。また、上記全ての生長に関わる調査項目の結果の値において、自然[CO₂]区に対する高[CO₂]の比率は、夏期ではイネよりもナガイモで高かった。ナガイモの純光合成速度は、夏期の両気温区において自然[CO₂]

区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。一方、イネでは夏期と秋期で自然[CO₂]区と高[CO₂]区との間に有意差は認められなかった。これらの結果は、イネよりもナガイモで光合成が高[CO₂]に対してポジティブな影響を強く受けることを示している。

次に、高[CO₂]がナガイモのむかごの発芽と幼植物体の生長へ及ぼす影響が調査された。むかご発芽率においては、近自然気温区と高気温区で自然[CO₂]区と高[CO₂]区との間に有意差は認められなかった。幼植物体では、葉、茎、シュート(葉+茎)、根、地下部(根+塊茎)および全植物体の各乾物重の値が、両気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。Vigor indexes も、両気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。これらの結果から、ナガイモの生長は発芽後の生長初期においても高[CO₂]に対しポジティブに反応することが示された。更に、高[CO₂]は生長初期において地下部に強くポジティブな影響をもたらすことが示された。上記処理後の種イモ(むかご)の乾物重は、両気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に重かった。この結果は、幼植物体による種イモ内貯蔵物質の消費量は自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で少ないことを示し、高濃度の CO₂ がナガイモ幼植物体の生長に対してポジティブな資源となることを意味している。

次に、高[CO₂]がナガイモの葉身形態に及ぼす影響を調査するため、葉身の内部構造、気孔の大きさと存在密度が調査された。葉身を横断した際の柵状組織の厚さが、近自然気温区と高気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に厚くなり、これにより葉身の厚さは有意に厚くなった。柵状細胞と海綿状細胞の横断面における各細胞当たりの葉緑体数、葉緑体当たりのデンプン粒数、デンプン粒の面積および葉緑体の面積当たりのデンプン粒の面積の割合、気孔密度の値は、両気温区において自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に高かった。気孔長径は、近自然気温区で自然[CO₂]区よりも高[CO₂]区で有意に長かった。これらのことは、高[CO₂]は光合成に関わる構造的要素に対してポジティブに影響し、光合成速度を高めていると考えられた。

以上の研究は、大気中の高[CO₂]がナガイモの生長、光合成および形態に及ぼす影響を初めて示したものであり、得られた知見はナガイモの CO₂ 応答特性を理解し、且つ、将来の気象変動下でのナガイモ生産に関して予測・検討を行う上で有益な学術知見であると判断した。本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

1. Thinh, N. C., Shimono, H., Kumagai, E., & Kawasaki, M. (2017). Effects of elevated CO₂ concentration on growth and photosynthesis of Chinese yam under different temperature regimes. *Plant Production Science*, 20(2), 227-236.
2. Thinh, N. C., Kumagai, E., Shimono, H., & Kawasaki, M. (2017). Effects of elevated CO₂ concentration on bulbil germination and early seedling growth in Chinese yam under different air temperatures. *Plant Production Science*, 20(3), 313-322.