

氏名	ハッサン エムディ ラキブル HASSAN MD RAKIBUL
本籍（国籍）	バングラデシュ人民共和国
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第 836 号
学位授与年月日	令和 5 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 生物生産科学専攻
学位論文題目	Impact of elevated temperature and CO ₂ on photosynthesis, phenology, fruit quality and growth of apple tree (気温と二酸化炭素濃度の上昇がリンゴ樹の光合成、発育、果実品質ならびに成長に及ぼす影響)
学位審査委員	主査 弘前大学教授 伊藤 大雄 副査 弘前大学准教授 田中 紀充 副査 岩手大学教授 下野 裕之 副査 山形大学准教授 池田 和生

論文の内容の要旨

The global atmospheric environment has changed dramatically since the era of the industrial revolution. Mean global temperature has raised by ~0.85 °C since 1880, and will rise further by 1.4- 4.4 °C by the end of this century. Moreover, the CO₂ concentration ([CO₂]) of the atmosphere will be doubled by the end of this century from the current 410 ppm.

Crop production, including apple, is receiving both positive and negative influences from the climate change. In general, short-term elevated [CO₂] substantially accelerates photosynthesis in C₃ plants since the current [CO₂] is insufficient to make rubisco activity saturate, and also rising [CO₂] competitively depresses the oxygenase activity of rubisco and in turn photorespiration. However, this photosynthesis acceleration is hardly fully realized due to the down-regulation of photosynthesis when plants are grown under long-term elevated [CO₂].

In addition, the elevated temperature has also caused the phenological changes of apple trees. Generally, high temperature advances the spring phenology whereas delays the autumn phenology, resulting in the extension of the growing period. This phenological changes may further influence the carbon cycle within the apple orchard ecosystem. Moreover, fruit quality of apple is greatly influenced by air temperature during the growing season. If the temperature at the growth stage raises higher than optimum, it will damage fruit quality in terms of soluble solid content, firmness and skin color.

This study was conducted to clarify the actual influence of future climate on apple production in Japan through the long-term experiment using field-grown trees. The whole experiment was conducted

in Aomori prefecture which produces 61% apple in Japan. Special attention was paid on down-regulation of leaf photosynthesis, dry matter production, phenology, and fruit quality changes.

Three environmentally controlled greenhouses (GH-A, GH-T, and GH-C) were used in this study. In GH-A, the atmospheric condition was kept the same as outside. In GH-T, the temperature was controlled to be always higher by 3 °C. In GH-C, air temperature was kept the same as in GH-T, while [CO₂] was kept higher by 150 ppm than ambient. Both GH-T and GH-C were controlled from March 15 to December 5, and during the remaining period they were subjected to snowfall. Six trees of ‘Tsugaru’ and ‘Fuji’, which are the representative early- and late-matured cultivar, 7-years-old in 2022, planted in each greenhouse with the spacing of 2 × 3 m, were used for experiment.

In Chapter II, I examined whether, to what extent, and why long-term elevated [CO₂] in GH-C down-regulates the photosynthesis efficiency of apple leaves. Photosynthesis down-regulation is routinely attributed to insufficient sink capacity. The apple tree is generally extremely sink-limited because more than 80% of fruits are thinned off for achieving commercial quality. Therefore, I conducted the measurement under different fruit load of 50 and 100 fruits tree⁻¹ (8.3 and 16.7 m⁻²) in two consecutive growing years of 2020 and 2021, respectively. Photosynthetic light- or CO₂-response curves, along with photosynthesis parameters in GH-T and GH-C, were measured in June, August, and October in both years.

The result revealed that photosynthesis down-regulation in GH-C occurred clearly only under low fruit load conditions. This down-regulation was not associated with stomatal limitation; however, it was a consequence of the reduction in Rubisco carboxylation activity and RuBP regeneration efficiency. In high fruit load conditions, the reduction in photosynthetic rate in GH-C was less pronounced, without showing significant differences in the biochemical parameters of photosynthesis. As a whole, photosynthesis down-regulation was not clearly detected in high fruit load condition. In spite of the down-regulation, the leaf photosynthetic rate measured under the prospected future climate condition in GH-C increased by 25% and 33% under low and high fruit load respectively, compared with the current condition.

In chapter III, I compared the fruit quality of ‘Tsugaru’ and ‘Fuji’ in three greenhouses during the harvest season in 2021 and 2022. Although the fruit quality during the fruit maturation period is important for growers to decide the harvesting date, most of the studies regarding fruit quality have been conducted using the tree grown under present climate condition. Harvesting schedule for GH-A was followed by the harvesting calendar of Aomori Prefecture, while the schedule for GH-T and GH-C was decided by the observation. The firmness and acid concentration of ‘Tsugaru’ in GH-T and GH-C decreased from earlier and faster than those in GH-A, whereas soluble solid and color rating increased with time later. Therefore, fruits of ‘Tsugaru’ in GH-T and GH-C seemed better to be harvested around 10 days earlier than those in GH-A. As the starch rating of ‘Fuji’ in GH-T and GH-C was minimum from the fruit sampling time, they could also harvest earlier

than that in GH-A. However, considering that firmness maintained and color rating continued to increase till late, 'Fuji' in GH-T and GH-C seemed better to be harvested around 5 days later than those in GH-A.

I also compared the fruit quality of 'Fuji' in three greenhouses during the preservation period in 2021-22. For the fruits cultivated under high temperature in GH-T, firmness and acid concentration were inferior to those in GH-A at the beginning, but were not inferior after 150 days of preservation. In contrast, for the fruit cultivated under high [CO₂] in GH-C, firmness was always inferior and acid concentration decreased more rapidly, when compared with those in GH-T.

In Chapter IV, I examined the dates of various phenological events in three greenhouses in 2020 and 2021. Result revealed that high temperature in GH-T accelerated bud sprouting and leaf emergence by 3-6 and 6-12 days, respectively when compared with the ambient temperature in GH-A. Similarly, the flowering and full-bloom dates in GH-T became earlier by more than 10 days. Defoliation in GH-T delayed compared to GH-A, thereby the growing season was extended conspicuously. High [CO₂] in GH-C trended to delay all phenological events slightly.

I also examined above-ground dry matter production and its distribution in three greenhouses in 2020 and 2021. High temperature in GH-T considerably increased the dry matter production in 2020, although a less increasing tendency was observed in 2021. The effect of elevated [CO₂] on dry matter production in GH-C was around 20 % when averaged over years and varieties. In this study, under low fruit load conditions in 2020, the largest part of the total dry matter was partitioned into shoots whereas it considerably reduced under high fruit load conditions in 2021. High temperature in GH-T conspicuously decreased the dry matter partitioning to fruit, and this partitioning ratio was hardly improved by high [CO₂] in GH-C. It's obvious from this study that a higher accumulation of total dry matter in GH-C may not be distributed to fruit. Dry matter partitioning to the leaf and trunk shows a declining tendency by increasing crop load and it tends to increase in high temperature and/or elevated CO₂.

According to this research, apple leaf photosynthesis, fruit quality, phenology and growth will be influenced variously by the changing climate condition. These knowledges will be valuable for apple grower for speculating the apple tree response to future environment and for making the strategy of cultivation.

世界の気候環境は産業革命を境に劇的に変化した。全球平均気温は1880年から約0.85℃上昇し、今世紀末までに更に1.4-4.4℃の上昇が見込まれている。また大気中のCO₂濃度も、現在の410ppmから世紀末には倍増すると見込まれる。

リンゴを含む作物栽培は、気候変動から正負両方向の影響を受けている。一般に、短期間のCO₂濃度上昇はC3植物の光合成をかなり促進させる。これは現在のCO₂濃度がルビスコのカルボキシラーゼ活性を飽和させるには不十分であり、加えて、CO₂濃度上昇が競合するルビスコのオキシダーゼ活性を、ひいては光呼吸を抑制するためである。しかし、植物が長期間高CO₂環境下で生育する場合、光合成の下方制御（ダウンレギュレーション）がおこり、上

記の光合成促進が完全に実現することは滅多にない。

気温の上昇もまた、リンゴ樹に生育の変化をもたらしてきた。一般に高温は春期の生育開始を早め秋季の生育停止を遅らせるので、結果的に生育期間の延長をもたらす。このような生育の変化は、リンゴ園生態系の炭素サイクルにまで影響を与える可能性がある。さらに、リンゴの果実品質も生育期間中の気温に大きな影響を受ける。仮に生育期間中の気温が最適値を超えて上昇すれば、糖度、高度、果皮着色などの果実品質が損なわれることになる。

本研究は、我が国のリンゴ生産が将来の気候によって実際にどのような影響を受けるのかを、圃場栽植樹を供試した長期間の実験を通して解明する目的のもと、我が国のリンゴの 61%を生産する青森県で実施された。本研究では、葉における光合成のダウンレギュレーション、乾物生産、植物季節（フェノロジー）と果実品質の変化に特に着目した。

本研究は、3棟の環境制御温室（A棟、T棟、C棟）を用いて実施された。A棟（対照棟）の大気環境は屋外と同一に維持された。T棟（高温棟）は、気温が屋外より常に3℃高く保たれるよう制御された。C棟（高CO₂棟）は、気温をT棟と同一に保つ一方、CO₂濃度が屋外より150 ppm 高くなるよう制御された。T棟、C棟共、制御は3月15日から12月5日まで実施され、残りの期間は積雪させるべく解放された。実験には各棟に6樹ずつ栽植されている代表的早生品種の‘つがる’と代表的晩生品種の‘ふじ’（2022年現在樹齢7年、栽植距離2×3 m）を供試した。

第II章では、C棟リンゴ葉において果たして光合成のダウンレギュレーションが見られるのか、それはどの程度顕著で、どのような原因で起こるのかを検討した。光合成のダウンレギュレーションはしばしばシンク能の不足によって引き起こされる。リンゴ樹は市場価値のある高品質果実を得るため80%以上の果実が摘果されるので、一般的には極端なシンク不足状態にある。そこで、2020年と2021年にそれぞれ着果強度を1樹当たり50果および100果（1m²当たり8.3果および16.7果）とし、異なる着果強度の下で2年にわたって実験を行った。両年とも6月、8月および10月に、T棟およびC棟リンゴ葉の光—光合成曲線あるいはCO₂—光合成曲線と、両曲線のパラメータを計測した。

その結果、C棟における光合成のダウンレギュレーションは、低着果条件下でのみ明瞭に認められた。このダウンレギュレーションは気孔閉鎖に起因するものでなく、ルビスコのカルボキシレーション活性ならびにRuBP再生産効率の低下に起因していた。高着果条件下では、C棟光合成の抑制は不顕著で、光合成の生化学的パラメータにも有意差が認められなかった。全体を通して高着果条件下での光合成のダウンレギュレーションは不明瞭であった。C棟の光合成速度は、ダウンレギュレーションは起こるものの、T棟に比べて低着果および高着果条件下でそれぞれ25%および33%増加した。

第III章では、2021年と2022年の収穫期における‘つがる’と‘ふじ’の果実品質を3棟間で比較した。果実成熟期間中の果実品質は、生産者が収穫日を決定するのに重要であるが、果実品質に関する研究のほとんどは、現在の気候下で栽培された果実を供試したものである。A棟の収穫スケジュールは青森県の基準に従ったが、T棟およびC棟の収穫スケジュールは観察をもとに決定した。その結果、‘つがる’では、T棟とC棟における硬度と酸含有量がA棟より早期から急速に低下し、糖度と果皮着色は遅れて増大した。従ってT棟とC棟の‘つ

がる’は、A 棟より 10 日ほど早く収穫すべきと思われた。‘ふじ’では、T 棟と C 棟果実のデンプン指数が最初のサンプリング日から最低まで下がっており、A 棟果実より早期の収穫が可能であった。しかし、硬度が遅くまで保持され糖度が経時的に上昇することを考慮すれば、T 棟と C 棟の‘ふじ’は A 棟より 5 日程度遅らせて収穫すべきと思われた。

2021-22 年の果実貯蔵期間中の‘ふじ’の果実品質についても、3 棟間の比較を行った。高温下で栽培された T 棟果実では、硬度と酸含有量が貯蔵開始時期には A 棟果実より劣っていたが、貯蔵 150 日目には同等のレベルとなった。これに対して高 CO₂濃度で栽培された C 棟果実では、硬度は常に T 棟果実より劣り、酸含有量の低下速度も T 棟より速かった。

第IV章では、2020 年と 2021 年に 3 棟における様々な植物季節現象の期日を調査した。その結果、T 棟の高温は A 棟の常温と比較して萌芽日と開葉日をそれぞれ 3-6 日および 6-12 日早めた。開花日と満開日も 10 日以上早まった。一方落葉日は A 棟より遅れたため、生育期間が著しく延長された。C 棟の高 CO₂濃度は、全ての植物季節現象をわずかに遅らせる傾向がうかがえた。

地上部の乾物生産量とその分配についても 2020 年と 2021 年に 3 棟で調査した。その結果、T 棟の高温は 2020 年にはかなりの乾物生産の増大をもたらした。しかし 2021 年の増大は 2020 年より少なかった。高 CO₂濃度は、年次・品種を平均すれば C 棟の乾物生産量を約 20%増大させた。本研究では、低着果強度の 2020 年には最大量の乾物が枝に分配されたが、高着果強度の 2021 年にはその分配量が激減した。高温の T 棟では果実への分配率が著しく減少し、高 CO₂の C 棟でもほとんど改善されなかった。これより、C 棟での高い乾物蓄積が、そのまま果実に分配されないことが明らかにされた。葉や幹への乾物分配率は着果強度の増大に伴い低下する傾向を示したが、この傾向は高温あるいは高 CO₂濃度でより顕著であった。

本研究によれば、リンゴ葉の光合成、果実品質、生育、成長は気候変動下で様々な影響を受けることが考えられる。本研究で得られた知見は、リンゴ生産者が、将来想定される環境に対するリンゴ樹の反応に思いをめぐらせ、栽培戦略を策定する際に有益であろう。

論文審査の結果の要旨

本研究は、我が国のリンゴ生産が将来の気候によってどのような影響を受けるのかを、圃場栽植樹を供試した長期間の野外実験を通して実証的に解明する目的のもと、A 棟（対照棟）、T 棟（高温棟：屋外気温+3℃）、C 棟（高温高 CO₂棟：屋外気温+3℃かつ屋外 CO₂濃度+150ppm）の 3 棟の環境制御温室を用いて実施された。実験には各棟に 6 樹ずつ栽植されている‘つがる’と‘ふじ’（樹齢 7 年、栽植距離 2 × 3 m）を供試した。

第II章では、C 棟リンゴ葉において光合成のダウンレギュレーションがどの程度顕著に見られ、どのような原因で起こるのかを、異なる着果強度の下で 2 年にわたって検討した。その結果、C 棟における光合成のダウンレギュレーションは、低着果条件下でのみ明瞭に認められた。このダウンレギュレーションは気孔閉鎖でなく、ルビスコ活性ならびに RuBP 再生産効率の低下に起因していた。高着果条件下では、C 棟光合成のダウンレギュレーションは不顕著

で、光合成の生化学的パラメータにも棟間で有意差が認められなかった。

第Ⅲ章では、‘つがる’と‘ふじ’の収穫適期を解明するため、経時的に収穫した果実の品質を3棟間で比較した。実験は2021年と2022年に実施した。その結果、T棟とC棟の‘つがる’では、硬度と酸含有量がA棟より早期から急速に低下したことなどから、A棟より10日ほど早く収穫すべきと思われた。‘ふじ’では、T棟とC棟において果実のデンプン指数から判断すれば早期の収穫も可能と考えられたが、硬度が遅くまで保持され糖度が経時的に上昇することを考慮すれば、A棟より5日程度遅らせて収穫すべきと思われた。さらに、2021-22年の果実貯蔵期間中の‘ふじ’の果実品質を3棟間で比較した。高温下で栽培されたT棟果実は、硬度と酸含有量が貯蔵開始時期にはA棟果実より劣っていたが、貯蔵150日目には同等のレベルとなった。

第Ⅳ章では、3棟における様々な植物季節現象の起日を比較し、T棟の高温処理は萌芽日や開花日を10日程度早め、落葉日を遅らせるため、生育期間が著しく延長されることなどを明らかにした。更に地上部の乾物生産量とその分配についても2年間にわたり3棟間で比較した。T棟の高温は乾物生産量を20%増大させ、C棟の高CO₂濃度は乾物生産量を更に19%増大させた。しかし果実への乾物分配率は高温処理で激減し、高CO₂処理でもほとんど回復しなかった。そのためC棟における果実への乾物分配量はA棟と同程度であった。

以上の結果は、将来の高温・高CO₂環境下におけるのリンゴ樹の発育、物質生産、果実生産力や果実品質について有益な新知見を提供するものであり、今後の適切な温暖化適応策・影響緩和策の策定に寄与するものと言える。よって本審査委員会は、「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. Md Rakibul Hassan and Daiyu Ito, 2023: Down-regulation of photosynthesis in apple leaves under elevated CO₂ concentration: a long-term field study with different fruit load. *Journal of Agricultural Meteorology*, 79(1), 49-57.