

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18713

研究課題名(和文) 葉緑体光定位運動の改変による針葉樹の生産性向上

研究課題名(英文) Enhancement of plant biomass production in conifer trees by altering chloroplast movement

研究代表者

後藤 栄治 (Gotoh, Eiji)

九州大学・農学研究院・助教

研究者番号：90614256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：光合成の場である葉緑体は、光によって細胞内の位置を変える。また、葉緑体の局在変化を人工的に改変することで、植物の生産性は向上する。そこで本研究では、苗木生産に時間のかかる針葉樹を対象として、葉緑体の局在を改変することで、苗木の生産効率が上昇するか調べた。その結果、スギ、ヒノキにおいて、葉緑体の局在を変化させることで、実生苗の生産性が向上することが分かった。

研究成果の概要(英文)：Chloroplast is a major organelle of photosynthesis. Chloroplasts move in a cell response to light. Light-induced chloroplast movement enhances plant biomass production in herbaceous plants. In this study, I focus on the conifer trees, and investigated to enhance their plant biomass by altering chloroplast movement. Consequently, I found that plant biomass of seedlings in *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa* was increased with changing chloroplast intercellular localization.

研究分野：植物生理学

キーワード：針葉樹 生産性向上 葉緑体光定位運動

1. 研究開始当初の背景

葉緑体光定位運動とは、光合成の場となる葉緑体が、周囲の光環境に応じて最適な光合成を行うために細胞内を移動する現象のことである。葉緑体は、弱光下では光受容を最大にするため葉の表面側に集まり(集合反応)、強光下では直射光を避けて細胞の縁に移動する(逃避反応)。逃避反応を欠損させた変異株(常に集合反応を示す個体)は、直射日光を長時間浴びると枯死することから、強光下で安全に光合成を行うために葉緑体の逃避反応は不可欠な反応である。一般的に、光を浴びている日中のほとんどの時間、植物の葉緑体は細胞の縁に局在し、集合反応はごく限られた弱光下でしか起こらない。

申請者は、集合反応を欠損した変異株(常に細胞の縁に葉緑体が局在する個体)と逃避反応を欠く変異株(常に葉の表面に葉緑体が局在する個体)を使用し、葉緑体光定位運動が光合成および成長に与える影響を野生株(正常な個体)と比較した。その結果、集合反応を欠く変異株は、弱光下でも葉緑体が細胞表面に移動できないため、光の受容効率が著しく低下するため、光合成活性が低下し、顕著な成長阻害が引き起こされた。この結果から、葉緑体集合反応は弱光下での植物の生育に重要な生理反応であることを申請者は明らかにした。一方、逃避反応を欠く変異株は、通常の光強度の範囲(葉緑体にとって有害とならない範囲)内で野生株より光合成活性が高いことを、モデル植物をもちいて発見していた。

2. 研究の目的

申請者は最近、植物の成長に葉緑体光定位運動が大きく影響することを見出し、この運動を人工的に改変することにより植物の成長を促進できることをモデル植物で明らかにした。

本知見を針葉樹に応用することにより、苗木生産の効率化につながることを期待されるが、針葉樹の葉緑体光定位運動に関する情報は皆無である。そこで本研究では、我が国の主要な造林樹種である3種の針葉樹における葉緑体光定位運動の基礎的知見を蓄積するとともに、得られた知見を基に苗木の生産効率を向上できるかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本申請研究では本国の重要な造林樹種を用いて下記の3課題を実施し、針葉樹の葉緑体光定位運動改変による植物生産性向上の可能性について解明を試みた。

課題1. 葉緑体光定位運動の分析系の構築: 赤色光の透過率を指標にして、葉緑体光定位運動の変化をハイスループットに解析する系を構築する。

課題2. 部位および葉齢別の葉緑体光定位運動の評価: 集合反応と逃避反応を誘導する光の質と量を確定し、葉齢や部位によって葉緑体光定位運動の能力が変化するか明らかにする。

課題3. 葉緑体光定位運動による光合成効率の制御: 光の質と量を変化させることによって人工的に集合反応を誘導し、光合成活性を指標に針葉樹の生産性向上の可能性を評価する。

4. 研究成果

○課題1. 葉緑体光定位運動の分析系の構築

葉緑体運動の観察は顕微鏡を用いることが主であるが、本研究ではサンプル数が大量になるため顕微鏡による観察は不向きである。そこで、ハイスループットに解析できる分析系を新たに構築した。過去の報告から、葉緑体運動の変化により赤色光の透過率が変化することが報告されている。光合成に有効な赤色光は葉緑体に吸収されるため、細胞内の葉緑体の位置によって透過する赤色光の量は変化する。つまり、同じ強さの光を照射したとき、葉緑体が細胞の上面または下面に局在していれば(集合反応)葉緑体が光を吸収するため透過率は減少し、細胞の縁に局在していれば(逃避反応)葉緑体による光の吸収が少ないため透過率は上昇する。吸光度をハイスループットに測定するために、マイクロプレートリーダーを用い、光源は熱を出さないLEDと組み合わせた。さらに、測定中の温度変化と外部からの光を遮断するために、恒温インキュベータを用いた。

作製した測定装置の解析深度を調べるために、モデル植物のシロイヌナズナを用いて既報と比較した。その結果、本研究で作製した測定装置は、既報のものに比べて解析深度が優れていることが分かった。

課題2. 部位および葉齢別の葉緑体光定位運動の評価

初年度はどの光(波長)を照射することで葉緑体光定位運動が誘導されるかを確定した。葉緑体光定位運動は青色光によって誘導される。しかし多くの藻類、コケ、シダ植物では、赤色光も有効である。系統学的に古い裸子植物はシダ植物と同様に赤色光によっても葉緑体光定位運動が誘導される可能性がある。

そこで、スギ、ヒノキ、コウヨザンの実生を用いて、それぞれ弱青色光、弱赤色光、強青色光、強赤色光を照射した葉における葉緑体の配置を表皮細胞を通して蛍光顕微鏡で観察した。

次年度は、個体全体の針葉において葉緑体運動の能力がどう変化するのか、あるいは変化しないのかを明らかにした。本研究で使用する針葉樹は常緑であるため、当年葉と旧年葉が存在する。そのため、葉の部位および

葉齢によって葉緑体運動の能力が変化することが予想された。そこで、個体のあらゆる部位を採取し、部位や葉齢により葉緑体運動が変化するか解析した。この解析には、検体数が大量になるため、小課題 1 で構築した分析系を用いた。

実際の測定では、さまざまな葉齢および針葉部位からサンプリングし、部位および針葉ごとの透過率の変化を解析した。透過率の変化を数分ごとにプレートリーダーで記録することで、葉緑体運動の時間経過を追跡できるので、集合反応および逃避反応における透過率の変化が飽和するまでの時間、透過率の変化、葉緑体運動の速度などを測定した。得られた集合反応の速度と逃避反応の速度から、個体の針葉着生部位および葉齢間で葉緑体運動能力に差があるのかを調べた。その結果、3種の成木の生葉にて、顕著な葉緑体運動は観察されなかった。一方、age の若い実生にて、顕微鏡観察の結果と同様に葉緑体運動がみられた。

課題 3 . 葉緑体光定位運動による光合成効率の制御 :

小課題 の解析結果から明らかとなった葉緑体運動が活発な部位、実生を以後サンプルとして用い、青色光の光強度を変えながら、集合反応と逃避反応が誘導される光強度を確定した。

次に、青色光の光強度に応じて起こる葉緑体の分布変化と光合成への影響を評価した。まず十分な赤色光で光合成をさせると同時に青色強光で逃避反応を誘導した後、弱い青色光を照射して集合反応を誘導し、単位葉面積あたりの光合成量の変化をガス交換法(CO₂の吸収量)によって解析した。対照実験として、集合反応を誘導した青色光と同じ強さの赤色光を照射したときの CO₂の吸収量を測定し、青色光照射時の CO₂吸収量から対照の CO₂吸収量を差し引くことによって、葉緑体光定位運動の光合成量を評価した。その結果、葉緑体の局在変化に依存した光合成変化と思われる差が生じたが、有意差があるか統計すると、有意傾向であるため、明瞭な結果は得られなかった。

光合成の測定は比較的短時間で行うため、僅かな差が検出できない可能性を考慮し、生育実験で検証することにした。具体的には、LED ライトを用いて、光合成が飽和するのに十分な強さの赤色光に集合反応を誘導させる弱青色光または逃避反応を誘導する強青色光を組み合わせた葉緑体の運動を制御する光環境のもとで、実生苗の成長量を評価した。その結果、スギとヒノキの実生において、葉緑体運動の改変に伴うバイオマスの増加が確認できた。

以上のように、本研究の狙い通り、針葉樹の実生において、葉緑体運動を改変することにより、生産性が向上することが示唆された。

今後更なる解析および検証を通して、社会への情報発信に努めたい。

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 2 件)

‡ Suetsugu, N., †T. Higa, †E. Gotoh, and M. Wada, Light-induced movements of chloroplasts and nuclei are regulated in both cp-actin-filament-dependent and -independent manners in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS ONE*, June 16, 2016. (査読あり)

‡: These authors contributed equally to this work.

Ishishita, K., N. Suetsugu, Y. Hirose, T. Higa, M. Doi, M. Wada, T. Matsushita, and E. Gotoh Functional characterization of blue-light-induced responses and PHOTOTROPIN 1 gene in *Welwitschia mirabilis*. *J. Plant Research* 129:175-187, 2016. (査読あり)

[学会発表](計 2 件)

石下和宏、後藤真朋、末次憲之、比嘉毅、和田正三、後藤栄治：青色光受容体フォトトロピンの機能分化は裸子植物で既に起きていた，第 128 回日本森林学会，2017 年 3 月，鹿児島．
学生ポスター賞受賞

後藤栄治、井上晋一郎、大岩基康平、島崎研一郎、土井道生：CAM 植物における青色光依存の気孔開口，第 80 回日本植物学会，2016 年 9 月，沖縄．

[図書](計 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 栄治 (GOTOH EIJI)

九州大学・大学院農学研究院・助教

研究者番号：90614256

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()