

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22770032

研究課題名（和文） 葉のサイズと葉脈の機能的統合を実現する生理学的メカニズムの解明

研究課題名（英文） Physiological regulations of co-ordinated development between leaf lamina and leaf venation

研究代表者

種子田 春彦（TANEDA HARUHIKO）

東京大学・大学院理学系研究科・助教

研究者番号：90403112

研究成果の概要（和文）：本研究は、タバコの葉における、葉身と葉脈木部の発達が植物ホルモンのオーキシジンとサイトカイニンを介して連動していることを明らかにした。こうした生理機構の下、葉脈の道管木部の形態は、流域面積によってよく説明できること、切除実験が示すように道管の直径はそのときの流域面積に強く影響を受けていることがわかった。これらの関係は複雑な葉脈ネットワークの水輸送機能を推定する上で非常に重要な知見である。

研究成果の概要（英文）：This study indicates that the developments of leaf lamina and leaf-venation xylem were integrated via phytohormone, auxin and cytokinins. These physiological regulations led to the tight correlations of the number and diameter of xylem to the distal leaf area.

交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2011年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 2012年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総計     | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |

研究分野：生物学

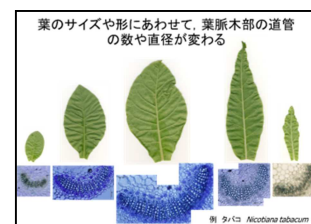
科研費の分科・細目：基礎生物学，植物分子生物学・生理学

キーワード：植物ホルモン・成長生理・全能性

### 1. 研究開始当初の背景

陸上植物は乾燥した空気に囲まれて生活しているため、常に体内の水が蒸発散によって失われている。特に葉は表面積が大きく、葉における水収支の安定は生存や光合成生産にとって重要な問題になる。これに対して、葉脈が葉脈内にある維管束内の道管で水を

輸送することにより、葉身の隅々にまで水を供給して葉での水収支を支えている。葉脈による水輸送能力は維管束内の道管の数、直径によって決まる。このため、効率



的な水輸送を実現するためには、蒸発散を行う葉面積に合わせた道管の数や直径の調節が必須である。これまでの研究から、若い葉の周縁部でオーキシンが高濃度にたまり、葉脈の形成層を通して葉の基部方向へと極性輸送されることが報告されている。茎の形成層では、オーキシンが道管の直径や数を制御している可能性が示唆されている。そこで、若い葉におけるオーキシンの流れは、オーキシンの生成場所である葉身と道管を作る葉脈の形成層を繋ぎ、葉面積と木部道管の形態との適切な関係性の構築するための重要なシグナルとして働いている可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究は、オーキシンが葉の発生過程において葉身と葉脈の間で相互作用を仲介することによって、葉面積に応じた水輸送能力を持つ葉脈木部の形態が構築されるという仮説を立てた。この仮説を検証するために、(1) 展葉時における葉身面積と主脈と側脈における道管の直径と数の経時変化を詳述した。そして、両者の相互作用が起きるタイミングを明らかにするとともに、形成層での分裂速度や道管分化に要する時間を推定した。(2) 展葉中の若い葉から葉身の一部を切除し、葉の成熟後の葉面積と葉脈木部の形態を観察した。もしも葉身で生成される物質が重要であれば、切除処理によって葉身面積が減少した部分では葉脈で作られる道管は直径が細く数も少なくなるはずである。最後に、(3) 展葉中の若い葉で、葉身と主脈木部における植物ホルモン濃度を測定し、葉身と葉脈木部の相互作用に關与する植物ホルモンを明らかにすることを目指した。

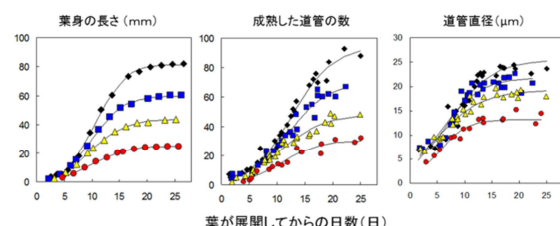
## 3. 研究の方法

すべての測定には、タバコ (*Nicotiana*

*tabaccum* L. 'Petit Havana') を用いた。植物は、グロースチャンパー (温度 23°C、光強度 330  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、日長 14 時間明期) で生育させ、2000 倍稀釈のハイポネックスを毎日与えた。(1) 葉身と葉脈の発生過程は、葉のサイズの違いによる影響と一枚の葉の中の位置の影響を明らかにするため、第 2 葉から第 5 葉の主脈木部と、第 5 葉の主脈と側脈の 4 箇所ずつをそれぞれ採集した。採集したサンプルは、FAA で固定して樹脂包埋し、2.5  $\mu\text{m}$  の厚さで切片を作製し、光学顕微鏡で観察した。(2) 葉身の切除処理では、最終的に約 85 mm にまでなる第 5 葉で葉長が 10 mm 程度になるときに主脈全体が残るように葉身の一部を切除した。切り口は、ラノリンを塗布した葉と、ラノリンにオーキシンを混ぜて塗布した葉を用意して、切除効果に対するオーキシンの効果を見た。葉が成熟した後、主脈の基部の木部を観察した。(3) 植物ホルモンの定量では第 5 葉を用いて解析を行い、葉の最終長の 20%, 50%, 90% にまで達した葉で、主脈の基部と葉身を採集して、理化学研究所・環境科学資源センターの榊原研究室で分析を依頼した。

## 4. 研究成果

葉身の面積の拡大と主脈木部の発達ほぼ同期的に行われていた。第 2 葉から第 5 葉では、葉身面積は約 4 倍、道管数は約 3 倍、道管直径は約 2 倍、異なっていた。詳細な観察の結果、こうした葉身面積と道管の数と直径の違いは、発生にかかる時間ではなく、そ

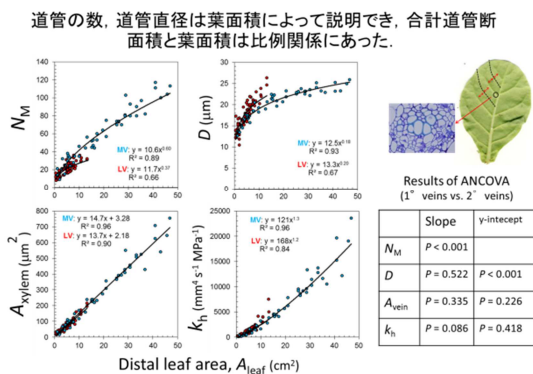


葉面積の異なる4枚の葉における葉身の長さや道管の数、直径の経時変化。  
●: 第2葉、▲: 第3葉、■: 第4葉、◆: 第5葉を示す。

それぞれの増加速度によって説明できることが明らかになった。

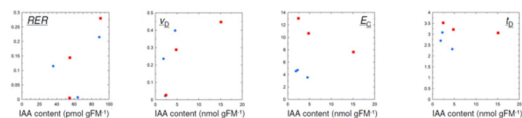
また、葉内の主脈と側脈においても同様の解析を行った。そして、維管束内の道管の数と直径が流域葉面積に合わせて作られることを明らかにするために、葉内での分布とその発生の仕方を測定した。道管数、道管直径は、その葉脈が水を輸送する部分の面積（以下、流域面積と呼ぶ）と正の関係となり、べき関数によってよく回帰することができた。葉脈維管束での合計道管断面積と流域面積とは非常によい比例関係を持っていた。さらに、主脈と側脈について葉内の異なる4カ所で、流域面積と道管の発生過程を測定した。その結果、流域面積、道管数と道管直径では葉内での値の差はいずれも変化速度によって生じていることがわかった。また、葉の発生の初期に葉身を切除した葉が成熟したときの流域面積と道管数、道管直径の関係は、主脈における葉面積と道管数の関係以外は、無処理の葉と同様の関係になっていることが明らかになった。以上の結果から、道管数と道管直径は流域面積に合わせて作られていることが明らかになった。

さらに、タバコ (*Nicotiana tabacum* L. 'Petit Havana') の第3葉と第5葉を用いて、葉身と葉脈の木部の発達に対する植物ホルモンの影響を調べた。発生初期(葉長 15 mm)、発生中期(葉長 45 mm)、発生後期(葉長 90 mm) の3回に分けて主脈基部 2-3 mm 片を

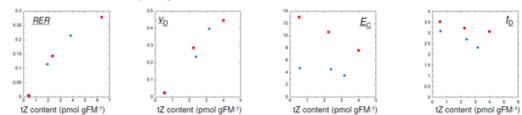


複数個体から切り出して、主要な植物ホルモンであるオーキシン、サイトカイニン、ジベレリン酸、アブシジン酸など測定した。同時に、木部にある全細胞数（成熟道管+未成熟道管）、成熟した道管の数、放射方向の道管細胞列の数の時間変化から形成層における分裂速度と道管への成熟日数、道管直径の増加速度を計算し、これらの値とホルモン濃度の関係を調べた。その結果、葉面積と形成層における分裂速度の変化は、サイトカイニンの分子種のひとつであるトランスゼアチン濃度によって非常に良く説明された。分裂速度の変化は、同様にジベレリン酸やオーキシンとも高い相関関係があった。しかし、道管直径の増加速度については、有意な相関関係を示す植物ホルモンはなかった。さらに、発生の初期に葉身を切除した植物にオーキシンとサイトカイニンを与えた結果、主にオーキシンに応答して細胞数と道管直径の両方が増加した。

● Because IAA content was not different largely between 17d and 27d for both leaf lamina and midrib xylem, any developmental variables were not correlated with IAA content.



● IZ content was related highly to RER and  $v_0$  even in a pool data of leaf 3 and leaf 5. In addition, IZ content tended to be related negatively to  $E_c$  and  $t_0$  although they were different between leaf 3 and leaf 5.



葉身と木部の性質と植物ホルモンの関係。オーキシン (IAA, 上)・サイトカイニン (IZ, 下)と葉の相対伸長速度 (RER)、形成層の木部細胞の分裂速度 ( $v_0$ )、伸長速度 ( $E_c$ )、道管の分化時間 ( $t_0$ ) の関係。

以上の結果から、タバコの葉における、葉身と葉脈木部の発達が植物ホルモンのオーキシンとサイトカイニンを介して連動していることが明らかになった。また、葉脈の道管木部の形態は、流域面積によってよく説明できること、切除実験が示すように道管の直径はそのときの流域面積に強く影響を受けることがわかった。これらの関係は複雑な葉脈ネットワークの水輸送機能を推定する上で非常に重要な知見である。さらには、古く

から枝内の茎と葉で観察されている茎の断面積とその先につく葉面積の合計が正比例の関係にあるという現象を発生観点からその必然性に迫ることを可能にするだろう。

#### 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)

① Haruhiko Taneda, Masaki Tateno, Leaf lamina conductance contributes to an equal distribution of water delivery in current-year shoots of kudzu vine shoot, *Pueraria lobata*. *Tree Physiology* 誌、2012 年、査読有、31 巻、782-794. doi: 10.1093/treephys/tpr072

② Haruhiko Taneda, Ichiro Terashima, Co-ordinated development of the leaf midrib xylem with the lamina in *Nicotiana tabacum*. *Annals of Botany* 誌、2011 年、査読有、110 巻、2012、35-45. doi: 10.1093/aob/mcs102

[学会発表] (計 4 件)

① 種子田春彦、葉におけるパイプモデル—葉身と葉脈の発生から構造まで—、日本生態学会第 59 回大会 2012 年 3 月 20 日、龍谷大 (瀬田市)

② Haruhiko Taneda, Mikiko Kojima, Sakakibara, Hitoshi, Ichiro Terashima. Physiological regulation of midrib-xylem characteristics against leaf-lamina size in a tobacco leaf: application and test of six-point hypothesis, Minneapolis, US, 2011 年 8 月 10 日, Annual meeting of American Society of Plant Biologist.

③ 種子田春彦、葉の発生過程から葉脈における Murray の法則の成立を考える。日本生態学会第 58 回大会 2011 年 3 月 9 日、札幌コンベンションセンター (札幌市)

④ 種子田春彦, 寺島一郎. タバコの葉では主脈木部における道管の数と直径がいつ決

まるのか? 日本植物学会 第 74 回大会  
2010 年 9 月 10 日、中部大 (春日市)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

種子田 春彦 (TANEDA HARUHIKO)  
東京大学・大学院理学系研究科・助教  
研究者番号: 90403112

##### (2) 研究協力者

寺島 一郎 (TERASHIMA ICHIRO)  
東京大学・大学院理学系研究科・教授  
研究者番号: 40211388

榊原 均 (SAKAKIBARA HITOSHI)  
理化学研究所・環境資源科学研究センター・グループディレクター  
研究者番号: 20242852