

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580228

研究課題名(和文) 樹木のみが獲得した多様な光合成制御の分子機構とその機能解析

研究課題名(英文) Specific mechanisms and functions of photosynthesis regulation in only tree plants.

研究代表者

柴田 勝 (Shibata, Masaru)

山口大学・教育学部・准教授

研究者番号：30300560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：樹木のみが獲得した環境適応能力を明らかにするために、草本植物6種、木本植物4種の色素組成、熱放散、光応答について調べた。反応中心では α -カロチンが β -カロテンと置換する割合が大きい樹木葉は lutein-epoxide 存在比率が高い傾向にあった。さらに、樹木では草本植物に一般的に見られる熱放散機構のキサントフィルサイクル(Xan cyc)に依存したNPQが、暗夜において明らか非依存的に変化していた。このXan cyc依存しないNPQ変化の機能を明らかにするために、各葉の光応答性を詳しく調べたが、暗夜での高DPSが有利には働いておらず、また、lutein cycleも関与していなかった。

研究成果の概要(英文)：In order to discover tree specific adaptations to environmental stresses, light responses of pigment composition, energy dissipation and photosynthesis were demonstrated in 6 herbaceous and 4 tree plants. Tree leaves with high ratio of α carotene in total carotenes of reaction center showed higher concentration of lutein-epoxide. Furthermore, NPQ, chlorophyll fluorescence parameter, were observed as a function of Xan cycle dependence in light conditions, while NPQ varied independent on Xan cycle in the dark as tree specific responses. To elucidate physiological functions in the Xan cycle-independent NPQ changes, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, pigments, protein complexes of leaves were analyzed in detail in tree and herbaceous plants. From obtained results in the presence studies, we showed interrelation of lutein cycle, carotene replacements and Xan cycle-independent NPQ varies, but it was impossible to determine physiological function of the tree specific cycle.

研究分野：樹木生理学

キーワード：樹木生理 光合成 色素変化 樹木特異的環境応答 カロチン

1. 研究開始当初の背景

樹木の枯死は森林の衰退や砂漠化を招くと共に大気 CO₂ の濃度バランスを崩す原因となる。このために半乾燥地域などの環境条件の厳しい生育不良地域においても光合成活性が低下せず、成長可能なストレス耐性能力の高い早生有用樹種の必要性が指摘されている。このためにポプラやユーカリなどの林木への耐性付与として、活性酸素を消去する酵素などを過剰発現させた遺伝子組換えが行われてきた。しかし、多くの組換え植物では代謝が攪乱され、ストレス耐性等の期待した成果は得られていない。このために、植物の単一機能の強化のみではなく、多種多様なストレス（マルチストレス）に関与する遺伝子群の解析、生態学的な適応などを併せ持つ複合的な応答によるストレス耐性機構の解明が行われている。

しかし、樹木の永年性や葉の長寿命などの樹木に見られるストレス耐性機能についてはほとんど分かっていない。このことから、樹木に特異的な環境応答の違いについて調べられ、その中で樹木の葉内では草本植物にはほとんど見られない色素（ α -カロチン、ルテインエポキシド(Lx)）を中心に8種類のカロチノイドが協調的に環境ストレスに応答することが、申請者により示されてきた。これらの樹木特異的な環境応答としての色素変化を中心に、草本植物には見られない樹木特異的な環境応答を明らかにすることで、樹木の永年性、要寿命の長さ、光合成の特性について分子機構やその機能について解き明かすことができる。

2. 研究の目的

生育環境の急激な変動に対して樹木は、草本植物にはない多種多様な環境ストレスに対するマルチ分子機構が存在すると考えられているのが、その詳細な研究はあまり行われていない。これは、樹木の世代交代が遅く、葉が硬いなど研究を行う上で取扱いが難しいために、代謝生理の基礎的データが極端に不足している。その中で申請者は、樹木には草本植物とは明らかに異なる光合成の環境適応機構が複数存在していることを示してきた。本申請では、5種類の樹木特異的な環境応答（4種類の色素サイクルと1種類の光利用効率制御因子）について、個々の機能・生理を明らかにすると共にこれらを相互に関連付けることで、樹木が生き残るために備えた特異的な環境適応機構を解き明かすことを目的とした。

本研究では、平成26年度までに樹木特異的な反応によりストレス耐性機構を明らかにすることを目的としている。このために、光合成に対して4種類の【色素サイクル】+1種類の【光利用効率制御の未知因子】計5種類の樹木特異的な応答機構について、色素分析、クロロフィル蛍光、内部コンダクタンス、タンパク質解析（スーパーコンプレックス解析、サブユニット解析を含む）により機能・生理を

明らかにし、それらを相互に関連付けることで樹木のみが持つ適応機構を解き明かす。

3. 研究の方法

樹木葉は草本植物には見られない α -カロチンを中心に季節的に全色素の50%以上を変化させる。これは、4種類の色素サイクルの内、2種類の色素サイクル【反応中心の色素置換】、【カロチノイド相互変換】の組成変化が関与している。受光した光のエネルギーが光合成や熱などに分配される割合を調べるために、クロロフィル蛍光測定装置(PAM-2100, FluorCam)を用いてチャノキ、青森ヒバ、モミ、カキのNPQ(熱成分)、 Φ_{PSII} (PSII量子収率)、ETR(電子伝達速度)、Fv/Fm(最大光合成量子収率)、open Φ_{PSII} (利用可能なPSIIの量子収率)、qL(PSII第一次電子受容体redox)、excess(障害指標)を測定し、光合成制御を中心に解析する。残り2種類のサイクル【Lxサイクル】、【緩慢なVioサイクル】は同一酵素により触媒されると考えられるが、草本と樹木ではその反応速度や基質特異性が大きく異なる可能性がある。光合成に利用できない過剰な光の散逸機構を示すために、「Lxサイクル」と「緩慢なVioサイクル」による蛍光クエンチング(光利用効率の低下)を調べ、樹木特異的な色素変換が光合成へ与える影響を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 光環境条件が「暗→明→暗」となった場合、「暗→明」「明」「明→暗」「暗」の4条件を経ることになる。この時の光化学系II(PSII)のQ_Aの酸化還元状態とNPQおよびDPSの関係に注目し、測定を行った。

一般的に、照射後の数時間の暗の中では葉片のNPQが解消されNPQ=0となり、DPS=0となることが知られている。実際にホウレンソウでは、照射後の2時間暗処理によりNPQ、DPS共に低下していた。しかし、*C. sinensis*では、2時間の暗処理においてNPQが低下しているにも関わらず、DPSは変化しないか、逆に増加していた(図1)。

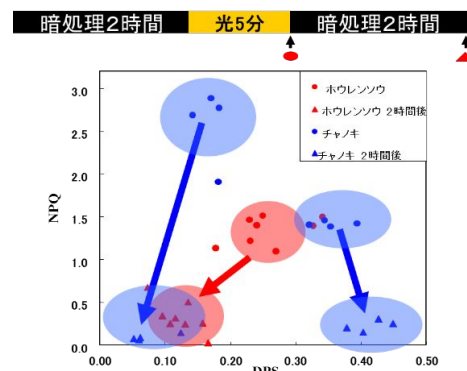


図1. 木本植物と草本植物の照射後の暗処理によるDPS変化, (A) 草本 *S. oleracea*, (B) 樹木 *C. sinensis*, Ave \pm SE, n=6

これは、陸上高等植物の NPQ の主成分が DPS であることに矛盾している。この現象が、樹木に特異的であるか調べるために草本植物 6 種 (*Gerbera hybrida*, *Viola wittrockia*, *Antirrhinum majus*, *Primula polyantha*, *Common sorrel*, *Taraxacum officinale*)、樹木 4 種類 (*Camellia sinensis*, *Camellia japonica*, *Acer buergerianum*, *Lex rounda*) で同様な実験を行った。その結果、草本植物では、NPQ と DPS がともに同じ変化を示すのに対して、樹木では、図 1 と同様に草本植物とは大きく異なっていた (図 2)。

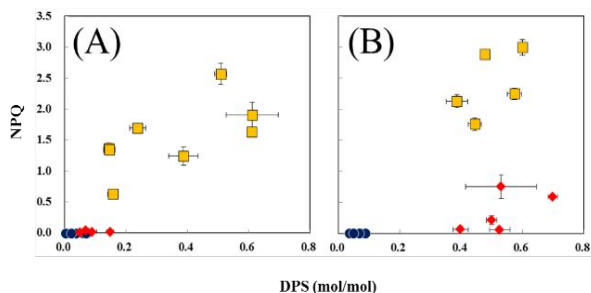


図 2. 木本植物と草本植物の光照射後の暗処理による DPS 変化 (A) 草本植物 6 種, (B) 木本植物 4 種 Ave±SE, n=6

樹木特異的な反応である「明→暗」条件下での DPS に依存しない NPQ 変化は、光照射中でも非依存的かを調べるために、光強度を変化させた時の *V. wittrockia*, *C. sinensis* の NPQ, DPS 測定を行った (図 3)。

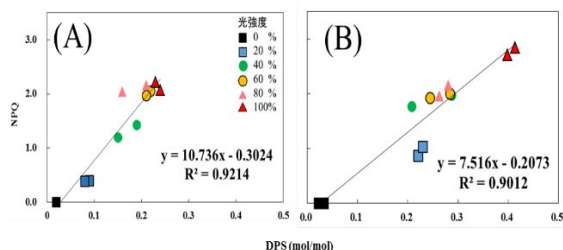


図 3. 光合成が定常状態での DPS が NPQ に与える影響 (A) *V. wittrockia*, (B) *C. sinensis*, Ave±SE, n=6

このために、 Q_A の還元速度および再酸化速度の測定を行った。その結果、*S. oleracea* および *C. sinensis* の再酸化速度は 0.072 ± 0.003 ($\mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$), 0.079 ± 0.003 ($\mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$) であり同程度であった。また、各 NPQ 成分の割合は *S. oleracea* で $qE=76 \pm 3$, $qT=10 \pm 1$, $qI=15 \pm 2$, *C. sinensis* で $qE=78 \pm 4$, $qT=7 \pm 1$, $qI=15 \pm 2$ であり、大きな違いは見られなかった。しかし、明から暗条件に変化させた直後に、草本・樹木ともに NPQ と DPS が低下するのに対して、樹木は暗 50 秒後に DPS の上昇が見られ、その後低下・上昇を繰り返した。

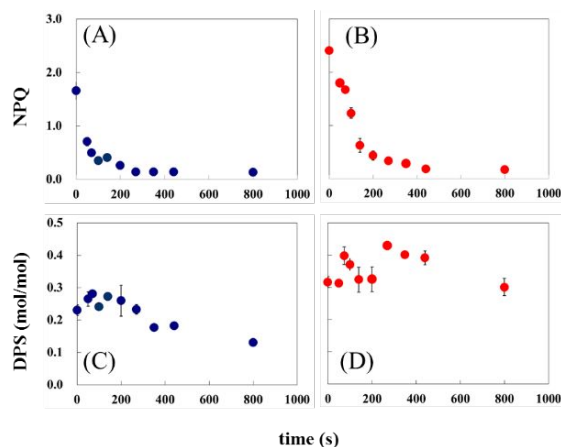


図 4. 明条件から暗条件へと変化した時の DPS と NPQ の経時変化 (A) & (C) *V. wittrockia*, (B) & (D) *C. sinensis*, Ave±SE, n=6

この樹木特異的な暗中でも NPQ に依存しない DPS のパイプレーションや光照射後の遮光 3 時間後も高 DPS を維持している生理的意義として、再び光を受けた時の NPQ の初期誘導の促進が考えられる。このために、12 時間暗処理をしたものと、12 時間暗処理後、5 分間光照射し 3 時間暗処理をしたものの DPS と NPQ の経時変化を計測した (図 5)。

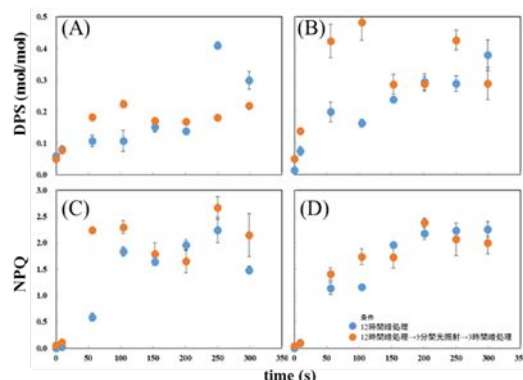


図 5. 明条件から暗条件へと変化した時の DPS と NPQ の経時変化 (A) & (C) *V. wittrockia*, (B) & (D) *C. sinensis*, Ave±SE, n=6

草本植物と木本植物の DPS を比較したところ、光照射開始 0~10 秒では差はみられず、木本植物における 3 時間遮光直後の高 DPS はみられなかった。50~100 秒間では草本植物も木本植物も共通して 3 時間遮光をした DPS の方が高 DPS を示していた。このことから、一度光照射を受けた後の条件では草本植物でも木本植物でも 50 秒以降に高 DPS を誘導することができる可能性が示唆された。草本植物と木本植物の NPQ を比較したところ、0~10 秒では差がみられなかったのに対し、50 秒以降では草本植物の 3 時間遮光後の NPQ が

12時間遮光後と比べて増加していた。しかし、木本植物では12時間遮光したものと3時間遮光したものではNPQの誘導に差はなかった。これらのことから、今回の結果において、木本植物の高DPSの生理的意義としてNPQの初期誘導の促進の可能性は否定され、樹木特異的なNPQ非依存の暗中之でのDPS変化が、どのような機能を示すかを明らかにするまでには至らなかった。

山口大学・教育学部・准教授
研究者番号：30300560
(2)研究分担者
野口 航(NOGUCHI, Ko)
東京大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号：80304004

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1件)

Masaru Shibata and Yuuji Shimada,
Simultaneous analyses of oxidized and reduced forms in photosynthetic quinones by high-performance liquid chromatography with slight modifications., In “Plant isoprenoids”, ed. Manuel Rodriguez-Concepcion, *Methods in Molecular Biology*, vol. 1153, 99-113, 2014.
(査読あり)

[学会発表](計4件)

柴田勝, 齋藤博章, 宮内啓, 木下江莉奈, 谷友和, 「色素に依存しない樹木特異的なNPQ変化」, 日本植物学会第79回大会, 2015. 9. 7. 朱鷺メッセ(新潟県新潟市)(申込済)

柴田勝, 塚本昂也, 荒木英樹, 真野純一, 堺田輝貴, 中園健太郎, 吉岡哲也, 久保田 朗, 「新しい定量的樹勢診断法の開発2. 半年先の茶園の収量予測は可能か?」, 日本茶学会 2014年度年会, 2014. 11. 20. おりなす八女(福岡県八女市).

塚本昂也・柴田勝・荒木英樹・真野純一・1)堺田輝貴, 「新しい定量的樹勢診断法の開発1. 幼木でのアロメトリーと成長相関解析」, 日本茶学会 2014年度年会, 2014. 11. 20. おりなす八女(福岡県八女市).

橋本良二・川人玲子・白旗学・星比呂志・柴田勝, 「複層林ヒバ下木の光合成色素の量的組成から見た適正相対照度」, 東北森林科学会第17回大会, 2012. 8. 23. 秋田県生涯学習センター(秋田県秋田市).

[その他]

柴田勝, 「ケヤキ並木の保全と景観形成」, けやきの風, 2014-15年冬号

6. 研究組織

(1)研究代表者

柴田 勝 (SHIBATA, Masaru)