

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450019

研究課題名(和文)ダンチクの高光合成機能の解明

研究課題名(英文)Analysis of the high photosynthetic ability of Arundo donax L.

研究代表者

和田 義春(WADA, YOSHIHARU)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：80201268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ダンチク(Arundo donax L.)がC3植物であるにもかかわらず光合成能力が高い理由は、電子伝達能力や炭酸固定効率が高いことと気孔の制約度が小さいことが関与していた。また、光合成に関わるクロロフィル、ルビスコおよび窒素といった葉内成分の単位葉面積あたり含量が高かった。ダンチクは葉が厚く単位葉面積当たり多くの光合成組織を持つことで葉内成分含量が高まったと考えられた。これらのダンチクの持つ特性は、C3型光合成の改善に寄与すると考えられた。ダンチクはイネ同様極めて高い湛水抵抗性を持っており、また作物の中で耐塩性が高いとされているオオムギに比べても相当に高い耐塩性を有することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：High photosynthetic ability of Arundo donax L. was found to be related to the high electron transport rate and high carboxylation efficiency and low stomatal limitation. Chlorophyll and rubisco contents were also high, which were related to high leaf thickness. These characteristics were thought to be useful to improve C3 photosynthetic ability of many crop plants. Arundo donax L. was found to have very high flood tolerance as rice, and very high salinity tolerance as barley.

研究分野：作物学

キーワード：ダンチク 光合成能力 Arundo donax L. A-Ci クロロフィル蛍光 Rubisco 耐塩性 耐湿性

1. 研究開始当初の背景

地球人口は70億を超え今後も増加が予想され、食料およびエネルギー消費量の増大に答えていく必要があり、食用作物の多収化や高いバイオマス生産を持つ資源作物の開発が必要である。このためには、作物の光合成能力の向上と光合成機能の環境耐性の強化が必要である。

ダンチュク (*Arundo donax* L.) は、世界中に分布する多年生イネ科草本である。ダンチュクは C_3 型光合成を行う植物の中で 20~30t/ha の極めて高いバイオマス生産をもつとされ (Lewandowski *et al* 2003), 最近ヨーロッパ特に地中海地方でセルロース系バイオエタノール原料作物として注目されている (Angelini *et al* 2004, Cosentino *et al* 2005)。ダンチュクの光合成についての報告は数少ないが、 C_3 型光合成を行うにもかかわらず、 C_4 型植物並みの高い光合成能を有するという報告もある (Rossa *et al* 1998)。しかし、その要因について葉の構造と機能の面から詳細に検討したものは未だない。そこで、ダンチュクの高い C_3 型光合成機構を解明し、高光合成能力に関わる形質を導入することができれば、イネ、コムギ、ダイズなど C_3 型光合成を行う主要な作物の光合成能力の向上に貢献できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

ダンチュクは、アジア原産で通常は種子を付けないとされ、根茎で繁殖し、我が国へは海流に乗って沿岸部に漂着し、関東から沖縄まで分布する (長田 1993)。ダンチュクは沿岸部に群落を形成することから、湿害や塩害に強い性質を持つ可能性がある。バイオマスエネルギー作物には、食用作物の栽培に不適な土地での栽培が期待され、高いバイオマス生産能力と不良環境適応性が求められる。この点からダンチュクの光合成機能の耐塩性や耐湿性の評価と関与する要因の解析が求められる。最近、小林らにより我が国のダンチュクの遺伝資源の収集が行われたが (小林ら 2007)、光合成能力の評価は未だなされていない。本研究では、収集されたダンチュク遺伝資源について光合成能力を評価し、 C_3 型光合成を行う主要な作物の飛躍的な収量の向上や資源作物に必要な不良環境適応性の向上に寄与できる形質の発見を目指す。

3. 研究の方法

(1) ガス交換特性による光合成能力の評価

わが国のダンチュク5系統 (海士、双海、口之津、波佐間、知念) と欧州系統4系統 (サンディエゴ、マルセイユ、クレタ、クロアチア) の計9系統と比較の対照として、 C_3 植物のイネ (品種タカナリ) と C_4 植物のトウモロコシ (品種ハニバンタム) を園芸培土 ($N-P_2O_5-K_2O$; 2.0-17.5-1.85 g) を詰めた 1/2000a ポットで栽培した。ガス交換特性の測定には、携帯型光合成・蒸散測定装置

LI-6400 を用い、標準条件 (光合成有効放射 $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 大気 CO_2 濃度 $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$, 葉温 $28-30^\circ\text{C}$, 飽差約 1.2 kPa) 下での光合成速度 (P_n), 気孔伝導度 (g_s), 水利用効率 (WUE) を比較するとともに、 $A-C_i$ 曲線と光 光合成曲線を調査した。

(2) クロロフィル蛍光による光合成能力の評価

クロロフィル蛍光測定器 (JUNIOR-PAM, Waltz) を用い、30分暗処理後の F_v/F_m 値および actinic light $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の定常条件下の ETR , $Y(II)$, NPQ などのパラメータを測定した。

(3) 光合成関連葉内成分含量

葉身のクロロフィル含量を Schmid (1971) の方法で測定した。葉身の可溶性タンパクは、 $50\text{mM Tris-HCl (pH7.5)}$, 0.2mM EDTA-2Na , 2.5mM MgCl_2 , 5mM DTT で抽出し、可溶性タンパク含量は Bradford 法により定量した。Rubisco 含量は、 12.5% ポリアクリルアミドゲルを用い、SDS 電気泳動を行って分離した Rubisco の LSU を CBB 染色して定量した。葉身 N 含量は、乾燥サンプルを用い、ワンダーブレンダーで粉碎後、NC アナライザー (SUMIGRAPH NC-22F) で定量した。

(4) 光合成関連の形態形質

気孔密度と孔辺細胞長は、レプリカ法により、葉の向軸面と背軸面について顕微鏡撮影し、計測した。維管束間距離、維管束鞘間距離および葉の厚さは、葉身の横断切片を作成して顕微鏡撮影し、計測した。

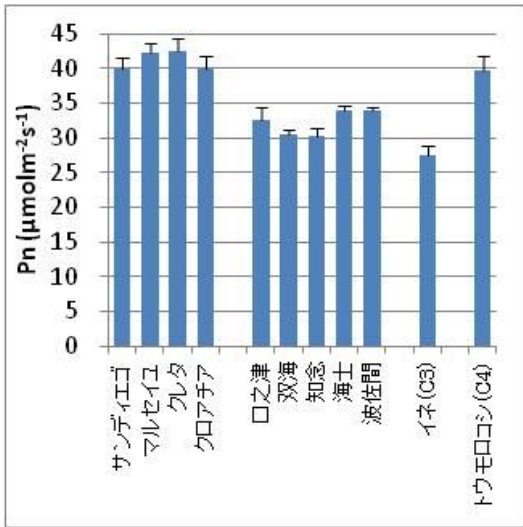
(5) 耐塩性と耐湿性の評価

ダンチュク日本系統口之津と欧州系統サンディエゴおよび対照としてイネ (品種タカナリ), オオムギ (品種ミノリムギ) を供試して実施した。塩分処理は、 3% 食塩水 5L を灌水することにより行い、湿害処理は、ポットに栓をして湛水状態とした。耐塩性と耐湿性を評価する指標として葉のクロロフィル蛍光 (30分暗処理後の F_v/F_m) 値 ($Os-30P$, OPTI-SCIENCES) と葉緑素値 (SPAD502, MINOLTA) の推移を処理後7日間調査した。

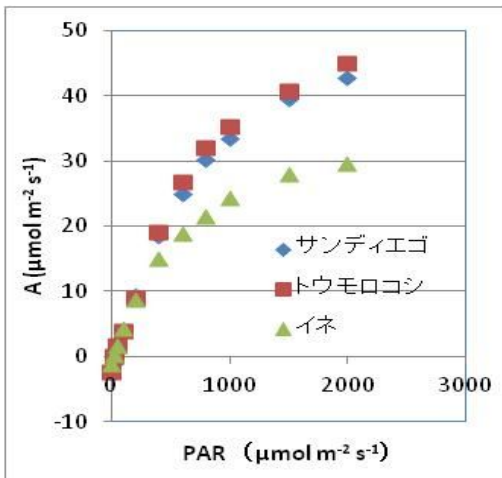
4. 研究成果

(1) 光合成ガス交換特性

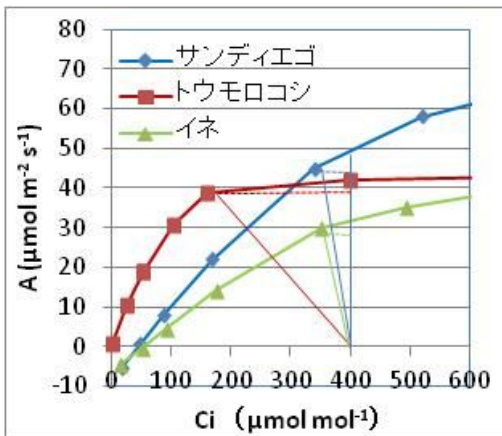
標準条件下での P_n は、ダンチュクの欧州系統が $40 \sim 43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ と C_4 植物のトウモロコシ $40 \pm 4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ と有意差がない高い値を示し、日本系統は $30 \sim 34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とトウモロコシよりは有意に低かったが、 C_3 植物のイネ $28 \pm 3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ よりは有意に高いという結果を得た。ダンチュクの気孔伝導度 (g_s) は、 C_3 植物のイネと有意差が見られなかったが、欧州系統はやや高い値をとった。ダンチュクの光合成の水利用効率 (WUE) も C_3 植物のイネと有意差が見られなかった。



第1図 標準条件下での光合成速度



第2図 光 - 光合成曲線



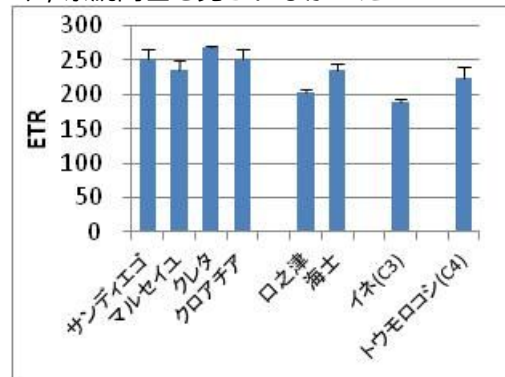
第3図 A - Ci 曲線

ダンチュク系統はいずれも CO_2 補償点が $40 \sim 50 \mu\text{mol mol}^{-1}$ で典型的な C_3 植物の値であり、光呼吸の抑制は見られなかった。以上の結果は、Rossa *et al* 1998 の結果と一致し、さらにダンチュクの中に光合成能力の系統間差が存在することを見出した。その要因について、光合成を詳細に検討したところ、ダンチュクのみかけの量子収率と炭酸固定効率は C_3 植物であるイネより有意に高く、トウモロコシと

イネの中間の値をとった。また、A - Ci 曲線から $\text{Ci}400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ の A と標準条件の A を比較して Stomatal Limitation を求めると、ダンチュクはイネより低いことが判った。さらに、ダンチュクは CO_2 飽和下の最大光合成速度がイネやトウモロコシの約 1.5 倍と極めて高いという特徴があった。

(2) クロロフィル蛍光

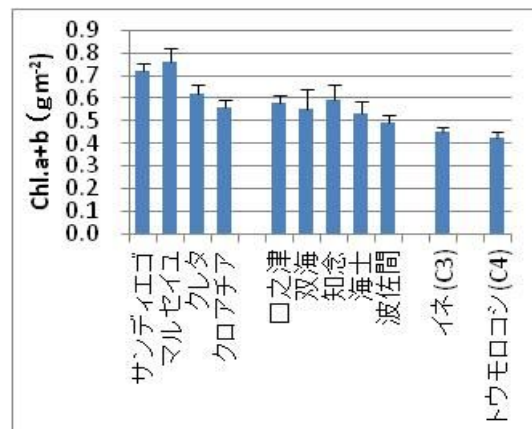
Fv/Fm は C_3 植物イネの方が C_4 植物のトウモロコシより有意に高かったが、ダンチュクは両者の中間の値であり、系統間差も見られなかった。actinic light $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 下の蛍光パラメータをみると、ETR は、 C_4 のトウモロコシの方が C_3 のイネより有意に高かったが、ダンチュク欧州系統はトウモロコシより有意に高い系統もあり、Pn の高い系統は ETR も高い傾向にあった。NPQ は、 C_4 のトウモロコシの方が C_3 のイネより有意に高かったが、ダンチュクは C_3 のイネと有意差はなく、系統間差も見られなかった。



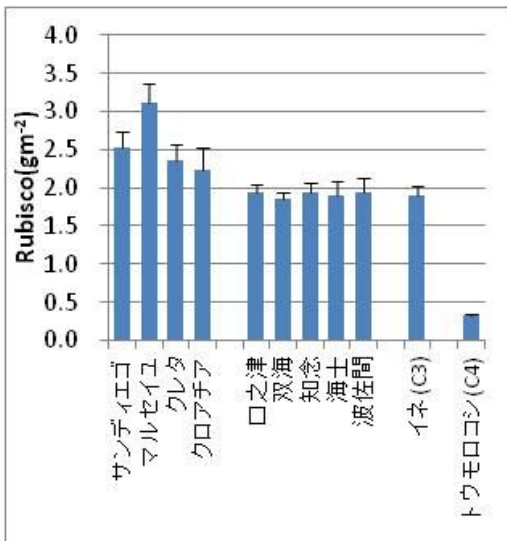
第4図 actinic light $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の ETR

(3) 光合成関連葉内成分含量

ダンチュクのクロロフィル、可溶性タンパク、Rubisco および窒素含量は、 C_3 植物のイネや C_4 植物のトウモロコシより高い傾向にあり、特に欧州系統では高かった。しかし、クロロフィル当たりの Pn, Rubisco 当たりの Pn および N 当たりの Pn は、ダンチュクとイネでほぼ同一の値を取った。したがって、ダンチュクの Pn が高い要因は、葉面積当たりクロロフィルや Rubisco 含量が多いことによっていた。



第5図 クロロフィル含量



第6図 Rubisco 含量

(4) 光合成関連の形態形質

ダンチクの気孔密度 (SF) の系統間差は小さく、向軸面で 150~200mm²、背軸面で 230~300 mm² とトウモロコシよりは多く、イネよりは少ない値であった。ダンチクの孔辺細胞長 (SL) は欧州系統が 45±0.5μm で日本の系統 36~38μm より大きく、トウモロコシより小さくイネより大きい値であった。SF×SL で比較すると、ダンチク欧州系統はイネとほぼ等しい値 10000μm² であったのに対し、日本系統は 10-20% 小さかった。ダンチクの維管束間距離は、日本系統約 250μm、欧州系統約 320μm とトウモロコシやイネに比べて著しく大きい値であった。ダンチク日本系統の葉の厚さは 180~200μm でイネやトウモロコシとほぼ同一の値であったが、ダンチク欧州系統は約 350μm と非常に厚いことが判った。以上の結果から、ダンチク特に欧州系統の高い Pn には、単位断面あるいは単位葉面積当たり多くの光合成組織を持つことが関与していると考えられた。



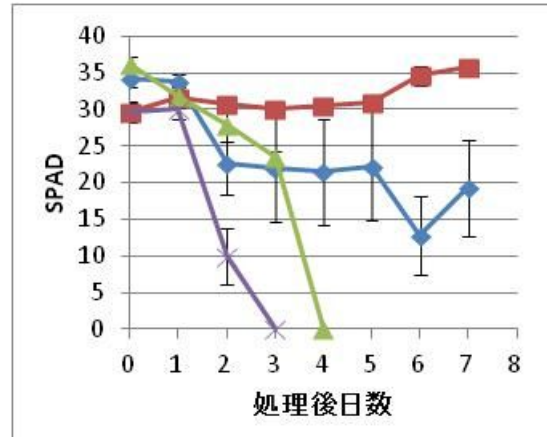
第7図 ダンチク サンディエゴの横断面

(5) 耐塩性と耐湿性の評価

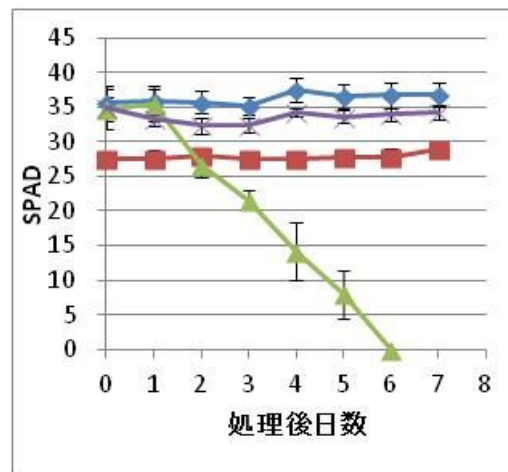
3%食塩水灌水処理により、イネが塩処理後1日目から Fv/Fm や葉緑素値 (SPAD 値) が低下し、オオムギも 3~4 日目から低下したのに対して、供試したダンチクの2系統 口之津とサンディエゴは処理後7日間高い値を維持した。このことから、ダンチクは、オオムギに比べて相当に高い耐塩性を持つと

判断された。ダンチク2系統のうち、日本系統の口之津では塩処理後3日目より下位葉から黄化が始まったが、欧州系統のサンディエゴでは処理後7日目まで下位葉の黄化は見られなかったことからダンチク系統間に耐塩性の品種間差があることが判った。

湛水処理下でオオムギは葉緑素値が2日目から、Fv/Fm 値が4日目から低下し、顕著な湿害を示した。一方、イネとダンチクの2系統は、湛水後7日間、Fv/Fm 値と葉緑素値の低下がみられず、ダンチクはイネ同様湛水抵抗性を持つことが判った。今後、そのメカニズムの解明が期待される。



第8図 塩処理に伴う SPAD 値の推移
サンディエゴ, 口之津, オオムギ, +イネ



第9図 湛水処理に伴う SPAD 値の推移
サンディエゴ, 口之津, オオムギ, +イネ

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0件)

〔学会発表〕(計4件)

和田義春, 高溝正, 小林真, 岡田広樹, 岩出早綾, 小平桃江, 2015. ダンチク (*Arundo donax* L.) の耐塩性と耐湿性の評価, 日本作物学会第240回講演会, 2015年9月5日,

信州大学（長野キャンパス）.

和田義春，高溝正，小林真，森田匠人，森川あかね，2014 .ダンチク(*Arundo donax* L.) 葉の気孔密度，孔辺細胞長，維管束間距離および葉の厚さについて，日本作物学会第 238 回講演会，2014 年 9 月 9 日，愛媛大学（城北キャンパス）.

和田義春，高溝正，小林真，森川あかね，2014 . ダンチク (*Arundo donax* L.) 葉の光合成特性と葉内成分の関係，日本作物学会第 237 回講演会，2014 年 3 月 30 日，千葉大学（西千葉キャンパス）.

和田義春，高溝正，小林真，森田匠人，森川あかね，2013 .ダンチク(*Arundo donax* L.) の葉の光合成特性，日本作物学会第 236 回講演会，2013 年 9 月 10 日，鹿児島大学（郡元キャンパス）.

〔図書〕(計 0 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

和田 義春 (WADA YOSHIHARU)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：80201268