

令和元年6月16日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14759

研究課題名(和文) 果実の光合成装置の特殊性

研究課題名(英文) Peculiarity of photosynthetic machinery in fruits

研究代表者

園池 公毅 (Sonoike, Kintake)

早稲田大学・教育・総合科学学術院・教授

研究者番号：30226716

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：植物は、葉以外の器官でも、緑色をしていれば光合成の活性をもつものが多い。実際に多くの果実表面は葉に匹敵する光合成を行なう。一方で、光の弱い果実内部も緑色である場合の光合成の意義は、不明であった。本研究では、そのような果実内部の光合成を、複数のマメ科植物の果皮において比較した結果、莢の中の豆が葉とは異なる特徴を持つ光合成の能力を持つことを明らかにした。そのような特徴は、果実の発達の特定の時期にのみ見られるものではなく、また、莢の中の光環境の影響を直接的に受けるものではない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

科学が高度に専門化され、タコ壺化する傾向が強い現代において、本課題は、高校生でも発するような素朴な疑問を追いかけた研究である点に特徴がある。素朴な疑問を素朴な手法で解析するだけでは、単なる夏休みの自由研究になってしまうが、本研究では、素朴な疑問を最新の解析手法を用いて解析しており、得られた結果を一般向けに解説することにより、科学研究の本来の面白みを伝えていけると考えている。

研究成果の概要(英文)：Plant green organs are capable of photosynthesis, even if they are stems or fruits. Although the surface of many fruits showed high photosynthesis rates comparable of those of leaves, physiological significance of these activity is not clear. In this study we characterize photosynthesis of surface of beans in three different legume species. We showed that the photosynthesis of beans are unusual ones. Those characteristics are not restricted to the specific stage of development and not directly affected by the light environments.

研究分野：植物生理学

キーワード：光合成 マメ科植物 果実 光環境 発生 電子伝達 クロロフィル蛍光測定 酸素電極

1. 研究開始当初の背景

植物の生育を支える光合成は主に葉で行なわれるが、茎や萼といった葉以外の緑色部でも光合成の活性が見られる。果実に関しても、特に未熟なものでは多くの植物において表面が緑色をしており、光合成の活性が認められる(引用文献1)。一方で、このような果実の一部は、表面だけではなく、断面も緑色である場合がある。このような果実内部においては、侵入する光の量は極めて限られると予想されるため、そこに何らかの生理的な意義があるのかどうかについては、過去の議論も分かれていた。果実内部が緑色である場合、その色素がクロロフィルであることは知られていたが、そもそも、活性をもつ光合成装置が形成されているのか、また、形成されていた場合、それは葉の光合成装置と同じものなのか、そして、その光合成活性は、果実の成長にとって何らかの意味を持っているのか、といった諸点に関しては、ほとんど何も知見が得られていなかった。

2. 研究の目的

上記のように、環境の光量が極めて低いと考えられる果実の内部組織も緑色である場合があるが、そもそも入射する光が極めて限られる内部における光合成の適応的意義については明確でない。そこで、われわれは、そのような内部組織の光環境と光合成の状態をそれぞれ明らかにし、内部光環境と光合成の状態に何らかの関係が存在するのかどうかを明らかにすることを旨として研究を進めることとした。予備的な解析の結果、このような果実内部の緑色組織の光合成装置においては、極めて弱い光で光合成が飽和し、光化学系の最大量子収率が低いなどの光合成特性が見られ、通常の葉とは異なることが見出された。そこで、本研究では、果実の光合成の特性を解明し、さらにはその特質が、果実内部の光環境とどのようにかかわっているのかを明らかにすることを目的として研究を行なうこととした。

3. 研究の方法

まず、研究の対象とする植物材料としては、果実の表面と内部の光合成を比較しやすいマメ科の果実(莢)を選んだ。通常の果実では、表面からの深度を一定にして果実の断面を解析することは単純ではないが、莢の場合は、莢の表面(=果実の表面)と中の豆の表面(=種皮であり果実の内部)を再現性良く比較することができる。さらに、莢の透過性が大きく異なるソラマメ、インゲン、スナップエンドウの三種の植物を比較することにより、光合成装置の違いが、果実内部の光環境とどのような関係にあるのかを明らかにすることとした。また、光合成の解析には、非破壊的な測定が可能であり、莢のように複雑な形状の試料においても問題なく測定ができるクロロフィル蛍光測定に加えて、チラコイド膜を単離しての解析を行なうことにより、光合成の特性を複数の観点から解析した。クロロフィル蛍光測定装置については、主にWalz社のPAM 2500とDual PAMを用い、チラコイド膜の活性測定には、酸素電極Oxygraphを用いた。また、低温蛍光スペクトル測定には、日本分光のFP-8500に特注の低温蛍光測定用ユニットをつけて用い、莢の透過率の測定には、日本分光のV-650に積分球をつけて用いた。

4. 研究成果

(1) 植物材料の選択と種間差の解析

本実験課題の開始以前の予備実験においては、主にソラマメを植物材料として用い、果実(莢)の表面の光合成を種皮(豆の表面)の光合成と比較することにより、通常環境において光を受けている果実の表面の光合成は、葉の光合成と基本的には変わらない一方で、通常は莢に包まれた環境におかれている種皮の光合成は極めて特殊であり、葉の光合成とは大きく異なることを見出していた。しかし、ここで見られていたような種皮の光合成の特殊性がどこまで一般的な現象であるかについては不明である。ソラマメは、周知のように莢の内側に白色の内果皮(いわゆる「そらまめくんのベッド」)を発達させることもあり、莢の光の透過性は他のマメ科植物の莢と比較しても低い(図1)が、例えばエンドウなどでは莢の光透過性がより高く、このような違いによって、莢の中の果

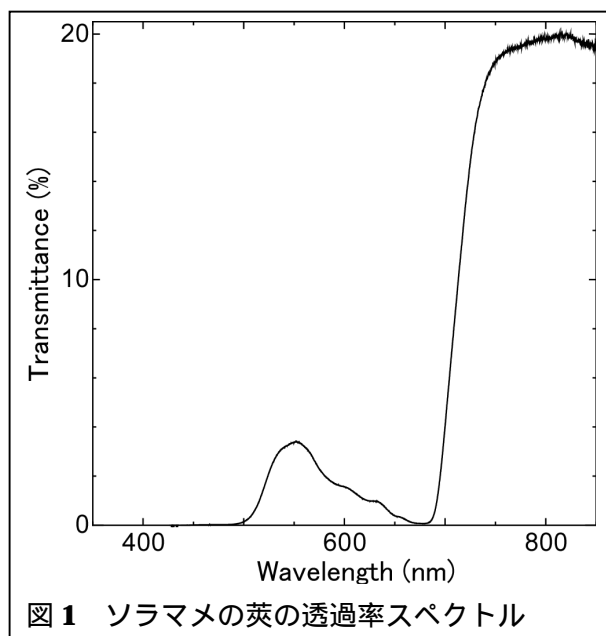


図1 ソラマメの莢の透過率スペクトル

実の光合成も大きな影響を受ける可能性がある。

そこで、ソラマメに加えて、一年を通して入手可能なスナップエンドウおよびインゲンを植物材料として用い、莢の表面の光合成と、中の豆の種皮の光合成を、これら3種の植物の間で比較検討した。その結果、従来ソラマメの種皮について見出していた特殊性、すなわち、a)極めて弱い光で光合成が飽和する、b)光化学系 II の最大量子収率が低い、c)光化学系 I のアンテナに異常が見られる、という三点は、必ずしも、スナップエンドウやインゲンにおいては見られないことが明らかとなった。したがって、ソラマメの種皮で見られていた光合成の特殊性は、ソラマメという種、もしくは、莢の光透過性の低い種における特徴である可能性がある。また、スナップエンドウとインゲンを比較した場合、インゲンの光合成の方がより特殊化しており、光合成の特殊性という観点から見ると、ソラマメ>インゲン>スナップエンドウという順番の勾配が見られることが明らかとなった。この三種の間で莢の透過率を比較すると、ソラマメ<インゲン<スナップエンドウの順番となることから、種皮が通常受けている光量が減少するにつれて光合成が特殊化する可能性が示唆された。すなわち、莢の光の透過性が中の豆の光合成装置の特定を決める要因である可能性が考えられる。

(2) チラコイド膜レベルの生理学的解析

上記の結果における光合成の解析には、主に非破壊的なパルス変調蛍光測定を用いた。パルス変調蛍光測定は、果実のような不規則な形状の物体についても可能であり、感度も高い一方で、局所的なクロロフィルの濃度が異なると、それによって結果が左右されるというデメリットを持つ。そのような場合には、チラコイド膜を単離し、その光合成活性、具体的には光化学系活性、光化学系活性、全電子伝達活性の三種類の活性を酸素電極により直接測定することが有力な手段となる。光合成組織からのチラコイド膜の単離は、葉の場合には極めて簡単に行うことができるが、実際に果実の表面や種皮からチラコイド膜を単離してみると、果実の表面からのチラコイド膜の単離には大きな支障がなかったのに対して、種皮からのチラコイド膜単離は、多量に含まれるデンプンと、おそらくはフェノール性物質の存在により、極めて難しいことが明らかとなった。しかし、単離の緩衝液の組成を工夫するとともに、種皮のごく表面だけを材料にすることによって、ある程度安定的に活性のあるチラコイド膜を単離できるようになった。

そのようにして単離したチラコイド膜の電子伝達活性を酸素電極により解析した結果、ソラマメ、インゲン、スナップエンドウの光合成は、それぞれ異なる点において特殊性を示し、「莢を持つ果実の種皮の光合成の特徴」といった形での一般化した記述をすることはできないことが明らかとなった。しかし、全体的な傾向としては、クロロフィル蛍光測定による非破壊的な測定の結果から予想されていたように、その特殊性の程度は、ソラマメとインゲンで高く、スナップエンドウで低かった。このことも、この三種の中ではスナップエンドウの莢の光の透過率が最も高いことを反映しているのではないかと推論を支持している。

(3) 果実の成熟過程を通した莢の光学特性と光合成特性の変化

これまでの研究においては、生物材料のソラマメ、インゲン、スナップエンドウは、近くの食料品店で購入したものを使っており、植物体から切り離されてからの時間をコントロールしてはいない。しかし、一言に果実と言っても、実際には開花からの日数に応じて常に変化を続けているものであり、その光合成の活性も時間とともに変化し続けていることから、何をどのよう比較すべきなのか、という点をおさえる必要がある。極端な話、もし、3種の植物種の間で食べごろが異なっており、結果として必ず異なるステージの果実が店頭に並んでいたとすれば、それが種間差として現れていたということすら否定はできない。

そこで、栽培が最も容易であるスナップエンドウを材料として選び、開花からの果実の光合成の変化を38日間にわたって継続的に測定することにより、この点を検証することとした。その結果、光化学系の量子収率を示すクロロフィル蛍光のパラメータである F_v/F_m を果実の表面で測定した値は、開花後10-30日の20日間については大きく変動を示さないことから、従来観察されていた生物種による差が老化の程度の差である可能性は否定された。また、莢の透過率は、時間の経過とともに上昇していたが、光合成の効率の低下と莢の透過率の上昇の間の相関は低いことから、少なくとも同じ種では、莢の透過率の変化がマメの光合成の特性を決めているのではないことが明らかとなった。従って、今回得られた結果からは、マメの光合成の違いを生み出す主な原因は、莢の中の光環境の違いというよりは、生物種による違いにあると結論できる。

(4) 結論と展望

今回の結果から、従来、観察されてきていた果実の光合成の特殊性が、果実の発達の特定の時期にのみ見られるものではなく、また、特定の植物種にのみ見られるものでもないことが明らかとなった。このことは、このような特殊性が、果実にある程度広く認められるものであり、何からの生理的な要請からきているものであるということを示しているに違いない。一方で、その特殊性は、ここで研究の対象とした3種の植物の間でも異なり、どのような生理的内容性がどのような光合成の特殊性を生み出すのか、といった点については未解明のまま残る形となった。そのような生理的意義が、今後の主要な研究課題となると考えている。

<引用文献>

園池公毅、果実の光合成、光合成研究 **22**、**70-76**、日本光合成学会、**2012**、
<http://photosyn.jp/journal/sections/kaiho64-2.pdf>

5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 2 件)

田代周与、園池公毅、莢の透過性はマメの種皮の光合成に影響を与えるか、日本植物生理学会第 **60** 回年会、**2019**

杉本和弥、園池公毅、マメ科植物の種子の光合成の特殊性、日本植物生理学会第 **59** 回年会、**2018**

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.photosynthesis.jp/>

6 . 研究組織

本研究は、研究分担者、研究協力者を置かずに行なった。

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。