

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 6日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21780161

研究課題名（和文） 樹木の葉内のアクアポリンが葉の通水性および葉のガス交換特性に及ぼす影響

研究課題名（英文） Role of aquaporins within a leaf in leaf hydraulics and gas exchange of tree species.

研究代表者

原山 尚徳（HARAYAMA HISANORI）

独立行政法人森林総合研究所・北海道支所・主任研究員

研究者番号：60353819

研究成果の概要（和文）：本研究では、生体膜の水透過性を制御するアクアポリンが、樹木の葉の通水性やガス交換特性に及ぼす影響を調べた。葉内のアクアポリンは、葉に光が当たった時の通水性の増加や気孔の開口、葉のガス交換速度の季節変化に関与しており、アクアポリンの活性化と葉のガス交換速度の増加に密接な関係が認められた。一方、高 CO₂ 環境や乾燥ストレスなどの環境変化と葉のアクアポリン活性の間に、明瞭な関係は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：I studied role of aquaporins within a leaf in leaf hydraulics and gas exchange of tree species. I found that activation of leaf aquaporins was associated with seasonal variations in leaf gas exchange and light response of leaf hydraulics and stomatal opening. Activation of leaf aquaporins seemed to increase leaf gas exchange rate in tree species studied. Elevated CO₂ and soil drought had no consistent effect on activation of leaf aquaporins.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学、森林科学

キーワード：樹木生理生態学、樹木水分特性、水チャネル、葉の通水コンダクタンス、気孔コンダクタンス

1. 研究開始当初の背景

アクアポリンは生物の生体膜上にある膜タンパク質で、水分子を超高速輸送する。アクアポリンの存在によって、生体膜の水透過性は数十倍にも増加する。一方、最近の研究で、葉内の水移動経路の通りやすさ（以下、葉の通水性と呼ぶ）が、気孔開口や光合成に影響を及ぼすことが明らかになってきている。し

たがって、葉内のアクアポリンの発現や活性化により、葉内の生体膜の水透過性の変化を通じて葉の通水性が変化し、その結果気孔開口や光合成が変化する可能性がある。また最近の研究では、気孔の孔辺細胞にアクアポリンが存在すること、植物アクアポリンの一部が二酸化炭素分子を透過することなどが示されており、葉の通水性とは別にアクアポリ

ンが直接的に気孔の開閉や光合成に影響を及ぼしているかもしれない。しかしながら、葉のアクアポリンによる葉の通水性、気孔開閉、光合成の制御機構に関する研究は世界的にも始まったばかりである。またその研究は、作物を扱った分子生物学的なものが中心で、樹木の生態学的視点からの研究は少なく、アクアポリンの環境応答、種特性や生態的な意義などは未解明である。

2. 研究の目的

生体膜の水透過性を制御するアクアポリンが、樹木の葉の通水性、気孔開閉、光合成にどのような影響を持つかを明らかにすることを目的とした。具体的には、以下の3点について明らかにすることを目的とした。

- (1) 葉に強光を照射した時の短時間でのアクアポリン活性の変化が、葉の通水性、気孔開閉、光合成に与える影響を明らかにする。さらに、陽葉と陰葉の違いについて明らかにする。
- (2) 葉の通水性の季節変化や葉のガス交換特性の季節変化におけるアクアポリンの重要性を明らかにする。
- (3) 苗木を用いた実験により、育成二酸化炭素濃度 (CO₂) や土壌水分環境を変化させたときのアクアポリン応答とその葉の通水性、気孔開閉に与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、葉内のアクアポリンの水チャネル機能を塩化第二水銀溶液で阻害し、そのときの葉の通水性の変化を測定した。未処理の葉の値と比較することにより、アクアポリンの活性を明らかにした。また、同時に葉のガス交換特性（気孔コンダクタンスや光合成速度）を測定し、アクアポリン活性がガス交換特性へ与える影響を調べた。野外に生育する樹木の葉を用いて生育光環境の違いによるアクアポリン活性の変化やアクアポリンの季節変化に関する研究を行い、ポット苗の葉を用いてアクアポリンの環境変化応答(高CO₂、土壌乾燥ストレス)に関する研究を行った。

4. 研究成果

(1) 温帯落葉樹の主要樹種であるコナラの成木を用いて、陽葉と陰葉それぞれに強光を照射し、その時の葉の通水性や気孔コンダクタンスの変化を測定し、アクアポリン活性との関連性を調べた。葉を暗から明条件へ移行させると、葉の通水コンダクタンスは陽葉では数十分で大きく増加したのに対して、陰葉ではほとんど変化しなかった (図 - 1 A)。一方、アクアポリンの水チャネル機能を塩化第二水銀溶液で阻害すると、強光を照射しても陽葉の通水性は増加しなかった (図 - 1 B)。強光下で葉に塩化第二水銀溶液処理を行う

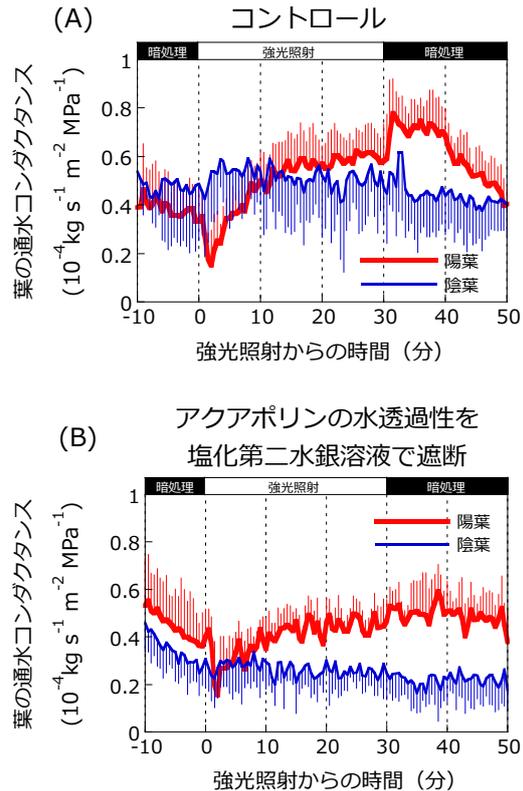


図 - 1 コナラの陽葉と陰葉における強光を照射した時の葉の通水コンダクタンスの経時変化。(A) コントロール (B) 塩化第二水銀溶液処理しアクアポリンの水透過性を遮断した葉。バーは標準偏差を表す。

と、陽葉では葉の通水コンダクタンスが 16% 低下したのに対して、陰葉では 10% 低下した。同じ葉の通水コンダクタンスで比較すると、陽葉のほうが陰葉よりも気孔コンダクタンスが高い傾向にあったが、塩化第二水銀溶液処理を施すとその傾向はなくなった。これらの結果から、葉の通水性の光感受性にはアクアポリン活性が関与しており、陽葉の方が陰葉よりも光感受性が高いのは陽葉でアクアポリン活性が高いためであることが示唆された。葉構造では、陽葉の方が陰葉よりも葉脈密度が高く、維管束鞘延長部が発達していた (図 - 2)。葉の通水性が増加すると葉肉細胞への水分供給が改善されるので、葉は水ポテンシャルを低下させずに気孔を開口しガス交換することができる。従って、今回明らかとなった陽葉における葉の通水性の顕著な光感受性は、陽葉の高い蒸散要求に対応した特性の一つであると考えられる。また、維管束鞘延長部は光を通すので、陽葉における維管束鞘延長部の発達が光刺激によるアクアポリンの活性を助長し、陽葉の顕著な光感受性を達成させていたことが示唆され、光環境の違いによる葉構造の変化と葉の生理

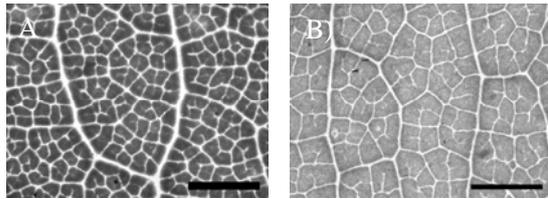


図-2 コナラの陽葉 (A) と陰葉 (B) における葉表面の光学顕微鏡写真。図中のバーの長さは1mm。白い部分が維管束鞘延長部。

特性との結びつきが明らかとなった。

(2) 樹木の葉内のアクアポリン活性と個葉の通水特性やガス交換特性の季節変化との関連性について明らかにすることを目的として研究を行った。研究は、日本の代表的な樹木であるブナ科の常緑樹種4種、アカガシ、アラカシ、イチイガシ、ウラジロガシ、及び落葉樹種のコナラを対象とし、野外に生育する成木の当年生の陽葉について比較した。その結果、5樹種中イチイガシを除く4樹種で、アクアポリン活性の季節変化と気孔コンダクタンス (図-3) や光合成の季節変化に連動性が認められ、葉のガス交換が盛んな時期にアクアポリン活性が高いことが明らかになった。また、葉の通水性の季節変化と光合成速度や気孔コンダクタンスの季節変化には有意な正の相関関係が認められたが、アクアポリン阻害した葉の通水コンダクタンスと光合成速度や気孔コンダクタンスには、有

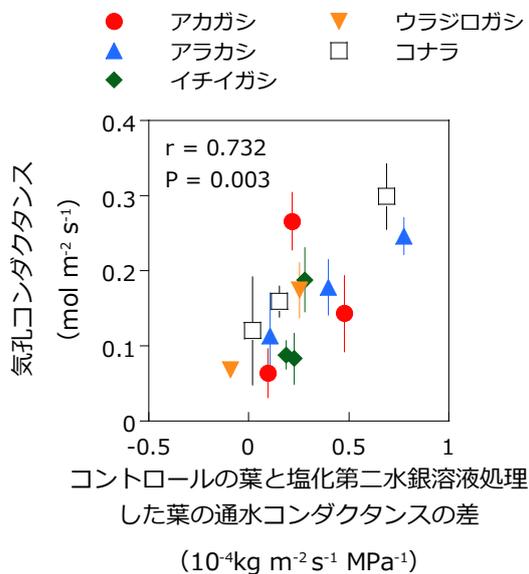


図-3 アクアポリン活性と気孔コンダクタンスの季節変化の関係。アクアポリン活性は、未処理の葉とアクアポリンの水透過性を塩化第二水銀溶液で阻害した葉の通水コンダクタンスの差から求めた。バーは標準偏差を表す ($n \geq 4$)。アクアポリン活性と気孔コンダクタンスは春から夏に高く冬に低かった。

表-1 未処理の葉の通水コンダクタンス (K_{con}) および塩化第二水銀溶液でアクアポリンの水透過性を阻害した葉の通水コンダクタンス (K_{Hg}) と、気孔コンダクタンス (g_s) および光合成速度 (A_{area}) の相関係数 (r) と P 値 (ANCOVA)

	g_s		A_{area}	
	r	P	r	P
K_{con}	0.598	0.024	0.677	0.008
K_{Hg}	0.370	0.193	0.430	0.125

意な相関は認められなかった (表-1)。この結果は、気孔が大きく開かれ葉からの水分損失が盛んな時期に、アクアポリンが活性化して葉内のシンプラストの通水性が増加することにより葉全体の通水性が高くなっていること、そのため葉の水ポテンシャル低下が低減されることを示唆している。これらのことから、葉内のアクアポリン活性が個葉の光合成能力の季節変化に大きな影響を持つことが明らかとなり、樹木の二酸化炭素吸収能力の季節変化メカニズムの解明において新しい知見となる。

(3) 高 CO_2 条件が葉の通水性およびアクアポリン活性に及ぼす影響を、日本の冷温帯林で主要な樹種ではケヤマハンノキとシラカンバで調べた。自然光型環境調節室で、ケヤマハンノキとシラカンバの2年生ポット苗を高 CO_2 濃度 720ppm と通常 CO_2 濃度 370ppm 条件下で育成した。通常 CO_2 と高 CO_2 の葉の通水コンダクタンスを比較すると、ケヤマハンノキでは、高 CO_2 のほうが通常 CO_2 よりも低かった (未処理の葉: -8%、アクアポリン阻害: -15%)。一方シラカンバでは、未処理の葉では高 CO_2 のほうが通常 CO_2 よりも高く (+

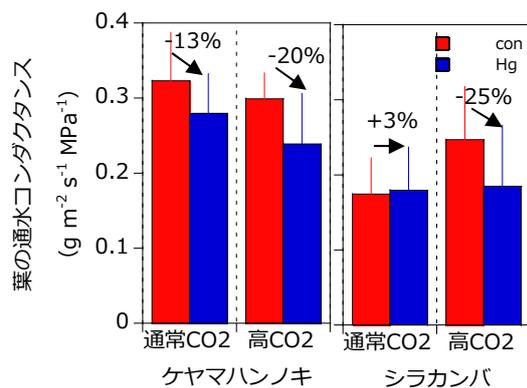


図-4 通常 CO_2 および高 CO_2 条件下で育成したケヤマハンノキとシラカンバポット苗の葉の通水コンダクタンス。未処理の葉 (con) と塩化第二水銀溶液処理しアクアポリンの水透過性を阻害した葉 (Hg) を比較した。バーは標準偏差を表す ($n=7$)。

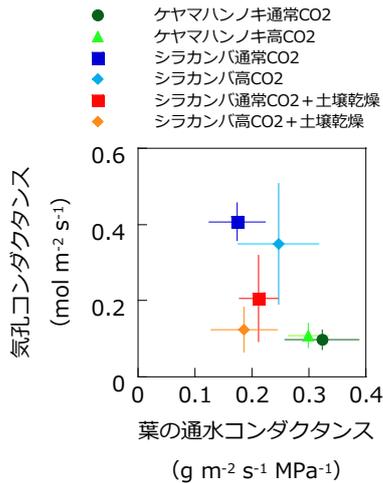


図 - 5 通常 CO₂ および高 CO₂ 条件下で育成したケヤマハンノキとシラカンバポット苗の、葉の通水コンダクタンスと気孔コンダクタンスの関係。バーは標準偏差を表す。

42%)、アクアポリン阻害した葉ではほぼ変わらなかった (+3%)。アクアポリンの水透過性を阻害すると、葉の通水コンダクタンスは、ケヤマハンノキでは通常 CO₂ では 13%、高 CO₂ では 20% 低下したのに対して、シラカンバでは通常 CO₂ ではほとんどかわらず、高 CO₂ では 25% 低下した (図 - 4)。これらの結果から、高 CO₂ に対する葉の通水コンダクタンスの応答には樹種によって異なること、アクアポリン活性は高 CO₂ 条件で活性化することが明らかとなった。

シラカンバポット苗を用いて、高 CO₂ 条件と土壌乾燥が葉の通水性およびアクアポリン活性に及ぼす影響を調べた。葉の通水コンダクタンスは湿潤処理では高 CO₂ 個体のほうが通常 CO₂ 個体よりも高かった。乾燥処理では葉の通水コンダクタンスは高 CO₂ 個体と通常 CO₂ 個体でほぼ同じ値を示した。湿潤処理と乾燥処理の差は認められなかった。アクアポリンの水透過性を阻害すると、葉の通水コンダクタンスは高 CO₂ で育成した湿潤処理のみで低下し、通常 CO₂ + 土壌湿潤、通常 CO₂ + 土壌乾燥および高 CO₂ + 土壌乾燥処理では低下しなかった。ケヤマハンノキとシラカンバ苗木で行った高 CO₂ 処理と土壌乾燥の実験について、葉の通水コンダクタンスと気孔コンダクタンスの関係を調べると、明瞭な関係は認められなかった (図 - 5)。これらの結果から、高 CO₂ 条件と土壌乾燥ストレスに対するアクアポリン活性応答の明確なメカニズムを見出せなかった。また、高 CO₂ 条件や乾燥ストレスによって崩れる水バランスを、ケヤマハンノキやシラカンバ苗木は葉の通水性ではなく、葉量など他の特性によって調整していることが示唆された。

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)

- ① 原山尚徳、石田 厚 (2010) コナラの陽葉と陰葉における葉の通水コンダクタンスの光感受性. 関東森林研究 61:141-142. (査読有)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 原山尚徳、北岡哲、上村章、宇都木玄、乾燥ストレスと高 CO₂ 濃度環境がシラカンバ苗木の葉の通水特性に与える影響、第 124 回日本森林学会大会、2013 年 3 月 26 日、岩手大学 (盛岡市)
- ② 原山尚徳、北岡哲、上村章、宇都木玄、高 CO₂ 環境下で生育したケヤマハンノキの葉の通水特性、第 123 回日本森林学会大会、2012 年 3 月 28 日、宇都宮大学 (宇都宮市)
- ③ 原山尚徳、石田厚、陽葉と陰葉における葉の通水特性の違い、日本生態学会大会第 57 回大会、2010 年 3 月 16 日、東京大学 (目黒区)
- ④ 原山尚徳、石田 厚、コナラの陽葉と陰葉における葉の通水コンダクタンスの光感受性、第 61 回日本森林学会関東支部大会、2009 年 10 月 23 日、国立女性教育会館 (埼玉県比企郡)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原山 尚徳 (HARAYAMA HISANORI)

独立行政法人森林総合研究所・北海道支所・主任研究員

研究者番号：6 0 3 5 3 8 1 9

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：