

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2009～2014

課題番号：21114007

研究課題名（和文）成長呼吸と維持呼吸の高CO₂応答研究課題名（英文）Responses of growth and maintenance respiration to high CO₂

研究代表者

寺島 一郎 (TERASHIMA, Ichiro)

東京大学・理学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：40211388

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 98,100,000円

研究成果の概要（和文）：シロイヌナズナを高CO₂条件で栽培し、シュートと根の成長への根圏のpHおよびN濃度の影響を解析した。また、呼吸の日周変化を精査し、律速段階の推移の原因をメタボローム解析により検討した。ツクサを用いて、気孔開閉に及ぼすアポプラストからの水溶性物質の存在を生理学的に証明した。Nicotiana plumbaginifolia（タバコ属）およびシロイヌナズナを用いて、葉肉コンダクタンスの高CO₂に応答した低下が、乾燥や植物ホルモンABAに対する応答とは異なる機構によっていることも明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We analyzed growth of shoots and roots of Arabidopsis thaliana in elevated CO₂ at 780 ppmv with special reference of the effects of pH and nitrogen contents of the rooting medium. We also followed diurnal changes in respiration rate were followed and limiting steps were examined based on the metabolome data. Using Commelina communis, we showed involvement of soluble signal(s) from the mesophyll in stomatal opening/closure. The signal is especially important in closure of stomata in response to high CO₂. We also showed High CO₂ air decreases conductance for CO₂ diffusion from the intercellular space to the chloroplast stroma in Nicotiana plumbaginifolia and A. thaliana. The conductance also decreased in response to ABA, but the mechanisms responsible for the decrease were different.

研究分野：植物生理生態学

キーワード：呼吸 高CO₂ C/Nバランス 気孔 葉肉コンダクタンス

1. 研究開始当初の背景

陸上植物の呼吸量は $60 \text{ Pg C year}^{-1}$ ($= 10^{15} \text{ g C year}^{-1}$ 、 $10^6 \text{ t C year}^{-1}$) に達する。これは、陸上植物による総 CO_2 固定量の約半分、化石燃料や森林破壊による炭素放出の 6 倍にも上る (Amthor 1995, Canadell et al. 2007)。個体レベルの見積もりでも、呼吸による消費は総光合成の 30-70% とされる (Atkin et al. 2007)。このように、陸上植物の呼吸は C フラックスとして非常に大きい。したがって、大気 CO_2 濃度の上昇に対する植物の呼吸速度の応答の正確な予測は、生態学的にも社会的にも重要な課題である。しかし、これまでの大気 CO_2 濃度予測モデルにおいて、呼吸速度の環境応答はごく簡単な経験式で表現されるにすぎなかった (Cox et al. 2000)。分子生理学的解析も乏しい状態であった。

本領域研究では、気孔の CO_2 応答が一つの焦点となる。一方、葉肉の光合成活性も気孔コンダクタンスに顕著な影響を及ぼす。気孔コンダクタンスの表現に最もよく用いられるモデル (Leuning 1995) にも、この効果が重要な項として表現されている。葉肉光合成の気孔開度への影響の分子機作は不明だが、葉の細胞壁環境 (アポプラスト) の重要物質を精査すれば解明できる可能性が強く示唆されている (Mott et al. 2008)。申請者らは、この課題の遂行に最適な特殊なガス交換システムを構築し、解析に着手していた (Wang et al. 2008)。また、アクアポリンが、細胞膜を介した光合成 CO_2 輸送に関与していることを明らかにし (Terashima & Ono 2002, Hanba et al. 2004)、これを *cooporin* と命名した (Terashima et al. 2006)。*Cooporin* は、気孔から葉緑体までの拡散抵抗に大きな影響を及ぼしている (Evans et al. 2009) が、その機作は不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、陸上植物の呼吸速度の高 CO_2 応答の分子機作を、CN 動態の解析を通して明らかにする。さらに気孔や葉肉における CO_2 コンダクタンスの CO_2 応答の分子機作を明らかにする。これらの知見をとりこんで、光合成および呼吸の高 CO_2 応答モデルを刷新することであった。

3. 研究の方法

(1) 高 CO_2 条件下における CN 動態変化

モデル植物シロイヌナズナを高 CO_2 条件下で栽培し、呼吸速度に間接的に影響する要因、(a) 炭水化物の蓄積、(b) 光呼吸の抑制、(c) C・N の物質分配の変化、および (d) 成長速度の変化を調べる。これらと 4 要因の変化との関連を分子レベルで精査した。

(2) CN 動態の変化による呼吸速度への影響の解析

高 CO_2 条件下の呼吸速度の律速要因を調べた。モデル植物を用いて、4 要因の変化にともなう呼吸速度を律速する呼吸基質量や呼吸 ATP 消費速度の変化を解析した。4 要因に関連する突然変異株や遺伝子組換え植物も用いて、呼吸律速要因の高 CO_2 応答の分子機作の解明に努力した。

(3) 気孔および葉肉コンダクタンスの調節機構の解明

葉のアポプラストに注目して、気孔コンダクタンスおよび細胞間隙から葉緑体までの葉肉コンダクタンスの、 CO_2 応答の分子機作を解析した。経験則にもとづく気孔コンダクタンスの環境依存モデルを分子生理学的な知見に基づくものに刷新し、内部コンダクタンスの分子生理学的モデルを構築を目指した。これらを組み込んだ光合成と呼吸の高 CO_2 応答モデルの作成も試みた。

4. 研究成果

(1) 高 CO_2 条件下におけるシロイヌナズナの呼吸系の応答

390 ppmv (体積比 ppm) および 780 ppmv CO_2 でシロイヌナズナを栽培した。地上部と根の乾燥重量当たりの呼吸速度はどちらも、生育期間にわたって、高 CO_2 条件の方が低かった。また、390 ppmv 条件下の地上部の呼吸速度では明確な日変化が見られたが、高 CO_2 条件では日変化が見られなかった。20 日目の地上部の夜明け前と日没後の呼吸速度を精査したところ、夜間を通した呼吸速度の減少は 780 ppmv で小さく、夜明け前の呼吸速度は 780 ppmv で高かった。また、780 ppmv で呼吸商 (CO_2 放出/ O_2 消費) が高い傾向が見られた。一般に、植物の呼吸速度は、呼吸基質量 (基質律速) または呼吸系産物 (おもに ATP) の消費速度 (ADP 律速) によって決定される。ショ糖や脱共役剤を添加する事により、呼吸速度の律速要因を解析したところ、どちらの CO_2 条件でも呼吸速度は主に ATP 消費速度によって律速され、基質律速の程度は低かった。さらに、夜明け前、日中、日没前の一次代謝産物と呼吸系の遺伝子発現、酵素活性を解析した。いくつかのアミノ酸・有機酸量に栽培 CO_2 濃度による違いが見られた。特に 780 ppmv では解糖系の糖リン酸やデンプンの量が増加していた。また、呼吸系の遺伝子発現についても栽培 CO_2 濃度による違いがみられた。

(2) 高 CO_2 条件下におけるシロイヌナズナの成長におよぼす根圏のストレスの影響

植物の成長に CO_2 濃度は大きな影響を及ぼすが、その影響は根圏の環境によって大きく変化する。われわれは、シロイヌナズナの根圏の pH および窒素栄養が高 CO_2 応答に及ぼす影響を詳細に検討した。780 ppmv と 390

ppmv における成長を比較すると、低 pH と低 N 条件はどちらも高 CO₂ 条件で根の成長を促す。高 CO₂ 条件では糖が蓄積する。低 pH 条件では、糖の蓄積が植物ホルモンであるオーキシシンとサイトカイニンのバランスに影響することを通して、側根形成を促すため、根の重量が増加することが明らかになった。低 N による根の成長促進効果は、これとは異なるメカニズムに依っている。

(3) 気孔開度におよぼすアポプラスト環境の影響

制御環境下で、葉および剥離表皮の気孔の挙動を経時的に顕微鏡観察するためのシステムを製作した。試料用のチェンバーは、2 個の真鍮ブロックを重ねたもので、両面はガラス張りである。試料の温度は恒温槽からの水をブロック内に循環させて制御している。チェンバーに通す気体の組成はマスフローコントローラーで、露点はペルチエ素子を用いたコンデンサで制御した。このシステムを用いると、剥離表皮を葉肉組織に移植した状態で気孔の挙動を観察することが可能となった。ツククサ剥離表皮を葉肉組織上に移植する実験によって、葉肉組織からの水溶性物質が、気孔開孔と閉孔の両方に関与する事を示した。特に、高 CO₂ による閉孔には葉肉シグナルが重要である。水溶性物質の同定が今後の課題である。

(4) 葉肉コンダクタンスの高 CO₂ による低下について

細胞間隙から葉緑体への CO₂ 拡散過程のコンダクタンスは、高 CO₂ 条件で低下することを確証した。葉肉コンダクタンスの低下は乾燥条件でも起こる。後者には ABA が関与していることが明らかになった。葉肉コンダクタンスの高 CO₂ 条件下での低下には ABA は関与しておらず、これらは独立の現象である。葉肉コンダクタンス低下メカニズムの詳細の解明が望まれる。

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 26 件全て査読あり)

原著論文

Mizokami Y, Noguchi K, Kojima M, Sakakibara H, Terashima I (2015) Mesophyll conductance decreases in the wild type but not in an ABA deficient mutant (*aba1*) of *Nicotiana glauca* under drought conditions. *Plant Cell Env*, 38, 388-398. DOI:10.1111/pce.12394

Noguchi K, Yamori W, Hikosaka K, Terashima I (2015) Homeostasis of the temperature sensitivity of respiration over a range of growth temperatures indicated by a modified Arrhenius model. *New Phytol*, in press.

DOI: 10.1111/nph.13339

Sugiura D, Sawakami K, Kojima M, Sakakibara H, Terashima I, Tateno M (2015) Roles of gibberellins and cytokinins in regulation of morphological and physiological traits in *Polygonum cuspidatum* responding to light and nitrogen availabilities. *Func Plant Biol*, 42, 397-409. DOI: 10.1071/FP14212

Hachiya T, Sugiura D, Kojima M, Sato S, Yanagisawa S, Sakakibara H, Terashima I, Noguchi K (2014) High CO₂ triggers preferential root growth of *Arabidopsis thaliana* via two distinct systems at low pH and low N stresses. *Plant Cell Physiol*, 55, 269-280. DOI: 10.1093/pcp/pcu001

Terashima I, Yanagisawa S, Sakakibara H (2014) Plant responses to CO₂: Background and perspectives. *Plant Cell Physiol*, 54, 237-240. DOI: 10.1093/pcp/pcu022

Watanabe CK, Sato S, Yanagisawa S, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K (2014) Effects of elevated CO₂ on levels of primary metabolites and transcripts of genes encoding respiratory enzymes and their diurnal patterns in *Arabidopsis thaliana*: Possible relationships with respiratory rates. *Plant Cell Physiol*, 55, 341-357. DOI: 10.1093/pcp/pct185

Fujita T, Noguchi K, Terashima I (2013) Apoplastic mesophyll signals induce rapid stomatal responses to CO₂ in *Commelina communis*. *New Phytol*, 199, 395-406. DOI: 10.1111/nph.12261

Hachiya T, Watanabe C, Fujimoto M, Ishikawa T, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K (2012) Nitrate addition alleviates ammonium toxicity without lessening ammonium accumulation, organic acid depletion and inorganic cation depletion in *Arabidopsis thaliana* shoots. *Plant Cell Physiol*, 53, 577-591. DOI: 10.1093/pcp/pcs012

Okajima Y, Taneda H, Noguchi K, Terashima I (2012) Optimum leaf size predicted by the leaf energy balance model incorporating dependencies of photosynthesis to light and temperature. *Ecol Res*, 27, 333-346. DOI: 10.1007/s11284-011-0905-5

Taneda H, Terashima I (2012) Co-ordinated development of the leaf midrib xylem with the lamina in *Nicotiana tabacum*. *Ann Bot*, 110, 35-45. DOI: 10.1093/aob/mcs102

Hachiya T, Mizokami Y, Miyata K, Tholen D, Watanabe CK, Noguchi K (2011) Evidence for a nitrate-independent function of the nitrate sensor NRT1.1 in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res*, 124, 425-430. DOI: 10.1007/s10265-010-0385-7

Oitate H, Noguchi K, Sone K, Terashima I, Suzuki AA (2011) Patterns of photoassimilate translocation to reproductive shoots from adjacent shoots in *Camellia sasanqua* by manipulation of sink-source balance between the shoots. *J Plant*

Res. 124, 131-139. DOI:

10.1007/s10265-010-0362-1

Wang Y, Noguchi K, Terashima I (2011) Photosynthesis-dependent and -independent responses of stomata to blue, red and green monochromatic light: Differences between the normally oriented and inverted leaves of sunflower. *Plant Cell Physiol*, 52, 479-489. DOI: 10.1093/pcp/pcr005

Yoshida K, Watanabe CK, Hachiya T, Tholen D, Shibata M, Terashima I, Noguchi K (2011) Distinct responses of the mitochondrial respiratory chain to long- and short-term high light environments in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 34, 618-628. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02267.x

Yoshida K, Watanabe CK, Terashima I, Noguchi K (2011) Physiological impact of mitochondrial alternative oxidase on photosynthesis and growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 34, 1890-1899. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02267.x

Araya T, Noguchi K, Terashima I (2010) Effect of nitrogen nutrition on the carbohydrate repression of photosynthesis in leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *J Plant Res*, 123, 371-379. DOI: 10.1007/s10265-009-0279-8

Hachiya T, Watanabe CK, Boom C, Tholen D, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K (2010) Ammonium-dependent respiratory increase is dependent on the cytochrome pathway in *Arabidopsis thaliana* shoots. *Plant Cell Environ*, 33, 1888-1897. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02189.x

Watanabe CK, Hachiya T, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K (2010) Effects of AOX1a deficiency on plant growth, gene expression of respiratory components, and metabolic profile under low nitrogen stress in *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant Cell Physiol*, 51, 810-822. DOI: 10.1093/pcp/pcq033

Yamori W, Noguchi K, Hikosaka K, Terashima I (2010) Phenotypic plasticity in photosynthetic temperature acclimation among crop species with different cold tolerances. *Plant Physiol*, 152, 388-399. DOI: 10.1104/pp.109.145862

Yoshida K, Shibata M, Terashima I, Noguchi K (2010) Simultaneous determination of in vivo plastoquinone and ubiquinone redox states by HPLC-based analysis. *Plant Cell Physiol*, 51, 836-841. DOI: 10.1093/pcp/pcq044

総説

伊藤昭彦, 野口航 (2014) 植物の呼吸と地球環境変動: モデルの観点から 光合成研究 24, 39-45. <http://photosyn.jp/journal.html>

溝上祐介, 寺島一郎 (2014) 植物の高 CO₂ 応答 9. 葉肉コンダクタンス 化学と生物 52, 54-58. <https://katosei.jsbba.or.jp/index.php>

溝上祐介, 小嶋美紀子, 榊原 均, 野口 航, 寺島一郎 (2013) 葉肉コンダクタンス低下への ABA の関与 光合成研究 23, 4-7. <http://photosyn.jp/journal.html>

Hachiya T, Noguchi K (2011) Integrative response of plant mitochondrial electron transport chain to nitrogen source. *Plant Cell Rep*, 30, 195-204. DOI: 10.1007/s00299-010-0955-0

Hachiya T, Noguchi K (2011) Mutation of NRT1.1 enhances ammonium/low pH-tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav*, 6, 706-708. 10.4161/psb.6.5.15068

Terashima I, Hanba YT, Tholen D, Niinemets U (2011) Leaf functional anatomy in relation to photosynthesis. *Plant Physiol*, 155, 108-116. DOI: 10.1104/pp.110.165472

[学会発表] (計 43 件)

Terashima I "Optimum Rubisco Kinetics in the high CO₂ era" Gordon Research Conference "CO₂ Assimilation in Plant: Genome to Biome" Waterville Valley Resort in Waterville Valley, NH, USA (June 8-13, 2014)

Mizokami Y "Responses of mesophyll conductance to the atmospheric CO₂ in *Arabidopsis thaliana* grown at ambient and high CO₂" Gordon Research Conference "CO₂ Assimilation in Plant: Genome to Biome" Waterville Valley Resort in Waterville Valley, NH, USA (June 8-13, 2014)

Sugiura D "Modified sink-source relationships by reciprocal grafting of leafy and radish varieties change morphology and physiology of leaves in *Raphanus sativus*" Gordon Research Conference "CO₂ Assimilation in Plant: Genome to Biome" Waterville Valley Resort in Waterville Valley, NH, USA (June 8-13, 2014)

Fujita T, Terashima I "The analysis of the mesophyll roles that control the stomatal responses in C3 and CAM plants" 16th International congress on Photosynthesis Research, Missouri, USA (August 11-16 2013)

Terashima I, Betsuyaku E, Sugiura D "Effect of artificial changes of the sink-source relationship by reciprocal grafting using leafy and radish cultivars of *Raphanus sativus* on photosynthesis and plant growth" 16th International congress on Photosynthesis Research, Missouri, USA (August 11-16 2013)

Mizokami Y, Noguchi K, Terashima I "The role of aquaporin (PIP) in ABA mediated decrease in mesophyll conductance" International Workshop on Plant Membrane Biology XVI, Kurashiki, Japan (26-31 March 2013)

Fujita T, Noguchi K, Terashima I "Effects of mesophyll apoplastic solution on stomatal responses to CO₂" Stomata 2012 at Manchester Conference Centre, Manchester, UK (2 - 4 July 2012)

Taneda H, Kojima M, Sakakibara H, Terashima I "Physiological regulation of midrib-xylem

characteristics against leaf-lamina size in a tobacco leaf: application and test of six-point hypothesis” Annual meeting of American Society of Plant Biologist, Minneapolis, USA (August 8, 2011) (poster)

Terashima I, Okajima Y, Mizokami Y, Tazoe Y, Yamori W “ CO2 concentration and Rubisco kinetic parameters in the elevated CO2 world ” Photosynthesis Research for Sustainability-2011, Crescent Beach Hotel, Baku, Azerbaijan (July 28, 2011) (Invited lecture)

Mizokami Y, Ueda S, Katase T, Noguchi K, Terashima I “ Possible involvement of ABA in regulation of gm ” Gordon Research Conference, CO2 Assimilation in Plants: Genome to Biome, Gordon Research Conference, Les Diablerets, Switzerland (May 29 - June 3, 2011) (poster)

Watanabe CK, Hachiya T, Sato S, Yanagisawa S, Terashima I, Noguchi K “ Responses of respiratory rates of Arabidopsis thaliana plants grown in elevated CO2 ” International Congress on Plant Mitochondrial Biology, Hohenroda, Germany (May 14-19, 2011)

Wang Y, Noguchi K, Terashima I “Effects of photosynthesis on stomatal responses: their differences between red and blue light, and/or between the adaxial and abaxial stomata” 15th International Congress on Photosynthesis, Beijing, China (August 22-27 2010)

Mizokami Y, Noguchi K, Terashima I “The role of aquaporin activity in regulation of internal conductance” 15th International Congress on Photosynthesis, Beijing, China (August 22-27 2010)

Terashima I, Araya T, Yano S, Noguchi K “ Construction and maintenance mechanisms of the photosynthetic systems of a leaf and a plant individual with high nitrogen use efficiencies: Involvement of systemic regulation mechanisms ” NITROGEN2010, 1st International Symposium on the Nitrogen Nutrition of Plants, Inuyama, Japan (July 26-30 2010)

Hachiya T, Watanabe CK, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K “ Ammonium-dependent respiratory increase is dependent on the cytochrome pathway in Arabidopsis thaliana shoots ” 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, Japan (June 6-10 2010)

Watanabe CK, Hachiya T, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K “ Effects of AOX1a deficiency under low nitrogen stress in Arabidopsis thaliana plants ” 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, Japan (June 6-10 2010)

Hachiya T, Watanabe CK, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K “ Ammonium-dependent respiratory induction is dependent on cytochrome pathway in Arabidopsis thaliana shoots ” 24th New

Phytologist Symposium “ Plant respiration and climate change: scaling from mitochondria to the globe ”, Oxford, UK (April 11-14 2010)

Watanabe CK, Hachiya T, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K “ Effects of AOX1a deficiency under low nitrogen stress in Arabidopsis thaliana plants ” 24th New Phytologist Symposium “ Plant respiration and climate change: scaling from mitochondria to the globe ”, Oxford, UK (April 11- 14 2010)

国内学会発表 25件 省略

〔図書〕(計1件)

寺島一郎(2013)植物の生態 - 生理機能を中心に - 裳華房 ISBN978-4-7853-5855-6

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

研究室

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/seitaip1/index.html>

新学術領域

<http://plant.biology.kyushu-u.ac.jp/shinryoiki/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

野口 航 (NOGUCHI, Ko)
東京大学・大学院理学系研究科・准教授
研究者番号: 80304004

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