

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：13801

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14754

研究課題名(和文) Rubiscoの分光反射特性の決定：新たな植生指数の開発と応用

研究課題名(英文) Reflected spectral properties of Rubisco: New indices developing and their applications

研究代表者

王 権 (Wang, Quan)

静岡大学・農学部・教授

研究者番号：50402235

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：森林を対象としたリモートセンシングの研究では、個葉や林冠の構造、生化学的特性に焦点があてられてきたが、光合成などの生理反応を評価した研究は少ない。本研究では、シロイヌナズナの野生型及びRubisco欠損変異体を用いて、光合成機能と関連性が高いRubiscoに対する分光反射指数の開発を行った。シロイヌナズナの個葉を対象とした時、波長1603nmと1728nmにおける1次微分値を正規化した指標を用いると、Rubisco量をRMS誤差で0.517g m⁻²の精度(R²=0.693)で再現できた。また、ブナのRubisco量に対しても弱いながら相関を確認することができた。

研究成果の概要(英文)：In current there are many remote sensing applications on forest ecosystems, ranging from leaf and canopy structures to biochemicals. However, few researches have ever focused on assessing physiological responses of forest using remote sensing information. In this study, both wild type *Arabidopsis* and T-DNA insertion (with less Rubisco) mutants are used for identifying the best hyperspectral indices to assess Rubisco, which is critical to photosynthesis. The results revealed that dND(1603,1728) performed best (R² = 0.693, RMSE = 0.517 g m⁻²) for estimating Rubisco of mutants. However, there was only weak relationship between the index and beech Rubisco. A general applicable index for assessing Rubisco remains a big challenge for future studies.

研究分野：リモートセンシング

キーワード：分光反射 Rubisco Vcmax 植生指数 生理

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

地球規模の炭素循環における森林が果たす役割を評価するため、リモートセンシング技術の活用が注目されている。これまでの森林を対象としたリモートセンシングの研究では、個葉や林冠の構造 (SLA, LMA) や生化学的特性 (窒素、色素やセルロースなど) の評価に焦点が当てられていた。一方、リモートセンシング技術から光合成などの生理反応を評価した研究は少なく、非常に遅れている。Gamon et al. (1992) が開発した Photochemical Reflectance Index (PRI) はカロチノイドの一種キサントフィルサイクルの組成変化に関連する分光反射指数であり、キサントフィルサイクルの変化と光化学系 II の効率の関係を利用して、光合成機能を評価するものである。しかし、PRI は CO_2 の吸収など光合成に関わる波長域から計算されているわけではないため、真の光合成反応の指標値とはなりえない。それ故、光合成に関連した物質の分光反射特性を明らかにし、光合成能力を正確に評価できる新たな分光指数の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、光合成の鍵酵素である Rubisco の分光反射特性を明らかにし、光合成能力を推定する新たな分光指数を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 材料

シロイヌナズナの Rubisco 欠損変異体を用いて実験を行った (図 1)。この変異体は Rubisco の小サブユニットタンパク質をコードする *RBCS1A* 遺伝子の発現が抑制されており、この変異体の Rubisco 量は野生型と比べ大幅に少ないことが期待される。この変異体と野生

型を短日条件 (8 時間日長)、 22°C 、 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光環境下で生育させた。



野生型

変異体

図 1. シロイヌナズナの野生型と変異体

(2) 生理特性の評価

シロイヌナズナ個葉の分光反射率は FieldSpec4 (ASD) を用いて波長域 (400nm~2500nm) を測定した。また、携帯型光合成蒸散測定装置 (LI-6400, Li-Cor 社) を用い、葉内 CO_2 -光合成速度 (A/Ci curve) を測定した。測定条件は、光強度 $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、相対湿度 60%、温度 25°C である。さらに SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法により Rubisco 量を測定した。

(3) 解析

本研究では以下に示すタイプの反射率もしくは 1 次微分値に基づく指標の開発を検討した。

$$D(\lambda_1, \lambda_2) = R_{\lambda_1} - R_{\lambda_2} \quad (1)$$

$$\text{SR}(\lambda_1, \lambda_2) = R_{\lambda_1} / R_{\lambda_2} \quad (2)$$

$$\text{ND}(\lambda_1, \lambda_2) = (R_{\lambda_1} - R_{\lambda_2}) / (R_{\lambda_1} + R_{\lambda_2}) \quad (3)$$

$$\text{DDn}(\lambda, \Delta\lambda) = 2R_\lambda - R_{\lambda-\Delta\lambda} - R_{\lambda+\Delta\lambda} \quad (4)$$

$$dD(\lambda_1, \lambda_2) = dR_{\lambda_1} - dR_{\lambda_2} \quad (5)$$

$$d\text{SR}(\lambda_1, \lambda_2) = dR_{\lambda_1} / dR_{\lambda_2} \quad (6)$$

$$d\text{ND}(\lambda_1, \lambda_2) = (dR_{\lambda_1} - dR_{\lambda_2}) / (dR_{\lambda_1} + dR_{\lambda_2}) \quad (7)$$

$$d\text{DDn}(\lambda, \Delta\lambda) = 2dR_\lambda - dR_{\lambda-\Delta\lambda} - dR_{\lambda+\Delta\lambda} \quad (8)$$

ここで、 R_λ は波長 λ (nm)における反射率、 dR_λ は波長 λ (nm)における一次微分値である。400-2500nm における反射率もしくは1次微分値を用いて、採りうるすべての組み合わせに対して、Rubisco 量と直線近似もしくは指数近似を行い、決定係数及び AICc を用いて評価を行った。

4. 研究成果

(1) シロイヌナズナの生理特性

シロイヌナズナの葉内 CO_2 -光合成曲線から Farquhar モデルを用いて、最大カルボキシレーション速度 (V_{cmax}) を推定した結果、変異体の V_{cmax} は野生型に比べ約 27%低下していた (図 2a)。一方、シロイヌナズナ変異体の Rubisco 量は野生型に比べ約 30%低下していた (図 2b)。しかし、葉内窒素含有量、クロロフィル量や暗呼吸速度などには明確な差はなかった。また、 V_{cmax} と Rubisco 量の間には有意な相関が確認されたことから、Rubisco 量の減少が V_{cmax} の低下した要因の 1 つであると考えられる。

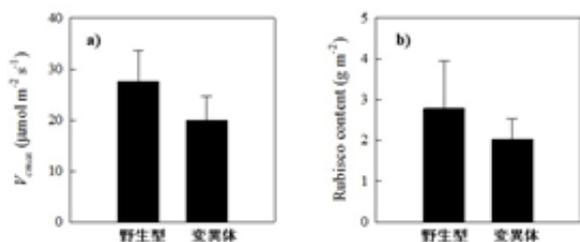


図 2. シロイヌナズナの a) V_{cmax} と b) Rubisco 量の比較

(2) 分光反射特性

シロイヌナズナの変異型と野生型と分光反射特性は図 3 に示すとおりであり、400~2500 nm の波長域において変異体のほうが概ね高い反射率を示していた。つづいて、シロイヌナズナ個葉の Rubisco 量と相関のある波長の組み合わせを探索した (図 4)。その結果、最

も精度の高い波長の組み合わせは 1603 nm と 1728 nm における 1 次微分値を正規化した指標 ($d\text{ND}_{1603,1728}$) であった。なお、決定係数は 0.693 であり、シロイヌナズナの Rubisco 量を RMS 誤差で 0.517 g m^{-2} の精度で再現することができた。

一般的に、1600~2300nm の波長域にデンプン、糖やタンパク質などの同化産物・生体物質の吸収域が存在していると言われており、本研究が提案する Rubisco 波長は妥当だと考えている。

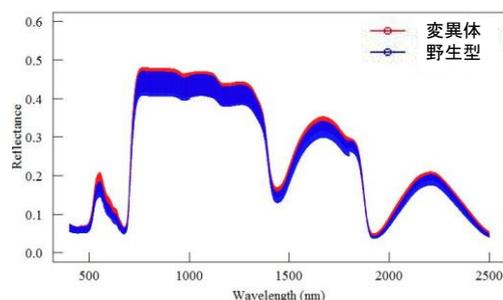


図 3. 変異体と野生型の分光反射特性

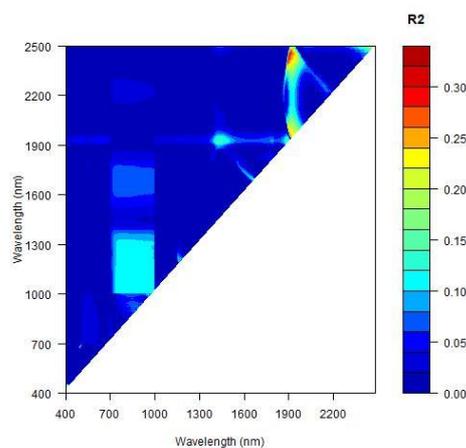


図 4. Rubisco 量と相関のある波長の組み合わせの探索例

(3) 野外に生育する樹木への適用

野外で生育したブナの個葉に対する測定結果を用いて、シロイヌナズナのデータを基に開発した指標 ($d\text{ND}_{1603,1728}$) のパフォーマンスを評価した。

ブナの Rubisco 量はシロイヌナズナと比較す

ると遥かに高く、4.27 から 34.1 g m⁻² (平均 15.6 g m⁻²) であったものの、弱いながら相関を確認することができた。続いて、ブナの計測結果のみを用いて、Rubisco 量と相関のある波長の組み合わせを探索したところ、882 nm と 2357 nm における 1 次微分値の差 (dD_{882,2357}) を説明変数として指数近似した場合に決定係数が最も高かった (R²=0.820)。しかし、dD_{882,2357} では、ブナよりも低い値に集中しているシロイヌナズナの Rubisco 量を推定することはできず、決定係数は 0.013 であり、汎用性は確認できなかった。

(4) まとめ

本研究では、光合成能力を評価する新たな分光反射指数を光合成の鍵酵素である Rubisco に求め、この反射指数を明らかにするためにシロイヌナズナの Rubisco 変異体を用いて研究を進めた。その結果、dND_{1603,1728} がシロイヌナズナの Rubisco を高い精度で再現することができた。しかしながら、本指数とブナの Rubisco 量との関係精度はまだ低いため、今後はこの精度を上げていく必要がある。

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 1 件)

- ① Quan Wang, Rei Sonobe Tracing photosynthetic electron transport rate based on hyperspectral reflectance. IEEE IGARSS 2016, 1723-1726, 査読有, DOI:10.1109/IGARSS.2016.7729441.

[学会発表] (計 5 件)

- ① 菌部礼、片畑伸一郎、王権、三浦雄太、松田祐輝 分光反射特性を用いた Rubisco の評価 日本写真測量学会平成 28 年度秋季学術

講演会 2016 年 11 月 11 日 都久志会館 (福岡県福岡市)

- ② 三浦雄太、片畑伸一郎、王権 分光反射特性によるシロイヌナズナの遺伝子欠損個体及び野生型個体の光合成能力評価 第 6 回中部森林学会大会 2016 年 10 月 22 日 三重大学 (三重県津市)

- ③ 松田祐輝、片畑伸一郎、王権 分光反射特性によるブナの Rubisco 量と活性評価 第 6 回中部森林学会大会 2016 年 10 月 22 日 三重大学 (三重県津市)

- ④ 田村実加、王権、片畑伸一郎 シロイヌナズナ Rubisco 欠損変異体を用いた Rubisco 量および活性推定における最適波長選択 第 127 回日本森林学会大会 2016 年 3 月 28 日 日本大学 (神奈川県藤沢市)

- ⑤ 田村実加、王権 分光反射率を用いた個葉における Rubisco 量の推定 第 5 回中部森林学会大会 2015 年 10 月 3 日 静岡大学 (静岡県静岡市)

[図書] (計 0 件)

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

王 権 (Wang, Quan)
静岡大学・農学部・教授
研究者番号：50402235

(2) 研究分担者

片畑 伸一郎 (Katahata, Shin-Ichiro)
静岡大学・農学部・特任助教
研究者番号：80648395