

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580209

研究課題名(和文) 針葉樹特異的な光合成制御機構の解明と育種への応用

研究課題名(英文) An analysis and application of the regulation of photosynthesis specific to conifers

研究代表者

津山 孝人(Tsuyama, Michito)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：10380552

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：針葉樹は、低温などの厳しい気象条件に見舞われる北半球高緯度地方にも生育することができる。針葉樹(裸子植物)は、被子植物よりも環境条件に対する耐性が高いのかも知れない。本研究では、裸子植物および被子植物を含む計101種類の植物を用いて、光合成の制御機構を調べた。その結果、裸子植物は葉緑体チラコイドにおける酸素への電子伝達 - メーラー反応 - の能力が被子植物よりも高いことが分かった。メーラー反応は裸子植物において、太陽光が植物にとって過剰になるようなとき、光合成電子伝達鎖の還元レベルを低減する役割を担うと考えられた。

研究成果の概要(英文)：As a general tendency of conifers (a main component of gymnosperm genera), many of them grow in forests in the mid- to high-latitude regions of the Northern Hemisphere where severe climatic conditions such as chilling are often experienced. Conifers may be required to be more tolerant than angiosperms to the surrounding severe conditions. In this study we focused on photosynthesis, because photosynthesis is one of the most sensitive process to stress factors among diverse biological processes in plants. Using total 101 plant species including various types of gymnosperms and angiosperms, we analyzed regulation mechanisms of photosynthesis. Consequently, it was found that gymnosperms have higher capacity for electron flow to oxygen in the chloroplasts' thylakoids than angiosperms. This difference was attributed to a difference due to electron flow dependent on the Mehler reaction.

研究分野：森林科学

科研費の分科・細目：森林科学

キーワード：針葉樹 裸子植物 被子植物 光合成 酸素 メーラー反応 ストレス耐性

1. 研究開始当初の背景

4~5億年前に植物(緑藻類)が陸上に進出して以来、陸上植物の主役はコケ類、シダ類、裸子植物、そして被子植物と入れ替わってきた。恐竜の時代には繁栄した裸子植物であったが、被子植物が果実を媒介とする繁殖様式を進化させ生育場所を拡大した結果、裸子植物は被子植物との生存競争に敗れ、裸子植物は徐々にその生育場所を追われるようになった。現在の地球上では、植物の生育に適した温暖な地域は被子植物が占め、裸子植物は寒冷な地域で細々と生き延びるに過ぎない。少なくとも、温暖な地域に裸子植物を主要構成要素とする大規模な森林は発達しない。種数でもそれは明らかで、現存する被子植物が約27万種であるのに対し、裸子植物は僅か800種程度に過ぎない(針葉樹は約600種)。しかし見方を変え、被子植物は地球上の植物の主役となったが、寒冷な地域にまでは進出できなかったとも言える。裸子植物(針葉樹)が環境ストレスに強いことは経験的に知られている。しかし、裸子植物の強さの原因は不明であった。

2. 研究の目的

光合成は環境ストレスに敏感である。光合成活性は、光、水や温度などの環境条件に反応して変動する。本研究では、裸子植物の環境ストレス耐性のメカニズムは光合成の制御にあると仮定した。裸子植物(針葉樹)特異的な光合成の制御を明らかにするために、被子植物と裸子植物の光合成の違いを調べた。

3. 研究の方法

光合成制御を調べるために、クロロフィル蛍光、葉の吸光度(A<sub>820</sub>)、酸素同位体(酸素16と酸素18)の質量分析を行った。使用した裸子植物33種(11科、23属)および被子植物68種(37科、51属)は、各々の系統樹の全体から偏りのない様にした。

4. 研究成果

(1) 図1は、葉緑体チラコイド膜における光合成電子伝達反応および生成された還元力(NADPH)の消費経路の模式図を示す。光合成電子伝達反応では、水は光のエネルギーを利用して光化学系(系II)で分解される。生成した電子は電子伝達系を経て光化学系(系I)へと伝達され、葉緑体ストロマでNADP<sup>+</sup>を還元しNADPHが生じる。電子伝達はチラコイド膜内へのプロトンの取り込みと共役しており、結果として形成されるチラコイド膜内外のプロトン濃度勾配はATP合成酵素によるATP生成の駆動力となる。生成されたNADPHとATPは炭酸固定(図1、)など様々な代謝により消費される(、)。

図2は、飽和光パルス(SP: 5,500 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)の照射に対するクロロフィル蛍光強度の変化を裸子植物のスギと被子

植物のサルスベリで比較した結果である。この実験では測定前に葉を暗適応したため、NADP<sup>+</sup>の還元を触媒する酵素Ferredoxin-NADP reductase(FNR)は失活しており、NADP<sup>+</sup>への電子伝達は起きない。飽和光照射によりクロロフィル蛍光強度は急激に上昇し、その後低下した(図2)。スギでは蛍光強度は速やかに低下したが(図2、1)サルスベリでは遅かった(2)。この結果は、スギはサルスベリよりもNADP<sup>+</sup>以外への電子伝達(代替電子伝達)の能力が高いことを示唆する。

NADP<sup>+</sup>へ電子が流れない条件下でも、酸素は電子を受け取ることができる。これを確かめるために、気相から酸素を除去した。その結果、スギおよびサルスベリのいずれにおいても蛍光の減衰は遅くなった(図2、3)。酸素除去の影響はスギの方がサルスベリよりも大きく、無酸素条件下では蛍光の減衰速度はスギとサルスベリでほとんど差がなかった(図2、3)。これらの結果は、スギはサルスベリよりも酸素依存の代替電子伝達の能力が高いことを示唆する。

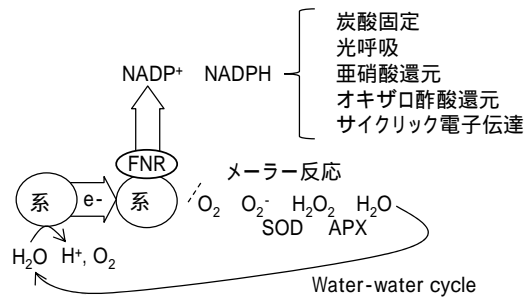


図1 光合成電子伝達の模式図

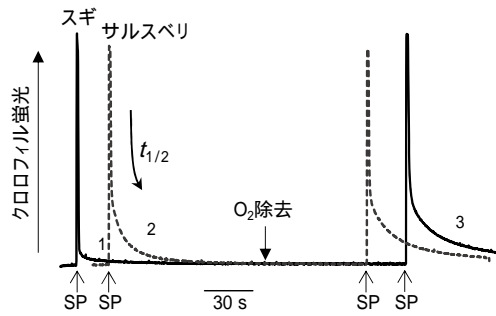


図2 飽和光パルスに対するクロロフィル蛍光強度の変化

図3は、裸子植物33種、被子植物68種、シダ植物3種について、図2に示した実験を行った結果を示す。図3Aでは、飽和光パルス照射後の蛍光減衰の半減期(t<sub>1/2</sub>)を3つのグループ毎にヒストグラムで示した。裸子植物と被子植物は半減期の分布に重なりはあるものの、ヒストグラムのピークに明確な差があった(裸子植物は0.3秒、被子植物は0.7秒)。無酸素条件下では、いずれのグループでもピークは0.8秒付近にシフトした(図3

B)。以上の結果は、一般に裸子植物の方が被子植物よりも酸素依存の代替電子伝達の能力が高いことを示唆する。なお、シダ植物の半減期は、裸子のピークにより近い値を取った。この結果は、シダの酸素依存代替電子伝達は裸子植物並みに高いことを示唆する(図3A)。

上記の酸素依存代替電子伝達についての結果は、質量分析法による総酸素吸収速度( $^{18}\text{O}_2$ の吸収速度)の測定によって確認した。すなわち、強光照射下の光合成誘導期に裸子植物では酸素吸収が検出できたが、被子植物ではできなかった。裸子植物の酸素吸収速度は、最大酸素発生速度(チラコイド膜におけるトータルの電子伝達活性に相当)のおよそ10%程度であった。

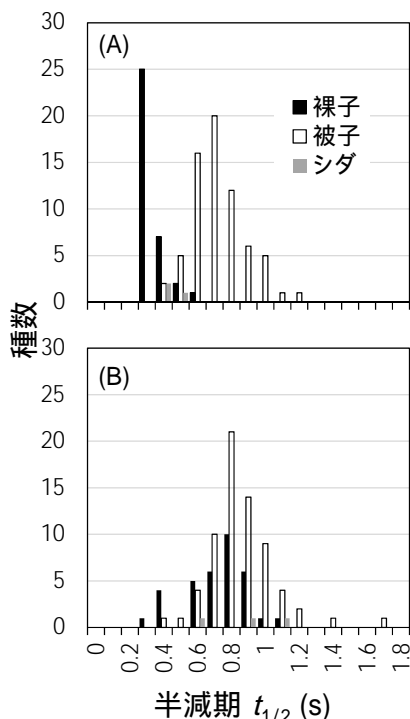


図3 飽和光パルス照射後の蛍光減衰の半減期

(2) 低温や乾燥などの環境ストレスは植物の光ストレス耐性に影響する。低温や乾燥により炭酸固定活性が抑制されると、植物は光のエネルギーを効率的に消費することができなくなる。その結果、光エネルギーは過剰になり、光合成の光阻害が生じる。重度の光阻害により植物は枯死することさえあり、いわゆる植物の‘日焼け’は光阻害が原因である。

光阻害のメカニズムは複雑であり現在も不明な点が多いが、もっとも簡潔なモデルでは、光阻害は活性酸素によって細胞の構成要素が分解されるためとされている。活性酸素(スーパーオキシド  $\text{O}_2^-$  や過酸化水素  $\text{H}_2\text{O}_2$  など)は、葉緑体チラコイド膜の光合成電子伝達反応において、Mehler(メーラー)反応によって生成する(図1、)。炭酸固定速

度の低下は、NADPHの蓄積→電子伝達鎖の過剰な還元 酸素還元(メーラー反応) 活性酸素の生成となる可能性がある。

通常、生成した活性酸素は、酵素 SOD や APX によって水へと無毒化される(図1)。メーラー反応に始まる一連の活性酸素の生成と消去は、活性酸素が最終的に水へと還元されること、電子は元々系で水を分解することによって生じたことから、water-water cycle と呼ばれている。活性酸素が速やかに無毒化・消去される限り、植物は活性酸素の害を受けない。しかし、活性酸素の生成に消去が追い付かない場合、活性酸素の害、すなわち光阻害が生じる。以上とは別に、活性酸素はタンパク質の修復を阻害することで光阻害を引き起こすとするモデルも提唱されている。いずれにしても、消去系 water-water cycle の処理能力を超えた活性酸素の生成が光阻害の原因となる。

光呼吸(図2、) オキザロ酢酸還元( : Malate valve) 系 サイクリック電子伝達( ) は、炭酸固定が阻害される条件下で NADPH の蓄積(電子伝達鎖の過剰な還元)を防止し、活性酸素の生成を抑え、光阻害を回避する役割を果たすと考えられている。一方、water-water cycle にも同様の機能が期待できる。メーラー反応自体は活性酸素を生成するが、サイクル全体として活性酸素の正味の生成がなければ(生成<消去であれば)、water-water cycle は電子伝達鎖の過剰な還元を防止することで光阻害の回避に貢献できる。

裸子植物で示唆された酸素依存代替電子伝達は、メーラー反応が主な要因であると考えられる。メーラー反応はこれまで、ハウレンソウなどの被子植物を用いて徹底的に調べられてきた。しかし、活性が極めて小さく解析が難しかった。本研究では、酸素依存代替電子伝達の能力の迅速解析法を提案し(図2) 裸子植物と被子植物に明確な差があることを見出した(図3)。シダ類は裸子植物に近い結果を示した。これは、酸素依存代替電子伝達の進化に連続性があるかは別途考慮すべきではあるにせよ、裸子植物よりもむしろ被子植物が他の植物分類群とは異なることを示唆する。今後、本研究で提唱する迅速測定法(図2)のより詳細な検討、酸素依存代替電子伝達のより大規模で系統的な解析、同電子伝達の生理的意義の解明が必要である。育種への展開を図るには、酸素依存電子伝達の(品)種間差が鍵となるが、イネの対立遺伝子の多様性を広くカバーするコレクションにおいては品種間に明確な差があった。スギやヒノキにおいては、まず、酸素依存代替電子伝達(メーラー反応)の能力に着目した精英樹の選抜が必要である。他方で、酸素依存代替電子伝達の制御因子の解明や有用遺伝子の探索も課題となる。そうした基礎的知見に基づく分子育種戦略の確立も重要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Masayoshi Shirao, Shu Kuroki, Kaoru Kaneko, Yuriko Kinjo, Michito Tsuyama, Britta Förster, Shunichi Takahashi and Murray R. Badger  
Gymnosperms have increased capacity for electron leakage to oxygen (Mehler and PTOX reactions) in photosynthesis compared with angiosperms  
Plant & Cell Physiology、査読有、54 巻、2013、1152-1163  
DOI:10.1093/pcp/pct066

〔学会発表〕(計5件)

白尾正涼、黒木衆、小長野祐太、津山孝人、被子植物と裸子植物の光合成制御の違い、日本植物生理学会、2012年03月18日、京都市  
津山孝人、白尾正涼、高橋俊一、Murray Badger、針葉樹のメーラー反応、日本森林学会、2013年03月27日、盛岡市  
白尾正涼、津山孝人、高橋俊一、Murray Badger、裸子植物は被子植物よりもメーラー反応の能力が高い、2013年03月22日、岡山市  
日田盛華、白尾正涼、津山孝人、裸子植物の光合成における酸素還元反応(メーラー反応)の解析、日本植物生理学会、2014年03月22日、富山市  
津山孝人、日田盛華、白尾正涼、針葉樹における光合成の光防御機構、日本森林学会、2014年03月27日、さいたま市

〔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  
津山孝人(TSUYAMA, Michito)  
九州大学・農学研究院・助教  
研究者番号：10380552

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：