

植物の強光適応における光呼吸系の役割

(応用生物学研究室) 碓山菜々子

1 序論

光合成の研究過程で、CO₂濃度が低下するとO₂を消費してCO₂を発生させる代謝系が発見され(1955年)、その代謝は光呼吸(photorespiration)と名付けられた。しかし、光呼吸は光合成と逆のガス代謝であるので、光合成の効率を低下させる無駄な代謝であると見なされ、光呼吸系を抑制する農薬の開発や光呼吸系が作動しない変異株の探索が世界中で展開された時期があった(1970-1980年代)。ところが光呼吸系を抑制すると、いずれの場合にも植物は枯死することがわかり、理由は不明ながら光呼吸は植物にとって必要な代謝らしい、と見なされるようになった。その後光呼吸は、CO₂の供給が制限された時に葉の内部でCO₂を発生させて活性酸素の生成を防ぐことにより、植物を光傷害から守る非常に重要な代謝系であることが、木崎ら(1996年)により証明されている。

ところで、室内など弱光下で育てた植物を直射日光に当てると葉が光傷害を受けて褐変化するが、中程度の光強度のもとでしばらくおくとそのような光傷害は起こらない事は、日常的に経験する。この場合植物は強光に適応したと言われているが、その仕組みはまだ解明されていない。本研究では、植物の強光適応の際に光呼吸系がどのような役割を果たすかを解明するために、インゲンを用いて光呼吸活性を定量的に評価する手法を新たに開発した。従来光呼吸の活性は、強光を照射した後に暗黒下に置きその時に放出するCO₂量を測定していた。しかしこの方法は定量性が低く、暗黒下でないと観察されない、等の問題点があった。そこでクロロフィル蛍光分析を用いて光呼吸活性を定量的に評価する事にした。

2 実験材料と方法

(1) 実験に用いた植物

本研究では、インゲン、ヒメジョオン、ツバキ、イネ、ヒエを材料とした。インゲンは種子を鉢に植え、発芽後、弱光(100 μmol m⁻² s⁻¹)または強光(1200 μmol m⁻² s⁻¹)下で育てて実験材料とした。ヒメジョオン、ツバキ、ヒエは本大学構内に生息するものを用いた。イネは種子を水を入れたポットに植え、出穂前の成育段階のものを実験材料とした。

(2) クロロフィル蛍光分析

クロロフィル蛍光分析は、WALZ社のPAM-2000を用いた。この装置を用いると、光照射条件下におけるYield(吸収された光のうち、光合成に利用されたエネルギーの割合)が測定でき、またそのYield値を用いて、葉緑体内の電子伝達速度が推定できる。また、光強度の測定には、LI-COR社のLI-250ライトメーターを用いた。

(3) 光呼吸活性の定量的評価

植物細胞において、O₂を吸収する反応のうち、ミトコンドリアの酸素呼吸はcytochrome oxidaseで触媒されているが、そのO₂に対する親和性は高く空気中のO₂濃度として2%までに飽和することが分かっている。また葉においては、mehler反応(asada反応: PSから電子が

O₂に渡されてスーパーオキシドが生成する反応)も同じく空気中のO₂濃度として2%までに飽和することが分かっている。一方、光呼吸系でO₂を要求するRuBisCOのoxigenase反応及びglycolate oxidaseのO₂への親和性は非常に低く、空気中のO₂濃度に飽和点はなく100%まで活性は増加し続けることが分かっている。従って、21%O₂条件下における電子伝達速度と2%O₂条件下における電子伝達速度との差をとれば、それを光呼吸系の寄与とみなすことができる。

3 結果

(1) インゲンにおける光呼吸能の定量的評価

インゲンの葉を、通常の空気、21% O₂, 2% O₂の3条件下で、光強度を変えて葉緑体電子伝達速度(ETR)を測定したところ、通常の空気では、光強度が増すにつれてETRが増加するが、21% O₂条件下でもCO₂が全く含まれていないにもかかわらず、空気中の値の約2/3のETR値が観測された。2% O₂ではごくわずかにETR値が増加した。21% O₂と2% O₂との測定値の差は、主に光呼吸系の寄与と見なすことができる。すなわちクロロフィル蛍光分析によって、光呼吸能が定量的に評価できることが明らかとなった。

(2) いくつかの植物における光合成と光呼吸活性の実測

次に、実際の葉でどの程度光呼吸系が作動しているかを調べるために、21% O₂と2%O₂との条件下でCO₂の濃度を変えて電子伝達速度を測定した(図1)。図1(a)では、光強度が500 μmol m⁻² s⁻¹で、CO₂濃度が400 ppm以下の濃度では21% O₂と2% O₂とでETRに差があり、光呼吸系が作動していることが分かる。これは、CO₂濃度が高ければ細胞内のCO₂濃度も高くなり、CO₂が電子のacceptorとして機能し光合成が行われること、CO₂濃度が低くなれば細胞内に届くCO₂も少なくなるために、光呼吸系が作動して内部で発生したCO₂が電子伝達を駆動していること、を意味する。

図1(b), (c)では、光強度を、1000, 1500 μmol m⁻² s⁻¹と増加させた条件下のETR値であるが、図1(a)とは異なり、CO₂濃度の高い条件下でも光呼吸が機能していることが分かる。これは光が強くなると光化学系の速度が大きくなり、外部から拡散してくるCO₂が細胞内で相対的に不足するので、光呼吸系が作動すると解釈できる。

これらの結果は、通常の葉においてもCO₂濃度の低いとき、あるいは光強度が強いときに光呼吸系が作動していることを示している。従来は光呼吸系が作動するのは水ストレス下で気孔が閉じてCO₂が外部から全く入ってこない場合など、特殊な環境条件下でのみ観察される現象だという見解があったが、上記の結果は、通常の条件下でも光呼吸系が作動していることを示すもので、新たな知見である。

図1と同じ条件で、ツバキ、イネ、ヒエについても光呼吸系の寄与について調べてみた所、以下のような結果が得られた。

ツバキでは、葉の表面にはクチクラ層が発達し気孔も全くなく、気孔は葉の裏面のみに分布するが、どのCO₂濃度でも、また光強度が500~1500 μmol m⁻² s⁻¹のいずれでも、光呼吸系が作動していることが明らかとなった。イネでは、葉の両面に気孔が発達し、また細胞間隙がよく発達しているので、ツバキ、インゲンに比べると光呼吸活性は高くなかった。ヒエはC4植物であり、特別なCO₂濃縮機構があるので、光呼吸の活性はほとんど検出されなかった。

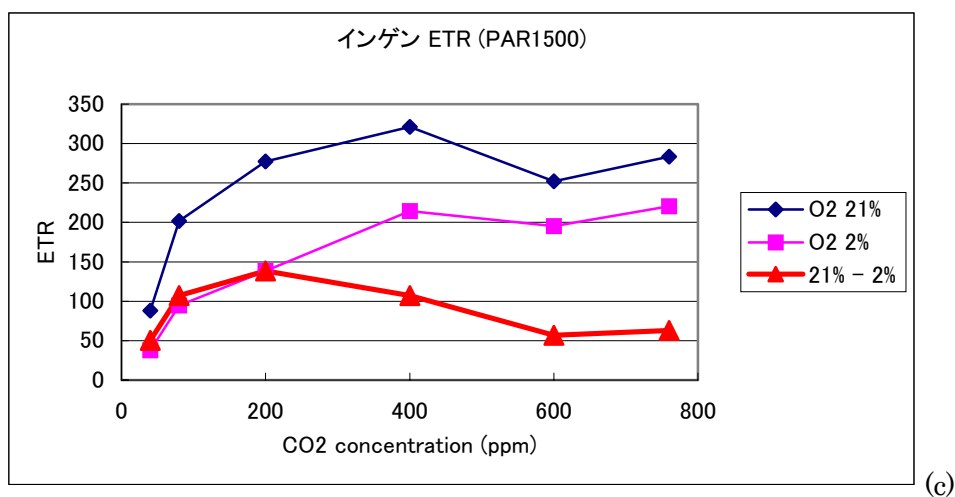
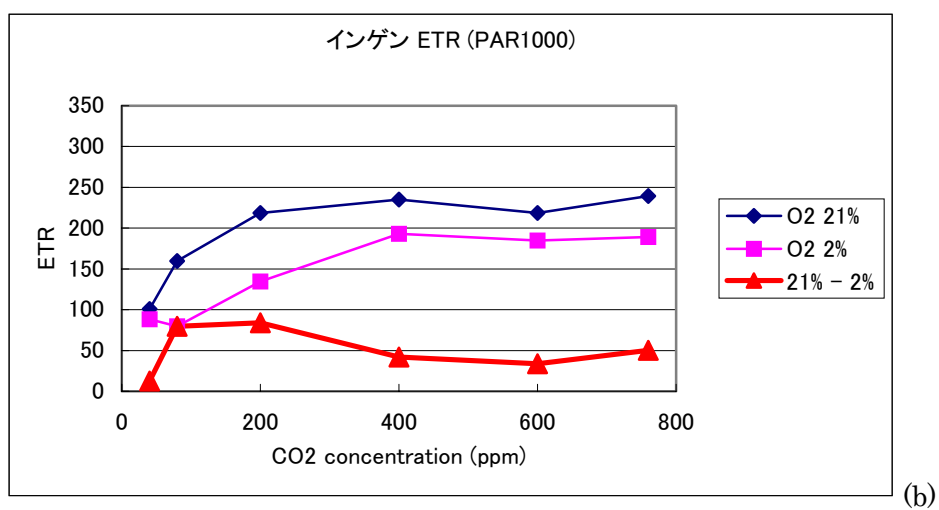
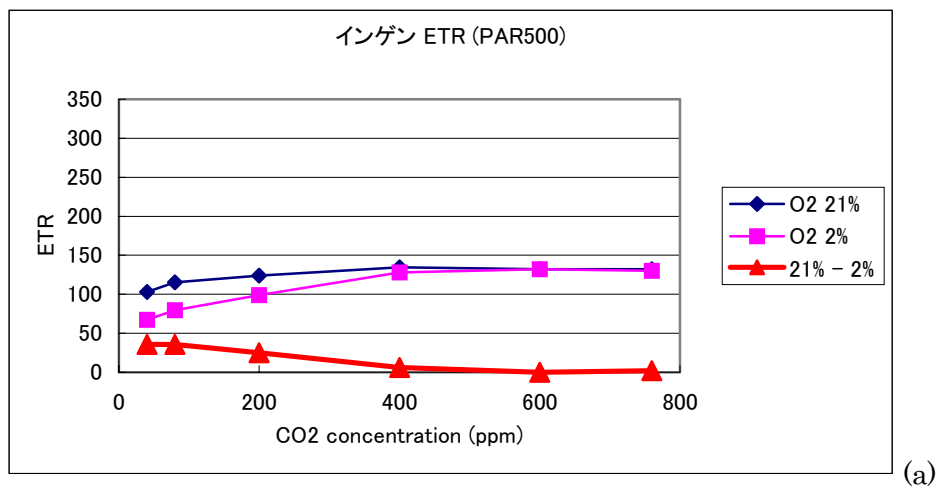


図1 . 21% O₂ と 2% O₂ との条件下で、CO₂ の濃度を変えた ETR

(3) 強光適応の実測

植物に強光が照射された時、光傷害の最初の兆候は光化学系 (PS) の活性低下であり、また、PS の活性はクロロフィル蛍光分析により Fv/Fm 値を測定することで推定できることが

分かっている。そこで、インゲンを弱光（約 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）下で 14 日間育てた後、夏の直射日光の強光（ $1500\text{-}1700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）下において、PS 活性がどのように影響を受けるかを測定した。

その結果、強光照射 60 分後に PS 活性は低下するが、90 分後にはほぼ回復する事が明らかになった。

（４）強光適応過程における光呼吸能の増大

強光適応の過程に、光呼吸系の誘導が含まれているかどうかを調べるために、弱光下で育てた葉と、強光に当てて耐性がでた葉とについて、光呼吸系の活性を比較した。弱光下で 14 日間育成したインゲンでは 21%-2% の ETR の値は $10 \mu\text{mol e}^{-} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ までしか上がらなかったが、強光適応した葉では $20 \mu\text{mol e}^{-} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ まで上がっており（図 2）強光に照射し耐性がでた葉では光呼吸活性が高くなっていることが明らかである。

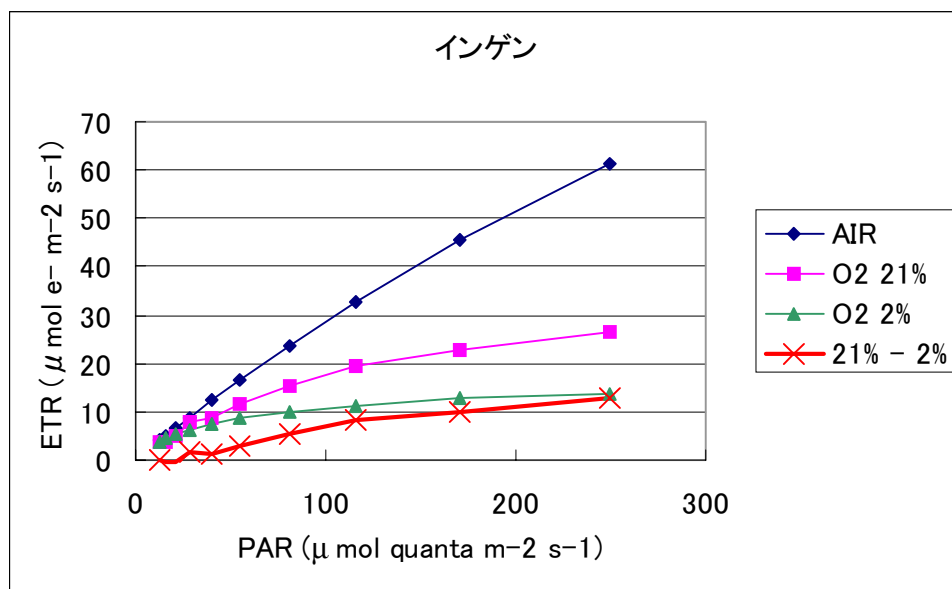


図 2 . Low Light 下で 14 日間育成インゲンを High Light 下に 1 日置いた場合の ETR

4 考察

本研究では、クロロフィル蛍光分析を用いて、光呼吸の活性を定量的に評価する手法を確立した。その手法により、インゲン、ヒメジョオン、ツバキ、イネ、ヒエの葉を、いろいろな濃度の CO_2 ・光強度の違いの下において光合成を測定したところ、 CO_2 濃度の低いとき光強度の強いときあるいは葉の構造が CO_2 の拡散に適していないとき、光呼吸が行われていることを確認することができた。また、弱光で育てた葉に強光を照射すると 2 時間後には強光適応が観察されること、その強光適応した葉には光呼吸活性が高まっていること、を明らかにした。

これらの知見は、光呼吸を定量的に評価することにより得られたものであり、本研究の成果である。また強光適応に光呼吸の活性化が含まれることは重要な発見であり、今後はその強光適応の分子機構を解明していく必要がある。