

ケナフが示す高い光合成速度の解析 葉の構造観察による葉内への CO₂ 供給の研究

平成13年3月

分担研究代表者 村上 悟
神奈川大学理学部総合理学研究所

研究協力者

近藤晃次 神奈川大学理学部応用生物科学科
鈴木祥弘 神奈川大学理学部総合理学研究所
釜野徳明 神奈川大学理学部総合理学研究所

序論

良質パルプ繊維を持ち、木材に代わるパルプ源としてしばしば用いられる植物にケナフ (*Hibiscus cannabinus* L.) がある。我々の研究からケナフは日本の気候下、耕地で熱帯雨林に匹敵する高い一次生産速度を示すことが明らかになってきた。ケナフの一次生産は、7月8月の速い生長と生長後にケナフがもつ沢山の葉によって行われる9月10月の光合成により支えられている。本研究では、ケナフについて7月8月に認められた生長を支えていると考えられる光合成速度を解析した。本研究では特にこの時期の高温・高光強度で光合成速度を律速する葉内へのCO₂供給をケナフ葉の形態に着目し検討した。

材料と方法

7月8月に高い生長速度が確認されている中国産ケナフ品種「青皮3号」を用いた。種子に吸水させ、暗所25℃の室温で発芽させた。発芽後、温室中で25℃で育苗した。約1ヶ月後、苗を野外の圃場に移植した（以下、野外個体）。

Li-6400 (portable photosynthesis system ; LI-COR 社)を用いて、5月から8月にかけて異なる生長段階にある野外個体の光合成速度の光強度依存性、播種後の経過日数毎の最大光合成速度を測定した。測定は温度30℃、CO₂濃度400ppmで行った。

葉の組織構造を観察する為に、播種後高い最大光合成速度を示した個体から完全展開葉を採取した。葉横断面の観察を行うため採取した葉を適当な大きさに切り出した後、ピス（木髓）に挟み Plant Microtome（日本医化器械製作所）を用いて5μmの切片を作成した。切片をサフラニン染色し光学顕微鏡で観察した（参考文献1）。葉の表皮組織を観察するため表皮をピンセットで剥し取り、光学顕微鏡で観察した。より広い範囲で気孔の分布を観察するために、スンプ法^{注1}）を用いて表皮組織のレプリカを取った（参考文献2）。気孔を型取りした後、光学顕微鏡で観察し、観察像をデジタルカメラで撮影、画像処理ソフト（NIH Image）を用いて1平方mm当りの気孔密度を測定した。夏季に野外で栽培した個体からは葉の裏表各90回、温室で栽培した個体からは各10回を測定し、平均値と標準偏差を算出した。野外個体の気孔観察および気孔密度の測定は8月に行った。

圃場の植物体と光合成速度、葉の形態を比較するため、9月より25℃に設定した低温・低光強度の温室中で栽培した（以下、温室個体）。気孔の観察は播種後2ヶ月目に行った。

注1）透明セルロイド板に酢酸アミルを適量滴下してセルロイド板の表面を軟化させた後、表皮の表面に密着させて型取りする方法。今回はスンプセット（志賀昆虫普及社）を用いた。

結果

・光合成速度

設定温度 30℃、CO₂ 濃度 400ppm で光合成速度の光強度依存性を測定した結果を、横軸を光量子密度 (0~2000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)、縦軸を光合成速度として光—光合成曲線に表し比較した (図 1)。5 月、6 月、7 月ではほぼ同じ曲線を示し、光量子密度 1000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ でほぼ飽和した。8 月には、5 月、6 月、7 月と大きな差の認められない初期光合成速度を示したが、測定に用いた最大光量子密度 (2000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) になっても飽和せず、高い最大光合成速度を示した。

最大光量子密度で測定した最大光合成速度を、横軸が播種後の日数、縦軸が光合成速度として比較した (図 2)。5 月、6 月、7 月は光合成速度が 25 $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 前後の値を示したが、8 月に入ると急に高くなり、35 $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 前後から 40 $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 近くにもなった。しかし、8 月の下旬になると急激に低下するということが観察された。

温室個体では完全展開葉が出始めてから 12 月まで光合成速度を測定した。9 月に播種してから約 2 ヶ月目の 11 月初頭に最も高い最大光合成速度を示した。この時期に測定した光—光合成速度の結果を野外個体の測定結果と共に図 1 に示す。他の時期 (10 月、12 月) の最大光合成速度は 15 $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 前後であった。夏期に栽培した野外個体に比べて光合成速度は明らかに低いことが観察された。

・葉の構造

ケナフの葉は厚さ 0.19~0.24mm であり、一層の表皮組織、一層の柵状組織、その下に 3~4 層の海綿状組織さらに一層の裏面表皮組織から成っていた (図 3)。柵状組織、海綿状組織共に層の厚さは各 0.07~0.10mm であり、ほぼ同じ厚さであった。柵状、海綿状組織の細胞中には細胞壁に密着した、それぞれ 25/cell、15/cell 以上の多数の葉緑体が認められた。柵状組織、海綿状組織の境界付近には 12~17 μm の維管束が認められた (図 4)。維管束の周囲の細胞は他の葉肉細胞と比較して大きな差異は認められなかった。

ケナフ葉の気孔を成す一对の孔辺細胞には 5~10 個の葉緑体が観察できた (図 5)。気孔の長さは 17~20 μm であった。孔辺細胞の大きさは気孔の開閉状態によって多少異なると思われるが、気孔が 5~6 μm 開いた状態で測定した結果、幅 7 μm 、長さ 24 μm となり、草本植物の中では比較的小さいと言える。ケナフ葉の下面、上面にはそれぞれ 353 cells/mm² と 235 cells/mm² の密度で気孔が存在していた (図 6-A,B)。葉下面の気孔密度は上面の 1.5 倍であった。温室個体では気孔密度は下面で 242、上面で 140 となり、それぞれ 8 月の野外個体の気孔密度の 70%、60% であった (図 6-C,D)。また、上面と下面の気孔密度の差が顕著で、下面の密度は上面の密度の 1.7 倍となった。気孔密度の測定結果を表 1 に示す。

表1 気孔密度の測定結果 (平均±標準偏差 mm²)

	葉下面	葉上面
野外個体 (n=90)	353 ±54	235 ±40
温室個体 (n=10)	242 ±20	140 ±9

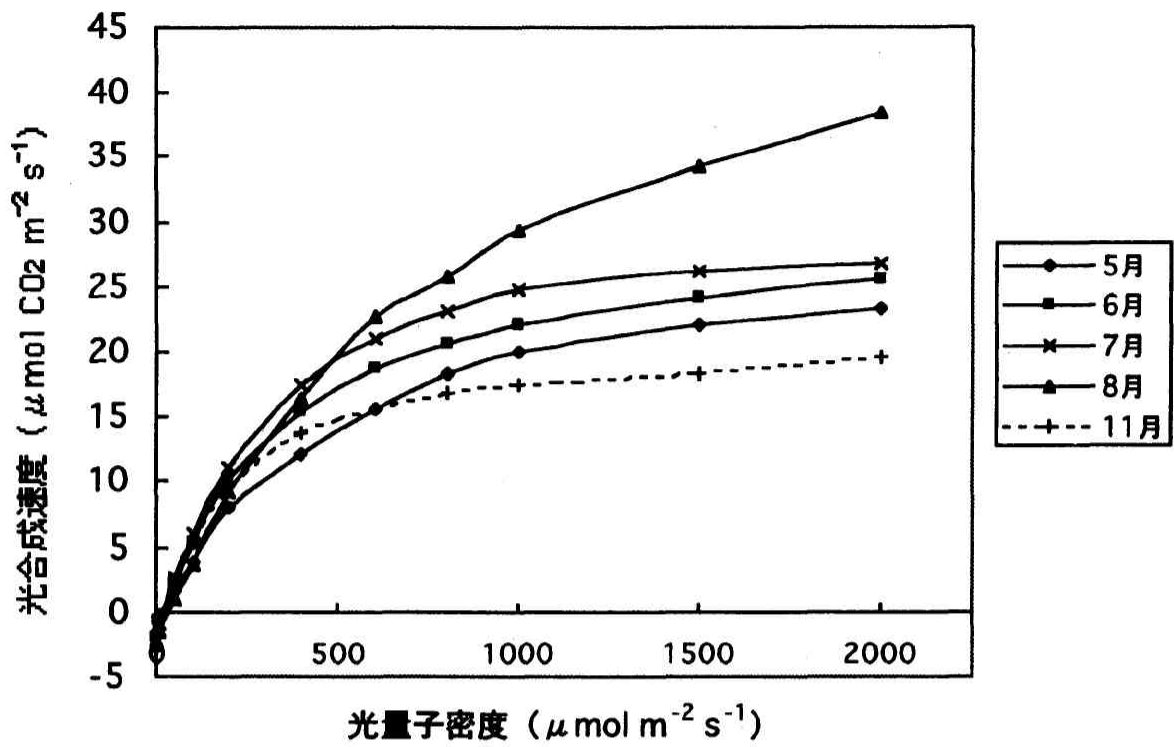


図1. ケナフの光-光合成曲線 (野外個体; 5~8月、温室個体; 11月)

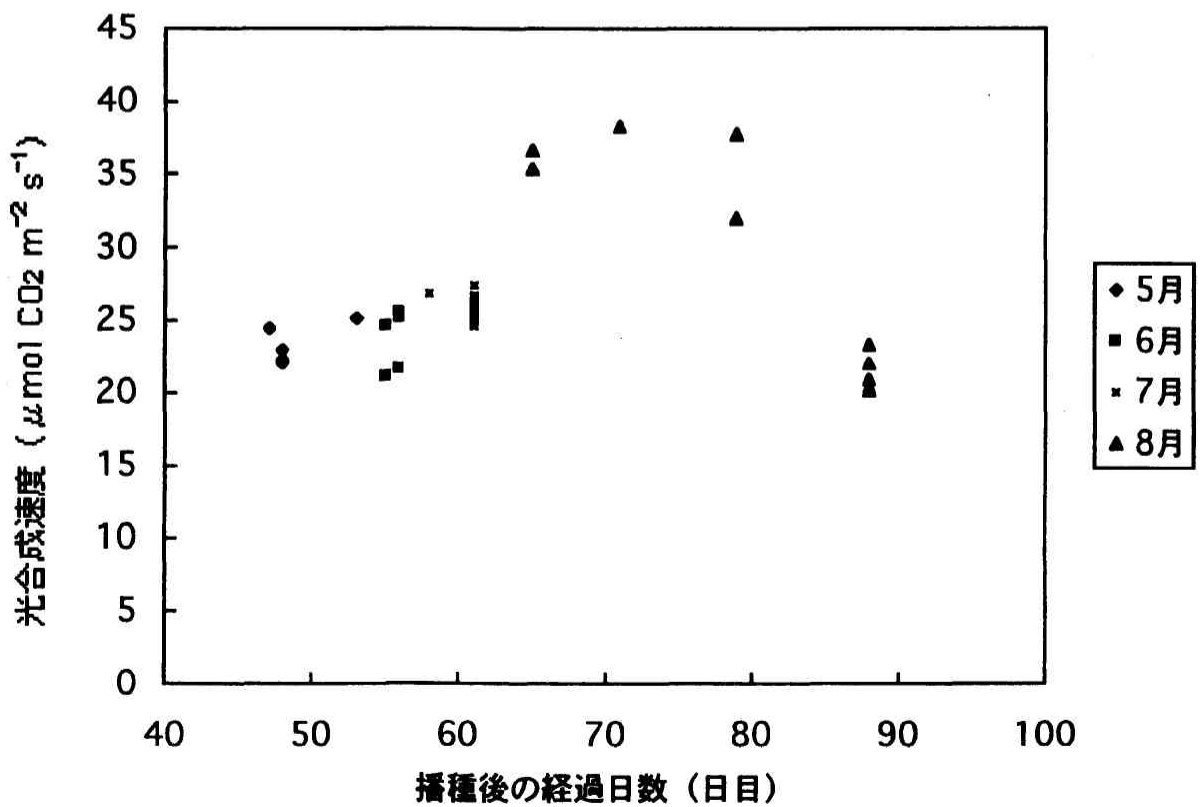
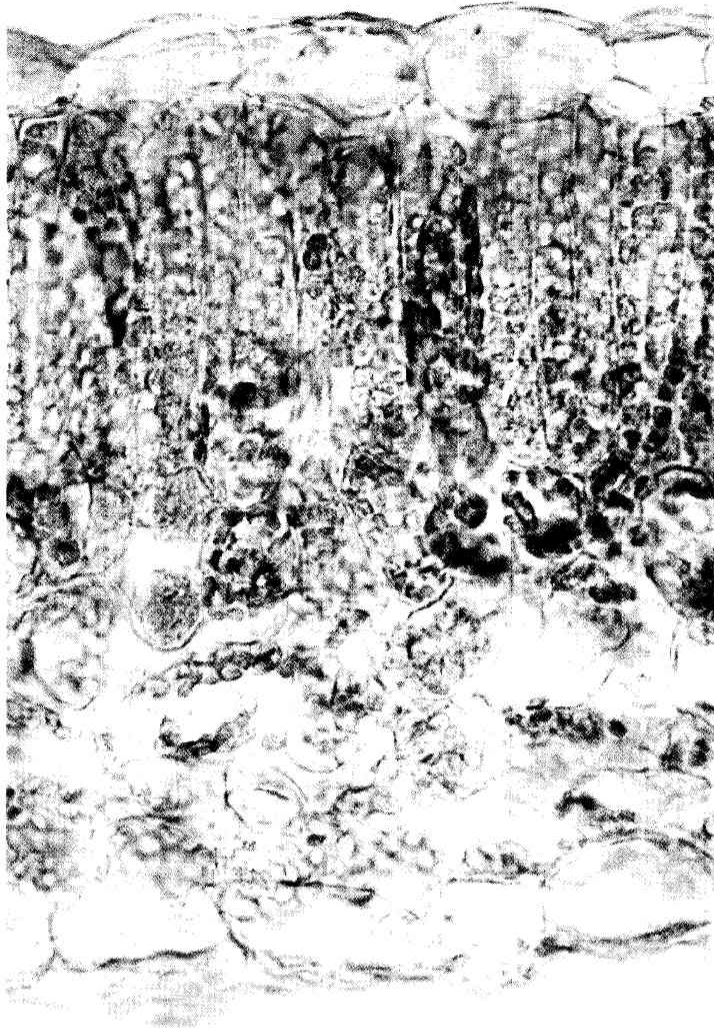


図2. ケナフの5月から8月の最大光合成速度

図3 ケナフ葉の断面像



表皮組織

柵状組織

海綿状組織

裏面表皮組織



図4 維管束の断面像
(木部をサフラニン染色)

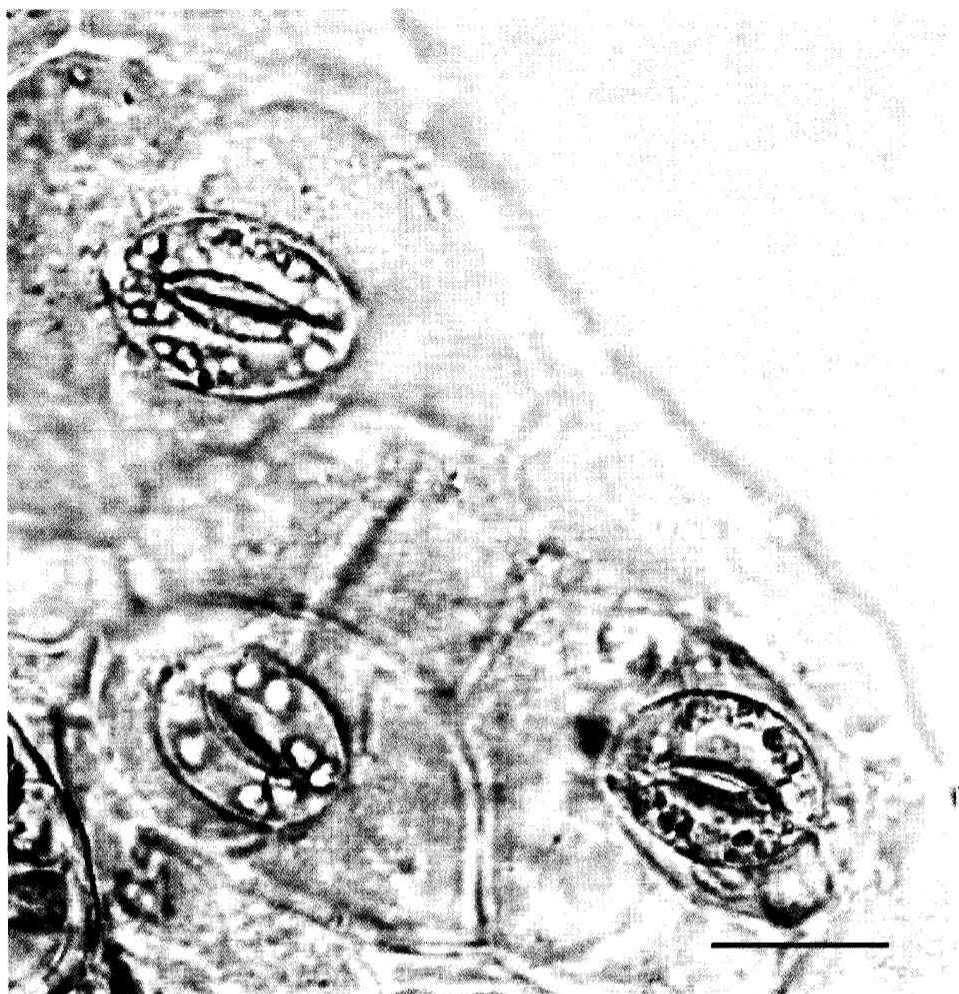


図5 直接観察した気孔像
(右下のスケールバーの長さは $20\mu\text{m}$)

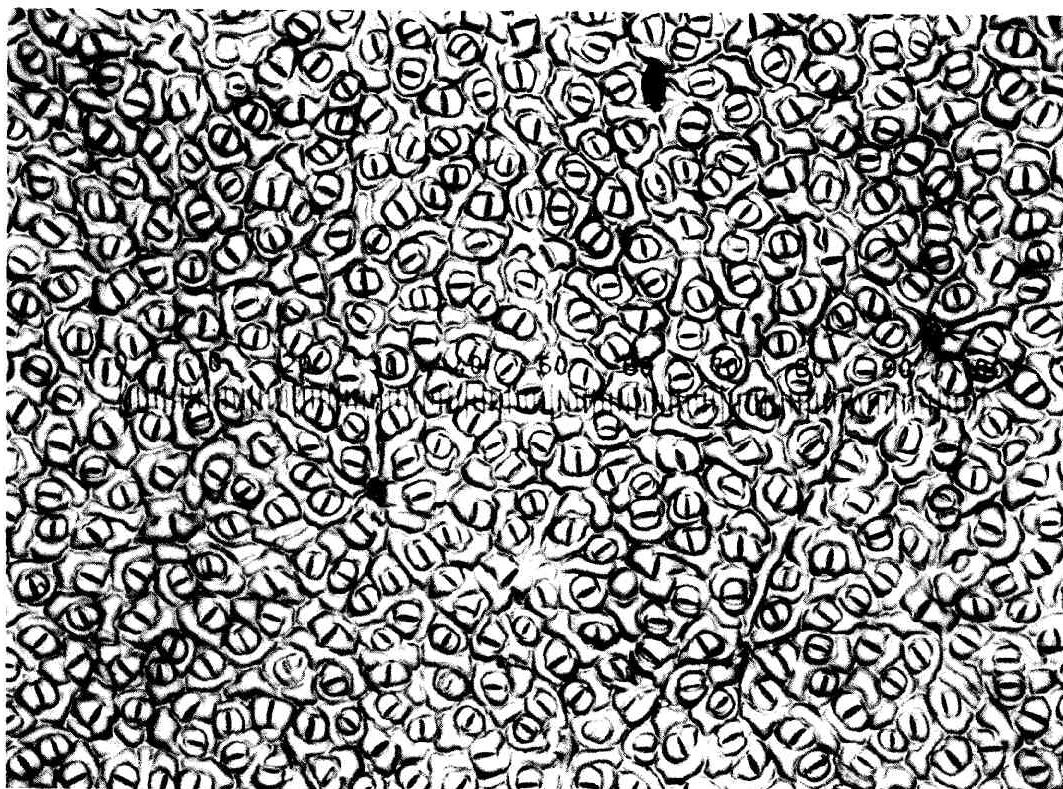


图6-A 野外个体 葉下面

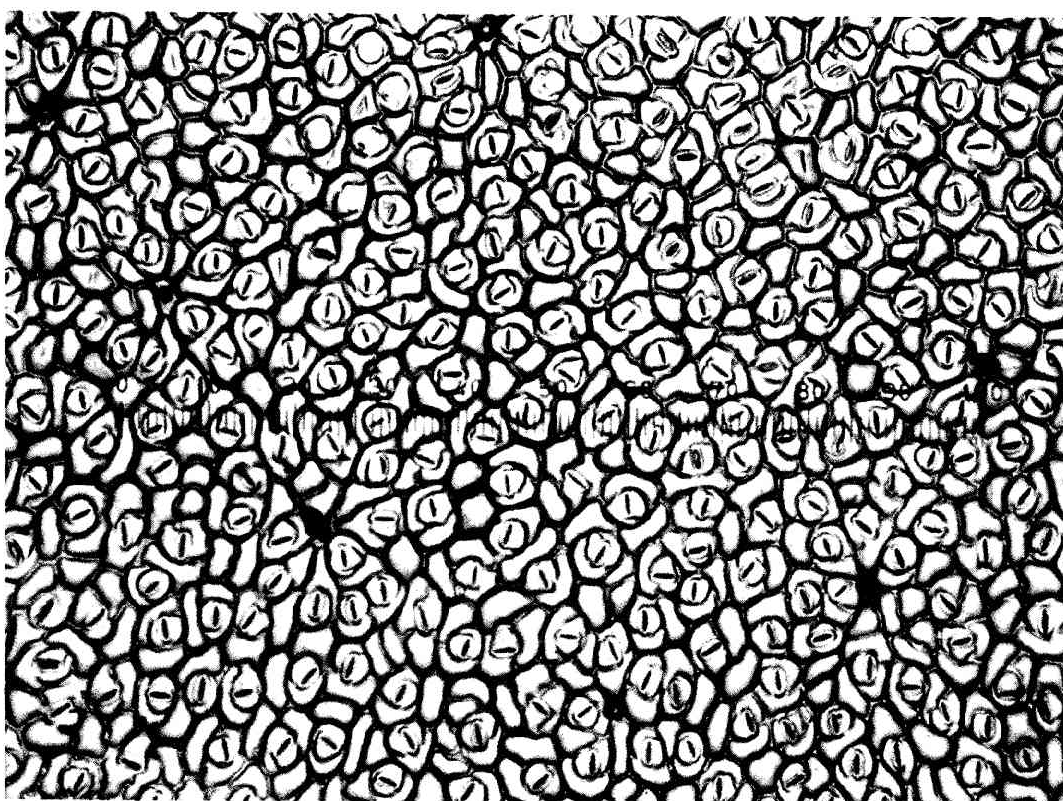


图6-B 野外个体 葉上面

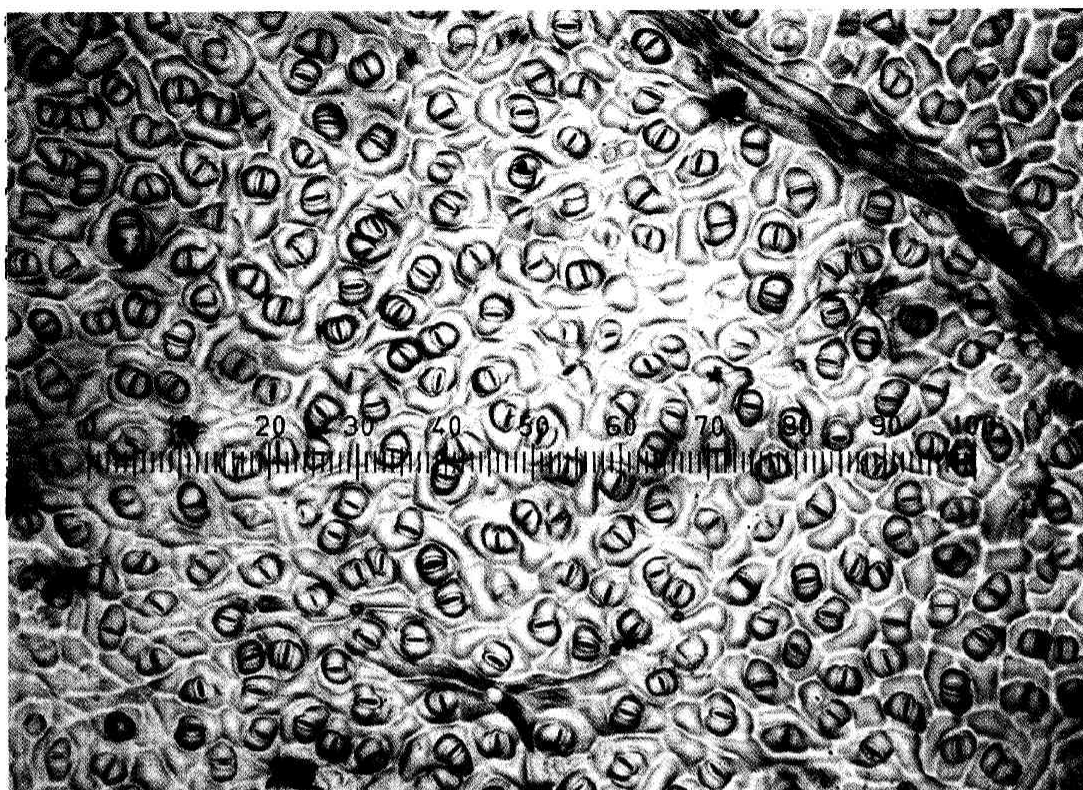


図 6-C 温室個体 葉下面

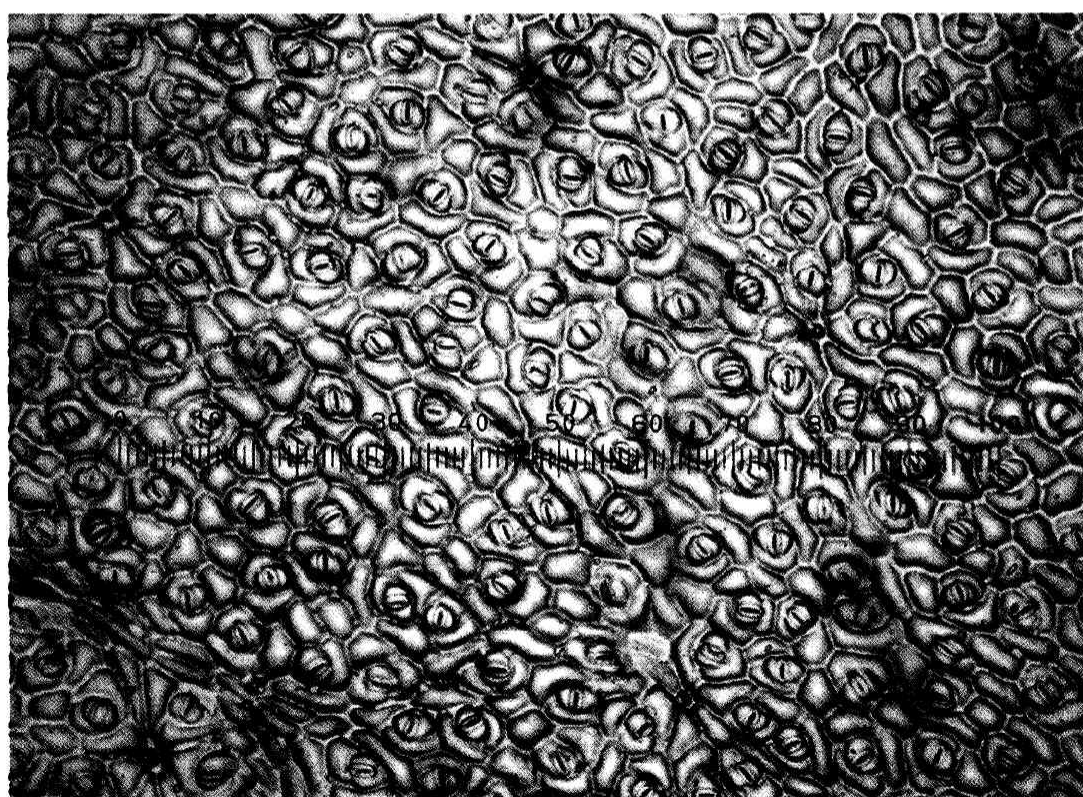


図 6-D 野外個体 葉上面

(画像中のスケールは接眼マイクロメータ)

考察

一般的に飽和光の条件下では外気の CO_2 濃度が光合成速度を律速する要因となる(参考文献3, 4)。図1に示したグラフから、5月から7月の生長段階では約 $1000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上の高光強度では光合成速度が定常状態に達していることから、 CO_2 濃度が光合成の限定要因となっていると考えられる。しかし8月では高光強度下においても緩やかではあるが光強度に比例して光合成速度は増加し、高温・高光強度の条件下において光合成速度が比較的律速されることなく高い値を示している。最大光合成速度を比較したグラフ(図2)でもその違いは明らかであり、8月時の野外個体の葉は特に高い CO_2 親和性をもっている事が分かった。葉内への CO_2 供給が不足し、光合成が律速されるこのような条件下で高い CO_2 吸収を維持する植物の多くは、 C_4 回路と呼ばれる CO_2 濃縮系をもつ。 C_4 回路の有無については後に葉の構造観察から検討した。図2に示された結果では、8月の後半に最大光合成速度が低下しているが、光合成速度が $40 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 近くになった頃と比べて気温が低下し始め、また播種後90日近く経つので老化による可能性が考えられる。7月以前の光合成速度の温度依存性については、外気温を測定機器で制御していたため、温度に依存した酵素活性の違いなどによる光合成の短期的な活性の違いは無いと考える。

ケナフの葉断面の観察から、 C_4 植物に特徴的な維管束鞘細胞は観察されず、また層状の柔組織(柵状組織、海綿状組織)を成しており、典型的な C_3 植物の構造をもつことが分かった(図3, 4)(参考文献5)。 C_4 回路に必要な酵素群の発現の有無など、さらなる検討の必要はあるが、形態学的な特徴からは、ケナフが C_4 植物でないことが強く示唆された。

気孔の作用は植物の細胞間隙への CO_2 供給を制限しており、気孔拡散抵抗は光合成を律速する最も重要な要因の一つとして知られている。以上のことを踏まえ、ケナフの気孔の形態と分布を調べた。ケナフでは一对の孔辺細胞からなる一般的な気孔が観察できた。ケナフの葉は両面に気孔が観察された。植物は一般的に葉下面にのみ気孔をもつことが知られている。ケナフと同じく一年生植物でありまた葉両面に気孔をもつ植物は、 C_3 植物ではヒマワリ、 C_4 植物ではトウモロコシが例に挙げられる。ヒマワリは葉下面に 170 cells/mm^2 、葉上面に $70\sim 120 \text{ cells/mm}^2$ 、トウモロコシでは葉両面に各 100 cells/mm^2 程度の気孔をもっていると云われている(参考文献6)。ケナフ葉の気孔密度の測定結果から、ケナフの葉はその両面共に他の草本植物と比べて非常に多くの気孔が分布している事が分かる。また葉が薄いことから葉肉細胞と外気との拡散経路が短いことによって拡散抵抗は低くなると考えられ、気孔が多く分布していることから葉内と外気の間では非常に効率良くガス交換が行われていることが考えられる。この結果はケナフ葉が高い気孔コンダクタンスをもち、そのため葉内の CO_2 濃度が高い状態に保たれていることを示唆している。

ケナフ葉は、光合成が律速されるような高温・高光強度の条件下において C4 回路をもたずに高い CO₂ 吸収速度を維持する要因として、このような形態的特徴が大きく貢献していると考えられる。

温室個体では野外の個体に比べて気孔数が明らかに減少していた。温室内の栽培環境は、夏の野外に比べて低温・低光強度であり、野外の個体に比べて十分な光合成が行えないと考えられる。実際に光合成速度は野外個体に比べ明らかに低いことが確認できた。気孔の数を多く持つことによってその分だけ蒸散の量も増えるため、本研究での温室内の栽培条件では余分な損失になる可能性が大きい。ケナフ葉は、気孔密度を環境に応じて柔軟に変化させることで、効率的な CO₂ 吸収を行っている可能性を示唆している。

本研究では、夏期の野外と 9 月以降の温室内といった異なる環境条件で栽培した個体間で気孔の分布の変化を確認できたのだが、この結果も考慮に入れるとケナフ葉の気孔密度は 5 月から 8 月の各成長段階においても異なることが予想される。今後、高い気孔密度が実際に葉内のガス交換に対する影響をより明確にするために、最大光合成速度を示す高光強度の条件下で葉の細胞間隙の CO₂ 濃度の変化を測定することが必要であり、また、各生長段階での光—光合成速度の結果と照らし合わせてケナフの生長段階ごとの気孔密度の変化を調べることで、ケナフにみられる高い気孔密度が光合成に与える影響をより明確にできると思われる。

参考文献

- 1) 島本 功 岡田清孝 細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ4 モデル植物の実験
プロトコールーイネ・シロイヌナズナ編ー 秀潤社 (1996)
- 2) Hall, D.O. , Scurlock, J.M.O. , Bolhar-N., H.R. , Leegood, R.C. and Long, S.P.
Photosynthesis and Production in a Changing Environment A Field and laboratory manual
Chapman & Hall (1993)
- 3) Hans, M. and Peter, S. 著 網野真一 駒嶺穆 (監訳) 植物生理学 シュプリン
ガー・フェアラーク (1998)
- 4) Walter, L. 著 佐伯敏郎 (監訳) 植物生態生理学 シュプリンガー・フェアラ
ーク (1999)
- 5) 宮地重遠 現代植物生理学1 光合成 朝倉書店 (1992)
- 6) Colin, W. and Mark, F. , Topics in plant functional biology:2 STOMATA Chapman
& Hall (1996)