

大気CO<sub>2</sub>濃度の増加がエゾノキヌヤナギの生理特性に与える影響

森林総合研究所 北海道支所 北岡 哲・上村 章・飛田博順・宇都木 玄  
林野庁 丸山 温  
埼玉大学 環境科学センター 宮城敦子・内宮博文

## はじめに

ヤナギ属(*Salix*)の樹木は北半球の暖帯から寒帯にかけて広く分布する(15)。遷移初期の樹木で成長速度が速く、挿し木でも簡単に増殖するという特長を持ち、さらに再生能力が高く、収穫後も容易に萌芽する(8, 15)。このような性質からバイオ燃料資源としての利用を目的にしたヤナギの育種や栽培実験が行われている(5)。

産業革命以降、CO<sub>2</sub>濃度が急激な速度で増加している(3)。地史的視点からみても、現代のCO<sub>2</sub>増加速度は植物が未だ経験したことのないほど急激である(2)。CO<sub>2</sub>は光合成の基質であるため、その増加は植物の分子から個体レベルの成長反応にまで、直接的にも間接的にも様々な影響を与える(2, 7, 10)。このことが植物、特に多年生植物である樹木のCO<sub>2</sub>増加に対する反応の解明を難解なものにしている。

このためCO<sub>2</sub>濃度の増加に対するヤナギ属樹木の応答を明らかにしつつ、将来の高CO<sub>2</sub>濃度に適した育種選抜を行うことは、将来持続的にバイオ燃料資源を供給するための重要な課題である。Karp and Shield (5)はバイオ燃料資源となる植物の代謝生理や遺伝的特性を明らかにすることが、将来のバイオ燃料の増産とその持続的な利用にとって有用な基礎情報を提供すると述べている。そこで本件研究は、北海道でバイオ燃料資源としての利用が期待されているエゾノキヌヤナギを用いて、高CO<sub>2</sub>下における葉の光合成特性と代謝の解析を行った。

## 材料と方法

2010年4月下旬に挿し穂を鹿沼土：赤玉土1:1の割合で混合したビニルポット(直径21cm)に植え付けた。植え付けた苗は森林総合研究所北海道支所の自然光人工気象室(気温昼 25℃/夜 16℃)で育成した。CO<sub>2</sub>濃度は370ppm(対照)、720ppm(高CO<sub>2</sub>)の2条件とした。施肥はKitao et al. (6)を参考にして、極端な養分不足にならないように与えた。250mgN相当の窒素を固形肥料で与え、残りの500mgNは液肥で週1回50mgNづつ10週間与えた。

7月下旬に先端より7-8枚目の成熟した葉を対象に二酸化炭素-光合成関係の測定を行った。測定はLI-6400(Li-cor社 米国)を用い、測定手順はLong and Bernacchi (9)に従った。最大Rubisco活性(V<sub>cmax</sub>)と最大電子伝達速度(J<sub>max</sub>)(1)はOnoda et al. (11)を参考に算出した。

光合成速度を測定した葉から1cm<sup>2</sup>のディスクを5枚打ち抜き、80℃で48時間乾燥させ、窒素含有量と可溶性糖

類・デンプンの分析に供した。窒素含有量の分析は全自動元素分析装置 vario MAX (Elementar Analysensysteme GmbH, 独国)を用いた。可溶性糖類・デンプンの分析はフェノールスルホン酸法(4, 12)を用いて行った。葉の代謝産物はMiyagi et al. (11)に従い、キャピラリー電気泳動/質量分析法システム(Agilent Technologies社, 独国)を用いて定量した。統計解析はスチューデントのt検定を用い、高CO<sub>2</sub>処理の効果の有無を検定した。

## 結果と考察

1)葉の生理特性: 高CO<sub>2</sub>処理によって、生育CO<sub>2</sub>濃度における光飽和の光合成速度(P<sub>sat</sub>)の有意な低下が見られた(表-1)。この現象は光合成活性を示すV<sub>cmax</sub>, J<sub>max</sub>においてもみられ(表-1)、光合成の負の制御現象(2, 7, 10)が生じたと考えられた。葉の窒素量は高CO<sub>2</sub>処理によって有意に減少した(表-1)。一方、可溶性糖濃度およびデンプン濃度は高CO<sub>2</sub>処理で有意に増加した(表-1)。可溶性糖類の増加は光合成系の酵素やタンパク質を減少させるといわれている(16, 17)。このため可溶性糖類の増加は光合成の負の制御現象や窒素量の低下を生じた一因であると推察される。

2)代謝特性: 高CO<sub>2</sub>処理によってアミノ酸(Arg, Asp, Asn, Gln)の減少傾向が見られた(図-1)。またミトコンドリアのTCA回路に関わる有機酸(Citrate, Isocitrate, Malate, Aconitate, Pruvinate)、糖リン酸系(DHAP, 3PGA, FBP, 6PG, RuBP)の減少が見られた(図-1)。これらの傾向は、ヤナギと同じように再生能力が強い多年生草本植物(エゾノギンギシ)の代謝解析結果と一致する(11)。

可溶性糖類とデンプンが光合成に与える影響は異なると言われている(10)。可溶性糖類の蓄積はシグナルとなって遺伝子等に働きかけ、光合成系のタンパク質等の減少を招くため(16, 17)、代謝解析でみられたカルビンサイクルの糖リン酸(RuBPや3PGA, FBP)の減少や、光合成速度の低下、最大Rubisco活性の低下と関係があると考えられる。デンプンの蓄積は葉緑体内におけるCO<sub>2</sub>の拡散を阻害することで、間接的に光合成に影響与えられている(10)。今後デンプンの蓄積がヤナギの光合成に与える影響についてさらに明らかにしていく必要がある。

3)おわりに: 本研究の結果から、高CO<sub>2</sub>下では生育CO<sub>2</sub>濃度下における個葉光合成速度や、光合成活性、窒素量の低下が見られることがわかった。また糖類(可溶性糖類およびデンプン)が蓄積し、代謝物では、光合成に関わる糖リン酸系とミトコンドリアのエネルギー生産に関わる

Satoshi KITAOKA, Akira UEMURA, Hiroyuki TOBITA, Hajime UTSUGI (Hokkaido Branch Center, FFPRI, Sapporo 062-8516), Yutaka MARUYAMA (Forestry Agency, Tokyo 100-8950), Atsuko MIYAGI, Hirofumi UCHIMIYA (Institute for Environmental Science and Technology, Saitama Univ. Saitama 338-8570)

Leaf photosynthetic and metabolomic responses of willow (*Salix pet-susu* Kimura) to elevated CO<sub>2</sub> concentration.

TCA回路で低下が見られることがわかった。今後の課題としてクローン間における生理特性や糖類蓄積の違いの有無を明らかにしていく必要があると考える。特に光合成に負の影響をあたえる糖類蓄積の評価は重要であるため、迅速な測定方法の開発についても取り組んでいきたいと考える。

謝辞: 本研究は生研センターのイノベーション創出基礎的研究推進事業と NEDO プロジェクトの支援を受けた。

引用文献

(1) Farquhar GD, von Caemmerer S. and Berry JA. (1980) A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of C<sub>3</sub> species. *Planta* **149**:78-90.

(2) Griffin KL. and Seemann JR. (1996) Plants, CO<sub>2</sub> and photosynthesis in the 21st century. *Chem. Biol.* **3**:245-254.

(3) IPCC (2007) Forth assessment report. <http://www.ipcc.ch/>

(4) Kabeya D. and Sakai S. (2003) The Role of Roots and Cotyledons as Storage Organs in Early Stages of Establishment in *Quercus crispula*: a Quantitative Analysis of the Nonstructural Carbohydrate in Cotyledons and Roots. *Ann. Bot.* **92**:537-545.

(5) Karp A. and Shield I. (2008) Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. *New Phytol.* **179**:15-32.

(6) Kitao M., Koike T., Tobita H. and Maruyama Y. (2005) Elevated CO<sub>2</sub> and limited nitrogen nutrition can restrict excitation energy dissipation in photosystem II of Japanese white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*) leaves. *Physiol. Plant.* **125**: 64-73.

(7) 小池孝良 (2004) 温暖化と植物の生態. 植物生態学, 朝倉書店, 東京, pp361-391.

(8) Koike T., Kohda H., Mori S., Takahashi K., Inoue MT. and Lei TT. (1995) Growth responses of the cuttings of two willow species to elevated CO<sub>2</sub> and temperature. *Plant Species Biol.* **10**:95-101.

(9) Long SP. and Bernacchi CJ. (2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error, *J. Exp. Bot.*, **54**:2393-2401.

(10) 牧野 周 (1999) CO<sub>2</sub>と光合成. 植物の環境応答 - 生存戦略とその分子機構 -, 秀潤社, 東京, pp134-141.

(11) Miyagi A., Takahashi H., Takahara K., Hirabayashi T., Nishimura Y., Tezuka T., Kawai-Yamada M. and Uchimiya H. (2010) Principal component and hierarchical clustering analysis of metabolites in destructive weeds; polygonaceous plants. *Metabolomics* **6**:146-155.

(12) Ono K., Terashima I. and Watanabe A. (1996) Interaction between nitrogen deficit of a plant and nitrogen content in the old leaves. *Plant Cell Physiol.* **37**:1083-1089.

(13) Onoda Y, Hikosaka K. and Hirose T. (2005) Seasonal changes in the balance between capacities of RuBP carboxylation and RuBP regeneration affects CO<sub>2</sub> response of photosynthesis in *Polygonum cuspidatum*. *J. Exp. Bot.* **56**:755-763.

(14) Sage RF, Sharkey TD. and Seemann JR. (1989) Acclimation of photosynthesis to elevated CO<sub>2</sub> in five C<sub>3</sub> species. *Plant Physiol.* **89**:590-596.

(15) 酒井 昭 (1995) 植物の分布と環境適応. - 熱帯から極地・砂漠へ -. 朝倉書店, 東京, 164pp.

(16) Sheen J. (1990) Metabolic repression of transcription in higher plants. *Plant Cell* **2**:1027-1038.

(17) Stitt M. (1991) Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant Cell Environ.* **14**:741-762.

表-1 エゾノキヌヤナギの葉の光合成特性と窒素含有量, デンプン, 可溶性糖濃度

	370ppm[CO <sub>2</sub> ]	720ppm[CO <sub>2</sub> ]	t-test
Psat (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	19.19 (1.11)	15.47 (0.67)	P < 0.01
N (g m <sup>-2</sup> )	1.18 (0.01)	0.84 (0.03)	P < 0.01
Vcmax (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	66.32 (6.33)	35.89 (9.41)	P < 0.05
Jmax (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	96.42 (6.48)	76.48 (6.91)	P < 0.05
デンプン濃度 (w / w %)	2.06 (0.99)	9.76 (0.42)	P < 0.01
可溶性糖濃度 (w / w %)	14.59 (0.75)	17.32 (1.18)	P < 0.05

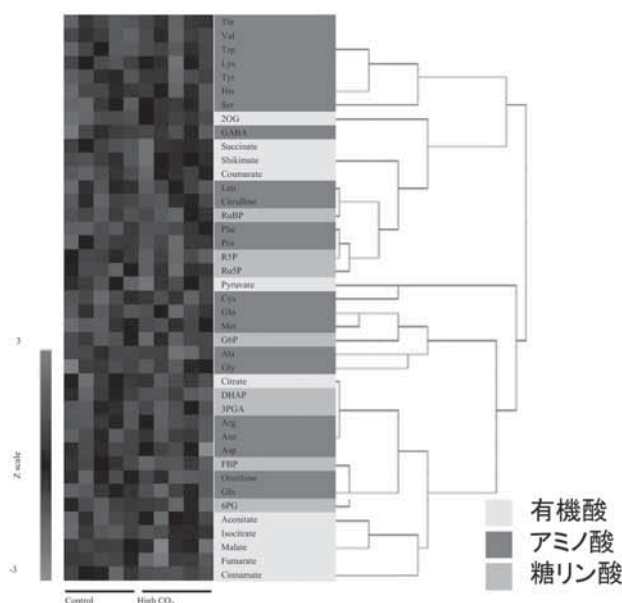


図-1 エゾノキヌヤナギの代謝産物解析のヒートマップ