

IGEシリーズ21***

臨界環境における植物の生活



IGE

東北大学遺伝生態研究センター
Institute of Genetic Ecology

IGEシリーズの発刊にあたって

地球上の環境は、今、かつてない大きな問題に直面しております。世界各地で進行している生態系の急速な変化のなかには、人間生活に深刻な影響をもたらす可能性のあるものが、多数含まれています。一方、人間の活動が宇宙空間へと広がるにつれ、地球外生態系の構築が、新しい課題として登場しつつあります。生態系の崩壊を防ぎ、より豊かな環境を創造するための科学的努力が、今日ほど強く求められている時はありません。

本研究センターは、DNA分子技術を中心に遺伝子的段階にまで到達した生物研究の諸成果を生かし、生態系における生物の生活を一層深く解明し、新たな人間環境の創造に貢献することを目指しております。いうまでもなく、この課題はきわめて学際的であり、多分野の研究者との相互交流と協力によって、はじめて達成されるものであります。本研究センターでは、ワークショップによる研究者間の討論と意見交換を重視するとともに、その成果をより多くの方々にご利用いただく出版活動にとり組んでおります。ここに発刊しますIGE (Institute of Genetic Ecology の略) シリーズも、こうした努力

の一環であります。

本シリーズの内容は、多岐にわたる可能性をもっておりますが、3つのタイプに大きく類別されるだろうと考えております。すなわち、(i) 特定のテーマ、又はトピックについての解明に関するもの（*印を付します）、(ii) 特定のテーマ又はトピックに関する最新の文献、実験法の紹介に重点をおくもの（**印）、そして(iii) 新しい可能性を求める学際的交流、対話を試みるもの（***印）であります。

このIGEシリーズが、多方面の方々のお役に少しでも立つことを願って、発刊の辞とします。

1996年3月

東北大学遺伝生態研究センター

❖ 目 次 ❖

はじめに	
熊谷 忠	1
異種混合個体群の種間関係に及ぼす近紫外光の影響	
寺井 謙次	3
土壤伝染病の発病に及ぼす紫外線 UV-B の影響	
本田 雄一・内藤 陽子	13
イネと紫外線	
日出間 純	21
紫外線 (UV-B) 放射量増加の植物への影響	
竹内 裕一	33
<i>Alfalfa</i> における DNA の損傷と修復機構に 関する解析	
高柳進之輔	39
植物色素合成の紫外線による制御 — PAL 遺伝子の発現	
竹田 淳子	51
植物でのフラボノイドによる紫外線防御	
深澤利江子・東近由紀子・武田 幸作・森 俊雄	61
自然光紫外線に対する植物の応答	
手塚 修文	69
温暖化環境における樹木の生理生態的反応特性	
小池 孝良	77
高 CO ₂ 環境における樹木のガス交換と成長	
清田 信	85
高 CO ₂ 環境における C ₃ 植物の光合成の生理生化学	
牧野 周	95
植物の光合成における低温障害	
寺島 一郎	103
湿润土壤条件下における作物の急性萎凋枯死	
平沢 正	113
水環境に対する根の適応機構 — 水分屈性 —	
高橋 秀幸	123
中国半乾燥地における砂漠化のメカニズム	
根本 正之	131

はじめに

熊谷 忠

産業革命以降の人間活動の急激な変化に伴い地球環境は大きく変わろうとしている。1971年、超音速機から排出される窒素酸化物などが成層圏を汚染し、成層圏オゾン層に与える影響が問題となった。1974年、人類が創り出した安定であると考えられていたクロロフルオロカーボンが紫外線により分解される過程で成層圏オゾン層を破壊し、その結果、地上に到達する有害紫外線が増大する可能性が示唆された (Molina と Rowland はこの功績により 1995 年度ノーベル化学賞を受賞した)。その後、英国の南極基地ハレーベイでは上空中の春期オゾン量が 1977 年から 1984 年の間に 40% 以上も減少していることが見出され、いわゆるオゾンホール¹⁾の正体が確認されることとなった。これらを契機として世界中で成層圏を汚染する物質の観測体制が組まれることとなり、アジアの米作地帯で片平過去 20 年間に 1-4% のオゾンが減少したと云う報告もある。また、大気中の二酸化炭素濃度は、産業革命以前には 280 ppm 程度であったのが、化石燃料の使用量の増大により、1990 年には約 350 ppm に達し、さらにこのまま続けば、2060 年には約 600 ppm になると云われている。その他の温室効果ガスの大気中濃度もほぼ同様の上昇を示しており、地球温度も約 3°C 高くなるだろうと云われている。

紫外線は蛋白質や核酸を破壊し生物細胞に変異や癌化を引き起こし、ひどい場合には死に到らしめるといった極めて脅威的な生物効果を有する事が知られている。もし、地球に到達する紫外線が増大することになると皮

膚ガン、白内障などの発生率が増加したり、ある種の生物は絶滅し、生態系における生物間のバランスが大きく変わることが想像される。その結果、大気、水、土壤環境など地球全体に大変化が引き起こされることになるかもしれない。一方、紫外線は生物の誕生、進化に深く関わってきた。約35億年前に地球上にラン藻などの光合成生物が発生したと考えられている。その後、次々と出現した生物の活動によって生じた酸素は真空紫外線と反応してオゾンを生じ、大気の上層にオゾン層として存在するようになった。紫外線を吸収するオゾンは太陽からの有害紫外線の放射を遮断するため陸上に高等植物が出現出来るようになった。植物の旺盛な光合成によって大気中の酸素濃度は高まり、現在の地球が成立するに到ったと云われる。従って、地上に到達する紫外線が増大するという事は、生物が進化してきた道を逆行することを意味している。その様な紫外線の生物効果は大気中の二酸化炭素濃度や他の温室効果ガスの増加とそれに伴う温度上昇によってさらに増長されるかもしれない。

一方、今や、人類は地球外空間にまで生活圏を拡大しようとしている時代でもある。このワークショップは「地球環境の変動」や「地球外環境」をも視野に入れ、「臨界環境」における植物や微生物の生きざまについての理解を深め、これまで「好適な環境下における生き物の生きざまの解明」に中心が置かれてきた生物学に新しい視点を導入できないかと考え、10月26-27日の2日間、仙台市片平市民センターにて開かれた。会合には、日頃異なったフィールドで、異なった方法論で研究を展開されている生理学者、生態学者が参加され、貴重なデータを基に種々討論が行われ、大変有意義な機会がもてた。ここに、話題提供者をはじめ、参加者の皆さん、サポート頂いたセンターの皆さんに厚く御礼申し上げる次第である。

異種混合個体群の種間関係に及ぼす 近紫外光の影響

寺 井 謙 次

I. はじめに

1980年代に入って、農作物の成長や収量に対する近紫外光増加の影響を明らかにしようとする研究が精力的に行われるようになった。その過程で、ダイズ、イネ、トウモロコシ、インゲンマメ、キュウリ、さらにトマトなどを用いた実験から、UV-Bに対する感受性が種間や品種の間で大きく異なる^{8,12)}ことや、UV-Bによって植物が引き起こす反応にも多様な形態がある³⁾などのことが明らかになってきた。

農作物に対する阻害効果のこうした多様性は一方で、植物の自然の生態系や農業生態系における種間相互関係にも大きな変化を与えることを予測させた。つまり、UV-Bに対する植物の感受性は、群落中の共存種もしくは競争相手の成長や現存量の増加に促進的に作用し、とりわけ農業的なシステムのなかでは作物対雑草関係が注目され³⁾、一方で刺激性もしくは耐性をもつことによる有利性は、共存種に対して抑制的な効果をもつ⁴⁾と考えられるからである。

しかし、UV-Bの種間関係への影響は、他の物理的条件（気候、土性など）、群落中の微気候条件、さらに生物的条件（種組成、疾病、害虫など）と深くかかわっていることからしばしば異なる結果をもたらし^{4,5)}、現時点でもなお、正しい影響予測は困難と考えなければならない。ここでは、そうしたいくつかの具体例を概観しながら、ここ2年間にわたって進めてき

た実験の結果を紹介していく。

II. 植物種間相互関係への近紫外光の影響に関する実験

UV-B 照射の条件のもとで、群落中の種個体群の競争能力は、各構成種もしくは共存種との感受性の差とストレスの強度に依存しているだろう。

種間の相互関係への影響はこれまで、作物とそれに随伴する雑草性の各種植物、山岳地帯の牧草の異種混合群落、そして人里環境での雑草群落などが注目されてきた。それぞれに競争的相互関係をもつ多様な種の組合せを対象に、野外に紫外線ランプシステムを設置し検討された例が多い。

Caldwell らのグループ^{1,4,5)}は、UV-B 照射のもとで、地上部の生物体量の変異量から導かれた競争能力指数を調べた結果、多くの2種混合群落で競争的均衡が有意に変化することを報告している。そのなかでも、*Medicago sativa* (ムラサキウマゴヤシ)/*Amaranthus retroflexus* (アオビユ)、*Poa pratensis* (ナガハグサ)/*Geum macrophyllum* (ダイコンソウ属の一種)、*Triticum aestivum* (コムギ)/*Avena fatua* (カラスムギ)、さらに *Triticum aestivum*/*Aegilops cylindrica* (タルホコムギ属の一種) などの組合せにおいて、前者の種の競争能力が著しく一方を凌ぐことから、他の多くの植物群落においても同様の現象がありうることを示した。同様に、*Setaria glauca* (キンエノコロ)/*Trifolium pratense* (アカツメクサ)、および *Bromus tectorum* (ウマノチャヒキ)/*Alyssum alyssoides* (ニワナズナ属の一種)の各組合せでは、UV-B の付加によって、*Setaria* は空間的な優占度合が拡大し、*Bromus* は逆に縮小することを認めた。このように、近紫外光量の増加は、その量の規模と群落構成種の組合せにかかわって、競争的な相互関係を変化させることが示された。しかし、これらの組合せのなかで、*Triticum* と *Avena* のペアは、前年の実験において、競争能力指数は明かに *Avena* に有利であった⁵⁾ ことから、UV-B による競争的均衡への作用の調節には、実験期間の気象条件も無視できない規模で複合的にかかわっていることが示唆された。また、多くの組合せにおいて、感受性と一部には刺激性にも種間・品種間差がありながら、群落全体の地上部現存量の変化に対しては、照射による有意な影響が認めなかった⁴⁾ としており、こ

うした個体群のレベルと群落のレベルでの UV-B の効果の違いもまた、植物生態系に与える影響評価をより難しいものになっている。このようなことから、今後は、UV-B 照射に対する植物個体の形質発現や種個体群の反応の検討には、個体-個体群-異種混合個体群（群集）といったレベルの概念を基礎にして、固着性の植物の本質的な特性である形質発現の変異性や生活史諸特性の違いをも視野に入れ、生育ステージの違いや長期にわたる群落成長の時間軸からみていくことが求められてくるだろう。

III. 牧草個体群の種間関係および個体間関係への影響

(1) 同種個体群の現存量の成長

既に述べてきたように、一般の農作物を対象とした近紫外光照射実験の試みは多い。ここでは、牧草の実験個体群を用いた筆者らのデータ¹¹⁾を中心に報告していく。

供試植物として、オーチャードグラス(品種：フロンティア)、レッドクローバ(品種：メデュウム)、ホワイトクローバ(品種：フィア)を用いた。育苗箱に播種(4月19日)後、本葉2~3葉期に、培養土(ブラックピートモスとバーミキュライトを8:3に混合)を詰めたポット(48 cm×32 cm×27 cmのコンテナ)に栽植密度4 cm×4 cmで移植(6月20日)した。光環境は、近紫外光の光源として紫外線ランプ(東芝健康線ランプ(FL 20 SE))を用い、290 nm以下を吸収・除去するフィルターを取付けた Low UV Enhancement 区とランプだけの High UV Enhancement 区、そして自然光区とした。スチール製のパイプと支柱を用いて、各ポットに1灯を群落の最上層からほぼ60~70 cmの距離に調節・固定できる照射装置を野外に組み立てた。照射時間は季節の推移に合わせて12~13時間(6時~18時、6時~19時)とし、9月5日に地下部も含めて現存量を測定した。

3草種それぞれの単播個体群(純群落)の現存量を表1に示した。各草種ともUV照射区では自然光区より現存量が小さく、High UV区が最も低い値を示した。自然光区に対する現存量の成長阻害は、オーチャードグラス(以下OG)が約18%、ホワイトクローバ(以下WC)が約31%、そしてレッドクローバ(以下RC)では約28%に達した。このように、草種間

表1 単播群落における生草重量 (g/m²) への近紫外光処理への影響

	オーチャードグラス	ホワイトクローバー	レッドクローバー
自然光	559.7±154.7	936.9±185.3	789.1±185.9
Low-UV	522.6±113.8	950.3±629.9	644.2±144.3
High-UV	460.2± 12.4	648.7±256.8	571.4±300.3

平均値±標準偏差

で反応に差異があり、感受性はマメ科草で大きくなる結果が得られた。なお、この傾向は前年度に実施した予備試験でも共通していた。農作物を使った先行研究例^{6,7)}でも、ダイズ、インゲンマメ、エンドウなどのマメ科作物は中程度の感受性を示したとする報告がみられる。

(2) 異種混合群落の現存量の種間関係

3草種を用い、各2草種と3草種の混合群落での種間相互関係に対する近紫外光の影響を調べた。実験は、前節で述べてきた照射装置に組み込んで実施した。

総個体密度を一定にした2種混合個体群で、各構成種の現存量および総現存量と各々の種の個体密度との関係を解析するとき、収量図が用いられる¹⁰⁾。図1は各2草種混合群落の収量図である。この場合には、混合群落の密度効果の一般式の性質¹⁰⁾から、曲線（この図では折れ線で示されている）の凹凸によって種間の優劣関係を判定することができる。

OGとWCの混合群落では、光環境の違いとは無関係に両種とも上に凸の関係がみられる。しかし、OGの現存量が各光環境を通じてどの密度においても変異は小さいのに対して、WCの照射処理にともなう低下は著しい。近紫外光量の増加によって、群落中の種間関係においてWCの不利性が拡大することを示している。WCとRCの混合群落では、2種の現存量変化がきわめて対症的な様相を示した。光環境とは無関係にRCが常に上に凸であるのに対してWCは下に凸であり、競争的な相互関係においてWCの重量成長が抑圧されたと考えられる。しかし、両種とも照射処理にともない著しく現存量を低下させ、両種ともに感受性の大きさを示した。RCの密度に応じた収量変化は、OGとの混合群落でも上に凸とはなったが、照射処理

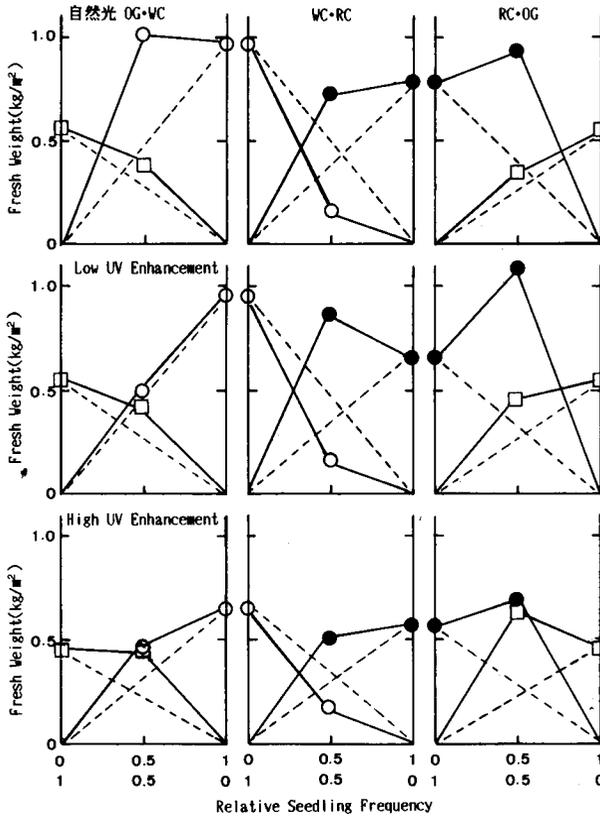


図1 2草種混播群落の収量図
 □: オーチャードグラス (OG), ○: ホワイトクローバー (WC)
 ●: レッドクローバー (RC)。

にともなう現存量の低下が著しかった。一方でOGは、純群落で現存量を維持して耐性の強さを示し、密度比1:1ではむしろ増加傾向を強め、結果として、両種の混合群落における近紫外光量の増加は、空間占有、現存量成長ともにOGの有利性の促進を予測させる結果となった。このように、種の組合せによって異なってくる競争的相互関係の有利性や不利性が、近紫外光量の増加により、増幅したり縮小したりすることは確実のようだ。

この競争的相互関係を考えるときに、感受性の違いによる形態的变化や

現存量の器官配分の変化が、総現存量の変化や変異に果たしている役割を無視することはできない^{1,2)}。本実験でも感受性の大きさを示したマメ科草において、WCは甸甸莖長・節数・節間長の値に有意な阻害効果がみられ、RCでは草丈・葉数・地上枝数に阻害と推測される現象が認められた。これらが、光や栄養塩類に対する競争を介して、種間の競争的バランスを変える引金となりうることは十分考えられる。

(3) 異種混合群落における個体間相互作用

前節では群落を構成する種個体群全体の量について述べてきた。ここでは、個々の構成個体の状態に注目していく。図2~4は、構成種の組合せの違いによる個体重の変化を各草種について示したものである。

WCの個体重(図2)は、光環境の全ての処理区で、OGとの混合群落>純群落>RCとの混合群落の順で大きかった。どの光環境においても、WC

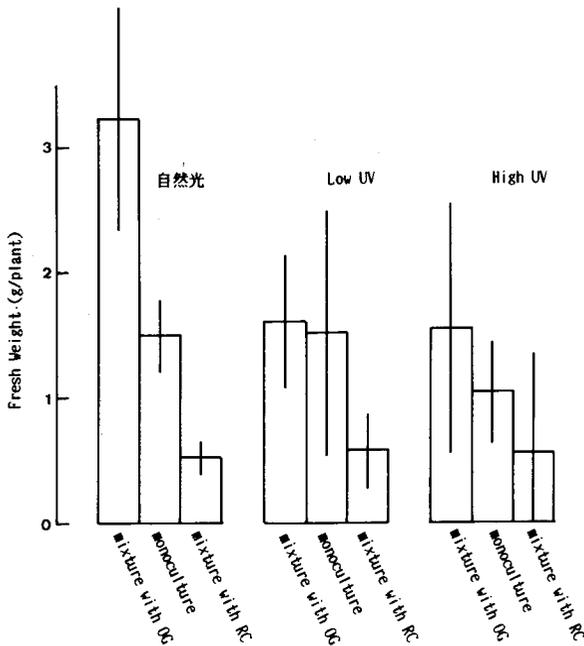


図2 群落構成種の違いとホワイトクローバーの個体重

は RC との混合群落で最も被圧される現象を呈した。しかし、OG との混合群落や純群落では、近紫外光量の増加にともない WC 個体重が著しく低下したのとは対比的に、そうした変化はみられなかった。つまり、感受性の現れかたが、混合群落の組合せによって純群落とは異なることを示している。RC(図3)では、自然光区で OG との混合群落 > WC との混合群落 > 純群落となる個体重変異の様相が、近紫外光照射の条件のもとでもほぼ維持されているが、感受性が大きいことによる個体重の全般的な低下がみられた。一方、感受性が小さいと考えられる OG(図4)では、混合群落での個体重がつねに純群落でのそれを上まわったが、近紫外光照射によって、純群落では低下し、混合群落では逆に増加するという特異的な様相がみられた。純群落での結果は、恐らく OG がもつと思われる弱い感受性で説明

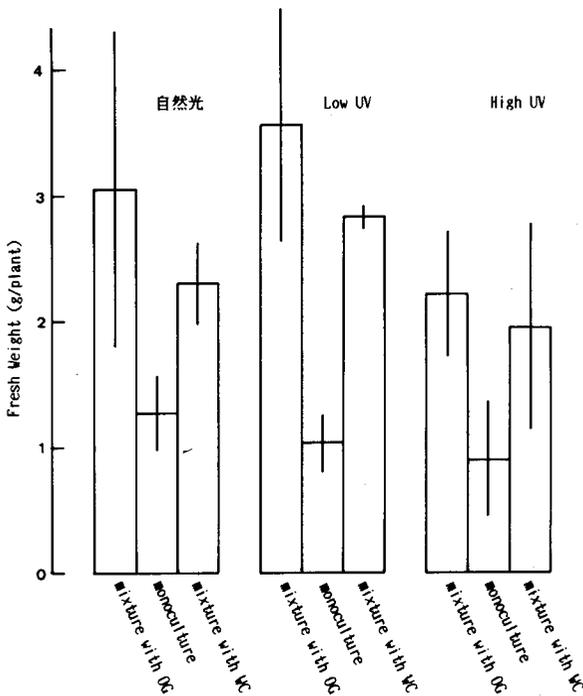


図3 群落構成種の違いとレッドクローバーの個体重

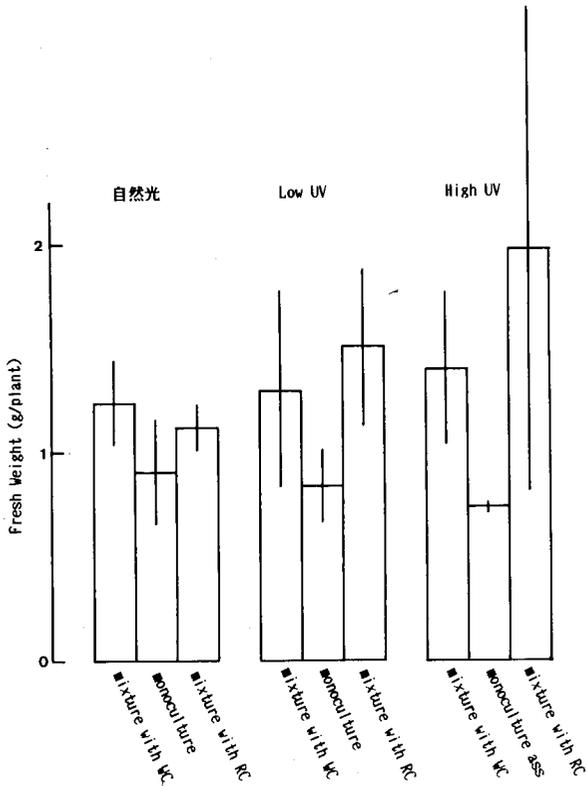


図4 群落構成種の違いとオーチャードグラスの個体重

が可能であろう。また、混合群落における結果は、マメ科草2種とOGとの感受性の差にもとづき、マメ科草が阻害を受けた分、光条件や空間占有などの成長要因の競争的相互関係において有利に作用したことによると考えられる。これらのことから、近紫外光照射の影響は、種間関係と連動して種内の個体間相互関係の様相をも変化させていく可能性は大きい。

IV. 可視光量の季節変化と種間関係

植物の成長に及ぼす近紫外光照射の阻害効果が、生育時の可視光線の量に強く依存している⁹⁾可能性はきわめて大きい。しかし、可視光による阻害回復機構や抵抗性獲得のメカニズムについては解明が十分に進んでいな

い。

筆者らも、OGとWCの混合群落について、IIIで述べてきた野外の照射装置を用い、一定の近紫外光量を照射しながら可視光量の季節変化を考慮し、播種時期を4月下旬、7月上旬、そして9月初旬の3段階に設けて初期生育への影響を調査した(1994年)。しかし、実験結果の分析において、季節の推移にともなう気温、雨量、培地の温度・水分条件など、可視光量の変化以外の条件を排除して、現象を整理、理解するまでには至っていない。個々の環境要素を独立に取り扱おうとするときの困難さは、可視光量の調節のための寒冷紗を用いた実験(1995年)でも共通していた。野外では、照射装置の上面や側面の一部を被覆することにより、群落の周囲や群落内の微気象条件の変化は避けられない。近紫外光の植物影響と光質バランスとの関係分析を進め、実験の再現性を高めていくうえでも、バランスの調節が可能な環境調節実験室の使用と併せて、野外でも、可視光量の変化に同調した近紫外光量の調節が可能な装置の使用が不可欠になる。

V. おわりに

紫外線の生物効果は、他の環境要因の変化に大きく影響される。IVで述べてきた1994年の実験の目的は、記録的な低温・寡照で経過した1993年の予備実験で得られた予測(効果の季節変化)を確認していくことでもあった。しかし、1994年の実験は、一転した高温・多照条件が継続するなかで実施された。近紫外光による可視被害の症状はマメ科草の幼植物で認められたものの、その後の被害の拡大は小さく、前年の現象との違いは著しかった。

一方、植物群落における種の多様性、物質生産を効率よく行うための生産構造、そして競争をめぐる因子としての各種個体群の階層分化、個体密度、分布様式などは、遷移の進行や環境勾配の違いによって異なり、混合群落での環境の複雑化はそのごく一部でしかない。一つの種個体群にとってそれらの変化は、生育環境要因群の大きな変化との遭遇である。紫外線の影響についても、それらの変化との組合せによっては多様な反応形態が予測される。その意味でも、モデル実験と野外の実験との綿密な連携が求

められる。

参考文献

- 1) Barnes, P.W., Jordan, P.W., Gold, W.G., Flint, S.D. and M.M. Caldwell (1988) *Functional Ecology*. **2**: 319-330.
- 2) Barnes, P.W., Flint, S.D. and M.M. Caldwell (1990) *Am. J. Bot.* **77**: 1354-1360.
- 3) Borman, J.F. and A.H. Teramura (1993) "Environmental UV Photobiology", ed. by Young, A.R., Björn, L.Ö., Moan, J. and W. Nultsch, Plenum, New York & London. P. 427-471.
- 4) Fox, F.M. and M.M. Caldwell (1978) *Oecologia*. **36**: 173-190.
- 5) Gold, W.G. and M.M. Caldwell (1983) *Physiol. Plant.* **58**: 435-444.
- 6) Iwanzik, W., Tevini, M., Dohunt, G., Weiss, W., Graber, P. and G. Renger (1983) *Physiol. Plant.* **58**: 401-407.
- 7) Krupa, L.P. and W.J. Kickert (1989) *Environ. Pollut.* **61**: 263-293.
- 8) Kumagai, T. and T. Sato (1992) *Japan J. Breed.* **42**: 545-552.
- 9) Mirecki, R.M. and A.H. Teramura (1984) *Plant. Physiol.* **74**: 475-480.
- 10) 小州房人 (1980) 個体群の構造と機能. 朝倉書店. 東京. pp. 113.
- 11) 寺井謙次, 熊谷 忠 (1995) 日本作物学会紀事 **64** (別2): 89-90.
- 12) Teramura, A.H. (1983) *Physiol. Plant.* **58**: 415-427.

土壌伝染病の発病に及ぼす 紫外線 UV-B の影響

本田 雄一・内藤 陽子

I. はじめに

近年、フロンガスなどによるオゾン層の破壊・減少は、地上に到達する UV-B 域 (280-320 nm) の紫外線照射量を特異的に増加させると考えられ、地球規模で深刻な問題になっている。紫外線は人体に対する直接的な影響にとどまらず、生態系全体に影響を及ぼすと思われるが、植物、特に農作物に及ぼす影響は食料問題に直接関わるためその作用が懸念されている^{17,18)}。しかし、植物の生育や生理活性に及ぼす紫外線の影響については多くの研究報告があるが^{10,12,16,19)}、植物と病原体の相互作用、即ち植物病害の発病に及ぼす紫外線の影響については報告例が少ない。

光質環境の変化が植物病害の発生に及ぼす影響は、これまで主に空気伝染性病害について研究が行われてきた。多数の糸状菌を供試した実験の結果、植物病原糸状菌は紫外線によって胞子形成が誘起されるものが多いことが明らかにされた⁶⁾。そこで、野外のハウス実験で、紫外線除去フィルム (390 nm 以下の紫外線を吸収除去する) を用い、自然光から紫外線を除去した条件下で植物を栽培すると、一般農業用ビニルフィルム (290 nm まで透過) を用いたハウス内で栽培した場合と比較して、灰色かび病 (*Botrytis cinerea*) や菌核病 (*Sclerotinia sclerotiorum*) の発生が抑制されるという現象が確認された^{8,9)}。また、胞子発芽管の屈光反応に紫外線が関与しており、300-520 nm 域の光では負の屈光反応が誘導されることが明らかにされ

た⁷⁾。紫外線は病気の伝搬体である孢子の形成に関与するだけでなく、発病に直接関わる病原糸状菌の侵入行動を促すことによって病害発生を誘導する要因になっている。

一方、同様に紫外線除去を中心とした光質環境の調節を行い、野外ハウスでハウレンソウを栽培すると、土壤伝染性病害である立枯症の発病が軽減されることが確認された¹³⁾。この結果から、土壤伝染性病害が紫外線によって誘発されている可能性が示唆された。

スイカつる割れ病 (*Verticillium* spp.) やカーネーション萎ちょう病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Dianthi*) といった土壤伝染性病害の発病が、地上部の光環境、特に日長や太陽光の強度によって影響を受けるという現象は既に報告されている^{1,2)}。立枯症及び萎凋病や蔓割病は土壤中の病原菌が植物根部に感染し、維管束を侵害することにより引き起こされる病気であり、光が直接病原体に作用しているとは考えがたい。したがって、土壤病害の場合は光質環境の変化が植物体を通して間接的に作用し、発病に影響を与えているものと思われる。

そこで、この作用機構の解明を目的として、ハウレンソウを用い、紫外線の付加照射によって土壤病害である立枯症の発病が誘発される効果を解析するとともに、バックグラウンドとなる可視光量の発病に及ぼす影響についても検討を行った。

II. ハウレンソウ立枯症の発病に及ぼす UV-B の影響

野外ハウス実験で、*Fusarium* spp. による立枯症が光質環境の影響を最も大きく受けることが観察されたので¹³⁾、*F. oxysporum* の孢子懸濁液 (10^3 spores/ml) を人工接種した土壤を用いて、人工光環境下(コイトロン KG 型、小糸工業)でハウレンソウの栽培試験を行った。ハウレンソウの品種は野外でのハウス実験に用いてきた“おかめ”を使用した。紫外線付加照射試験は、立枯症が多発する高温条件下(明期 30°C、暗期 20°C)で行った。紫外線照射はセルロースジアセテートフィルムを用いて紫外線照射光源(Toshiba FL 20 SE)から 290 nm 以下の紫外線をカットし、UV-B 域(290-320 nm)を付加照射した。照射強度は 1.0 Wm^{-2} とした。また、可視

光量の増加が近紫外光の影響を軽減することが知られているので^{11,16,20}、同時に照射される可視光量を約30%多くした区を設け、同様に紫外線照射を行った。光源としては、高輝度放電管 (Toshiba DR400/T (L))、白色蛍光灯 (Toshiba FR80HWA) 及びタングステンランプ (Toshiba FR220V 200WH) を用い、可視光量は寒冷紗を用いて調節した。

ホウレンソウは播種後7日間ガラス室に置いて出芽をそろえた後、グロースチャンバー内に搬入し、15日間紫外線照射を行った。その結果、可視光量を減光して (Low light) UV-B 照射を行うと、立枯症発病率は UV-B 無照射区に比較して約2.1倍となった (図1)。このとき、*Fusarium* 接種ポットで認められた立枯苗からはすべて *F. oxysporum* が再分離された。

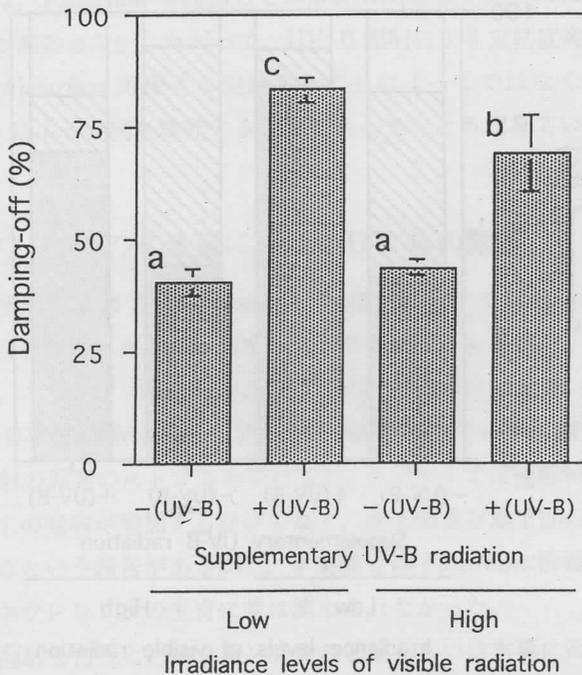


図1 ホウレンソウ立枯症の発病に及ぼす可視光量及び紫外線UV-B付加照射の影響
可視光量を二段階に設定し (Low light; $90 \mu \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, High light; $135 \mu \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$), それぞれに 1.0 Wm^{-2} の UV-B 付加照射を行った。

また、*Fusarium* 無接種ポットでは UV-B 照射を行っても枯死する個体は認められなかった。このことから、UV-B 照射による立枯症発病の増加は、ハウレンソウ地上部に対する UV-B 照射の影響が地下部にまで及び、病原菌による侵害を促進した結果であると考えられた。

さらに、同じ UV-B 照射強度でも、可視光量を多くした区 (High light) での立枯症発病率は UV-B 照射によって約 1.5 倍増加したにとどまった。UV-B 無照射区では、可視光量に関係なく約 40% の立枯症発病率となり、両者に有意差が認められなかった。この結果から、可視光量が増加することによって UV-B の傷害作用が軽減され、立枯症の発病が抑制されたものと推察された。

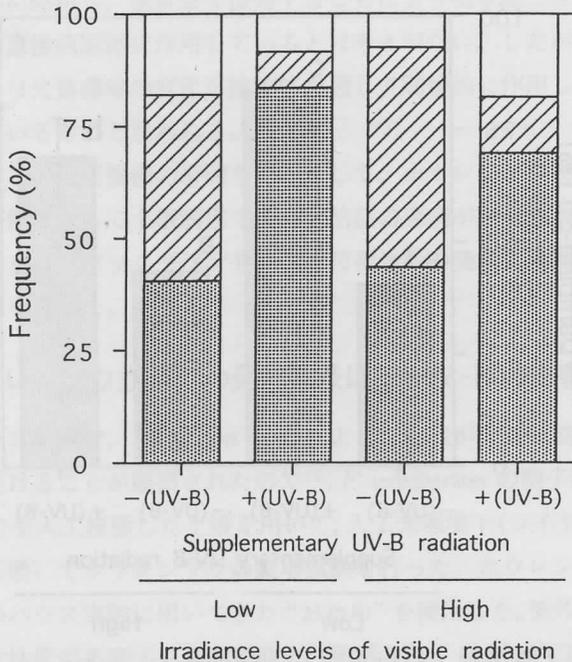


図2 ホウレンソウ根部の保菌率に及ぼす可視光量及び紫外線 UV-B 付加照射の影響 (照射条件は図1と同様)

- ▨: 立枯苗 (すべてから *Fusarium* が再分離された)
- ▩: *Fusarium* が再分離された無発病苗
- : *Fusarium* が再分離されなかった無発病苗

III. ホウレンソウ根部の保菌率に及ぼす UV-B の影響

Fusarium 接種ポットで栽培したホウレンソウ根部からの *Fusarium* の再分離頻度を調節した。各照射区の全出芽数を 100 とし、そのうち *Fusarium* が再分離された立枯苗及び無発病苗の割合を示した(図 2)。照射実験終了後、立枯れを起こしていない苗の根部をすべて採集し、表面殺菌を行った後に、*Fusarium* の再分離を試みた。また、発病個体は立枯れを起こした時点で採集し、再分離に供した。

栽培期間を通して、発病個体からはすべて *Fusarium* が再分離された。無発病個体からも高い頻度で *Fusarium* が再分離され、これら全ての再分離頻度を合計すると、どの照射区でも 80% 以上となった。しかし、UV-B 無照射区では、*Fusarium* を保菌しているにも関わらず発病には至らない個体の割合が高かった。したがって、UV-B 照射による立枯症発病の増加は根部への *Fusarium* の侵入を促進することによってではなく、侵入した *Fusarium* による発病を誘発することによってもたらされていると考えられた。

IV. ホウレンソウの生育に及ぼす UV-B の影響

UV-B 照射実験終了時に *Fusarium* 無接種ポットで栽培したホウレンソウの生育を調査した。その結果、UV-B 照射を行った場合、可視光量に関係なく、ホウレンソウの生育は明らかに抑制された(表 1)。特に地上部生体重は UV-B 照射によって約 50% に抑制されていた。植物病原菌と UV-B 照射の両者のストレスを受けると、テンサイでは褐斑病(*Cercospora beticola*)の発病が増加するだけでなく、地上部及び地下部の生育が著しく低下するという報告があるが¹⁴⁾、本実験では *Fusarium* 接種区と無接種区間のホウレンソウの生育に差は認められなかった。

UV-B 照射を行うと、ホウレンソウの子葉あるいは本葉に褐変が認められた。ホウレンソウ地上部のクロロフィル含量を計測したところ、UV-B 照射によって総クロロフィル含量は有意に減少していた。近紫外線照射によるクロロフィル含量の変動は照射条件や植物種、品種などによってかな

表1 ホウレンソウの生育に及ぼす可視光量及び UV-B 付加照射¹⁾の影響

	Low light		High light	
	-(UV-B)	+(UV-B)	-(UV-B)	+(UV-B)
葉数	2.90	2.25	3.35	2.35
草丈 (cm)	3.96	2.35	4.81	2.57
地上部生体重 (g)	0.136	0.068	0.209	0.098
地下部生体重 (g)	0.036	0.030	0.037	0.035
総クロロフィル含量 (mgg ⁻¹ FW)	0.749	0.632	0.723	0.717
UV 吸収物質含量 (A ₃₃₀ g ⁻¹ FW)	14.97 ²⁾	26.65	13.31	24.30

¹⁾ 照射条件は図1と同様

²⁾ 1% (v/v) HCl を含む 70% メタノール (5 ml) で抽出 (室温, 3 hr) し, 上清の吸収度 (330 nm) を測定した。

り異なる。また, クロロフィル含量の低下は光合成活性のそれと必ずしも相関しない。竹内らは, キュウリ子葉に UV-B 照射を行ったところ, クロロフィル含量には顕著な変化が認められなかったが, 光合成活性の低下や一次代謝産物である糖や有機酸の含有量の著しい減少が認められたと報告している¹⁵⁾。

紫外線によって UV 吸収物質, 主としてフラボノイド含量が増加する現象については既に報告されており, 紫外線が植物細胞内に透過するのを防ぐ生体防御反応であるといわれている⁴⁾。そこで, UV 吸収物質の定量を行ったところ, UV-B 照射によって顕著に増加していることがホウレンソウでも確認された。

V. おわりに

植物と病原糸状菌の相互作用, 即ち植物病害の発生には光質環境が重要な役割を果たしている。本実験では, 紫外線の中でも特に UV-B 域 (290-320 nm) を増加させた光質環境でホウレンソウを栽培した。その結果, UV-B によるホウレンソウ立枯症の発病誘発効果が明らかに観察されたことに加え, 同時に照射される可視光量が増加することによって, 紫外線による立枯症誘発効果が軽減されることが確認された。また, 多くの個体が *Fusarium* を保菌しているにも関わらず, UV-B 照射を行わなかった場合

は発病には至っていないことから、UV-Bによる立枯症発病の増加は、光質の変化の影響を直接受ける植物の代謝変動が既に侵入している *Fusarium* による発病を誘発するためであると考えられる。しかし、紫外線照射によってサリチル酸や病原性関連蛋白質 (pathogenesis-related proteins; PR-proteins) 及びファイトアレキシンの生成が誘導され、植物が病害抵抗性を獲得するという報告もある^{3,5,21)}。今後は、紫外線照射による土壌病害誘発効果について、植物の代謝変動を中心に検討を行う必要がある。

参考文献

- 1) Ben-Yepphet, Y. (1979) *Phytopath.* **69**: 1069-1072.
- 2) Ben-Yepphet, Y. and D. Shtienberg (1994) *Phytopath.* **84**: 1416-1421.
- 3) Bridge, M.A. and W.L. Klarman (1972) *Phytopath.* **63**: 606-609.
- 4) Caldwell, R.R. and S.D. Flint (1983) *Physiol. Plant.* **58**: 445-459.
- 5) Green, R. and R. Fluhr (1995) *Plant Cell* **7**: 230-212.
- 6) 本田雄一 (1979) *植物防疫* **33**: 430-438.
- 7) Honda, Y., Kashima, T. and T. Kumagai (1992) *J. Phytopath.* **136**: 270-278.
- 8) Honda Y., Toki, T. and T. Yunoki (1977) *Plant Dis. Repr.* **61**: 1041-1044.
- 9) Honda, Y. and T. Yunoki (1977) *Plant Dis. Repr.* **61**: 1036-1040.
- 10) Middleton, E.M. and A.H. Teramura (1994) *Photochem. Photobiol.* **60**: 38-45.
- 11) Mirecki, R.M. and A.H. Teramura (1984) *Plant Physiol.* **74**: 475-480.
- 12) Murali, N.S. and A.H. Teramura (1986) *Environ. Exp. Bot.* **26**: 233-242.
- 13) Naito, Y. and Y. Honda (1994) *Bull. Fac. Agri. Shimane Univ.* **28**: 37-43.
- 14) Panagopoulos, I., Bornman, J.F. and L.O. Björn (1992) *Physiol. Plant.* **84**: 140-145.
- 15) Takeuchi, Y., Akizuki, M., Shimizu, H., Kondo N. and K. Sugahara (1989) *Physiol. Plant.* **76**: 425-430.
- 16) Teramura, A.H. (1980) *Physiol. Plant.* **48**: 333-339.
- 17) Teramura, A.H., Sullivan, J.H. and J. Lydon (1990) *Physiol. Plant.* **80**: 5-11.
- 18) Teramura, A.H., Ziska, L.H. and A.E. Sztein (1991) *Physiol. Plant.* **83**: 373-380.
- 19) Tevini, M. and A.H. Teramura (1989) *Photochem. Photobiol.* **50**: 479-

- 487.
- 20) Warner, C.W. and M.M. Caldwell (1983) *Photochem. Photobiol.* **38** : 341-346.
 - 21) Yalpani, N., Enyedi, A.J., León, J. and I. Raskin (1994) *Planta* **193** : 372-376.

イネと紫外線

日出間 純

環境紫外線 (UV-B)

成層圏のオゾン濃度の低下が世界各地で観測されている。オゾン濃度が1%低下することにより、地上に到達する紫外線量は2%増大すると言われ、今日の地球環境問題の1つとして、この紫外線量の増加が植物の生育を阻害し、農作物の減収をもたらす可能性が懸念されている。紫外線は、タンパク質や核酸を破壊し、細胞に変異や癌化を引き起こし、ひどい場合には死に至らしめるといった極めて脅威的な生物効果を有している。しかしながら、これらの紫外線の効果は、人工的に作り出された紫外線 UV-C (280 nm より短波長の紫外線; いわゆる殺菌燈の光) によるものである。現実には、太陽放射に含まれる UV-C 領域の紫外線は成層圏オゾンにより吸収されるため、実際の環境において問題となるのは、UV-B (280 nm-320 nm) 領域の紫外線、いわゆる環境紫外線である。オゾン濃度の低下に伴い増加する紫外線の特徴としては、UV-B 領域の紫外線のみが特異的に増加し、320 nm より長波長の紫外線 UV-A (320-400 nm) は変化しないと考えられている。この環境紫外線 UV-B が有する生物効果が UV-C の有するそれと同様であるか否かについては未知である。

我々は、未来環境下での植物の生育を目指した基礎的データの獲得、紫外線 UV-B 耐性を有する遺伝子資源の獲得を目的として、実験室レベルと圃場レベルの両面から研究を行っている。これまでに我々は、アジアの栽

培イネ 198 品種を対象に、UV-B が生育に及ぼす影響について解析を行った^{1,2)}。その結果、(1) 紫外線は、葉の光合成活性、バイオマスなどの生長を抑制する。(2) 同じ生態型や品種群に属する品種でも、紫外線に対する感受性は異なる。(3) 南方地域の栽培イネが必ずしも強い抵抗性を示すわけではなく、日本型イネ、*boro* 型イネに強い抵抗性を示す品種が多く含まれている。(4) 日本型イネの中で、ササニシキは強い抵抗性を示すが、ササニシキと近縁関係にある農林 1 号は抵抗性が弱い、ことを見出した。

UV-B により引き起こされる生育阻害については、soybean, pea, cucumber 等を中心に生理学的、生化学的、形態学的といった様々な側面からの解析が行われている（詳しくは、Borman and Teramura³⁾ の論文を参照されたい）。しかしながら、UV-B による生育阻害、あるいは品種間差異の要因について様々な可能性が指摘されているものの、その詳細については明かにされていない。また、rice など主要作物に関する知見は少ないのが現状である。本稿では先にも述べた、近縁関係にあり、草型など形態的にも非常に似ていながら、UV-B に対する抵抗性の異なるササニシキと農林 1 号の品種間差異に着目し、これらの品種間差の原因を探るべく行っている現在の研究について紹介したい。

UV-B が、葉内全窒素、クロロフィル(Chl)、可溶性タンパク質、リブローズ 1,5 ニリン酸カルボキシラーゼ(Rubisco)含量に及ぼす影響

UV-B は、Chl、可溶性タンパク質や Rubisco といった光合成に関連した主要な因子、タンパク質の含量や活性を低下させることが、多くの植物で認められている⁴⁾。しかしながら、UV-B がこれらの因子の含量を変化させる要因については明かにされていない。

ところで、窒素はアミノ酸、タンパク質を構成する主要要素であり、葉内の全窒素含量のおよそ 80% は、葉緑体を構成する因子、タンパク質に由来している⁵⁾。そして、葉内窒素含量は、様々な環境ストレス（光、温度、窒素栄養等）により変化し、この窒素含量の変化に伴い、Chl、Rubisco、可溶性タンパク質等の含量も変化することが知られている^{6,7)}。そこでまず、

UV-B による、葉内の窒素含量に及ぼす影響と Chl, Rubisco, 及び可溶性タンパク質の含量に及ぼす影響との関係について解析を行った。

実験材料として、ササニシキと農林 1 号を用いた。栽培は土耕法（パーミキュライト：培土，2：1）により、可視光の強度，紫外線 UV-B 量，温度，二酸化炭素濃度が調節可能な環境調節実験室内において行った。栽培条件は，可視光強度：350 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ，温度：昼/夜，28/17°C，CO₂ 濃度：35Pa，日長：12 時間，で行った。実験室内に UV 無照射区と，照射エネルギー量と波長が異なる 3 つの UV 照射区を設置した。UV-B 光源として，313 nm にピークをもつ UV-B 放射蛍光管（Toshiba FL 20 SE）に 280 nm 以下の紫外線 UV-C を取り除くために，以下の 3 種類のフィルターを用いた。

UV31 (Toshiba Glass：310 nm 以下の紫外線を 50% カットオフ)；UV31 区 UV29 (Toshiba Glass：290 nm 以下の紫外線を 50% カットオフ)；UV29 区 cellulose diacetate film (Cadillac Plastic Co. USA)；Film 区

UV31, Film 区においては UV-C 領域の紫外線は含まないが，UV-29 区では照射 UV-B に対して 2.5% 程の UV-C 領域の紫外線を含んでいる。また，UV-B 照射量は UV-31, Film, UV-29 区で各々，1 日当たり 6.0, 11.5, 39.5, $\text{kJ}/\text{m}^2/\text{day}$ であった。尚，UV-B 照射は，発芽時から行った。発芽後およそ 35 日間前後において，最上位葉であった主幹第 8 葉の完全展開葉を解析に用いた。

表 1 には，各紫外線照射区において照射した UV-B が，葉内全窒素含量，Chl, 可溶性タンパク質，及び Rubisco 含量に及ぼす影響について，ササニシキと農林 1 号について比較した結果を示した。尚，値は全て，単位面積当たり各因子に含まれる窒素の含量で示した。また，() 内の数値は，全窒素中に占める各々の因子の割合を示した。各区における UV-B 照射は，両品種ともに UV 無照射区と比較して，全窒素含量及び，全ての因子の含量を減少させた。特に，UV 照射量の最も大きい UV29 区においては，それらの減少割合は最も大きかった。また，品種間で比較すると，UV31, Film 区においては顕著な差異は認められないものの，UV29 区では明かに UV 抵抗性の弱い農林 1 号の方が，強いササニシキよりもこれらの減少割合は大きいことがわかった。尚，ここでデータは示しませんでした，栽培 35

表1 3種類のUVフィルターを用いて照射したUV-Bが、葉内の全窒素含量 (Total leaf N), クロロフィル窒素, 可溶性タンパク質窒素, およびRubisco 窒素含量に及ぼす影響(本文参照)。(ササニシキ: Sa, 農林1号: No)

Fraction		-UV	UV31	Film	UV29
<i>mmol N/m²</i>					
Total leaf N	Sa	152±3 ^a	140±2	145±3	128±6
	No	151±5	138±3	124±5	112±6
Chlorophyll' N	Sa	3.0±0.1 (2.0) ^b	2.8±0.1 (2.0)	2.9±0.1 (2.0)	2.6±0.1 (2.0)
	No	3.1±0.1 (2.1)	2.8±0.1 (2.0)	2.9±0.1 (2.0)	2.5±0.1 (2.2)
	Sa	89±3 (58.9)	78±3 (55.7)	83±4 (57.2)	69±3 (53.8)
	No	90±1 (59.2)	77±2 (55.8)	80±1 (56.3)	53±3 (48.2)
Sol. protein N	Sa	60±1 (40.3)	53±2 (37.8)	56±1 (38.6)	47±2 (37.1)
	No	63±2 (41.4)	52±1 (37.7)	54±3 (38.0)	28±2 (25.1)

^a Mean±SD, n=3

^b Numbers in parentheses, percentages showing the ratio to total leaf N

日目における各UV照射区の地上部の生育(草丈, 分けつ, FW, DW)の変化は, 葉内全窒素含量の変化と相関が見られた。

次に, 葉内の全窒素中に占めるChl, 可溶性タンパク質, Rubiscoの各窒素の割合(表1, ()内の数値)が, UV-Bによりどの様な影響を受けたかについて両品種間で比較した。全窒素中に占めるChl窒素の割合は, 両品種ともに全てのUV照射区で2.0%と変化は認められなかった。牧野らは⁷⁾, 窒素栄養処理をすることにより葉内の窒素含量の異なるイネを含む5つのC₃型植物において, 葉内窒素含量の変化に対して, 全窒素中に占めるChl窒素の割合は変化しないことを報告した。本実験においても, UV-B照射は両品種のChl含量を減少させたものの, 全窒素中に占めるChlの割合は変化せず, 葉内窒素含量の変化によるChl含量の変化と同様の傾向を示

した。一方、可溶性タンパク質、及び Rubisco 窒素の全窒素中に占める割合は、両品種ともに各 UV 照射により減少し、UV29 区における減少割合は最も大きかった。そして、農林 1 号においては、可溶性タンパク質窒素が 59.2% から 48.2%、Rubisco 窒素は 41.4% から 25.1% とササニシキよりも大きく減少していることがわかった（ここで、可溶性タンパク質の大きな減少は、Rubisco の減少に由来するものと考えられる）。

イネなどでは、葉内の窒素含量の低下に伴い、葉内全窒素含量中に占める Rubisco 窒素の含量の割合が減少することが知られている⁷⁾。そこで、これら両品種の UV-B 照射による Rubisco 窒素の全窒素中に占める割合の減少と、葉内窒素含量の減少との関係について調べた。方法としては、まず水耕法により UV 無照射区において、異なる窒素栄養条件で栽培し、異なる窒素含量を有する両品種の葉（第 8 完全展開葉）を用いて、全窒素含量と全窒素中に占める Rubisco 窒素の割合との関係について解析した（図 1）。その結果、牧野らの報告⁷⁾にも見られるように、Rubisco 窒素の全窒素中に占める割合は、葉内窒素含量の減少とともに減少し、両品種間において同一直線上に回帰された。次にこの図 1 上に表 1 の結果を再プロットしてみると、農林 1 号の UV29 区を除き、全ての区における全窒素中に占める Rubisco の割合の値は、先に示した直線上に回帰された。そして、農林 1 号の UV29 区におけるこの割合の値は、葉内窒素含量の減少から予想される値よりも大きく減少していることがわかった。このことは、農林 1 号の UV29 区における Rubisco 含量の減少が、葉内窒素含量の減少に伴う効果以上に、UV-B 照射による特別な効果によって引き起こされたことを示唆していると考えられた。この結果は、農林 1 号に特異的なものではなかった。UV-B 放射蛍光管にフィルターをつけずに（17% の UV-C を含む条件）、その他同じ栽培条件で生育したササニシキ、及び農林 1 号の葉においても同様の傾向が認められている。したがって、このような Rubisco 量の極端な減少は、照射 UV-B 量が高いとき（可視光の強度に対して相対的には多くなる条件）に引き起こされる。以上の結果から、UV-B による Rubisco 量の減少には、少なくとも 2 種の反応があると考えられた。1 つは、UV-B による葉内窒素含量の減少に伴う Rubisco 含量の減少。もう 1 つは、

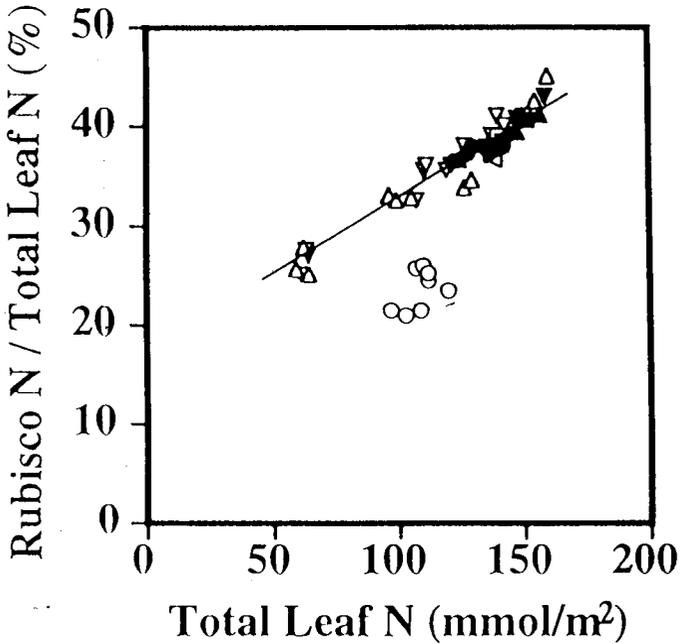


図1 葉内全窒素含量の変化に対する Rubisco 窒素の全窒素含量中に占める割合の変化 (本文を参照)
 UV 無照射区において, 異なる窒素栄養条件下で栽培されたササニシキ (△), 農林1号 (▽).
 表1の結果を再プロットした数値:
 ササニシキ[UV 無照射区 (▲), UV31区 (■), Film区 (▶), UV29区 (●)].
 農林1号[UV 無照射区 (▼), UV31区 (□), Film区 (◁), UV29区 (○)]

UV-Bによる specific な効果⁸⁾ (例えば: DNA 損傷に伴うタンパク質合成阻害, タンパク質の分解系の促進, 直接的な分解, あるいは Rubisco の不溶化⁹⁾……など)によるもの。しかしながら, 現在のところ, この UV-B による specific な効果の主な要因についてはわからない。今後の大きな課題であろう。

紫外線 UV-B による DNA 損傷とその修復機能からの解析

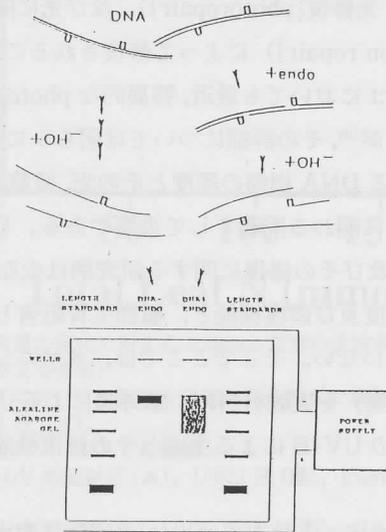
DNA は紫外線を吸収し損傷を受けることは古くから知られている。紫外線 UV-B の増加による植物生育阻害の要因に関して数多くの推測がな

されているが、その主な要因の1つにDNAの損傷があげられる⁸⁾。この紫外線による主なDNA損傷としては、cyclobutyl pyrimidine dimer (CPD)、及びpyrimidine-(6-4)-photoproduct ((6-4) photoproduct)の2種類の生成があげられる。DNA損傷の機作は、紫外線によりこれら dimers が生成し、RNA合成、タンパク質合成が阻害されると考えられている。一方、紫外線により誘起される dimers、特にCPDは、可視光(UV-A及び青色光をエネルギーとして、dimerをmonomerに修復する酵素 photolyase の関与：光修復[photorepair])、及び光に関係なく除去修復酵素(暗修復[excision repair])によって修復されることが知られている。((6-4) photoproductにおいても最近、特異的な photolyase の存在の可能性が指摘されているが¹⁰⁾、その詳細については明らかにされていない)。それゆえ、UV-BによるDNA損傷の頻度とその光、暗修復速度の関係は、植物生育阻害に直接的に関わる問題として重要である。しかしながら、高等植物のDNA損傷、及びその修復に関する研究例は少なく^{11,12,13)}、UV-BによるDNA損傷の頻度及び修復機能と、植物生育阻害との関係については未だ明らかにされていない。そこでここでは、ササニシキと農林1号の幼植物(第3完全展開葉)を実験材料に、紫外線によるdimerの生成頻度として最も多いCPDのUV-Bによる生成とその修復機能に関する研究を紹介する。

生成したCPDの検出、定量方法は、(1)CPDに対する特異抗体を用いたELISA法¹⁴⁾と、(2)生成したCPDの部位を特異的に切断するUVendonucleaseを用いたアルカリパルスフィールド電気泳動法¹⁵⁾、があげられる。ここでは(2)の方法を用いて解析を行った。その方法は、①ラジオアイソトープを使用することなく、生成したCPDの絶対量(base pair当たりのCPDの量)を測定することができる、②他の方法と比較し、組織(植物体)から一度DNAを抽出せずに測定できるため、少量のサンプルで、かつin vivoをより反映したDNA損傷量を評価できる、という利点を有している。しかしながら、この方法では、(6-4) photoproductの測定を行うことはできない。次にこの方法によるCPDの定量方法について、簡単に説明する(図2参照)。①照射処理された葉を瞬時に細かい切片に切り刻む。

DNA Preparation of Plant for Alkaline UPFE Method

Chopped the leaf for less than 1min.
 |
 Made the 1.0% Agarose plugs
 |
 Proteinase K treatment
 |
 PMSF treatment
 |
 Micrococcus luteus UV endonuclease treatment
 |
Alkaline Unidirectional Pulse-Field Electrophoresis



$$L_n^{-1} = \frac{\int \rho(x) \cdot dx}{\int L(x)}, \quad \text{Eq. 1}$$

$$\phi = L_n^{-1}(+e) - L_n^{-1}(-e), \quad \text{Eq. 2}$$

L_n : 平均分子量

$L(x)$: 移動度 x における分子量

$P(x)$: 移動度 x における ethidium bromide 染色の蛍光強度

ϕ : DNA 損傷の頻度 (ピリミジンダイマーの数 / $k b$)

$L_n(+e)$: UV endonuclease 処理された DNA の平均分子量

$L_n(-e)$: UV endonuclease 処理されていない DNA の平均分子量

図2 アルカリパルスフィールド電気泳動法(UPFE法)による、シクロプタン型ピリミジンダイマーの定量法について(本文を参照)

② 葉切片をアガロースで包埋し、アガロース電気泳動用ゲルのコーム内に入る大きさのプラグを作成する。③ Proteinase K 処理によりプラグ内のタンパク質を消化した後、各プラグに UV endonuclease (Micrococcus Luteus 由来の部分精製標品) 処理を行い CPD の生成部位を切断する。④ アルカリ処理した後、アルカリ条件下でのパルスフィールド電気泳動により切断された 1 本鎖 DNA を分離する。⑤ 分離された DNA の移動度、及び発色強度から、分離された全 DNA の平均分子量を、同一ゲル上の分子量マーカーから算出する。そして、求めた平均分子量から、図 2 に示した計算式¹⁵⁾を用いて CPD 量を求める。

まず、302 nm の単色光 (302 ± 15 nm; 2.0 W/m²) を用いて、UV-B 光の照射エネルギー変化に対する CPD 生成量の変化、UV-B Dose Response Curve を測定したところ、両品種間において差異は認められなかった。したがって、CPD の生成する頻度は両品種ともに同じであることがわかった。そこで次に、生成した CPD の修復速度について解析を行った。方法としては、まず先に得られた UV-B Dose Response Curve から、CPD の生成量がおおよそ 30、及び 50 sites/Mb となるように、各イネ幼植物に単色光 (302 nm) を照射した。照射後直ちに、青色光下 (光修復) または暗所 (暗修復) に移し、CPD 消滅の time course を測定した (図 3)。CPD の初期生成量が 30 sites/Mb における光修復速度を両品種間で比較すると (図 3a)、大変興味深いことに UV-B 抵抗性の強いササニシキは、弱い農林 1 号よりも 5 分以内での初速度がおおよそ 3 倍も速いことがわかった。尚、この条件において暗修復 (2 時間以内) は両品種ともに認められなかった。次に CPD の初期生成量が 50 sites/Mb における光、暗修復速度を両品種間で比較すると、光修復速度は先の結果と同様に、ササニシキの方が農林 1 号よりも速かった。暗修復は (図 3b)、初期 CPD 量が 30 sites/Mb から 50 sites/Mb と増加することにより認められ、その速度はこれも又興味深いことに、ササニシキの方が農林 1 号よりも速いことがわかった。しかし、暗修復速度は光修復速度と比較して大変遅い反応であることがわかる。以上の結果から、これら生成した CPD の修復速度の差異が、両品種間の UV-B に対する抵抗性差異の主な要因の 1 つとなっている可能性が示唆され

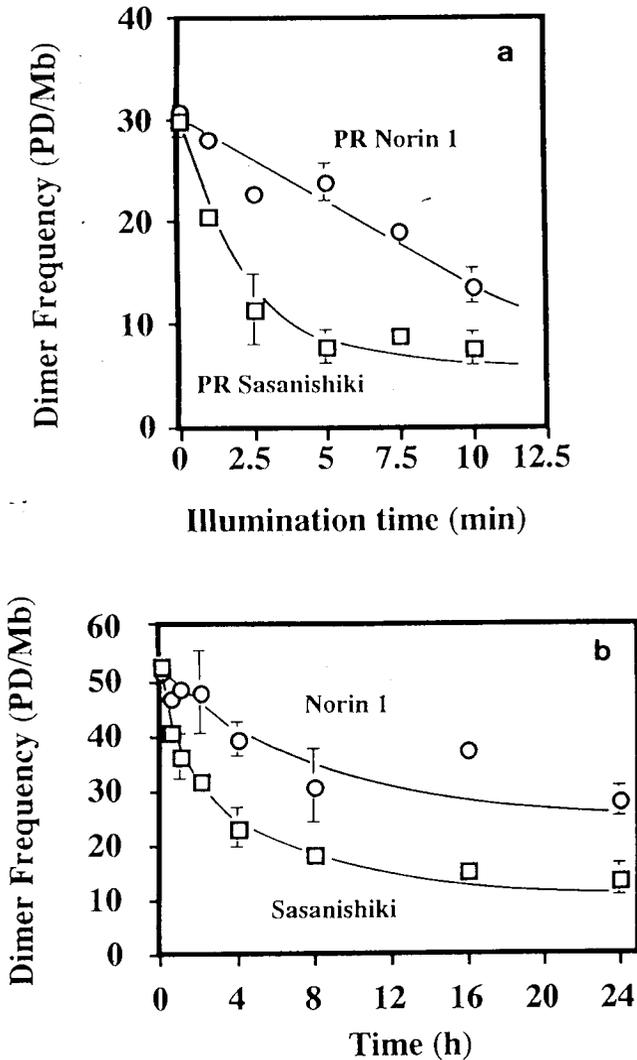


図3 ササニシキ及び農林1号の幼植物における、シクロブタン型ピリミジンダイマーの修復速度 (本文を参照)
 a: 初期ダイマー量が 30 sites/Mb における光修復
 b: 初期ダイマー量が 50 sites/Mb における暗修復
 (□) はササニシキ, (○) は農林1号を示す。

た。

今後の研究課題としては、① 種々の可視光及び UV-B 光のもとで生育した両品種で、生育の障害が認められているような葉において、ここで得られた結果がどのように反映されているか、② 葉位、葉齢 (age) の違いによる DNA 損傷の頻度とその修復機能の差異について、③ より多くの紫外線抵抗性の異なるイネ品種間での DNA 損傷の頻度とその修復機能の差異について、④ さらにはイネ以外の植物種間差についてなど、大変興味深いところである。

ま と め

UV-B による植物生育障害の要因、あるいは防御の機構は、多くの可能性が考えられ、極めて複雑であることは言うまでもない。今回紹介した DNA の損傷とその修復機能は、たくさんの要因中のほんの一面であろう。防御機構についてみても、*Arabidopsis* の UV 吸収物質であるフラボノイド合成欠損の突然変異体を用いた UV-B 感受性の研究例¹⁶⁾からもわかるように、UV-B 耐性にはフラボノイドのより多くの蓄積も重要と考えられる。事実、今回は紹介しなかったが、ササニシキと農林1号におけるフラボノイド様物質の蓄積の UV-B に対する反応を調べると、ササニシキの方が農林1号よりも多いことがわかっている。それゆえ、今回実験に用いたササニシキと農林1号の品種間差の要因は、様々な UV-B に対する反応の差の結果であろう。今後は、考えられる可能性について、様々な方面から研究していかなくてはならない。

また、このような環境問題をテーマとした研究において、最も関心のもたれることは圃場レベルでの研究結果である。我々も現在、今年で5年目となる圃場試験を行ってきている。まだ報告できる段階ではないが(これらの結果については、いずれ別の機会に報告したいと考えている)、UV-B による影響は、日照量、温度(冷害)などの天候に大きく左右されることは言える。したがって、今後は UV-B のみならず、可視光量、温度、大気 CO₂ 濃度などの複合環境下での植物の動態についての解析も必要不可欠であろう。

参考文献

- 1) Kumagai, T. and T. Sato (1992) *Japan. J. Breed.*, **42**: 545-552
- 2) Sato, T. and T. Kumagai (1993) *Japan. J. Breed.*, **43**: 61-68
- 3) Bornman, J.F. and A.H. Teramura (1993) In *Environmental UV Photobiology*. (Edited by Young A.R. et al.) pp.427-471. Plenum press, New York and London.
- 4) Teramura, A.H. (1983) *Physiol. Plant.* **58**: 415-427
- 5) Morita, K. (1980) *Ann. Bot.* **46**: 297-302
- 6) Evans, J.R. (1989) *Oecologia* **78**: 9-19
- 7) Makino, A., Sakashita, H., Hidema, J., Mae, T., Ojima, K. and B. Osmond (1992) *Plant Physiol.* **100**: 1737-1743
- 8) Stapleton, A.E. (1992) *Plant Cell* **4**: 1353-1358
- 9) Crafts-Brandner, S.J., Salvucci, M.E. and D.B. Egli (1991) *Planta* **183**: 300-306
- 10) Britt, A.B., Chen, J.J., Wykoff, D. and D. Mitchell (1993) *Science* **261**: 1571
- 11) Quate, F.E., Sutherland, B.M. and J.C. Sutherland (1992) *Nature* **358**: 576-578
- 12) Quate, F.E., Takayanagi, S., Ruffini, J., Sutherland, J.C. and B.M. Sutherland (1994) *Plant Cell* **6**: 1635-1641
- 13) Stapleton, A.E. and V. Walbot (1994) *Plant Physiol.* **105**: 881-889
- 14) Mori, T., Nakane, M., Hattori, T., Matsunaga, T., Ihara, M. and O. Nikaïdo (1991) *Photochem and Photobiol* **54**: 225-232
- 15) Quate, F.E., Sutherland, J.C. and B.M. Sutherland (1994) *Plant Mol. Biol.* **24**: 475-483
- 16) Li, J., Ou-Lee, T.M., Raba, R., Amundson, R.G. and R.L. Last (1993) *Plant Cell* **5**: 171-179

紫外線 (UV-B) 放射量増加 の植物への影響

竹内 裕一

1. はじめに

フロンガスをはじめとする含塩素化合物の大気中への放出による成層圏オゾン層の破壊は、波長 290~320 nm の UV-B 領域の紫外線の地表面への到達量を特異的に増加させる。UV-B 照射は植物の生長を阻害することが広く知られているが、植物の UV-B に対する適応や耐性のメカニズムなどに関する生理・生化学および分子生物学的研究は数少ない。本稿では、UV-B が植物におよぼす影響に関する研究のうち、われわれの研究室における成果を中心に紹介する。

2. UV-B による生長阻害と UV-B に対する感受性・抵抗性

2.1. キュウリ黄化子葉の *in vitro* 培養系を用いた解析

暗所で5日間生育させたキュウリの黄化芽生えから子葉を切り取り、ゼアチンを含むリン酸緩衝液で湿らせた濾紙が入ったシャーレに入れた。上を種々の透過特性をもった紫外線透過フィルターで覆い、健康線灯 (Toshiba FL 20 SE) を光源として 20°C で紫外線を照射し、培養した。子葉の生長およびクロロフィル (Chl) 合成は、320 nm 以下の波長の紫外線照射により阻害されたが、280~300 nm の波長域と 300~320 nm の波長域ではその阻害の様式に違いがみられた。Chl 合成は波長 280~300 nm の紫外線により強く阻害されたが、300~320 nm の波長域ではその阻害はわずか

であった。300~320 nm の紫外線による生長阻害率は培養温度を 20°C から 25°C にすることにより減少したが、280~300 nm の紫外線による阻害は温度によって影響を受けなかった。この紫外線の影響の温度依存性は光合成活性の阻害についても同様に認められた。このことは、UV-B 照射による植物の生長阻害には少なくとも 2 つの異なるメカニズムが関与していることを示唆していると考えられる (Takeuchi et al. 1993)。

次に、この阻害メカニズムにおける活性酸素の関与を検討するため、脂質の過酸化の指標であるマロンジアルデヒド (MDA) の子葉内蓄積量を定量した。UV-B 照射により MDA 量は増加し、その含有量は子葉の生長阻害率および Chl 合成阻害率と正の相関が認められた。また、子葉の生長阻害は活性酸素消去剤の一つであるヒドロキノンを経験用緩衝液に添加することにより回復した。またパルス変調蛍光計を用いて Chl 蛍光反応に対する UV-B の影響を解析した結果、UV-B 照射により光合成の電子伝達系が影響を受けていることが明らかになった。これらの結果から、UV-B により光化学系がダメージを受け、生成する活性酸素が増加し、脂質の過酸化、生長阻害を引き起こしていることが推測される (Takeuchi et al. 1995)。

2.2 キュウリ芽生えを用いた解析

12 時間/12 時間の明暗周期の光条件下で生育させた芽生えを用いて、UV-B 照射の子葉の生長に対する影響を検討した。20°C で UV-B を芽生えに照射すると、UV-B を照射しない対照区のものに対し子葉の生長は著しく阻害された。UV-B を照射した子葉では、表面にワックス状の光沢が認められ、周辺部が上方に反り返るのが観察された。このような子葉の超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡で微細構造を観察したところ、表皮細胞が萎縮または潰死していることが認められた。また、一層目の柵状組織の細胞に滑面小胞体と思われる膜構造体が見られ、UV-B 照射によるワックス層の肥厚と関連するものと推定された。

黄化子葉の *in vitro* 培養系を用いた実験より、UV-B によるキュウリ子葉の生長阻害の割合は温度により左右されることが示されたが、このことを芽生えを用いて追試した。芽生えに UV-B を照射するときの温度を 25°C とし、20°C での結果と比較した。20°C では UV-B 照射による生長阻

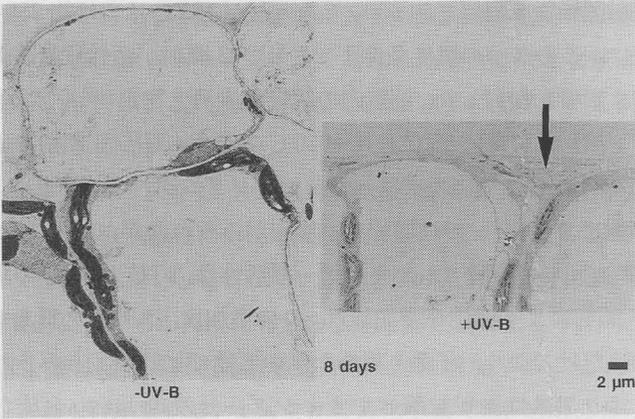


図1 UV-B 照射8日目のキュウリ子葉の表皮細胞
左: 対照区, 右: UV-B 照射区
萎縮または潰死している表皮細胞を矢印で示す。

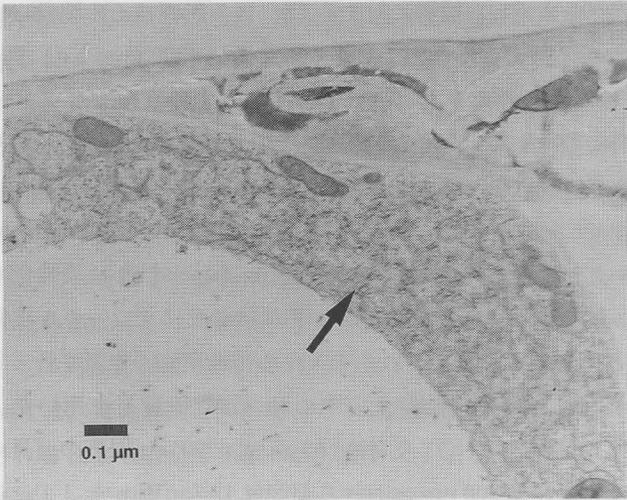


図2 UV-B 照射8日目のキュウリ子葉の柵状組織の細胞
滑面小胞体と思われる膜構造体を矢印で示す。

害率は照射開始後 8 日目で約 60% であったが、25°C では約 25% に低下した。次に、この 2 つの温度条件下で、UV-B 照射が活性酸素防御系の活性に及ぼす影響を検討した。細胞内の活性酸素消去物質(グルタチオン、アスコルビン酸)含有量は 25°C に比べ 20°C で高く、UV-B 照射により増加する傾向が認められた。スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性は、UV-B 照射により 20°C では増加する傾向がみられたが、25°C では逆に低下した。アスコルビン酸ペルオキシダーゼ活性は、20°C と 25°C の両条件下で UV-B 照射により活性が増加した。この増加は、タンパク質あたりの活性(比活性)だけでなく、子葉 1 枚あたりの活性で比較してもみられ、UV-B 照射によりアスコルビン酸ペルオキシダーゼの *de novo* 合成が誘導されることが示された (Takeuchi et al 1996a)。この誘導は、最近タバコを用いた実験でも確認されており、UV-B 照射により活性酸素の生成が増大するという前述の結果を裏付けるものと考えられる。

3. UV-B による DNA 損傷と修復機構

2.1. で述べたように、植物に対する UV-B の影響はその波長により作用機構が異なると考えられる。このうち短波長側 (300 nm 以下) では、その作用点として最も考えやすいのは DNA に対する直接的なダメージである。一般的に DNA は 260 nm をピークとする紫外線を吸収し、隣り合ったピリミジン間で cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) または (6-4) photoproduct を形成する。また、形成された (6-4) photoproduct は、320 nm をピークとする紫外線により Dewar photoproduct に異性化する。われわれは、これらの DNA 損傷産物に特異的なモノクローナル抗体を用いて、UV-B 照射により形成される DNA の損傷産物の定量を行った。

実験系には 2.1. で述べた黄化子葉の *in vitro* 培養系を用いた。フィルターとして、UV-28 (HOYA (株)) を用い、290 nm 以下の波長の紫外線をカットした。波長 300 nm における照度は $12.7 \text{ mWm}^{-2}\text{s}^{-1}$ で、この値は 1992 年につくばで観測された年間の最大値にほぼ等しい。子葉の DNA 中の CPD および (6-4) photoproduct 量は照射 15 分までほぼ直線的に増加した。UV-B と同時に白色光を照射すると、損傷産物量は減少し、その減少の割合は、(6-4) photoproduct では 20% 以下であったが、CPD では約

50% であった。DNA 損傷産物形成に対する照射時の温度の影響を検討したところ、15°C ではシャーレを氷上で冷却した場合と大きな差は認められなかったが、20°C 以上 35°C までの範囲では、温度が上昇すると損傷産物形成量が増加する傾向がみられた。

次に、子葉に UV-B を 15 分間照射した後、暗所または白色光照射下で子葉を培養し、回復過程について検討した。暗所では、CPD および (6-4) photoproduct とも 24 時間で DNA 量あたりの量が約半分に減少した。しかし、培養時における DNA 含有量の変動を測定したところ、子葉 1 枚あたりの DNA 量は暗所 24 時間の培養で 1.8 倍に増加することが明らかになった。これらの結果から、キュウリの黄化子葉では、暗所における DNA 損傷の回復はわずかであると考えられる。

一方、白色光下では、CPD および (6-4) photoproduct は速やかに修復され、50% の損傷産物の除去に要する時間は、それぞれ 15 分および 4 時間であった。この光修復過程は照射する光の強度に依存し、白色光の強度が増すと修復量も増加した。また、温度にも依存し、培養温度が 25-30°C の時に修復活性は大きく、それ以下およびそれ以上の温度では修復量は減少した (Takeuchi et al. 1996b)。

次に、国立基礎生物学研究所の大型スペクトログラフを用い、UV-B 照射後 325 nm から 500 nm の単波長光を照射し、光修復過程の波長依存性を検討した。得られたスペクトルは幅広い波長依存性を示し、複数の修復酵素が関与していることが示唆された。また、325~375 nm の波長域の光照射で、(6-4) photoproduct の顕著な減少がみられたが、これは Dewar photoproduct への異性化によるものと考えられる。この光修復過程の波長依存性については、現在詳細な解析を行っているところである。

4. UV-B による遺伝子発現への影響

2.1. で述べたように、300~320 nm の紫外線による生長阻害は光合成の阻害に起因すると考えられるが、この波長域の紫外線が遺伝子の発現に特異的な影響を与えるのかを検討した。黄化子葉に波長 300 nm 以上 (実験区) および 320 nm 以上 (対照区) の紫外線を照射し、両者から mRNA を単離し、ディファレンシャルスクリーニングにより 300~320 nm の UV-B

照射により発現量が変動する cDNA クローンの単離を試みた。UV-B 照射により、子葉の生重量および Chl 合成は阻害されたが、子葉 1 枚あたりの RNA, DNA およびタンパク質量は対照区と比べ有意差はみられなかった。13 万個以上のクローンについて発現量を実験区と対照区で比較したが、UV-B 照射により発現量が増加するクローンは単離されなかった。UV-B 照射により発現量が減少するクローンは 3 つ (UVR1, 2, 3) 単離され、その部分塩基配列から、それぞれ ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rubisco) の small subunit, Chl a/b-binding protein と rubisco activase 遺伝子と同定された。これらの結果から、葉緑体構成タンパク質遺伝子の発現が波長 300~320 nm の UV-B により特異的に阻害されることが示唆された。今後、この阻害に影響を与える環境条件等について検討していく予定である。

謝辞

共同研究者である、金沢大学薬学部の二階堂修教授、東京大学理学系研究科の近藤矩朗教授、国立環境研究所の中嶋信美博士に深く感謝する。

参考文献

- Takeuchi, Y., Ikeda, S. and H. Kasahara (1993) *Plant Cell Physiol.* **34**: 913-917.
- Takeuchi, Y., Fukumoto, R., Kasahara, H., Sakaki, T. and M. Kitao (1995) *Plant Cell Reports* **14**: 566-570.
- Takeuchi, Y., Kubo, H., Kasahara, H. and T. Sakaki (1996a) *J. Plant Physiol.* in press.
- Takeuchi, Y., Murakami, M., Nakajima, N., Kondo, N. and O. Nikaido (1996b) *Plant Cell Physiol.* in press.

Alfalfa における DNA の損傷と修復機構に関する解析

高 柳 進之輔

要 旨

Alfalfa の子葉を用いて紫外線 UV-B 照射量とシクロブチルピリミジン二量体 (CPD) の誘発との関係、光回復および除去修復機構による修復能力を測定すると共に、屋外及び紫外線をカットした人工光下で生育させた *alfalfa* の相対的な UV-B 感受性を調べた。初期 CPD 頻度が低い場合には (<15 CPD/Mb), その苗は専ら光回復系のみを使ってその修復を行い、除去修復系は殆ど作動していなかった。しかし、初期 CPD 頻度が高い場合は、その修復に光回復および除去修復の両系が働いていた。この結果は、低損傷レベル時には外部エネルギーだけを必要とする error-free の修復が、高損傷レベルでは細胞内エネルギーを必要とする他の修復系も動員することを示唆している。屋外及び人工光下で生育した *alfalfa* は、同レベルの内因性 CPD を含んでいたが、屋外で生育した苗は、人工光下で生育したものに比べ広領域の UV に対して感受性が低く、また CPD をより修復させる能力を獲得していた。

結 論

植物は、太陽光に曝されている間、光合成に必要な可視光線と紫外線を同時に受けている。近年、フロン化合物や二酸化窒素の排出による成層圏のオゾン層の減少は、地表に到達する可視光線量には変化はないが、UV-

B (290-320 nm)の量を増大させている¹⁾。このUV-BはDNAを始めとするいろいろな細胞内構成物質を損傷することが知られている。その結果、ほとんどの生物は他のDNAの損傷と同様にピリミジン二量体 (pyrimidine dimer, PD), 特にシクロブチルピリミジン二量体 (cyclobutyl pyrimidine dimer, CPD)を形成すると共に、この損傷を除去するためのいろいろな修復機構を発達させてきた。これまでにUV-C (200-290 nm)照射によって、植物における光回復と除去修復について報告されている²⁻⁷⁾。それによると、植物の損傷DNAの修復は主に光回復によって行われているが、除去修復能は種によってかなり異なることが示唆されている。しかしながら、UV-B照射による影響については殆ど調べられていない。オゾンホールによるUV-Bレベルの上昇が未修復のDNA損傷を増大させるなら、植物の代謝、成長、作物の収穫量、酸素の生成を減少させることが予測される。

そこで自然環境中で各種レベルのUV-Bを照射した *alfalfa* DNAの修復能力を理解するために、人工光下で生育した *alfalfa* の苗に低レベルあるいは高レベルのUV-Bを照射後、それぞれ暗黒条件下あるいは青色光の下でCPDの修復を行わせた。また、屋外及び人工光下で生育した *alfalfa* について、内因性損傷の度合、UV-B照射と感受性の関係、修復能力の3点について比較検討した。

材料と方法

材料: *Alfalfa* (*Medicago sativa* L.) の種子はGrowth Chamber内で発芽させた。照明は人工白色光 (Sylvania/GTE, Denvers, MA)で行い、400 nm以下の波長の光をUF4 plexiglas フィルター (Rohm & Haas, Philadelphia, PA)を用いて除去した。屋外での生育は、滅菌した人工培養土を入れたポットで行った。何れの場合も、種子を蒔いてから約7-8日後に子葉は十分に成長し、これを実験に用いた。

UV照射: ペトリ皿にある苗は、広い範囲のUV-BスペクトルをもつFS20 Lamp (Westinghouse, Bloomfield, NJ)で照射した⁸⁾。全ての操作は不測の光回復を最小に食い止めるため、黄色蛍光灯 (General Electric,

Cleveland, OH) の光の下で行った。

光回復: UV-B 照射を行なった試料は、400 nm より短い光を除去するため UF4 plexiglas filter (UF4 filter) で覆った 2 本の 15T8/B の青色の蛍光灯 (North American Philips Lighting, NJ) の光の下に置き、光回復を行わせた。

試料 DNA の調製: DNA の抽出は Quait らの方法に従って行った^{9,10}。即ち、子葉を細切し、これに低融点アガロースを混和して試料 plug を作成した。この plug を 1% (w/v) Sarcosyl (Sigma, St. Louis, MO) 存在下に於て Proteinase K (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN) で処理し、DNA 試料を得た。

Alfalfa DNA の UV-endonuclease による処理: UV-endonuclease は、*Micrococcus luteus* を streptomycin と ammonium sulfate 沈澱法によって部分精製した¹¹。試料 DNA を含む 2 つの plug の一方は、UV-endonuclease を加えた UV-endonuclease buffer 中で 37°C, 30 分間処理し、他方は同酵素を含まない UV-endonuclease buffer 中で同様に処理した (対照)。反応終了後、これらの試料は alkaline stop mix (0.5 M NaCl, 50% (V/V) glycerol, 0.25% (W/V) bromocresol green) の添加により 37°C, 30 分間のインキュベーションを行なった。

アルカリゲル電気泳動: Agarose gel は、0.4% Seakem LE agarose (FMC Bioproduct, Lockland, ME), 1 mM EDTA, 50 mM NaCl をもって作製し、ついでアルカリ電気泳動用溶液 (2 mM EDTA, 30 mM NaOH) に 30 分間浸して平衡化した。このゲルに試料と既知の長さの DNA 分子マーカーを同時に供した。泳動は、10°C の恒温槽に泳動槽を置き、10 秒毎に 0.3 sec, 15 V/cm のパルスをかけ 16 時間行なった。その後、ゲルは、0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) で 1 時間インキュベーションして中和し、さらに ethidium bromide で染色 (1 μ g/ml, 15 min) した。

ゲルの泳動像と CPD の定量: ゲル中の DNA の蛍光泳動像は、Sutherland らの画像解析システムを使ってコンピューターに保存した¹²。CPD の頻度は先に記載されている Moment の方法 (Freeman ら, 1986) で計算した¹³。試料及びマーカー DNA の各レーンの泳動像から、DNA 分子の長

さと移動位置との分散関数は DNA 分子マーカーから得られる。この曲線の定量的画像データから各レーンの平均分子長の数 (L_n) は次の等式 (1) から計算した。

$$L_n^{-1} = \frac{\int \rho(x) \cdot dx}{Lx} \cdot \frac{Lx}{\int \rho(x) \cdot dx}$$

ここで、 $L(x)$ は位置 x に移動した DNA 分子の長さであり、 $p(x)$ は位置 x に移動した DNA 分子と結合した ethidium bromide の蛍光の強さである。DNA 分子集団の平均長の数から、その損傷の頻度 (ϕ) は次の等式 (2) から得られる。

$$\phi = L_n^{-1} (+e) - L_n^{-1} (-e) \quad (2)$$

ここで、 $L_n(+e)$ は UV-endonuclease で処理された DNA 試料の集団に於ける平均分子長の数である。また、 $L_n(-e)$ は、酵素処理されなかった試料 DNA の平均分子長の数である。DNA の長さ、 $L(x)$ 及び L_n はキロベース (Kb) あるいはメガベース (Mb) で表わされ、同様に、 ϕ も CPD/kb あるいは CPD/Mb で表わされる。

結 果

UV-B 量と CPD 形成: *alfalfa* の苗に UV-B を照射後、直ちに黄色光の下でその子葉から DNA 試料 plug を作成した。この DNA 試料 plug を UV-endonuclease 処理後、これらをアルカリゲル電気泳動し、ゲル解析装置で CPD 量を求めた。結果は図 1 に示す通りであり、照射時間 (量) の増加にともなって形成される CPD 量はほぼ直線的に増加することがわかる。

低 CPD レベルでの修復: *alfalfa* における光回復及び除去修復の相対的な役割を決定するため、青色光の存在下及び非存在下で *alfalfa* が CPD を除去する能力について調べた。

低線量の UV-B を *alfalfa* の苗に照射すると (1.0 min, 49 J/m²)、約 10 CPD/Mb が形成される。これを直ちに光回復あるいは除去修復させた。図 2 は光回復時の CPD 量と時間との関係を示し、図 3 は除去修復時の CPD

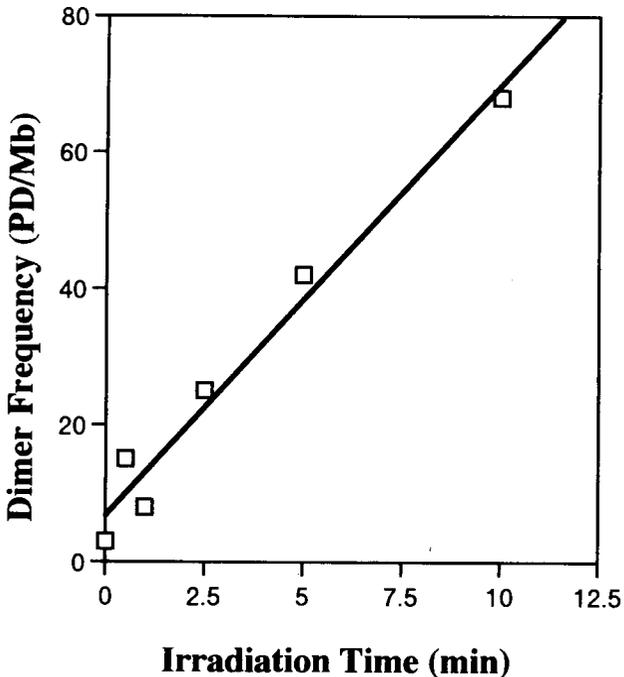


図1 Alfalfa における UV-B (490 J/m^2) 照射時間と DNA 損傷との関係。

量と時間との関係を表している。青色光下の苗では、 0.12 CPD/Mb/min の速度で明らかに光回復を行っていることを示している。一方、暗黒下に置いた苗では CPD 量の減少はみられず、除去修復機構が殆ど働いていなかった。同様な結果は初期 CPD レベルを 20 CPD/Mb に上げても得られた。従って、この alfalfa では初期 CPD 値が低レベルにある時には、除去修復は殆ど行われず、光回復機構のみがその修復に効果的に使われていることが示された。

高 CPD レベルでの修復：高レベルの初期 CPD 値をもつ alfalfa の苗でも光回復及び除去修復機構の働きについて調べた。苗に UV-B を照射し、初期 CPD が約 50 PD/Mb のレベルにある苗を青色光の下に置いた時(図 4)、修復速度は $0.5 \pm 0.12 \text{ CPD/Mb/min}$ であった。一方、暗黒条件下に置いた時(図 5)、その除去速度は $0.3 \pm 0.05 \text{ CPD/Mb/min}$ であった。また、初

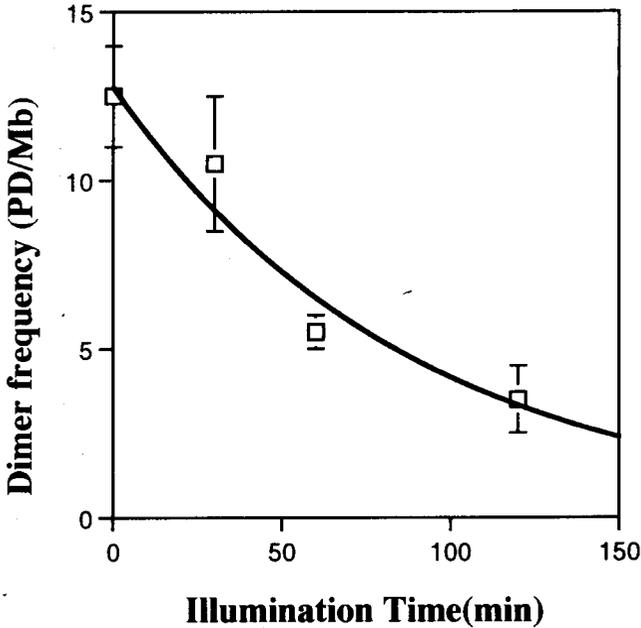


図2 低頻度の損傷を持つ *alfalfa* の光回復。

期レベルが 35 CPD/Mb の場合でも、光回復と除去修復が検出された。これらの結果は、高レベルの初期 CPD 値をもつ *alfalfa* の苗では、その修復に主に光回復機構が働き、さらに除去修復機構も使われていることを示している。

屋外で生育した苗での損傷の修復：人工白色光および屋外で生育した *alfalfa* の苗における内因性 CPD 量を調べると、両者の値はほぼ同等であった(図 6)。人工白色光下で生育した苗において、初期低レベル CPD では除去修復が検出されなかった。そこで、屋外で生育した苗に低レベルの CPD (約 16 CPD/MB) を形成させ、その光回復および除去修復能を調べた。図 6 に示すように、屋外で生育した苗では DNA 損傷の修復に光回復だけでなく除去修復も行われていた。これは、屋外で生育した苗は充分な量の紫外線に曝されているため光回復及び除去修復機構も働き、損傷を人工白色光下で生育した苗と同等の低レベルに維持していると考えられる。ま

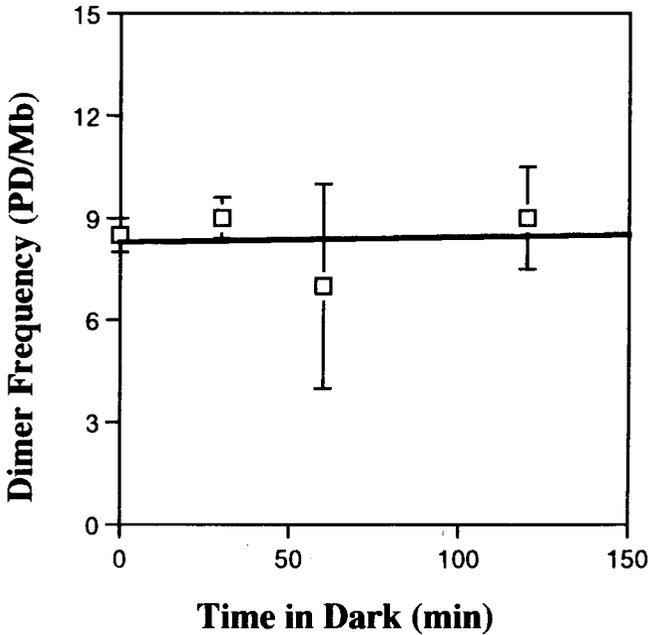


図3 低頻度の損傷を持つ *alfalfa* の除去修復。

た、屋外で生育した苗の方が UV-B 感受性が低いことは、UV-B を照射している間に、既に発現している修復機構が働き、直ちにその損傷のほとんどを修復してしまう結果と考えられる。

考 察

Alfalfa の苗における光回復は、広い範囲の初期 CPD レベルにわたって損傷を効果的に修復している。DNA 中の CPD の光回復は単一のタンパク質分子によって行われている。この反応は、始めに光回復酵素が CPD 部位に結合し、酵素-基質複合体を形成する。飽和条件の光の存在で、第 2 の段階、即ち、光分解が急速に進行する。この可視光の強さは一定であるので、初期損傷レベルの上昇に伴う光修復の速度の増加は、おそらく酵素-基質 (CPD) 複合体形成の速度によるものである。

低 UV-dose に曝された *alfalfa* の苗の実験で除去修復能が欠けているよ

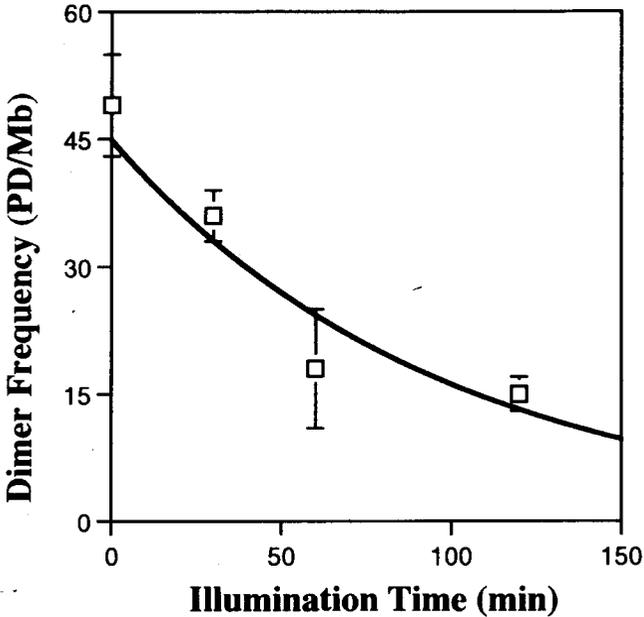


図4 高頻度の損傷を持つ *alfalfa* の光回復。

うに思われた。同様な所見は、他の植物でも既に報告されている²⁻⁴⁾。しかし、高レベルの UV-B 照射の実験で、初期 CPD レベルが 30 CPD/Mb 以上になると、そのレベルに対応して除去修復が容易に検出できるようになった。また、その働きは高レベルでの光回復と同等の高い能力を持っていた。Eastwood と McLennan¹⁴⁾ はニンジンでの除去修復の速度は UV-dose と関連し、100 J/m² で最高に達し、DNA の 0.0026% の thymine が二量体を形成する事を見いだした。Peterson ら¹⁵⁾ と Wani ら¹⁶⁾ はヒトの細胞の除去修復の速度も二量体の頻度に依存していることを示したが、光回復の速度は同じ実験では決定できず除去修復および光回復との相対的な役割は検討されなかった。

最近、Pang と Hays⁷⁾ は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) に 50-70 PD/Mb を生ずるように 254 nm の UV を照射した時、除去修復は光回復のほぼ 20% に相当することを明らかにした。一方、Britt ら¹⁷⁾ は 20 時間にわた

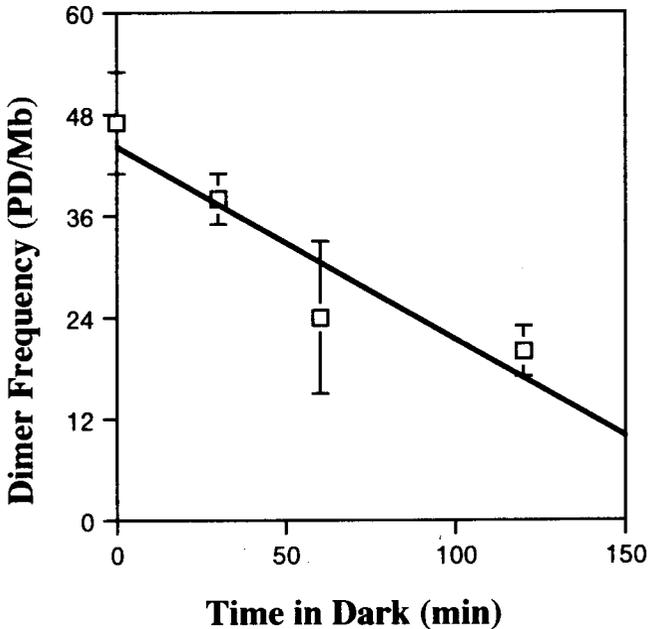
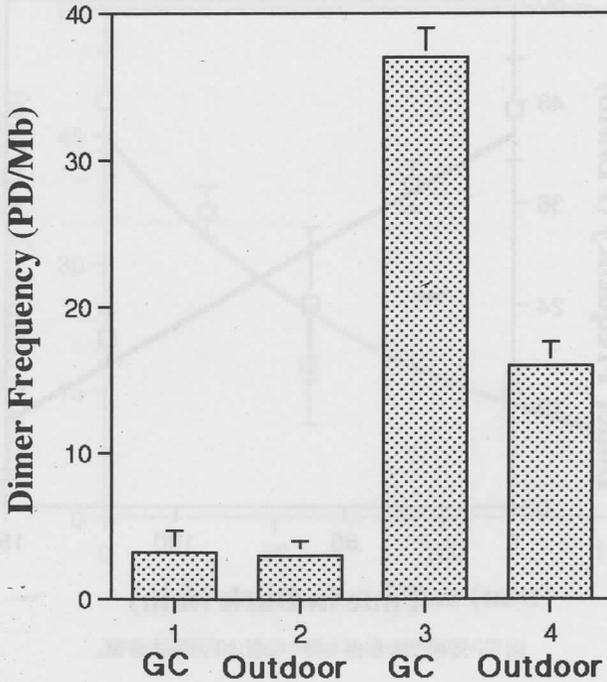


図5 高頻度の損傷を持つ *alfalfa* の除去修復。

る実験で有意な除去修復は見い出せなかった。これが株による違いなのか、あるいは Pang と Hays が観察した除去修復が新しい DNA 合成に関与しているのかどうかは不明である。Degani ら⁶⁾は、ミジンコウキクサ (*Wolfia*) に 600 CPD/Mb を生ずるように UV を照射してその修復能を調べ、光回復の約 2/3 の割合で除去修復機構で CPD を除去していることを報告している。これは高 CPD レベルの *alfalfa* の苗で測定した相対的な値に近いものである。

このように DNA 損傷の修復能力に関する初期の実験では、除去修復が二、三の植物では検出できなかった。しかし、これは CPD の測定に比較的検出感度の低い chromatography 法が使われていたので、高レベルの CPD ($2 \times 10^2 - 11 \times 10^3$ CPD/Mb) がないとその変化を検出できなかったものと考えられる。従って、以前に除去修復能が欠如していると報告された植物にもその能力がある可能性がある。



Endogenous UV-B Irradiation

図6 人工光 (CG) および屋外 (outdoor) で生育した *alfalfa* の内因性ピリミジンダイマー量 (1と2) と UV-B 照射した時 (490 J/m², 5 min) に形成されるピリミジンダイマー量 (3と4) の比較。

本実験で低 CPD レベルにある *alfalfa* の苗に除去修復が見られなかったことは、同じ初期傷害レベルでも光回復は容易に測定できるので、その傷害の検出感度によるものではない。この植物の低い CPD レベルでの除去修復能が認められなかったことは、除去修復に関する酵素群の DNA 傷害に対する親和性の低下や DNA 代謝への関与等に起因するのかも知れない。

いろいろな修復応答は、効率的で有益な UV-stress-応答を反映していると考えられる。低い傷害レベルでは光回復機構を始めに利用する利点として2つ考えられる。まず、光回復は自己のエネルギーを必要とせず、外

的な太陽光に豊富に含まれる可視光のエネルギーだけを利用すること、第2に CPD の単量体への光回復は本質的に error-free の反応であるので修復に伴う突然変異を最小にとどめられることが挙げられる。光回復の能力が飽和している高損傷レベルにある時、これらの植物は光回復の他に細胞内のエネルギーを必要とする除去修復を使う。この全体的な戦略は低いレベルあるいは高レベルの UV-stress に対応して細胞内の蓄積を有効に使用していることを示唆している。

本研究の結果で見られるように、いろいろな照射量での異なる修復の様式は、ある植物において一つの UV 照射量で得られたデータだけから決定できないことを意味している。従って、植物 DNA の修復能を理解する際に、初期 UV 照射量を含むいろいろな条件を変えて除去修復や光回復などの修復機構を解析する必要があることを強く示唆している。

参考文献

- 1) Blumthaler, M. and W. Ambach (1990) *Science*, **248**: 206-208.
- 2) Trosko, J.E. and V.H. Mansour (1968) *Radiat. Res.* **36**: 333-343.
- 3) Trosko, J.E. and V.H. Mansour (1969) *Mutant. Res.* **7**: 120-121.
- 4) Swinton, D.C. and P.C. Hanawalt (1973) *Photochem. Photobiol.* **17**: 361-375.
- 5) Howland, G.P. (1975) *Nature* **254**: 160-161.
- 6) Degani, N., Ben-Hur, E. and E. Riklis (1980) *Photochem. Photobiol.* **31**: 31-36.
- 7) Pang, Q. and J.B. Hays (1991) *Plant Physiol.* **95**: 536-543.
- 8) Jegger, J. (1961) *Radiat. Res.* **14**: 394-403.
- 9) Quait, F.E., Sutherland, B.M. and J.C. Sutherland (1992) *Appl. Theor. Electrophor.* **2**: 171-175.
- 10) Quait, F.E., Sutherland, J.C. and B.M. Sutherland (1994) *Plant Mol. Biol.* **24**: 475-483.
- 11) Sutherland, B.M., Bennett, P.V., Conlon, K., Epling, G.A. and J.C. Sutherland (1992) *Anal. Biochem.* **201**: 80-86.
- 12) Sutherland, J.C., Linn, B., Monteleone, D.C., Mugavero, J., Sutherland, B.M. and J. Trunk (1987) *Analyt. Biochem.* **163**: 446-457.
- 13) Freeman, S.E., Blackett, A.D., Monteleone, D.C., Setlow, R.B., Sutherland, B.M. and J.C. Sutherland (1986) *Analyt. Biochem.* **158**: 119-129.
- 14) Eastwood, A.C. and A.G. McLennan (1985) *Biochim. Biophys. Acta*

826 : 13-19.

- 15) Paterson, M.C., Lohman, P.H.M. and M.L. Sluyter (1973) *Mutat. Res.* **19** : 245-256.
- 16) Wani, A.A., D' Ambrosio, S.M. and N.K. Alvi (1987) *Photochem. Photobiol.* **46** : 477-482.
- 17) Britt, A.B., Chen, J.J., Wykoff, D. and D. Mitchell (1993) *Science* **261** : 1571-1574.

植物色素合成の紫外線による制御 —— PAL 遺伝子の発現

竹 田 淳 子

過度の人間活動のまねいた環境破壊の中で、オゾン層の破壊に伴う地表への UV-B 光量の増大は、CO₂ 濃度の増大とともに生態系、とりわけ動くことの出来ない植物に与える影響は大きいと考えられる。植物と UV-光との関わりは、35 億年前に海中で誕生した生命が進化発展し、UV-B 耐性機構を獲得し陸上への進出を果たした時点で始まる。この植物の獲得した特異の耐性機構とは、二次代謝産物として知られている UV-B 吸収物質即ちフラボノイド化合物の蓄積であり、これは次にあげる状況証拠から広く信じられている。現在陸上植物として栄える種子植物(シダの一部も含む)に、アントシアンをはじめとするフラボノイド系化合物が存在しており、藻類には存在しない。この物質は表皮細胞に蓄積され、UV フィルターとして働き有害な UV の侵入を防ぐことにより植物に UV-耐性を与えており、両者の間には相関が存在する。また UV 感受性ミュータントが DNA 修復系の欠損を除けばフェニールプロパノイド代謝系の欠損株である。さらにその合成あるいは合成に関わる酵素の遺伝子発現が UV-B 光により誘導促進される等である。しかし UV-B 光の受容から遺伝子発現に至る情報伝達系に関してはほとんど知られていない。

我々はニンジン培養細胞におけるアントシアン合成系を一つのモデル型として取り上げ、UV-B 耐性物質であるアントシアンが、UV-B 光によりどのように誘導されて蓄積されるのかその分子機構を明らかにし、まだ実証されていない UV-B 光受容体及び情報伝達系の解明をめざして研究を

行ってきた。

(1) ニンジン培養細胞のアントシアン合成は UV-B 光受容体を介して行われる

ニンジン培養細胞は-2,4-D 培地で3~5日暗所培養(分化誘導)後,光(UV)照射によりアントシアン合成が,誘導される(Takeda, 1988 & 1990)。与える光として大型スペクトログラフによる各種強度の単色光パルスを用い,生成するアントシアン量を光量の対数に対して示すと,いわゆる光量-反応曲線を求めることが出来る(図1)。UV-域の光が唯一有効で青色光や赤色光による誘導は見られなかった。280 nm~330 nm の UV 光領域で等しい勾配を持つ直線部分から作用スペクトルを求めると,280 nm にピークを持ち UV-B 光受容体の関与が示唆された(図1 挿入図)。アントシアンはフェニールアラニンを出発物質とし多くのステップを経て合成されるが,フェニールプロパノイド代謝系の入口に位置するフェニールアラニンアンモニアリアーゼ(PAL)及びフラボノイド代謝の分岐点のカルコンシンタゼ(CHS)が鍵酵素として働くことが我々の系においても確認されている(図2)。そこで PAL 及び CHS の mRNA 合成が UV-B 光受容体

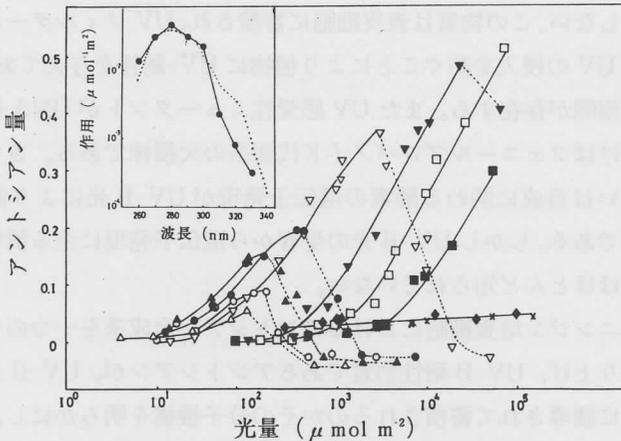


図1 アントシアン合成に関する光量-反応曲線とその作用スペクトル
260 nm (△), 270 nm (▲), 290 nm (●), 300 nm (▽), 320 nm (□), 330 nm (■) Takeda & Abe (1992) Fig 2. より改変。点線で示したのは fast PAL mRNA 合成に関するものである (Takeda *et al.* (1994) 参照)。

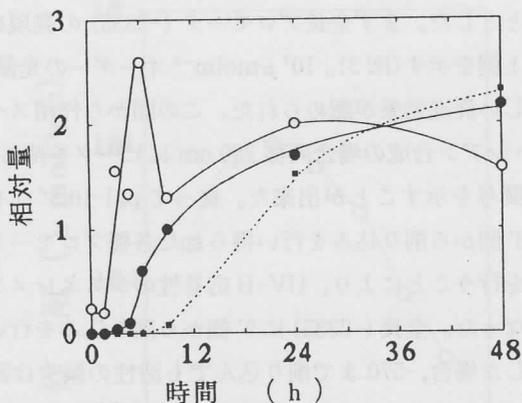


図2 光によるアントシアニン合成及びPAL及びCHS mRNA誘導のタイムコース
PAL mRNA (○), CHS mRNA (●), 及びアントシアニン量 (■)。
詳しい条件は, Takeda *et al.* (1993) 参照。

により制御されているか否かを調べた。ニンジンにはPAL遺伝子は4つある。UV照射ですばやく発現する(図2で6~9hで最大に達する)部分は主としてpal-10, -54 (fast PAL) が担っており, 24hで最大に達する部分はpal-508, -501 (slow PAL) が担っている。パルス光照射で検出できたのは前者 (fast PAL) 及びCHS mRNAであった。アントシアニン合成の場合同様の解析を行い作用スペクトルを求めるとfast PAL及CHS遺伝子の発現がUV-B光受容体を介して制御されていることを示すことが出来た (Takeda *et al.* 1994, 図1にfast PAL mRNA合成に関する作用スペクトルを点線で示した)。

(2) UV-B特異的シスエレメント

遺伝子発現レベルでUV-B光受容体の関与を示すことが出来たので, 次にfast PALに関してそのプロモータ活性をルシフェラーゼをレポータ遺伝子としたトランジェントアッセイ法により評価することとした。fast PALはpal-10及びpal-54からなるが, 両者は-395上流を異にするのみでまったく等しい転写物を与える。最近小関らにより (Ozeki *et al.* in Press.) pal-54は, 培養中にpal-10の-395の位置にトランスポゾンが挿入され生じた遺伝子であることが示された。したがってここではpal-10につ

いて調べることにした。まず全長プロモータ (-2335) の発現に関する光量—反応曲線の1例を示す(図3)。 $10^2 \mu\text{molm}^{-2}$ オーダーの光領域で280 nmの光による著しい促進効果が認められた。この図から作用スペクトルを求めると、アントシアン合成の場合同様280 nmにピークを持ち(図4)、UV-B光受容体の関与を示すことが出来た。従って pal-10 プロモータを用いて、5' または 3' 側から削り込みを行い得られた各種プロモータ断片を用いて同種の実験を行うことにより、UV-B 応答性のシスエレメントを求めることが可能になった。全長(-2335)に5'側から削り込みを行い、暗所でインキュベートした場合、-570まで削り込んでも活性の減少は認められないが、以後-395, -285, -145, -89, -45と削り込むと活性は順次減少し、TATA boxを含む pal-10 (-45) では活性はほぼ完全(全長の活性の1%)に消失する。それぞれのプロモータを用い260, 280及び300 nmの波長で光量—反応曲線を求めた。暗所での活性の減少が見られない欠損プロモータ(-570)の光量—反応曲線を図5aに示した。全長プロモータの場合と異なり、UV-Bによる特異的活性増の見られる $10^2 \mu\text{molm}^{-2}$ オーダの光領域で

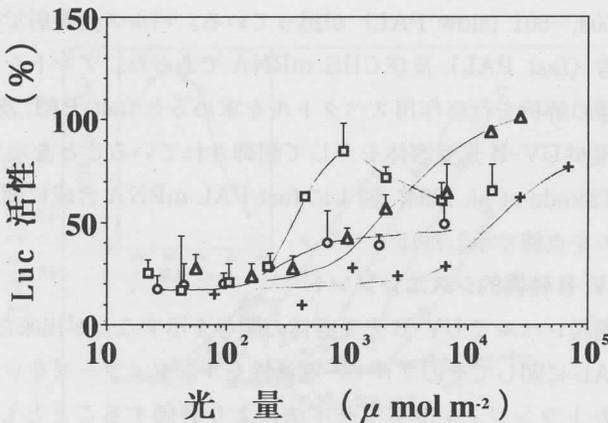


図3 pal-10 全長プロモータに関する光量—反応曲線
pal-10 (-2335) -Luc を含むプラスミド DNA をエレクトロポレーションでニンジンのプロトプラストへ導入後、種々の波長、強度のパルス光(1 h)を与え、11 h 暗培養後ルシフェラーゼ活性からプロモータ活性を求めた。
○: 260 nm, □: 280 nm, △: 300 nm, +: 320 nm

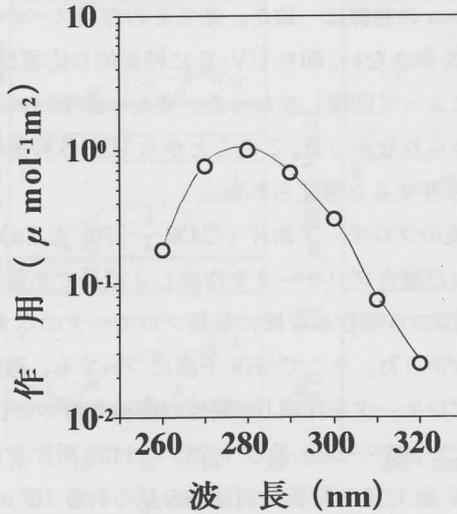


図4 全長プロモータに関する作用スペクトル

図3より一定の活性を与えるのに必要な光量の逆数を求め相対的效果とした。

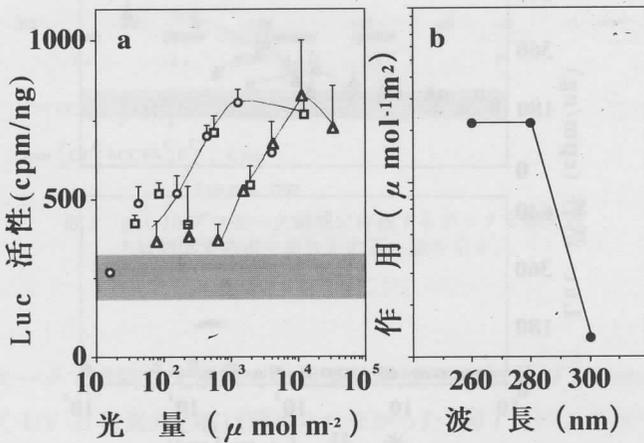


図5 5'欠損プロモータ (-570) の光量-反応曲線及び作用スペクトル
○□△は、図3参照。斜線は暗レベルを示す。

260 nm 及び 280 nm の曲線は一致した。即ちその作用スペクトル (図 5b) は 280 nm にピークを示さない。即ち UV-B に特異的な応答は失われる。この性質は削り込みによって回復しなかった。また pal-10 (-45) では、UV による活性増も認められなかった。このことから UV-B 特異的な応答を示す要因は -570 上流に存在すると考えられた。

そこで -570 上流のプロモータ断片 (-2432~-570) を CaMV 35S core プロモータにつないだ融合プロモータを作成し 3 波長で光量-反応曲線を求めた (図 6)。この図から明らかな様に全長プロモータの示す UV-B 特異的な応答は認められなかった。そこで -570 下流についても、適当に切断した断片を用いて融合プロモータを作成し、同様の解析を行った (図 7)。図 7 (a), (b) に示すように (-395~-285) 及び (-285~-145) 断片を用いた融合プロモータの場合、UV-B による特異的な活性増の見られる $10^2 \mu\text{mol m}^{-2}$ オードの光領域で 280 nm の光による活性の促進が見られ、その作用スペクトルは 280 nm にピークを持つ。他方 (-160~-74), (-60~-40) の断片を含む融

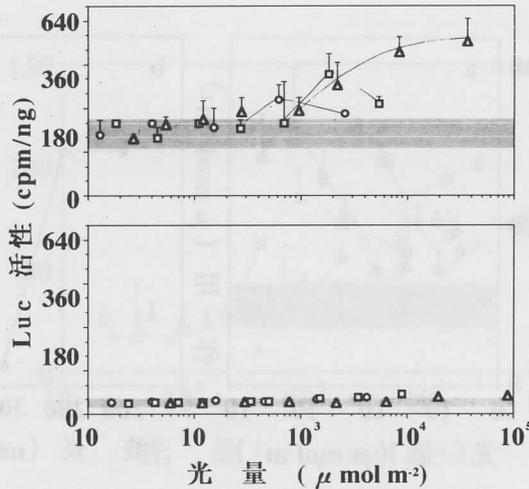


図 6 pal-10 融合プロモータを用いた光量-反応曲線
pal-10 (-2335~-395) プロモータ断片と CaMV 35S Core との融合プロモータを用いた (上) 及び CaMV 35S Core のみによる (下) 光量-反応曲線。
斜線は暗レベルを示す。

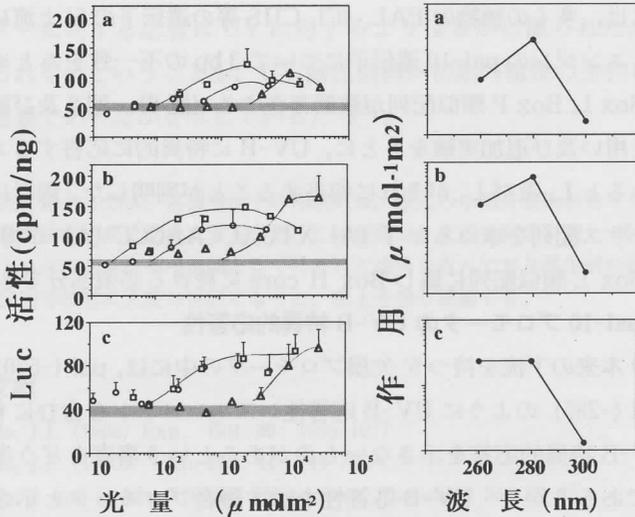


図7 pal-10 融合プロモータを用いた光量-反応曲線
pal-10 のプロモータ断片-395~-285 (a), -285~-145 (b) 及び-160~-74 (c) と CaMV 35S Core との融合プロモータを用いて求めた。斜線は暗レベルを示す。尚、○□△は、図3 参照。

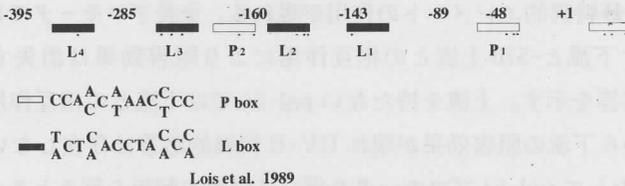


図8 pal-10 プロモータ領域に存在するボックス様配列
* は対応するボックスとの不一致を示す。

合プロモータでは同じ光領域での促進効果は 280 nm 及び 260 nm に対して等しく UV-B 特異的応答は認められなかった (図7 (c))。このことは、-395~-285 及び -285~-145 間に UV-B に特異的に応答するエレメントの存在を示唆している。

Lois et al. (1989) はパセリ培養細胞を用いて UV やエリシター処理により誘導されるフットプリントから Box L, Box P を得ているが類似の

ボックスは、多くの植物の PAL, 4Cl, CHS 等の遺伝子の 5' 上流に分布している。ニンジン³の pal-10 遺伝子について 3 bp の不一致をみとめると 5' 上流に Box L, Box P 類似配列が数個存在する (図 8)。図 8 及び融合プロモータを用い及び追加実験をもとに、UV-B に特異的に応答するエレメントを求めると L₄ 及び L₃ がそれに相当することが判明した。両者についてコンセンサス配列を求めると T (A) XTCXCCAACCC (A) が得られた。これは Box L 類似配列に属し Box H core に於ける必須部分でもある。

(3) pal-10 プロモータの UV-B 特異的応答性

pal-10 本来の下流を持つ 5' 欠損プロモータの中には、pal (-570), pal (-395), pal (-285) のように UV-B 応答性シスエレメントを含むにもかかわらず UV-B 特異的応答を示さないものがあるという事実をどう考えたらよいのであろうか? UV-B 応答性を示す融合プロモータと示さない 5' 欠損プロモータを比較すると、前者が 35S core を持ち後者が pal-10 本来の下流である -145~+145 を持つという点であり、この差が UV-B 応答性の差となって現れている。すなわち本来の下流が UV-B 応答性に対し阻害的に働くため UV-B 応答性を失う。下流を持たない融合プロモータでは、UV-B 特異的エレメントの作用が現れる。全長プロモータでは阻害効果を示す下流と -570 上流との相互作用により阻害効果は消失するため UV-B 応答を示す。上流を持たない pal-54 では下流との相互作用が存在しないから下流の阻害効果が現れ UV-B 特異的応答は存在しないはずである。果たして pal-54 プロモータを用いて同様の解析を行うとその作用スペクトルには、280 nm のピークは存在しなかった。

最後に UV-B 特異的応答を示さなかった Box P, Box L 類似配列も UV-域の光によるプロモータ活性の促進に寄与していることである。即ち UV に対する耐性機構は非常にゆるやかな制御をうけかつ関連遺伝子 5' 上流に数多く存在しているという事実である。このことは UV 耐性が進化の初期に獲得された性質であり、進化の過程で重複と置換を重ね致命的になることなく現在に至っていることを物語っているだろう。その後、単に UV だけでなく病原菌やエリシター、傷等の外界刺激に応答し植物体の安全を守り続けてきたと考えられよう。また最近の実験によれば、pal-10 の

エリシターに対する応答はUVに対するよりはるかに限られた条件下でしか見られないということも、UV耐性機構が初期の植物の生存にとっていかに重要であったかを示しているだろう。

この研究にあたっては、各種遺伝子の作成には、東大の小関良宏氏があたり、また照射実験には吉田和希氏に助けもらった。この研究は、文部省科学研究(一般C)及び大型スペクトログラフ共同利用実験として行われた部分を含んでおり基生研の渡辺正勝助教授、久保田守枝官に大変お世話になった。紙上を借り感謝する。

参考文献

- Takeda, J.J. (1988) *Exp. Bot.* **39**: 1065-1077
Takeda, J.J. (1990) *Exp. Bot.* **41**: 749-755
Takeda, J. and S. Abe (1992) *Photochem. Photobiol.* **56**: 69-47
Takeda, J. et al. (1994) *Physiol. plant.* **91**: 517-521
Takeda, J. et al. (1993) *Physiol. Plant.* **89**: 4-10
Lois, et al. (1989) *EMBOJ.* **8**: 1641-1648



植物でのフラボノイド による紫外線防御

深澤利江子・東近由紀子・武田 幸作・¹森 俊雄

近年、オゾン層の破壊により地球上に到達する紫外線の増加が懸念されている。紫外線はDNA損傷を引き起こし細胞に致死や突然変異をもたらすので、生物にとって有害なものであり、植物では光合成活性の低下や、形態的な異常、日焼けなどをもたらす。植物の紫外線に対する防御機構には、紫外線によるDNA損傷を修復する光回復、暗回復などがあり、また高等植物に広く分布しているフラボノイドは、紫外線によりその生合成が誘導され^{1,2}、主に表層の細胞の液胞内に蓄積し、230-320 nmの有害な紫外線を強く吸収すること^{3,4,5,6}などから、太陽紫外線から植物の生理機能を保護する重要な役割を持っていると考えられている^{7,8,9}。高橋ら⁷は、紫外線を含む白色光の照射により、アントシアニンの生合成が誘導されるヤグルマギク懸濁培養細胞系を用いて、細胞内のアントシアニン蓄積量が増加するにつれて紫外線に対する耐性が増すこと、また、紫外線によるDNA損傷が減少することを明らかにした。また、Stapletonら⁸はトウモロコシの芽生えを用いてフラボノイドが紫外線によるDNA損傷を防御していることを示した。我々は、ナスの芽生えを用いて、紫外線照射によるフラボノイドの蓄積と紫外線に対する耐性、および紫外線によるDNA損傷との関係を調べた。

芽生えの子葉中の紫外線吸収物質：芽生えは約25°Cの培養室中で、白色光のみ照射(-UV-A)、または、白色光にUV-A(320-400 nm)の紫外線を加えた条件下(+UV-A)で、いずれも14L-10Dで育てた。ここでのUV-

Aは長波長側の紫外線で、植物体に傷害を与えない。生育時にUV-Aを含む光条件下で育てたもの(+UV-A)と、白色光のみで育てた芽生え(-UV-A)の子葉をメタノール抽出し、紫外線吸収物質の蓄積量を調べた(図1)。 $+UV-A$ と $-UV-A$ との間に差がみられ、 $+UV-A$ は紫外線吸収物質の蓄積量が高かった。この傾向は子葉展開後1-7日目すべてにみられ、 $+UV-A$ と $-UV-A$ の紫外線吸収物質の蓄積量の差は、子葉展開後7日目に約2倍ともっとも大きかった。よって以下の実験には子葉展開後7日目の

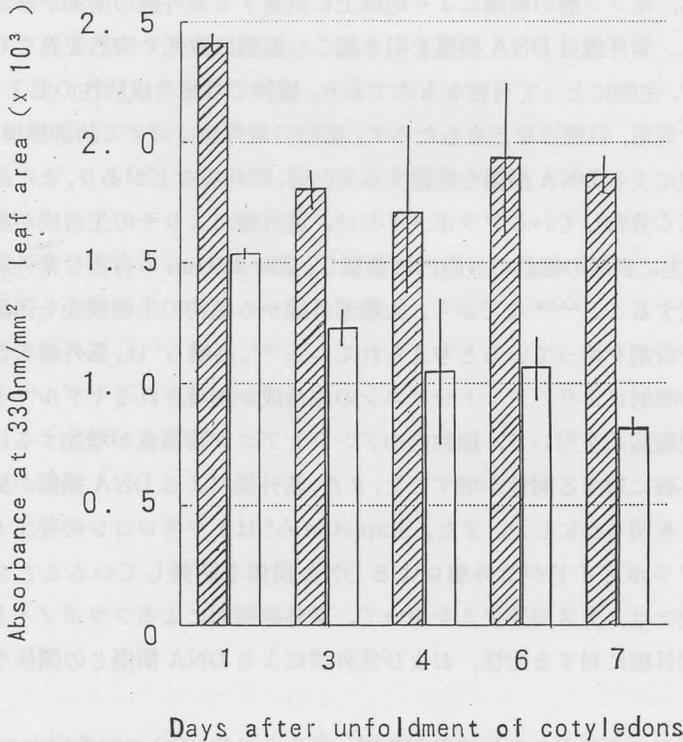


Fig. 1 Changes in accumulation level of aqueous methanol soluble compounds in the seedling of *S. melongena*. Each value is the average of three independent experiments.

Vertical bars indicate standard errors of the mean.

▨; Cotyledons from the seedlings grown under white light and BLB-lamp.

□; Cotyledons from the seedlings grown under white light.

芽生えを用いた。図2に子葉のメタノール抽出物の吸収スペクトルを示した。紫外部で吸収が高く、+UV-A (図2A) では有害なUV-B領域の吸収が高かった。この紫外線吸収物質をHPLCにより分析した結果、+UV-Aには3成分、-UV-Aには1成分の紫外線吸収物質が確認できた。これらの紫外線吸収物質をODSカラムを用いたHPLCにより精製し、TLC, HPLCにより分析したところ、+UV-Aの子葉にはクロロゲン酸、フラボノールであるケルセチンの配糖体、ケンフェロールの配糖体が認めら

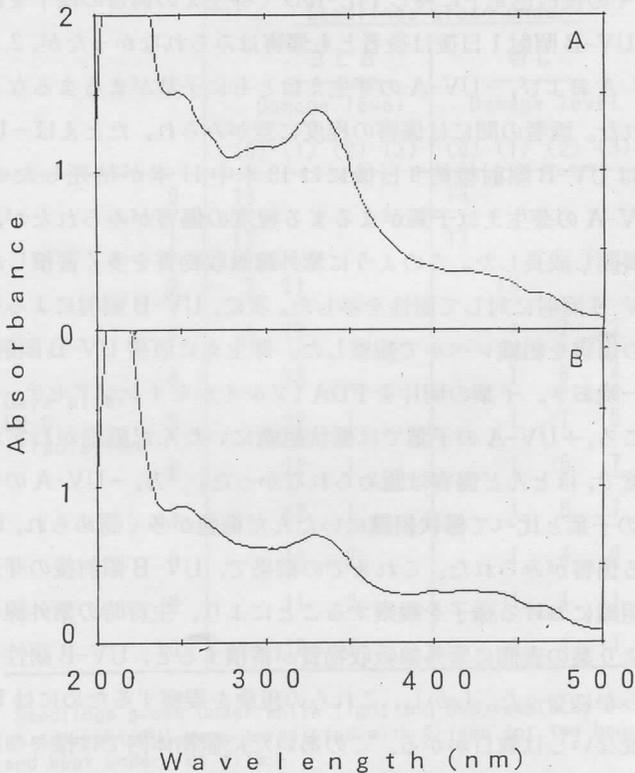


Fig. 2 Absorption spectra of the aqueous methanol soluble compounds from cotyledons of *S. melongena*.

A; Cotyledons from the seedlings grown under white light and BLB-lamp.

B; Cotyledons from the seedlings grown under white light.

れ、-UV-Aの子葉にはわずかにクロロゲン酸が検出された(図3)。つまり、生育時のUV-A照射によりクロロゲン酸の合成が増幅され、2種類のフラボノールの生合成が誘導されたこととなる。また、芽生えの子葉でのこの紫外線吸収物質の局在性を調べたところ、+UV-Aの子葉では表皮細胞と柵状組織にクロロゲン酸、フラボノールともに局在していた。一方、-UV-Aの子葉では維管束付近にわずかに認められただけであった。

紫外線吸収物質を蓄積する芽生えの紫外線耐性: +UV-Aおよび-UV-Aの芽生えそれぞれ13本ずつ直接28 kJのUV-B照射(280-320 nm)をその後白色光下に移し14L-10Dで芽生えの傷害の様子を観察した(表1)。UV-B照射1日後は後者とも傷害はみられなかったが、2,3日後には+UV-Aおよび、-UV-Aの芽生えはともに子葉がまるまるなどの傷害がみられた。両者の間には傷害の程度に差がみられ、たとえば-UV-Aの芽生えはUV-B照射後約9日後には13本中11本が枯死したのに対して、+UV-Aの芽生えは子葉がまるまる程度の傷害がみられたが、その後本葉が展開し成長した。このように紫外線吸収物質を多く蓄積した+UV-AはUV-B照射に対して耐性を示した。次に、UV-B照射による芽生えの子葉への傷害を組織レベルで観察した。芽生えに直接UV-B照射した後、暗所に一晚おき、子葉の切片をFDA(フルオルセインジアセテート)染色したところ、+UV-Aの子葉では柵状組織にいたんだ細胞がわずかにみられた程度で、ほとんど傷害は認められなかった。一方、-UV-Aの子葉は+UV-Aの子葉と比べて柵状組織にいたんだ細胞が多く認められ、UV-B照射による傷害がみられた。これまでの結果で、UV-B照射後の芽生えの様子や、組織における様子を観察することにより、生育時の紫外線(UV-A)照射により葉の表側に紫外線吸収物質が蓄積すると、UV-B耐性を増すことが明らかになった。しかし、これらの現象を観察するためにはUV-B照射後一晚ないしは数日かかる。このあいだに植物体内では様々な現象、たとえばUV-B照射によって生じたDNA損傷の光回復や暗回復などが起きていると考えられる。そこで、紫外線吸収物質が紫外線を防御していることを調べるために、UV-B照射直後の損傷と紫外線吸収物質の蓄積量との関係を調べた。紫外線による損傷の主なものにはDNA損傷がある。それ

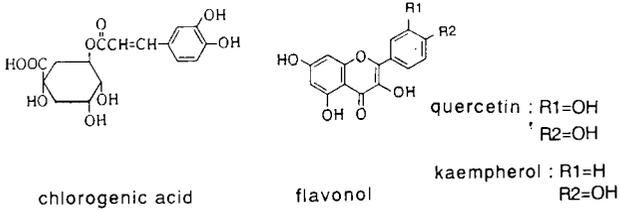


Fig. 3 UV absorbing compounds in *S. melongena* seedlings.

Table 1 Effect of UV-B irradiation on growth of *S. melongena* seedlings.

	Seedlings grown under							
	BLB				WL			
	Damage level				Damage level			
	(0)	(1)	(2)	(3)	(0)	(1)	(2)	(3)
0	13				13			
1	13				13			
2	2	11			13			
3	1	12			4	7	2	
4		13			1	8	4	
5		12	1		1	7	5	
6		12	1		1	5	7	
7		12	1		1	5	7	
8		11	2		1	4	8	
9		11	2		1	1	11	
10		10	3		1	1	11	

Seedlings grown under white light and BLB-lamp(BLB) or white light(WL) were irradiated with E-lamp for two hours and kept under -UV film.

Numbers indicate those of seedlings.

にはシクロブタンダイマーをはじめさまざまなものがある(図4)。紫外線照射により、チミンの5,6位でシクロブタン環を形成するシクロブタンダイマー(cd)。オキセタン中間体を経てチミンの4,6位が共有結合してできる(4-6) photoproduct (6-4p)。また6-4pは紫外線照射により Dewar photoproduct へと異性化する。ここではこの中でも紫外線によるDNA損傷のほとんどをしめるといわれる cd および 6-4p について、それぞれに特

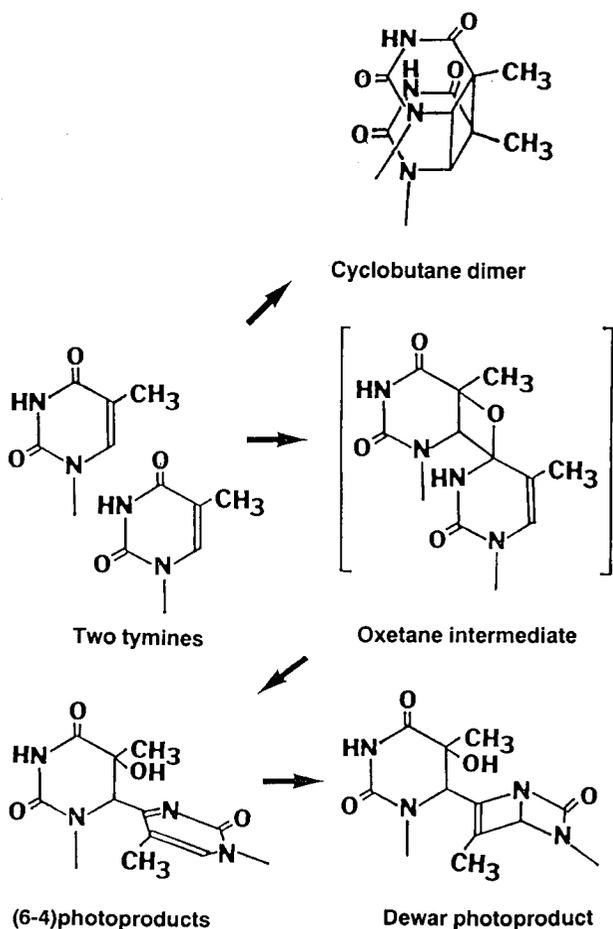


Fig.4 UV damage of DNA

Table 2 UV-B induced cyclobutane dimers and (6-4) photo-products in *S. melongena* seedlings.

Seedlings	UV-B irradiation (kJ/m ²)	Absorbance at 492nm*	
		cyclobutane dimers	(6-4) photoproducts
-UV-A	0	0	0
	3	0.423	0.479
	6	0.879	0.906
+UV-A	0	0.048	0.052
	3	0.160	0.217
	6	0.212	0.377

*determined using monoclonal antibodies specific for either cyclobutane dimers or (6-4) photoproducts (ELISA with a biotin-streptavidin system). DNA: 15ng for cyclobutane dimers and 300ng for (6-4) photoproducts.

異なるモノクローナル抗体¹⁰を用いて検出した。+UV-A, および-UV-Aの芽生えに直接 UV-B を照射した後、直ちに子葉を切り取り液体窒素で凍結し、DNA を抽出した。得られた DNA サンプルから ELISA 法により DNA 損傷を検出、測定した。その結果、+UV-A, -UV-A 両方の子葉の DNA 中に UV-B 照射により cd および 6-4P が検出され、そのレベルは UV-B 線量に比例して増加した(表 2)。しかし、cd, 6-4 p ともに+UV-A の子葉では-UV-A の子葉よりもレベルが低く、その形成量は cd では約 1/4, 6-4 p では約 1/3 の値を示した。また、+UV-A では UV-B 照射をしなくても cd および 6-4 p がわずかに検出された。これは生育時の UV-A 照射により誘導されたと考えられる。この結果より、生育時に UV-A を照射して紫外線吸収物質を多く蓄積した芽生えは DNA 損傷のレベルが低いことがわかった。つまり、紫外線吸収物質が紫外線による DNA 損傷を防御していることが明らかになった。

まとめ: ナスの芽生えでは、生育時に UV-A を照射するとクロロゲン酸の合成が促進されるとともに、フラボノールの生合成が誘導される。これらの紫外線吸収物質は葉の表皮細胞や柵状組織付近に主に蓄積する。紫外線吸収物質を蓄積した芽生えは UV-B に対して耐性を示し、DNA の損傷、

即ち cd および 6-4 p の形成が少なかった。このことは、ナスの芽生えでクロロゲン酸およびフラボノールが葉の表側に蓄積し、葉の内部を保護する役割を果たしていることを示す。

参考文献

- 1) Chappell, J. and K. Hahlbrock (1984) *Nature* **311**: 76-78.
- 2) Bruns, B., Hahlbrock, K. and E. Shafer (1986) *Planta* **169**: 393-398.
- 3) Schmelzer, E., Jahnen, W. and K. Hahlbrock (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **85**: 2989-2993.
- 4) Schnabl, Weissenbock, G. and H. Scharf (1986) *J. Exp. Bot.* **37**: 61-72.
- 5) Beerhues, L., Robenek, H. and R. Wiermann (1988) *Planta* **173**: 544-553.
- 6) Jahnen, W. and K. Hahlbrock (1988) *Planta* **173**: 453-458.
- 7) Takahashi, A., Takeda, K. and T. Onishi (1991) *Plant Cell Physiol.* **32**: 541-547.
- 8) Stapleton, E.A. and V. Walbot (1994) *Plant Physiol.* **105**: 881-889.
- 9) Middleton, M., E. and H.A. Teramura (1993) *Plant Physiol.* **103**: 741-752.
- 10) Mori, T., Nakae, M., Hattori, T., Matsunaga, T., Ihara, M. and O. Nikaido (1991) *Photochem. Photobiol.* **54**: 225-232.

自然光紫外線に対する植物の応答

手塚修文

はじめに

1801年に紫外線(100-400 nm)が発見されて以来、医学とくに皮膚学や微生物の分野では、UV-C(200-280 nm)やUV-B(280-320 nm)の波長域、すなわち太陽から地球には到達していない短いUV波長域(200-290 nm)の人工光波長域(主に254 nmの波長域を照射する殺菌灯)を多量に用いた実験が行なわれた。その結果、これらの人工光波長域は何れも皮膚や微生物に障害を誘導することから、拡大解釈がなされ自然光紫外線の波長域までも含めた、いわゆる『紫外線』のすべての波長が害作用をもたらすという必ずしも正確ではない通念が一般的な「定説」となり、これが今では世間を一人歩きしている状態である。このため農業(とくに施設園芸)、医学(とくに皮膚科)や化粧品開発などの応用の分野では、これらの「定説」に沿った「研究・開発」が広く遂行されている。しかし、これらの「研究・開発」に基づいた結果を信じて実際に現場で利用している人達は、必ずしも「定説」通りにはならないという、彼等自身で得た経験・データに基づいて、この「研究・開発」されたものを利用することに疑問や不満を抱いている人達も少なくない。

我々も一応は上記の「定説」に基づいて、太陽から地球に到達している紫外線波長域を部分的に透過およびカットするビニールフィルムで被覆したハウスを幾つか圃場に設置して、植物に対する自然光紫外線の影響に関

する実験を試みた。その結果、上記の「定説」は必ずしも適切でないという知見を得た。ここでは、我々の実験結果に基づいた自然光紫外線（400-290 nm の波長域）に対する植物の応答について言及する。

1. 紫外線放射の条件設定

現在、太陽から地球に到達している紫外線、いわゆる自然光紫外線 (Solar UV) は 290~400 nm であることから、地球上に現存している植物は、これらの自然光紫外線を浴びて生活していることになる。これらの植物は、永年の間に紫外線に対する自然淘汰の試練を克服して、自然光紫外線も生育中の代謝系の反応にうまく利用できるように組み込みながら進化してきた子孫であると理解される。そこで、太陽から地球に到達している自然光紫外線下で生活している植物の生育の実体を素直に観察するために、太陽光放射下の圃場に、400 nm 以上の可視光線波長域だけを透過するビニールハウス (-UV 区)、400 nm 以上の可視光線波長域と 400-320 nm の自然光紫外線波長域を透過するビニールハウス (+UV320 区) および 400 nm 以上の可視光線波長域と 400-290 nm の自然光波長域を透過するビニールハウス (+UV290 区) [何れのハウスも換気扇 (+35°C 以上時に自動可動) 付き] を、設置していわゆる自然光紫外線の植物への影響を調査した。なお、ビニールフィルムはシーアイ化成 (KK) 製品を用いた。

2. 紫外線による植物の生育に及ぼす影響

植物の生育初期には、紫外線波長域の不透過ハウス (-UV 区) のものが、透過ハウス (+UV320, +UV290 の両区) のものより著しい伸長生長を示した。この事象は植物によっては、同一の品種であると思われないような差異を呈していた。これらの現象から、紫外線は植物の生長を阻害するということが通念となり、施設園芸農家のビニールハウスには UV カットフィルムの使用が奨励されて普及したようである。しかし、上記のように生長初期には紫外線下では伸長生長は抑制されているが、逆に肥大生長は促進されている。また、生長が進むに従って、栄養生長から生殖生長に移行する時期になると、紫外線透過フィルム下の植物の伸長生長は不透過

フィルム下のものとほぼ同等あるいはそれ以上であった。さらに、例えば、イネやトマトなどは収穫期には-UV区のものとは殆ど倒伏したが、+UVの両区のものとは露地栽培のものと同じく倒伏せずにほぼ垂直のままであった。これは、生長初期のころには-UV区のものとは肥大生長が抑制されて伸長生長が異常に促進されているので、いわゆる徒長して+UV区に比べて、弱く発達した茎になったために倒伏したものと思われる。

また、+UV区では-UV区に比べて、葉面積も幾分狭い傾向にあったが、葉厚は逆に促進されていた。これは、正に上記の発育初期の茎における伸長生長および肥大生長と紫外線の関係に類似している。葉が厚くなる原因は、紫外線によって主に柵状組織の葉肉細胞が大きくなり、柵状組織自身が厚くなることであった。海綿状組織自身は、紫外線によって厚くなっていなかったが、この組織の細胞自身は大きくなって細胞間の間隙が小さくなっていった。すなわち、紫外線による葉厚の促進は結果として柵状組織が厚くなることであった。

尚、+UV290区と+UV320区での植物の応答（促進効果）は後者でその差が大きく見られる傾向にあったが、この傾向は植物や器官の違いによっても異なった。

3. 紫外線による植物の生理的応答に及ぼす影響

3.1 クロロフィル含量および光合成への影響

+UV区の葉では、光合成活性は葉面積当たりでもクロロフィル当たりでも促進されたにも拘わらず、クロロフィル含量は、多くの植物では高かったが、植物の種類や品種によっては差はなかった。これは、紫外線による光合成の促進が必ずしもクロロフィル含量とは並行しておらず、他の生化学反応の部位域に作用していることも考えられる。この考えは、紫外線によって促進された光合成活性（IR分析計や酸素電極による測定）は、カルビン回路の酵素活性の測定結果による促進から確かめられた。すなわち、紫外線は酵素（遺伝子の発現による酵素蛋白の誘導および/あるいは酵素活性）レベルで光合成の代謝系を調節しているものと思われる。以上の如く紫外線によって、光合成活性が促進され、最終的に上記のような茎・葉な

どの生長が旺盛になったものと思われる。

3.2 窒素代謝への影響

上記の知見から、「自然光紫外線は、植物の光合成活性、すなわち炭素代謝系を促進して最終的には生長を旺盛にして健康的な植物体を形成する必須要因である」ということが理解できた。

次に、窒素に関する代謝系に及ぼす自然光紫外線の影響を調べる目的で、植物にとって重要な鍵酵素(キー・エンザイム)である硝酸還元酵素(NR)の活性を測定したところ、やはり紫外線によりその活性は高かった。このことは、植物の根による NO_3^- の吸収増大や遺伝子の発現に基づくNR蛋白の誘導および/あるいはNRの活性化に紫外線が大きく貢献していると考えられる。さらには、亜硝酸還元酵素(NiR)、グルタミン合成酵素(GS)、その他の窒素代謝に関する重要な酵素などの誘導・活性化が紫外線によって調節されていると思われる。

3.3 蛋白質含量, ビタミンC含量, ニコチンアミドヌクレオチドへの影響

紫外線により、炭素代謝系や窒素代謝系が活性化されたことから、必然的に他の物質のレベルも変動するものと考えられる。例えば、蛋白質やビタミンC、ニコチンアミドヌクレオチドなどのレベルは予想通りに紫外線照射下の植物で高い値を示した。これらの物質は何れも細胞内での酵素の誘導、酵素の活性化、酸化還元反応などに重要な働きをするものであり、これらが紫外線によっていろいろな代謝系を活発にして最終的に健康で丈夫な植物体が形成されることが理解される。

3.4 色素形成への影響

多くの植物は茎、葉、花卉、果実などでいろいろな色素を形成しているが、アントシアニン系の色素は紫外線によってその形成が誘導される。例えば、ナスの果実や茎などは紫外線が照射されないときにはアントシアニンが形成されないために、紫色を呈しないで黄緑色のままである。このため、同じ品種のナスであっても+UV区と-UV区で生育したものは異なった品種であるような果実や茎に見間違えられる程である。また、熱帯・亜熱帯性の野菜であるツルムラサキの葉や茎のアントシアニン形成もナス

と同様である。これらの事象は、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) やカルコンシンターゼなどのアントシアニン合成系酵素の誘導および/あるいは活性化に紫外線が密接に関係することに起因しているであろう。

多くの植物のアントシアニン系の色素形成による着色は、植物の発育ステージの若い時期に紫外線の調節を受けている。着色部位域の組織・器官の若い時期に紫外線が照射されないときにはアントシアニンはその部位域には形成されない。例えば、植物の茎や果実が或る発育ステージを過ぎた後に、その茎や果実の部位域を紫外線で照射してもその部位域にはアントシアニンの形成は見られない。紫外線の作用(アントシアニン形成の誘導)を示すには、紫外線照射時期と発育ステージ(組織・器官の齢)とのタイミングが重要である。

3.5 老化現象への影響

紫外線照射下(+UV区)の植物は非照射下(-UV区)のものに比べて、老化現象を幾分遅く呈する。トマトでは、-UV区のは茎の下方に位置する葉の黄化が早く始まり、落葉時期も早かった。キュウリでは、-UV区のもものが生長停止をした後も、+UV区のはさらに生長を続けて着花・着果して、最終的には約30%の果実生産を高めた。このことから、地球上で永年生育し続けてきた植物は、現在の自然光紫外線下の環境に順応するように代謝系も調節されていると考えられる。そのため、自然光中から紫外線波長域を除去した波長域だけの光照射は植物に一種のストレスを誘導する。その結果、老化現象が早く進行するものと思われる。実際、ストレスに関与する酵素系の活性は-UV区の植物で高かった。

3.6 共生への影響

マメ科植物と根粒菌との共生に関して、+UV区と-UV区では差異が見られた。前者では、根粒菌の着生数および窒素固定能(アセチレン還元法による測定)が後者に比べて増大していた。

おわりに

これまでに生物と紫外線に関する研究は多く報告されている。従来の報

告の多くは、太陽から地球に到達していない波長域の紫外線を用いた研究である。この波長域の紫外線は生物にすべて悪役として作用する。このため、一般的にはまだ紫外線の全ての波長域が悪玉として認識されている場合が多い。しかし、我々は太陽光から地球へ到達している自然光紫外線は少なくとも植物には必ずしも悪玉として作用していないことを明らかにした。むしろ自然光紫外線は植物に対しては必須要因として作用していることが明らかになった。

花を中心とする鉢物・切花を扱う施設園芸家は、花卉の着色の度合によって品質が上下して収入が左右される。そのためハウス栽培を余儀なくされている。この時ハウスを被覆するビニールフィルムの違いによって、太陽からの紫外線の放射量を調節し、花卉の色調を調節することも必要であろう。例えば、赤い花をつけるバラの場合、赤の薄い色調の花弁にしたい時は紫外線を少なく透過するビニールフィルムを、濃い色調にしたい時は紫外線を多く透過するフィルムを被覆するなどの工夫をすることも収入に大きく影響する。これは太陽光紫外線の放射量をうまく利用できる一種のバイオテクノロジーの応用として施設園芸家には大きなメリットになるであろう。

また、自然光紫外線波長域は植物だけでなく動物にもプラス効果があることを突き止めた。モルモットやラットなどに UV-A 波長域を照射すると生理活性物質レベルの上昇が見られた。この生理活性物質に關与する酵素活性も高まっていた。これらのことから、現在の地球環境に順応して子孫を維持し続けている生物（植物や動物）は、自然光紫外線も彼等の代謝系にうまく利用できるように組み込んで生存していることが理解できよう。

紫外線の実験で、生物に紫外線だけを照射して UV の作用を見るケースが多く見受けられる。一般的には、生物は太陽光を直接・間接に浴びながら生活しているので、紫外線だけでなく可視光線も一緒に同時照射しながらの実験系を設定した方が実りのある結果が得られると思われる。

以上は地球に到達している自然光紫外線（400-290 nm の波長域）の生物への有効作用について述べたが、この紫外線波長域であっても、地球表面に放射されている強さ以上の放射量を生物が浴びると生物はその多量の放

射線に対応した代謝系を備えていないと考えられることから害作用になる可能性が大きい。また、放射されている紫外線（400-290 nm）と同時に放射されている可視光線との放射量のバランスによって生物は代謝を調節していると考えられるので、このことを考慮しながら紫外線と生物に関する研究を進めるべきであろう。単なる紫外線だけによる生物への応答に関する実験に基づく結果のみからは、その影響評価を見間違える可能性があるもので、紫外線と可視光線との同時照射による実験がどうしても必要である。



温暖化環境における樹木の 生理生態的反応特性

小池 孝良

I. はじめに

大気中の CO₂ 濃度増加などの温暖化ガスによる気温上昇が懸念されて久しい。しかし多くの国では工業化を急いでおり、さまざまな努力にかかわらず CO₂ 排出規制を推進するのは困難である。大気循環モデルによると、来世紀末には北半球の気温は 3~5°C 上昇すると予測されている。植物によって資源利用特性が異なるため、種間競争や分布域が変化すると考えられる。しかも、この気温上昇速度は植物の分布域拡大能力をはるかに上回ると考えられている。従って、温暖化が顕在化すると植物がどのように反応するのかを正確に予測することが急務になる。

温暖化の予測研究は 1970 年代から、アメリカのデューク大学人工気象室で始まった。その後、温暖化に関連した研究が世界中で行われるようになった。一方、園芸の分野では、植物生産を規定する要因の 1 つとして、CO₂ に着目した研究が盛んに行われた。この中で CO₂ 施肥技術が生まれた。しかしながら、樹木を中心として野生植物の CO₂ に対する反応には不明の点が多い。

本稿では、樹木の CO₂ 反応特性を個葉レベルから群落レベルにスケール・アップして問題点を整理する。さらに、従来試みられた研究手法の検討も紹介する。

II. 個葉レベル

II-1. 光合成特性

通常の CO_2 条件で生育する樹木の光合成は、 CO_2 を短時間処理する場合と一定期間順化させる場合では反応が大きく異なる。瞬時的な CO_2 富化処理では多くの樹種で光合成速度が大きく上昇した。しかし、数カ月間高 CO_2 で生育させた材料では、葉の窒素含量、クロロフィル量、比葉面積が低下していた（図1）。樹種によっては個葉が小さくなる傾向があった。

高 CO_2 条件で栽培した材料の光合成速度は低くなる傾向が見られた。Rubisco の活性を代表するカルボキシレーション効率、RuBP 再生能を反映する CO_2 飽和時の最大光合成速度も低下した。高 CO_2 条件で生育した材料の気孔コンダクタンスは通常大気条件で生育した材料の値より小さく、測定時の CO_2 濃度の低下に伴って増加した。実際、浸潤法によって、気孔は高 CO_2 環境で閉じ気味であることが認められた。また、水利用率と窒素利用率は高 CO_2 条件で大きくなる傾向を示した。これは将来の温室効果が顕在化した時に植物体の維持に有利と考えられる。

CO_2 濃度が約 30 Pa 以下になると気孔コンダクタンスが大きくなるのは希薄な CO_2 を捕捉するのに有利である。Woodwardらによって 31 Pa

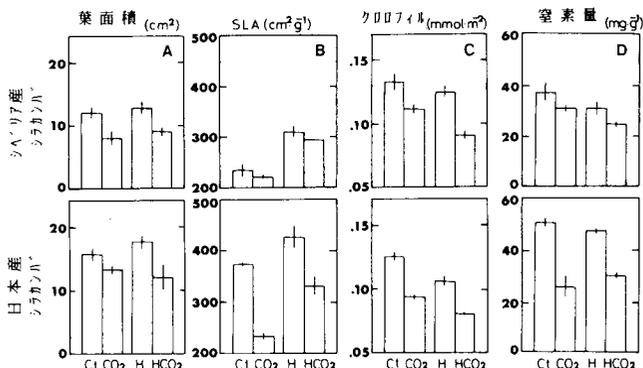


図1. 高温・高 CO_2 で生育したシラカンバ生態型の個葉の特性
 Ct: 26/12°C+36Pa, CO_2 : 26/12°C+70Pa, H: 30/16°C+36Pa, HCO_2 :
 30/16°C+70Pa

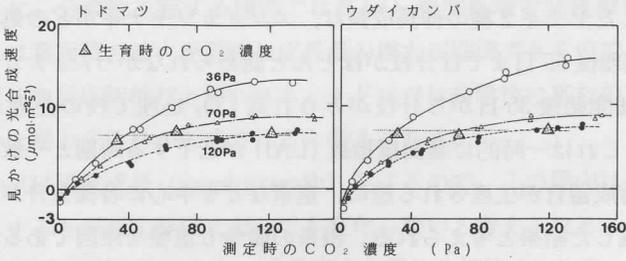


図2. CO₂-光合成速度には、差がない
 生育時のCO₂で測定した光合成速度には、差がない

以下で栽培された草本植物の気孔密度が増加することや分類学的な反応性についての報告がなされた。この付近のCO₂濃度は気孔反応と関係が深いと思われる。一方、気孔閉鎖ともなって葉温が上昇する例も報告されているので、水利用効率の問題にはさらに研究例を集める必要がある。

II-2. 恒常性維持機能

一方、光合成速度は、通常の栄養条件では生育させたCO₂で測定すると差が見られなかった(図2)。この現象は Homeostatic adjustment (HA) と呼ばれており、アラスカのツンドラに生育する植物にCO₂処理をし、入れ替え実験などを行った結果見つかった。HAは常緑樹と落葉樹の比較やシラカンバの北限・南限を構成する生態型のことなる2樹種でも認められた。高CO₂条件でのこのような down regulation は、栽培時のポットサイズが5 l付近を境にして認められることが明らかになった。しかし、このHA現象は栄養塩が十分に供給されると、ポットサイズに関係なくイヌエンジュ(根粒菌を共生する)とドロノキでは認められなかった。なお、生殖成長にはポットサイズではなく、供給される栄養塩のバランスが重要である。

III. 個体レベルから群集レベルへ

III-1. シュートの発達と競争関係

ヤナギ類はどの樹種も強光利用型の成長特性を示すが、種間関係は環境変化によって大きく変化すると考えられる。高温と高CO₂を組合せた条件

で生育したヤナギ2種の伸長成長は、エゾノカワヤナギがどの処理でも大きく、処理後65日までは分枝がほとんど認められなかった。ナガバヤナギでは処理開始後35日から分枝がみられ高CO₂処理で枝の生産が進んだ(図3)。これは一時的に葉面積指数(LAI)が低下する時期と一致した。新しい光合成器官が生産される際に、窒素などを中心に各種養分が古い器官から転流した結果と考えられる。根系の競争も重要な原因であるが、伸長量の大きなエゾノカワヤナギの成長が更新初期過程ではナガバヤナギを上回ると考えられる。もちろん、樹種間の競争を予測するには、苗木から成木にいたる長期間のCO₂濃度処理と測定が必要である。

次に針葉樹(常緑)であるトドマツとその造林地にしばしば侵入する陽性樹種ウダイカンバのシュートの発達過程を調べた。両樹種とも側枝の伸長成長量は120 Pa処理まで増加した。伸長期間はトドマツで30~40日、ウダイカンバでは45~55日でウダイカンバの方が長かった。ウダイカンバの

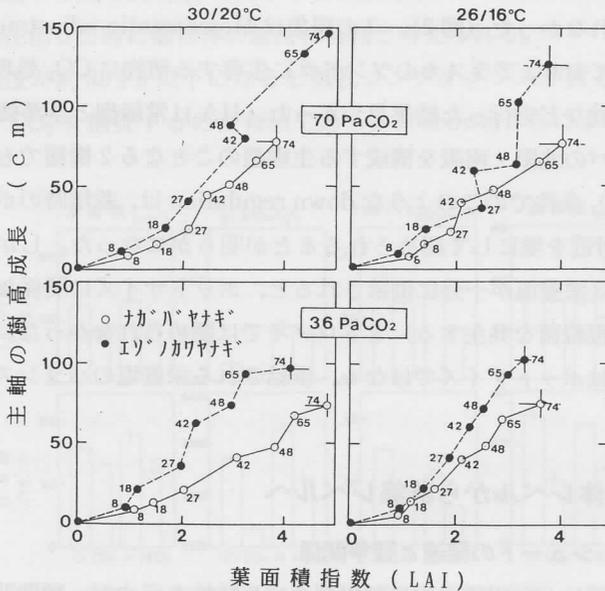


図3. ヤナギ2種の葉面積指数と樹高との関係
図中の数字は処理開始後の日数を示す

例のように、分枝性を有する植物では高 CO₂ 濃度処理で分枝数が増加する。これは葉面積の拡大を意味し成長量の増大が期待できるので、種間競争には有利な反応特性だと思われる。トドマツは耐陰性に富むのでウダイカンバを上層とする林が形成されると考えられる。

トドマツは固定成長 (fixed growth) をするので、この傾向は事例研究を基礎にすると温暖化環境になっても変化しないと考えられる。

高 CO₂ 濃度処理を行なうと、成長停止の遅れる植物 (トウモロコシ、ドロノキ) と早まる植物 (イネ) がある。生殖成長を短期間に行なう草木と、長期を必要とする木本では反応の仕方が異なるようである。生殖成長には樹種間差が大きく、シラカンバ類では温暖化環境でタネの生産が促進されるが、ナラやトウヒ類では効果がないという。群落の遷移過程にも影響が現れると考えられる。

冬芽形成時期に関連して、温暖化しても高緯度地方では突発的な低温被害は避けられない、と考えられる。高 CO₂ 条件では、転流が制限されることで葉の浸透ポテンシャルが上昇し、低温害を回避できる可能性と冬芽形成時期の遅れによって被害を受ける可能性を指摘できる。

III-2. 共生菌の役割

CO₂ 富化実験から、通常の CO₂ 濃度条件以上に窒素やリンが光合成・成長の制限要因として働くことが判明した。森林生態系における落葉落枝の分解過程・速度の推定が、成長の制限要因として今後さらに重要になる。ここでは、共生菌の役割を考察する。

高 CO₂ 条件では、少なくとも生育初期は光合成速度は増加する。ホストである植物の光合成生産が増加すれば、共生菌の活動も増加すると考えられる。事実、貧栄養条件における共生菌の活動は活性化していると考えられる。共生菌活性の目安となるケヤマハンノキの根粒の数は明らかに増加していた。しかし、富栄養条件ではこの傾向は判然としなかった。また、観察によると根粒菌を共生するマメ科植物 (イヌエンジュ) と放線菌の一種 *Frankia* を共生するケヤマハンノキでは、寄生の反応が異なるようであった。イヌエンジュでは葉の枯れ上がりが顕著になり葉色のあせる傾向があった。これに対してケヤマハンノキでは、葉色はややあせるものの、貧

栄養条件の材料は富栄養条件におかれた材料と同様の枯れ上がり方と分枝の傾向が認められた。

栄養条件が生態系全体に大きく影響することは従来から指摘されてきたが、高CO₂条件では落葉落枝の分解過程がC/Nや地温上昇に関連して大きく変化することが予想される。これに関連して共生菌の活動が活性化され、C/Nの小さい分解され易い落葉落枝が供給されるケヤマハンノキやイヌエンジュの生態系における位置付けを再考する必要がある。さらに、北海道のように火山灰の多い土壤環境では、光合成の律速因子としてのリン欠乏を、従来以上に考慮するべきである。さらに、葉の窒素含量の低下による虫害の発生や被食量の変化にも十分な注意を払う必要があると考えられる。

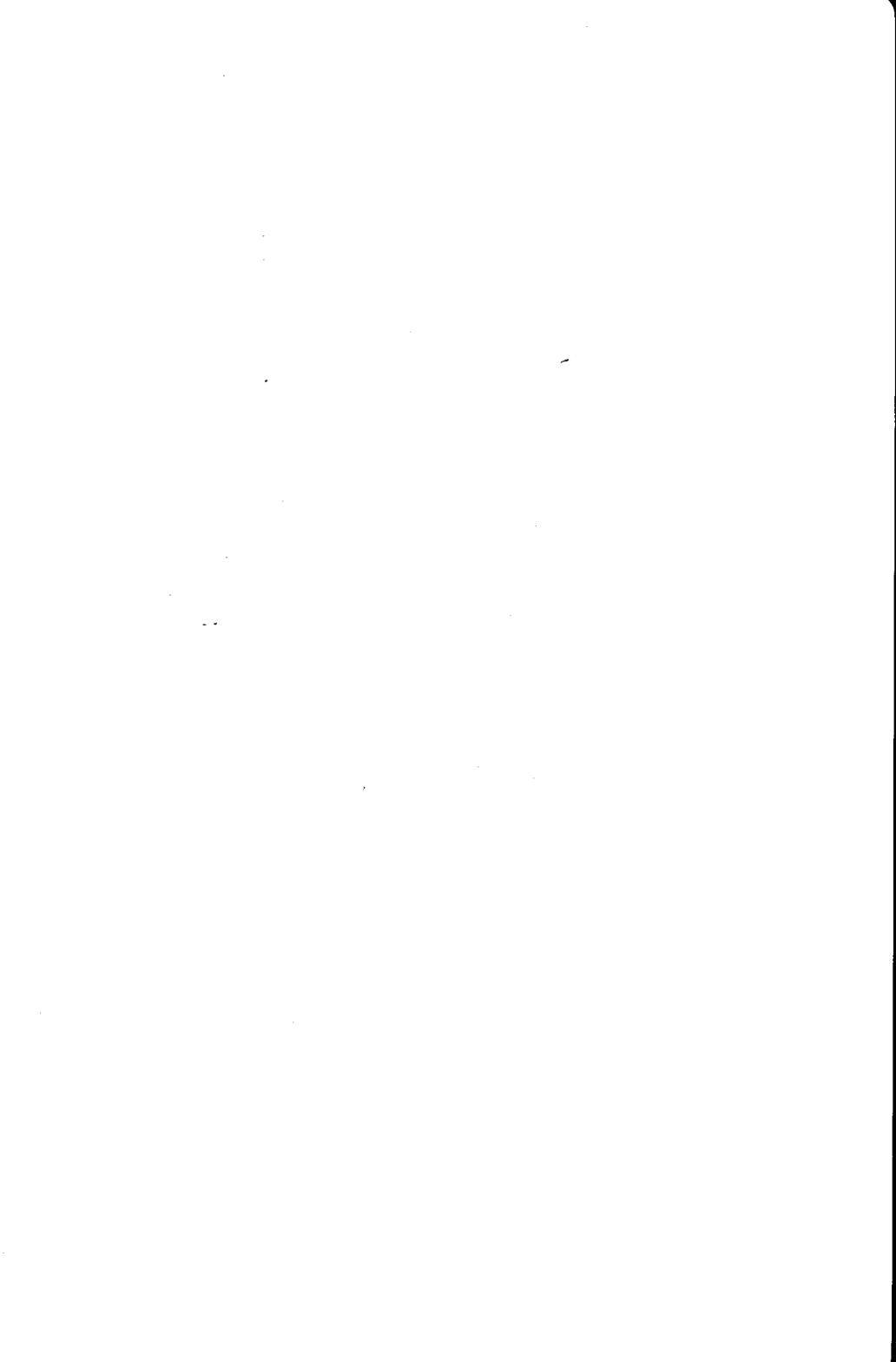
IV. CO₂ 富化研究の方法と問題点

研究手法には大きく分けて、生育環境の大部分を制御する人工気象室を用いたタイプとFACE (Free Air CO₂ Enrichment) と呼ばれる野外実験タイプがある。FACEは一定高のノズルから風向きを考慮してCO₂を供給し、対象とする圃場や林分のCO₂濃度を高める処理方法の総称である。また、これらの中間的な特性を持つ樹木の枝の自律性 (autonomy) を利用した枝チェンバーも考案された。最近ではCO₂を放出する温泉を利用した実験も行われてきた。なお、植物の生育環境は以下の順に制御が困難になる。すなわち、「人工気象室>温度制御温室>オープントップ・チェンバー>枝チェンバー>ループ式枝チェンバー>FACE>温泉」の順である。

初期には人工気象室や制御温室を用いた研究が中心であった。現在ではOTC (上部の開いたチェンバーで、下部から大気汚染物質(SO₂, O₃, NO_x)などを混入するタイプの処理装置) が広く用いられている。近年、栽培環境の制御が困難になるにもかかわらず、枝チェンバーやFACEなどの研究手法が生まれてきたのは、「人為影響をいかに小さくし、どのように自然環境に実験系を近づけるか!」という狙いが根底にある。建設費と維持費に資金のかかる研究ではあるが、温暖化は避けることができない。焦点を絞った共同研究が待たれる。

参考文献

- Arp, W.J. (1991) *Plant Cell Environ.* **14**: 869-875.
- Bazzaz, F.A. (1990) *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **21**: 167-196.
- 今井 勝 (1988) *日作紀*, **57**: 380-391.
- Koike, T. (1993) *Prof. of IGBP Sympo.* Oshima, Y. ed., Waseda Univ., Tokyo, 425-430.
- Koike, T. (1995) *Can. J. Bot.* **73**: 149-157.
- 小池孝良ほか (1995) *森林立地*, **37**: 28-34.
- Koike, T. et al. (1995) *Plant Species Biol.* **10**: 95-102.
- McConnaughay, K.D.M. et al. (1993) *Oecologia*. **94**: 550-557.
- Oechel, W.C. and Billings, W.D. (1992) *Arctic ecosystems in a changing climate*, Chapin III, F.S. et al, eds. 469 pp, Academic Press, San Diego, U.S.A. 139-168.
- 齊藤昌宏 (1991) *農業および園芸*, **66**: 185-192.
- Sprugel, D.G. et al. (1991) *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **22**: 309-334.
- Strain, B.R. (1985) *TREE*. **2**: 18-21.
- 内嶋善兵衛 (1990) *地学雑誌*, **99**: 186-193.
- 矢吹万寿 (1985) *植物の動的環境*. 200 pp, 朝倉書店, 東京.
- Woodward, F.I. and C.K. Kelly (1995) *New Phytol.* **131**: 311-327.



高 CO₂ 環境における樹木の ガス交換と成長

清 田 信

はじめに

二酸化炭素濃度の上昇が植物の二酸化炭素吸収能におよぼす影響に関する研究は、ここ数年急増しているが、これらは短期間の研究が多く、長期間の影響に関する検討は少ない。また、環境要素の複合影響についての検討も重要な課題で、二酸化炭素濃度の上昇による生物圏への影響評価、予測をするにあたって、より確実な知見の収集が必要である。

二酸化炭素濃度の上昇によって、大気の温暖化が懸念されているが、植物による二酸化炭素吸収量の増大が、これら環境変化の緩和に重要な役割を果たすことが期待されている^{6,7)}。しかし、二酸化炭素濃度の上昇によって蒸散が抑制されるという報告も多い^{4,8,9,11,14)}。また、ここ3世紀の間に大気中の二酸化炭素濃度の上昇によって、比葉面積や葉の気孔密度が減少していることが報告されている^{10,13)}。このような変化は、蒸散量の変化をもたらす。蒸散量の減少は、光合成量の増加と相まって、水利用効率が高まることになり、水分環境の悪い場所での成育の可能性が拡大することを示唆するが、同時に植物群落における熱収支、水収支に影響する。潜熱フラックスの減少は、顕熱フラックスの増加をもたらし、群落周辺の熱環境に変化を生じる。

ここでは、二酸化炭素濃度の上昇により、気象環境の変化が樹木幼苗やこの個体群のガス交換や成長におよぼす影響、および、それらの樹種によ

る差違について記述する。

1. 二酸化炭素の増加と植物のガス交換の変化

二酸化炭素濃度は、1750年代の278 ppmから現在までの240年間に70 ppm上昇し、348 ppmに達していることが極地の氷塊の調査で明らかにされている²⁾。大気中の二酸化炭素は、化石燃料の燃焼に加え、森林伐採によって年間約70億トン(炭素換算)放出され、そのうち約30億トン(炭素換算)が大気中の二酸化炭素の増加に関与していると推定されている。熱帯の常緑広葉樹林には炭素量で160トン-C/ha蓄積されている¹⁶⁾ので、熱帯林の消失面積を1,500万ha/年とすると、炭素量に換算して約24億トン/年放出されることになる。一方、通常の大気中で、熱帯林による二酸化炭素の吸収量は、炭素量で11~13トン/ha/年で、サトウキビ、アブラヤシもそれと同等であるが、熱帯季節林は6トン/ha/年と約1/2である。これは乾季と雨季の季節変化によるため、その時期の生産量に大差があることによる。乾季には水ストレスによって光合成は著しく抑制される¹⁵⁾。

植物の葉における二酸化炭素、大気汚染質、水蒸気などのガスの吸収や放出は、葉面境界層、気孔を通じた同一の拡散経路をもっており、この拡散量(F)は、 $F = \Delta C / \Sigma r$ と表わせる。 ΔC は大気中と葉内とのガス濃度差で、 Σr はガス拡散経路の抵抗を意味している。そこで、光合成による二酸化炭素の吸収量(F_{CO_2})は、 $F_{CO_2} = (C_a - C_c) / (r_b + r_s + r_m)$ と表わせる。 C_a 、 C_c は、大気中およびクロロプラストでの仮りの二酸化炭素濃度であり、 r_b 、 r_s 、 r_m は、それぞれ、葉面境界層、気孔、葉肉組織における CO_2 拡散低抗値を示す。また、葉から大気への水蒸気拡散量(蒸散速度、 F_{H_2O})は、 $F_{H_2O} = (e_i - e_a) / (r'_b + r'_s)$ と表わすことができ、 e_i 、 e_a は葉内と大気中の水蒸気濃度で、 r'_b 、 r'_s は葉面境界層、気孔における水蒸気拡散低抗値を示す。空気中の CO_2 拡散抵抗は、水蒸気のその約1.7倍である。これらの式から、大気中の二酸化炭素濃度が上昇すると、植物に吸収される二酸化炭素量が増加することが予測できる。また、気孔開度が低下し、気孔抵抗が増すと蒸散が抑制される。

2. 二酸化炭素濃度の上昇にともなう植物の二酸化炭素吸収量の変化

幼樹を用いて、二酸化炭素濃度の上昇にともなう二酸化炭素吸収量（光合成速度、Pn）の変化を調べた結果、二酸化炭素濃度が上昇するとPnは増加し、その割合は光強度が増すにつれて高くなった。二酸化炭素濃度が2倍に増加すると、熱帯、亜熱帯域で植林用樹種として多く用いられている *Eucalyptus viminalis*（ユーカリ）、*Acacia mangium*（アカシアマンギウム）で1.7倍、日本で多く植林されている *Chamaecyparis obtusa*（ヒノキ）、*Machilus thunbergii*（タブノキ）では2.2倍となり、さらに二酸化炭素濃度が上昇すると気温の影響は異なった。二酸化炭素濃度が低いときには、光合成による二酸化炭素吸収量におよぼす気温の影響は少なく、濃度が上昇するにつれ、気温の影響が著しくなり、光合成適温は徐々に高温側に移動した（図1）。

これらの結果は、二酸化炭素濃度の上昇によって生じた樹木の生理的反応を示すものであるが、短期間の反応であるため、成長への長期間の影響を明らかにする必要がある。

3. 二酸化炭素の長期的影響

通常大気中の二酸化炭素濃度では、大気中から植物群落への二酸化炭素の拡散量が少ないため群落の二酸化炭素吸収量が飽和に達するが、二酸化炭素濃度が上昇すると飽和する群落密度は高くなる。しかし、光合成速度が長期間高い水準に維持されるとは限らないため、経時変化に関する解析も必要となる³⁾。

A. mangium 実生苗移植2年後の成長は、CO₂ 濃度 350 ppm 区に比べ1,000 ppm 区の方が樹高で20%、幹径で32% 上回った。また、全乾物重は350 ppm のそれに比べ82% 増加した（表1）。乾物蓄積は、枝、幹、根に著しく、葉面積の増加は15% にすぎなかった。特に高CO₂ 濃度下での落葉は早く、これが光合成増加率を鈍化させている。

他の樹種の乾物増加は、350 ppm 区に比べ1,000 ppm 区で *A. meranox-*

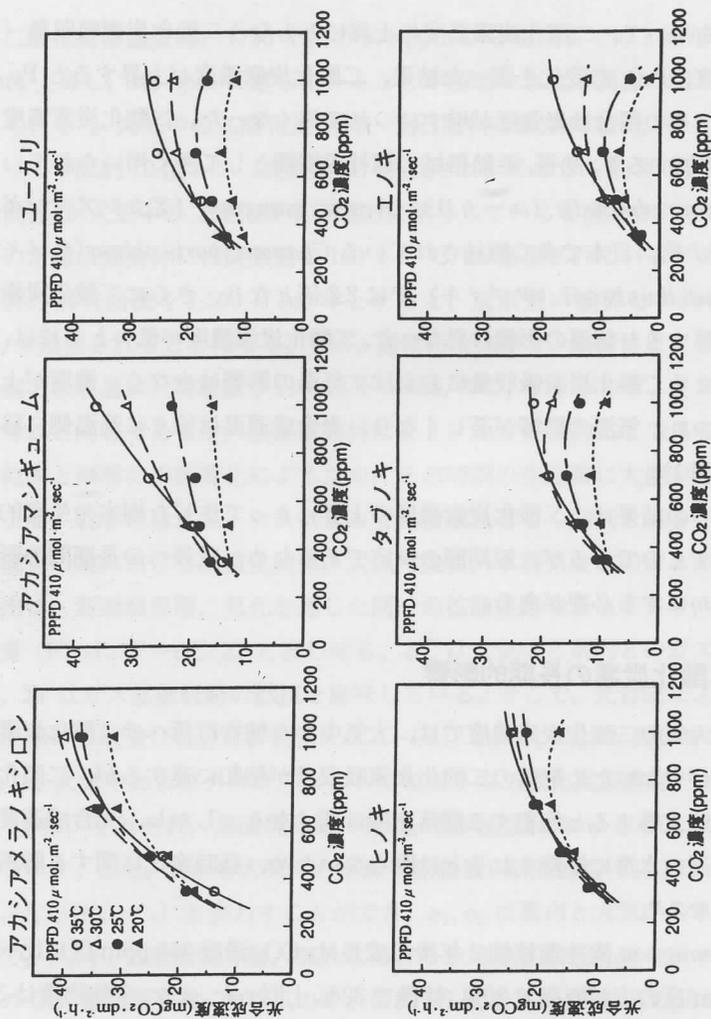


図1. 二酸化炭素濃度・気温と樹種別光合成速度との関係

表 1. 樹木の成長におよぼす二酸化炭素濃度の影響

樹木名	二酸化炭素濃度(ppm)	乾物重 (g)					葉面積 (m ²)	葉乾物重(g) 葉面積(m ²)	二酸化炭素 処理期間
		葉	枝	幹	根	全体			
アカシア メラノキシロン	350	100	56	125	80	361	1.11	76	1992.1~ 1993.10
	1000	272 (2.7)	173 (3.1)	513 (4.1)	347 (4.3)	1305 (3.6)	2.80 (2.5)	93 (1.2)	
アカシア マンギウム	350	307	148	442	169	1066	3.89	79	1991.8~ 1993.7
	1000	504 (1.6)	316 (2.1)	823 (1.9)	301 (1.8)	1944 (1.8)	4.46 (1.2)	113 (1.4)	
ユーカリ	350	153	55	120	288	616	1.41	109	1991.8~ 1993.10
	1000	248 (1.6)	67 (1.2)	171 (1.4)	255 (0.9)	740 (1.2)	1.84 (1.3)	134 (1.2)	

() の数値は、350ppm区を1.0とした相対値を示す。

表2. 異なる二酸化炭素濃度下で成育した樹木の葉内元素組成 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

樹木名 CO ₂ 濃度 元素組成	ユーカリ		アカシアマンガム		タブノキ			ヒノキ			
	(A) 350ppm	(B) 1000ppm	(A) 350ppm	(B) 1000ppm	(A) 350ppm	(B) 1000ppm	(B) 1000ppm	(A) 350ppm	(B) 1000ppm	(B) 1000ppm	
K	3300(9)	3600(8)	5000(5)	2400(10)	5200(5)	7200(4)		1.38	9300(2)	9100(2)	0.98
Ca	9400(4)	5100(6)	9000(5)	8300(4)	13000(3)	11000(3)		0.85	29000(2)	25000(3)	0.86
P	1100	690	550	360	500	400		0.80	1500	1800	1.20
Mg	1230	549	885	1370	2290	949		0.41	2290	1070	0.47
S	6110	6060	14700	6740	4670	8760		1.88	4280	3100	0.72
Na	4300(2)	3700(2)	5300(3)	4400(2)	160(2)	250(2)		1.56	88(2)	96(1)	1.09
Cl	2900(3)	1400(3)	5800(2)	3000(2)	340(5)	230(6)		0.68	2200(2)	1700(3)	0.77
Fe	26(7)	22(8)	120(6)	150(4)	96(7)	60(8)		0.63	48(9)	90(5)	1.88
Mn	300(11)	250(11)	56(10)	110(9)	500(10)	360(9)		0.72	200(14)	260(12)	1.30
Zn	8(9)	10(3)	27(3)	49(5)	28(2)	38(2)		1.36	28(2)	40(2)	1.43

()は、分析誤差(%)を示す。

ylon 3.6 倍, *Celtis sinensis* (エノキ) 1.7 倍, *E. viminalis* 1.2 倍で, *E. viminalis* の落葉は早まった。

二酸化炭素濃度の上昇は、成長のみならず樹体内成分に変化をもたらすとともに物質循環に影響を与える可能性がある。植物体内元素濃度の変化は樹種により異なり必ずしも同じ傾向を認めることはできないが、二酸化炭素濃度上昇にともなう蒸散抑制の著しい樹種では、二酸化炭素高濃度下での元素濃度の変化が大きい傾向にあった (表 2)。Bazzaz and Fajer (1992) によると、二酸化炭素高濃度下で育った葉の成分が変化するため、オオバコの葉を餌とする昆虫のタテハチョウの成長は遅れ、捕食者や寄生虫の攻撃を受けやすくなり、生態的なバランスが変化することを推察している。このように、二酸化炭素濃度の上昇は、環境緩和機能をもつ植物にも変化をひきおこし、共生する昆虫に影響をおよぼすことも懸念される。

4. 二酸化炭素濃度の上昇にともなう蒸散速度、熱収支の変化

気孔開度、気孔密度によって決まる気孔抵抗は、蒸散速度に影響する重要な要素である。二酸化炭素濃度が上昇すると蒸散速度が減少するという報告は多く、*Populus deltoides* の場合、CO₂ 300 ppm のときの蒸散速度に比べ 600 ppm で 25% 減少し、1,000 ppm では 50% 減少した¹¹⁾。この減少の割合は植物の種によっても異なっている (図 2)⁴⁾。CO₂ 350 ppm のときの蒸散速度に比べ 700 ppm のときのそれは、*E. viminalis* で 40%、*A. mangium* で 20%、それぞれ減少し、*C. obtusa* ではほとんど減少しなかった。

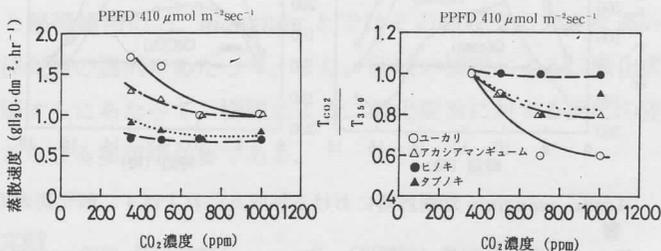


図 2. 二酸化炭素濃度と樹種別蒸散速度との関係
 T₃₅₀: CO₂ 濃度 350 ppm のときの蒸散速度
 T_{CO₂}: 各 CO₂ 濃度における蒸散速度

蒸散速度の減少は、二酸化炭素濃度の上昇によって気孔抵抗が増加した結果である。樹木では片面気孔葉が多く、気孔抵抗の変化が大きい。また、大気中の二酸化炭素濃度の上昇につれて、葉の気孔密度が減少しているとの報告がある。240年にわたって集められた14種の植物標本によると、1985年に比べ1750年の平均値は気孔密度で約20%多く、比葉面積(葉面積/葉の乾物重)も70~80%多く、CO₂濃度の増加にともなう葉が厚くなるものが報告されている¹⁰⁾。気孔密度の変化については他にも同様の報告があり¹³⁾、これらの結果は、地球上の二酸化炭素濃度の上昇によって、すでに生物圏に重要な影響が出ていることを物語るものである。

このような二酸化炭素濃度の上昇による気孔密度の低下、気孔抵抗の増大にともなう蒸散速度の低下によって生じる熱収支の変化は、地域的に温暖化を助長するよう作用するかもしれないし、水収支にも大きな影響を与えることが予想される。

図3は、*A. mangium*の苗を用いた模擬群落における熱収支を示す。植物群落上の熱収支として潜熱伝達量(IE)、顕熱伝達量(H)、地中伝達量(B)の和が正味放射量(Rn)に相等すると考えた。潜熱伝達量は蒸散速度の測定により求め、また顕熱伝達量は、(Rn-IE-B)より求めた。Rnの多い12

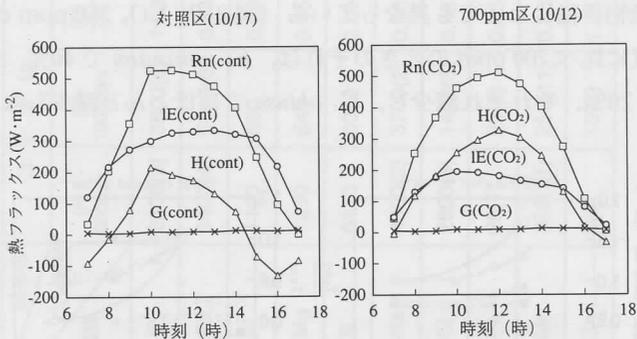


図3. *Acacia mangium* 幼樹群落における熱収支におよぼす二酸化炭素の影響

Rn_(cont): 正味放射量 (対照区), Rn_(CO₂): 正味放射量 (700 ppm 区),
 IE_(cont): 潜熱伝達量 (対照区), IE_(CO₂): 潜熱伝達量 (700 ppm 区)
 H_(cont): 顕熱伝達量 (対照区), H_(CO₂): 顕熱伝達量 (700 ppm 区),
 G: 地中伝熱量

時頃、通常の大気中のCO₂濃度下ではIE/Rn=0.64, H/Rn=0.34であったが、CO₂ 700 ppm下では蒸散速度の低下によってIE/Rn=0.35, H/Rn=0.64と逆転した。晴天日の日中の積算値で比較すると350 ppmの場合IE/Rn=0.83, H/Rn=0.14に対し、700 ppmではIE/Rn=0.44, H/Rn=0.54となり、二酸化炭素濃度の上昇にともなって生じる蒸散抑制によって、群落周囲の大気への顕熱伝達量が著しく増加した。しかし、*C. obtusa*(ヒノキ)では、二酸化炭素濃度の上昇によって蒸散速度が低下する傾向はほとんど認められないため、熱収支の影響は小さい。この傾向は*Cryptomeria japonica*(スギ)でも同様であった。

む す び

1990年には世界全体で55億トンの二酸化炭素排出量(炭素換算)であった。これが、2025年には100億トンに達すると見込まれている。また、土地利用の変化(樹木の伐採その他)による炭素放出が10~20億トンとも推定されており、陸域における土地利用の変化は炭素収支に大きな影響をおよぼす。わが国の森林は、年間3億1,800万トン(炭素換算, 1990)の二酸化炭素排出量のうち約2割を吸収、固定していると推定されており、政府の「地球温暖化防止行動計画」においても、森林などの樹木による二酸化炭素の吸収源対策が重要施策のひとつとして位置づけられている¹²⁾。

二酸化炭素濃度の上昇にともなって植物によるガス交換量が著しく異なる。蒸散速度の変化は、植物群落の熱環境に影響するが、植物種によって、また環境条件の違いによってもその影響度は異なった。特に、針葉樹の*C. obtusa*と熱帯植物の*A. mangium*とではその熱収支に大きな違いがあった。植林樹種の選択にあたって、また、陸域の植物による二酸化炭素の吸収を評価するにあたって、樹種による二酸化炭素に対する反応の差異についてのさらなる検討が必要である。

参考文献

- 1) Bazzaz, F.A. and E.D. Fajer (1992) Scientific American, Jan: 18-24.
- 2) Freidle, H., Lotsher, H., Oeschger, H., Siegenthaler, U. and B. Stauffer

- (1986) *Nature*, **324**: 237-238.
- 3) 清田 信, 矢吹万寿 (1982) *生物環境調節*, **20**(1): 17-23.
 - 4) Kiyota, M., Nishimura, M., Matsushita, A., Daito, I. and I. Aiga (1992) *Proc. ISGA Osaka '92*: 135-139.
 - 5) 清田 信, 西村正英, 松下敦彦, 大東秀章, 相賀一郎 (1994) *環境情報科学論文集*, **7**: 19-23.
 - 6) Lamarche, V.C.Jr., Graybill, D.A., Fritts, H.C. and M.R. Rose (1984) *Science*, **225**: 1019-1021.
 - 7) Morison, J.I.L. (1987) *Nature*, **327**: 560.
 - 8) 中尾登志雄, 野間 圭, 黒木嘉久 (1991) *日林論*, **102**: 517-518.
 - 9) Pallas, J.E. (1965) *Science*, **147**: 171-173.
 - 10) Penuelas, J. and R. Matamala (1990) *J. Exp. Botany*, **41**: 1119-1124.
 - 11) Regehr, D.L., Bazzaz, F.A. and W.R. Boggess (1975) *Photosynthetica*, **9**: 52-61.
 - 12) 林野庁 (1993) *林業白書 (平成4年度)*: 238 pp.
 - 13) Woodward, F.I. (1987) *Nature*, **327**: 617-618.
 - 14) 矢吹万寿, 清田 信 (1975) *生物環境調節*, **13**(4): 151-158.
 - 15) 矢吹万寿 (1985) *植物の動的環境*, 朝倉書店.
 - 16) 依田恭二 (1982) *地球化学*, **16**: 78-85.

高 CO₂ 環境における C₃ 植物の 光合成の生理生化学

牧 野 周

地球温暖化の要因の一つとして、炭酸ガスの濃度増加が植物の光合成に及ぼす影響について、注目されている。この影響は特に、C₃ 植物において大きい¹⁾。ここでは、高 CO₂ 環境が C₃ 植物の光合成に与える影響について、現在までに得られている知見について比較的詳細に整理し、最後に私たちが現在イネで得た実験データの一部を紹介し、生理生化学的な見地から考察したい。

一般に、高 CO₂ 環境は、CO₂ 固定酵素であるリブローズジリン酸カルボキシラーゼ・オキシゲナーゼ (Rubisco) によって触媒されるリブローズジリン酸 (RuBP) のカルボキシレーション反応を促進し、オキシゲネーション反応を拮抗的に阻害し、結果として、植物の光合成速度を上昇させる。たとえば、CO₂ 分圧が現在の大気条件分圧の 36 Pa から 2 倍の 72 Pa に上昇すると、25°C 下の光合成速度は、普通 30% から 60% ぐらい増加する。しかし、長期間、たとえば、数週間から数カ月の間植物が高 CO₂ 環境下に曝されつづけると、最初に見られた光合成の増加の応答は減少し、やがて消失してしまうケースが多い。このことは、高 CO₂ 環境が植物の光合成に与える影響について解析する場合、短期的なもの (秒から時間) と長期的なもの (週から月) にわけて考えるべきものであることを意味している。そこで、ここでは、まず始めに、高 CO₂ 環境に対する光合成の短期的な応答について述べ、次に長期的な応答、とくに高 CO₂ 環境への適応という局面から解説してみたい。なお、高 CO₂ 環境下における光合成の生理生化学的

な局面を解説した総説もいくつか出版されているので参照にされたい²⁻⁵⁾。

I 短期的な応答

CO₂ の濃度増加は光合成を促進する。この光合成の CO₂ 応答は、最初に Farquhar らのグループによって理論的にモデル化され⁶⁾、そのモデルは後に Sharkey によって一部改変されている⁷⁾。彼らの理論によれば、低 CO₂ 分圧下の光合成は、Rubisco の炭酸固定能力と葉内外の CO₂ 拡散によって律速され、高 CO₂ 分圧下の光合成は、光化学系電子伝達活性により律速されるとある。さらに、CO₂ 飽和領域では、デンプン・ショ糖合成に伴う無機リン酸の葉緑体内での再利用速度によって律速されると解釈されている。このモデルにおける光合成の CO₂ に対する応答の理論は、その後数多くの実験によって検証されており、現在の段階では、正しいものであると理解されている。すなわち、高 CO₂ 分圧下の光合成は、電子伝達活性カリン酸の再利用速度によって律速され、Rubisco によっては律速されない光合成であると結論される。

低 CO₂ 分圧で、その光合成が Rubisco に律速される時、Rubisco はほぼ 100% が活性化状態にある。しかし、高 CO₂ 分圧下ではその活性化状態が低下することが、Von Caemmerer と Edmondson によって報告された⁸⁾。その後、Sage らは、この現象について詳細に検討し、高 CO₂ 分圧下で生じる Rubisco の部分的な不活性化は、光合成の代謝産物、とりわけ RuBP のプールサイズを維持するための 2 次的な応答であることを明かとし⁹⁾、光合成の律速が電子伝達あるいは無機リン酸の再利用速度に移ることによりそれらとの能力と Rubisco の能力のバランスを合わせるための応答であると解釈した¹⁰⁾。しかし、その後のいくつかの検討実験の結果¹¹⁻¹³⁾を見ると、高 CO₂ 分圧下での Rubisco の不活性化は、Sage ら⁹⁾ が見積もったほど大きなものでなく、CO₂ 飽和領域においても、80% 程度の Rubisco は依然活性化状態にあると考えた方が良さそうである。しかし、このことは CO₂ 飽和領域においても Rubisco による光合成の律速性が強いことを意味するものではない。たとえば、イネで報告された Rubisco のキネティクス¹⁴⁾ から高 CO₂ 分圧下で実効的に働いている Rubisco の割合を実際に測定さ

れる光合成速度との差から計算すると、CO₂飽和領域のCO₂分圧を仮に90 Paとした場合、Rubiscoの実効割合は約60%程度であると計算される。このことは、高CO₂分圧下では、Rubiscoと他の光合成の律速因子とのバランスは必ずしも一定に保たれているわけではないことを意味している。すなわち、高CO₂環境下では、Rubiscoは一部は不活性化しているものの、光合成全体のバランスから考えると、明らかに過剰となっており、いわゆる、Rubisco余りの光合成になっていると結論される。

II 高CO₂環境の長期的な影響

長期に亘って(たとえば、週から月)高CO₂環境下で植物が生育すると、その乾物生産量は一般に大きく増加していることが指摘されている。しかし、高CO₂環境下で促進的であった光合成の初期段階の応答も、日時の経過とともにその程度は減少し、やがては消失していくことが一般的に見られている^{15,16)}。このことは、長期間高CO₂環境にさらされると、植物の光合成器官あるいはそれに関与する何らかの因子には、短期的な応答現象とはまったく異なる変化が生じていることを示唆している。ここでは、それらについて、まず文献的な知見について整理し、現在、私たちが得ている結果について紹介したい。

生化学的見地からは、高CO₂環境下で生育した植物に見られる光合成速度の促進効果の減少については、炭水化物の蓄積が関係しているとの議論が、多くの関係者によってなされている。たとえば、デンプンの蓄積と光合成速度との間には負の相関関係があることが古くから認められている¹⁷⁻¹⁹⁾。しかしながら、その因果関係についてはわかっていない。巨大なデンプン粒の蓄積が葉緑体の膜構造を物理的に破壊する可能性を指摘する報告もあるが^{20,21)}、むしろ、私たちは、それらは葉緑体内でのCO₂拡散を妨害する可能性の方が大きいと考えている²²⁾。また、短期的な応答として、葉内に多量のショ糖が蓄積すると、ショ糖合成のフィードバック阻害が生じ^{23,24)}、結果として、デンプン合成が促進されることが知られている²⁾。しかし、それらの現象と光合成阻害を直接結び付ける因果関係についても証明はなされていない。Stittは、炭水化物の蓄積が2次的に光合成のタンパ

ク質やコンポーネントを減少させるようなフィードバック機構がある可能性を提唱し、多くの報告において、高 CO₂ 環境下では過剰となる Rubisco の減少が認められることを強調している²⁾。事実、いくつかの植物において、グルコース、酢酸、ショ糖などの糖が Rubisco の小サブユニットの遺伝子 *RbcS* や集光系タンパク質 LHCI の遺伝子 *Lhcb* 等の遺伝子発現を抑制する働きがあることが明らかにされている²⁵⁻²⁷⁾。しかし、これらの実験的事実と高 CO₂ 環境下における糖代謝の変化とを直接結びつく証明は一切ない。

一方、生理生態学的見地からは、実験に供した植物のポットの大きさと高 CO₂ による光合成の促進効果の程度の間にある程度の相関関係が認められことが注目されている²⁸⁾。すなわち、大きいポットで栽培された植物ほど光合成の促進効果は大きく(ポットサイズ効果)、処理が長期に亘った場合の抑制効果も小さいというものである。この現象は、個体レベルにおける sink/source の制御、とりわけ、地上部と地下部の発達バランスが光合成の長期間の高 CO₂ 効果を決定している事実として注目されている。しかし、このポットサイズ効果も根に供給される栄養量によって説明されるものであるという議論もある²⁹⁾。

以上のような背景を踏まえ、私たちは、イネを中心材料に、長期に亘る高 CO₂ 処理が光合成に与える影響について解析した。栽培は強光下の人工気象室内で水耕法により行い、水耕液は連続してエアレーションを行うことによって、地下部の生長が制限因子にならないように配慮した。また、CO₂ 分圧は、36 Pa (無制御) 区と 100 Pa 区を設定し、窒素の栄養についても、それぞれの CO₂ 処理区に、窒素濃度として、0.5 mM 区、2.0 mM 区、および 8.0 mM 区の 3 段階をおいた。とりわけ、私たちが注目したのは、高 CO₂ 環境下において能力的に過剰となる Rubisco 量にどのような変化が現れるかについてである。Rubisco は光合成のコンポーネント中で最大の窒素の投資先であり、その量は葉身全窒素含量の 20-30% にも及ぶ。もし、植物が高 CO₂ 環境下に理想的に適応をする能力を有するならば、その環境条件下で過剰かつ最大の窒素投資先である Rubisco を積極的に減少させ、かわりに律速段階となっていると考えられる光化学系電子伝達系あるいは

無機リン酸の再生産系の強化がはかられるはずである。

図1に、生育CO₂分圧が個葉の光合成速度、Rubisco量、葉身全窒素量に及ぼす影響について調べた結果について示した。100 Pa CO₂分圧下生育したイネはすべての窒素濃度区において、36 Pa CO₂分圧の同じ窒素濃度区に比べ、光合成速度、Rubisco量、葉身窒素含量ともに減少しているのがわかる。特に、同一窒素濃度区に認められる光合成速度の減少とRubisco量の減少は、Stittの指摘²⁾と一致する点である。しかし、同一のCO₂処理区の範囲内では、窒素栄養に依存して調べたこれらすべてのパラメーター

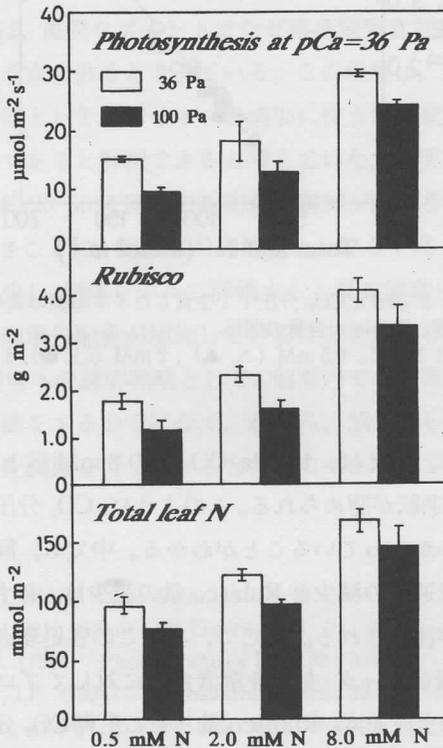


図1 36Pa CO₂と100Pa CO₂分圧下で生育したイネ個葉の36PaCO₂で測定した光合成速度、Rubisco量および葉身全窒素含量。イネは、水耕法により0.5 mM、2.0 mM および8 mM N濃度で栽培された。光合成速度はガス交換法により光強度1800 $\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、葉温25°Cで測定された。

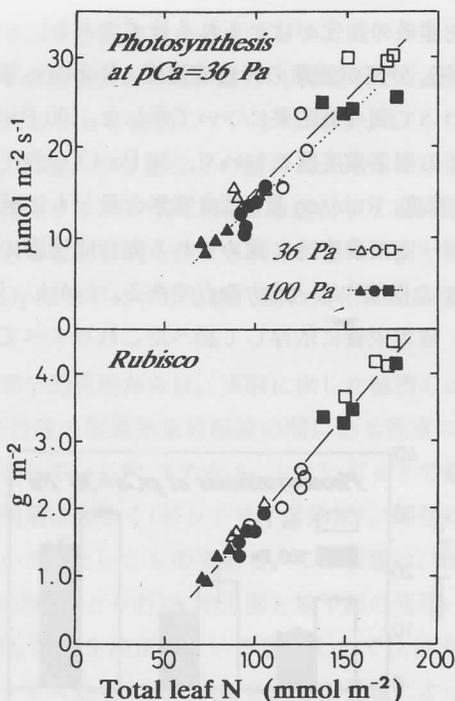


図2 36Pa CO₂ と100Pa CO₂ 分圧下で生育したイネ個葉の葉身全窒素含量と光合成速度、Rubisco 含量の関係。
詳細は図1と同じ。0.5 mM (Δ , \blacktriangle)、2 mM (\circ , \bullet)、8 mM (\square , \blacksquare)

の増加が認められ、例えば、100 Pa CO₂ 下の 8 mM 区と 36 Pa CO₂ 下の 0.5 mM 区間では逆転が認められる。このように、CO₂ 分圧の違いの効果は窒素栄養と深くかかわっていることがわかる。中でも、同一窒素濃度区で認められた光合成速度の減少と Rubisco 量の減少は、必ず葉身窒素の減少を伴っている点が注目される。そこで、次にこの各処理区における光合成速度と Rubisco 量のデータを葉身窒素含量に対してプロットしたものを図2に示した。光合成速度、Rubisco 量ともに生育 CO₂ 分圧の違いにかかわらず、同じ回帰線上にプロットされているのがわかる。すなわち、このことは、長期間の高 CO₂ 処理で認められる光合成速度の減少や Rubisco 量の減少は、私たちのイネの結果を見る限り、単純に葉身窒素含量の減少で

説明ができることを意味している。同時に、高 CO₂ 環境下で生じる Rubisco 量の減少応答は、Rubisco だけに特異的に見られる現象ではないことを示唆している。事実、高 CO₂ 分圧下の光合成の律速因子である電子伝達活性やショ糖合成のキー酵素ショ糖リン酸合成酵素 (SPS)、デンプン合成のキー酵素 ADP グルコースピロリン酸フォスホリラーゼの酵素活性も葉身窒素含量あたりで評価すると差は認められなかった。このように、植物は生理生化学的レベルでは高 CO₂ 環境に適応する能力を有していないと結論される。

III おわりに

現在、私たちは、重要なポイントはなぜ葉身窒素含量が高 CO₂ 環境で減少するのかという点にあると考えている。この現象は、一見単純に高 CO₂ 処理によって個体としてのバイオマス増加に伴う体内窒素含量の希釈による二次的なものであると解釈できると考えていた。事実、私たちはこのイネの結果でも、約 20-50% ほどの乾物重の増加が認められていた。しかしながら、驚くべきことに、乾物重増加にもかかわらず高 CO₂ 処理により総葉面積は逆に減少し、個体レベルで評価すると葉の窒素分配量が低下し、かわりに葉鞘への窒素分配量が増加していることを見出した。すなわち、植物は、高 CO₂ 環境への適応戦略として、個葉内での酵素タンパク質レベルで窒素の分配調節をするのではなく、むしろ、個体として器官形態的なレベルで窒素の分配調節を行っていると考えられるべきなのであろう。

参考文献

- 1) Wong, S.C. (1979) *Oecologia*, **44**: 68-74.
- 2) Stitt, M. (1991) *Plant Cell Environ.*, **14**: 741-762.
- 3) Sage, R.F. (1994) *Photosynthesis Res.*, **39**: 351-368.
- 4) Woodrow, I.E. (1994) *Photosynthesis Res.*, **39**: 401-412.
- 5) Makino, A. (1994) *J. Plant Res.*, **107**: 79-84.
- 6) Farquhar, G.D., Von Caemmerer, S. and J.A. Berry (1980) *Planta* **149**: 178-190.
- 7) Sharkey, T.D. (1985) *Bot. Rev.*, **51**: 53-105.
- 8) Von Caemmerer, S. and D.L. Edmondson (1986) *Aust. J. Plant Physiol.*,

- 13: 669-688.
- 9) Sage, R.F., Sharkey, T.D. and J.R. Seemann (1988) *Planta* **174**: 407-416.
 - 10) Sage, R.F. (1990) *Plant Physiol.*, **94**: 1728-1734.
 - 11) Socias, F.X., Medrano, H. and T.D. Sharkey (1993) *Plant Cell Environ.*, **16**: 81-86.
 - 12) Sage, R.F., Sharkey, T.D. and J.R. Seemann (1990) *Plant Physiol.*, **94**: 1735-1742.
 - 13) Rowland-Bamford, A.J., Baker, J.T., Allen, J.H. Jr and G. Bowes (1991) *Plant Cell Environ.*, **14**: 577-583.
 - 14) Makino, A., Mae, T. and K. Ohira (1988) *Planta* **174**: 30-38.
 - 15) Peet, M.M., Huber, S.C. and D.T. Patterson (1986) *Plant Physiol.*, **80**: 63-67.
 - 16) Yelle, S., Beeson, R.C. Jr., Trudel, M.J. and A. Gosselein (1989) *Plant Physiol.*, **90**: 1465-1472.
 - 17) Azcon-Bieto, J. (1983) *Plant Physiol.*, **73**: 681-686.
 - 18) Nafziger, E.D. and R.M. Koller (1976) *Plant Physiol.*, **57**: 560-563.
 - 19) Sasek, T.W., DeLucia, E.H. and B.R. Strain (1985) *Plant Physiol.*, **78**: 619-622.
 - 20) DeLucia, E.H., Sasek, T.W. and B.R. Strain (1985) *Photosynthesis Res.*, **7**: 175-184.
 - 21) Cave, G., Tolley, L.C. and B.R. Strain (1981) *Physiol. Plant.*, **51**: 171-174.
 - 22) Makino, A., Nakano, H. and T. Mae (1994) *Plant Physiol.*, **105**: 1231-1238.
 - 23) Stitt, M. and W.P. Quick (1989) *Physiol. Plant.*, **77**: 633-641.
 - 24) Foyer, C.H. (1990) *Plant Physiol. Biochem.*, **28**: 151-160.
 - 25) Sheen, J. (1990) *Plant Cell* **2**: 1027-1038.
 - 26) Cheng, C-L., Acedo, G.N., Cristinsin, M. and M.A. Conkling (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**: 1861-1864.
 - 27) Krapp, A., Hofmann, B., Schaefer, C. and M. Stitt (1993) *Plant J.*, **3**: 817-828.
 - 28) Arp, W.J. (1991) *Plant Cell Environ.*, **14**: 869-875.
 - 29) McConnaughay, K.D.M., Bertson, G.M. and F.A. Bazzaz (1993) *Oecologia* **94**: 550-557.

植物の光合成における低温障害

寺 島 一 郎

I. はじめに

熱帯・亜熱帯原産の植物の多くは、凍結を伴わない程度の低温(0~10°C)によっても障害を受ける。このような低温感受性植物には、Indica タイプのイネ、トウモロコシ、モロコシ、アワ、ヒエ、キュウリ、カボチャ、トマト、インゲンマメなどの重要な作物が含まれている。したがって、低温障害克服のための研究は古くから行われてきた。

また、近年の分子生物学の進歩は、低温耐性の形質転換植物の創出を可能にした¹⁾。しかし、実学的な研究や形質転換植物の創出がさかんに行われているにもかかわらず、低温障害のメカニズムそのものはそれほどよくわかっていないわけではない。低温耐性植物においては、導入あるいは改変した遺伝子の産物が、植物の耐性獲得において重要なはたらきをしていることは明白であるのに、その遺伝子を変えればなぜ低温耐性になるのか？というメカニズムそのものについての研究は、形質転換植物の創出に全く追いついていない。

低温障害について最も多くの情報が蓄積されているのは、花粉形成過程²⁾、膜脂質、および光合成に関する分野であろう。しかし、光合成に関しては、情報の総量は多いが、それらは断片的であり、質の面でも、著しく不均一である。その理由は、さまざまな条件で栽培した多様な植物種の、植物体、葉、葉緑体、チラコイド膜などいろいろなレベルの試料が研

究対象とされ、低温処理の施し方も様々であるからである。したがって、文献サーベイによって葉の光合成の低温障害の全体像をつかむことは、少なくとも、私たちが研究をはじめた 1986 年には困難であった。そこで、私たちは、低温感受性植物としてこれまで良く研究に使われてきたキュウリについて、その光合成系に、最も隠和な条件で起こる初発障害反応を特定し、それから、カスケード的に起こる連鎖反応を、出来る限り丹念に追うというアプローチをとることにした。予備実験において、障害部位は低温処理の際に光を照射するか否かで全く異なることが明らかになった。暗黒条件下の障害については、すでに、詳しく述べた^{3,4)}ので、本稿では光存在下における障害について述べることにする。

II. 光存在下の低温処理によってキュウリの光合成系に起こること

キュウリの葉と、光の存在下で低温処理すると、暗黒・低温処理の場合に比べてかなり短い数時間の処理によって葉の光合成活性が失活する⁵⁻⁹⁾。図 1 に見られるように光合成の失活が起こるのは、光照射を 10°C 以下で行ったときに限られ、温度依存性は、きわめてシャープである。この温度は、膜脂質の相転移温度とほぼ一致する⁵⁾。

一般に、植物の葉から葉緑体チラコイドを単離して光合成電子伝達速度を測定する場合、高い電子伝達速度を得るためには適当な脱共役剤を加える必要がある。しかし、キュウリの葉を 5°C で数時間照射した直後に単離したチラコイドでは、電子伝達速度を測定する際に脱共役剤を加えなくても高い活性を示す。このチラコイドは、適当な電子伝達受容体または、光化学系 I の周りのサイクリック電子伝達を媒介する薬剤を加えても、光によるプロトン汲み込み活性が見られない。ところが、チラコイドの H⁺-ATPase, CF₁ CF₀ 複合体の CF₀ によって形成されるチラコイド膜を貫通するプロトンチャンネルをブロックする DCCD (dicyclohexyl-carbodiimide) を加えると、脱共役剤非存在下の電子伝達速度が低下し、脱共役剤添加によって速度の上昇が見られるようになる⁷⁾。また、光に依存したプロトンの汲み込みによる外液の pH の上昇も起こるようになる。このチラ

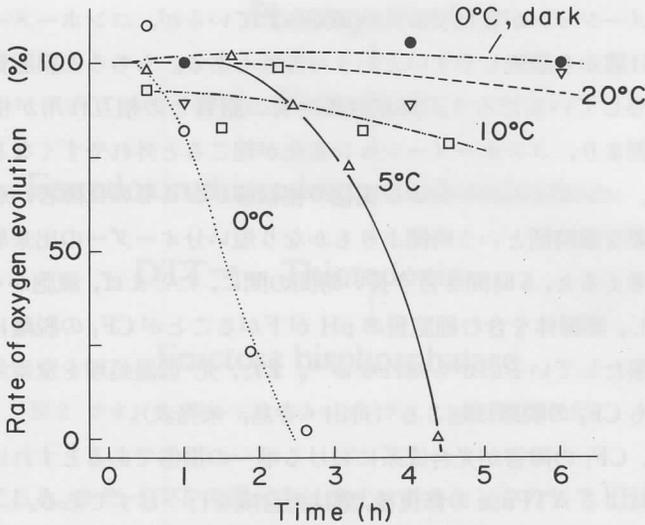


図1 キュウリの葉片の光合成活性の光・低温処理による低下。
 $100 \mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (400~700 nm) の照射下、図に示した温度に
 0~6 時間処理後、25°C で光合成活性を測定した。

コイドのポリペプチド組成をしらべて見ると H^+ -ATPase を構成する CF_1 の蛋白質量が減少していることが明らかになった。チラコイドは、葉を破碎して遠心した沈澱画分に得られるが、その時の上澄みには CF_1 の蛋白質がかなり検出された。これらの結果は、光・低温処理した葉から単離したチラコイド膜は、一部の CF_1 が膜から遊離したために脱共役状態となっていたことを示している^{8,9)}。このために、葉は ATP を合成することができず、葉の光合成活性は低下したと予想した。

光・低温処理した葉を室温で暗黒処理すると、1 時間程度で CF_1 はチラコイド膜に結合し、チラコイド膜は完全に共役した状態にもどる。高濃度の蛋白質合成阻害剤を共存させても修復は起こるので、この修復には蛋白質の合成は関与していない⁸⁾。また、暗黒処理を低温で行うと修復は起こらない⁸⁾。

CF_1 の遊離とその修復が起こるメカニズムは不明である。この損傷がおこるためには、光の存在が必須である。光照射によって ATPase のコン

フォーメーションが変化することが知られているが、コンホーメーションの時には膜から離脱しやすいという可能性もある。もちろん膜脂質の相転移も関与しているだろう。表在性蛋白質の脂質との相互作用が相転移によって弱まり、コンホーメーション変化が起こると外れやすくなる可能性もある。コンフォーメーション変化や相転移がおこるのは障害が起こるために必要な数時間という時間よりもかなり短い分オーダーの出来事であることを考えると、5時間と言う長い時間の間に、たとえば、液胞から H^+ が漏れだし、葉緑体を含む細胞質の pH が下がることが CF_1 の脱離に重要な役割を果たしているのかも知れない¹⁰⁾。また、光・低温処理を窒素気流中で行っても CF_1 の脱離は起こる (舟山・寺島、未発表)。

もし、 CF_1 の障害が光合成系における唯一の損傷であるとすれば室温・暗処理による ATPase の修復後、葉は光合成を行うはずである。しかし、葉の光合成は、数時間の暗黒処理では全く回復しない。

Sassenrath ら¹¹⁾ は、トマトにおいて、キュウリに見られる不可逆的阻害と同様の阻害を報告した。光・低温処理を施したトマトの葉を室温で照射すると、炭酸固定経路の中間産物のうちフルクトース 1, 6-二リン酸などが蓄積した。このことから予想されるように、粗抽出液中のフルクトースビスフォスファターゼ (FBPase) の活性は低下していた。しかし、粗抽出液に還元剤であるジチオスレイトールを加えて FBPase を還元すると、活性は対照と全く変わらなかった。FBPase などの酵素は、生理的 pH ではチオレドキシニンによって還元された場合にだけ高い活性を示す¹²⁾。阻害が起こった葉では、酵素が何らかの理由で酸化され、不活性化された状態にとどまっていたのだろう。

私たちも、早速、キュウリにおいてこの追試を行ない、光・低温処理後に抽出した FBPase は酸化されていることを確認した。次にわれわれは、チオレドキシニンシステム (図 2) が正常かどうかを調べることにした。光化学系 I から電子を得たフェレドキシンはフェレドキシニンチオレドキシニオキシドレダクターゼ (FTR) を還元し、還元された FTR がチオレドキシンを還元する。

FBPase が傷んでいないことは、DTT の存在下で高い活性を示すことで

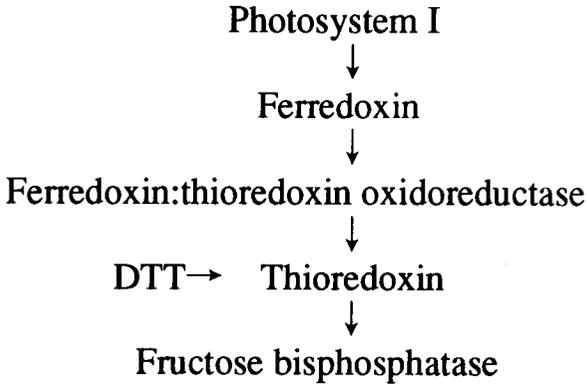


図2 チオレドキシンのによるカルビンサイクル酵素の活性化。

明らかである。また、DTTの還元力はチオレドキシンを介してFBPaseに伝わるので、チオレドキシンのダメージを受けていないと判断した。フェレドキシンのについても、単離して活性が保持されていることを確認した。FTRの簡単な活性測定の方法が思い浮かばず行き詰まっていたとき、万が一の可能性を考えて、光化学系Iの活性測定を行ってみた。

III. 光化学系Iの光阻害の発見

それまで、光化学系Iの活性測定は、還元型の diaminodurene (DAD) から methyl viologen まで電子伝達速度を測定することによって行っていたが、光・低温処理した葉から単離したチラコイド膜では、活性がやや落ちることなどもあり、光化学系Iが正常かどうか確信が持てなかった。しかし、光合成の研究において光阻害といえば、光化学系IIと相場が決まっております、この試みはそうした常識からはずれた試みであった。

私たちは、まず測定システムを再検討することにした。光化学系Iの還元側には、図3のような電子伝達コンポーネントがある。フェレドキシンは、生理学的な濃度では F_A/F_B から電子を受け取る。ところが、methyl viologen は、 F_x からも電子を受け取ることができる。したがって、methyl viologen を電子受容体に使ったのでは、生理学的な光化学系Iの反応を測定しているとは言えない。そこで、私たちは、光化学系Iからの生理的な電

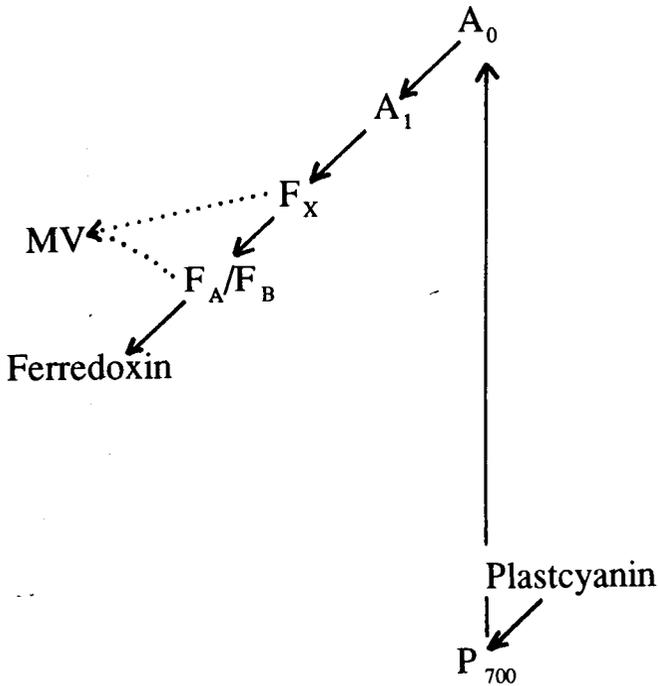


図3 光化学系Iの電子伝達コンポーネント。
 A_0 はクロロフィル, A_1 はフィロキノン, F_X , F_A/F_B は鉄イオウセンターである。
 MV, methyl viologen.

子受容体となっているフェレドキシンを介したNADPの光還元を測定する事にした。案に相違してというより、かすかな期待の通り、光・低温処理した葉では光化学系Iが傷んでいることがわかった¹³⁾。

この損傷は、暗黒条件下では起こらず、窒素気流中でも起こらなかった¹³⁾。これらは、葉の光合成系に不可逆な阻害が起こる条件に一致している。光化学系Iの障害が起こるタイムコースや温度条件も葉の光合成系の不可逆的な失活をもたらす条件とも良く一致した。

その後、光化学系Iの損傷のメカニズムは園池によって詳しく研究されている。これまでに、methyl viologenの濃度を変えた詳細な研究¹⁴⁾や、ESRの測定やフラッシュフォトリシス¹⁵⁾などにより、損傷の箇所が光化学

系の還元側の F_x , F_A/F_B であることが明らかになった。さらに, A_1 が傷んでいる可能性もある。

還元側の F_A/F_B が傷んでも、通常光化学系 I の活性測定をする際に用いる高濃度 (mM オーダー) の methyl viologen 存在下では、methyl viologen は F_x から電子を受け取ることができるので、光化学系 I から methyl viologen までの活性はそれほど落ちない。これが、これまでの測定で、光化学系 I の顕著な損傷を発見できなかった理由である。生理学的な電子受容体であるフェレドキシンは生理学的な濃度では、 F_A/F_B からしか電子を受け取ることができないので、 F_A/F_B の損傷の検出に敏感だったのだ。もっとも、同じ DAD から methyl viologen までの活性測定でも、methyl viologen の濃度を μM 程度にすると、顕著な活性の低下が観察される。

チオレドキシンによって還元を受け活性化される酵素を還元状態に保つためには、絶えず、チオレドキシンからの還元力が供給されなければならない¹²⁾。そうしないと、還元力と競合的に酸素によって酸化されてしまう。したがって、これらの酵素の酸化還元レベルは、光化学系 I からの電子の供給速度によって決まってくる。これらの酵素の還元レベルが、光合成の光依存性と類似の光強度依存性を示すことは、このためである。光化学系 I の還元側が傷むと、当然還元力の供給速度は遅くなり、これらの酵素は、強い光強度下でも酸化された状態となる。Sassenrath らがトマトで発見し、つづいてわれわれがキュウリで確認したカルビンサイクルのビスフォスファターゼの阻害は、チオレドキシンシステムのそもそもの電子供給源である光化学系 I の不可逆的な阻害によって無理なく説明できる。

光化学系 I の光障害がどのようなメカニズムで起こるのかは、まだ良く分かっていない。酸素が存在する条件でしか起こらないこと、活性酸素のスカベンジャーが保護効果があることなどから、活性酸素が関与していることは間違いない¹⁶⁾。

このような研究は、in vitro のシステムの方が行いやすいが、最近、園池は、キュウリでも低温耐性のハウレンソウでも、単離チラコイドでは、室温でも障害が起こることを見出した¹⁶⁾。したがって、ポテンシャルとして光化学系 I の阻害は室温でも起こり、低温感受性植物のチラコイドに特有の

現象ではない。したがって、キュウリにおいて低温感受性でハウレンソウにおいては低温耐性の、系Iの保護に関する(おそらくは活性酸素消去系)因子は、チラコイド膜単離時に、チラコイドから外れると予想できる。現在この因子の特定が行われているところである。

また、電子伝達の阻害の後、反応中心を擁する二つの蛋白のうち *psaB* の産物が分解をうけることがすでに明らかになっている¹⁷⁾。また、光化学系Iの阻害は完全に不可逆的ではなく、数日のオーダーで修復が起こることもわかってきた(園池, 未発表)。

III. 膜の相転移との関係

膜脂質の問題は、低温障害に関連する問題のうちでは最も良く研究されてきた。当初は膜そのものが注目され、膜を構成する膜脂質が相転移を起こすと、プロトンやその他のイオンが漏れやすくなると考えられた。しかし、少なくとも高等植物の膜においては、イオンが漏れやすくなると言う直接的な証拠はない。ヤエナリを用いた吉田らのデータはこの仮説を全く支持しない¹⁰⁾。おそらく、低温障害の初発反応は、膜そのものの変化ではなく、膜表面性蛋白(CF₁やチラコイド膜単離時にはがれてしまう活性酸素消去系のコンポーネント)と膜との相互作用が、低温における膜の相転移によってドラマチックに変化することであろう。未同定の因子の特定を急ぎ、膜との相互作用を詳細に検討することが、この問題を解決するための次の一歩である。

参考文献

- 1) 田坂恭嗣, 西田生郎, 村田紀夫 (1995) 中村研三ら編 植物細胞工学シリーズ3 植物の分子細胞生物学, 206-216. 秀潤社
- 2) 小池説夫 (1992) 植物細胞工学4: 329-335.
- 3) 寺島一郎 (1992) 植物細胞工学4: 311-318.
- 4) Shen, J.R., Terashima, I. and S. Katoh (1990) *Plant Physiol.* **93**: 1354-1357.
- 5) Hodgson, R.A.J., Orr, G.R. and J.K. Raison (1987) *Plant Sci.* **49**: 75-79.
- 6) Hodgson, R.A.J. and J.K. Raison (1989) *Planta* **178**: 545-552.
- 7) Terashima, I., Huang, L.-K. and C.B. Osmond (1989) *Plant Cell*

- Physiol. **30**: 841-850.
- 8) Terashima, I., Kashino, Y. and S. Katoh (1991) *Plant Cell Physiol.* **32**: 1267-1274.
 - 9) Terashima, I. Sonoike, K., Kawazu, T. and S. Katoh (1991) *Plant Cell Physiol.* **32**: 1275-1283.
 - 10) 吉田静夫, 遠藤千絵, 前島正義 (1992) *植物細胞工学*, **4**: 302-310.
 - 11) Sassenrath, G.F., Ort, D.R. and A.R. Portis, Jr. (1990) *Arch. Biochem. Biophys.* **282**: 302-308.
 - 12) Scheibe, R. (1990) *Bot. Acta* **103**: 327-334.
 - 13) Terashima, I., Funayama, S. and K. Sonoike (1994) *Planta* **193**: 300-306.
 - 14) Sonoike, K. and I. Terashima (1994) *Planta* **194**: 287-293.
 - 15) Sonoike, K., Terashima, I., Iwaki, M. and S. Itoh (1995) *FEBS lett.* **362**: 235-238.
 - 16) Sonoike, K. (1995) *Plant Cell Physiol.* **36**: 825-830.
 - 17) Sonoike, K. (1996) *Plant Sci.* in press.



湿潤土壌条件下における作物の 急性萎凋枯死

平 沢 正

1. はじめに

土壌水分が低下すると、植物の体内水分は減少し、いろいろな生理作用が影響を受ける。したがって、水は乾燥地や半乾燥地などでは作物の収量の大きな制限要因となっている。一方、わが国では年間を通してみれば、降水量が蒸発量を上回り、湿潤で、土壌水分の低下程度も半乾燥地などに比べればはるかに少ない。しかし、数年に一度は夏に早魃害が問題となっている。このような早魃害は梅雨期の湿潤条件に作物が生育することによって根系の発達が悪くなり、このことによって梅雨明け直後の夏の高湿・乾燥下での水ストレスが助長されることによっておこると考えられている¹⁰⁾。さらに、土壌水分が十分にある条件でも、作物の個体全体、あるいは一部の器官が水を失って急激に萎凋、枯死することがある。たとえば、出穂開花期にフェーンによって水稲の穂が水を失って白く枯死する白穂、登熟期に水稲の個体全体が水分を失って枯死する青枯れ、稔実期にダイズの莖葉が水分を失って枯死する急性萎凋、収穫期のキュウリにおこる急性萎凋などがある。このような萎凋、枯死の多くは、環境条件が蒸発散の少ない条件から多い条件に大きく変化した時におこる傾向が認められる。湿潤なわが国ではあるが、このように生育期間中に体内水分欠乏を経験する作物は少なくない。

筆者らはキュウリの急性萎凋の発生要因について数年間検討してきた。

以下その概略を紹介する。

2. キュウリの急性萎凋と萎凋要因

健全にかつ旺盛に生育していたキュウリが、土壌水分が十分あるにもかかわらず、収穫期間中の晴天日に突然萎凋し、夜間には回復するが、翌日は再び萎凋し、多くの個体は日を追って萎凋の程度が著しくなり、数日の

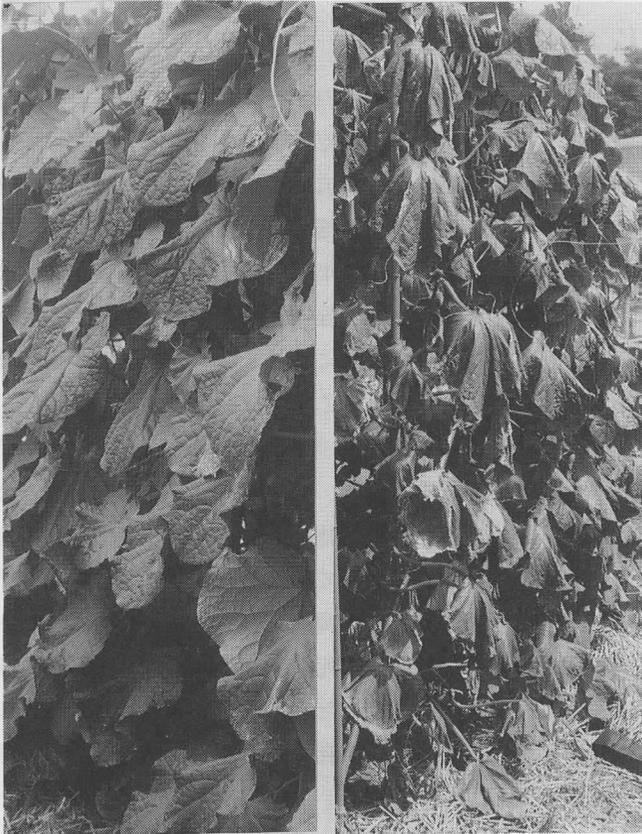


図1 急性萎凋をおこしたキュウリ(右)と萎凋をおこっていないキュウリ(左)
(平沢ら, 1990)

急性萎凋をおこしたキュウリも前日まで萎凋のおこっていないキュウリと同様旺盛な生育をしていた。

うちに葉が緑色を残したまま枯死する(図1)。このような萎凋は菌、線虫、昆虫などによる障害によるものではなく、急性萎凋症と呼ばれて区別されている⁹⁾。

(1) 急性萎凋をおこしたキュウリの葉内水分

圃場に生育するキュウリを用いて検討したところ、急性萎凋をおこしたキュウリの葉の水ポテンシャルは萎凋程度の大きい葉ほど低く、葉内水分が減少することによって萎凋がおこっていることがわかった⁶⁾。土壌水分が低下すると下位の葉から黄化しつつ枯死していく。しかし、急性萎凋をおこしたキュウリでは葉の萎凋程度と葉の水ポテンシャルには上位の葉と下位の葉とで大きな違いはなく、葉の枯死も緑色を残したまま急激におこり、土壌水分が低下した場合は著しく異なった。

葉の拡散抵抗は萎凋した葉ほど大きいので、葉の萎凋を引き起こす葉内水分の減少は蒸散による葉からの水分損失が大きいことによるのではなく、葉への水の供給が著しく低下する、いいかえると植物体内における水の通導抵抗が著しく大きくなるためであることになる⁶⁾。

(2) 急性萎凋をおこしたキュウリの水の通導抵抗

根から葉までの水の通導抵抗は、急性萎凋のおこっていないキュウリに比べて、急性萎凋がおこり著しく萎凋したキュウリでは10倍以上、萎凋程度の小さいキュウリでも3~4倍であった⁷⁾。

急性萎凋をおこしたキュウリの水の通導抵抗の大きくなっている部位を検討した。その結果、急性萎凋のおこっていないキュウリの茎では各部位とも水の通導抵抗は小さかったのに対して、急性萎凋をおこしたキュウリでは第2節直下から胚軸下端の部位の水の通導抵抗が著しく大きく、この部位の水の通導抵抗は萎凋程度が大きく、葉の水ポテンシャルが大きく低下した個体ほど大きかった(表-1)。そしてこの茎基部の水の通導抵抗の増加は全抵抗の増加分にほぼ匹敵していた。以上の結果は急性萎凋をおこしたキュウリの葉内水分の著しい減少が茎基部における水の通導抵抗の著しい増加によっておこっていることを示している。

(3) 茎の水の通導抵抗の増加要因

急性萎凋をおこしたキュウリの茎の導管には、これまでに多くの報告が

表-1 急性萎凋をおこしたキュウリと萎凋のおこっていないキュウリの茎各部位における水の通導抵抗 (MPa s cm⁻³)¹⁾ (平沢ら 未発表)

急性萎凋の有無	2節直下 胚軸下端	4節直下 2節直下	6節直下 4節直下	8節直下 6節直下	10節直下 8節直下	14節直下 12節直下	18節直下 16節直下
無	1.57 (15.5) ²⁾	0.23 (6.5)	0.20 (9.0)	0.32 (12.0)	0.64 (13.0)	0.75 (15.0)	1.44 (13.5)
(中) ³⁾	14.40 (20.5)	0.16 (9.5)	-	1.41 ⁴⁾ (17.5)	-	-	0.19 ⁵⁾ (17.5)
有	(大) 423.53 (18.0)	1.38 (8.6)	0.50 (10.4)	0.80 (12.5)	1.06 (13.5)	1.57 (13.5)	1.64 (13.5)

1) 茎の各部位を切り出し、下端に0.012MPaの水圧をかけ、他の切断面から出てくる単位時間当たりの水の量(E)を測定した。切り出した茎の水の通導抵抗(R)は次式より算出した。

$$R = 0.012/E$$

- 2) 測定に供した茎の長さ(cm)。3) 萎凋程度。4) 7節直下から5節直下の茎の部位。5) 20節直下から18節直下の茎の部位。

あるように⁹⁾、チロシスの形成が認められる(図2)。導管がこのようなチロシスによって閉塞されていればそれだけ水の通導が悪くなると考えられる。そこで、チロシスによる導管の閉塞程度を表わす指標として、導管の全横断面積に対するチロシスによって占められている導管面積の割合(以下導管の閉塞率という)を求めたところ、萎凋の認められなかったキュウリでは茎の部位によって導管の閉塞率に違いは認められなかったが、急性萎凋のおこったキュウリでは、胚軸における閉塞率が他の部位に比較して明らかに高かった(表-2)。そして、胚軸における導管の閉塞率の大きいキュウリほど茎基部の水の通導抵抗が大きい傾向が認められた^{6,7)}。

以上のことから、急性萎凋においてキュウリが萎凋するのは、茎基部にチロシスが形成され、これによって茎基部の水の通導抵抗が大きくなり、葉への水輸送が著しく減少することによって葉内水分が減少し、萎凋するものと考えられた。



図2 急性萎凋をおこしたキュウリの木部導管に形成されたチロシス (平沢ら, 1991)

表-2 急性萎凋をおこしたキュウリと萎凋のおこっていないキュウリの茎各部位におけるチロシスによる導管の閉塞率 (%)¹⁾の比較 (平沢ら 未発表)

急性萎凋の有無	胚軸中央部	2節直下	4節直下	8節直下
無	7.7	4.1	2.0	3.8
有 (中) ²⁾	28.3	7.2	5.7	1.9

1) 導管全断面積に対するチロシスによって占められている導管面積の割合 (%). 2) 萎凋程度.

3. チロシスの形成に関わる要因

急性萎凋は曇雨天が数日間続いた後、あるいは排水不良の圃場に多く発生するなど、根系の発達や根の生理的活性が低下する条件下で発生しやすいことが経験的に知られている。急性萎凋がおこる過程を詳細に観察したところ、急性萎凋がおこるキュウリでは、萎凋がおこる前に、必ず根の能動的吸水能力が低下し、日中気孔開度が小さくなっていることがわかった。これらに基づくと、チロシスの発生に関してつぎのような過程が考えられる。すなわち、(i) 多湿、低日射条件に生育したり、排水不良の圃場などに生育して根の吸水能力の劣るキュウリが、晴天で日射が強く蒸散の著しく盛んな条件におかれると、蒸散と吸水の不均衡が生じて、葉と茎の木部の水ポテンシャルが大きく低下する。(ii) 茎の木部の水ポテンシャルがある値以下に低下するとチロシスが形成され、茎基部の導管の一部が閉塞して水の通導抵抗が増加する。(iii) このように一度チロシスが形成されて茎の水の通導抵抗が増すと、正フィードバックによって茎の木部の水ポテンシャルは一層低くなってチロシスの形成がさらに進み、水の通導抵抗が一層大きくなる。

この仮説を検討するため、晴天日の早期に前日まで萎凋の全く認められ

表-3 根系の一部切断が葉の水ポテンシャルと茎基部の水通導抵抗に及ぼす影響 (ポットに生育するキュウリ)¹⁾ (平沢・荒木 1993)

	葉の水ポテンシャル (MPa)	水の通導抵抗 ²⁾ (MPa s cm ⁻³)
無処理	-0.27±0.08	4.8±1.8
根切断	-1.06±0.08	156.8±46.2

- 1) 晴天日の早朝に根を1~2本残し、他の根はすべて基部で切除した。日中に葉の水ポテンシャルを測定した後に茎を採取し、水の通導抵抗を測定した。
- 2) 2節直下から胚軸下端までの茎の抵抗。

ない健全なキュウリを用い、根系の一部を残して他は基部から切断し、4～5時間直射光下において葉の水ポテンシャルを低下させた。その結果、葉の水ポテンシャルの低下した個体で茎基部の水の通導抵抗が大きくなり(表-3)、茎基部の水の通導抵抗と導管におけるチロシスの形成は多くの根を切断し、葉の水ポテンシャルの低下した個体ほど多く認められた^{6,7)}。

4. 生育条件、ウイルス感染の有無とチロシスの形成

(1) 生育条件

急性萎凋は多窒素条件や低照度条件に生育したキュウリで発生が多い。これには多窒素条件や低照度条件で生育した植物は茎葉部に比較して根系の発達が劣ることに加えて、茎の水ポテンシャルの低下に対するチロシス形成の程度も異なる可能性が考えられた。そこで、前述と同様に根系の一部を切断し、茎葉部の水の通導抵抗を比較したところ、多窒素・低照度条件に生育したキュウリは窒素の少ない条件に生育したキュウリに比較して、葉の水ポテンシャルの低下に伴う茎葉部の水の通導抵抗の増加程度が大きかった^{3,7)}。

(2) ウイルス感染

急性萎凋をおこしたキュウリの多くにキュウリモザイクウイルス(CMV)、ズッキーニ黄斑モザイクウイルス(ZYMV)、カボチャモザイクウイルス(WMV2)などのウイルスが単独または混合感染していること、これらのウイルスを接種したキュウリには急性萎凋がおこることが認められている^{11,12)}。しかし、急性萎凋をおこしたキュウリ、萎凋していないキュウリなど多くのキュウリを用いてウイルス感染の有無を検討したところ、急性萎凋のおこった個体の多くにこれらのウイルスが検出されたが、萎凋していない個体にもウイルスが感染しており、さらに、急性萎凋のおこった個体でもウイルスが検出されないものがあつた^{5,8)}。したがって、急性萎凋の発生はウイルス感染だけで説明することができないことになる。このことから、急性萎凋は葉の水ポテンシャルの低下によって発生し、多窒素、低照度などの条件と同様にウイルス感染によって助長されると仮定し、CMVとZYMVを混合接種して、ウイルス感染が葉の水ポテンシャルの低下に

伴う茎のチロシス形成と水の通導抵抗の増加に及ぼす影響を検討した。その結果、ウイルスを接種し、ウイルスが感染したキュウリの中には、葉の水ポテンシャルが低下すると、チロシスの形成と茎の水の通導抵抗がウイルスを接種しなかったキュウリに比較して著しく増加した個体が認められた^{5,8)}。

5. キュウリの急性萎凋の発生過程

以上のキュウリの急性萎凋に関する検討結果から、キュウリの急性萎凋の発生過程は次のように考えられる。すなわち、収穫期のキュウリが長雨や多窒素、低照度条件あるいは排水不良の圃場に生育すると、根の生理的活性が低下したり、茎葉に比べて根系の発達が劣り、茎葉部の蒸散能に比較して相対的に吸水能力が低下する。このようなキュウリは晴天日には蒸散に吸水が追いつかなくなると葉ひいては茎の水ポテンシャルがより大きく低下し、茎基部の導管にチロシスが形成される。この時、多窒素、低照度条件に生育したキュウリ、ウイルスに感染したキュウリではより多くのチロシスが形成されることになる。チロシスが一度形成されると葉と茎の水ポテンシャルの低下、チロシスの形成、茎の水ポテンシャルの増加が個体が枯死するまで正のフィードバックで進む。多窒素、低照度条件に生育したキュウリ、ウイルスに感染したキュウリではチロシスが形成され易いので、茎葉の水ポテンシャルの低下と葉の萎凋はより急激に進むことになる⁸⁾。

6. おわりに

水稻の白穂は穂首の水の通導抵抗の著しい増加によっておこり²⁾、白穂発生品の品種間差にはこの水の通導抵抗の増加程度の相違が関係する¹⁴⁾。そしてこの水の通導抵抗の増加はチロシスによる導管の閉塞ではなく、導管内に気泡が発生することによっておこるらしい¹³⁾。ダイズなど他の急性萎凋の発生要因については今後検討しなければならないが、キュウリの急性萎凋、水稻の白穂はいずれも茎の水の通導抵抗の著しい増加が発生要因である。植物の茎葉への水供給の最も大きな制限要因は、通常は水が土壌か

ら根の木部に入るまでの吸水過程にあると考えられている。しかし、場合によってはこのように茎の水の通導機能の著しい低下が問題となることがある。茎の水の通導機能の低下は土壤水分が著しく低下した時におこる問題として、導管内での気泡の発生に着目して検討されている^{1,15)}。そしてどの程度の乾燥条件まで茎の水の通導機能が低下しないでいられるかが作物や樹木生産だけでなく、植物種の分布にも重要な影響を及ぼすので、この問題は最近注目されている^{1,4,15)}。上述の筆者らの検討結果は、水ストレスによっておこる導管の閉塞には気泡による閉塞の他にチロシスによる閉塞があること、そして茎の水の通導機能の著しい低下は、土壤水分が著しく低下した時だけでなく、土壤水分が十分ある条件でもおこりうることを示している。また、植物体の水ポテンシャルが土壤水分が大きく低下した時ほどに低下しなくても、茎の水の通導抵抗が著しく増加することは、水の通導抵抗の増加と関係する茎の性質が生育条件の影響を大きく受けることを示唆している。すなわち、わが国のような湿潤な気候条件では、生育条件が湿潤であるがゆえに、時折やってくる比較的乾燥する条件に耐えることのできない性質を植物がもつことになるかも知れない。どのような条件でも導管の閉塞がおこらず、安定して生産をあげ得る作物を育成していくためには、チロシスや気泡の発生機構、そしてこれらの発生に関係する茎の性質を明らかにしておく必要があるが、これらについては現在不明な点が多い。地上部と地下部の水環境にも着目して今後検討を進めていきたいと考えている。

参考文献

- 1) Borghetti, M.J., Grace, J. and A. Raschi (1993) Water Transport in Plants under Climatic Stress. Cambridge University Press. Cambridge
- 2) 後藤 勇, 平沢 正, 石原 邦 (1991) 日本作物学会関東支部会報, **6**: 21-22
- 3) 加藤正広, 平沢 正, 石原 邦 (1990) 日本作物学会関東支部会報, **5**: 87-88
- 4) Lo Gullo, M.A. and S. Salleo (1993) Plant, Cell and Environ., **16**: 511-519
- 5) 箕田豊尚, 平沢 正, 御子柴義郎, 石原 邦 (1994) 日本作物学会関東支部

- 会報, **9**: 23-24
- 6) 平沢 正, 加藤正広, 石原 邦 (1990) 日本作物学会関東支部報, **5**: 85-86
 - 7) 平沢 正, 加藤正広, 石原 邦 (1991) 園学雑, **60**(別1): 258-259
 - 8) 平沢 正, 箕田豊尚, 御子柴義郎, 石原 邦 (1995) 園学雑, **64**(別1): 338-339
 - 9) 平沢 正, 荒木俊光 (1993) 農業技術体系, 土壤施肥編(追録4号), 農文協, 東京
 - 10) Hirasawa, T., Tanaka, K., Miyamoto, D., Takei, M. and K. Ishihara (1994) *Jpn. J. Crop Sci.*, **63**: 721-730
 - 11) Iwasaki, M. and T. Inaba (1988) *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* **54**: 584-592
 - 12) Iwasaki, M. and T. Inaba (1990) *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* **56**: 674-676
 - 13) 天明伸浩, 平沢 正, 石原 邦 (1994) 日本作物学会関東支部会報, **9**: 19-20
 - 14) 富所康広, 平沢 正, 石原 邦 (1993) 日本作物学会関東支部会報, **8**: 29-30
 - 15) Tyree, M.T. and J.S. Sperry (1989) *Annu. Rev. Plant Phys. Mol. Bio.*, **40**: 19-38

水環境に対する根の適応機構

—— 水分屈性 ——

高橋 秀 幸

陸上植物の乾燥に対する適応戦略は多様である。根の伸長方向の制御も、植物が乾燥という厳しい環境の下で生存するために必要な生存戦略である。その根の伸長方向の制御には、重力屈性が重要な役割を演じている。一方、植物の根が伸長方向を制御するために、水分の多少を感知する能力を持つことも古くから指摘されており、根は一般に正の水分屈性 (hydrotropism) を示して多湿側に屈曲成長すると考えられてきた (高橋, 1992; Takahashi, 1994; Takahashi and Suge, 1994)。これらの植物の能力は、水生植物が陸上植物へと進化するとき、生物にとって臨界的な水環境との戦いの中で獲得されたものと考えられる。しかし、根の水分屈性に関しては、これまで実験的証拠に欠けていたというのが実状である。乾燥という臨界環境で生存するために、植物が自然界でどのようにして根の水分屈性を機能させるのか、また水ストレス回避のために水分屈性がどの程度の役割を担っているのかなどの詳細はわからないが、近年、われわれは根の水分屈性の存在を証明することに成功している。

1. 水分勾配の形成

ザックスやダーウィンが 19 世紀に行った実験では、とくに厳密な湿度制御は行わず、底が篩でできた容器に湿ったオガクズのようなものを詰めて種子を播き、それを空气中に一定の角度で吊して、底から空气中にでてくる根が、そのまま真っすぐ空气中を下方に伸長するか、湿ったオガク

ズの入った篩に沿って屈曲して伸長するかを調べる (Darwin, 1881; Sachs, 1887)。今世紀に入って Hooker (1915) は、硫酸を密閉した容器の中に湿った濾紙を吊してルピナスの根に水分勾配を与えることによって、自作の湿度計を用いて、水分屈性の発現に必要な水分勾配を測定している。また、ガラスの容器に湿度をあらかじめコントロールした空気を通風し、そこに植物体が入った鉢や芽生えをおく方法もある (Jaffe et al. 1985; Takahashi and Suge, 1991)。

鉢の場合には湿った培土と通風される空気との間に湿度差が生じるが、芽生えだけを固定する場合には、そのそばに湿ったガーゼを巻き付けるなどして水分供与体をおく必要がある。さらに、水分勾配をよりの確にコントロールする方法として、閉鎖型の容器内に水供与体とともに各種の飽和塩溶液をおくと、いろいろな程度の水分勾配を形成することができる (Takahashi and Scott, 1993; Oyanagi et al, 1994)。たとえば、湿らしたガーゼを何重にも巻いた水供与体の横数ミリメートルのところに根を垂直におくと、炭酸カリウム (K_2CO_3) の飽和塩溶液をおいた場合、根端部の湿度勾配を約 $1\% \text{ RHmm}^{-1}$ 前後にコントロールすることができる。トウモロコシ、コムギ、エンドウ (*ageotropum*) の根は、この約 $1\% \text{ RHmm}^{-1}$ の水分勾配を感知して正の水分屈性を発現する。その水分屈性の程度は、一定の範囲内では水分勾配の強度に比例する。最近は、浸透圧の異なる2個の寒天小片を根の先端に左右均等にのせて、根に水ポテンシャル勾配を与えて水分屈性を誘導する方法も確立されている (図1)。

2. 水分屈性と重力屈性の相互作用

根の水分屈性は、地球上では、重力屈性によってマスクされてしまうことが、重力屈性を欠損したエンドウ突然変異体 (*ageotropum*) の根が顕著な水分屈性を発現することからわかる (Jaffe et al., 1985; Takahashi and Suge, 1991)。その重力屈性の水分屈性に対する干渉の程度は、植物の種類によって異なる。つまり、正常なアラスカエンドウの根は突然変異体の根が水分屈性を顕著に発現するような水分勾配下でも重力屈性を強く発現し、水分屈性を発現しにくい (Takahashi and Suge, 1991; Takahashi et

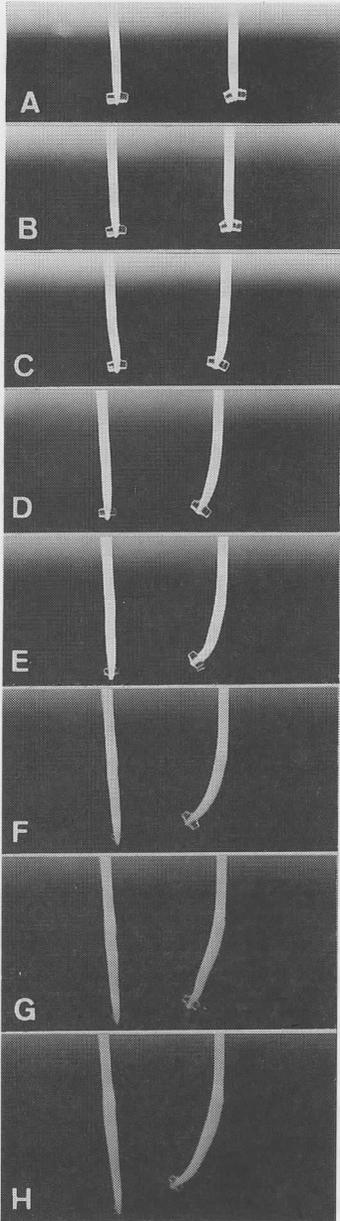


Fig. 1 Time-course of hydrotropic curvature caused by a water-potential gradient in the root cap of *ageotropum* pea mutant. Photographs show root curvature every 2 h after the application of agar blocks. Root on the right; an agar block containing sorbitol (-1 MPa) was applied to the right side of the root cap and a control plain agar block to the left side. Root on the left; control plain agar blocks were symmetrically applied to both sides of the root cap. (Takano *et al.*, *Planta* 197: 410-413, 1995)

al., 1992)。このとき、アラスカエンドウの根も、水平においてクリノスタットといわれる装置で低速で回転させて重力屈性を消去すると、強い水分屈性を示すようになる(高橋ら, 1995)。また、根端を下にして垂直においたトウモロコシの根は水分勾配に強く反応するが、根を水平に近付けることによって重力刺激量を大きくすると、根は水分屈性よりも重力屈性を強く発現するようになる (Takahashi and Scott, 1991)。さらに、根を垂直において水分勾配の強さを変えると、重力屈性を強く発現する根ほど、水分屈性の発現にはより大きな水分勾配を必要とする (Takahashi and Scott, 1993)。遺伝的に重力屈性の程度の異なるコムギ品種の根の水分屈性も調べられ、いくつかの反応型に分類されている (Oyanagi et al., 1995)。すなわち、ある品種群では水分屈性を強く発現して重力屈性が弱く、また、ある品種群では重力屈性を強く発現して水分屈性が弱い。しかし、品種の中には、重力屈性および水分屈性のどちらも比較的弱いものが存在する。このように、水分屈性の発現は確かに重力屈性の強さによって影響されるが、それが必ずしも重力屈性だけによって決まるものではない。

3. 水分屈性発現のメカニズム

1) 水分勾配の感受

水分屈性のための水分勾配は根冠によって感受され、その情報が伸長域に伝達されて偏差成長を起こすことが、根冠部を切除すると水分屈性がみられなくなる実験結果などから示されている (Jaffe et al., 1985; Takahashi and Suge, 1991; Takahashi and Scott, 1993)。一方、屈曲する伸長域に水分勾配を与えても正の水分屈性は誘発されない (Takano et al., 1995)。この根の水分屈性が根冠部における偏差的な水ストレスによるものかどうかを調べるために、1 mm³ほどの大きさの寒天片に各種濃度のソルビトールを含ませ、それを根冠あるいは伸長域の片側に付着させて根端の片側にいろいろな程度の水ストレスを与えることができる (Takano et al., 1995)。このようにして根冠部の片側にソルビトール寒天片、その反対側にコントロール寒天片をのせた場合、0.5-1.5 MPa のソルビトールによって、根はソルビトール寒天片とは反対側に屈曲する。また、比較的高濃度のソ

ルピトール(2 MPa)を含んだ寒天片を根の伸長域の片側に与えた場合、根は逆にソルピトール寒天片側にわずかに屈曲する。これは根の水分屈性が、根冠による水ポテンシャル勾配の感受を介して発現するためである。

2) 偏差成長

根の水分屈性は伸長域における偏差成長の結果として起こるものであり、水分勾配下では低湿度側に比較して高湿度側の伸長速度がより小さい(Takahashi and Suge, 1991)。この偏差成長の仕組みを明らかにするために、植物細胞の成長速度を表す成長方程式に基づいて、根の伸長部位における高湿度側および低湿度側の組織の水ポテンシャル、浸透ポテンシャル、膨圧、降伏圧、細胞壁の伸展係数が測定されている(平沢ら, 1995)。根の水分屈性では、根を適当な水分勾配下において3-4時間後にはその屈曲が認められるようになるが、この水分屈性の認められる直前あるいは直後に、根端より1-8 mmの伸長部位を含む部分を取りだし、高湿度側と低湿度側に面した側とに2分割し、それぞれの部位の水分状態と細胞の伸展係数を測定すると、低湿度側と高湿度側の間には水ポテンシャル、浸透ポテンシャル、膨圧、降伏圧の差は認められない。ところが、細胞壁の可塑的伸展係数は、高湿度側よりも低湿度側で有意に大きくなっている。これらのことは、根の水分屈性は根の伸長部の水分状態の相違によって起こるのではなく、伸長部の組織の伸展係数が相違することによって起こることを示している。水分勾配の刺激は非伸長部の根冠で感受されることから、伸長部の伸展係数を変化させるような情報が根冠から伸長域に伝達されるものとみられる。

3) シグナルの伝達

水分屈性発現における情報伝達系にはカルシウムが関与している(高野ら, 1995)。つまり、ソルピトールによる水ポテンシャル勾配や空気湿度勾配に反応して起こる根の屈曲が、カルシウムのキレート剤によって阻害され、キレート剤をカルシウムで置き換えると、根は再び水ポテンシャル勾配に反応して屈曲するようになる。カルシウム(10 mM)を含んだ寒天片を根冠の片側に与えると、ソルピトールの場合のように、根はカルシウムとは反対側に大きく屈曲する(Takahashi et al., 1992)。このとき、水分

屈性は刺激を与えて3-4時間後にみとめられるようになるが、カルシウムによる屈曲の開始は処理1時間後には明らかである。また、カルシウムによる根の屈曲は、ある程度の水ストレス条件下で促進される（高野ら、1995）。すなわち、カルシウム寒天片を不均等に処理する直前に、根を相対湿度95%前後の気中に1-4時間おくと、長時間気中におかれた場合の方が、その後のカルシウムによる屈曲が大きい。同じように、根の先端を色々な濃度のソルビトール溶液で1時間処理した後にカルシウム寒天片を与えると、カルシウムによる屈曲が促進される。その場合の最適ソルビトール濃度は0.05 MPaである。

次に水分屈性発現に対するカルシウムチャンネルブロッカーとカルシウムイオノフォア的作用を調べると、カルシウムチャンネルブロッカーのベラパミールとニフェディピンは根の水分屈性に影響しないが、塩化ランタンは水分屈性を阻害する。この水分屈性を阻害する濃度の塩化ランタンは、根の成長を阻害することはない。また、カルシウムイオノフォアのA23187の処理は、根の水分屈性を促進する。与えたEGTAやランタンは細胞内に入り込むとは考えられないので、以上の実験結果は、アポプラストのカルシウムが細胞内に動員されることが水分屈性の発現に重要な役割を演じていることを示唆している。水分ストレスが細胞膜上のカルシウムチャンネルの開閉を制御することは十分に考えられる。

これらカルシウム・カルシウムチャンネルと偏差成長の関係は明らかでないが、根冠による水分勾配の感受は、何らかの形で根冠のカルシウムの動態に影響し、それが伸長域での偏差的な細胞壁の伸展性および屈曲を誘導するものとみられる。

参考文献

- 1) Darwin, C. (1881) *The power of movement in plants*. John Murray, London.
- 2) 平沢 正, 高橋秀幸, 菅 洋, 石原 邦 日本植物生理学会 1995 年度年会講演要旨集, p. 116. (1995)
- 3) Hooker, H.D. (1915) *Ann. Bot.* **29**: 265-283.
- 4) Jaffe, M.J., Takahashi, H. and R.L. Biro (1985) *Science* **230**: 445-447.

- 5) Oyanagi, A., Takahashi, H. and H. Suge (1995) *Ann. Bot.* **75**: 229-235.
- 6) Sachs, J. (1887) *Arb. D. Bot. Inst. Würzburg* **1**: 209-222.
- 7) 高橋秀幸 (1992) *化学と生物* **30**: 510-513.
- 8) Takahashi, H. (1994) *Plant and Soil* **165**: 301-308.
- 9) Takahashi, H. and T.K. Scott (1991) *Plant Physiol.* **96**: 558-564.
- 10) Takahashi, H. and H. Suge (1991) *Physiol. Plant.* **82**: 24-31.
- 11) Takahashi, H., Scott, T.K. and H. Suge (1992) *Plant Physiol.* **98**: 246-252.
- 12) Takahashi, H., Brown, C.S., Dreschel, T.W. and T.K. Scott (1992) *Hort Science* **27**: 430-432.
- 13) Takahashi, H. and T.K. Scott (1993) *Plant, Cell & Environ.* **16**: 99-103.
- 14) Takahashi, H. and H. Suge (1994) *Advances in Space Biology and Medicine Vol. 4*, JAI Press Inc., pp. 127-158.
- 15) 高橋秀幸, 高野 守, 藤井伸治, 菅 洋, 山下雅道 (1995) 第12回宇宙利用シンポジウム (宇宙科学研究所), pp. 60-63.
- 16) Takano, M., Takahashi, H., Hirasawa, T. and H. Suge (1995) *Planta* **197**: 410-413.
- 17) 高野 守, 高橋秀幸, 菅 洋 (1995) 日本植物生理学会 1995年度年会講演要旨集, p. 116.



中国半乾燥地における砂漠化 のメカニズム

根本正之

はじめに

中国の穀物生産地は1994年、土地の砂漠化や商品作物生産地への転換あるいは工場用地への転用によって71万haも減少した。新たに作られた耕地を加えても約40万ha減ったことになる(1995年2月11日:朝日)。我々の研究・調査の対象地域である内蒙古自治区奈曼旗でも事情は似ており、1963年に8万人だった人口は1990年には13万7千人に増加したが、耕地面積は確実に減少している³⁾。奈曼旗を含むLandsat TMとMSSデータを解析した結果、集落近傍や道路沿いでは植林などで緑の回復がみられる反面、集落から離れた場所では天水畑の過耕作あるいは草原における放牧家畜頭数の増加によって砂漠化が進行している²⁾。

砂漠化の過程と臨界環境

砂漠化とは、さまざまな負の環境因子が働いて当該地域に分布する植物の生育を抑制、ついには枯死するまでに至らしめる現象であり、その結果として砂漠のような土地が出現する。

負の環境因子として水分の欠乏、土壌表層の流動化あるいは塩類の集積等をあげることができる。このようなストレス条件下にある脆弱な土地では、放牧や耕作などがそれほど過度でなくても砂漠化土地となる。また各々の負の環境因子に対する耐性が小さい種ほど臨界環境に近づきやすい。そ

して総べての種が生育の臨界点を過ぎれば、ほどなくして植物が跡形もなく消失し、あたかも砂漠のような土地となる。

本稿では、まず奈曼旗地域の砂丘植生におよぼす放牧の影響と、砂丘の代表的な草種の成長特性、次いで砂地の植生が減少し砂漠化する過程でみられる緬羊と植生の相互作用を緬羊放牧試験に基づいて解析した結果について述べる。

家畜放牧が砂丘植生におよぼす影響

奈曼旗は内蒙古東部の半乾燥地に広がる科尔沁砂地の東縁に位置する。我々は中国科学院蘭州沙漠研究所の奈曼沙漠化研究施設 (N42° 58', E120° 43', 海拔 405 m) 周辺で同研究所と共同で砂漠化に係わる調査と試験を行っている。当地の年平均気温は 6.4°C で、年降水量は 372 mm であり、そのおよそ 70% は 6 月から 8 月に集中している。年間を通して風が強く、特に 4 月は砂を吹き飛ばす 5 m/sec 以上の強風の日が多く、それが砂漠化促進の一要因であるとされている。土壤の母材は第 4 紀に堆積した砂と泥からなる湖沼堆積物であり、植生型は草甸草原に分類される⁹⁾。

奈曼旗には大小さまざまな砂丘が連続して分布している。この砂丘地帯の地下水位は比較的高く、砂丘と砂丘の間の丘間低地には雨季にしばしば水溜とそれを囲むように湿地帯が形成される⁹⁾。砂丘の水分条件は地下水面からの距離によってほとんど決まっているため⁹⁾、砂丘の上部と下部では土壤の含水量が著しく異なり、それに適した植生のすみわけが観察される。そこで砂丘に形成された生態的に明らかに異なる植生が、放牧圧がかかることで、どのように変化するかを調査した。

集落近くの緬羊などの放牧が頻繁に行われている砂丘と、約 25 年禁牧している砂丘の植生を比較した。その結果、過放牧条件下では砂丘全体の現存量が低下、砂丘中部より上は大半が裸地となり、植生は斑点状に残るにすぎないことがわかった(図 1)。図 1 の b 地点は 50% 以上が裸地であったが、斑点内の現存量は全調査地点中で最大であった。しかしその大半は木質化した *Artemisia halodendron* (差不噴蒿) の茎であり家畜は喫食しない。

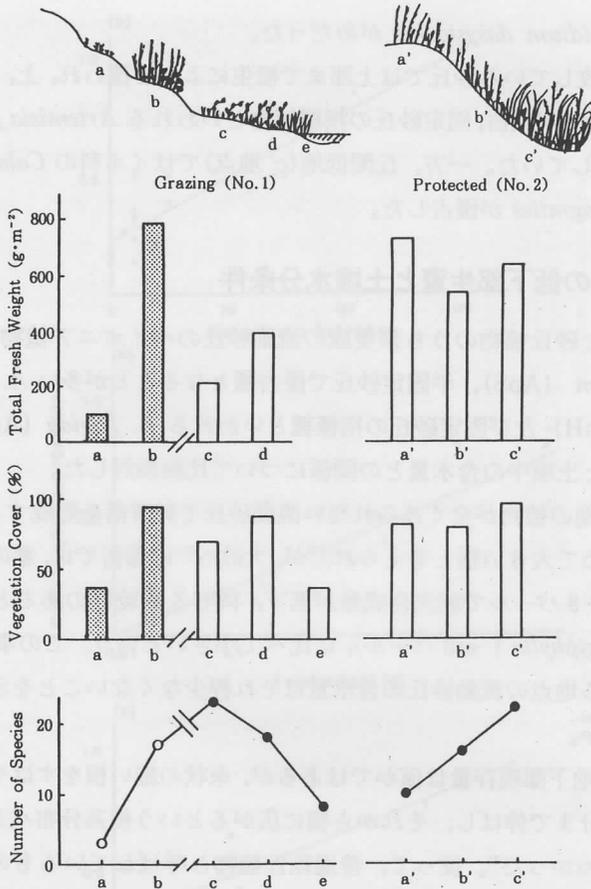


図1. 過放牧条件下にある砂丘(左)と約25年間禁牧した砂丘(右)の断面図。グラフは上から順に各地点における野草の総重量、植被率及び種数を示す。

過放牧砂丘の上部(図1のa, 以下に記したアルファベットは砂丘断面の各地点に対応する)は流動砂丘化しつつあり、局所的に *A. halodendron* が疎な群落を形成していた。完全に流動砂丘となった地点には、まれに短命植物の *Agriophyllum squarrosum* (沙米) が点在した。丘間低地のc地点には家畜の嗜好性に劣る *Senecio argunensis* や *Carex* sp. の優占度が高かった。c地点より低く湿っていたd地点では *Poa* sp., *Plantago asiatica*,

Aneurolepidium dasystachys がめだった。

25年禁牧している砂丘では上部まで植生によって覆われ、上、中部は *A. halodendron* が優占、固定砂丘の指標植物といわれる *Artemisia frigida* (冷崇) も生育していた。一方、丘間低地(c'地点)ではイネ科の *Calamagrostis pseudophragmites* が優占した。

砂丘植物の低下部生育と土壤水分条件

上述した砂丘植物のうち奈曼旗の流動砂丘のパイオニア植物である *A. squarrosus* (ApS), 半固定砂丘で優占種となることが多い *A. halodendron* (AmH) 及び固定砂丘の指標種といわれる *A. frigida* (AmF) の地下部生育と土壤中の含水量との関係について比較検討した。

ApS は他の植物が全くみられない流動砂丘で純群落を形成するため、耐乾性が極めて大きい種と考えられたが、大政ら⁹⁾の報告では、葉の水ポテンシャルが -8 パールで純光合成量が低下、同じく耐乾性のあるといわれる *Bassia dasyphylla* (-18 パール) に比べて小さいという。この事実は ApS の生育する地点の流動砂丘の含水量はそれ程少なくないことを示しているのだろうか。

ApS の地下部現存量は僅かではあるが、糸状の細い根をすばやく有効水のある部分まで伸ばし、それから横に広がるという根系分布パターンを示すことがわかった⁵⁾。従って、普通乾性植物と呼ばれているものと異なり T/R 比が極めて大きい、効率的に水分を吸い上げているようだ。

砂丘では大小さまざまな ApS 個体をみることができる。草高が同じでも、よく分枝を発達させた個体から細長い個体まである。ところで草高を根の深さで除した値と、当該個体の全重には高い相関が認められた(図2)。草高は経時的にどの個体も一樣に伸長すると仮定すれば、有効水が地表面近くにある地点程、個体の生育がよいことになろう。

塩化ビニール管の長さを変えて地下水面を調節した室内実験の結果、ApS は地下水面近くで根量を増大させる傾向が実証された⁹⁾。ApS は短命植物だから、流動砂丘に侵入できても固定効果はあまり期待できないだろう。ところで多年生雑草である AmH は、砂丘固定植物として、現地の農

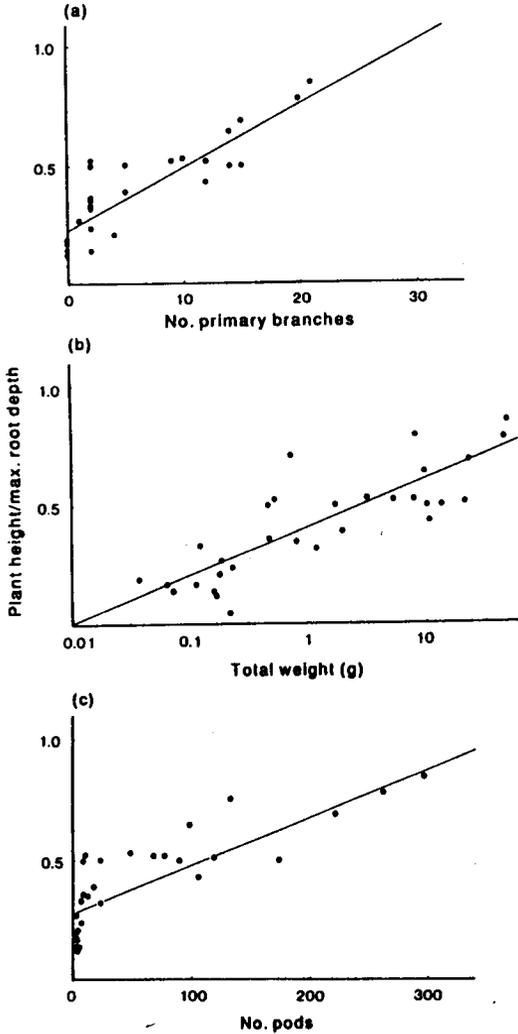


図2. 沙米 (*Agriophyllum squarrosum*) の草高/最大根長と一次分枝数 (a), 全重量 (b) 及び来数 (c) との関係 (Nemoto *et al.* 1992)

民達が注目している。AmH は半固定砂丘に定着できるのであるが、同じヨモギ属植物の AmF は砂丘が固定しないと侵入できないのは何故であろうか。塩化ビニール管による実験では、AmH は AmF に比べて地中深くまで

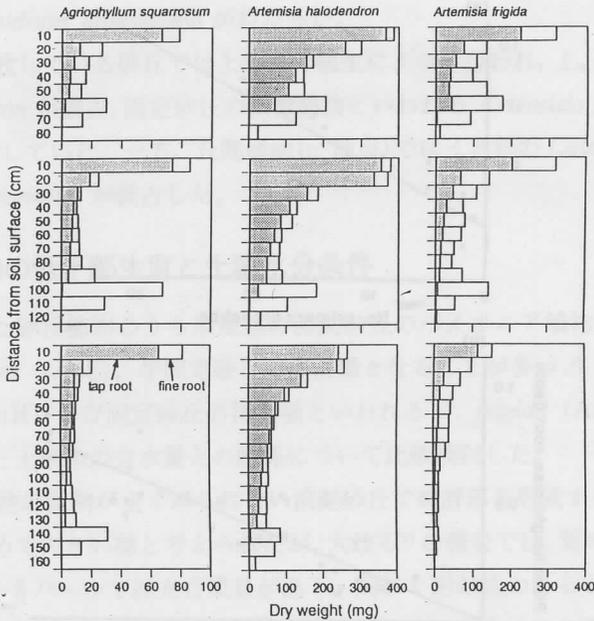


図3. 地下水面までの深度が異なる塩化ビニール管を用いて生育させた *A. squarrosum*, *A. halodendron* 及び *A. frigida* の根系分布。上から地下水面の深度はそれぞれ 80 cm, 120 cm, 160 cm (Ohkuro *et al.* 1993)。

根系を伸ばし、しかも深部で根系を広げていることが判明した (図3)⁸⁾。AmH は AmF と比べて土壤中の水分を吸収するための根系を効率的に広げることができるので水分条件の厳しい半固定砂丘でも生存が可能なのであろう。今後は発芽、光合成・蒸散能などの生理生態的特性や形態的特性についても明らかにしていきたい。

放牧試験による適正放牧強度の推定

草原の生産力を無視した家畜頭数の増加は奈曼旗においても砂地草原における土地荒廃・砂漠化の大きな原因となっている。これまでの伝統的な放牧管理技術では急増した家畜を適正に飼育することはむずかしい。従って草原の砂漠化を抑えるためには、放牧頭数をそれ以前のレベルまで減らすか、あるいは草原の土地生産力を向上させる必要がある。いずれにして

も現時点での当該草原の適正放牧強度を明らかにすることが先決であろう。このような背景から日中合同研究プロジェクトチームは緬羊の放牧強度を異にした試験地を奈曼旗の科尔沁砂地草原に造成、放牧試験を開始した⁷⁾。

試験区は大きな起伏のない砂地に設定、ha 当たりの緬羊頭数をそれぞれ 6 頭 (重牧)、4 頭 (中牧)、2 頭 (軽牧) とし成緬羊を供試した。放牧期間は 1992 年より 1995 年まで毎年 6 月 1 日より 9 月 20 日とした。また緬羊を放牧しない禁牧区を隣接地に設けた。

放牧試験の 4 年目の結果

当地では 5 月下旬頃から野草の生育が始まり、8 月下旬に現存量のピークを抑える。3 年目の 8 月下旬の時点で禁牧区の現存量は 316 g/m^2 に達した。一方、重牧区でも野草は禁牧区と同様のパターンで生育したが、8 月下旬の現存量は僅か 31 g/m^2 にすぎなかった。

重牧区の砂漠化は顕著で、裸地面積が増大した。しかし試験区の全体が一樣に裸地化したわけではなかった(図 4)。周辺よりいくらか高い場所や、平坦部でも所々にパッチ状に裸地が形成された。裸地となっていない場所には草丈の低い一年生草のイネ科草の *Chloris virgata* が優占していた。この草は緬羊が好まないうえ、繁殖力が強いため残存したのであろう。従って重牧区は裸地とはなっていない場所でも牧養力は極めて低いことが予測できる。1995 年 8 月の調査では重牧区の 80% が裸地化、一部では砂丘の流動化がみられた。放牧開始から 6 月中旬まではあまりに野草が不足していたので朝・夕 30 分間、 0.5 kg 生重/時/頭のソルガムを与えた。放牧試験は野草が完全に消失する来年度まで行う予定である。他方、軽牧区や禁牧区ではイネ科の *Pennisetum* やマメ科の *Lespedeza* が優占していた。

上述したように放牧圧が高まるにつれて処理区全体の現存量は減少、さらに群落の種組成も変化した。草種によって放牧圧に対する反応は異なり、1) 禁牧区で顕著に現存量が増加する *Colispermum* タイプ、2) 放牧圧が比較的小さいと優占する多年生イネ科の白草タイプ、3) ある程度放牧圧が高まってくると優占種となる一年生イネ科のエノコログサタイプ、そし

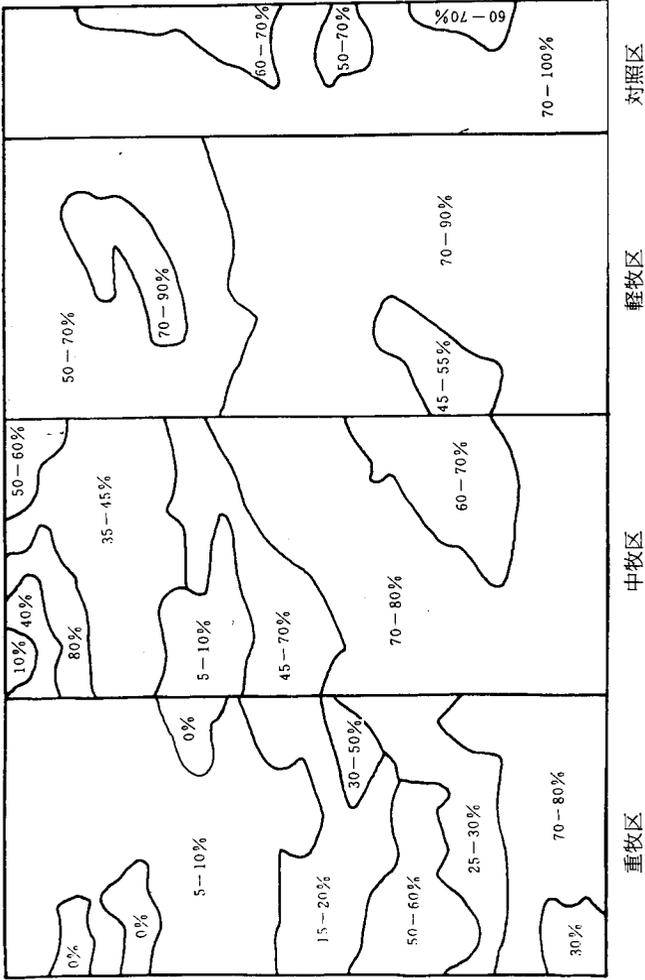


図4. 各放牧処理区における植被率の空間分布図。
 図中のパーセントは植被率を示す (1994年9月23日)。

て 4) 綿羊が喫食しないため重牧区で増加した *Chloris* タイプに分けることができた。

野草の生育阻害は家畜による喫食のみならず、踏みつけによる影響も大きい。踏みつけは根系の発達を阻害するし、踏み固められたために降雨の浸透性が悪くなる¹⁰⁾。本試験区でも重牧区の平坦部では踏みかためによって裸地ができた。放牧強度が高まると地下部現存量も減少することがわかった(図5)。3年目になると重牧区の地下部現存量は軽牧区の僅か12%しかなく、根系の発達深度も浅くなる傾向がみられた。以上のようにしてさまざまな形で野草の生育が抑制され、地上部現存量が低下すると、それを喫食する綿羊の体重にも影響が出てきた。重牧区の綿羊はほとんど体重の増加が認められなかった。

本試験の結果から、この砂地草原では平坦部で4頭成綿羊/ha(中牧区)まで許容できよう。しかし僅かでも起伏のある場所では2頭成綿羊/ha(軽牧区)が妥当なようである。この試験区のように比較的平坦な場所でも微細な地形や土壌の違いを反映して群落の種組成は変化するし、砂丘と丘間低地では明らかに異なることは前述したとおりである。1996年度からは砂

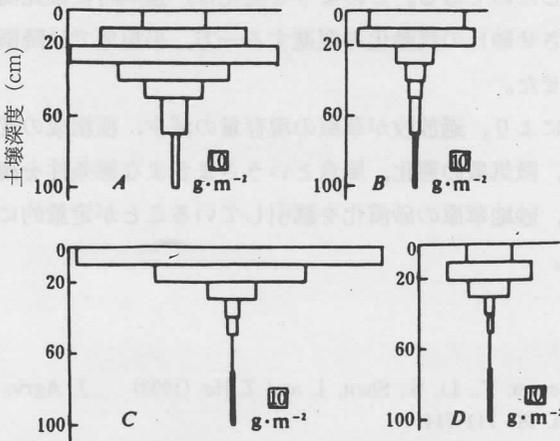


図5. 各放牧処理区で生育した野草の地下部現存量の垂直分布。各区に出現した野草の合計値を示す。

A: 対照区, B: 軽牧区, C: 中牧区, D: 重牧区

漠化した草原を禁牧して野草の再生を計るだけでなく、施肥と灌漑によってどの程度まで牧養力が向上するか地形条件をも加味して試験を行う予定である。

以上、中国半乾燥地における砂漠化のメカニズムを植生動態の視点から、我々が現在行っている放牧試験の結果に基づいて考察してきた。我々のプロジェクトでは試験地の微気象についても併せ観測を行ってきた。そこで最後に植生と微気象の両面から砂地草原における砂漠化過程を既述しまとめとしたい。

過度の放牧は草原の現存量を減少させると同時に、綿羊の踏圧増大によって土壌高度を高めたが、これは草原の熱収支や微気象に大きく影響することがわかった。重牧区では植生の減少によりアルベド A_d が増大したが、まとまった降雨の場合、土壌が硬化したことで降雨の地下浸透が妨げられた地表面を暗褐色化させた結果、アルベドが一時的に減少した。これにより純放射量 R_n が増大し、増大したエネルギーは土壌表層に滞留した降雨の蒸発に使われた。

綿羊の踏圧増大は微気象の変化をもたらしただけでなく微地形にも影響を与えた。平坦地では土壌を硬くしたが、傾斜地や比高の高い部分では砂地化を促進したのである。このような変化は、強風時には比高の高い部分の砂を飛散させ砂丘の流動化を促進する一方、平坦地では降雨の地下浸透量を減少させた。

放牧試験により、過放牧が草原の現存量の減少、種組成の変化、土壌物理性の悪化、微気象の悪化、風食というさまざまな悪条件を複合的にもたらすことで、砂地草原の砂漠化を誘引していることが定量的に明らかになりつつある。

参考文献

- 1) Harazono, Y., Li, S., Shen, J. and Z. He (1993) J. Agric. Meteorol. Japan, 48: 711-714.
- 2) Imagawa, T. (1995) International Workshop on Land Use System for Combating Land Degradation in East Asia. NIAES. In press.
- 3) Liu, X-M., Zhang, W., Feng, Z-Y., Skarpe, C., Pettersson, R. and M.

- Nemoto (1993) Proc. of the Japan-China international symposium on the study of the mechanism of desertification. Science and Technology Agency, Japan. 80-95.
- 4) 増田拓朗, 小林達明, 吉川賢, 森本幸裕, 小橋澄治 (1988) 緑化研究 **10**: 30-41.
 - 5) Nemoto, M. and X. Lu (1992) Ecological Res. **7**: 183-186.
 - 6) 根本正之, 魯曉雲, 李勝功, 姜銘, 劉新民 (1992) 日草誌 **38**: 44-52.
 - 7) 根本正之, 大黒俊哉, 徐斌, 趙哈林 (1994) 日草誌 **40**: 239-245.
 - 8) Ohkuro, T., Nemoto, M., Lu, X-Y., Xu, B. and X-M. Liu (1993) Proc. of the Japan-China international symposium on the study of the mechanism of desertification. Science and Technology Agency Japan. 440-445.
 - 9) Omasa, K., Natori, T. and X. Li (1995) Abstracts of Japan-China Symposium on the Desertification Mechanisms. Science and Technology Agency of Japan: Chinese Academy of Sciences. 7-3.
 - 10) Thomas, D. S. and N.J. Middleton (1994) Desertification: Exploding the Myth. John Wiley & Sons. Chichester. 67-73.

IGE シリーズ

- *印……特定のテーマ又はトピックについての説明に関するもの。
- **印……特定のテーマ又はトピックに関する最新の文献, 実験法の紹介に重点をおくもの。
- ***印……新しい可能性を求める学際的交流, 対話を試みるもの。

- No. 1* 植物の系統発生と重力反応
- No. 2* 微生物と光
- No. 3*** 水田湛水生態系の新研究 (1)
—— 遺伝情報, エントロピー則から見る ——
- No. 4** トランスジェニック植物およびオルガネラの遺伝子発現
- No. 5* エチレンの生態的役割
- No. 6* 植物の光反応機構の解析と変異株
- No. 7*** 土壌微生物アセスメントの背景 (1)
—— 検出・定量の諸問題 ——
- No. 8** イネの遺伝子発現と系統分化
- No. 9*** 生態研究と環境制御
- No. 10** 植物・微生物の光反応
—— 変異株などを用いた新しい解析法の開発 ——
- No. 11*** 水田湛水生態系の新研究 (2)
—— 化学生態学と元素の周期律 ——
- No. 12* 植物病原体の分子生態学

- No. 13* 土壤環境
—— 保全と機能の増進 ——
- No. 14*** 微生物生態と分子生物の接点
—— 環境適応を中心に ——
- No. 15* 環境変動と植物・微生物の生活
—— 紫外線を中心として ——
- No. 16* 真核微生物の環境応答と遺伝子発現
- No. 17* 植物の形質発現と環境適応機構
- No. 18** 植物の系統分化及び遺伝変異の誘導と解析
- No. 19** 窒素固定の遺伝生態
- No. 20*** 遺伝生態の諸問題
- No. 21*** 臨界環境における植物の生活

IGE シリーズ 21

臨界環境における植物の生活

発行 1996年3月
発行者 東北大学遺伝生態研究センター
〒980-77 仙台市青葉区片平2-1-1
☎022-217-5706 (共同利用掛)
印刷所 笹氣出版印刷株式会社