

合同シンポジウムおよび特別講演会

講 演 要 旨

期 日：平成11年7月17日(土)

場 所：北海道大学農学部N26講義室
(札幌市北区北9条西9丁目)

日本農芸化学会北海道支部
日本土壌肥料学会北海道支部
日本応用糖質学会北海道支部
北海道農芸化学協会

〒060-8589 札幌市北区北9条西9丁目
北海道大学大学院農学研究科内
TEL：011-706-2496/4140

平成11年度春季合同シンポジウム および特別講演会

シンポジウム (13:00~16:00)

(日本農芸化学会75周年記念シンポジウム北海道地区第1回)

「植物の一次生産能改善の可能性」

世話人および座長：(北大院農) 大崎 満

- 13:00 「開会の辞」 (日本農芸化学会北海道支部長) 葛西隆則
- 13:10 (1) 「C3植物のC4植物化の可能性」
(農水省生物研) 宮尾光恵、深山 浩、(名大) 松岡 信
- 13:50 (2) 「光合成機能改良による環境耐性植物の創成を目指して」
(奈良先端科技大院) 横田明穂
- 14:30 (3) 「呼吸と植物生育の関係制御の可能性」 (北大院農) 信濃卓郎
- 15:10 (4) 「高CO₂環境に対する植物の適応戦略 - 樹木を例に -」
(北大農演習林) 小池孝良
- 15:50 「総合討論」 (司会：大崎 満)

特別講演 (16:10~17:10)

「低リン・酸性土壌に対する植物の耐性とその機構」

(北大院農) 但野利秋

(座長：竹中 眞)

北海道農芸化学協会総会 (17:10~17:30)

(1)

C3植物のC4植物化の可能性

(農水省生物研) ○宮尾光恵、深山 浩、(名古屋大) 松岡 信

農業上有用な植物は、その光合成炭酸固定の様式から、C3植物とC4植物とに分類される。イネ、ムギ、ダイズ、イモなどを含む陸上植物の90%以上はC3植物に属している。C4植物には熱帯・亜熱帯原産のイネ科植物が多く含まれ、トウモロコシ、サトウキビなどがこれに属している。C4植物は、地球上の環境変動にともなってC3植物から進化してきたと考えられており、C4光合成回路の働きでC3植物の約2倍の光合成能力を発揮する。また、生長が速い、養分・水分の利用効率が高い、強光、乾燥、高温などのストレスに対する耐性が高い等、様々な有用形質を備えている。C3植物にC4光合成回路を付与することによって、C3植物の光合成能・物質生産能が大きく改良されるものと期待されている。

C3植物の葉肉細胞で閉じたC4光合成回路を駆動させるためには、複数のC4光合成酵素を導入する必要がある。トウモロコシ型C4光合成回路の場合、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEPC)、ピルビン酸, Pi ジキナーゼ (PPDK)、NADP リンゴ酸酵素 (NADP-ME) の最低3種類の酵素の導入が必要である。C4光合成回路付与によるC3植物の光合成能改良の可能性を考える際、水生植物クロモ (*Hydrilla verticillata*) が参考となる。クロモは、通常はC3型光合成を行うが、生育環境の二酸化炭素濃度が低下するとC4光合成酵素の発現が誘導されC4型光合成を行うようになる。重要な点は、クロモではC4型光合成に必須と考えられている光合成担当細胞 (葉肉細胞と維管束鞘細胞) の機能分化が無く、C3植物同様、葉肉細胞のみでC4型光合成を行うことである。C3植物の葉肉細胞内でPEPC、PPDK、NADP-MEを高発現できれば、クロモ同様、疑似C4光合成回路が機能するものと期待される。

C3植物にC4植物の光合成酵素の遺伝子 (C4光合成遺伝子) を導入して光合成能を増大させる試みは、植物への遺伝子導入が可能となって以来多くの研究者によって行われてきた。しかし、C3植物内でC4光合成酵素の活性をC4植物並みに高めるには至っていなかった。そこで、我々はトウモロコシのC4光合成遺伝子のプロモーター解析の結果を考慮して、導入する遺伝子を選定した。PEPCとPPDKについては、トウモロコシ遺伝子のプロモーターがイネ内で機能することがわかっていたので、トウモロコシのゲノム遺伝子そのものをイネに導入した。予想通りこの戦略は成功を収め、PEPC、PPDKそれぞれをトウモロコシと同等あるいはそれ以上にイネ内で高発現させることができた。一方、NADP-MEの場合は、ゲノム遺伝子の導入は高発現に有効ではなく、イネの *Cab* プロモーターにトウモロコシの NADP-ME cDNA を連結したキメラ遺伝子の導入で酵素の高発現に成功した。

C4光合成回路を駆動させC3植物の光合成能を改変するためには、C4光合成酵素を高発現する形質転換イネどうしを交配して、3種類の酵素を併せもつイネを作出する必要がある。しかしながら、植物の改変には必ずしも複数の遺伝子の導入が必須ではなく、単一のC4光合成遺伝子の導入で様々な形質が改変されることが明らかになりつつある。C3植物にも、活性は低いもののC4光合成類似酵素は存在しており、様々なハウスキーピング機能を担っている。このハウスキーピング機能を増強することで、多様なストレスに対する耐性が改良される可能性が示されている。

本研究の一部は、生研機構基礎研究推進事業の支援で行われた。

(2)

光合成機能改良による環境耐性植物の創成を目指して
(奈良先端科技大院・バイオ) 横田 明穂

植物の生産性は、遺伝的に決められたポテンシャルによって規定される。しかし実際の栽培現場では、このポテンシャルが十分に発揮されることはない。J. Boyerによると、ダイズの生産性は畑作環境下では、そのポテンシャルの75%以上が環境からのストレスによって発揮できないという。一方、植物が本来持っている遺伝的なポテンシャルがその植物にとって（あるいはそれを利用したい我々人間にとって）最適なものかどうか、を議論することも重要である。我々は植物生産性についてのこのような見地に立ち、とくに光合成機能に関連する生理現象のストレス応答強化と光合成反応の律速段階の機能改良を目指して研究している。本シンポジウムではその一端をご紹介したい。

植物が利用できる400～700 nmの太陽光は $1500 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に達する。この内約90%は植物葉に吸収されて、何らかの反応を引き起こす。植物の葉緑体での光エネルギー固定系は1電子当たり2光子必要とするので、光エネルギーの内、植物が CO_2 からデンプンの合成に使う量は高々 $\sim 500 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に過ぎない。一方、光合成 CO_2 固定酵素、RuBisCO、が持つオキシゲナーゼ反応によって引き起こされる光呼吸のための必要光エネルギーは $\sim 400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ である。光エネルギーは他に、硝酸イオンや硫酸イオンの還元などにも利用され、これらの還元でデンプン合成に必要な量の約10%程度が使われる。残りの $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の光はクロロフィルを励起するが有機物の光合成には利用されず、蛍光や熱となるかあるいは酸素還元に使われる。このように、光合成におけるエネルギー分配は多岐に渡り、この分配のアンバランスが自然界では頻繁に起こる。その結果が、植物の光ストレスである。研究の目的で説明した我々の光合成機能改良とはまさに、この光エネルギーを如何に安全に、そして効率よく植物に利用させるか、にある。とくに植物が光エネルギーを有効に利用できない状況、例えば土壌が乾燥して気孔が閉息し CO_2 の葉内への流入速度が低下した場合、どのように植物に余剰光エネルギーを有効に処理させるかが重要である。

我々は、気孔からの CO_2 流入が制限された状況下でも CO_2 固定を遂行できるようなRuBisCOの分子育種を試みている。植物は CO_2 還元への光エネルギー利用が難しい状況下ではRuBisCOのオキシゲナーゼ反応によって誘発される光呼吸によって余剰エネルギーを捨てようとする。しかし、RuBisCOの CO_2 への親和性の上昇とオキシゲナーゼ反応の頻度低下が同時に生じれば、そのようなRuBisCOを持つ植物は余剰エネルギーを無駄に捨てることなく、正常に生育できる。これまでの研究で、植物のRuBisCOに比べ3倍程 CO_2 固定反応を優先するRuBisCOを見い出している。このRuBisCOは進化上緑色植物が遭遇し得なかった生物群が有しているが、植物バイオテクノロジーを駆使すればこのRuBisCO遺伝子の緑色植物への導入が可能であると信じ、現在精力的に導入に取り組んでいる。

一方、植物の CO_2 固定能力の機能改良が可能であるとしても、葉緑体が不可避免的に受容してしまう余剰光エネルギーの安全処理は、環境ストレス下では欠かせない。植物は余剰光エネルギーが生成する活性酸素の分解酵素系を持っているが、その能力は我々が設定しているストレス条件下では自ら活性酸素による攻撃を受けることが明らかになっている。そこで、主要作物であるC3-植物への形質導入が容易と思われるC3-植物で、乾燥に耐えうるものを自然界に求めた。その結果、ボツアナのカラハリ砂漠に自生する野生スイカが、極度の乾燥に耐えることを見いだした。この野生スイカの乾燥耐性は、これまで一般に知られていたような植物体の水ポテンシャル低下あるいは浸透圧上昇への耐性ではなく、乾燥下で気孔を閉じた状態でまったく水を失わず、新鮮な緑葉を維持する新規な耐性能力を有していた。果たしてこの野生スイカでは、恒常的に緑葉に照射される光エネルギーをどのように処理しているのだろうか。その機構に興味を持たれる。

(3)

呼吸と植物生育の関係制御の可能性

北海道大学大学院農学研究科 信濃卓郎

高等植物の呼吸は従来生長呼吸と維持呼吸に分けられてきた。生長呼吸とは生合成—植物体重量増加—のためのエネルギーを供給し、維持呼吸はすでに存在している植物体の構造（タンパク質のターンオーバー、浸透圧調節など）を維持するためのエネルギーを供給するものとして機能しているとする考え方である。この考え方は植物の生理学の分野では広く受け入れられており、両者の関係を制御することによって高等植物の乾物生産能を高めようとする実験もなされている。しかしながら、実際に呼吸が生長呼吸と維持呼吸に分けられるという生理的な証拠はいまだなされていない。本シンポジウムでは幾つかの生長呼吸と維持呼吸を測定する方法を通してその問題点を示した。高等植物の呼吸(R)が $R = kP + cW$ の式に当てはめることによって（ここでk, cは定数、Pは光合成速度あるいは乾物増加速度、Wはある時点の重量）生長呼吸(kP)と維持呼吸(cW)を求めるRegression methodは遮光と生育時期を組み合わせた大崎・田中の研究からその関係がデータの取り方によって容易に変化することが示されており、正確な評価がなされない。また、植物体を暗所に長期間置き生長が停止した維持的な状態にするStarvation method、葉の展開が終了した成熟葉が維持的であるとするMature tissue methodに関しては、維持的とされる状態の植物体に基質として $^{14}\text{CO}_2$ あるいは ^{14}C -[U]-スクロースを取り込ませて、その炭素がどのような化合物に分配されるか調査した。維持的であると考えられる状態においても炭素の利用は生長が活発な状態の植物体で選られる結果と大きな違いが無いことが示され、このことは維持的とされる状況下でも生長と維持のバランスは変わっていないと判断される。また、植物体に $^{14}\text{CO}_2$ を同化させると同化直後に急速（数時間）に呼吸によって放出される $^{14}\text{CO}_2$ と、時間をかけて（数日間）放出される $^{14}\text{CO}_2$ の2つのタイプがあり、この放出パターンから前者が生長呼吸に使われる基質、後者を維持呼吸に使われる基質とする ^{14}C methodがある。しかしながらほぼ維持呼吸のみと考えられている暗所に長期間おかれた状態においても ^{14}C -[U]-スクロースの代謝が変わらなかったことから基質レベルでも呼吸を両者に分けることは出来ないことが明らかになった。以上の事から高等植物の呼吸を機能的に生長呼吸と維持呼吸に分けて考えることは不適當である。

一方、この研究の過程でイネとダイズの呼吸特性に違いが存在することに興味を持った。ダイズでは単位乾物を生産するのに要する呼吸の量が多いことが明らかになった。この違いは体内の構成成分の割合、根粒菌の着生によっては説明されないことから、ダイズの持つ特性である。 $^{14}\text{CO}_2$ を取り込ませ、その後の分配から同じ C_3 植物であるイネと比較してアミノ酸、有機酸画分への分配が多いことが示された。また、同化直後の放出パターンからダイズでは呼吸基質への炭素骨格の供給がイネよりも長く続いていることが明らかとなった。その生理的意義については解析を進めている所であるが、アミノ酸が呼吸に活発に利用されることを発芽時の種子を利用して示し、アミノ酸の代謝との関連性を考察する。

(4)

高 CO₂ 環境における植物の適応戦略 — 樹木を例に —
(北海道大学農学部附属演習林・森林動態学部門) 小池孝良

大気中の温室効果ガス CO₂ 濃度の増加による温暖化が懸念されて久しい。CO₂ の増加は、C3 植物である樹木の成長増加を予想させる。事実、施設園芸では CO₂ 施肥技術が定着している。しかし、多くの野生植物では成長が予想ほど増加せず、イネなどでは目的部位の成長に結びつかない。この原因は統一的に説明できないが、個体を中心に集団レベルについても、樹木を対象に研究の現状を紹介する。

1. 個体レベル

高 CO₂ 環境では一時的に C3 植物の光合成速度は上昇する。しかし、実験条件下では 3 週間以内に光合成速度は低下する。さらに、経時的な体内の窒素濃度低下が観察され、葉中の光合成産物の過剰蓄積が認められた。このため、葉中の C/N が大きくなるのが、ケヤマハンノキとイヌエンジュ（窒素固定菌を共生）を除くすべての樹種で確認された。Arp(1991)は、従来の研究結果を基礎に実験用ポットのサイズと光合成速度の上昇程度を解析した。多くの実験結果はポットサイズに起因する根系の抑制現象 (Source-Sink balance; Sink limitation) を示唆した。その後、少なくとも生殖成長に関わるのはポットサイズではなく栄養塩類量であることが判明した。しかし、こられの実験を機会に、根系抑制のない条件で CO₂ を富化する FACE (Free Air CO₂ Enrichment) 研究が一般化した。

栽培環境の CO₂ 濃度で測定すると処理濃度に関わらずほぼ同様の光合成速度を示す、いわば恒常性維持機能（負の制御）が多種の苗木で認められた。通常大気 CO₂ と高 CO₂ での入れ替え実験（ポットサイズも加味した）結果でも、入れ替え後、2～3 週間以内に生育 CO₂ 条件で測定した光合成速度は等しくなった。光合成測定葉の窒素濃度も高 CO₂ では低下し、通常大気 CO₂ では上昇した。これには C3 植物では、窒素（すなわち Rubisco）量が減少することと Rubisco の不活性化が示唆された。さらに、樹木 (*Pinus taeda*) を対象にした世界最大の FACE 研究では、処理後 3 年目くらいから針葉中の窒素含量と光合成速度の低下が報告された。一方、光合成産物の過剰な蓄積（葉緑体中の無機リンの量が不足）の結果、負の制御が生じることを示唆する形質転換体を用いた研究もある。

高 CO₂ では気孔が閉鎖気味になるため、水利用効率が上昇する。このため、導管径が変化する現象が樹種によっては見られる。年輪形成や材部の組成（リグニン、セルロースなどの構成比）変化も予測される。

2. 群集レベル

高 CO₂ 条件では、分枝構造に関わらず枝分かれが促進される。この結果、熱帯雨林では上層個体の葉が繁茂しすぎて下層に到達する光量が不足し、後継稚樹が生育できず種の多様性が損なわれる結果が予測された。しかし、落葉広葉樹を用いた実験条件では分枝が促進されるが、同時に葉の寿命が低下するため、一般化できていない。一方、過剰な炭素は 2 次代謝産物としても蓄積され、被食防衛機構の変化し、植食者を介した群集構造に影響があると考えられる。葉中の C/N 増加から、断言できないが、自然条件では分解系が生態系を制御することが示唆される。なお、本稿の作成には平野 篤(東京電力環境・エネルギー研究所)、船田 良・矢崎健一(北大農木材生物学教室)、丸山 温(森林総研北支)の協力を得た。

文献: 小池・大崎: 日生態誌, 47:307-313 (1997), 小池: 大気環境誌, 34:A35-A42 (1999)

平成11年度秋季合同シンポジウム および学術講演会のお知らせ

主催：日本農芸化学会北海道・東北支部、日本栄養・食糧学会北海道・東北支部、
日本食品科学工学会北海道・東北支部、日本応用糖質科学会北海道支部、
北海道農芸化学協会

日時：平成11年9月30日(木)、10月1日(金)

場所：北海道大学農学部

プログラム（予定）：

9月30日 シンポジウム（13:00-17:00）

（日本農芸化学会75周年記念シンポジウム北海道地区第2回）

「食による生体機能調節」（仮題）

世話人：（北大院農）富田房男、葛西隆則

懇親会（18:00-20:00）

（於：共済サロン、札幌市中央区北4西1共済ビル）

10月1日 一般講演（9:00-12:30）

日本農芸化学会北海道支部総会（13:30-14:00）

特別講演（14:00-16:00）

「黄色ブドウ球菌の血球崩壊毒素の膜孔形成および毒素機能発現機構」

神尾好是（東北大院農）

「植物のエチレン合成と微生物」

本間 守（北大院農）

一般講演申し込み〆切は8月23日です。詳細は別途ご案内いたします。

なお、上記学術講演会を含む日本農芸化学会北海道支部の行事予定、お知らせなどは、webページ（<http://www.agr.hokudai.ac.jp/jsbba/>）でご覧いただけます。

北海道農芸化学協会特別会員御芳名

(ABC順)

アサヒビール株式会社北海道工場
旭油脂株式会社
ベル食品株式会社
恵庭リサーチビジネスパーク株式会社
福山醸造株式会社
富良野市ぶどう果樹研究所
合同酒精株式会社
北海道日産化学株式会社
北海道立十勝圏地域食品加工技術センター
北海道糖業株式会社
北海道和光純薬株式会社
北海三共株式会社
北海製罐株式会社食品研究所
池田町ブドウ・ブドウ酒研究所
岩田醸造株式会社
株式会社北開水工コンサルタント
株式会社和科盛商会
株式会社ズコーシャ

関東化学販売株式会社
麒麟麦酒株式会社千歳工場
小柳商事株式会社
日本化学飼料株式会社
日本清酒株式会社
日本新薬株式会社千歳クリエートパーク
日本甜菜製糖株式会社
ニッカウヰスキー株式会社北海道工場
サッポロビール株式会社北海道工場
サッポロビール株式会社札幌工場
札幌酒精工業株式会社
宝酒造株式会社札幌工場
高砂香料工業株式会社札幌出張所
十勝農業協同組合連合会農産化学研究所
よつ葉乳業株式会社リサーチセンター
雪印乳業株式会社札幌研究所
雪印食品株式会社
有限会社北海道バイオ技術研究所