



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	個葉の光合成速度が決まるしくみと測定原理
Author(s)	彦坂, 幸毅
Description	2章 個体・環境の測定 1. 個葉から葉緑体スケールのガス交換 a
Relation	光合成研究法. 北海道大学低温科学研究所, 日本光合成研究会共編
Citation	低温科学, 67, 67-71
Issue Date	2009-03-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/39102
Type	departmental bulletin paper
File Information	67-013.pdf



1. 個葉から葉緑体スケールのガス交換

a. 個葉の光合成速度が決まるしくみと測定原理

彦坂 幸毅¹⁾

光合成は光エネルギーを利用して CO_2 を糖にする代謝経路である。光合成速度 (CO_2 吸収速度) は様々な環境の影響を受ける。C3 光合成では、気孔コンダクタンスや葉肉コンダクタンスによって葉緑体への CO_2 供給能力が決まり、ルビスコのキネティクスによって光合成速度の CO_2 濃度依存性が決まる。このような複雑な過程は物理・生化学に基づいて数理モデル化することができ、光合成速度の環境依存性を定量的に理解することが可能になっている。

Modelling of photosynthetic rates in C3 plants

Kouki Hikosaka

Photosynthesis is a metabolism that converts CO_2 to sugars using light energy. Photosynthetic rate (CO_2 assimilation rate) is sensitive to various environmental factors. Stomatal and mesophyll conductance affects CO_2 supply to chloroplasts and Rubisco kinetics determines CO_2 response of CO_2 assimilation rates. Here we present the biochemical model of photosynthesis to understand environmental dependence of CO_2 assimilation rates.

1.a.1 はじめに

光合成速度は葉の環境、植物の生育環境、葉齢、種など様々な要因の影響を受ける。ここではC3植物の一枚の葉の光合成速度が環境の変化に対してどのように影響を受けるのか、物理的・生化学的なしくみを、数式を用いて説明する。また、重要なパラメータをどのように測定あるいは推定するのかを説明する。

1.a.2 C3 光合成の概略

光合成は細胞内小器官の一種葉緑体で行われる。葉緑体の内部にはチラコイド膜とよばれる膜構造がある。チラコイド膜と包膜の間は液相の空間で、ストロマとよばれる。

チラコイド膜では、光エネルギーを駆動力として、電子伝達とATP合成が行われる。電子伝達系は水を分解して電子を取り出し、 NADP^+ を還元して NADPH を生産する経路である。クロロフィルは光エネルギーを吸収して励起され、エネルギーを光化学系の反応中心に伝える。反応中心はエネルギーを受け取ると励起され、強い還元力を持つ。この還元力を利用し、 NADP^+ が還元される (図1)。なお、光合成において発生する酸素は、電子

伝達系における水の分解産物である ($2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{H}^+ + \text{O}_2 + 4\text{e}^-$)。

電子伝達系の構成要素の一つであるプラストキノン¹⁾は、電子伝達の際にプロトン (H^+) をチラコイド膜の外側から内側に運搬する。これと水分解によるプロトンの生成により、チラコイド膜内外にプロトン濃度の勾配ができる。この濃度勾配をエネルギー源とし、プロトンがチラコイド膜のATP合成酵素を通過する際にATPが合成される。

チラコイド膜で生産されたATPと NADPH は、それぞれ CO_2 吸収のためのエネルギー源・還元力として、ストロマのカルビンサイクルで利用される。カルビンサイクルは、11の酵素によって触媒される循環経路である (図1)。 CO_2 吸収はリブローズ二リン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) という酵素が触媒するカルボキシ化反応 (carboxylation) によって行われる。 CO_2 はリブローズ二リン酸 (RuBP) という5つの炭素をもつ糖リン酸に化合し、2分子のホスホグリセリン酸 (PGA) が生産される。



PGAは3つの炭素をもつ有機酸リン酸である。PGAから、ATPと NADPH を消費してトリオースリン酸が生産される。このトリオースリン酸の一部が葉緑体の外 (細胞質) に輸送され、ショ糖などの合成に利用される。

1) 東北大生命科学研究所

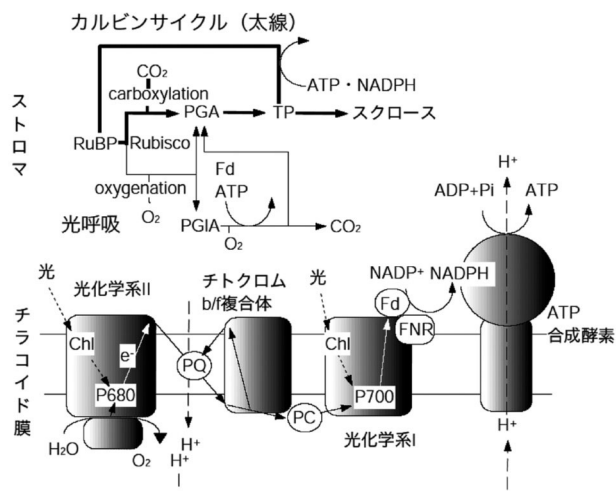
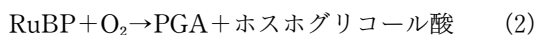


図1：光合成・光呼吸の模式図⁹⁾ チラコイド反応において、実線は電子の、点線はエネルギー(光エネルギーまたは励起エネルギー)、破線はプロトン(H⁺)の移動を示す。

チラコイド膜には4つの巨大なタンパク質複合体が存在する。光化学系II複合体のクロロフィル(chl)が光を吸収すると励起エネルギーが反応中心(P 680)に伝達される。P 680で励起された電子は反応中心を離れ、プラストキノン(PQ)に伝達される(光化学反応)。P 680が電子を失うと、光化学系IIで水が分解され、電子が供給される。PQは光化学系IIから電子を受け取ると同時に、チラコイド膜外側のH⁺と結合し、膜中を移動する。PQはチトクロムb/f複合体に電子を渡し、H⁺を膜内側に放出する。さらに電子はチトクロムb/f複合体からはプラストシアニン(PC)を経て光化学系I複合体の反応中心(P 700)に伝達される。光化学系Iでは光化学系II同様に光化学反応が起こり、電子がフェレドキシン(Fd)に伝達される。Fdはフェレドキシン-NADP酸化還元酵素(FNR)の触媒でNADP⁺に電子を渡す。RuBP：リブローズ二リン酸、Rubisco：RuBPカルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ、PGA：ホスホグリセリン酸、TP：トリオースリン酸、PGIA：ホスホグリコール酸

残りのトリオースリン酸からは、ATPを消費してRuBPが再生され、再び炭酸同化反応が起こる。

Rubiscoはカルボキシル化反応だけでなく、RuBPの酸素化反応(oxygenation)も触媒する。



この反応の生成物の一つであるホスホグリコール酸からPGAを再生する過程が光呼吸(グリコール酸回路)である(図1)。光呼吸では還元力やATPを消費し、一度の酸素化反応あたり0.5分子のCO₂が放出される。

光が当たっているときは、葉では光合成も光呼吸も同時に起こっている。通常大気条件では、カルボキシル化反応によって吸収された炭素の30~50%が光呼吸によって放出されている。光呼吸がどれだけ起こるかは、葉緑体中のCO₂とO₂の濃度に依存する。Rubiscoが触媒する反応では、まずRubiscoにRuBPが結合する。葉緑体中のCO₂濃度が相対的に高ければ、Rubisco-RuBP

複合体にCO₂が結合し、カルボキシル化反応が起こりやすい。逆に、O₂濃度が高ければ酸素化反応が起こりやすい。これらのキネティクスは後述するFarquharらのモデル^{1,2)}によって定量的に記述される。

1.a.3 Farquhar らの光合成生化学モデル

CO₂吸収速度 A は以下の式で表される。

$$A = V_c - 0.5 V_o - R_d \quad (3)$$

V_c と V_o はそれぞれカルボキシル化反応と酸素化反応の速度である。 V_o の係数0.5は、一度の酸素化反応あたり0.5のCO₂が放出されることを意味する。 R_d はミトコンドリア呼吸(日呼吸)の速度である。CO₂吸収速度とCO₂濃度の関係は、一本の式で示すと非常に複雑になる。便宜的に、RuBPが飽和している場合(W_c)とRuBP供給が光合成を律速している場合(W_j)の二つに分けて表される。

・RuBPが飽和している場合

Rubiscoが触媒する反応では、CO₂とO₂はそれぞれ酸素化反応とカルボキシル化反応を競合的に阻害する。RuBPが飽和している場合、この関係は生化学的に以下のような式で表すことができる。

$$V_c = \frac{V_{\text{cmax}} C}{C + K_c(1 + O/K_o)} \quad (4)$$

$$V_o = \frac{V_{\text{omax}} O}{O + K_o(1 + C/K_c)} \quad (5)$$

ここで V_{cmax} と V_{omax} はそれぞれカルボキシル化反応と酸素化反応の最大速度、 C と O はそれぞれCO₂とO₂の濃度、 K_c と K_o はそれぞれCO₂とO₂に対するミカエリス定数である。式4において、酸素が競合的にカルボキシル化反応を阻害するさまは、分母の O に表されている。酸素濃度が高くなると、分母が大きくなり、カルボキシル化速度が低くなる。式4、5を式3に代入すると以下の解を得る。

$$W_c = \frac{V_{\text{cmax}}(C - \Gamma^*)}{C + K_c(1 + O/K_o)} - R_d \quad (6)$$

ここで、 $\Gamma^* = (V_{\text{omax}} K_c O) / (2 V_{\text{cmax}} K_o)$ である。また、 $\Gamma^* = (C V_o) / (2 V_c)$ でもあり、これは、ミトコンドリア呼吸を無視したときのCO₂補償点と等しい。

直観的に光合成のCO₂応答を説明すると、CO₂濃度上昇は、分子の C の増加によって光合成速度を増加させる。光呼吸によるCO₂放出の影響は分子の $-\Gamma^*$ の項に含まれている。 V_{cmax} は葉によって異なり、Rubisco量

(活性)が高いほど高い。

・RuBPが不足している場合

Farquharらのモデルでは、RuBP再生速度は電子伝達速度に律速されていると仮定している。カルビンサイクルで1モルのRuBPを再生するためには2モルのNADPHが必要であり、このためには4モルの電子が伝達される必要がある。さらに、酸素化反応が1度起こると、光呼吸では4つの電子を消費する。電子伝達速度を J とすると、 $J=4V_c+4V_o$ である。これに Γ^* を導入して式3に代入すると、電子伝達速度と光合成速度 W_j の関係は以下になる。

$$W_j = \frac{J(C - \Gamma^*)}{4C + 8\Gamma^*} - R_d \quad (7)$$

電子伝達速度 J は、光強度 I に対し飽和曲線を示す。様々な曲線が利用されているが、ここでは非直角双曲線を紹介する。

$$J = \frac{\phi_r I + J_{\max} - \sqrt{(\phi_r I + J_{\max})^2 - 4\phi_r I \theta_r J_{\max}}}{2\theta_r} \quad (8)$$

ここで ϕ_r は曲線の初期勾配、 $J_{\max}$ は光飽和時の最大電子伝達速度、 θ_r は曲線の凸度を示す。 $J_{\max}$ は葉によって異なり、電子伝達系タンパク質の量が多いほど高い。つまり、高 CO_2 濃度域における光合成速度を高くするためには、電子伝達系タンパク質などの量を増やせばよい。

光合成速度 A は W_c と W_j のうち低いほうとして求められる。

$$A = \min\{W_j, W_c\} \quad (9)$$

この式9を CO_2 -光合成曲線にフィットさせたのが図2aである。

1.a.4 パラメータの温度依存性

K_c や $V_{\max}$ など酵素反応にかかわるパラメータの多くは温度によって値が変わる。その変化は多くの場合指数関数的で、よく用いられるのはいわゆるアレニウス式である。

$$f(T_k) = f(25) \exp\left[\frac{E_a(T_k - 298)}{298RT_k}\right] \quad (10)$$

ここで f は任意のパラメータ、 $f(25)$ は 25°C のときの f の値、 T_k は絶対温度、 R は気体定数 ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) である。 E_a は活性化エネルギーで、曲線の傾きを意味する。高温でパラメータの値が低下する場合にはピークモデルが使われる。三次式など様々な式が利用されているが、以下はその一種である。

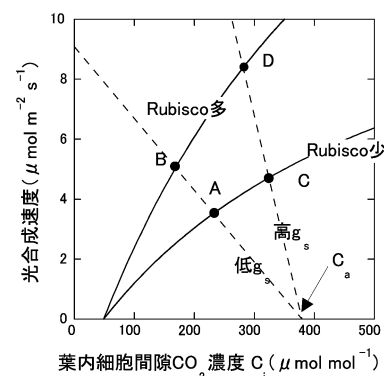
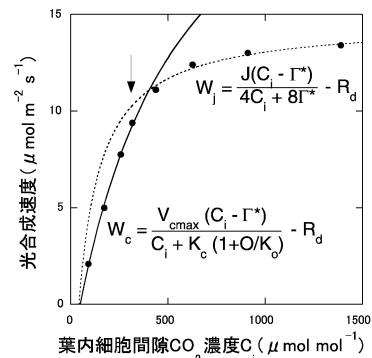


図2： CO_2 -光合成曲線⁹⁾。葉内細胞間隙 CO_2 濃度(C_i)に対し光合成速度をプロットしている。上)ミズナラの例を示す。測定条件は光強度 $1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、葉温 20°C 。矢印は大気 CO_2 濃度 ($370 \mu\text{mol mol}^{-1}$)のときの測定値。近似曲線については本文を参照。下) Rubisco量と気孔コンダクタンス(g_s)が光合成速度に与える影響。実線は光合成速度の CO_2 濃度依存性を示す。Rubisco量が多い葉は同じ C_i で比べると高い光合成速度を持つ。点線は、大気 CO_2 濃度(C_a)と同じ値のときに光合成がゼロになる点から、傾き $=-\text{気孔コンダクタンス}$ の直線を引いたもの(本文参照)。点線と実線が交わる点が葉の光合成速度となる。低い光合成速度を持つ葉(A)が光合成速度を上げようとする場合、rubisco量を増やすだけでも(B) 気孔コンダクタンスを上げるだけでも(C) 光合成速度が上がる。Rubisco量・気孔コンダクタンスの両方を高くするとより高い光合成速度が得られる(D)。

$$g(T_k) = \frac{g(25) \exp\left[\frac{H_a(T_k - 298)}{298R(T_k + 25)}\right] \left(1 + \exp\left[\frac{298\Delta S - H_d}{298R}\right]\right)}{1 + \exp\left[\frac{\Delta S T_k - H_d}{T_k R}\right]} \quad (11)$$

H_a は活性化エネルギー、 H_d は不活性化エネルギー、 ΔS はエントロピーを示す。光合成速度の温度依存性は一般に上に凸の放物線の形になるが、様々なパラメータの温度依存性の影響を受けるため非常に複雑なものとなる。詳しくは von Caemmerer²⁾や Hikosaka et al.³⁾を参照。

1.a.5 CO₂の拡散

光合成において、CO₂は葉の外部からの拡散によって供給される。拡散における二点間の物質の移動速度はFickの第一法則にしたがう。光合成にあてはめると、

$$A = g(C_2 - C_1) \quad (12)$$

ここで A は光合成速度 (= CO₂ の移動速度), g はコンダクタンス (抵抗の逆数), C_1 と C_2 は二点それぞれの CO₂ 濃度に相当する。

葉の光合成においては、CO₂は葉の外から、葉の周囲に生じる境界層、気孔、葉内細胞間隙を経て葉肉細胞の細胞壁に含まれる水に溶解込む。そして細胞壁から細胞膜、細胞質、葉緑体包膜を通過してストロマに達し、カルビンサイクルで同化される。拡散に対する影響は境界層、気孔、そして細胞壁からストロマまでの過程が大きいと考えられている。式で表すと以下ようになる。

$$A = g_b(C_a - C_b) = g_s(C_b - C_i) = g_m(C_i - C_c) \quad (13)$$

ここで g_b , g_s , g_m はそれぞれ境界層コンダクタンス、気孔コンダクタンス、葉肉コンダクタンスであり、 C_a , C_b , C_i , C_c は葉の外、気孔入り口、葉内細胞間隙、葉緑体内の CO₂ 濃度である (C_c は気体中の濃度に換算)。

境界層における抵抗は、風が吹くなど葉の周囲で空気が動いていればほとんど無視できる。逆に、風が全く止まってしまった場合は無視できない可能性がある。同化箱法で光合成速度を測定する際には、ファンで同化箱内の空気をかき回すことによって境界層コンダクタンスを上げる必要がある。境界層抵抗が無視できる場合は、式13は以下のように書くことができる。

$$A = g_s(C_a - C_i) \quad (14)$$

気孔コンダクタンス g_s は気孔の開閉により大きく変化する。気孔が完全に閉じるとコンダクタンスも0に近くなる。

気孔コンダクタンスがどのように光合成速度に影響を与えるかを図2bを使って考えてみよう。式14は、 A が左辺に出ているため、光合成速度を規定している式と勘違いされることもあるが、実際は葉緑体へのCO₂の供給能力を表している (直観的には $C_i = C_a - A/g_s$ と変形したほうがわかりやすい)。図2bでは横軸に C_i を、縦軸に光合成速度を示している。図中実線は上述した光合成の生化学的モデルであり、光合成速度は C_i に依存すると仮定する。図中点線は $A = g_s(C_a - C_i) = -g_s(C_i - C_a)$ である。つまり、横軸の切片が C_a と同じ値 (ここでは 370

$\mu\text{mol mol}^{-1}$) で、そこから傾き $-g_s$ で上昇する直線である。実線と点線が交わった点が光合成速度となる。つまり、光合成速度は Farquhar モデルと式14の連立方程式の解として求められる。Farquhar と Sharkey⁴⁾ は、実線を要求関数 (demand function)、点線を供給関数 (supply function) と呼んだ。Rubisco など光合成系タンパク質によって CO₂ をどれだけ要求するかが決まり、気孔コンダクタンスによってどれだけ CO₂ を供給できるかが決まるということである。この図から、葉が光合成速度を高めるためには二つの方法があることがわかる。一つは、光合成系タンパク質の量 (活性) を増やす (= 要求関数の傾きを大きくする) ことである。もう一つは、気孔コンダクタンスを高くする (= 供給関数の傾きを大きくする) ことである。

1.a.6 各パラメータの推定原理

・光合成速度と気孔コンダクタンス

同化箱法によって光合成速度を測定する場合、同化箱内部の CO₂ 濃度が C_a にあたり、同化箱に入る空気と同化箱から出て行く空気の CO₂ 濃度の差から光合成速度 A を計算することができる (詳しくは同化箱法参照)。しかし g_s と C_i を知ることはできない。情報を補うために蒸散の測定を同時に行う。蒸散速度 E は以下のように表される。

$$E = g_h(H_i - H_a) \quad (15)$$

ここで g_h は水蒸気に対する気孔コンダクタンス、 H_i と H_a は葉の内部と外部の水蒸気濃度である。 H_a と E は同化箱に入出入りする空気の水蒸気濃度を測定することによって得られる。さらに、葉内細胞間隙の水蒸気濃度はほぼ飽和しているため、葉温を測定することにより H_i を推定できる。ここから g_h を計算する。 g_s は g_h と比例し、 g_h を 1.6 で割れば g_s が求められる。そして C_i が計算できる。

・葉肉コンダクタンス

気孔コンダクタンスで説明したように、CO₂ 濃度を調べるだけではコンダクタンスまで計算することはできない。また、気孔コンダクタンスは蒸散を測定することにより推定が可能であったが、葉肉細胞内は水で満たされているため蒸散に関する情報は葉肉コンダクタンスの推定には利用できない。葉肉コンダクタンスが測定できるようになったのは 1990 年代に入ってからである⁵⁾。

現在葉肉コンダクタンスの推定法として 5 種類の方法

が知られている⁶⁾。主として安定同位体を用いる方法とクロロフィル蛍光を用いる方法がよく使われ、前者は光合成研究のための安定同位体測定法の章で紹介する。ここではクロロフィル蛍光を用いる方法の原理を説明する。

クロロフィル蛍光を測定することにより、電子伝達速度を推定することができる（詳細はクロロフィル蛍光の項参照）。電子伝達速度 J を推定する方法はいくつかあるが、仮定をおくことにより簡便に計算することができる。

$$J = 0.84 \times \Delta F / F_m' \times I \times 0.5 \quad (16)$$

ここで 0.84 は葉の光吸収率（実際はクロロフィル含量や葉の反射率など光学的な要因によって変化する）、 $\Delta F / F_m'$ は光化学系 II の光化学反応の量子収率、 I は照射光強度、0.5 は総クロロフィル量に対する光化学系 II クロロフィルの割合である（これも常に 0.5 とは限らない）。 J と光合成速度 A の関係は式 7 によって規定されるため、以下の式によって C_c を計算することができる。

$$C_c = \frac{8(A + R_d)\Gamma^* - J\Gamma^*}{4(A + R_d) - J} \quad (17)$$

原理的にはガス交換とクロロフィル蛍光を一度同時に測定すれば C_c を計算することができることになるが、実際には J の推定に様々な仮定を含んでいること、計算が複雑であるため誤差の影響が大きくなる可能性があることなどから、一度の測定で得られる値から計算した C_c の確からしきは低いと考えられている。より確かな値を求めるために様々な工夫がなされている。詳しくは Harley et al.⁷⁾ を参照のこと。

・CO₂ 補償点

見かけ上の CO₂ 補償点、つまり CO₂ 吸収速度が 0 になる CO₂ 濃度は単純に CO₂ - 光合成曲線を見ることによって求まる。重要なのは Γ^* 、つまりミトコンドリア呼吸を無視したときの CO₂ 補償点である。これを求める方法は二つある。

一つはガス交換法を用いるもので、100 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 以下の低 CO₂ 濃度において、異なる光強度で CO₂ - 光合成曲線を描くことにより得られる⁸⁾。低 CO₂ 濃度では光合成速度と CO₂ 濃度の関係はほとんど直線であるが、その傾きは光強度によって異なる（Rubisco が弱光下で不活性化するため）。その直線の交点が Γ^* に相当する（図 3）。

もう一つは抽出あるいは単離したルビスコの specificity factor を測定する方法である。specificity

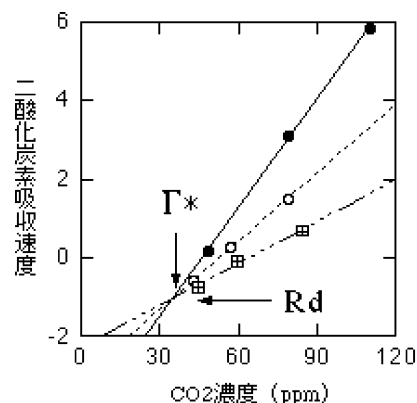


図 3：CO₂ 補償点 Γ^* の測定例。異なる光強度で、低 CO₂ 濃度における CO₂ - 光合成曲線を描く。それぞれの光強度のデータを回帰し、回帰直線が交わったところが Γ^* となる。

factor(τ)は $\tau = (K_o V_c) / (K_c V_o) = (K_o V_{cmax}) / (K_c V_{o max})$ と定義され、 $\tau = 0.5 O / \Gamma^*$ という関係にある。測定法は酵素・電子伝達成分の精製・活性測定・定量を参照。

・光呼吸

通常大気条件で光呼吸速度を直接測定する方法はない。CO₂ 濃度を 0 にしたときの CO₂ 放出速度は光呼吸速度 + 暗呼吸速度であるが、このときの光呼吸速度は通常大気条件での光呼吸速度とは異なる。また、酸素濃度 2 % のときの CO₂ 吸収速度から酸素濃度 20% のときの CO₂ 吸収速度を差し引くことにより光呼吸速度を推定されることがあるが、これも大気条件での光呼吸速度とは異なる。現在のところ光呼吸速度を推定するには Farquhar モデルを用いて V_o を計算するしかない。

参考文献

- 1) G. D. Farquhar, S. von Caemmerer & J. A. Berry, *Planta* **149** (1980) P78.
- 2) S. von Caemmerer, *Biochemical models of leaf photosynthesis*. CSIRO Publishing, Collingwood (2000)
- 3) K. Hikosaka, K. Ishikawa, A. Borjigidai, O. Muller & Y. Onoda, *J. Exp. Bot.* **57** (2006) 291.
- 4) G. D. Farquhar & T. D. Sharkey, *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33** (1982) P317
- 5) S. von Caemmerer & J. R. Evans, *Aust. J. Plant Physiol.* **18** (1991) P287.
- 6) C. R. Warren, *Funct. Plant Biol.* **33** (2006) P431.
- 7) P. C. Harley, F. Loreto, G. Di Marco & T. D. Sharkey, *Plant Physiol.* **98** (1992) P1429.
- 8) A. Brooks & G. D. Farquhar, *Plant Physiol.* **74** (1985) P759.
- 9) 彦坂幸毅「植物生態学」, 朝倉書店, 2004, P42