



Title	ミズナラ実生の初期成長における生育条件の影響と葉の生理的応答
Author(s)	津田, 元; 小野, 清美; 隅田, 明洋 他
Citation	低温科学, 0073, 57-64
Issue Date	2015-03-31
DOI	https://doi.org/10.14943/lowtemsci.73.57
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59065
Type	departmental bulletin paper
File Information	61-68.pdf



ミズナラ実生の初期成長における生育条件の影響と葉の生理的応答

津田 元¹⁾, 小野 清美¹⁾, 隅田 明洋¹⁾, 原 登志彦¹⁾

2014 年 11 月 13 日受付, 2015 年 1 月 28 日受理

落葉広葉樹ミズナラは冷温帯林を構成する樹種の一つである。林床のミズナラ実生の葉の展開時期には低温になることがあり、未成熟葉は低温による光ストレスや、さらに上層木が落葉樹である場合には強光ストレスにさらされる可能性がある。生育環境に応じた実生の初期成長や葉のストレス応答を明らかにするために、光条件と温度条件を組み合わせるミズナラ実生を栽培した。弱光高温では実生の相対成長速度が大きく、ストレス応答が少なかった。弱光低温では葉の展開が遅く、展開完了した葉の光合成速度が低かったが、強光低温下のような実生の著しい成長阻害は見られなかった。また、未成熟葉の光合成能力は低い、ストレス応答系が働いて極端な光ストレスを防いでいることが示された。

Initial growth and responses of leaves during leaf expansion of *Quercus crispula* seedlings under different light intensities and temperatures

Hajime Tsuda¹, Kiyomi Ono¹, Akihiro Sumida¹ and Toshihiko Hara¹

Quercus crispula Blume is a deciduous species that is typically found in cool temperate forests. Its leaves expand in early spring, when plants in cool temperate forests are sometimes exposed to low temperatures of approximately 10°C. Immature leaves of *Q. crispula* could suffer from photo-oxidative stress under such low temperatures, even under low light intensity. Under deciduous canopy trees, it is likely that immature leaves of *Q. crispula* seedlings will receive high light and suffer from strong photo-oxidative stress. In this study, we grew *Q. crispula* seedlings from seeds in environmentally controlled chambers to investigate how the initial growth of seedlings is affected by different combinations of light and temperature, and how expanding immature leaves and expanded leaves respond to environmental stresses. Seedlings grown under low light with a high temperature had higher relative growth rates than those grown under the other conditions, and showed smaller stress responses. Our results suggested that this growth condition is favorable for *Q. crispula* seedlings. Under low light and low temperature, leaves expanded slowly and showed low photosynthetic rates and low F_v/F_m even after they had fully expanded. Seedling growth was strongly inhibited under high light and low temperature. Immature expanding leaves with low photosynthetic rates avoided photo-oxidative stress by various mechanisms including the water-water cycle, and maintained a relatively high F_v/F_m .

キーワード：光化学系 II の最大量子収率, 膜結合型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ, 相対成長速度, ミズナラ, キサントフィルサイクル
 F_v/F_m , membrane-bound ascorbate peroxidase (EC 1.11.1.11), relative growth rate, *Quercus crispula*, xanthophyll cycle

連絡先

小野清美

北海道大学低温科学研究所

Tel. 011-706-5469

e-mail: kiyomion@pop.lowtem.hokudai.ac.jp

1) 北海道大学低温科学研究所

Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan

1. はじめに

ミズナラ (*Quercus crispula* Blume) は冷温帯林を構成する落葉樹の一つである。実生は耐陰性があり林床でも生存するが、ギャップが形成されると林冠を構成することがある。北海道では5月中旬にはミズナラ実生の発生が見られる(小山ほか, 1992)が、この頃には10°Cくらいの低温にさらされることもある。しかし、このよ

うな低温条件でミズナラの初期成長がどのような影響を受け、生理的にどのように応答しているのかは、まだ分かっていない。低温では光合成の炭酸固定系の酵素活性が低く、葉で吸収された光エネルギーが使われず、過剰になることがある。過剰となった光エネルギーはスーパーオキシド (O_2^-)、過酸化水素 (H_2O_2)、一重項酸素 (O_2^1) といった活性酸素種を発生させる (浅田 1999)。植物は CuZn-スーパーオキシドデスムターゼで O_2^- を H_2O_2 に還元し、チラコイド膜結合型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (tAPX) によって H_2O_2 を水に還元して光による傷害を防ぐ (water-water サイクル, Asada, 1999)。活性酸素消去系の酵素活性は低温順化後のヨーロッパアカマツ (*Pinus sylvestris* L.) (Krivoshcheva et al., 1996) や、スギ (*Cryptomeria japonica*) の冬の針葉 (Han and Mukai, 1999) で増加する傾向が見られる。

光エネルギーが過剰になることを防ぐ方法として、光エネルギーの吸収そのものを減らす方法、吸収した光エネルギーを使う方法、または熱として放散する方法が挙げられる。光エネルギーの吸収を減らす方法はいくつかあるが、その一つが光の吸収に関わるクロロフィルのアンテナサイズの縮小である。アンテナクロロフィルにはクロロフィル a およびクロロフィル b が含まれる一方、反応中心クロロフィルにはクロロフィル a しか含まれない (Yamamoto and Bassi, 1996) ために、アンテナサイズを減らすとクロロフィル a/b が増加する。吸収した光エネルギーを炭酸固定系でより多く利用できるようにするためには、酵素の比活性を上げるか、酵素量を増やさなければならない。熱として放散する方法にはキサントフィルサイクルが関わっている。キサントフィルサイクルはビオラキサンチン (V)、アンテラキサンチン (A)、ゼアキサンチン (Z) という 3 つの色素の脱エポキシ化、エポキシ化によって成り立っている (Adams and Demming-Adams, 1992, Demmig-Adams and Adams, 1996 など)。脱エポキシ化されたアンテラキサンチン、ゼアキサンチンが熱放散に関わり、光エネルギーが過剰になりやすい条件ではキサントフィルサイクルの色素量が増えたり、脱エポキシ化の割合が増加したりする (Adams and Demming-Adams, 1992; Demmig-Adams and Adams, 1996 など)。

クロロフィル蛍光を測定することによって、光合成の電子伝達系がどのように働いているのかがわかり、光化学系 II の最大量子収率 (F_v/F_m) は光ストレス応答の良い指標となり、ストレスを受けていない葉は種によらず 0.83 付近の値を示す (Björkman and Demmig, 1987; Maxwell and Johnson, 2000)。 F_v/F_m が低いほど光ストレスを強く受けていると考えられる。発達途中の未成熟葉は RuBP カルボキシラーゼといった炭酸固定系の酵素量が少なく、光合成活性が低いために成熟葉

と同じ光を受けたとしても光ストレスを受けやすいと考えられる。若い葉の光ストレスの受けやすさや防御機構を示した研究がある (Krause et al., 1995; Yoo et al., 2003; Jiang et al., 2005)。Jiang et al. (2005) は圃場で栽培したダイズでは葉の展開とともにキサントフィルサイクルや抗酸化酵素系といった防御系が発達することを示した。また、熱帯の林冠木数種では若い完全展開葉では成熟葉よりも日中の F_v/F_m の低下の程度が大きく、強光下では若い葉で成熟葉よりもクロロフィルあたりのキサントフィルサイクルの色素量、特にゼアキサンチン量が多かった (Krause et al., 1995)。冷温帯では熱帯と比べて気温が低いために、弱光でも光エネルギーが過剰になる可能性がある。また、冷温帯では熱帯などに比べ生長期間が短いため、早い時期から葉を展開することが個体成長にとって重要であると考えられる。 F_v/F_m と個体成長の間に相関関係があることが示されている (Farage and Long, 1991; Laing et al., 1995; Egerton et al., 2000)。このため、ミズナラは低温下でも極端な光ストレスを防ぎ、葉を展開し成長していくための仕組みを持っていると考えられる。

この論文では春先の低温下で成長するミズナラ実生が低温や強光など様々な生育環境の下でどのような初期成長を示し、展開途中の未成熟葉および展開完了した葉が、どのような光ストレス応答を示すのかを明らかにすることを目的とした。環境制御下でミズナラ実生の栽培実験を行った結果を示し、野外での生育と関連付けて議論する。

2. 材料および方法

2.1 材料

ミズナラ (*Quercus crispula* Blume) の種子は北海道北部の北海道大学雨龍研究林 (N 44°23', E 142°19') で得られたものを用いた。実験に供するまで濡れた紙に包み 4°C で保存した。種子は生重が 2.5–3.5 g (平均 3.02 g) のものを用いた。弱光栽培には人工気象器 (日本医科器械, 大阪) を、強光栽培には低温科学研究所の低温実験室 2 および 3 (田尻機械工業, 札幌) を用いた。ミズナラ実生を次の 4 つの条件、すなわち、強光高温 (実生付近の光量子束密度 PPFD 1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 実生付近の気温 25°C)、強光中温 (1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 10°C 設定だが実生付近の気温は 15°C から 20°C 近くまで上昇)、弱光高温 (100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 25°C)、および弱光低温 (100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 10°C) で栽培した。強光低温 (1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 実生付近の気温が 10°C になるよう温度を設定) での栽培も繰り返し行ったが、実生の初期成長が著しく阻害され十分な個体数が得られず、また葉が非常に小さく巻いていたために、本研究における生育実験に用いることができなかった。そこで、

先に述べた4つの生育条件で実験を行った。明期は午前6時から午後6時までとした。ポット（直径12.5 cm, 高さ20 cm）にバイオグリーン（窒素0.6%, リン0.5%, カリ0.5%）を入れ、1ポット当たり1個体の実生を栽培した。葉の展開完了までに要する日数の半分の時期（段階1）、葉が展開完了する時期（段階2）、展開完了1週間後（段階3）の3つの段階で次に述べる測定および個体の採取を行った。各段階3個体用いた。各生育条件で葉の展開までに要する日数を調べるために、葉の長さと幅を3日ごとに測定するという予備実験を行った。25°C（強光高温および弱光高温）では8日、20°C近く（強光中温）では11日、10°C（弱光低温）では19日を葉の展開完了までに要した。そこで、段階1の測定および採取は、強光高温と弱光高温では葉の展開が始まってから4日後、強光中温では6日後、弱光低温では10日後に行った。植物の採取は午前10時から正午までに行った。ミズナラ実生は数枚の輪生葉を展開するため、そのうち2、3枚を採取し、液体窒素で凍結し、色素や酵素活性の測定までの間、-80°Cで保存した。残りの葉は葉面積計（Li3100, LI-COR）を用いて葉面積を測定した後、根、茎、種子とともに農業用オーブン（PSN-80, 清水理化学機器製作所）を用い、80°Cで48時間以上乾燥した。葉全体の重量は、葉の乾燥重量を測定した葉の面積と残りの葉の面積から見積もった。

2.2 相対成長速度

各生育条件における個体成長を比較するために、相対成長速度（RGR; $\text{g g}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ）をHunt (1990) やLi et al. (1998) の方法に従って計算した。対数変換した個体の乾燥重量を葉の展開し始めからの日数に対して直線回帰した。その直線回帰式の傾きをRGRとした。

2.3 光合成速度およびクロロフィル蛍光の測定

光合成速度およびクロロフィル蛍光の測定にはクロロフィル蛍光測定装置（6400-40 リーフチェンバーフルオロメーター; LI-COR）がついた開放型光合成蒸散測定装置（Li-6400; LI-COR）を用いた。光合成の測定前に葉を測定チャンバーに挟み、20分以上暗所に置いた後、 F_0 および F_m の測定を行い F_v/F_m ($F_v = F_m - F_0$) を求めた。光合成速度は、葉温25°C, CO_2 分圧36 Pa, 相対湿度約70%に設定し、人工気象室内で測定した。光合成有効放射束密度（PPFD）は0から1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ まで変化させ、光-光合成曲線の飽和部分を平均し、最大光合成速度とした。

2.4 色素の分析

クロロフィルa, クロロフィルb, ビオラキサンチン（V）、アンテラキサンチン（A）およびゼアキサンチン（Z）の測定を行った。液体窒素中で葉を粉碎し、その

一部を色素の分析や酵素活性の測定に用いた。粉碎した葉のうち、生重約50 mg分をマイクロチューブに量り取り、1 mlの100%アセトンを加えて攪拌した後、4°C, 21,600 gで10分間遠心分離を行った。その後、上清をフィルターでろ過し、高速液体クロマトグラフHPLC（LC-Vp, 島津, 京都）で分析を行った。HPLCによる分析はTabata et al. (2010) と同様の方法で行った。

2.5 アスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）活性の測定

葉を粉碎したものから、1.5 ml マイクロチューブに生重約50 mg分を量り取った。そこに10 mg ミオイノシトールと10 mg ポリビニルピロリドン（PVP; 平均分子量360,000）を加え、40 μl の50 mM アスコルビン酸、20 μl の2 Na-EDTA および500 μl の50 mM KH_2PO_4 (pH 7.8) に攪拌した。4°Cで21,600 g, 5分間遠心分離後、沈殿を40 μl の50 mM アスコルビン酸、500 μl の50 mM KH_2PO_4 (pH 7.8), および膜の可溶化のために5 μl の10% (v/v) Triton X-100を加えた液に懸濁した。この懸濁液を4°Cで21,600 g, 5分間遠心分離後、上清を膜画分としてチラコイド膜結合型APX (tAPX) の分析に用いた。tAPX活性はNakano and Asada (1987) の方法に従って求めた。アスコルビン酸の酸化速度は分光光度計（DU 7400, Beckman）を用い、290 nmの吸収変化を25°Cで5分間測定することにより求めた。

2.6 統計解析

生育光、生育温度、葉の発達段階が同じものを一つのグループとして、グループ間の比較を行う際には一元配置の分散分析とTukey HSD法を用いて多重比較を行った。統計解析にはSPSS 11.5J (SPSS Japan) を用いた。日数と個体全体の乾燥重量の回帰直線の傾きを多重比較する際にはTurkey-Kramer法を用いた。

3. 結果

3.1 実生の成長

RGRは、強光高温で0.085 ($P < 0.001, R^2 = 0.84, n = 9$), 強光中温で0.055 ($P < 0.001, R^2 = 0.96, n = 9$), 弱光高温で0.11 ($P < 0.001, R^2 = 0.85, n = 9$) 弱光低温で0.045 ($P < 0.01, R^2 = 0.65, n = 9$) であった。相対成長速度は弱光高温で強光中温や弱光低温よりも高かった (Turkey-Kramer法, $P < 0.05$)。

3.2 光化学系IIの最大量子収率 (F_v/F_m)

生育条件や生育段階に関わらず、全体的に F_v/F_m は0.83よりも低かった (図1)。同じ生育条件内では

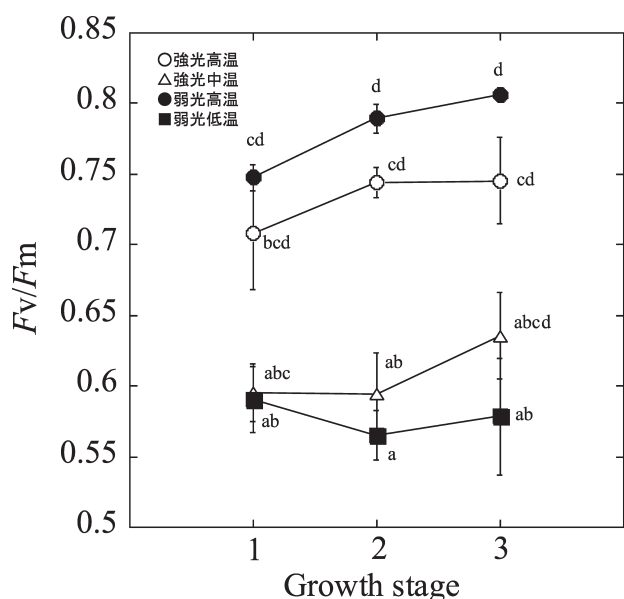


図1: 葉の成長に伴う F_v/F_m の変化. 段階1は葉面積の半分ほど葉が展開した時期, 段階2は葉が展開完了した時期, 段階3は展開完了から1週間後を示す. 各点は強光25°C (強光高温, ○), 強光20°C (強光中温, △), 弱光25°C (弱光高温, ●) および弱光10°C (弱光低温, ■) で生育したミズナ実生の3個体の平均値および標準誤差を示す. 異なるアルファベットは $P < 0.05$ で有意差が見られたグループを示す.

Figure 1: Changes in F_v/F_m in leaves whose area is about half of the leaf fully expanded (stage 1), leaves just fully expanded (stage 2) and the leaves after 1 week of full expansion (stage 3). Each symbol shows the mean and standard error ($n=3$) of plants grown under high light at 25°C (high light and high temperature, ○), high light at 20°C (high light and medium temperature, △), low light at 25°C (low light and high temperature, ●) and low light at 10°C (low light and low temperature, ■). Different letters indicate significant differences between groups at $P < 0.05$.

F_v/F_m に成長段階による統計的な有意差が見られなかった (図1). 弱光低温で生育した実生の F_v/F_m は弱光高温や強光高温で生育した実生の F_v/F_m よりも低かった. 低温 (10°C) で生育した実生は高温 (25°C) で生育した実生よりも強い光ストレスにさらされている傾向が見られた.

3.3 個体成長と F_v/F_m

F_v/F_m と実生の相対成長速度 (RGR) との間には高い正の相関が見られた (図2, $R=0.985$, $P < 0.05$).

3.4 最大光合成速度

25°C (弱光高温, 強光高温) では展開が進むにつれて葉の最大光合成速度は増加した (図3). 10°C (弱光低温) では, 葉の成長段階の間に有意差は見られなかった. 生育条件間で光合成速度を比較すると葉の展開中 (段階1) には有意差は見られなかったが, 葉の展開終了1週間後 (段階3) には弱光高温, 強光高温 (この2つには有意差はなかった), 強光中温, 弱光低温の順に光合成速度は高かった.

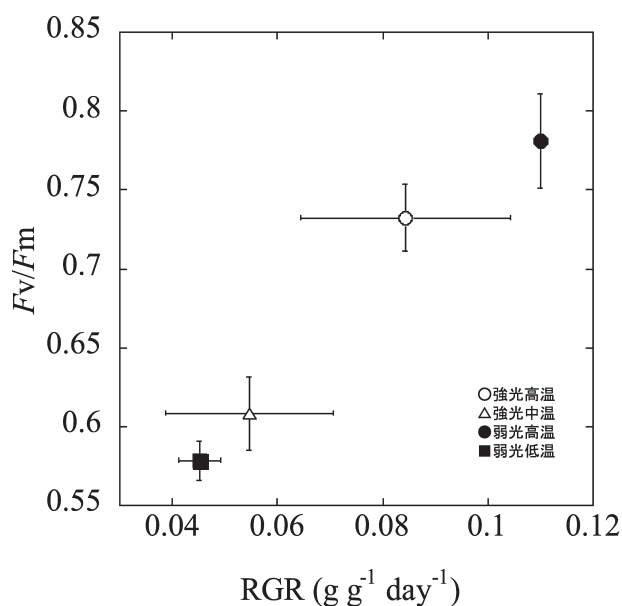


図2: 相対成長速度 (RGR) と F_v/F_m の関係. 各点は強光高温 (○), 強光中温 (△), 弱光高温 (●) および弱光低温 (■) で生育したミズナ実生9個体から求めた値であり, F_v/F_m は平均値および標準誤差を示す.

Figure 2: Relationship between RGR and F_v/F_m . Each symbol shows the values of plants ($n=9$) grown under high light at 25°C (○), high light at 20°C (△), low light at 25°C (●) and low light at 10°C (■).

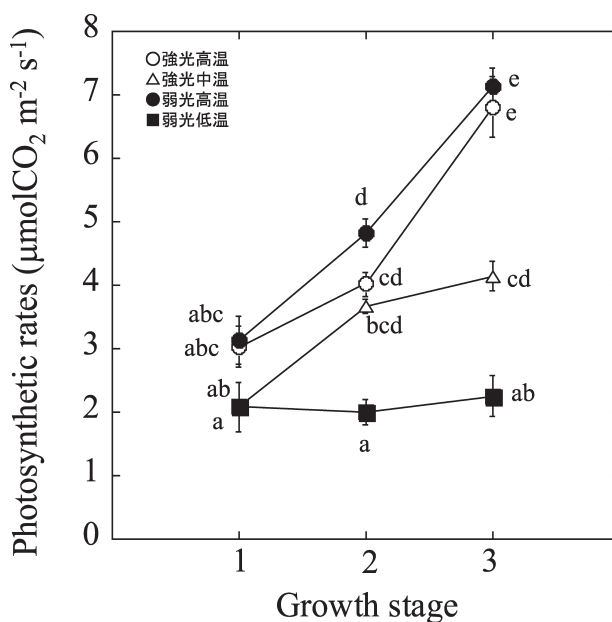


図3: 葉の成長に伴う最大光合成速度の変化. 葉の成長段階は図1と同じ. 強光高温 (○), 強光中温 (△), 弱光高温 (●) および弱光低温 (■) で生育したミズナ実生の3個体の平均値および標準誤差を示す. 異なるアルファベットは $P < 0.05$ で有意差が見られたグループを示す.

Figure 3: Changes in maximum photosynthetic rates in leaves whose area is about half of the leaf fully expanded (stage 1), leaves just fully expanded (stage 2) and the leaves after 1 week of full expansion (stage 3). Each symbol shows the mean and standard error ($n=3$) of plants grown under high light at 25°C (○), high light at 20°C (△), low light at 25°C (●) and low light at 10°C (■). Different letters indicate significant differences between groups at $P < 0.05$.

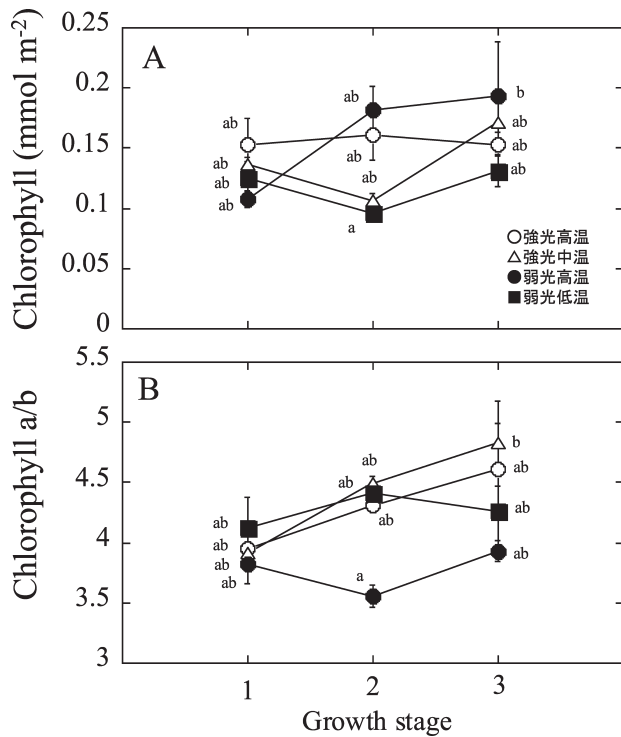


図4：葉の成長に伴うクロロフィル量 (A) とクロロフィル a/b (B) の変化。葉の成長段階は図1と同じ。強光高温 (○), 強光中温 (△), 弱光高温 (●) および弱光低温 (■) で生育したミズナ実生の3個体の平均値および標準誤差を示す。異なるアルファベットは $P < 0.05$ で有意差が見られたグループを示す。

Figure 4: Changes in total chlorophyll content per leaf area (A) and chlorophyll a/b ratio (B) in leaves whose area is about half of the leaf fully expanded (stage 1), leaves just fully expanded (stage 2) and the leaves after 1 week of full expansion (stage 3). Each symbol shows the mean and standard error (n=3) of plants grown under high light at 25°C (○), high light at 20°C (△), low light at 25°C (●) and low light at 10°C (■). Different letters indicate significant differences between groups at $P < 0.05$.

3.5 クロロフィル

同じ生育条件のものを比べたときに、葉面積あたりのクロロフィル量には葉の成長段階による有意差は見られなかった (図4 A)。葉の成長段階が同じものを比べたときに、クロロフィル量には生育条件による有意差は見られなかった (図4 A)。クロロフィル a/b は強光条件 (強光高温, 強光中温) で増加する傾向が見られたが、それぞれの生育条件で葉の成長段階による有意差は見られなかった (図4 B)。葉の成長段階が同じものを比べたときに、クロロフィル a/b には生育条件による有意差は見られなかった (図4 B)。

3.6 キサントフィルサイクル

葉の展開途中 (段階1) では、葉面積あたりのキサントフィルサイクルの色素のプールサイズ (V + A + Z) に生育条件間の有意差は見られなかった (図5 A)。葉の展開終了後 (段階2 および段階3) のキサントフィルサイクルの色素量は、高温 (25°C) では強光条件と比べ

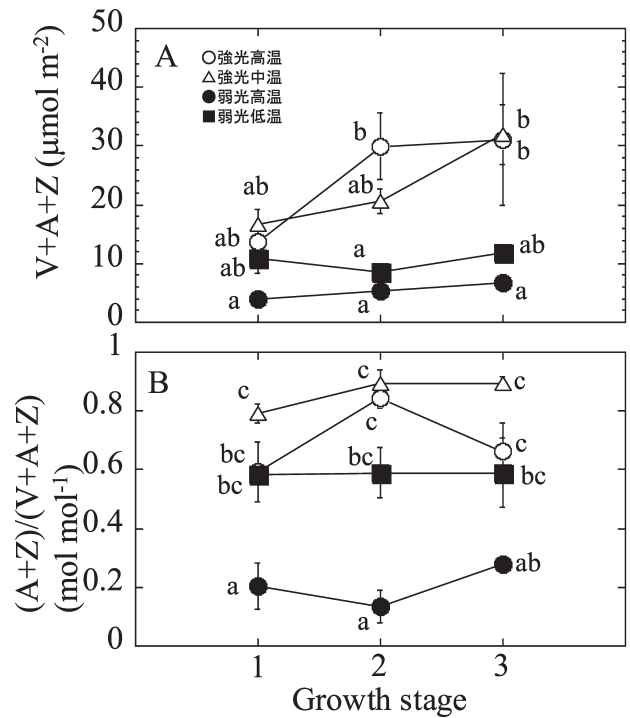


図5：葉の成長に伴う葉面積あたりのキサントフィルサイクル色素量 (A) およびキサントフィルサイクルの脱エポキシ化の割合 (B) の変化。葉の成長段階は図1と同じ。強光高温 (○), 強光中温 (△), 弱光高温 (●) および弱光低温 (■) で生育したミズナ実生の3個体の平均値および標準誤差を示す。異なるアルファベットは $P < 0.05$ で有意差が見られたグループを示す。

Figure 5: Changes in xanthophyll cycle pool size per leaf area (A) and de-epoxidation state of xanthophylls (B) in leaves whose area is about half of the leaf fully expanded (stage 1), leaves just fully expanded (stage 2) and the leaves after 1 week of full expansion (stage 3). Each symbol shows the mean and standard error (n=3) of plants grown under high light at 25°C (○), high light at 20°C (△), low light at 25°C (●) and low light at 10°C (■). Different letters indicate significant differences between groups at $P < 0.05$.

て弱光条件で少なかった (図5 A)。強光条件 (強光高温, 強光中温) では葉の展開に伴って、キサントフィルサイクルのプールサイズが増加する傾向が見られたが、その増加は統計的に有意ではなかった (図5 A)。キサントフィルサイクルの色素の脱エポキシ化の割合 (A + Z)/(V + A + Z) は同じ生育条件で比較したときに、葉の成長段階による有意差は見られなかった (図5 B)。葉の成長段階に関わらず、弱光高温条件では強光条件 (強光高温, 強光中温) と比べて脱エポキシ化の割合は低かった (図5 B)。

3.7 チラコイド膜結合型 APX (tAPX) 活性

葉面積あたりの膜結合型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (tAPX) 活性には、各生育条件において葉の成長段階による有意差は見られなかった (図6)。葉の展開途中 (段階1) では弱光高温条件の tAPX 活性は他の3条件 (強光高温, 強光中温, 弱光低温) よりも低い

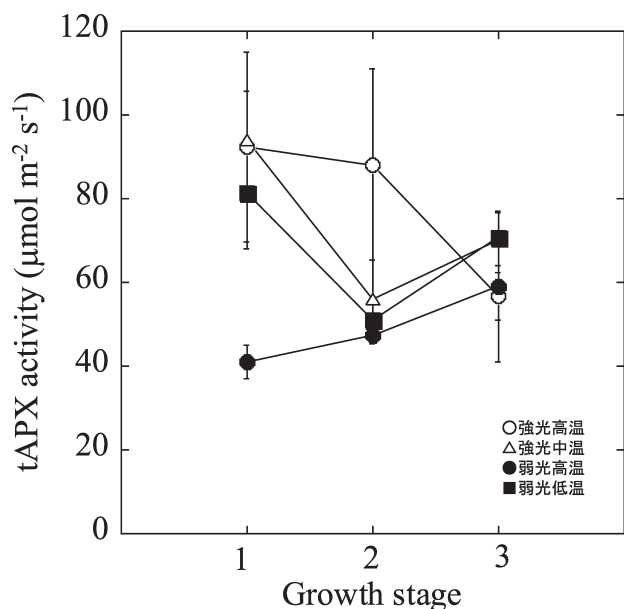


図6：葉の成長に伴う葉面積あたりの膜結合型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (tAPX) 活性の変化。葉の成長段階は図1と同じ。強光高温 (○), 強光中温 (△), 弱光高温 (●) および弱光低温 (■) で生育したミズナラ実生の3個体の平均値および標準誤差を示す。

Figure 6: Changes in membrane-bound APX (tAPX) activity per leaf area in leaves whose area is about half of the leaf fully expanded (stage 1), leaves just fully expanded (stage 2) and the leaves after 1 week of full expansion (stage 3). Each symbol shows the mean and standard error ($n=3$) of plants grown under high light at 25°C (○), high light at 20°C (△), low light at 25°C (●) and low light at 10°C (■).

傾向が見られたが、統計的な有意差はなかった (図6)。

4. 考察

4.1 異なる生育条件下での実生の成長

F_v/F_m は相対成長速度 (RGR) と高い正の相関を示した (図2)。セイヨウアブラナ (*Brassica napus* L.) (Farrage and Long, 1991) やインゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*) (Laing et al., 1995) においても、 F_v/F_m が低い植物は成長速度が低いことが示されている。本研究においても、これらの既往研究と同様な結果が示された。弱光高温では、弱光であっても RGR が高く (図2)、最大光合成速度が高く (図3)、光ストレス応答が少ない (図5) ことから、遷移後期種であるミズナラ (Kikuzawa, 1983; Koike, 1988) の当年生実生に適した生育条件であると考えられる。野外で相対光合成有効光量子束密度 (RPPFD) を 100%, 10%, 2% と変えてミズナラ実生を栽培した実験においても、全乾燥重量には RPPFD 100% と RPPFD 10% とで有意な差が見られなかったものの、クロロフィル量と光合成速度は RPPFD 10% の方が高く、RPPFD 100% で生育した実生は F_v/F_m が低下していた (Matsuki et al., 2003)。

ミズナラは冷温帯林に生育し、低温に順化することが

できる。しかし、我々の研究では 10°C では弱光でも F_v/F_m が低いというように、大きなストレス応答が見られた (図1)。材料と方法で述べたように、強光かつ植物の周囲の温度が 10°C になるように温度を設定すると、葉の展開が著しく阻害され、葉は巻き、非常に小さくなった。何度も実験を繰り返したが、十分な数の個体を得ることができなかった。10°C では弱光はミズナラ実生の生存を可能にするが、強光は生存を大きく阻害すると思われる。オーストラリア高地のユーカリノキ (Egerton et al., 2000) やヨーロッパアカマツ (Slot et al., 2005) では被陰が実生の成長を促すことが知られている。Egerton et al. (2000) は、入射光を 50% に減らすことによって実生の葉の秋冬の F_v/F_m の低下が抑えられ、冬期の光合成速度が高く、また葉の損失が抑えられることを示した。ミズナラ実生でも弱光で成長が促される傾向が見られるが、この研究で調べた生育期間内では、弱光低温で光合成速度や F_v/F_m の増加が抑制され (図1 および 3)、葉の展開に長い日数を要した (材料および方法参照)。したがって、10°C という低温はミズナラ当年生実生にとって過酷な条件であるといえる。種子から生育する当年生実生は、成長に必要な炭水化物をより多く蓄積しているコストと比べて温度の影響を受けやすいと考えられる。また、野外では当年生実生の葉は地表面に近いので、強光で地面が温められて葉の周囲の気温も 10°C より上昇している可能性がある。その場合、この研究における強光中温で得られた結果のように、弱光低温よりも最大光合成活性の増加が大きくなり (図3)、長期的には弱光低温よりも大きく実生が成長すると考えられる。

4.2 葉の成長段階による光エネルギー利用の変化

クロロフィル a/b には生育条件間、葉の成長段階の間に統計的な有意差はなく、強光条件ではむしろ葉の成長に伴ってクロロフィル a/b が増加する傾向が見られた (図4 B) ことから、この研究の条件下では、ミズナラ実生の未成熟葉がアンテナクロロフィルのサイズを縮小して光の吸収を少なくするという応答は行っていないと考えられる。葉の展開1週間後 (段階3) の葉面積あたりのキサントフィルサイクルのプールサイズは強光で生育した植物では弱光で生育した植物よりも大きかった (図5 A)。キサントフィルサイクルの脱エポキシ化の割合は弱光高温で生育した植物で低く、他の条件で生育した植物で高かった (図5 B)。ミズナラの当年生実生では葉の展開に伴ってキサントフィルサイクルのプールサイズが増加する一方、葉の展開の早い時期から強光や低温に応答して脱エポキシ化の割合が変化していることが示された。葉面積あたりのチラコイド膜結合型のアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (tAPX) 活性は生育条件間でも葉の成長段階の間でも統計的に有意な差は見られな

かったが、葉の展開中（段階1）に、弱光高温では他の生育条件よりも活性が低い傾向が見られた（図6）。弱光低温を除き、葉の展開終了1週間後（段階3）まで最大光合成速度は増加した（図3）。葉の展開が終了するまでは炭酸固定能力が低く、吸収された光エネルギーは過剰になる可能性がある。一方、 F_v/F_m やキサントフィルサイクルの脱エポキシ化の割合には葉の成長段階による統計的な有意差は見られなかった（図1および5）。葉の展開中（段階1）はキサントフィルサイクルのプールサイズが小さいため（図5A）、water-waterサイクルが活性酸素による傷害から光合成系を守るために相対的に重要な役割を果たしていると考えられる。葉の成熟に伴い炭酸固定能力が増加するとwater-waterサイクルに向かうエネルギーが減少すると考えられる。このような変化は葉が成熟していく間に F_v/F_m を一定に保つのに役立っていると考えられる。

5. 謝辞

この実験の一部は低温科学研究所の低温実験室2および3を使って行われた。ミズナラ種子を提供していただいた北海道大学雨龍研究林の植村滋准教授、実験の技術サポートをいただいた江藤典子氏に感謝の意を表す。

6. 参考文献

- Adams III W.W. and B. Demmig-Adams (1992) Operation of the xanthophyll cycle in higher plants in response to diurnal changes in incident sunlight. *Planta* **186**: 390-398.
- Asada K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **50**: 601-639.
- 浅田浩二 (1999) 葉の光環境変動に対する迅速適応. 植物の環境応答 生存戦略とその分子機構. (渡邊昭ら 編): 107-119, 秀潤社, 東京.
- Björkman O. and B. Demmig (1987) Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* **170**: 489-504.
- Demmig-Adams B. and W.W. Adams III (1996) The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends Plant Sci.* **1**: 21-26.
- Egerton J.J.G., J.C.G. Banks, A. Gibson, R.B. Cunningham and M.C. Ball (2000) Facilitation of seedling establishment: reduction in irradiance enhances winter growth of *Eucalyptus Pauciflora*. *Ecology* **81**: 1437-1449.
- Farage P.K. and S.P. Long (1991) The occurrence of photoinhibition in an over-wintering crop of oil-seed rape (*Brassica napus* L.) and its correlation with changes in crop growth. *Planta* **185**: 279-286.
- Han Q. and Y. Mukai (1999) Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis accompanied by needle color changes in *Cryptomeria japonica* during the winter. *J. Forest Res.* **4**: 229-234.
- Hunt R. (1990) *Basic growth analysis - Plant growth analysis for beginners* - Unwin Hyman Ltd.
- Jiang C.-H., P.-M. Li, H.-Y. Gao, Q. Zou, G.-M. Jiang and L.-H. Li (2005) Enhanced photoprotection at the early stages of leaf expansion in the field-grown soybean plants. *Plant Sci.* **168**: 911-919.
- Kikuzawa K. (1983) Leaf survival of woody plants in deciduous broad-leaved forests. I. Tall trees. *Can. J. Bot.* **61**: 2133-2139.
- Koike T. (1988) Leaf structure and photosynthetic performance as related to the forest succession of deciduous broad-leaved trees. *Plant Species Biol.* **3**: 77-87.
- 小山浩正, 日浦勉, 五十嵐恒夫 (1992) ミズナラ実生の発生時期と当年成長量. 日林北支論, 40, 74-76.
- Krause G.H., A. Virgo and K. Winter (1995) High susceptibility to photoinhibition of young leaves of tropical forest trees. *Planta* **197**: 583-591.
- Krivosheeva A., D.-L. Tao, C. Ottander, G. Wingsle, S.L. Dube and G. Öquist (1996) Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis in Scots pine. *Planta* **200**: 296-305.
- Laing W. A., D.H. Greer and T.A. Schnell (1995) Photoinhibition of photosynthesis causes a reduction in vegetative growth rates of dwarf bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *Aust. J. Plant Physiol.* **22**: 511-520.
- Li B., Suzuki J. and T. Hara (1998) Latitudinal variation in plant size and relative growth rate in *Arabidopsis thaliana*. *Oecologia* **115**: 293-301.
- Matsuki S., K. Ogawa, A. Tanaka and T. Hara (2003) Morphological and photosynthetic responses of *Quercus crispula* seedlings to high-light conditions. *Tree Physiol.* **23**: 769-775.
- Maxwell K. and N.G. Johnson (2000) Chlorophyll fluorescence — a practical guide. *J. Exp. Bot.* **51**: 659-668.
- Nakano Y. and K. Asada (1987) Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radicals. *Plant Cell Physiol.* **28**: 131-140.
- Slot M., C. Wirth, J. Schumacher, G.M.J. Mohren, O. Shibistova, J. Lloyd and I. Ensminger (2005) Regeneration patterns in boreal Scots pine glades linked to cold-induced photoinhibition. *Tree Physiol.* **25**: 1139-1150.
- Tabata, A., K. Ono, A. Sumida and T. Hara (2010) Effects

- of soil water conditions on the morphology, phenology, and photosynthesis of *Betula ermanii* in the boreal forest. *Ecol. Res.* 25, 823-835.
- Yamamoto, H. Y. and R. Bassi (1996) Carotenoids: localization and function. In *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*. Eds. D. R. Ort and C. F. Yocum. *Advances in Photosynthesis* 4. Kluwer, Dordrecht, pp 539-563.
- Yoo S.D., D.H. Greer, W.A. Laing and M.T. McMaus (2003) Changes in photosynthetic efficiency and carotenoid composition in leaves of white clover at different developmental stages. *Plant Physiol. Biochem.* 41: 887-893.