

青色光とABAに応答したC₄植物の葉肉細胞における葉緑体の運動[§]

名古屋大学大学院 生命農学研究科

間合 絵里*、三宅 博、谷口 光隆

1. はじめに

葉緑体は光、低温、接触刺激などの外的刺激に反応して細胞内を移動する^{1,2)}。このうち、光によって誘導される葉緑体光定位運動は藻類、コケ植物、シダ植物、種子植物で確認されており、葉緑体は弱光下では入射光と直角な細胞表面に集まり（集合運動）、強光下では入射光に対して平行な細胞表面に移動する（逃避運動）。集合運動では、葉緑体が光を吸収できるような位置に定位することで光合成効率を高める役割を担い^{3,4)}、逃避運動では、葉緑体が光をできるだけ吸収しないような位置に定位することで光損傷を防ぐ役割を担うと考えられている^{5,6)}。C₃植物の葉緑体運動は一般的に青色光によって誘導され、青色光受容体であるフォトトロピンを介するのに対し^{7,8)}、シダ植物、コケ植物、緑藻の葉緑体運動は、青色光だけでなく赤色光でも誘導され、赤色光受容体であるフィトクロムも介する⁹⁾。これらの植物の葉緑体運動については盛んに研究されているが、C₄植物の葉緑体運動に関する報告は非常に少ない^{10,11)}。

一般的なC₄植物の葉組織では、発達した葉緑体を含む一層の維管束鞘細胞が維管束を取り囲み、さらにその外側を一層の葉肉細胞が放射状に取り囲む Kranz 構造を形成している（図1）。この両細胞にまたがって機能するC₄ジカルボン酸回路によってCO₂を濃縮し、Calvin-Benson 回路にCO₂を受け渡している。また、C₄植物は脱炭酸酵素の違いにより、NADP-ME型、NAD-ME型、PCK型の3つのサブタイプに分類される。これら3つのサブタイプの維管束鞘葉緑体は維管束側または葉肉細胞側に局在しているのに対し、葉肉葉緑体は細胞膜周辺に均一に分布している。

我々のグループは以前に、NAD-ME型 C₄植物であるシコクビエが、極強光（3,000 μmol m⁻² s⁻¹）、乾

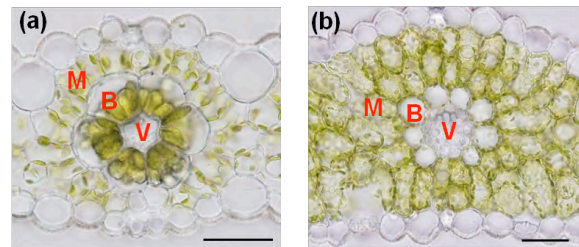


図1 (a) C₄植物シコクビエおよび、(b) C₃植物オオムギの葉内構造

シコクビエでは維管束 (V) の周りを発達した葉緑体を含む維管束鞘細胞 (B) と、一層の葉肉細胞 (M) が取り囲む Kranz 構造をとり、両細胞が連携して光合成が行われている。オオムギでは維管束鞘細胞の外側に数層の葉肉細胞が取り囲んでいる。維管束鞘細胞の葉緑体は少なく、主に葉肉細胞が光合成の場となる。Scale bars: 50 μm

燥、塩といった環境ストレスにさらされると、葉肉葉緑体は維管束鞘細胞側へ集合するように移動（凝集運動）し、この運動には光とABAが関与することを報告した¹²⁾。乾燥、塩、高浸透圧のいずれのストレスも植物体内のABA含量を増加させることから、環境ストレスによりABAが生成され、葉緑体の移動を誘導すると考えられた。

ここでは、C₄植物の葉緑体運動を誘導する光質およびABAとの関係について検討した結果を紹介する¹³⁾。

2. 葉肉葉緑体の凝集運動に対するABAと光照射時間との関係

まず、シコクビエ葉肉葉緑体のABAに応答した凝集運動の経時変化を調べた。葉片に 30 μM ABA 溶液を減圧浸透させ、ABA溶液上に浮かべて100 μmol m⁻² s⁻¹の白色光を1~20時間照射した結果、光照射6時間後に葉肉葉緑体が維管束鞘細胞側へ凝集し始め、8時間以後、明白な凝集運動が見られた（図2）。明処

§ 第1回日本光合成学会シンポジウム ポスター賞受賞論文

* 連絡先 E-mail: maai.eri@h.mbox.nagoya-u.ac.jp

理の -ABA 区、暗処理の -ABA 区および +ABA 区ではいずれも葉肉葉緑体の移動は見られなかったため、光と ABA が必須であることがわかる。シコクビエ植物体に着生したままの葉に極強光を照射した際に見られる凝集運動が 1 時間以内に起こるのに対して¹²⁾、葉片をインキュベーションする実験では運動が起こるまでに時間を要するが、この実験系を用いることで各種化合物の影響を調べることができるようになった。その結果、ABA 以外の植物ホルモンや活性酸素は凝集運動に関与していないことを明らかにしている¹³⁾。

研究が進んでいる C₃ 植物シロイヌナズナにおいては、シコクビエと比較してより弱い光強度かつ、より短時間で葉緑体逃避運動が起こる^{14,15)}。シコクビエの葉緑体運動は、C₃ 植物の葉緑体運動とは大きく異なる側面をもつが、以下のように共通した側面も見られる。

3. 葉肉葉緑体の凝集運動を誘導する光質

シコクビエの葉緑体運動には光が必要である。前述のように、C₃ 植物の葉緑体運動には青色光あるいは赤色光が関与しており、シコクビエの葉緑体運動においてもこれらの光が関与する可能性が考えられた。そこで、シコクビエ葉片に、30 μM ABA を含む、または含まない溶液を減圧浸透後、同様の溶液に浮かべ、向軸側から赤色 (660 nm) あるいは青色 (450 nm) の LED 光を 8 時間照射して葉肉葉緑体の挙動を観察した。

赤色光を照射した場合には、100 μmol m⁻² s⁻¹、500 μmol m⁻² s⁻¹ のいずれの光強度においても、ABA の有無に関わらず葉緑体の移動は見られなかった。

一方、青色光を照射した場合には、凝集運動に加えて、シロイヌナズナで見られるような逃避運動も観察された (図3)。興味深いことに、移動方向の異なるこの2種類の葉緑体運動は ABA と青色光強度に依存して変化することがわかった。20 μmol m⁻² s⁻¹ の青色光を照射した場合、-ABA 区では葉緑体運動は観察されなかったが (図3a)、+ABA 区においては凝集運動が誘導された (図3b)。次に、100 μmol m⁻² s⁻¹ の青色光を照射したところ、-ABA 区では逃避運動が誘導され (図3c)、+ABA 区では向軸側 (光照射面) で逃避運動、背軸側で凝集運動が誘導された (図3d)。さらに、500 μmol m⁻² s⁻¹ の青色光を照射したところ、-ABA 区では向軸側 (光照射面) で逃避運動、背軸側

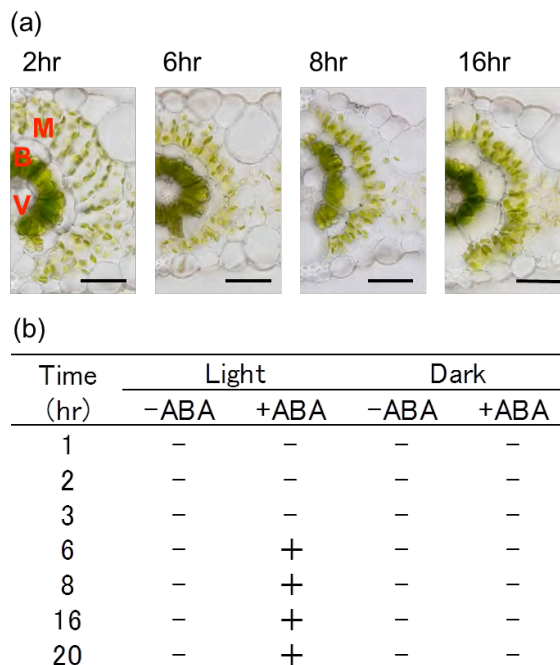


図2 (a) 光と ABA に応答した葉肉細胞における葉緑体凝集運動の経時変化および、(b) シコクビエ葉肉細胞における葉緑体凝集運動に対する光と ABA の効果

表中の - は凝集運動が見られなかったことを、+ は見られたことを示している。Scale bars: 50 μm

で凝集運動が誘導されたのに対し (図3e)、+ABA 区では向軸側、背軸側ともに凝集運動が誘導された (図3f)。これらの結果から、シコクビエ葉肉葉緑体には逃避運動と凝集運動の両機構が存在するが、青色光強度と ABA のバランスにより、それらの運動の優位性が異なることが示唆された。つまり、ある程度の青色光により逃避運動が誘導されるが、ABA が共存すると凝集運動の反応性が高くなると考えられる。しかし、100 μmol m⁻² s⁻¹ の青色光を照射した +ABA 区に向軸側と背軸側で反応が異なった理由はうまく説明できていない。また、500 μmol m⁻² s⁻¹ の青色光は逃避運動を十分に誘導しうる強光であったと推測されるが、強光ゆえに葉内で ABA が生成され、-ABA 区の背軸側で凝集運動が誘導されたという可能性が考えられる。そこで、-ABA 区の葉の両面に 500 μmol m⁻² s⁻¹ の青色光を照射したところ、向軸側、背軸側ともに凝集運動が誘導された。このように、青色光強度と ABA の関連性は単純なものでなく、謎解きにはまだ時間がかかりそうである。

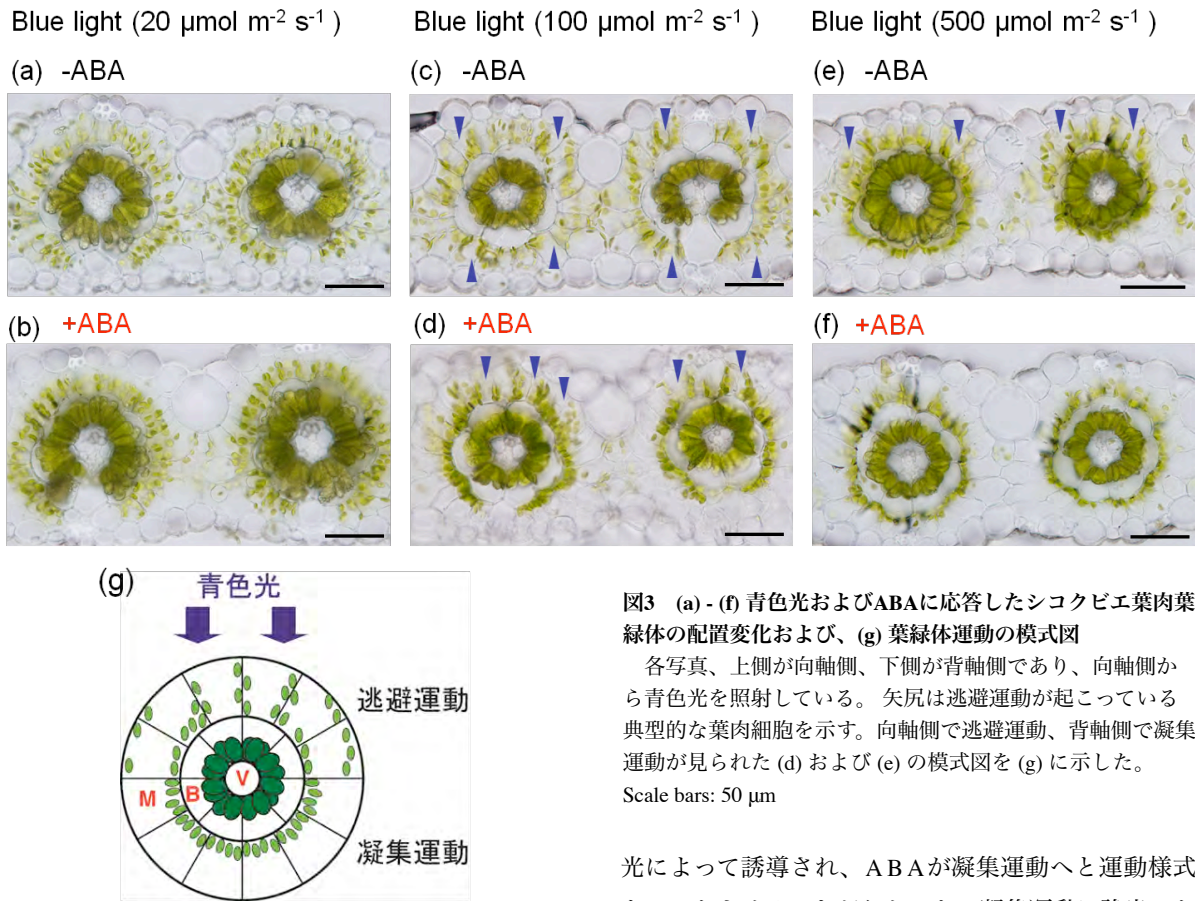


図3 (a) - (f) 青色光およびABAに反応したシコクビエ葉肉葉緑体の配置変化および、(g) 葉緑体運動の模式図

各写真、上側が向軸側、下側が背軸側であり、向軸側から青色光を照射している。矢尻は逃避運動が起こっている典型的な葉肉細胞を示す。向軸側で逃避運動、背軸側で凝集運動が見られた(d)および(e)の模式図を(g)に示した。

Scale bars: 50 μm

4. トウモロコシの葉緑体運動

シコクビエで見られた葉肉葉緑体の凝集運動が、他の C_4 植物においても見られるか確かめるため、NADP-ME 型 C_4 植物であるトウモロコシを用いてシコクビエと同様の青色光照射実験を行った。100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の青色光をトウモロコシ葉片の向軸側から8時間照射し、葉肉葉緑体を観察したところ、-ABA 区では向軸側、背軸側ともに逃避運動がみられ、+ABA 区では向軸側で逃避運動、背軸側で凝集運動が見られた。これは、同条件のシコクビエの葉緑体運動と一致する結果であった。この結果は、 C_4 植物が種を越えて、青色光とABAに反応した葉緑体運動の機構を保持していることを示唆している。一方、同じイネ科の C_3 植物オオムギにおいては凝集運動は誘導されなかった。さらに、塩や乾燥などの環境ストレスに反応した葉肉葉緑体の凝集運動がイネ科 C_4 植物の3種のサブタイプで起こることも確認しており、葉肉葉緑体の凝集運動は C_4 植物共通の特徴だと考えられる¹³⁾。

5. おわりに

今回の研究では、 C_4 葉肉葉緑体の逃避運動が青色

光によって誘導され、ABAが凝集運動へと運動様式をシフトさせることがわかった。凝集運動は強光ストレスでも誘導されることから、葉肉葉緑体が維管束側へ集まることで強光による光阻害を回避する役割があるのかもしれない。加えて、葉肉葉緑体の凝集運動は、維管束鞘細胞から漏出した CO_2 を再固定し、環境ストレスに伴う光合成効率の低下を抑える役割も果たしている可能性がある。このような葉肉葉緑体の凝集運動は真夏の炎天下で乾燥土壌に生育する C_4 植物でも起こっており、曇天や夜間などストレスが軽減した際には均一配置へ戻ることが確認されている¹²⁾。凝集運動は C_4 植物のサブタイプを越えて共通な機構で起こることが確認されたが、現在のところ、 C_3 植物における報告はない。葉緑体が細胞内で凝集配置をとる例は、単一細胞で C_4 光合成を行う植物¹⁶⁾ や塩ストレスにさらされた CAM 植物¹⁷⁾ で報告されている。 C_4 植物の葉緑体凝集運動は C_3 植物の葉緑体光定位運動と同じくアクトミオシン系が関与することが明らかとなっている¹²⁾。また、どのような条件でも維管束鞘葉緑体は全くその位置を変えない。 C_4 植物は C_3 植物から進化する過程で、光合成細胞の分化と細胞特異的な葉緑体凝集運動機構を獲得することで、環境ストレス耐性を向上してきたのかもしれない。

今後、青色光およびABAの受容から葉緑体運動誘起までの情報伝達、方向性をもった葉緑体の移動メカニズムを明らかにするとともに、凝集運動がC₄植物の環境ストレス耐性能にどの程度貢献しているのかを調べ、凝集運動の生理的意義を解明していきたいと考えている。

Received March 11, 2011, Accepted March 17, 2011,
Published April 30, 2011

参考文献

1. 末次憲之, 和田正三 (2007) 光環境と光ストレスに対する葉緑体光定位運動による適応. 蛋白質 核酸 酵素. 52, 587-593.
2. Sato, Y., and Kadota, A. (2007) Chloroplast movement in response to environmental signals, in *The Structure and Function of Plastids* (Wise, R. R., and Hooper, J. K., Eds.) pp 527-537, Springer, Heidelberg, Germany.
3. Zurzycki, J. (1957) The destructive effect of light on the photosynthetic apparatus. *Acta Soc. Bot. Pol.* 26, 157-175.
4. Park, Y.-I., Chow, W.S., and Anderson, J.M. (1996) Chloroplast movement in the shade plant *Tradescantia albiflora* helps protect photosystem II against light stress. *Plant Physiol.* 111, 867-875.
5. Zurzycki, J. (1955) Chloroplast arrangement as a factor in photosynthesis. *Acta Soc. Bot. Pol.* 24, 27-63.
6. Kasahara, M., Kagawa, T., Oikawa, K., Suetsugu, N., Miyao, M., and Wada, M. (2002) Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature* 420, 829-832.
7. Haupt, W., and Scheuerlein, R. (1990) Chloroplast movement. *Plant Cell Environ.* 13, 595-614.
8. Wada, M., Kagawa, T., and Sato, Y. (2003) Chloroplast movement. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54, 455-468.
9. Kawai, H., Kanegae, T., Christensen, S., Kiyosue, T., Sato, Y., Imaizumi, T., Kadota, A., and Wada, M. (2003) Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature* 421, 287-290.
10. Inoue, Y., and Shibata, K. (1974) Comparative examination of terrestrial plant leaves in terms of light-induced absorption changes due to chloroplast rearrangements. *Plant Cell Physiol.* 15, 717-721.
11. Lal, A., and Edwards, G.E. (1996) Analysis of inhibition of photosynthesis under water stress in the C₄ species *Amaranthus cruentus* and *Zea mays*: Electron transport, CO₂ fixation and carboxylation capacity. *Aust. J. Plant Physiol.* 23, 403-412.
12. Yamada, M., Kawasaki, M., Sugiyama, T., Miyake, H., and Taniguchi, M. (2009) Differential positioning of C₄ mesophyll and bundle sheath chloroplasts: Aggregative movement of C₄ mesophyll chloroplasts in response to environmental stresses. *Plant Cell Physiol.* 50, 1736-1749.
13. Maai, E., Shimada, S., Yamada, M., Sugiyama, T., Miyake, H., and Taniguchi, M. (2011) The avoidance and aggregative movements of mesophyll chloroplasts in C₄ monocots in response to blue light and abscisic acid. *J. Exp. Bot.* (in press).
14. Luesse D.R., DeBlasio, S.L., and Hangarter, R.P. (2010) Integration of phot1, phot2, and PhyB signaling in light-induced chloroplast movements. *J. Exp. Bot.* 61, 4387-4397.
15. DeBlasio, S.L., Luesse, D.L., and Hangarter, R.P. (2005) A plant-specific protein essential for blue-light-induced chloroplast movements. *Plant Physiol.* 139, 101-114.
16. Edwards, G.E., and Voznesenskaya, E.V. (2011) C₄ photosynthesis : Kranz forms and single-cell C₄ in terrestrial plants, in *C₄ Photosynthesis and Related CO₂ Concentrating Mechanisms* (Raghavendra, A. S., and Sage, R. F., Eds.) pp 29-61, Springer, Heidelberg.
17. Kondo, A., Kaikawa, J., Funaguma, T., and Ueno, O. (2004) Clumping and dispersal of chloroplasts in succulent plants. *Planta* 219, 500-506.

Movement of Chloroplasts in C₄ Mesophyll Cells in Response to Blue Light and Abscisic Acid

Eri Maai*, Hiroshi Miyake, Mitsutaka Taniguchi
Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University