



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Citrullus

vulgarisの葉身と葉肉プロトプラストの光合成活性に
及ぼす倍数性の効果

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2022-06-07
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 渡部, 信義, 川尻, 達也
	メールアドレス:
URL	所属:
	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5465

Citrullus vulgaris の葉身と葉肉プロトプラストの 光合成活性に及ぼす倍数性の効果

渡部信義・川尻達也

植物生産遺伝学講座

(1990年7月31日受理)

Ploidar Effects on the Photosynthetic Rates of Leaves and Mesophyll Protoplasts of *Citrullus vulgaris*

Nobuyoshi WATANABE and Tatsuya KAWAJIRI

Department of Plant Genetics and Production

(Received July 31, 1990)

SUMMARY

The objective of this study was to assess the ploidar effects on the photosynthetic rates of leaves and mesophyll protoplasts of *Citrullus vulgaris*. Cultivar Asahi Yamato-diploid had higher leaf photosynthetic rates than those for Asahi Yamato-triploid and Asahi Yamato-tetraploid. Protoplast diameter, protoplast surface area and chlorophyll content per protoplast were increased with ploidar level. These results are broadly in agreement with those from other studies on intact leaves and suggest that the effects of polyploidy on depressing photosynthesis in intact leaves are not entirely mediated by alteration gaseous CO₂ diffusion.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (55) : 19—22, 1990.

要 約

Citrullus vulgaris (スイカ) の一品種 Asahi Yamato の二倍体、三倍体及び四倍体植物を用いて、葉身および葉肉プロトプラストの光合成活性に及ぼす倍数性の遺伝的効果を明らかにした。二倍体植物の葉身の光合成活性は、三倍体及び四倍体植物よりも高い。一方、葉肉プロトプラスト当り光合成活性は、高倍数体となるにしたがって高くなった。これは、高倍数体植物の葉肉プロトプラストの直径、表面積およびプロトプラスト当りクロロフィル量が増加していることに由来する。

結 言

葉肉プロトプラストの大きさ及びプロトプラスト当りの光合成活性は核の倍数性に依存している¹⁾。しかし、三倍体や五倍体のような奇数倍数体の種子を得ることは一般的に困難であることが多いので、それらの葉身および葉肉プロトプラストの光合成活性が検討されたことはなかった。

スイカ (*Citrullus vulgaris*) は四倍体親と二倍体親との交雑によって三倍体種子を得ることができ²⁾、いわゆる“たねなしスイカ”として市販されることがある。

本実験では、スイカを用いて葉身と葉肉プロトプラストの光合成活性に及ぼす倍数性の効果を明らかにしようとした。

材 料 と 方 法

スイカの二倍体の品種 Asahi Yamato およびその四倍体の株を用いて、四倍体親を母方として二倍体親の花粉を受粉することによって、三倍体の種子を得た。また二倍体および四倍体の自殖種子も得た。得ら

れた 3 系統の種子を催芽後、直径15cmの素焼鉢に 1 個体ずつ生育させた。

葉身の光合成活性を測定するために、十分に展開した葉から、リーフパンチで直径 4 mmの葉片を 1 個体当たり25枚採取した。測定は 1 個体を 1 反復とし、3 個体を測定した。葉片を50mM Hepes-NaOH 緩衝液 (pH7.2) 中で真空脱気し、十分に、緩衝液になじませた。その後、3 ml の50mM Hepes-NaOH 緩衝液 (pH7.2) とともに酸素電極装置 (Rank Brothers 社製) の反応槽に入れて、0.625M NaHCO_3 を100 μl 添加し、300 W のハロゲンランプ (ナショナル JCD100V300WC/G) による、約100klux の飽和光を照明し、光合成活性を測定した。反応温度を20℃とした。更に、光合成測定直後の葉片を80%アセトンに、浸漬し、48時間冷暗所条件下におき、葉片からクロロフィルが完全に抽出されたのを確認した後、その抽出液のクロロフィル量を、分光光度計で定量した³⁾。光合成活性を、 $\mu\text{mol O}_2 \text{dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ および $\mu\text{mol mg chl}^{-1} \text{h}^{-1}$ で表し、クロロフィル量を mg Chl dm^{-2} で表した。

次に、葉肉プロトプラストの光合成活性の測定のための葉肉プロトプラストの単離法を記述する。十分に展開した葉身をカミソリの刃で縦 1 mm, 横 1 mm程度に細かく刻み、0.5M マンニトール、1% (w/v) セルラーゼ オノヅカ RS, 0.3% (w/v) マセロチーム オノヅカ R10, 0.05% (w/v) BSA および 1 mM CaCl_2 からなる pH5.5 に調製した酵素液に漬け、酵素液が葉片によく浸透するように、真空ポンプで30秒ほど脱気した。その後20℃条件下で振とうとした。4 時間後、試料を茶コシでろ過し、未消化の植物組織を捨て、更に、孔の大きさが100 $\mu\text{m} \times 100\mu\text{m}$ のナイロン布でろ過した。ろ液は、主として葉肉プロトプラストと葉緑体からなっているので、プロトプラストだけを得るために、80 xg で 7 分間遠心することによって、プロトプラストを集めた。プロトプラスト懸濁液中の残余の酵素を0.5M マンニトール、0.05% (w/v) BSA および 1 mM CaCl_2 からなる洗浄液 (pH5.5) で 2 度、80xg で 7 分間遠心することによって洗浄した。その後、光合成活性測定のために、50mM Hepes-NaOH緩衝液(pH7.2), 0.5M マンニトールおよび10mM EDTA からなる反応液にクロロフィル量が15~20 $\mu\text{g/ml}$ になるようにプロトプラストを懸濁した。1 系統についてプロトプラストを 3 回単離し、測定用の懸濁液を用意した。

光合成による酸素発生は、葉身の光合成活性の測定と同様に、酸素電極装置を用い、3 ml の測定用の懸濁液に100 μl の 1 M NaHCO_3 を添加し、葉身の光合成活性測定と同じ条件で照明し光合成を開始させた。懸濁液中のプロトプラスト数を血球計算盤を用いて数え、プロトプラストの直径をマイクロメーターで測定した。光合成活性を $\mu\text{mol O}_2 \text{mg Chl}^{-1} \text{h}^{-1}$ および $\mu\text{mol O}_2 (10^6 \text{ protoplasts})^{-1} \text{h}^{-1}$ 、またプロトプラスト当たりクロロフィル量を $\text{mg} (10^6 \text{ protoplasts})^{-1}$ 、プロトプラストの直径を μm で表した。

結果および考察

Table 1 に葉身の光合成活性および単位葉面積当たりクロロフィル量を示した。Asahi Yamato 二倍体の葉身の光合成活性は129.2 $\mu\text{mol dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ であったのに対して、三倍体では116.1 $\mu\text{mol dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ であり、四倍体では、115.5 $\mu\text{mol dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ であった。この結果から、二倍体に対して三倍体および四倍体は光合成活性が低下している。しかし、三倍体および四倍体の単位葉面積当たりクロロフィル量は二倍体よりも多くなっている。結果的には、三倍体と四倍体の mg クロロフィル量当りの光合成活性は、著しく低下した。

Table 1. Ploidar effects on the photosynthetic oxygen evolution and chlorophyll content of leaves of Asahi Yamato, a cultivar of *Citrullus vulgaris*.

Ploidar level	Photosynthetic oxygen evolution ($\mu\text{mol dm}^{-2} \text{h}^{-1}$) ($\mu\text{mol mg Chl}^{-1} \text{h}^{-1}$)		Chlorophyll content (mg Chl dm^{-2})
diploid	129.2	71.8	1.80
triploid	116.1	42.2	2.75
tetraploid	115.5	43.9	2.63
S. E. of genotype mean	3.73	4.40	0.321

Table 2 には葉肉プロトプラストの光合成活性と関連する形質を示した。葉身の mg クロロフィル量当り光合成活性に関して得られた傾向と同様に、三倍体と四倍体の mg クロロフィル量当り光合成活性は二倍体のそれに比較して著しく低下している。また、葉身に比較して、プロトプラストの mg クロロフィル量当り光合成活性は、二倍体では、69.1%，三倍体では73.7%および四倍体では83.6%となり、それぞれ低くなっている。このことは、プロトプラストの単離過程で光合成装置に障害が生じたことを示している。

プロトプラストの直径は、二倍体では18.3 μm 、三倍体では26.1 μm 、そして四倍体では35.4 μm となり、1 : 1.42 : 1.93の比となっている。同様にプロトプラスト当りのクロロフィル量は二倍体は0.0659mg、三倍体は0.1309mg、四倍体は0.1874mg となってその比は1 : 1.99 : 2.84であった。これは *Triticum* 属および *Avena* 属で得られた傾向⁴⁾と一致する。プロトプラスト当りの光合成活性も同様に、二倍体は3.23 $\mu\text{mol O}_2$ (10^6 protoplasts)⁻¹h⁻¹、三倍体は4.07 $\mu\text{mol O}_2$ (10^6 protoplasts)⁻¹h⁻¹、四倍体は5.90 $\mu\text{mol O}_2$ (10^6 protoplasts)⁻¹h⁻¹ となり、その比は1 : 1.26 : 1.83となり、高倍数体になるにしたがって光合成活性は高いことが明らかである。

Table 2. Ploidar effects on the photosynthetic oxygen evolution, chlorophyll content and diameter of mesophyll protoplasts isolated from mature leaves of Asahi Yamato, a cultivar of *Citrullus vulgaris*.

Ploidar level	Photosynthetic oxygen evolution ($\mu\text{mol mg Chl}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ($\mu\text{mol (10}^6\text{protoplasts)}^{-1} \text{ h}^{-1}$)		Chlorophyll content (mg (10^6 protoplasts) ⁻¹)	Protoplast diameter (μm)
diploid	49.6	3.23	0.0659	18.3
triploid	31.1	4.07	0.1309	26.1
tetraploid	36.7	5.90	0.1874	35.4
S. E. of genotype mean	0.77	0.370	0.0198	0.11

葉身と葉肉プロトプラストの光合成活性の関係を検討するために、 $4 \times 3.14 \times (\text{プロトプラストの半径})^2$ から、プロトプラストの表面積を、葉面積当りクロロフィル量/プロトプラスト当りクロロフィル量から葉面積当りの葉肉プロトプラスト数を推定した。更に、プロトプラスト当り光合成活性と葉身のクロロフィル量から推定葉面積当り光合成活性を推定した。葉面積当りのプロトプラスト数は全ての葉肉細胞がプロトプラスト化されたことを仮定し、推定葉面積当り光合成活性は単離される前の全ての葉肉細胞が葉肉プロトプラストと同じ活性を有していたことを仮定する。Table 3 にこれらの推定値を示した。プロトプラストの表面積を倍数体間の比較を比で示すと1 : 2.03 : 3.65となり、葉面積当りの葉肉プロトプラスト数の比は1 : 0.77 : 0.51, 推定葉面積当り光合成活性の比は、1 : 0.97 : 0.94となった。このことは倍数体では、細胞当り光合成活性は増加するけれども、葉面積当りの細胞数が減少するため、結果的には、葉面積当り光合成活性が低下するか、或は、ほとんど変わりが無いことが推定される。

Timko & Vasconcelos (1981a, b)^{5,6)}がヒマ (*Ricinus communis*) の半数体、二倍体および四倍体の間の光合成活性およびクロロフィルタンパク質の比較をしたところ、単位葉面積当りの光合成活性は半数体

Table 3. Estimated values from performance of mesophyll protoplasts isolated from mature leaves of Asahi Yamato, a cultivar of *Citrullus vulgaris*.

Ploidar level	Protoplast surface area ($\times 10^3 \mu\text{m}^2$)	Mesophyll cell numbem/leaf area ($\times 10^6/\text{dm}^{-2}$)	Photosynthetic oxygen evolution/leaf area ($\mu\text{mol dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$)
diploid	4.21	27.3	88.2
triploid	8.56	21.0	85.5
tetraploid	15.38	14.0	82.8

がもっとも高く、高倍数体になるにしたがって低くなった。この傾向は mg クロロフィル量当りの光合成活性に関しても確認された。更に、この傾向は葉緑体の電子伝達活性においても確認された。しかしクロロフィルタンパク質複合体に結合しているクロロフィルの分布に差異は観察されなかった。葉身の光合成活性が高倍数体において低下する傾向はオオムギの四倍体においても観察されている (Sicher *et al.* 1984)⁷⁾。本実験のスイカにおいてもこの傾向が確認できた。

文 献

- 1) Watanabe, N., Mizuno, K. & Nishikawa, K. : Contrition of D genome to the photosynthetic oxygen evolution in mesophyll protoplasts isolated from leaves of wheat seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* **26** : 421-425, 1988.
- 2) Kihara, H. : Triploid watermelons. *Amer. Soc. Hort. Sci.* **58** : 217-230, 1951.
- 3) Arnon, D. I. : Copper enzyme in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* **24** : 1-5, 1949.
- 4) Watanabe, N. & Nishikawa, K. : Photosynthetic rates in mesophyll protoplasts of *Triticum* and *Avena*. *Proc. of the 6th Internatl. Congr. of SABRAO* : 373-376, 1989.
- 5) Timko, M. P. & Vasconcelos, A. C. : Photosynthetic activity and chloroplast membrane polypeptides in euploid cells of *Ricinus*. *Physiol. Plant.* **52** : 191-196, 1981a.
- 6) Timko, M. P. & Vasconcelos, A. C. : Euploidy in *Ricinus*. Euploidy effects on photosynthetic activity and content of chlorophyll-proteins. *Plant Physiol.* **67** : 1084-1089, 1981b.
- 7) Sicher, R. C., Kremer, D. F., Harris, W. G. & Baenziger, P. S. : Photosynthate partitioning in diploid and autotetraploid barley (*Hordeum vulgare*). *Physiol. Plant.* **60** : 239-246, 1984.