

Laelia anceps Lindl.の一年枝葉における CO₂交換速度の時系列解析

Time series analysis of the CO₂ exchange rate in the
one-year-old leaves of *Laelia anceps* Lindl.

銅 金 裕 司*

Yuji DOGANE

安 藤 敏 夫**

Toshio ANDO

Abstract

Intensity of net photosynthesis in the mature leaf on a one-year-old shoot of *Laelia anceps* Lindl., Orchidaceae, increased in proportion to growth of the new shoot appeared from the base of the one-year-old shoot.

Time series analysis by maximum entropy method (MEM) applied for the CO₂ exchange rates of mature leaves revealed the fact that qualitative changes in their photosynthetic patterns occurred as the growth of new shoots progressed. A rhythm of 0.98 cycle/day was evident in the CO₂ exchange patterns of mature leaves on the one-year-old shoots just after new shoots appeared from their bases. An additional rhythm of 1.99 cycle/day, however, appeared in the CO₂ exchange patterns of mature leaves as the growth of new shoots advanced.

Key Words : Orchid, Photosynthesis, CAM, Time series analysis, CO₂ exchange rate

1. 緒 言

植物の光合成の暗反応における炭素固定様式には C₃, C₄, CAM 型の三種が知られている。大部分の緑色植物は C₃ 回路で CO₂ を固定しており, C₄, CAM 回路をもつものは比較的少数である⁽¹⁾。C₄ 植物と CAM 植物は C₃ 回路に, それぞれの CO₂ 濃縮機能を付け加えた植物と認識されている。この C₄ 植物と CAM 植物に備わった CO₂ 濃縮機能がそれぞれ C₄ 回路, CAM 回路であり, C₄ 植物が維管束鞘細胞(C₃ 回路)と葉肉細胞(C₄ 回路)とに空間的に両回路を分化したのに対し, CAM 植物は, 昼(C₃ 回路)と夜(CAM 回路)とに時間的に両回路を分化したと言える。このように C₄ 植物は位置的に異なる細胞で C₃ 回路と C₄ 回路を使い分けることで非常に高い光合成能力を実現しており, 高温, 強光下という熱帯・亜熱帯地方への環境に適応したものと推察されている。一方, CAM 植物は昼, 夜という時間差をもって同一細胞中で C₃

回路と CAM 回路を使い分けており, 気温が低下し相対湿度が高まる夜間つまり体内の水損失が抑えられる状況で気孔を開き CO₂ を吸収することを容易にして, 乾燥に適応したものと考えられている⁽²⁾。

CAM 植物は, 外的・内的要因の変化に応じて, CAM 型から C₃ 型,あるいは逆に C₃ 型から CAM 型へと光合成型の可逆的な切り替えが可能であり, いわば「融通」のつく植物であることも知られている。この切り替えが環境要因などの外的要因に支配される例として, Winter ら⁽³⁾ は *Mesembryanthemum crystallinum* に食塩を与えることで間接的に水ストレスを加え, C₃ 植物を CAM 型に変換させた例を詳しく議論している。また, 植物の生長のような内的要因に支配される例として, Jones⁽⁴⁾ は *Bryophyllum*

* 千葉大学園芸学部, 大学院生

Faculty of Horticulture, Chiba University, Doctorate Student

** 千葉大学園芸学部, 助教授

Faculty of Horticulture, Chiba University, Associate Professor

*fedtschenkoi*の葉齢によって、光合成様式に変化が見られ、若い葉ではC₃植物に近いパターンであるものの、これが葉の成熟に伴いCAM型に移行することを報告している。このようにCAM植物は外的・内的要因に応じて両回路のバランスを変化させる能力をもち、これが光合成速度とそのリズムに複雑に反映するため、しばしば光合成の量的・質的変化の解析を困難にしていることも事実である。

実際、従来の研究におけるCAM植物の光合成速度の解析では定量的な把握にとどまり、定性的な解明のために数学的なアプローチを試みたものは見あたらない。

以上より、この研究ではCAM植物である *Laelia anceps* Lindl. において、光合成速度に違いの認められるいくつかの状態を類別して、その状態の質的な違いを数学的手法で解析することに成功したので報告する。

2. 材料及び方法

供試材料に *Laelia anceps* Lindl. を用いた。カトレヤ類に属するこのランは、典型的なCAM型光合成を行うことで知られている⁽⁵⁾。この材料は、一茎に一葉身を備えるだけで単位栄養器官が単純な構成であることから、光合成器官と非光合成器官の相関(correlation)を研究する上にも好都合とされている⁽⁵⁾。以下、図1のように一年前に完成した枝を一年枝、一年枝上の既に成熟した葉を一年枝葉、一年枝の基部から伸長中の枝を新梢と呼んだ。

一年枝葉のCO₂交換速度の他、気温、相対湿度、光合成有効放射束及び外気のCO₂濃度を携帯用光合成測定装置(ADC社LCA-2)を用いて測定した。一年枝葉のCO₂交換速度を測定するためにガスサンプルバック(5l, Tedlar Bag)を用いて簡易チャンバーを作成した。チャンバーは開放系とし空気流入量を約2l/分とした。1時間に1分間の計測とし、これを1時間の平均値として光合成速度を計算して、24時間計測した後、日平均光合成速度を計算した。

温室で栽培中の株から多数の一年枝葉を選び、6月下旬に予備試験を行ったところ、葉の諸形質に差が認められず、なおかつ環境条件が同一であるにもかかわらず、株によって一年枝葉の光合成速度及びそのリズムに著しい違いを認めたので、この違いが植物の内的要因に由来することを想定してこの現象を分析した。

そこで、このような一年枝葉の光合成速度が大きく異なる12株を選び、50%遮光の温室で栽培し以降の計測に供した。

3. 一年枝葉の光合成速度と諸形質の関係

3.1 解析方法

一年枝葉の日平均光合成速度と、表1に示す一年枝の諸形質などとの1次及び2次回帰式での相関係数から、一年枝葉の光合成速度と最も関係の深い形質を抽出した。

4. 光合成速度の時系列解析

4.1 最大エントロピー法(Maximum entropy method, MEM)

時系列解析法であるスペクトル推定法には、Blackman-Turkey法、FFT(高速フーリエ変換)、MEM(最大エントロピー法)があるが、いずれも、不規則な変動を、複数の正弦波の合成波と仮定し、分解した各正弦波の周波数とそれらのエネルギー分布との関係を解析する方法である。これらの方法は、従来から、気象、海洋など自然界の諸現象の解析をはじめ広い分野で用いられているが、生物体にみられる不規則な変動への適用は脳をはじめとする神経科学の分野に限られるのみで⁽⁶⁾、これまで植物の光合成過程に適用された例は見られない。

ここで用いたMEMは

- (1) 他の2法が多数のデータを必要とするのに対し、それに比べて少数のデータからスペクトルの推定が可能である。

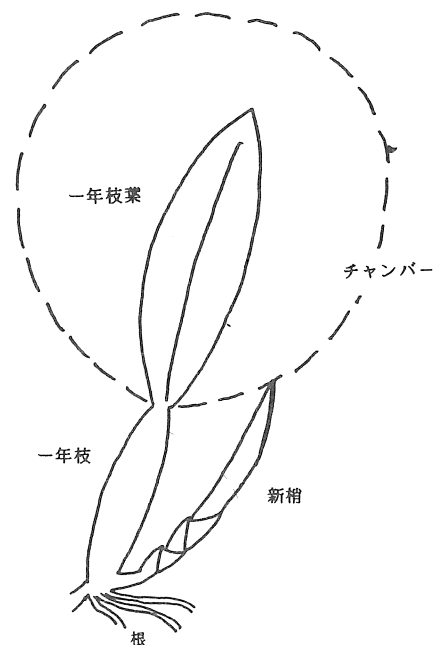


図1 部位の呼称

(2) 他の2法に比べてスペクトルの分解能がきわめて高い。

という圧倒的な優秀性を有しているものの、計算技法が煩雑であり、計算時間も長いという短所もある⁽⁷⁾。しかしながら、ここでのCAM植物の光合成パターンを解析する場合には有効と考えられた。

ここでは詳しい議論は文献⁽⁷⁾に譲るとして、Burg法によるMEMを簡単に解説する。

正規確率分布をもつ時系列のエントロピー H は、時系列のパワースペクトルを $P(f)$ 、Nyquist周波数を $f_N = 1/(2\Delta t)$ とすると

$$H \propto \int_{-f_N}^{f_N} \log P(f) df \quad (1)$$

に比例する。ここに f は周波数である。パワースペクトルと自己相関関数 $C_k (\equiv C(k\Delta t): k = -m, -m+1, \dots, m)$ の間にはWiener-Khintchineの関係式が成立し、

$$\int_{-f_N}^{f_N} P(f) Z^k df = C_k \quad (2)$$

となる。

さらに変形して

$$P(f) = \frac{1}{2f_N} \sum_{k=-m}^m C_k Z^{-k} \quad (3)$$

となる。ここに $Z = \exp(i2\pi f \Delta t)$ である。

さて、(1)式のエントロピーを最大にするために、変分原理を用いると

$$P(f) = \frac{1}{\sum_{k=-m}^m \lambda_k Z^k} \quad (4)$$

となる。ここで λ_k はLagrange乗数である。

$P(f)$ は正の実関数であるので、ここで λ_k の代わりに新たな係数 γ_k により

$$P(f) = \frac{P_m}{2f_N \left| 1 + \sum_{k=1}^m \gamma_k Z^k \right|^2} \quad (5)$$

と書くことができる。ここで、係数 γ_k は m 点予測誤差フィルター、 P_m はこのフィルターからの平均出力であり、さらに次のように書ける。

$$P_m = E\{[x_i - (-\gamma_1 x_{i-1} - \gamma_2 x_{i-2} - \dots - \gamma_m x_{i-m})]^2\} \\ = C_0 + \gamma_1 C_1 + \gamma_2 C_2 + \dots + \gamma_m C_m \quad (6)$$

ここに x_i ($t=i\Delta t$, $i=0, 1, \dots, m$)は時系列不規則変動である。

式(3)と式(5)は等しいことから、次の $(m+1)$ 次連立1次方程式が導かれる。

$$\begin{pmatrix} C_0 & C_1 & \dots & C_m \\ C_1 & C_0 & \dots & C_{m-1} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ C_m & C_{m-1} & \dots & C_0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ \gamma_1 \\ \vdots \\ \gamma_m \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} P_m \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \end{pmatrix} \quad (7)$$

(7)式においては未知数は

$$\gamma_1, \gamma_2, \dots, \gamma_m; C_m; P_m$$

の $(m+2)$ 個であるが、方程式の個数は $(m+1)$ 個であり、解くためにはさらに1つの条件が必要になるため、この条件として、予測誤差フィルターに正及び逆方向に信号を通すときの平均出力を最小とすることを付け加える。

以上より係数 $\gamma_1, \dots, \gamma_m$ 及び P_m が求まるとパワースペクトルは(5)式より

$$P(f) = \frac{P_m \Delta t}{\left| 1 + \sum_{k=1}^m \gamma_k e^{i2\pi f k \Delta t} \right|^2} \quad (8)$$

で計算することができる。

なお計算に際しての予測誤差フィルターの打ち切り項数 m は赤池のFPE(予測誤差の期待値)による判定法に従い、その m の目安は

$$m \approx (2 \sim 3) \sqrt{N} \quad N: \text{データ数}$$

である。

4.2 一年枝葉の光合成速度のスペクトルの計算

伸長が停止した時の新梢の長さ、すなわち新梢の最終長を基準として、それまでの各生育段階での新梢の長さを正規化し、5つの段階に分類し、それぞれをステージ1～5と名付けた。ここでは各ステージを定常過程と仮定した。

6月24日～10月12日の間に1回24時間、計15回計測された一年枝葉の光合成速度のデータを各ステージごとに集計し、この各ステージごとに最大エントロピー

表1 一年枝葉の日平均光合成速度と諸形質との相関

形質	1次相関係数	2次相関係数
葉面積	0.24	0.29
葉長 (L)	0.18	0.70 **
葉幅 (W)	0.06	0.27
葉厚 (T)	0.50	0.64 *
葉色		
先端部 色相	0.49	0.52
先端部 明度	0.44	0.48
先端部 彩度	0.13	0.26
中央部 色相	0.03	0.08
中央部 明度	0.35	0.36
中央部 彩度	0.27	0.56
末端部 色相	0.05	0.06
末端部 明度	0.04	0.23
末端部 彩度	0.67 *	0.07
バルブ長さ (BL)	0.13	0.70 **
バルブ太さ (BW)	0.03	0.05
バルブ周長 (BC)	0.02	0.33
L/W	0.18	0.17
BL/BW	0.13	0.39
BL×BW	0.07	0.34
BC/BW	0.02	0.09
新梢の長さ	0.89 ***	0.91 ***

* 5%レベルの有意差あり

** 1%レベルの有意差あり

*** 0.1%レベルの有意差あり

葉色は「標準葉色帖」の色相・明度・彩度の階級値より計算

法によりスペクトルを計算した。

5. 結果

5.1 一年枝葉の光合成速度と諸形質の関係

表1に解析結果を示した。一年枝自体の諸形質と一年枝葉の日平均光合成速度との間には、葉長と葉厚で有意な相関が認められたものの、相関係数0.70を越える強い相関は存在しなかった。ところが、一年枝より生じた新梢の長さと、一年枝葉の日平均光合成速度との間には、1次及び2次の相関係数がそれぞれ0.89, 0.91と非常に強い相関関係が見られた。

新梢の長さと一年枝葉の日平均光合成速度を2次式で回帰した結果を図2に示した。新梢の伸長開始直後の一年枝葉のCO₂吸収速度は小さく、新梢が長大に発育した一年枝葉ほどその吸収速度が明らかに大きくなった。

以上のように、一年枝葉の光合成速度の違いは一年枝葉自身の特性に起因するというより、むしろ一年枝の基部から伸長中の新梢の成育ステージと関係があることがわかった。

5.2 光合成速度の時系列解析

各ステージに対応する新梢をもつ一年枝葉のCO₂交

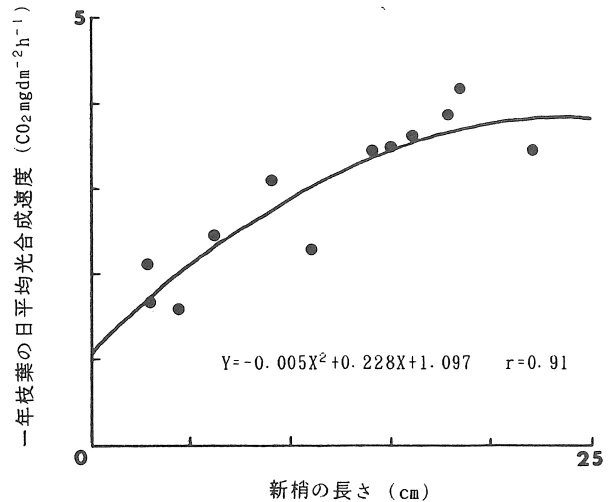
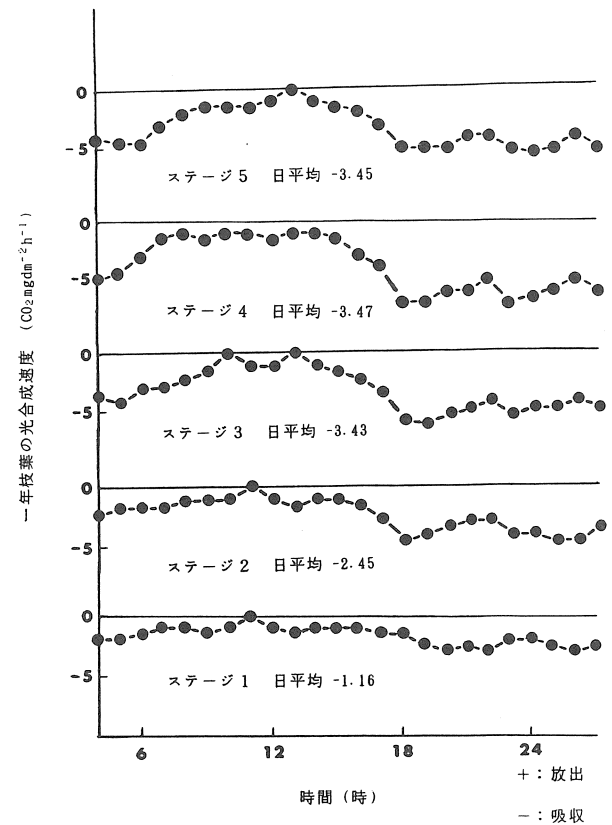


図2 新梢の長さと一年枝葉の日平均光合成速度の相関

図3 6月28日の一年枝葉のCO₂交換パターン

換パターンを図3に示した。この図では、新梢が長いものほど、新梢の母枝上の葉である一年枝葉の日平均CO₂交換速度が増加し、特に夜間のCO₂吸収がさかんになっている。このことは新梢の伸長という内的要因によって一年枝葉のCAM型が進行したことを示している。さらに、これに伴って日変化の振幅も増大している。このように、新梢の長さはその母枝葉である一年枝葉の光合成速度だけでなく、そのリズムとも関連することが示された。

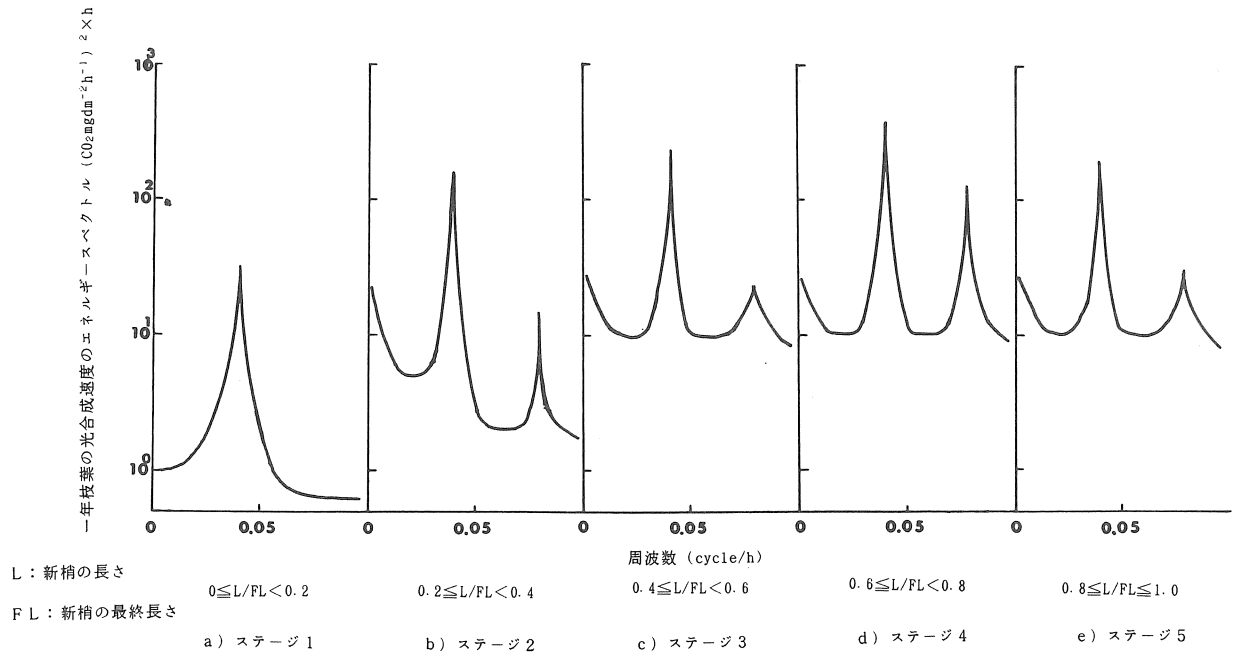


図4 新梢の各ステージに対する一年枝葉の光合成速度のエネルギースペクトル

時系列解析の結果を図4に示した。横軸の周波数については、周波数が大きいほど小さなリズムの波であり、縦軸のエネルギースペクトルについては、スペクトルが大きいほどその波のエネルギーが大きいことを示す。ステージ1の新梢をもつ一年枝葉のCO₂交換速度のスペクトルには、周波数で0.04cycle/h付近に単独ピークが見られた。この値は0.98cycle/日に相当し、ほぼ1日周期すなわち1日に1回の波が見られることになる(図3ステージ1参照)。

一方、ステージ2以降の新梢をもつ一年枝葉では、全体のエネルギーが増加するとともに、やはりほぼ一日周期のピークは存在するものの、これに加えて、0.08 cycle/h すなわち1.99cycle/日の、第2のピークがみられた。これは一日周期の波に半日周期すなわち1日に2回の波がつけ加えられたことを示す(図3ステージ2～5参照)。このことは、C₃型とCAM型光合成の両方の時間帯(昼間と夜間)にそれぞれ半日周期の変動が存在することを示す。

6. 考察

光合成器官の光合成速度が他器官に影響される例をKingら⁽⁸⁾が示している。すなわち、コムギの実が充実する時期(登熟期)に穂を除去すると、止め葉(頂端の葉)の光合成速度が40%近く低下すること、そして引き続いて、他の葉を暗黒下におくと、いったん低下した止め葉の光合成速度が再び高まり、穂の除去以前の値の90%近くまで回復することを報告し、一つの

光合成器官の光合成速度が他器官の光合成産物の需要度に規定されることを示唆している。

このような光合成産物の需要体のことはsink、その需要度の強さは sink size、これに対し光合成産物供給源は source と表現され、sink size がsource の光合成速度の制限要因となっているとする考え方は「sink・source説」と呼ばれている⁽⁹⁾。

樹木を用いた研究では、春先、伸長を開始した新梢が強いsinkとして機能することが知られている⁽¹⁰⁾。つまり、新梢の葉は展開直後でも呼吸量が光合成量を上回るため、新梢は従属栄養的生長であって、実際はかなり長期間sourceから供給される炭素源に依存して新葉の分化・発達などを進めるとされている。本実験で用いられた材料の新梢でも伸長を開始してからしばらくは茎と葉身の長軸方向の生長が先行し、長軸方向の生長がおおむね完了するステージ5に至ってはじめて展葉に至るが、少なくとも展葉前は新梢のみかけ上のCO₂収支が放出であった。従って、ステージ1～5にかけて新梢が伸長するに伴い sink size が増大し、このために source である一年枝葉の光合成速度が影響を受けたものと推定される。

上述のような新梢の伸長に伴って、一年枝葉の光合成速度に量的な変化が生じるだけでなく、本研究では新梢の伸長に応じて既に成熟している一年枝葉の光合成速度に質的变化が生じる事実も抽出しえた。ここで、ステージ1の新梢をもつ一年枝葉のCO₂交換速度の評価を「弱い光合成」、ステージ2～5の新梢をも

つ一年枝の CAM 型の進行したそれを「強い光合成」と仮称すると、ここで用いた時系列解析は、前者が 1 日周期のリズムに支配され、後者が 1 日周期 + 半日周期のリズムに支配されているといった質的な相違を明確に示した。

7. 結 論

ここで示された現象についての詳細は今後の研究を待たなければならないが、一年枝葉の量的及び質的光合成速度の違いは一年枝葉自体の諸形質よりむしろ一年枝から生じた新梢の成育ステージとに密接な関係があることが示された。そして、ここでは初歩的な知見が得られたにすぎないが、時系列解析法はこれまでにない新しい光合成速度の解析方法であり、特に光合成の質的相違を判断するのに有効と考えられた。

また、本研究で用いられた材料と近縁なレリオカトレヤにおいては、一年枝葉の頂端から生じる花器の発育が植物体に炭素レベルで大きな負荷を与えることが知られており⁽¹¹⁾、ここでも新梢の伸長がその母枝である一年枝の光合成速度に影響するなど、大きな負担となっていることが示され、新梢の伸長中は株全体としても炭素収支に関しデリケートな状態であることが示唆された。

8. 謝 辞

本稿をまとめるにあたり、愛媛大学工学部海洋工学科海洋計測工学教室の井内国光助手に貴重な御教示をいただいた。記して厚く御礼申し上げる。

参考文献

- (1) 宮地重遠・村田吉男編, 光合成と物質生産 (1980), 440-444, 理工学社, 東京.
- (2) 西田晃二郎, 光合成の暗反応 (1986), 66-67, 85-86, 東京大学出版会, 東京.
- (3) K.Winter, J.G.Foster, G.E.Edwards and J.A.M.Holtum, Intracellular Localization of Enzymes of Carbon Metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* Exhibiting C₃ Photosynthetic Characteristics or Performing Crassulacean Acid Metabolism, *Plant Physiol*, 69, (1982), 300-307.
- (4) M.B.Jones, The effect of Leaf Age Resistance and CO₂ Exchange of the CAM Plant *Bryophyllum fedtschenkoi*, *Planta*, 123, (1975), 91-96.
- (5) T.Ando and M.Ogawa, Photosynthesis of Leaf Blades in *Laelia anceps* Lindl. is Influenced by Irradiation of Pseudobulb, *Photosynthetica*, 21-4, (1987), 588-590.
- (6) 川嶋弘尚・酒井英昭, 現代スペクトル解析 (1989), 311-323, 森北出版, 東京.
- (7) 日野幹雄, スペクトル解析 (1977), 83-94, 210-226, 朝倉書店, 東京.
- (8) R.W King, I.F.Wardlaw and L.T.Evans, Effect of Assimilate Utilization of Photosynthetic Rate in Wheat, *Planta*, 77, (1967), 261-276.
- (9) 野本宣夫・横井洋太, 植物の物質生産 (1981), 81-82, 東海大学出版会, 東京.
- (10) 平野暁・菊地卓朗編, 果樹の物質生産と収量 (1989), 32-35, 農山漁村文化協会, 東京.
- (11) Y.Dogane and T.Ando, An Estimation of Carbon Evolution During Flowering and Capsule Development in a *Laeliocattleya* orchid, *Sci. Hortic.*, (in press)

(平成元年 6 月 27 日 原稿受理)