



水ストレス下におけるコーヒーの光合成に関する研究

金地, 通生

(Degree)

博士 (学術)

(Date of Degree)

1988-03-31

(Date of Publication)

2014-04-04

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0741

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000741>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博 士 論 文

水ストレス下におけるコーヒーの
光合成に関する研究

昭和63年 1月

神戸大学 大学院自然科学研究科

金地 通生

目 次

結 論	-----	(1)
第 一 章 水ストレス下での葉の水ポテンシャル並びに光合成速度の変化		(5)
第一節 陽葉と陰葉における変化	-----	(7)
実験材料および方法	-----	(7)
実験結果	-----	(15)
第二節 異なる3種のコーヒーにおける変化	-----	(20)
実験材料および方法	-----	(21)
実験結果	-----	(21)
考 察	-----	(24)
摘 要	-----	(31)
第 二 章 光合成に及ぼす慢性的な水ストレスの影響	-----	(33)
第一節 葉の発育過程に及ぼす影響	-----	(34)
実験材料および方法	-----	(34)
実験結果	-----	(41)
第二節 成熟葉に及ぼす影響	-----	(47)
実験材料および方法	-----	(47)
実験結果	-----	(48)
考 察	-----	(51)
摘 要	-----	(55)
第 三 章 光合成に及ぼす短期間の急進的な水ストレスの影響	-----	(57)
実験材料および方法	-----	(58)
実験結果	-----	(60)
考 察	-----	(69)
摘 要	-----	(73)
總 括	-----	(75)
摘 要	-----	(79)
謝 辞	-----	(85)
引用 文献	-----	(86)

結 論

植物の葉は、気孔を通じて光合成の基質である CO_2 を大気中から葉内に取り込むと同時に、蒸散によって葉内水分を水蒸気として大気中に放出している。従って、光合成を活発に行っている葉では、その葉内水分は常に減少傾向にある。根圏の土壤水分が豊富である間は、蒸散によって失われた葉内水分が絶えず根による吸水によって補われ、葉は膨潤した状態を維持できる。この様な状態下では、葉は円滑に光合成を行うことができる。しかし、根圏の土壤水分が低下したり、気温の上昇によって葉面飽差(葉内と大気との湿度落差)が拡大すると、蒸散による葉内水分の損失が根による吸水を上回る結果、いわゆる葉は水ストレス状態になる。葉が水ストレス状態になると、種々の生理機能が影響を受けるが、中でも光合成が顕著に低下することは、既に多くの植物で報告されている。

植物の水分生理に関する研究は、多くの研究者によって行われ、今までに集積されてきた業績も非常に多岐、かつ膨大なものとなっており、総説としてまとめられている(Slatyer, 1967; Hsiao, 1973; John & Turner, 1976; Kozlowski, 1976; Hanson & Hitz, 1982; Kramer, 1983)。光合成に及ぼす水ストレスの影響に関しては、Boyer & McPherson (1975)、Boyer (1976)、Kriedemann & Downton (1981)およびOrt & Boyer (1985)によってまとめられている。それによると、光合成に及ぼす水ストレスの影響を植物個体レベルで見た場合は、葉の細胞の分裂や肥大が水ストレスに敏感に反応して抑制されるため、出葉間隔や葉の展開速度が遅くなること(Husain & Aspinall, 1970; Boyer, 1968, 1970a; Acevdo et al, 1971; Meyer & Boyer, 1972)、あるいは強い水ストレス下では落葉さえ引き起こし、結果として全葉面積の減少による個体レベルでの光合成の低下をもたらすことが示されている(Boyer & McPherson, 1975)。個葉レベルで見た場合は、光合成の生理学的機構に対する影響として、気孔閉鎖や葉肉細胞における炭素固

定効率が減少し、個葉の光合成能力が低下することが見い出されている。その中でも以前は、水ストレス下での光合成速度の低下と蒸散速度の低下とが平行して起こることが種々な植物で見い出された結果、主に気孔閉鎖によって光合成が低下すると考えられてきた(Brix, 1962)。しかし、気孔閉鎖を誘起する葉の水ストレス状態は、種、生育環境および葉齢等の違いによって著しく異なることも数多く報告されている (Miller et al, 1971; Jordan & Ritchie, 1971; Federer, 1977; Davies, 1977; Adams et al, 1978)。また、Tazaki et al (1968)は、葉の含水量が低下しても気孔閉鎖が生じないクワのダルリーフを用いて、水ストレス下での光合成低下の要因を、気孔閉鎖と葉緑体の CO_2 固定活性の低下に分けることを行い、後者の重要性を示唆した。さらに最近では、水ストレスによって光合成が低下する原因として、気孔以外の要因もその影響を著しく受けることを示した報告が数多くある。ヒマワリの単離葉緑体では比較的軽度の水ストレス下でも、光リン酸化反応と電子伝達系を含む光合成の光化学反応系の活性の低下が起こること(Keck & Boyer, 1974)、さらに、気孔閉鎖による光合成の抑制よりも、気孔以外の要因による光合成の抑制の重要性を示唆した報告がある(Jones, 1973; O'Toole et al, 1976; Mooney, 1977; Björkman, 1980, 1981)。すなわち、光合成に及ぼす水ストレスの影響は、気孔が関与する部分とそれ以外の部分とに分けて考えられている。現在、どちらの要因が水ストレス下での光合成低下の主因となっているのかが論点であり、未だに統一した見解は得られていない。これは、気孔閉鎖が着生葉レベルで見い出されているのに対し、それ以外の要因としての葉肉細胞レベルでの CO_2 固定活性の低下がin vitroで見い出された例が多く、両要因を同じレベルで評価することが困難であることによる。さらに、光合成および水ストレスの両者が、植物を取り巻く外部環境要因(光強度・温度・湿度・飽差等)や植物体の内的要因(光合成型・葉齢・形態等)によって影響されることから、両者の関係が一層複雑であることにもよると考えられる。このため、実際

の水ストレスを受けている着生葉レベルでの光合成の律速要因はほとんど明らかにはされていない。

本研究で用いたコーヒーは、中南米、アフリカおよび東南アジアの熱帯諸国で栽培される重要な換金作物であり、世界的な需要もますます拡大する傾向にある。また、その栽培の特徴として、ブラジル、中央アフリカ諸国、カメルーンでは無遮光栽培が行われているのに対し、インド、エルサルバドル、コスタリカでは遮光栽培が行われている。このように実際のコーヒー栽培が地域により遮光下で行われていることから、その物質生産の基礎である光合成に関する今までの研究を見ると、無遮光下で生育した陽葉および遮光下で生育した陰葉の光合成能力が検討され、葉温 $20-25^{\circ}\text{C}$ の範囲での光合成速度は、陽葉で $8-16\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ 、陰葉で $7-22\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ であることが示されている(Tio, 1962; Nunes et al, 1968, 1969; Bierhuizen et al, 1969; Sondahl et al, 1976; Yamaguchi & Friend, 1979; Kumar & Tieszen, 1980a, 1980b; Friend, 1984; Sambongi et al, 1986)。

また、コーヒーの栽培においては、多くの栽培地の地形が排水の良い傾斜地であることから厳しい乾期に遭遇すると早魃による被害が大きな問題となることや、前述の遮光栽培においては、コーヒーと庇陰樹との養水分の競合による水ストレスの危険性があることが指摘されている(Butler, 1977)。しかしながら、水ストレスの影響の中でも、特に光合成に及ぼす水ストレスの影響を研究した報告は少なく、以下に示した知見が得られているに過ぎない。すなわち、水ストレス下で光合成が低下する原因として、気孔閉鎖による葉内への CO_2 取り込みの減少に加えて、葉肉細胞での CO_2 固定活性の低下を示唆した Bierhuizen et al(1969)の報告と、 25°C 一定温度環境下での水ストレスでは、主に気孔閉鎖によって光合成が低下するが、葉温の上昇を伴うような圃場環境下での水ストレスでは、 CO_2 に対する葉肉伝導度並びに気孔伝導度の両方が低下することで光合成が抑制されることを示唆したKumar et al(1980b)の報告があるのみである。また、実際の栽培

で見られるようにコーヒーの葉が遮光下で陰葉化することや、一本の成木においても樹冠外部の葉は陽葉であるのに対し、内部の葉は陰葉化することを考慮すると、コーヒーの光合成を研究するに当たっては、陽葉と陰葉に関する問題は極めて重要である。特に、光合成に対する水ストレスの影響を総合的に理解するためにも、陽葉と陰葉を考慮した研究を行う必要があると考えられる。しかし、前述の既存の研究からは、遮光下での陰葉に関する水ストレスの影響は全く不明である。さらに、水ストレス下での物質生産を改良するための生理学的な基礎的知見を得るためにも、実際に水ストレスを受けている状態の着生葉を用いた *in vivo* での光合成の律速要因の解明は重要である。

従って本研究では、陽葉と陰葉での水ストレスに対する光合成の反応を比較することで、コーヒーにおける光合成と水ストレスとの関係を総合的に理解し、さらに、着生葉レベルでの光合成の律速要因を解明することを目的とした。そこで以下に述べる観点に沿って光合成に及ぼす水ストレスの影響を調査し、水ストレスによって光合成が低下する原因を着生葉レベルで解析することで、陽葉と陰葉での差異を比較検討した。

- 1) 葉の水ストレスの生理学的な指標として葉の水ポテンシャルを用い、水ストレス下でのその変化と光合成との関係を、陽葉および陰葉における差異や種間差異を考慮して明らかにする。
- 2) コーヒーの葉齢は長いことを考慮して、水ストレスに対する光合成速度の葉齢による違いを比較し、その律速要因を明らかにする。
- 3) 長期間に亘る慢性的な水ストレスと、短期間で急進的な水ストレスの光合成に及ぼす影響の差異を検討し、その律速要因を明らかにする。

第一章

水ストレス下での葉の水ポテンシャル並びに光合成速度の変化

大部分の植物の葉は、光合成を行うと同時に蒸散によって多量の葉内水分を大気中に放出しているため、水ストレスの影響を最も早く、かつ強く受ける。従って、葉の水分状態は植物体の水ストレスの重要な指標と考えることができる。そこで、葉の生理的反応である光合成に及ぼす水ストレスの影響を考えるに当たって、葉内の水分状態の的確な指標が必要である。この指標として、古くは含水率（対乾物重あるいは対生体重）・相対含水率（最大膨潤時の含水量に対する実際の含水量の割合）および水欠差（拡散圧不足）等が用いられてきたが、いずれも破壊的な方法であるため経時的な測定ができないことや、誤差が大きく、精度が低い等の問題点が指摘されていた。そこで、Slatyer & Taylor(1960)によって葉の水ポテンシャルの概念が提唱され、現在では葉の生理的な水分状態を示す最も有効な指標として、多くの水分生理学の分野で用いられている。その有効な点としては、1) 植物体内の水の流れを、土壌-植物-大気が連なった一つの系と考えるに際し、その系内各部位の水分状態を同一の単位で表すことができ、水の移動方向が明確となる。2) 植物は細胞壁によって膨圧を生じ体形を維持しているが、組織の水ポテンシャルはこの膨圧を構成要素として含んでいる。3) 最近の測定機器の進歩によって水ポテンシャルの測定が簡便となり、かつその精度は高い。また、測定に要する試料も僅かであり、かつその精度は高い。この様な利点から、本研究では葉の水ポテンシャルを葉の水ストレスの指標として用いた。

葉の水ポテンシャルの変化に伴う光合成速度の変化の様相は、今までにも数多くの植物で報告されており、光合成が低下し始める葉の水ポテンシャルの値が示されている(Boyer, 1976)。それによると、種の違いによってその値が大きく異な

ることが明らかである。コーヒーでは、Kumar et al(1980b)によって葉の水ポテンシャルと光合成との関係が示されており、葉の水ポテンシャルが約 -2.0MPa 以下になると、光合成が急激に低下することが明らかにされている。しかし、この結果は陽葉に関するものであり、陽葉と陰葉を考慮した光合成と水ストレスとの関係は、未だ明らかにはされていない。

そこで本章では、コーヒーの光合成に及ぼす水ストレスの影響を調査する第一段階として、葉の水ストレスの生理学的な指標として用いた葉の水ポテンシャルと光合成との関係を、無遮光下と遮光下での違いや種の違いを考慮して明らかにすることを目的とした。まず第一節では、最も重要な種であるアラビカコーヒーに関して、水ストレス下での葉の水ポテンシャルの低下に伴う光合成の反応を陽葉と陰葉で比較し、さらに第二節では、アラビカ種に加えて、栽培上重要であると考えられるカネフォラ種、リベリカ種における水ストレス下での光合成の反応を調査し、それらを比較することで、水ストレスに対する光合成の反応における栽培上最も重要な種であるアラビカ種の特徴を明らかにすることを試みた。

第一節 陽葉と陰葉における変化

実際の水ストレスは様々な環境下で生じており、植物に与えるその影響も異なることが予想される。中でも光合成は環境の影響を受け易いため、水ストレスが生じる環境条件の違いによって光合成への影響も異なると考えねばならない。もともと森林の下層に自生していたと考えられているコーヒーは、遮光下で生育するとその葉が陰葉化することより、光合成に着目した陽葉と陰葉での生理的な差異に関する研究は幾つかあるが (Yamaguchi & Friend, 1979; Kumar & Tieszen, 1980a, Friend, 1984)、水ストレスとの関係を明らかにした研究はほとんど無い。

そこで本節では、最も重要な栽培種であるアラビカコーヒーに関して、無遮光下と遮光下で水ストレス処理を行い、各々の環境下で生育した陽葉と陰葉における葉の水ポテンシャルと、光合成速度並びにその構成要素であるCO₂拡散伝導度との関係を調査した。

実験材料および方法

1) 供試植物の育成

神戸大学農学部熱帯有用植物学研究室の実験温室内で生育中の *Coffea arabica* L. var. *Typica* の成木より採取した種子を用いた。種子は殺菌した後、畑壌土と腐葉土を 3:1 に混合した混合土に播種し、温室内で発芽、生育させた。約 2 ヶ月で子葉が展開し、さらに 2 ヶ月後の第 3 本葉の出葉期に、播種時と同様の混合土を入れた直径 12cm × 深さ 10cm の黒のポリエチレンポットに 1 個体植えとして 1 回目の移植を行った。その後、温室内で育成した播種後約 10 ヶ月を経過した実生 (第

7本葉展開中)を、本実験の開始に際して、播種時と同様の混合土に基肥として尿素1.09g(N:0.5g)、過リン酸石灰2.86g(P₂O₅:0.5g)、硫酸加里1.00g(K₂O:0.5g)を加え、1/5000aワグネルポットに2回目の移植を行った。材料は、移植後直ちに神戸大学農学部附属ファイトトロンのガラス室(昼/夜温:25/20℃、昼/夜相対湿度:60/80%)内へ移し、自然光下および黒の寒冷紗によって入射光を約80%減少させた遮光下で約3ヶ月間生育させ、光強度以外の生育環境前歴を揃えた。本論文では、自然光下で形態形成し成熟した葉を陽葉、遮光下で形態形成し成熟した葉を陰葉と表記する。なお、この間水ストレス前歴にあわさないよう十分な灌水を行った。

2) 水ストレス処理並びに土壌と葉の水ポテンシャルの測定

コーヒーの葉は、生育適温下では25日から35日間隔で出葉し、出葉後約30日で最大葉面積に達した後、約90日目までは最大光合成速度を維持することが報告されている(Yamaguchi & Friend, 1979)。従って、成熟葉の光合成に及ぼす水ストレスの影響を、比較的短期間の水ストレス処理を行うことで見た場合、葉の老化に伴う光合成低下の影響は問題にはならないと考えた。そこで、ファイトロン内で出葉した葉が完全に展開し、光合成の活動中心葉となった時点で、ポットへの灌水を停止する水ストレス処理を行った。灌水停止後は、2日間隔で午前9時に、土面下約10cmの深さに埋設した土壌センサー(Wescor社製 PCT-55)および露点式μVメーター(Wescor社製 HR-33T)によって土壌の水ポテンシャルを測定し、さらに、同時に葉の水ポテンシャルも以下に示す方法に従って、経時的に測定した。まず、光合成速度、蒸散速度の測定葉の対生葉から、リーフパンチによって直径6mmの葉片を打ち抜き、直ちに熱電対サイクロメーターのリーフチャンバー(Wescor社製 C-52)内に密封した。そして、恒温下で約3時間の平衡時間を経た

後、露点式 μV メーターで測定した。以下本論文では、土壌の水ポテンシャルを Ψ_{soil} 、葉の水ポテンシャルを Ψ_{leaf} と略記する。

3) 光合成速度および蒸散速度の測定

灌水停止当日より2日間隔で、茎頂より数えて3葉目の活動中心葉を測定対象葉とし、光合成が最も活発である午前9時から午後2時の間に、着生葉による個葉光合成速度並びに蒸散速度の同時測定を経時的に行った。測定は、25℃恒温に制御した環境制御室内で、Fig. I に示すアクリル製個葉同化箱に測定葉を挿入し、Fig. II に示す開放系通気法によって行った。マスフローシステム (S-TEC 製) によって CO_2 濃度 $350 \mu l l^{-1}$ 、 O_2 濃度 $210 m l l^{-1}$ 一定とした空気を、 $480 l h^{-1}$ の流速で同化箱に通気し、同化箱の入口と出口の各々の CO_2 濃度を絶対値型赤外線ガス分析計 (堀場製 LIA-2) を用いて測定した。さらに、光合成速度と同時に蒸散速度も測定するため、同化箱の入口と出口の各々の相対湿度と気温を湿度センサー (千野製 HN-P1) で測定し、(2)式より絶対湿度を算出した。葉温の測定は、同化箱内に設置した3本のクロメル-アルメル熱電対により行い、葉面積は、測定終了直後に葉形をトレースし、自動葉面積計 (林電工製 AAM-7) によって測定した。また、水ストレス下では光合成に及ぼす飽差の影響が異なるが、飽差 $0.5 kPa$ 以下ではその影響が無いことが予備実験の結果から明らかとなり (データ未掲載)、測定中は飽差が約 $0.5 kPa$ 以下となるように加湿器で制御した。光源には陽光ランプ (東芝製 DR400/T[L]) を用いて、光強度は飽和光である約 $800 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ PPFD とし、さらに、熱線による葉温の上昇を避けるため、光源と同化箱との間に $10 cm$ の水槽と、同化箱にも $3 cm$ の水槽を設置した。光合成速度は、同化箱の入口と出口の CO_2 濃度から、以下の(1)式に基づいて算出した。蒸散速度は、同化箱の入口と出口の絶対湿度から、以下の(3)式に基づいて算出した。

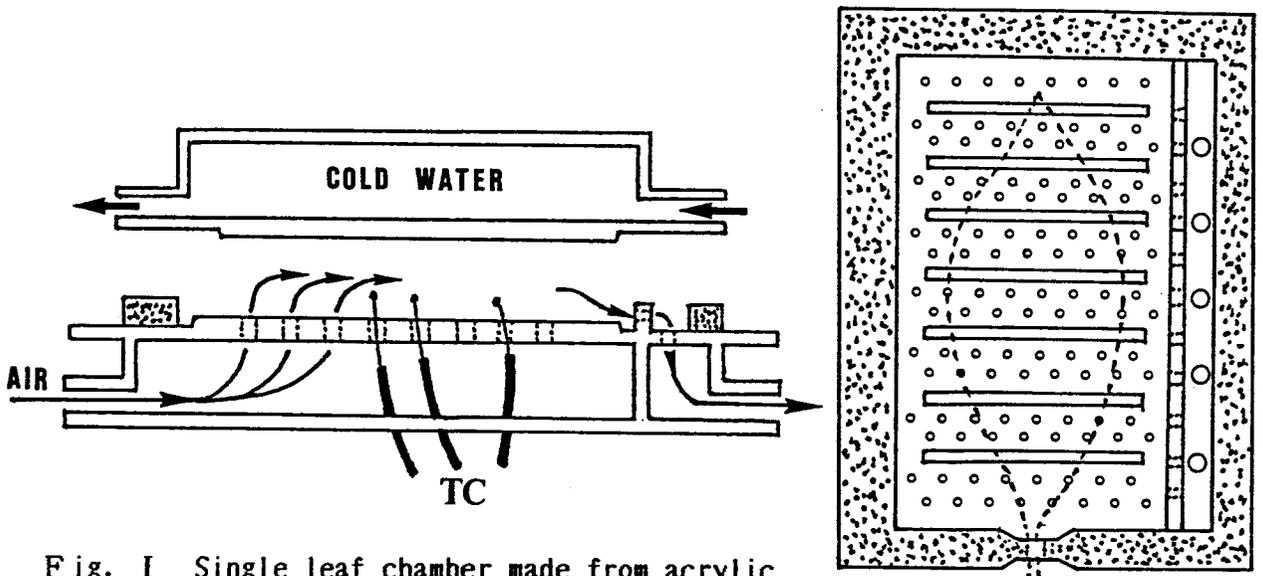


Fig. I Single leaf chamber made from acrylic resin and rubber (■) equipped with water jacket on it. TC:chromel-alumel thermocouples.

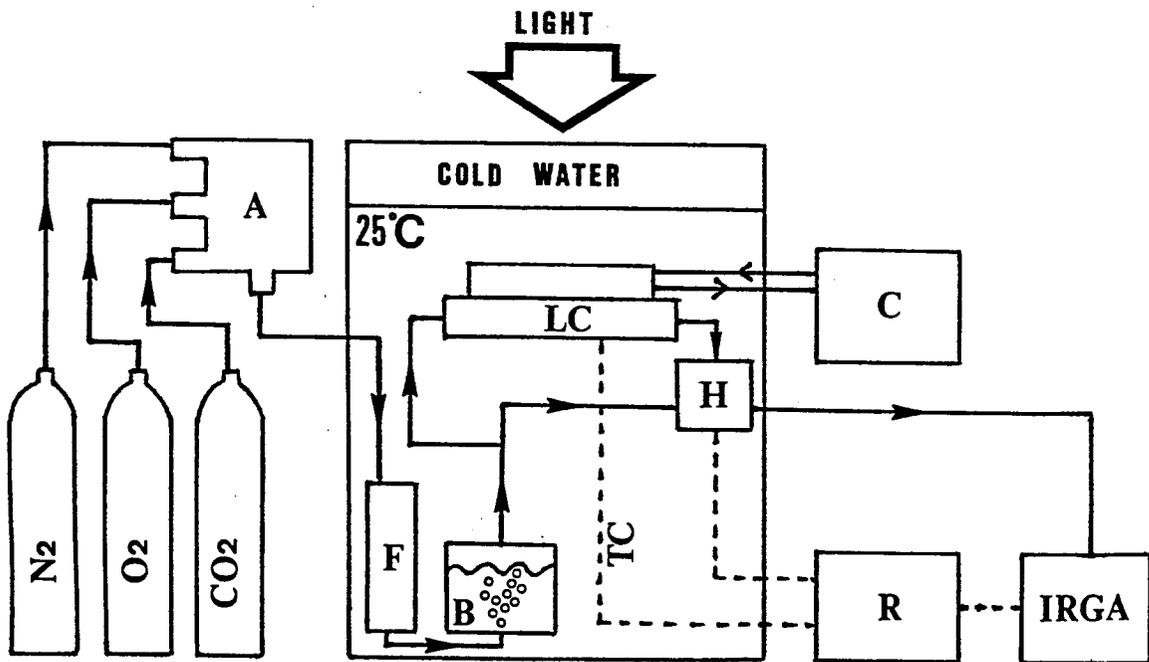


Fig. II Diagram of open air flow system for measuring the CO₂ exchange rate of intact single leaf. A:gas mixture (mass flow control system), F:flow meter, B:humidity controller, LC:leaf chamber, H:humidity sensor, IRGA:infra-red gas analyzer, R:recorder, C:cooler, TC:chromel-alumel thermocouples, —>:air flow.

$$\text{CER} = \frac{([\text{CO}_2]_{i_n} - [\text{CO}_2]_{o_{out}}) \cdot 10^3 \cdot 273 \cdot 44 \cdot 100 \cdot \text{FR}}{10^6 \cdot (273 + T) \cdot 22.4 \cdot \text{LA}} \quad \text{-----} \quad (1)$$

CER：見かけの光合成速度($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)

$[\text{CO}_2]_{i_n}$ または $[\text{CO}_2]_{o_{out}}$ ：同化箱入口または出口の CO_2 濃度(μll^{-1})

FR：通気流量(480lh^{-1} 一定とした)

T：流量計内の温度(25°C 一定とした)

LA：葉面積(cm^2)

$$[\text{AH}]_{i_n} = \frac{10^{\{45.72 - 109.43 / \log(273.16 + [\text{AT}]_{i_n})\}} \cdot 216.68 \cdot [\text{RH}]_{i_n}}{(273.16 + [\text{AT}]_{i_n}) \cdot 100} \quad (2)_1$$

$$[\text{AH}]_{o_{out}} = \frac{10^{\{45.72 - 109.43 / \log(273.16 + [\text{AT}]_{o_{out}})\}} \cdot 216.68 \cdot [\text{RH}]_{o_{out}}}{(273.16 + [\text{AT}]_{o_{out}}) \cdot 100} \quad (2)_2$$

$[\text{AH}]_{i_n}$ または $[\text{AH}]_{o_{out}}$ ：同化箱入口または出口の絶対湿度($\text{gH}_2\text{O}\text{m}^{-3}$)

$[\text{RH}]_{i_n}$ または $[\text{RH}]_{o_{out}}$ ：同化箱入口または出口の相対湿度(%)

$[\text{AT}]_{i_n}$ または $[\text{AT}]_{o_{out}}$ ：同化箱入口または出口の気温($^\circ\text{C}$)

$$\text{TR} = \frac{([\text{AH}]_{o_{out}} - [\text{AH}]_{i_n}) \cdot \text{FR} \cdot 100}{\text{LA} \cdot 1000} \quad \text{-----} \quad (3)$$

TR：蒸散速度($\text{gH}_2\text{O}\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)

4) 葉のCO₂拡散伝導度の算出

Gaastera(1959)は、光合成におけるCO₂の葉内への取り込みに対して、葉外からCO₂固定の場である葉緑体に至るCO₂の拡散経路を直列回路に例えたモデルを提唱した。そして、オームの法則になぞらえて、光合成速度を電流、葉外から葉緑体までのCO₂濃度落差を電圧と考え、そこに抵抗に当たる部分の存在を具体化した。この抵抗は、葉外から順に葉面境界層抵抗(r_a)、気孔抵抗(r_s)、葉肉抵抗(r_m)と呼ばれる3つの部分からなる直列抵抗である。また、 r_a と r_s は気相拡散抵抗であるのに対し、 r_m は液相拡散抵抗である。Fig. IIIにKriedemannとDownton(1981)から引用したその模式図を示した。本研究で用いたCO₂拡散伝導度は、これら r_s と r_m の逆数であり、各々、気孔伝導度(g_s)と葉肉伝導度(g_m)である。伝導度はCO₂拡散速度の概念であり、光合成によるCO₂の葉内への流入速度を意味する点で、光合成の律速要因の解析には有効であり、Gaastera(1959)以降、多くの研究者によって用いられている。以下、その算出方法を示す。

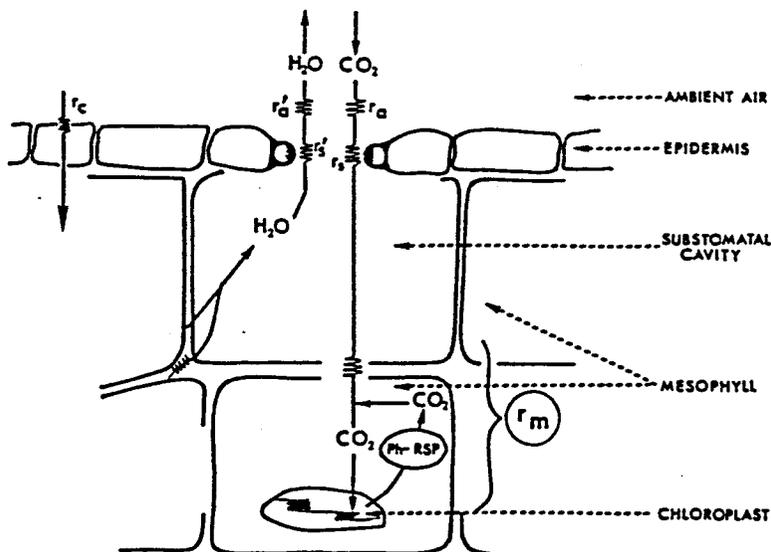


Fig. III Diagrammatic summary of gaseous diffusive resistances to CO₂ and H₂O vapour exchange by a leaf. CO₂ molecules entering the leaf overcome boundary layer (r_a), stomatal (r_s) and mesophyll (r_m) resistances. Photorespiratory processes within the mesophyll are abbreviated to Ph-RSP. Cuticular resistance is shown as r_c .

i) 葉面境界層抵抗 (r_a)

この抵抗は、葉面上にある薄層空気の状態によって変化し、層流状態では抵抗は大きくガスの拡散は遅いが、乱流状態では抵抗が小さくガスの拡散は速い。2枚の濾紙で測定葉と同じ大きさの模型葉を作り、その間に熱電対を挿入して、光合成速度の測定に用いたのと同じ同化箱内へ入れ、光合成速度測定時と同じ条件下で濾紙の蒸発速度を測定する。まず、水蒸気(H_2O)に対する拡散抵抗を(4)式から算出し、係数を掛けることで CO_2 に対する拡散抵抗に変換する。本研究では、コーヒー葉の気孔が裏面にしか存在しないことより、裏面に空気が直接吹き付けられる構造の同化箱を考案し、気孔周辺をできるだけ乱流状態にした。予備実験の結果、通気流量 480 l h^{-1} では、 r_a は 0.2 scm^{-1} 以下となり、光合成に及ぼす影響がほとんど無いことが判明した。

$$TR_{\text{paper}} = \frac{\{[AH]_{\text{paper}} - ([AH]_{\text{out}} - [AH]_{\text{in}}) / (\ln[AH]_{\text{out}} - \ln[AH]_{\text{in}})\} \cdot 0.36}{r_{a, H_2O}} \quad (4)$$

$$r_{a, CO_2} = 1.37 \cdot r_{a, H_2O}$$

TR_{paper} : 濾紙蒸発速度 ($\text{gH}_2\text{O dm}^{-2} \text{h}^{-1}$)

$[AH]_{\text{paper}}$: 濾紙表面の絶対湿度 ($[RH]=100, \text{gH}_2\text{O m}^{-3}$)

r_{a, CO_2} または r_{a, H_2O} : CO_2 または H_2O に対する境界層抵抗 (scm^{-1})

0.36 : 単位変換係数

ii) 気孔抵抗 (r_s) : [気孔伝導度 (g_s) = $1 / r_s$]

この抵抗は、主に気孔開度を表し、抵抗が小さいほど気孔はよく開いているこ

とを意味している。また、コーヒーではクチクラ蒸散が認められなかったことより、気孔を介してのCO₂拡散抵抗と並列に存在するクチクラ抵抗は無窮大であると考え、光合成におけるCO₂の拡散には影響がないとして計算式からは除外した。従ってr_sは、以下に示す(5)式に基づいて算出した。

$$TR = \frac{\{[AH]_{leaf} - ([AH]_{out} - [AH]_{in}) / (\ln[AH]_{out} - \ln[AH]_{in})\} \cdot 0.36}{r_{a,H_2O} + r_{s,H_2O}} \quad (5)$$

$$r_{s,CO_2} = 1.54 \cdot r_{s,H_2O}$$

TR: 蒸散速度(gH₂Odm⁻²h⁻¹)

[AH]_{leaf}: 葉肉細胞表面の絶対湿度([RH]=100, gH₂O m⁻³)

r_{s,CO₂}またはr_{s,H₂O}: CO₂またはH₂Oに対する気孔抵抗(scm⁻¹)

0.36: 単位変換係数

iii) 葉肉抵抗(r_m): [葉肉伝導度(g_m)=1/r_m]

CO₂が葉肉細胞壁表層から葉緑体中のCO₂固定部位まで液相中を拡散する抵抗であり、主に、細胞膜および細胞質中のCO₂の物理的拡散の速度に依存する部分と、葉緑体中におけるCO₂固定反応の活性に依存する部分とからなる。Gaastra (1959)は、葉緑体中のCO₂固定部位でのCO₂濃度をゼロと仮定したが、その後、CO₂補償点(Γ)とする考え方が主流となった。そこで、本研究でもΓを用いて以下に示した(6)式からr_mを算出した。

$$CER = \frac{\{([CO_2]_{in} - [CO_2]_{out}) / (\ln[CO_2]_{in} - \ln[CO_2]_{out}) - \Gamma\} \cdot 0.650}{r_{a,CO_2} + r_{s,CO_2} + r_m} \quad (6)$$

0.650: 単位変換係数

実験結果

1) 灌水停止後の土壌の水ポテンシャル、葉の水ポテンシャル、光合成速度
および蒸散速度の経時的変化

Fig. 1 に灌水停止後の土壌の水ポテンシャル(Ψ_{soil})、葉の水ポテンシャル(Ψ_{leaf})、光合成速度および蒸散速度の経時的変化を示した。

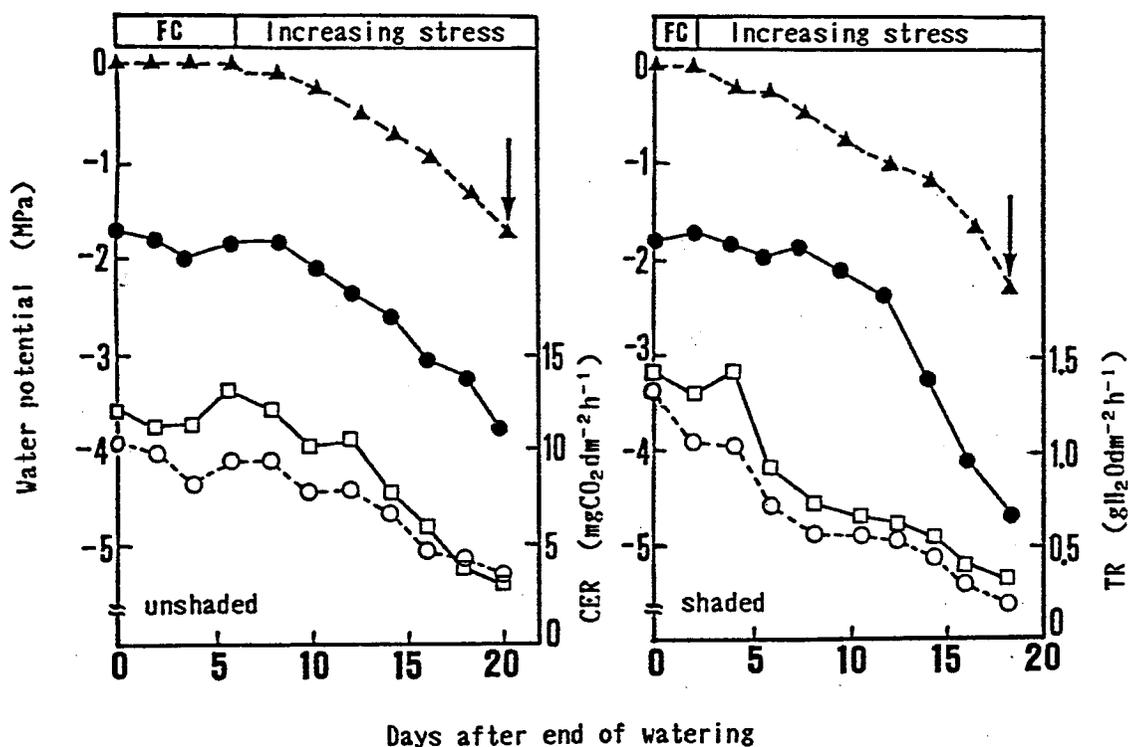


Fig. 1 Changes in the soil (▲; Ψ_{soil}) and leaf (●; Ψ_{leaf}) water potentials and CO₂ exchange rate (□; CER) and transpiration rate (○; TR) after withholding water supply in unshaded or shaded condition. Each data point indicates the mean values of 5 measurements. FC; Field capacity, —→; wilting point.

無遮光下では、 Ψ_{soil} は灌水停止後8日目から低下し始め、それに伴う Ψ_{leaf} の明らかな低下が見られたのは、その2日後の灌水停止後10日目からであった。その後、 Ψ_{leaf} は Ψ_{soil} の低下と平行して、ほぼ直線的に低下し、 Ψ_{soil} が約 -2.0MPa 、 Ψ_{leaf} が約 -3.7MPa で、葉は葉柄から垂直に垂れ下がり外観上萎凋した。光合成速度と蒸散速度は、灌水停止後8日目までは比較的变化が少なく、明らかな低下が認められたのは10日目以降であった。すなわち両者の低下は Ψ_{leaf} の低下し始めた時期と一致し、その後はほぼ直線的に低下した。その結果、初期萎凋点での光合成速度は $3.0\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ 、蒸散速度は $0.25\text{gH}_2\text{Odm}^{-2}\text{h}^{-1}$ となり、各々水ストレスを受ける前の約23%、約25%に減少した。

一方、遮光下では、 Ψ_{soil} は灌水停止後4日目から低下し始めたのに対し、 Ψ_{leaf} は、 Ψ_{soil} の低下に約6日後れて灌水停止後10日目から低下し始めた。また、 Ψ_{leaf} の低下は、 Ψ_{soil} が約 -1.0MPa に低下するまでは比較的緩やかであったが、その後さらに Ψ_{soil} が低下すると Ψ_{leaf} の低下速度が速まった。そして、 Ψ_{leaf} の低下開始後約8日目(灌水停止後18日目)で Ψ_{soil} が約 -2.2MPa 、 Ψ_{leaf} が約 -4.5MPa に達した時、葉は完全に萎凋した。光合成速度は、4日目以降急激に低下し始め、その後4日で水ストレス前の値の約50%に低下した。しかし、その後は Ψ_{leaf} の急激な低下にも関わらず光合成速度は緩やかに減少し、初期萎凋点では $3.3\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ (水ストレスを受ける前の値の約24%)となった。一方、蒸散速度は、灌水停止後速やかに減少し始め、初期萎凋点では $0.19\text{gH}_2\text{Odm}^{-2}\text{h}^{-1}$ (水ストレスを受ける前の値の約20%)まで低下した。Table. 1は、上で述べた結果をまとめたものである。

Table. 1 Changes in water potentials of the soil (Ψ_{soil}) and of the leaf (Ψ_{leaf}) and in CO_2 exchange rate (CER) and in transpiration rate (TR) after withholding water supply

	Unshaded		Shaded	
	pre-stressed	at wilting	pre-stressed	at wilting
CER ($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	13.1 (100)	3.0 (23)	13.8 (100)	3.3 (24)
TR ($\text{gH}_2\text{Odm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	1.00 (100)	0.25(25)	0.93 (100)	0.19(20)
Ψ_{leaf} (MPa)	-1.5	-3.7	-1.5	-4.5
Ψ_{soil} (MPa)	0	-2.0	0	-2.2

Data are shown as mean of 5 measurements.

Figures in parenthesis indicate the relative values to control.

2) 陽葉と陰葉における葉の水ポテンシャルと光合成速度との関係

Fig. 1に見るように、灌水停止後、水ストレスが強まる過程での光合成速度の低下の様相には陽葉と陰葉で若干の差異があった。すなわち、陽葉では Ψ_{leaf} の低下に伴った光合成速度の低下が見られたが、陰葉では、水ストレスがそれほど強くない Ψ_{leaf} 域($\Psi_{\text{leaf}} > -2.0\text{MPa}$)では、光合成速度の低下と Ψ_{leaf} の低下は必ずしも一致しなかった。そこで、両者の関係を見たのがFig. 2である。これによると、 Ψ_{leaf} の低下に伴った光合成速度の低下の様相には、陽葉と陰葉における明らかな差異が認められる。まず水ストレスが生じていない時の Ψ_{leaf} および光合成速度の値は、前述のTable. 1に見るように、陽葉と陰葉で有意な差はなかった。しかし、水ストレスが強くなるにつれて Ψ_{leaf} が低下すると、陽葉では光合成速度が徐々に低下したのに対し、陰葉では Ψ_{leaf} の範囲によって、異なる光合成速度の低下傾向を示した。すなわち、水ストレスが強まる過程の初期段階($\Psi_{\text{leaf}} > -2.0\text{MPa}$)では、光合成速度が比較的急激に低下し、その後、さらに Ψ_{leaf} が低下しても光合成速度はあまり低下しなかった。そこで両葉における Ψ_{leaf} と光合成速度との関係を回帰分析した結果、光合成が半減する Ψ_{leaf} の

値は、陽葉では約 -2.6MPa 、陰葉では約 -2.1MPa となり、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成速度の低下は陰葉の方が早いことを示した。一方、葉の萎凋が見られる様な著しく低い Ψ_{leaf} 域では、陰葉の方が光合成速度が高く維持されていた。

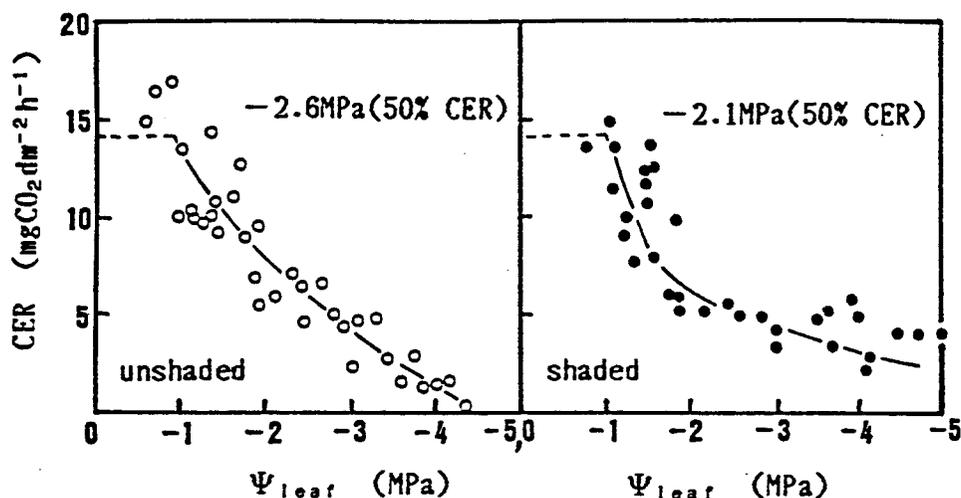


Fig. 2 The CO₂ exchange rate (CER) as a function of Ψ_{leaf} of *C. arabica* leaves grown under unshaded (○) or shaded (●) condition. 50% CER indicates the half rate of CER in unstressed leaves.

3) 陽葉と陰葉における葉の水ポテンシャルとCO₂拡散伝導度との関係

Fig. 2において、 Ψ_{leaf} と光合成速度との関係における陽葉と陰葉での差異が見られたことより、その差異の原因を検討するため、光合成速度の構成要素であるCO₂拡散伝導度と Ψ_{leaf} との関係をFig. 3に示した。CO₂拡散伝導度は気孔伝導度(g_s)と葉肉伝導度(g_m)とに分けることができ、各々の伝導度と Ψ_{leaf} との関係を示した。陽葉では、 Ψ_{leaf} の低下に伴って気孔伝導度も葉肉伝導度もほぼ同様の傾向で低下したが、陰葉では、両者の低下傾向は異なっていた。すなわち、気孔伝導度の低下は、Fig. 2に示した光合成速度の低下傾向と比較

的類似しており、 Ψ_{leaf} が僅かに低下した範囲($\Psi_{leaf} > -2.0$ MPa)では急激に低下したが、さらに Ψ_{leaf} が低下しても、それ以上有意な低下は示さず、陽葉と比べても高い値を維持していた。これに対し、葉肉伝導度は一様な曲線的低下を示し、こちらも陽葉よりも高い値を維持していた。

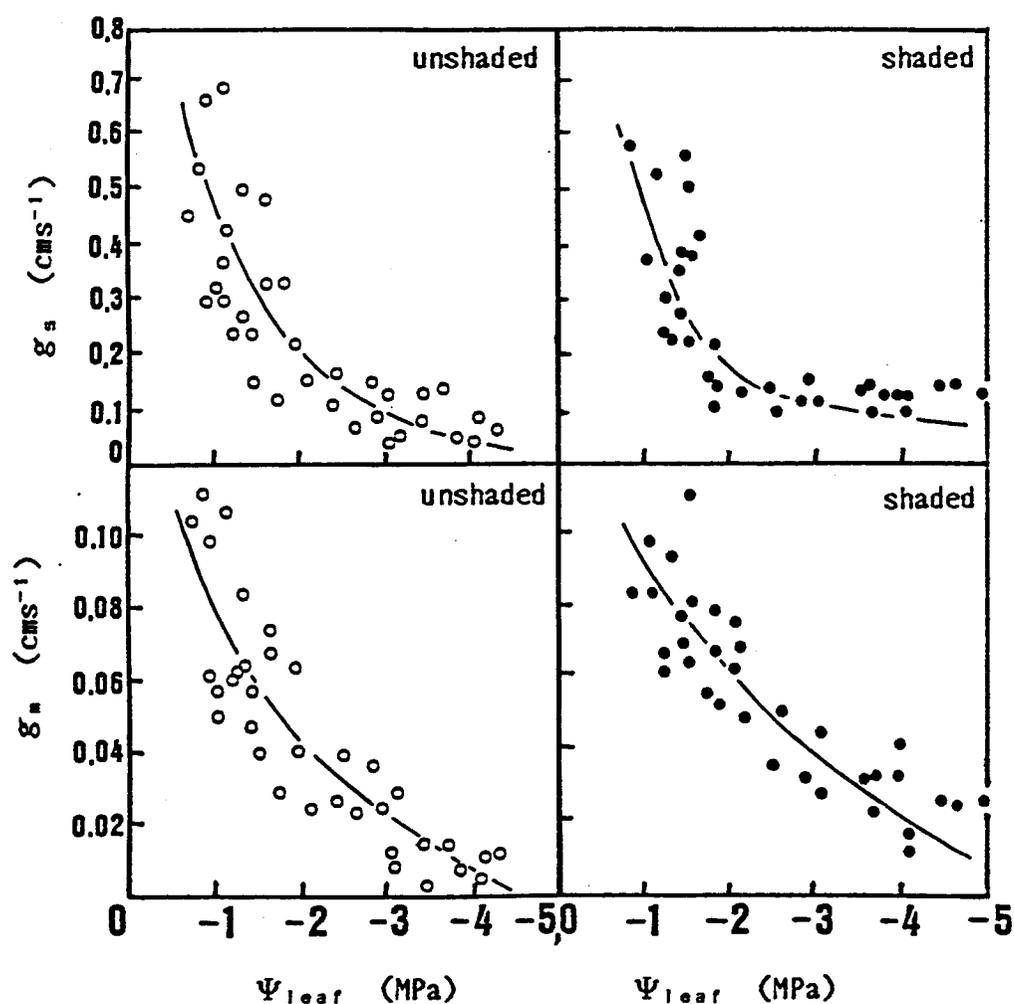


Fig. 3 The CO_2 diffusive conductances (upper, stomatal conductance (g_s); lower, mesophyll conductance (g_m)) as a function of Ψ_{leaf} of *C. arabica* leaves grown under unshaded (O) or shaded (●) condition.

第二節 異なる3種のコーヒーにおける変化

前節で用いたアラビカ種は現在の栽培面積の約75%を占め、世界のコーヒー生産の主軸をなしているが、さらに2種の経済的・栽培的に有用なコーヒーがある。カネフォラ種とリベリカ種である。実際の栽培は、経験的に見いだされた各々の生育適温等の違いに基づいて行われているが、それを裏付ける生理学的研究は少ない。僅かに Nunes et al(1969)によるカネフォラ種を用いた光合成の研究が見られるが、水分生理に着目した光合成の研究はアラビカ種以外では行われておらず、カネフォラ種、リベリカ種に関する知見は皆無である。従って、水ストレスに対する反応の種間差異は、全く明らかではない。

そこで本節では、第一節で用いたアラビカ種に加えて、カネフォラ種、リベリカ種を用い、葉の水ポテンシャルと光合成速度並びにその構成要素である CO_2 拡散伝導度との関係における種間差異を検討することで、水ストレスに対する光合成の反応における栽培上最も重要なアラビカ種の特徴を明らかにすることを目的とした。

実験材料および方法

供試材料として、前節の実験で用いた種子と由来を同じくする Coffea arabica L. var. Typica の種子に加えて、マレーシア農業開発研究所の Jalan Kebun 支所産の Coffea canephora P. ex F. および Coffea liberica B. ex H. の Robusta-1、Liberica-1 と呼ばれる系統の種子を用いた。

材料の育成は前節に準じて行い、3種共、同一環境下で栽培管理した。水ストレス処理開始約3ヶ月前に、前節と同様、ファイトトロン内のガラス室へ移した。ただし、遮光処理は行わず、3種共、陽葉として生育させた。

水ストレス処理は、各々の環境下で出葉した葉が最大葉面積に達し、光合成の活動中心葉となった時点で、前節と同様、ポットへの灌水を停止することで行った。さらに Ψ_{soil} 、 Ψ_{leaf} 、光合成速度および蒸散速度の測定並びに CO_2 拡散伝導度の算出も、前節の方法に準じて行った。

実験結果

1) 葉の水ポテンシャルと光合成速度との関係における種間差異

土壌への灌水停止処理による水ストレスによって、 Ψ_{leaf} は次第に低下し、それに伴って光合成速度も低下した。両者の関係を示したのが Fig. 4 である。まず、アラビカ種では、前節でも述べた通り、光合成速度は最初、 Ψ_{leaf} の低下に伴って大きく低下したが、 Ψ_{leaf} が低くなるにつれて、次第にその低下割合は小さくなる曲線的な低下を示した。これに対し、カネフォラ種、リベリカ種の光合成は、 Ψ_{leaf} の低下にほぼ比例して直線的に低下した。3種共、水ストレス状

態ではない時の光合成速度は、アラビカ種が $13.5\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ 、カネフォラ種が $13.7\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ 、リベリカ種が $13.4\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ であり、有意な差は見られなかった。しかし、水ストレスによって Ψ_{leaf} が低下すると、3種の中ではカネフォラ種の光合成速度が最も早く低下し、次いでリベリカ種が低下した。このことは、カネフォラ種の光合成が水ストレスの影響を受け易いことを示唆している。さらに、3種の Ψ_{leaf} と光合成速度との関係を明確にするために回帰分析を行った結果、光合成速度が水ストレスによって半減する Ψ_{leaf} は、アラビカ種で約 -2.6MPa 、カネフォラ種で約 -1.7MPa 、リベリカ種で約 -2.1MPa であった。

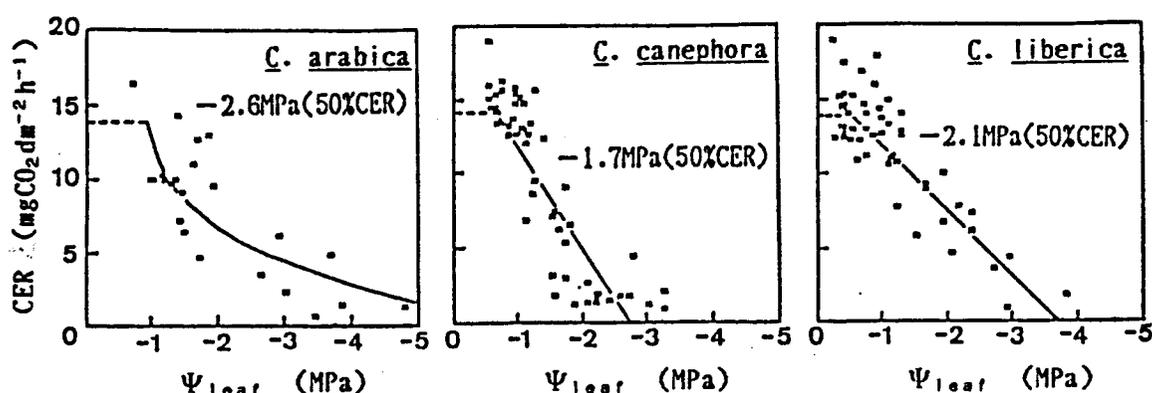


Fig. 4 The CO_2 exchange rate (CER) as a function of Ψ_{leaf} of *C. arabica*, *C. canephora* and *C. liberica* leaves grown under unshaded condition. 50% CER indicates the half rate of CER in unstressed leaves.

2) 葉の水ポテンシャルと CO_2 拡散伝導度との関係における種間差異

Fig. 5には、光合成の構成要素である CO_2 拡散伝導度を気孔伝導度(g_s)と葉肉伝導度(g_m)に分けて、 Ψ_{leaf} との関係を示した。3種共、 Ψ_{leaf} の低下に伴って気孔伝導度と葉肉伝導度はほぼ同時に低下しており、どちらか一方の CO_2 拡散伝導度が優先して低下する傾向は認められなかった。しかし、葉肉伝導度の低

下の様相には種間差異が見られ、アラビカ種、カネフォラ種では気孔伝導度とほぼ同様の低下傾向を示したが、リベリカ種では気孔伝導度の低下の様相とは異なり、葉肉伝導度は直線的に低下した。また、比較的弱い水ストレス下($\Psi_{leaf} > -2.0\text{MPa}$)ではカネフォラ種の葉肉伝導度の低下が最も早く、 Ψ_{leaf} が約 -2.0MPa では水ストレスを受ける前の値の約20%以下に抑制された。また、アラビカ種がカネフォラ種やリベリカ種と明らかに異なる点は、 Ψ_{leaf} が $-3.0\text{MPa} \sim -4.0\text{MPa}$ となるような激しい水ストレス状態下でも、各々の伝導度は水ストレスを受ける前の値の約20%から30%を維持していたことである。すなわち、カネフォラ種およびリベリカ種では Ψ_{leaf} が -3.5MPa 以下に低下すると、両伝導度が完全に抑制されることで光合成速度はゼロとなってしまいが、アラビカ種では、両伝導度が低いながらも維持されており、その光合成速度は完全にゼロとはならなかった。

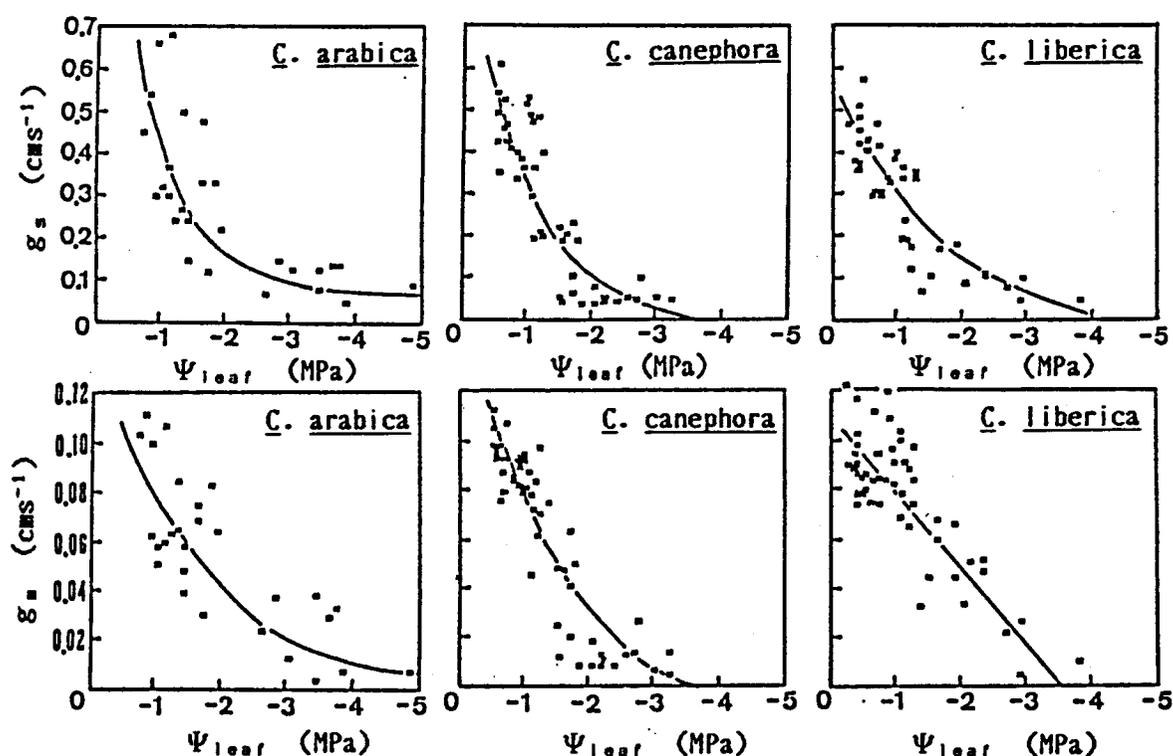


Fig. 5 The CO_2 diffusive conductances (upper, stomatal conductance (g_s); lower, mesophyll conductance (g_m)) as a function of Ψ_{leaf} of *C. arabica*, *C. canephora*, and *C. liberica* leaves grown under unshaded condition.

考 察

葉の水ストレスは、大気および土壌の水分状態によって引き起こされる。本研究では、葉の水ストレスを誘起する方法として、土壌への灌水停止処理を行った。その結果、葉の水ストレスの程度を示す Ψ_{leaf} は、土壌の乾燥の程度を示す Ψ_{soil} の低下に伴って低下したが、両者の低下の様相には、無遮光下で生育している陽葉と遮光下で生育している陰葉とで若干の違いが見られた(Fig. 1)。そこで両者の関係を明らかにするため、灌水停止後の Ψ_{soil} と光合成速度を測定した活動中心葉の Ψ_{leaf} との関係を、陽葉と陰葉の各々の場合についてFig. 6に示した。

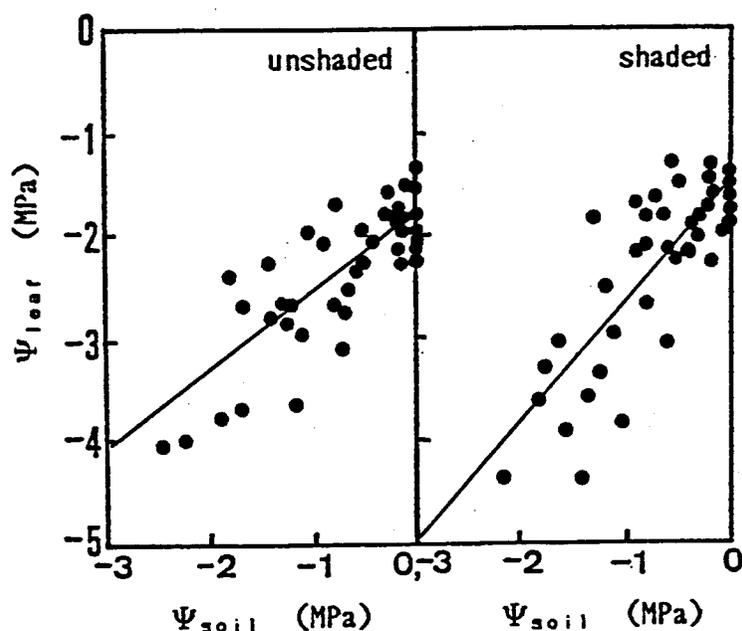


Fig. 6 Relationship between Ψ_{soil} and Ψ_{leaf} in unshaded or shaded conditions. Both regression are significant at $P=0.01$. ($r=0.806^{**}$ in unshaded and $r=0.825^{**}$ in shaded)

Ψ_{soil} と Ψ_{leaf} との間には、陽葉で $r=0.806^{**}$ 、陰葉では $r=0.825^{**}$ といずれも1%水準で有意に高い相関関係が見られた。このことは、いずれの場合も Ψ_{leaf} が土壌の水ストレスを的確に反映していることを示している。しかし、両者の関係を詳細に見ると、土壌の乾燥に対する葉の乾燥の割合(図中の直線の傾き)は、無遮光下で水ストレスが生じた場合に比べて、遮光下で水ストレスが生じた場合の方が大きく、陽葉と陰葉で異なることが示された。この要因としては、根系の発達の程度や、植物体の全蒸散面積を表す個体当りの全葉面積の違い、さらに葉面飽差や葉の形態の違いによる個葉での蒸散速度の違い等が推測できる。一般には、無遮光下で生育した場合に比べて、遮光下で生育した場合の方が地上部の生育に比べて地下部の根の発達が悪く、T/R比が大きくなる。また、遮光下の方が植物体周辺の微気象において飽差が小さく、日中を通して蒸散が盛んであると考えられる。これらのことより、実際、日中を通しての蒸散は陰葉の方が大きいにも関わらず、根による吸水能が低いと考えると、陰葉の方が土壌の乾燥に対して葉の乾燥の程度が大きくなったものと推察される。このように、同じ Ψ_{soil} の土壌水分状態下で生育していても、陽葉と陰葉でその水分状態が異なることが示された。

また、 Ψ_{soil} に代表される土壌の水分状態の測定を通じて、植物の水ストレスを推定する試みは、生理学的過程に及ぼす水欠乏の影響を研究するには不十分であることが以前から指摘されている(Barrs, 1968; Boyer, 1969; Turner, 1981)。

そこで、植物の水分状態の信頼できる指標は、植物自体について行われた測定結果であることがKramer(1983)によって示唆されている。彼は、植物の水分状態の測定法が、1) 生理学的過程の反応速度と密接な関係にある。2) それによって表された水ストレスの程度が同じであれば、広範囲の植物に対して生理的意味が同じでなければならない。3) その単位が、植物、土壌および溶液の全てに適應できなければならない。4) できるだけ簡単かつ迅速に測定がでなければならない等の点をできるだけ満足すべきであることを指摘し、植物組織の水ポテンシャ

ルの測定が、これらの点を満足する最も有効な水ストレスの指標であると結論している。すなわち、 Ψ_{leaf} は、葉の形態等が異なっても、その生理的な水分状態を直接的に表しているので、光合成のような葉の生理機能に及ぼす水ストレスの影響を比較するのに適していることや、あるいは、生育環境が違っても、葉の水ストレス状態を比較できることから、水ストレスの有効な指標であると考えられる。

そこで本章では、 Ψ_{leaf} を水ストレスの指標として光合成速度との関係を検討した結果、水ストレスによるアラビカ種の Ψ_{leaf} の変化と光合成速度の変化との関係は、無遮光下で生育した陽葉と遮光下で生育した陰葉とで異なること（第一節）、さらに、カネフォラ種、リベリカ種と比較した結果、アラビカ種の Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の減少の様相が、他の2種に比べて特異的であること（第二節）を明らかにした。そこでまず最初に、コーヒーについて今まで得られている知見との比較を行う。水ストレスによる Ψ_{leaf} の低下と光合成との関係は、唯一、Kumar et al(1980b)の示した陽葉に関するものだけである。これによると、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の反応様式が3相に分けられている。すなわち、葉が水ストレス状態ではない第1相($\Psi_{leaf} > -1.0\text{MPa}$)では、平均 $16\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ の光合成速度を示しているが、葉に弱い水ストレス状態が生じた状態と考えられる第2相($-1.0\text{MPa} > \Psi_{leaf} > -2.0\text{MPa}$)では、光合成速度が平均 $12\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ まで若干低下し、さらに水ストレスの程度が強くなる第3相($\Psi_{leaf} < -2.0\text{MPa}$)では、光合成速度は急激に低下し、約 $4\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ (Ψ_{leaf} : 約 -3.0MPa)まで減少したことが示されている。これに対し本研究で得た結果によると、 Ψ_{leaf} が約 -1.5MPa 以下に低下すると、光合成速度が急激に低下し、 Ψ_{leaf} が約 -3.0MPa では Kumar et alの結果と同様、約 $4\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ にまで減少した。このことから、光合成が低下し始める Ψ_{leaf} の値において若干の相違はあるが、Kumar et al(1980b)によって得られた知見とほぼ一致した Ψ_{leaf} と光合成との関係が見い出されたと言え

よう。さらに、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の変化に関して、陽葉と陰葉での差異を見出したことは、今まで研究されてきたコーヒーでの光合成に関する陽葉と陰葉での特徴に対して新たな知見を加えるものであろう。そこで次に、 Ψ_{leaf} と光合成との関係について、他の植物との関連を検討してみる。

Ψ_{leaf} と光合成との関係において、その特徴を示す指標の1つとして、光合成が低下し始める Ψ_{leaf} を意味する Ψ_{leaf} の閾値が考えられている。 Ψ_{leaf} と光合成との関係を示した他の植物において、この Ψ_{leaf} の閾値を見てみると、 $-0.2 \sim -0.3\text{MPa}$ [トウモロコシ(Boyer, 1970a, 1970b; Beadle et al, 1973)、イネ(Ishihara & Hirasawa, 1978)]、 $-0.5 \sim -1.3\text{MPa}$ [ブドウ(Kriedemann & Smart, 1971)、トマト(Brix, 1962)、ヒマワリ(Boyer & Bowen, 1970c)、コムギ(Johnson et al, 1974; Frank et al, 1973)]、 $-1.1 \sim -1.5\text{MPa}$ [ダイズ(Boyer 1970a, 1970b; Ghorashyet al, 1971)]、 -3.0MPa [アカシア(van den Driessche et al, 1971)]等、比較的種の違いによる変異は大きい。コーヒーでの Ψ_{leaf} の閾値は、Kumar et al(1980b)によると約 -2.0MPa であったが、本実験では、アラビカ種における陽葉、陰葉並びにカネフォラ種、リベリカ種においても約 -1.5MPa でほぼ等しい値を示した。すなわち、コーヒーはダイズと同様かあるいはそれよりも若干低い Ψ_{leaf} の閾値を示し、その光合成は水ストレスに対して比較的強い範疇に入ると推察できる。しかし、実験に用いた3種に通して見られるように、 Ψ_{leaf} がこの閾値を少しでも低下すると、光合成は急激に減少する傾向が見られた。

そこで以下、この閾値を越えて Ψ_{leaf} が低下した時の光合成の低下について考察する。まず、アラビカ種における陽葉と陰葉での差異について検討する。陽葉の光合成速度は、 Ψ_{leaf} の低下に伴って徐々に低下したが、陰葉では Ψ_{leaf} の範囲によって異なった反応を示した(Fig. 2)。すなわち、陰葉では水ストレスがそれほど強くない段階において、光合成速度が急激に低下する範囲($\Psi_{leaf} > -2.0\text{MPa}$)と、さらに Ψ_{leaf} が低下しても、光合成速度があまり低下しない範囲

($\Psi_{leaf} < -2.0\text{MPa}$)が見られ、著しく低い Ψ_{leaf} 域においては、陽葉よりも陰葉の方が高い光合成速度を維持していた。そこで、この差異に関して検討を重ねるため、Fig. 2とFig. 3に示した結果から、光合成速度と CO_2 拡散伝導度との相関係数を算出した(Table 2)。陽葉、陰葉いずれも水ストレス下での光合成速度の低下は、気孔伝導度および葉肉伝導度の両者と高い相関関係にあり、このこ

Table 2 Correlation coefficients between the CO_2 exchange rate(CER) and the CO_2 diffusive conductances (g_s :stomatal conductance, g_m : mesophyll conductance) in sun and shade leaves

	sun leaves	shade leaves
CER- g_s	0.925**	0.908**
CER- g_m	0.992**	0.988**

** Significant at 1% level.

とからは、どちらが水ストレス下での光合成速度の低下の主因であるかを断定することはできない。しかし、 Ψ_{leaf} の低下に伴う気孔伝導度および葉肉伝導度の変化を見ると(Fig. 3)、水ストレスが強くなる $\Psi_{leaf} < -3.0\text{MPa}$ では、明らかに陰葉の方が陽葉よりも両伝導度を高く維持しており、このことが、著しく低い Ψ_{leaf} 域で陰葉の方が陽葉よりも光合成を高く維持していることに関与していると考えられる。

次に、 Ψ_{leaf} と光合成速度との関係における種間差異について検討する。まず、 Ψ_{leaf} と光合成速度との関係を見ると(Fig. 4)、前述した通り、 Ψ_{leaf} の閾値は3種共、約 -1.5MPa で有意な差は見られないが、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成速度の低下の様相において、アラビカ種と他の2種で差異が見られた。すなわち、

アラビカ種では、 Ψ_{leaf} の初期低下域($\Psi_{leaf} > -2.0\text{MPa}$)において、カネフオラ種、リベリカ種同様、光合成速度が急激に低下したが、水ストレスの程度が強いと考えられる著しく低い Ψ_{leaf} 域($\Psi_{leaf} < -3.0\text{MPa}$)において、他の2種に比べて高い光合成速度を維持していた。また、回帰分析の結果からも、アラビカ種の光合成速度は Ψ_{leaf} の低下に伴ってその初期低下は急激であるが、次第にその低下割合が小さくなる傾向を示したのに対し、他の2種では直線的な低下を示していた。そこで、このような差異を CO_2 拡散伝導度の変化から検討を重ねるために、Table 3には、Fig. 4とFig. 5のデータから算出した水ストレス下での光合成速度と CO_2 拡散伝導度との相関係数を示した。これによると、いずれの種も光

Table 3 Correlation coefficients between the CO_2 exchange rate(CER) and the CO_2 diffusive conductances (g_s : stomatal conductance, g_m : mesophyll conductance) in each of three species

	<u>C. arabica</u>	<u>C. canephora</u>	<u>C. liberica</u>
CER- g_s	0.930**	0.912**	0.865**
CER- g_m	0.996**	0.994**	0.964**

** Significant at 1% level.

合成速度と各々の伝導度との間には高い相関関係が見られ、光合成速度の低下に気孔伝導度と葉肉伝導度のどちらが強く関与しているのかを断定することはできない。しかし、アラビカ種の葉肉伝導度は $-3.0\text{MPa} > \Psi_{leaf} > -4.0\text{MPa}$ で他の2種に比べて高く維持されている傾向があり(Fig. 5)、このことが、低い Ψ_{leaf} 域での光合成の維持に関与しているのではないかと考えられる。さらに、リベリカ種に関しては、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成速度の低下の様相(Fig. 4)と葉肉

伝導度の低下の様相(Fig. 5)が共に直線的であり、対応していることから、水ストレス下での光合成の低下に葉肉伝導度がより強く関与していることが考えられる。

また、多くの中生植物において水ストレス下での光合成低下の主因を気孔伝導度の低下として表される気孔閉鎖であるとする中で、最近では気孔以外の光合成の構成要因に与える水ストレスの影響が大であることが認められつつある。しかし、この要因は複雑であり、*in vivo*での説明は容易ではないとされている。本実験で用いた CO_2 拡散伝導度は、着生葉での光合成の律速要因の説明手段としては有効ではあるが、その構成要素である気孔伝導度と葉肉伝導度が加算的ではなく、互いに影響を及ぼしあってしまうので、両要因を明確に分離して考察することはできない。従って、本章で見たように光合成速度との相関関係は、どちらの伝導度共、非常に高く、光合成の律速要因を明確に断定することはできなかった。そこで次章では、この様な不十分な点を補うため、 CO_2 濃度の変化に対する光合成速度の変化を測定することで得られる細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線による着生葉レベルでの光合成の律速要因の説明を行う。

摘 要

コーヒー葉の光合成に及ぼす水ストレスの影響を明らかにするに先立って、葉の水ストレスの指標として用いた葉の水ポテンシャル(Ψ_{leaf})と光合成との関係を、陽葉と陰葉における差異および種間差異の面から調べた。さらに、 Ψ_{leaf} の変化に伴う光合成速度の変化の原因を、着生葉における CO_2 拡散伝導度から検討した。

- 1) 土壌の水ポテンシャル(Ψ_{soil})と葉の水ポテンシャル(Ψ_{leaf})との関係は、無遮光下と遮光下では若干異なるが、両葉共に高い相関関係(陽葉で $r=0.806^{**}$ 、陰葉で $r=0.825^{**}$)が認められた(Fig. 6)。

- 2) 初期萎凋点の Ψ_{soil} は、無遮光下、遮光下共に約 $-2.0MPa$ で同じであったが、その時の Ψ_{leaf} は、陽葉で $-3.7MPa$ 、陰葉で $-4.5MPa$ と後者の方が低かった(Fig. 1)。

- 3) Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成速度の低下の様相は、陽葉と陰葉で若干異なり、 $\Psi_{leaf} > -2.0MPa$ の弱い水ストレス下では陰葉の光合成が陽葉よりも早く低下し、 $\Psi_{leaf} < -2.0MPa$ では、陽葉では光合成が低下し続けるのに対し、陰葉ではあまり顕著な低下は見られなかった。その結果、陰葉では著しく低い Ψ_{leaf} 域($\Psi_{leaf} < -4.0MPa$)でも光合成能力を維持していた(Fig. 2)。また、その様に低い Ψ_{leaf} 域での気孔伝導度および葉肉伝導度は、陽葉に比べて陰葉の方が高かった(Fig. 3)。

4) Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成速度の低下には種間差異が認められ、弱い水ストレス下($\Psi_{leaf} > -2.0\text{MPa}$)での光合成の低下にはあまり差異は見られないが、強い水ストレス下($\Psi_{leaf} < -3.5\text{MPa}$)では、アラビカ種がカネフォラ種、リベリカ種に比べて高い光合成を維持した。また、光合成が半減する Ψ_{leaf} は、カネフォラ種で -1.7MPa 、リベリカ種で -2.1MPa 、アラビカ種で -2.6MPa であった(Fig. 4)。

5) アラビカ種、カネフォラ種、リベリカ種共、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の低下は、気孔伝導度および葉肉伝導度のどちらとも関係が密接であった。しかし、リベリカ種に関しては、光合成と葉肉伝導度の低下傾向がどちらも直線的で同じであることより、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の低下が、葉肉伝導度により強く支配されている可能性が示唆された(Fig. 5)。

以上のことより、コーヒーの Ψ_{leaf} は土壌の水ストレスを的確に反映していることが明らかとなり、葉の水ストレスの生理的な指標として用いることができると考えられた。また、3種のコーヒーの中では、アラビカ種が低い Ψ_{leaf} 下においても、最も高い光合成を維持することが明らかとなった。さらに同じアラビカ種でも、陽葉と陰葉とで Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の低下の様相が異なり、低い Ψ_{leaf} 域では、陰葉の方が高い光合成能力を示すことが明らかとなった。

第二章

光合成に及ぼす慢性的な水ストレスの影響

コーヒーの葉は、出葉後約30-40日で最大葉面積に達し、その光合成速度もこれとほぼ同時に最大に達する。すなわち、この期間は葉の形態形成の期間であると同時に、光合成のような生理機能も徐々に充実していく期間でもある。また、完全展開後の約2ヶ月間は最大光合成能力を維持して、最も活発に光合成を行っている期間である(Yamaguchi & Friend, 1979)。このように葉齢の長いコーヒーでは、一時的な水ストレスの影響に加えて、成熟前の葉と成熟期の葉のそれぞれに対する長期間に亘る慢性的な水ストレスの影響をも考えなければならない。

一般には水ストレスが生長点における葉の分化を抑制することや、その後の葉の発育を抑制することが既に報告されているにも関わらず(Clough & Milthorpe, 1975)、光合成に及ぼす影響のほとんどは成熟葉に対する一時的な水ストレスの影響として捉えられている。着生葉位の違いによって、水ストレスによる光合成への影響が異なることを示した報告(Wardlaw, 1969)はあるが、成熟葉の老化過程に対する水ストレスの影響に着目したものであり、葉の発育中の光合成機能の充実に与える水ストレスの影響に関してはほとんど明らかにはされていない。

そこで本章では、慢性的な水ストレスの光合成に及ぼす影響を、葉齢の違いに着目して、着生葉レベルで明らかにするため、CO₂濃度-光合成曲線による解析法を用い、光合成の律速要因を気孔とそれ以外の要因に分けて検討した。まず第一節では、葉の発育時の光合成機能の充実過程に及ぼす影響を調べ、さらに第二節では、光合成機能の充実した成熟葉への影響を調べることで、両者を比較し、葉齢の違いによる水ストレスに対する光合成の感受性の差異を明らかにすることを試みた。

第一節 葉の発育過程に及ぼす影響

出葉後の葉の発育過程は、細胞の分裂・肥大に伴う葉面積の拡大が起こると同時に、光合成機能の充実していく過程でもある。この期間に水ストレスが生じると、細胞の生長・細胞壁の合成・前葉緑体の形成が著しく阻害されることが報告されており(Virgin, 1965; Boyer, 1968; Cleland, 1971; Acevedo et al, 1971)、成熟期の光合成にも大きな影響が現れることが予想される。すなわち、光合成機能の充実過程に及ぼす水ストレスの影響は、成熟葉における機能的に完成した光合成に及ぼす水ストレスの影響と異なった特異的な面があると考えられる。そこで本節では、慢性的な水ストレス下で出葉し成熟した葉について、 CO_2 -光合成曲線を測定し、さらに葉内成分含量の変化とも併せて水ストレス下での光合成の律速要因を調べた。

実験材料および方法

1) 供試材料の育成

供試材料は、前章と由来を同じくする *Coffea arabica* L. var. *Typica* の種子から前章の方法に準じて育成した発芽後、約12ヶ月の1年生実生を用いた。水ストレス処理開始約3ヶ月前にファイトトロンのガラス室内(昼/夜温:25/20℃、昼/夜相対湿度:60/80%)へ移し、前章と同じ遮光処理を行った。

2) 水ストレス処理並びに土壌と葉の水ポテンシャルの測定

光強度以外の生育環境前歴を揃える目的で、ファイトトロンで約2ヶ月間生育させた後、慢性的な水ストレス処理を開始した。処理の方法としては、毎朝9時に、前章の方法に準じて、土壌サイクロメーターにより土壌の水ポテンシャル(Ψ_{soil})を測定し、一定レベルの水ストレスを維持するようにポットへの灌水量の調節を行った。処理は、処理中に出現した葉が最大葉面積に達するまで約40日間継続した。その結果、処理期間中の平均 Ψ_{soil} は、無遮光下で -1.7 ± 0.5 MPa、遮光下で -1.6 ± 0.5 MPaであった。これはコーヒー葉では、その光合成を約50%抑制する程度の水ストレスに相当している。なお、水ストレス処理を行わない対照区として、毎日灌水することで葉の発育期間中を通して圃場容水量に保った区を設けた。ちなみに、用いた土壌の圃場容水量は平均含水量で約27%であった。葉の水ポテンシャルの測定は、光合成速度の測定時に、その対生葉を用いて前章に準じて行った。

3) 光-光合成曲線および CO_2 濃度-光合成曲線の測定並びに細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線の作成とそれによる光合成の律速要因の解析

慢性的な水ストレス下で生育した成熟葉に関し、光強度および CO_2 濃度の変化に対する光合成速度の変化を、前章に準じた着生葉による開放系通気法で測定した。さらに、 CO_2 濃度-光合成曲線より細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線を作成し、それによる着生葉レベルでの光合成の律速要因の解析を行った。

i) 光-光合成曲線

測定時の諸条件は前章と同様であるが、光強度は、光源と同化箱の間に挿入す

るトレーズ用紙の枚数を変えることで10段階に変化させ、各々における光合成速度を測定した。光強度は光合成有効放射光量子センサー(Li-cor社製 LI-190S)を用いて測定した。みかけの量子収量(α)は、光-光合成曲線における光強度 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPF以下以下の比例的反応部分を直線回帰することで、その初期勾配として示した。

ii) CO_2 濃度-光合成曲線

前章で用いた精密流量計により、同化箱へ通気する空気の CO_2 濃度を $30 \mu\text{l l}^{-1}$ から $1300 \mu\text{l l}^{-1}$ まで段階的に変化させ、それに伴う光合成速度の変化を前章に準じて測定した。ただし、 O_2 濃度は、光呼吸の影響を避けるため 20ml l^{-1} とした。また、細胞間隙 CO_2 濃度の算出に必要な蒸散速度の測定も同時に行った。

a) 細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線の作成

前章で示したGaastra (1959)の CO_2 拡散抵抗のモデルから得られる(7)式に基づいて測定した各々の CO_2 濃度に対して細胞間隙 CO_2 濃度を算出し、細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線を作成した。

$$\text{CER} = \frac{\text{Ca} - \text{Ci}}{r_{a, \text{CO}_2} + r_{s, \text{CO}_2}} \quad \text{-----} \quad (7)$$

$$\therefore \text{Ci} = \text{Ca} - \text{CER}(r_{a, \text{CO}_2} + r_{s, \text{CO}_2}) \cdot 1.539$$

Ca : 葉外の CO_2 濃度($\mu\text{l l}^{-1}$)

$$= ([\text{CO}_2]_{i_n} - [\text{CO}_2]_{o_{ut}}) / (\ln[\text{CO}_2]_{i_n} - \ln[\text{CO}_2]_{o_{ut}})$$

Ci : 細胞間隙の CO_2 濃度($\mu\text{l l}^{-1}$)

1.539: 単位変換係数

b) 細胞間隙CO₂濃度－光合成曲線による光合成の律速要因の解析

b-1) 光合成の気孔による律速割合の算出

本実験で測定された光合成速度は、葉面境界層抵抗の影響を受けていないことより、光合成の律速要因は、気孔閉鎖による葉内へのCO₂取り込みの減少と葉肉細胞のCO₂固定活性の低下とに分けることができる。そこでまず、大気CO₂濃度下(Ca:350 μl l⁻¹)における光合成の律速要因のうち、気孔閉鎖に起因した光合成の減少割合(Ls)を算出する方法をFig. IVに示した。ここで、大気CO₂濃度350 μl l⁻¹での実際の光合成速度はB点である。また、実際は気孔が存在することにより、細胞間隙CO₂濃度は大気CO₂濃度よりも幾分低下し、B'となる。従って、細胞間隙CO₂濃度をB'→350 μl l⁻¹にまで上昇させた時の光合成速度Aは、葉に気孔が存在しないと仮定した時の葉肉細胞が直接大気に曝されている条件下での潜在光合成能力である。従って、気孔閉鎖により光合成速度はA→Bに低下し、すなわち、実際の光合成速度Bは、気孔によってA-B/A(%)だけ律速を受けていることになる。これに対し、従来から用いられている気孔抵抗(r_s)と葉肉抵抗(r_m)によって光合成に占める気孔による律速の割合をr_s/(r_s+r_m)と表すことについて、Farquhar & Sharkey(1982)は、問題点を指摘している。すなわち、光合成がCO₂濃度の増大に伴って直線的に増加する範囲では適用できるが、実際、水ストレス等によって細胞間隙CO₂濃度－光合成曲線が湾曲し、CO₂飽和点が低くなると、過大評価となることを指摘している。すなわち、r_sはBとCi:350 μl l⁻¹とを結ぶ直線の傾きの絶対値を表し、r_mはΓとBとを結ぶ直線の傾きの逆数であることより、r_s/(r_s+r_m)は図中のA'-B/A'となり、気孔閉鎖による光合成の低下は、実際の実線の矢印とは異なって点線の矢印となり過大評価となってしまふ。そこで本研究でもFarquhar & Sharkey (1982)およびSharkey (1985)の方法に基づいたLsの算出方法を用いた。

b-2) 水ストレスによる光合成低下の原因の解析

先にも述べたように、光合成の律速要因は気孔閉鎖に依存する部分と、葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に依存する部分とに分けられる。そこで、これらの要因によって水ストレス下での光合成低下の原因を着生葉レベルで説明するため、Matthews & Boyer(1984)および Ort & Boyer(1985)によって提唱された方法に基づいた細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線による解析を行った。まず、水ストレスを受けていない時および水ストレスを受けた時の各々に関して、Fig. Vに示すような細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線を作成する。水ストレスによって実際の光合成速度の低下は、A(水ストレスを受けていない時の実際の光合成速度)-B(水ストレスを受けた時の実際の光合成速度)で示される。Aでの細胞間隙 CO_2 濃度をCとし、水ストレスを受けた時の反応曲線に関して、C点での光合成速度A'を求める。このA'は、水ストレスを受けていない時の葉肉細胞が接している CO_2 濃度と同じ CO_2 濃度下での、水ストレスを受けた葉の葉肉細胞の光合成能力を示していることより、葉肉細胞の光合成活性は水ストレスによってA→A'に低下したことになる。また、水ストレスを受けた時の実際の光合成速度がBであることから、A'→Bは、気孔閉鎖による光合成速度の低下を表している。すなわち、水ストレスにより、光合成速度がA→Bに低下したうち、A→A'は葉肉細胞の光合成活性の低下により、さらに、A'→Bは気孔閉鎖によって低下したことが言える。この方法に基づいて葉肉細胞の光合成活性の低下に起因した光合成の低下割合(L_m)を算出した。従って、 $100-L_m$ は、気孔閉鎖に依存した光合成の低下割合を示している。

4) 光合成に関する葉内成分含量の定量

i) クロロフィルの定量

Arnon(1949)の方法に従って比色定量し、クロロフィル a およびクロロフィル b、さらに両者の合計量を単位葉面積当りの含量として算出した。

ii) 全可溶性タンパク質の定量

葉片を冷却した乳鉢中で、50mM Tris-HCl緩衝液(pH7.9、10mM MgCl₂、0.2mM EDTA、5mM Dithiothreitol、少量の Polyvinylpolypyrrolidone および Sodium L-Ascorbateを含む)により磨砕、抽出し、15,000gで30分間遠心した。上澄みに等量の20%Trichloroacetic Acidを加えて生じた沈澱を遠心によって回収し、1 N-NaOHに溶解した後、Lowry et al(1951)の方法によって540nmで比色定量した。標準曲線は牛血清アルブミンを用いて作成した。

iii) リブローズ-1,5-2リン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)の定量

Steer(1973)の方法に一部改良を加えて行った。まず前述の15,000gで遠心後の粗抽出液である上澄みの一部を6%Tボリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法によって各々の可溶性タンパクに分離した後、0.5%アミドブラック10B-20%酢酸溶液で染色後、7%酢酸で脱染色し、Rubiscoに対応するバンドから1 N-NaOHで色素を溶出させ、620nmで比色定量した。標準曲線は、Kung et al(1980)の方法によって抽出、精製したタバコ葉のRubiscoを用いて作成した。

実験結果

1) 光-光合成反応曲線の変化

Fig. 7は、無遮光下および遮光下で、生育中に水ストレスを受けた葉と水ストレスを受けなかった葉の各々について、その成熟期に光-光合成曲線を測定した結果である。まず陽葉について見ると、水ストレス前歴を受けずに成熟した対照区(O)では、光合成速度は光強度の増加に伴って、約 $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFDまでは直線的に増大し、その後、飽和型の反応を示した。したがって、光飽和点は約 $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFDで、飽和光合成速度は $12.0 \text{mgCO}_2 \text{dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ であった。一方、水ストレス下で成熟したストレス区の葉(Δ)では、光飽和点が約 $130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFDで飽和光合成速度が $5.0 \text{mgCO}_2 \text{dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ であり、対照区の約60%に低下した。また光強度の増大に伴って、光合成速度が直線的に増加する $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD以下の光強度域での直線の傾きとして表したみかけの初期勾配(α)は、対照区で約 $0.067 \text{molCO}_2 \text{mol Photon}^{-1}$ に対して、ストレス区では約 $0.043 \text{molCO}_2 \text{mol Photon}^{-1}$ に低下した。

一方、陰葉では、対照区(\bullet)の α は、約 $0.083 \text{molCO}_2 \text{mol Photon}^{-1}$ で陽葉の対照区よりも有意に高く、光飽和点は約 $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFDであった。また、飽和光合成速度は、陽葉と有意な差はなく、 $12.5 \text{mgCO}_2 \text{dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ であった。ストレス区(\blacktriangle)では、 α 、光飽和点および飽和光合成速度共、約 $0.032 \text{molCO}_2 \text{mol Photon}^{-1}$ 、約 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFDおよび $3.0 \text{mgCO}_2 \text{dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ となり、対照区に比べて大きく低下した。Table 4には、これらの結果をまとめて示した。

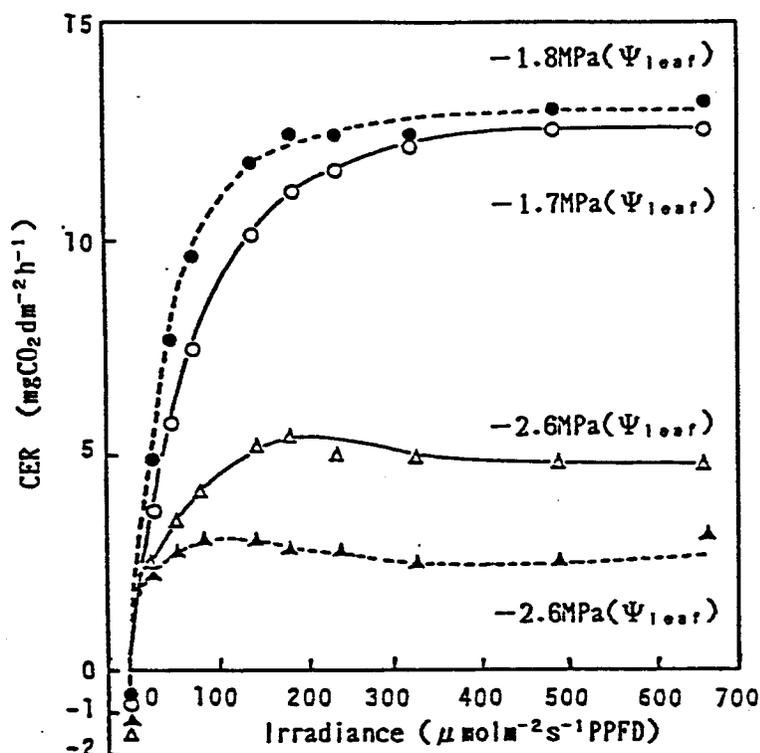


Fig. 7 Irradiance response curves for CO_2 exchange rate (CER) in matured sun (O, Δ) or shade (\bullet , \blacktriangle) leaves grown under well-water (O, \bullet) or stressed (Δ , \blacktriangle) condition. Measurement conditions: ambient CO_2 and O_2 concentrations, 25°C leaf temperature. Average Ψ_{soil} throughout water stress treatment shows -1.7MPa in unshaded and -1.6MPa in shaded condition, respectively.

Table 4 Changes in saturated CO_2 exchange rate [CER(sat)], saturating irradiance [$I(\text{sat})$] and apparent initial slope (α) in both sun and shade leaves grown in different soil moisture conditions (unstressed and stressed)

	sun leaves		shade leaves	
	unstressed	stressed	unstressed	stressed
CER(sat) ($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	12.0(100)	5.0(42) ^a	12.5(100)	3.0(24) ^a
$I(\text{sat})$ ($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}\text{PPFD}$)	350	130	200	100
α ($\text{molCO}_2\text{molPhoton}^{-1}$)	0.067(100)	0.043(64) ^a	0.083(100) ^a	0.032(39) ^a

Data are the mean of five replicates.

Values in parentheses indicate percentage of unstressed.

A and a indicate a significant difference ($P < 0.05$, t test) within the water stressed treatments and within different light conditions, respectively.

2) CO₂濃度－光合成曲線の変化

着生葉レベルでの水ストレスによる光合成の律速要因を解明する手段として、葉の外圍空気のCO₂濃度の変化に対する光合成速度の反応を測定した。測定は、光呼吸の影響を避けるため、20ml l⁻¹ O₂下で行った。その結果から、前述の葉のCO₂拡散経路の概念に基づいて算出した細胞間隙CO₂濃度－光合成反応曲線をFig. 8に示した。細胞間隙CO₂濃度下での光合成速度は、気孔の影響を排除した葉肉細胞の光合成能力を表しているため、通常、水ストレス下で見られるような気孔の閉鎖に依存した光合成速度の低下と、葉肉の光合成活性そのものの低下とを量的に分けて表すことができる。しかもその反応は着生葉レベルでの実際の光合成の変化に即したものである。

まず陽葉について見ると、対照区では、光合成速度はCO₂濃度の増加に伴って約500 μ l l⁻¹まで直線的に増加し、CO₂飽和光合成速度は約45 mg CO₂ dm⁻² h⁻¹であった。一方ストレス区では、約200 μ l l⁻¹までは直線的に増加したが、それ以上細胞間隙CO₂濃度が増加しても、光合成速度はあまり増加せず飽和する傾向を示した。また、大気CO₂濃度下(350 μ l l⁻¹)での気孔の影響を排除した光合成の最大能力は、対照区で39.5 mg CO₂ dm⁻² h⁻¹に対して、ストレス区では10.4 mg CO₂ dm⁻² h⁻¹と対照区の約26%となった。そこで、対照区とストレス区の各々について、大気CO₂濃度下での気孔閉鎖による光合成の律速割合(Ls)を算出したところ、前者では約27%、後者では約23%と大きな差は認められなかった。すなわち、大気CO₂濃度下での実際の光合成速度は、対照区の28.8 mg CO₂ dm⁻² h⁻¹から、ストレス区の8.0 mg CO₂ dm⁻² h⁻¹と20.8 mg CO₂ dm⁻² h⁻¹低下したことになる。この低下をもたらした要因を、光合成の主な律速要因である気孔閉鎖と葉肉細胞での活性の低下に分けて算出した結果、低下をもたらした要因のうち約96%が後者に依存したものであった。また、各々の反応曲線の初期勾配として表したCO₂固定効率の値は、対

照区で 0.075cms^{-1} に対して、ストレス区で 0.021cms^{-1} であり、有意に低かった。

次に陰葉について見ると、対照区では CO_2 濃度が約 $400\mu\text{ll}^{-1}$ まで直線的に光合成速度は増大し、それ以上では次第に飽和傾向を示し、最大光合成速度は約 $50\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ であった。これに対しストレス区では、 $250\mu\text{ll}^{-1}$ までは直線的に増加したが、それ以上では一定となり、最大光合成速度は約 $9\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ であった。気孔の影響を排除した大気 CO_2 濃度下($350\mu\text{ll}^{-1}$)での光合成の潜在速度は、対照区で $41.7\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ 、ストレス区で $8.0\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ であったのに対し、気孔の影響を含めた大気 CO_2 濃度下($350\mu\text{ll}^{-1}$)での実際の光合成速度は、各々 $28.9\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ 、 $7.5\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ であった。これにより、気孔閉鎖に依存する光合成速度の低下割合は、対照区で約31%、ストレス区で約6%であった。従って、水ストレスによる実際の光合成速度の低下は、 $21.4\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ となり、そのうち葉肉細胞の活性低下に起因する部分が約99%であった。Table 5には前述の結果を表記した。

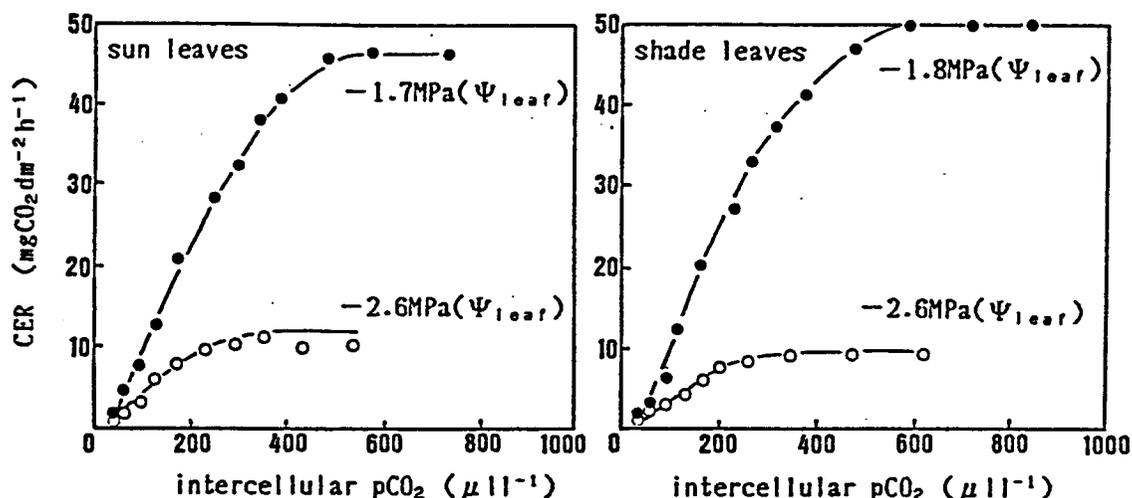


Fig. 8 The response of CO_2 exchange rate (CER) to intercellular CO_2 pressure (intercellular $p\text{CO}_2$) in matured sun (left) and shade (right) leaves grown under well-watered (●) or mild water stressed (○) condition. Measurement conditions: vapour pressure difference lower than 0.5 kPa, 20ml l^{-1} external O_2 pressure, $800\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD saturating irradiance and 25°C leaf temperature. Average Ψ_{soil} throughout water stress treatment shows -1.7MPa in unshaded and -1.6MPa in shaded condition, respectively.

Table 5 Changes in maximum CO_2 exchange rate [CER(max)], potential CO_2 exchange rate at $350\ \mu\text{l l}^{-1}$ intercellular CO_2 concentration [CER($\text{Ci}:350$)], apparent CO_2 exchange rate at $350\ \mu\text{l l}^{-1}$ ambient CO_2 concentration [CER($\text{Ca}:350$)], carboxylation efficiency (CE), stomatal limitation at $350\ \mu\text{l l}^{-1}$ ambient CO_2 concentration (L_s) and mesophyll limitation in reduction of photosynthesis (L_m) in both sun and shade leaves grown in different soil moisture conditions (unstressed and stressed)

		sun leaves		shade leaves	
		unstressed	stressed	unstressed	stressed
CER(max)	($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	45.0(100)	10.4(23) ^A	50.0(100)	9.0(18) ^A
CER($\text{Ci}:350$)	($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	39.5(100)	10.4(26) ^A	41.7(100)	8.0(19) ^A
CER($\text{Ca}:350$)	($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	28.8(100)	8.0(28) ^A	28.9(100)	7.5(26) ^A
CE	(cm s^{-1})	0.074(100)	0.021(28) ^A	0.081(100)	0.020(25) ^A
L_s	(%)	27	23	31	6 ^{Aa}
L_m	(%)		96		99

Data are the mean of five replicates.

Values in parentheses indicate percentage of unstressed.

A and a indicate a significant difference ($P < 0.05$, t test) within the water stressed treatments and within different light conditions, respectively.

3) 光合成に關与する葉内成分含量の変化

光合成の暗反応系は数多くの酵素によって触媒される複合反応系であり、それらの酵素は葉緑体のストロマ中に存在している。さらに、光合成の明反応系は光獲得反応系であり、クロロフィル量に律速される。そこで、これらの酵素タンパクの中でCO₂固定の初期反応を触媒する酵素であるリブローズ-1,5-2リン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)およびクロロフィルへの水ストレスの影響を調べた。その結果をTable 6に示した。

陽葉、陰葉共に可溶性タンパクおよびRubiscoの合成量に対して、水ストレスは大きく影響した。水ストレス下で生育した場合、全可溶性タンパク量は、陽葉で約15%、陰葉で約27%、さらにRubisco量は陽葉で約8%、陰葉で約31%低下し、いずれも陰葉の方が低下割合は大きかった。しかし、両葉共、クロロフィルの合成量には水ストレスの影響が見られなかった。

Table 6 Changes in the contents of total soluble protein (TSP), ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco), chlorophyll a+b (Chl.a+b) and in Rubisco/TPS and chlorophyll a/chlorophyll b (Chl.a/b) in both sun and shade leaves grown in different soil moisture conditions (unstressed and stressed)

		sun leaves		shade leaves	
		unstressed	stressed	unstressed	stressed
TSP	(mgdm ⁻²)	41.3(100)	34.9(85) ^a	32.8(100)	24.0(73) ^{aa}
Rubisco	(mgdm ⁻²)	15.7(100)	14.4(92) ^a	18.1(100)	12.4(69) ^a
Rubisco/TSP	(%)	38.0	41.3	55.2	51.7
Chl.a+b	(mgdm ⁻²)	6.9(100)	7.2(104)	7.6(100)	7.7(101)
Chl.a/b		3.2	3.0	3.2	3.1

Data are the mean of five replicates.

Values in parentheses indicate percentage of unstressed.

A and a indicate a significant difference (P<0.05, t test) within the water stressed treatments and within different light conditions, respectively.

第二節 成熟葉に及ぼす影響

前節で見た葉の発育過程に及ぼす慢性的な水ストレスの影響と比較する観点から、成熟葉での最大光合成能力を維持している期間に対する同様の慢性的な水ストレスの影響を調査した。今まで報告された光合成に及ぼす水ストレスの影響は、そのほとんどが活動中心葉に関するもので、多くの植物で $\Psi_{100\mu\text{m}}$ と光合成との関係が示されている。しかしその大部分は、一時的な短期間の水ストレスの影響を見たもので、長期間での慢性的な水ストレスの影響はあまり明らかにはされていない。また、コーヒーの特性として、その葉齢が比較的長いことから、一時的に生じた水ストレスの影響と、慢性的に生じた水ストレスの影響は区別して検討する必要がある。そこで本節では、慢性的な水ストレス下で生育を続けた葉の光合成能力を、 CO_2 濃度-光合成曲線から解析し、その律速要因を着生葉レベルで検討すると共に、光合成に関与する葉内成分含量に与える影響も同時に調べた。

実験材料および方法

供試材料およびその育成に関しては前節に準じた。ただし、水ストレス処理を行う対象葉の葉齢は前節とは異なりファイトトン内で完全に成熟した陽葉および陰葉に対して、前節と同様の長期間に亘る慢性的な水ストレス処理を行った。また、その対照区として、終始圃場容水量レベルで生育を継続した葉の光合成能力は、約40日間の水ストレス処理期間中を通して低下しなかったことより、葉齢の進行による葉の老化の影響はなかった(データは未掲載)。水ストレス期間の終了後直ちに、 CO_2 濃度-光合成曲線、葉内成分としてクロロフィル、全可溶性タンパクおよびRubiscoの定量を前節に準じて行った。

実験結果

1) CO_2 濃度—光合成曲線の変化

前節と同様、着生葉レベルでの光合成の律速要因の解明手段として CO_2 濃度の変化に対する光合成速度の変化を測定し、葉の CO_2 拡散経路の概念に基づいて作成した細胞間隙 CO_2 濃度—光合成曲線をFig. 9に示した。

陽葉および陰葉共、対照区では細胞間隙 CO_2 濃度の増加に伴って、低 CO_2 濃度域では比例的増加を示し、 CO_2 濃度が上昇するにつれて次第に飽和値に達する飽和型曲線を示した。一方ストレス区では、陽葉の光合成速度が CO_2 濃度約 $350 \mu\text{ll}^{-1}$ までは比例的増加を示したのに対し、陰葉では約 $300 \mu\text{ll}^{-1}$ で飽和に達した。そして、飽和光合成速度は、陽葉で約 $30 \text{mgCO}_2 \text{dm}^{-2} \text{h}^{-1}$ で、対照区の約59%であったが、陰葉では約47%と若干低かった。Table 7には、各々の CO_2 濃度—光合成曲線の分析結果を示した。これによると、大気 CO_2 濃度下($350 \mu\text{ll}^{-1}$)での気孔閉鎖に依存した光合成速度の律速割合は、対照区では陽葉で23%、陰葉で25%であるのに対し、ストレス区では32%、27%と各々、若干増加していた。また、葉肉細胞の光合成活性を意味する CO_2 固定効率、陽葉では 0.076cms^{-1} から 0.045cms^{-1} へと41%低下したのに対し、陰葉では 0.077cms^{-1} から 0.043cms^{-1} へと44%低下し、両葉における有意な差は見られなかった。水ストレス下で生育する間に光合成が低下した要因のうち葉肉細胞の活性低下に起因する割合は、陽葉で約85%であったのに対し、陰葉では100%となり、光合成の低下がすべて葉肉部要因に起因していることを示した。

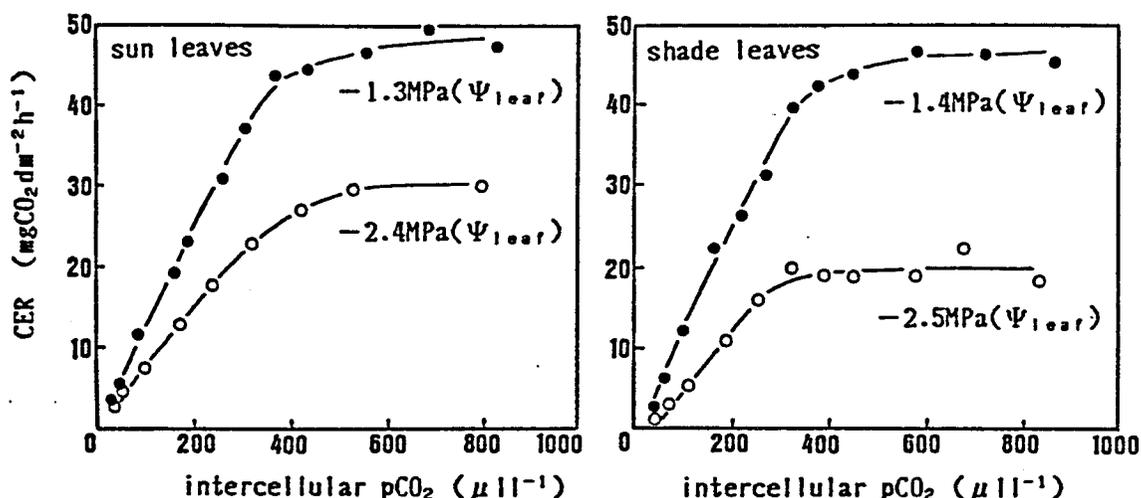


Fig. 9 The response of CO_2 exchange rate (CER) to intercellular CO_2 pressure (intercellular $p\text{CO}_2$) in matured sun (left) and shade (right) leaves sustained under well-watered (●) or mild water stressed (○) condition. Measurement conditions : vapour pressure difference lower than 0.5kPa , 20ml l^{-1} external O_2 pressure, $800\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD saturating irradiance and 25°C leaf temperature. Average Ψ_{soil} throughout water stress treatment shows -1.7MPa in unshaded and -1.6MPa in shaded condition, respectively.

Table 7 Changes in maximum CO_2 exchange rate [CER(max)], potential CO_2 exchange rate at $350\mu\text{l l}^{-1}$ intercellular CO_2 concentration [CER(Ci:350)], apparent CO_2 exchange rate at $350\mu\text{l l}^{-1}$ ambient CO_2 concentration [CER(Ca:350)], carboxylation efficiency (CE), stomatal limitation at $350\mu\text{l l}^{-1}$ ambient CO_2 concentration (Ls) and mesophyll limitation in reduction of photosynthesis (Lm) in both sun and shade leaves in different soil moisture conditions (unstressed and stressed)

		sun leaves		shade leaves	
		unstressed	stressed	unstressed	stressed
CER(max)	($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	48.9(100)	29.0(59) ^a	46.4(100)	21.6(47) ^a
CER(Ci:350)	($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	42.1(100)	25.0(59) ^a	42.5(100)	21.8(51) ^a
CER(Ca:350)	($\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	32.3(100)	17.0(53) ^a	31.8(100)	15.8(50) ^a
CE	(cms^{-1})	0.076(100)	0.045(59) ^a	0.077(100)	0.043(56) ^a
Ls	(%)	23	32	25	27
Lm	(%)		85		100

Data are the mean of five replicates.

Values in parentheses indicate percentage of unstressed.

A and a indicate a significant difference ($P < 0.05$, t test) within the water stressed treatments and within different light conditions, respectively.

2) 光合成に関与する葉内成分含量の変化

前節と同様、光合成の暗反応の指標として全可溶性タンパク量およびRubisco量、明反応系の量的な指標としてクロロフィル量を測定した結果を Table 8 に示した。

陽葉では、測定値間のばらつきが比較的大きかったため、有意な減少傾向は示さず、水ストレス期間中の葉内成分含量はほぼ一定であった。一方陰葉では、特にRubiscoを含む全可溶性タンパク量の減少が有意に認められた。しかし、クロロフィル含量は両葉共、変化しなかった。

Table 8 Changes in the contents of total soluble protein (TSP), ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco), chlorophyll a+b (Chl.a+b) and in Rubisco/TPS and chlorophyll a/chlorophyll b (Chl.a/b) in both sun and shade leaves in different soil moisture conditions (unstressed and stressed)

		sun leaves		shade leaves	
		unstressed	stressed	unstressed	stressed
TPS	(mgdm ⁻²)	37.0(100)	32.6(88)	35.0(100)	25.2(72) ^{Aa}
Rubisco	(mgdm ⁻²)	16.8(100)	18.5(110)	18.4(100)	14.1(77) ^{Aa}
Rubisco/TPS	(%)	45.4	64.5	52.6	56.0
Chl.a+b	(mgdm ⁻²)	7.2(100)	6.4(89)	7.4(100)	7.0(94)
Chl.a/b		3.2	3.0	3.0	2.9

Data are the mean of five replicates.

Values in parentheses indicate percentage of unstressed.

A and a indicate a significant difference ($P < 0.05$, t test) within the water stressed treatments and within different light conditions, respectively.

考 察

コーヒーは、葉の成熟に約30日を要し、さらに最大光合成能力を2ヶ月近くも維持する葉齢の長い植物である。そこで本章では、葉齢の違いに着目して、慢性的な長期間の水ストレスが光合成に与える影響を調査した。まず第一節では、葉の形態形成期間を通してほぼ一定した強さの水ストレスが葉に生じるように土壌への毎日の灌水を調節し、慢性的な水ストレス下で成熟期に達した葉の光合成の律速要因を着生葉を用いて調べた。さらに第二節では、成熟期に達してから後の最大光合成能力を維持している期間を通して、前節と同様の慢性的な水ストレス処理を行い、葉の光合成の律速要因を同じく着生葉で調べた。そこで、葉齢の違いによって光合成に及ぼす水ストレスの影響が異なるかどうかについて、以下に検討を行う。

一般に、水ストレスによって光合成が低下する原因としては、気相、液相を介して葉緑体へ至る CO_2 の拡散過程の律速と、葉緑体での CO_2 固定の生化学的な活性の律速とがある。本研究では前章において、Gaastra(1959)の理論に基づいた CO_2 拡散伝導度の変化によって、着生葉レベルでの光合成の律速要因を明らかにすることを試みた。この CO_2 拡散伝導度は、光合成に伴う CO_2 の葉内への流入速度を意味し、気孔伝導度と葉肉伝導度に分けることができ、前者は気孔閉鎖による光合成の律速を表し、後者は葉肉細胞での CO_2 の固定活性の低下による光合成の律速を表している。水ストレスによって低下した光合成と各々の CO_2 拡散伝導度との関係を見た結果、気孔伝導度および葉肉伝導度共に、光合成との相関が強く、どちらが光合成低下の主因となっているのかは明らかにはできなかった。一方、多くの中生植物で報告されている CO_2 拡散伝導度の結果によると、水ストレス下で光合成が低下する原因は、気孔閉鎖であるとする例が比較的多く(Brix, 1962; Barrs, 1968; Brown et al, 1976; Hall et al, 1976; Minguez et al,

1985)、前章で得られた結果と必ずしも一致するものではなかった。しかし、最近の報告では気孔以外の要因の重要性が次第に明らかにされている(Boyer, 1971; Keck & Boyer, 1974; Mooney, 1977; Farquhar & Sharkey, 1982)。本章では、このように未だ明確な決定が困難である着生葉レベルでの光合成の律速要因を定量的に明らかにするため、Matthews & Boyer(1984)によって提唱された方法に従って、 CO_2 濃度の変化に伴う光合成速度の反応を調べた。その結果から算出した細胞間隙 CO_2 濃度下での光合成速度は、気孔閉鎖による光合成の低下の影響を受けない葉肉細胞での光合成能力と評価できることより、両要因を明確に区別した解析が可能であった。

そこで、成熟前の葉の形態形成中に水ストレスを受けた場合(以下、成熟前と記す)と、成熟期に達してから水ストレスを受けた場合(以下、成熟後と記す)について、光合成の律速要因の比較を行う。まず、葉肉細胞での光合成能力の変化は、 CO_2 飽和下[CER(sat)]および大気 CO_2 濃度下[CER(C_i :350)]のどちらで見ても、成熟前では陽葉で対照区の約25%、陰葉で約19%に低下したのに対し、成熟後では陽葉で約59%、陰葉で約49%となり、成熟前に水ストレスを受けた場合の光合成への影響が非常に大きいことを示していた。これは各々の CO_2 固定効率(CE)の低下からも明らかに支持されていた。すなわち、葉肉細胞での光合成活性そのものが、その機能の充実過程である葉の形態形成中に水ストレスを受けることで著しく阻害されたことを示している。また、水ストレス下での気孔閉鎖に起因した光合成の低下割合(L_s)は、水ストレスが生じていない状態では約27%であり、その光合成の3/4が気孔以外の要因、すなわち、液相での CO_2 の物理的拡散や葉緑体での CO_2 固定活性等によって支配されていることが示された。これに対し、成熟前、遮光下で水ストレスが生じた場合は、 L_s は6%に低下し、もはや気孔が開くことによる光合成速度の増加の可能性がほとんど無くなったことを示していた。この様に、成熟前および成熟後のいずれに水ストレスが生じた場合も、光合成が

大幅に低下することが明らかとなった。しかし、その低下をもたらす要因は、各々の場合で若干異なった。その要因を葉肉細胞での光合成活性の低下に起因する光合成の低下割合で表したところ、成熟前では陽葉、陰葉共にほぼ100%であったのに対し、成熟後では陰葉で100%であったが、陽葉では約85%となり、気孔閉鎖に起因した光合成の低下も若干認められた。このことは、陰葉では成熟前あるいは成熟後のどちらに水ストレスを受けた場合でも、その光合成の低下が100%葉肉細胞における光合成活性の低下に起因することを示しており、すなわち、遮光下での慢性的な水ストレスは、成熟前あるいは成熟後でも葉肉細胞の光合成活性そのものに及ぼす影響が大きいことが示唆された。

このような葉肉細胞での光合成活性の低下は、葉緑体内ストロマ中の多くの酵素によって触媒されている暗反応系および葉緑体内チラコイド膜での光エネルギー獲得である明反応系の活性に大きく依存している。そこで前者の指標として、可溶性タンパクおよび CO_2 初期固定酵素であるRubisco、さらに後者の量的な指標として、クロロフィルについて成熟前および成熟後で生じた水ストレスによる量的な変化を調べ、前述の着生葉レベルでの光合成の律速要因との関係を検討した。これによると、水ストレスの影響が大きい成熟前および遮光下では、特に可溶性タンパクとRubiscoの量的な低下が有意に見られ、暗反応系への影響が大きいことが示唆された。これに対し、クロロフィル含量の低下は見られなかったことより、明反応系の量的な低下はないものと推察される。葉の発育に伴う緑化過程での前色素体の形成やクロロフィルの中でも、特にクロロフィルbの合成が水ストレスの影響を受け易いことを示した報告は幾つかある (Bourque et al, 1971; Virgin, 1965)。従って、明反応系の量的な低下は水ストレスの程度や種の違いによっても大きく異なることを示すものであろう。また、Keck & Boyer(1974)は、ヒマワリにおいて光化学反応系の活性が水ストレスに敏感に反応して低下することを示している。このことから、コーヒーで見られた水ストレスによるみかけの

量子収量の低下は、クロロフィルの量的低下に依存したのではなく、光化学反応系の活性の低下に依存している可能性が推測できる。

以上のことより、コーヒーでは成熟後の葉に比べて、発育中に及ぼす水ストレスの影響が非常に大きいことが明らかとなった。また、それに基づく光合成能の低下の主因が気孔閉鎖ではなく、そのほとんどが葉肉細胞での光合成活性の低下であり、その要因として可溶性タンパクおよび特にRubiscoの量的な低下が著しいことによるものと考えられる。

摘 要

葉の葉齢の違いによる慢性的な水ストレスの影響を比較する目的で、葉の発育期および成熟期に約40日に亘る長期間の水ストレス処理を行った。そして、両処理共に成熟葉について、その光-光合成曲線、 CO_2 濃度-光合成曲線、光合成に関与する葉内成分としてクロロフィル、全可溶性タンパクおよびRubisco含量を測定し、細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線による着生葉レベルでの光合成の律速要因の解析を行うと同時に、葉内成分含量の変化との関係を検討した。

1) 水ストレス下で発育した葉の光飽和光合成速度およびみかけの量子収量(α)は、対照区に比べて陽葉で各々約60%、約40%、陰葉では各々約75%、約60%低下した(Fig. 7)。

2) 細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線における最大光合成速度は、発育期に水ストレスを受けた場合では、陽葉、陰葉共に約80%減少したのに対し、成熟期に達してから水ストレスを受けた場合では、両葉共、平均50%の減少であった。また、 CO_2 固定効率 Γ は、発育期に水ストレスを受けた場合で両葉共、約70%の減少となったのに対し、成熟期に達してから水ストレスを受けた場合では、両葉共、約40%減少した(Table 5, Table 7)。

3) 長期間に亘る水ストレスは葉の発育過程および成熟葉のいずれに対しても、その光合成を著しく低下させたが、その低下原因のうち、葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に起因する割合(L_m)は、いずれの場合もほぼ100%であり、気孔閉鎖による光合成の低下はほとんど認められなかった(Table 5, Table 7)。

4) 発育過程を通しての水ストレスは、暗反応系に関与する酵素等の合成に大きな影響を及ぼし、特に陰葉においては全可溶性タンパクで27%、Rubiscoで31%と著しい低下が見られた。これに対し、クロロフィル含量の変化はほとんど見られなかった(Table 6)。

5) 水ストレス下で生育を続けた成熟葉の葉内成分含量は、陰葉の全可溶性タンパクおよびRubiscoで約25%減少したが、陽葉では変化しなかった。また、クロロフィル含量は、陰葉、陽葉共に変化しなかった(Table 8)。

以上のことより、葉の発育過程に及ぼす慢性的な水ストレスの影響は非常に大きく、光合成の暗反応に関与するRubisco等の合成障害を通じて、葉肉細胞での光合成活性を著しく低下させるものと考えられた。また、陽葉と陰葉とを比べると、慢性的な水ストレスは陰葉に対する影響の方が大きく、光合成の低下をもたらした要因のほとんど全てが葉肉細胞のCO₂固定活性の低下によるものであった。

第三章

光合成に及ぼす短期間の急進的な水ストレスの影響

水ストレスは、様々な様相で植物に生じている。例えば、十分な土壤水分条件下で生育している植物でも、日中、蒸散速度が増大するのに伴って、一時的に根による給水が蒸散による葉内水分の損失量を補えなくなることがあり、葉は一時的に軽度の水ストレス状態に陥ると言われている。しかし、夜間になると、葉内水分含量は回復し、葉の水ストレスは解消される。この様な水ストレスは、光合成をも一時的に抑制するが、それは主に気孔閉鎖による葉内への CO_2 の拡散が低下することによるもので、光合成活性そのものは低下することはないと言われている(Moldau, 1973; Basiouny, 1977; O'Toole et al, 1977; Lakso, 1979)。これに対し、Slatyer(1967)は、植物に強い水ストレスが生じていく過程のモデルとして、土壤の有効水が次第に減少していくことにより次第に強まっていく水ストレスについて詳細な解析を行っている。通常は、土壤への水の供給を止めることで、植物自身の蒸散によって土壤水分含量が低下し、水ストレスを生じさせる方法が用いられている。これによると、 Ψ_{soil} が低下するに伴い、最初のうちは日中、一時的に著しく低下した Ψ_{leaf} も夜間になると元のレベルに回復するが、土壤の乾燥が激しくなると、 Ψ_{leaf} が回復できなくなる。この時点で葉は萎れ始め、葉内水分含量はもはや回復することはなく、さらに、細胞レベルでの脱水が進むことで葉は強い水ストレス状態になっていく。この様な水ストレスは、環境の違いにもよるが、普通は約10日以内で永久萎凋点に達するような強いものであると考えられている。この短期間で急進的な水ストレスの光合成への影響は、前章で見た長期間に亘る慢性的な水ストレスの影響とは当然異なることが予想でき、比較、検討する必要がある。また、一般に得られている光合成に対する水スト

レスの影響としては、この様な短期間で強まる水ストレスを扱った研究が多い。

本章では、短期間で生じる強い水ストレスの光合成への影響を調査することを試みた。すなわち、灌水停止後、水ストレスが強まるにつれて段階的に測定したCO₂濃度-光合成曲線より、着生葉レベルでの光合成低下の原因を解析し、さらに、葉内成分含量および光合成の明反応系、暗反応系の活性の変化との関連を検討した。

実験材料および方法

供試材料は前章と同様の *Coffea arabica* L. var. *Typica* の種子から発芽させた1年生実生を用いた。栽培は前章に準じて行い、光合成の測定対象葉の生育環境前歴を揃えるため、水ストレス処理開始前約3ヶ月間はファイトトロン内で育成した。遮光処理も前章と同様の方法で行った。ファイトトロン内で出葉し、成熟した陽葉および陰葉を対象として、第一章と同様の灌水停止処理を同時に行った。その後、水ストレスが強まる過程で段階的に、葉の水ポテンシャル、CO₂濃度-光合成反応曲線、葉内成分含量を前章に準じて測定した。ただし、光呼吸に対する水ストレスの影響も同時に見るため、同一葉における20ml l⁻¹ O₂下での真の光合成速度と210ml l⁻¹ O₂下での見かけの光合成速度を絶対値型赤外線ガス分析計(島津製 URA-107)を用いて測定し、両者の比であるワールブルグ効果として光呼吸を算出した。さらに、光合成の明反応系の活性を示す光化学反応系I+IIの活性および暗反応系の活性を示すリブローズ-1,5-2リン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼのカルボキシラーゼ活性を、以下に示した方法で測定した。

1) 光化学反応系(PS I + PS II)の活性の測定

葉片を20mM Tricine-NaOH緩衝液(pH7.9、0.8M Sucrose、10mM NaCl、1mM EDTA、2mM Dithiothreitol、1mM MgCl₂、少量の Bovine Serum Albumin、Polyvinylpyrrolidoneを含む)中でホモジナイザー(日音医理科機械製 ヒスコトロン NS-50)によって10~20秒間、冷却磨砕した後、手早く20 μ mのナイロンメッシュで濾過し、直ちに2,000gで5分間遠心する。得られた沈澱を10mMリン酸緩衝液(pH7.0、0.5M Sorbitol、1mM MgCl₂、0.5% Bovine Serum Albuminを含む)中に懸濁し、クラスIの葉緑体を調製した。光化学反応系I + IIの全活性を測定するため、反応はH₂Oを電子供与体とし、Fe⁺³cyを電子受容体としたときのO₂放出速度をクラーク型酸素電極(Rank Brothers社製)によって測定した。

2) リブローズ-1,5-2リン酸カルボキシラーゼ活性の測定

葉片を乳鉢中で50mM Bicine-NaOH緩衝液 (pH7.8、5mM Dithiothreitol、10mM MgCl₂、0.1mM EDTA、1mM Phenylmethyl-Sulfonyl fluoride、10 μ M leupeptin、少量のPolyvinylpolypyrrolidone、Sodium L-Ascorbateを含む) 中で冷却磨砕し、20,000gで10分間遠心する。上澄みを直ちにセファデックスG-25を用いて、50mM Bicine-NaOH緩衝液 (pH8.2、0.5mM Dithiothreitol、20mM MgCl₂、10mM NaHCO₃、0.05mM EDTAを含む) によってゲル濾過することで、同時に酵素の活性化を行う。酵素活性の測定は、Lorimer et al(1977)の方法に一部改良を加えて行った。ゲル濾過によって得られた活性化酵素液を、100mM Bicine-NaOH反応液(pH8.2、5mM Dithiothreitol、20mM MgCl₂、20mM [¹⁴C]NaHCO₃ [0.1mCi/mmol]) 中へ入れ、25℃で平衡化した後、2mM RuBPで反応をスタートする。60秒後に4N-HCOOHで反応を停止した後、液体シンチレーションカウンターで¹⁴Cの固定量を測定した。

実験結果

1) CO_2 濃度-光合成曲線の変化

ポットへの灌水を停止することにより、水ストレスが次第に強まる過程における CO_2 濃度-光合成曲線を $20\text{ml l}^{-1}\text{O}_2$ 下で段階的に測定した。この結果から、前章に基づいて算出した細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線を、Fig. 10に示した。この細胞間隙 CO_2 濃度に対して示した光合成速度は、気孔閉鎖の影響を除外した細胞間隙 CO_2 濃度下での葉肉細胞の CO_2 固定能力を示している。

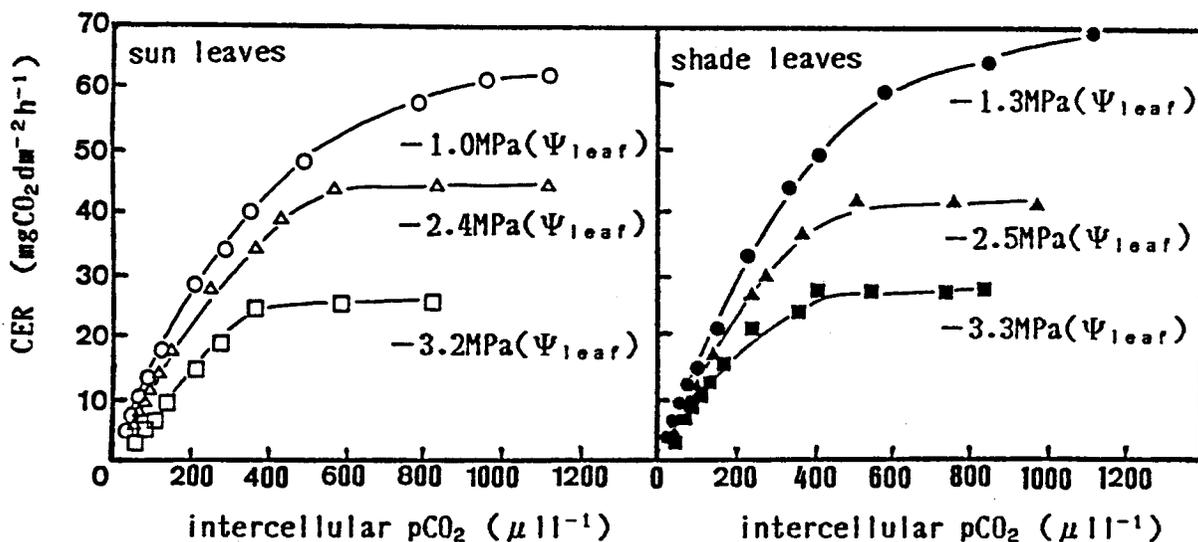


Fig. 10 The response of CO_2 exchange rate (CER) to intercellular CO_2 pressure (intercellular pCO_2) in sun (left) and shade (right) leaves at various Ψ_{leaf} under rapidly applied water stress. Measurement conditions: vapour pressure difference smaller than 0.5kPfa , 20ml l^{-1} external O_2 pressure, $800\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD saturating irradiance and 25°C leaf temperature.

まず陽葉について見ると、光合成速度は低 CO_2 濃度域では細胞間隙 CO_2 濃度の上昇に伴い比例的増加を示し、高 CO_2 濃度域では次第に飽和に達する飽和型曲線を示した。水ストレスが強まるに従って、 $\Psi_{1, \text{eaf}}$ が $-1.0\text{MPa} \rightarrow -2.4\text{MPa} \rightarrow -3.2\text{MPa}$ と低下すると、各々の飽和曲線の低 CO_2 濃度域における初期勾配として表した CO_2 固定効率(CE)は $0.080\text{cms}^{-1} \rightarrow 0.050\text{cms}^{-1} \rightarrow 0.033\text{cms}^{-1}$ 、 CO_2 飽和光合成速度は約 $63\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1} \rightarrow 44\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1} \rightarrow 25\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$ 、 CO_2 飽和点は約 $1000\mu\text{ll}^{-1} \rightarrow 500\mu\text{ll}^{-1} \rightarrow 400\mu\text{ll}^{-1}$ とそれぞれ低下した。すなわち、水ストレスが強まるにつれて葉肉細胞での光合成能力そのものが低下する傾向を示した。

また、陰葉についても陽葉の場合とほぼ同様の傾向を示し、葉の水ストレスが強まるに伴って、 CO_2 濃度に対する光合成の飽和曲線における初期勾配で表した CO_2 固定効率(CE)、 CO_2 飽和点、 CO_2 飽和光合成速度が次第に低下した。

Fig. 11-Aには、Fig. 10に示した細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線から算出した CO_2 固定効率(CE)と $\Psi_{1, \text{eaf}}$ との関係を示した。Fig. 10の細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線は、光呼吸の影響を回避するため低 O_2 濃度下(20ml^{-1})で測定した CO_2 濃度-光合成曲線から作成したものである。従って、そのCEは、葉緑体における炭酸固定反応のみに依存し、光合成の明反応系および暗反応系の効率を表すものである。ただし、測定は飽和光強度下で行っているため、主に後者の暗反応系の指標と考えられる。陽葉、陰葉共に、 $\Psi_{1, \text{eaf}}$ の低下に伴ってCEは次第に低下する傾向を示した。両葉共、水ストレス状態ではない時のCEは約 0.080cms^{-1} で差はないが、水ストレスが強まるに従って陽葉の方が若干早く低下した。また、いずれの $\Psi_{1, \text{eaf}}$ 下においても陰葉の方がそのCEは高かった。その結果、非常に強い水ストレス下($\Psi_{1, \text{eaf}} < -3.0\text{MPa}$)では、陽葉では約 0.023cms^{-1} であったのに対し、陰葉では約 0.043cms^{-1} と陽葉よりも高いCEを維持していた。

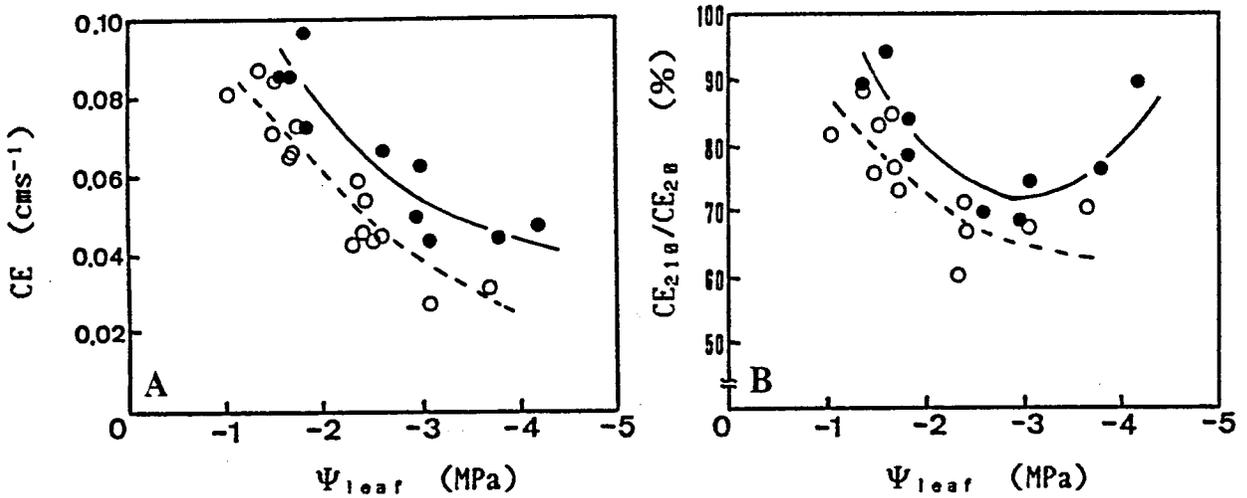


Fig. 11 The CO_2 efficiency (CE: A) and Warburg-effect ($\text{CE}_{210}/\text{CE}_{20}$: B) as a function of Ψ_{leaf} of sun (O) and shade (●) leaves. CE are represented by the initial slope of the CER—intercellular $p\text{CO}_2$ relationship. Warburg-effect indicates the relative value of CE measured at 210ml l^{-1} external O_2 pressure (CE_{210}) to CE measured at 20ml l^{-1} external O_2 pressure (CE_{20}).

通常の大気中では酸素分圧が約 210ml l^{-1} であることより、 C_3 光合成は光呼吸によってその効率を下げている。すなわち、光合成によって CO_2 を取り込むと同時に光呼吸によって一度固定した CO_2 を再放出している。その損失の割合は、ワールブルグ効果($20\text{ml l}^{-1}\text{O}_2$ 下で測定した真の光合成速度に対する $210\text{ml l}^{-1}\text{O}_2$ 下で測定したみかけの光合成速度の割合)等によって測定され、一般に、光合成の約1～4割であると推定されている。この光呼吸に及ぼす水ストレスの影響に関しては、水ストレスによって増大したことを示した報告と (Jolliffe & Tregunna, 1968, 1973; Jackson & Volk, 1970)、減少したことを示した報告 (Ludwig &

Canvin, 1971; Lawlor & Fock, 1975)とが見られ、その傾向は明らかではない。そこで、コーヒーについて明らかにするため、通常大気の酸素分圧下(210ml l⁻¹)と光呼吸を抑制する低酸素分圧下(20ml l⁻¹)の各々の場合について細胞間隙C O₂濃度-光合成反応曲線を作成した。Fig. 11-Bには、各々のCEの値をワールブルグ効果(20ml l⁻¹ O₂下でのCEに対する210ml l⁻¹ O₂下でのCEの割合)として表し、 Ψ_{leaf} との関係を示した。すなわち、図中に示した割合を100から引いた残りの部分が、光呼吸による光合成の障害率を表している。これによると、水ストレス状態ではない時の光呼吸の割合は約1~2割であったが、水ストレスが強まるにつれて光呼吸は次第に増大し、陽葉、陰葉共に、 Ψ_{leaf} が約-2.5~-3.0MPaで約3割に達した。さらに Ψ_{leaf} が低下すると、陽葉では測定点が少ないことから明らかではないが、陰葉では光呼吸の割合は逆に低下する傾向を示した。すなわち、両葉共、水ストレスが強まるにつれて光呼吸は増加したが、非常に強い水ストレス下では逆に抑制されていることが示された。

2) 細胞間隙C O₂濃度-光合成曲線の変化から算出した着生葉レベルでの光合成の律速要因の変化

水ストレス下での実際の光合成低下の要因を着生葉レベルで定量的に明らかにするため、前述のMatthews & Boyer(1984)の方法に基づいて、Fig. 10に示した細胞間隙C O₂濃度-光合成曲線から気孔閉鎖による光合成の低下割合(Ls)と、葉肉細胞のC O₂固定活性の低下による光合成低下の割合(Lm)とを算出し、各々の Ψ_{leaf} との関係をFig. 12に示した。実際の光合成は、水ストレス状態でなくても気孔閉鎖による律速を受けている。すなわち、気孔を介しての葉外から葉内へのC O₂の拡散に対しては、必ず抵抗が生じ、その結果、葉内の細胞間隙C O₂濃度は葉外よりも低くなる。この濃度落差に伴った葉肉細胞での光合成能力の差が

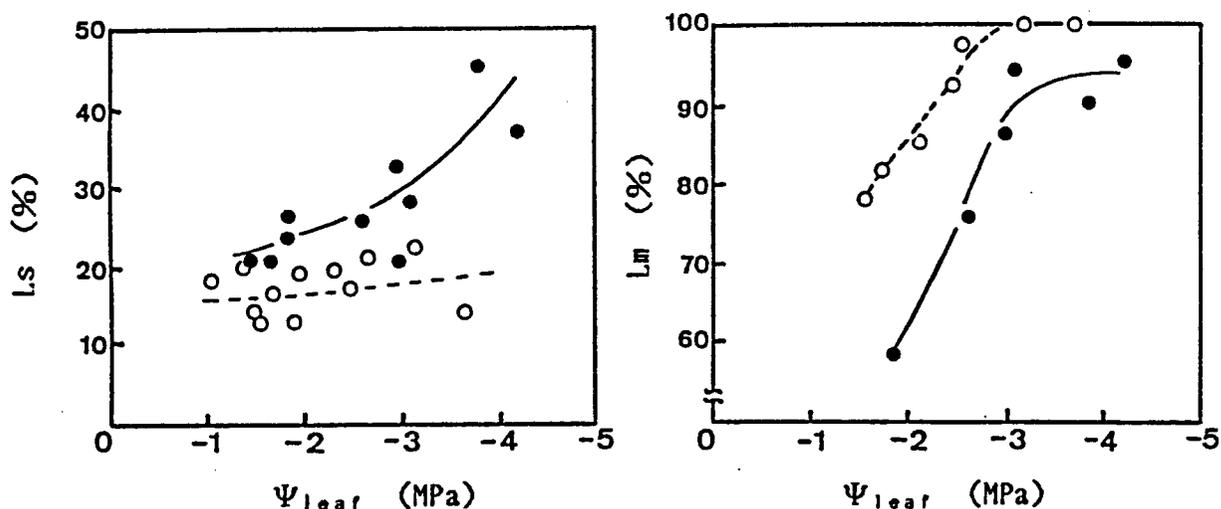


Fig. 12 The stomatal limitation (Ls:left) and mesophyll limitation (Lm:right) as a function of Ψ_{leaf} of sun (○) and shade (●) leaves. Ls and Lm are calculated from various intercellular pCO_2 response curves for CER obtained in different water stress conditions.

気孔によってもたらされたことより、実際の光合成速度における気孔閉鎖による律速割合(Ls)として表わすことができる。また、水ストレス等によって光合成速度は低下するが、その低下原因を気孔閉鎖に起因する部分と、葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に起因する部分に分けることが可能である。Lmは、大気 CO_2 濃度下($350 \mu l l^{-1}$)での後者の割合を表したものである。

まずLsについて見ると、水ストレス状態ではない時は、陽葉で12~20%の気孔閉鎖による律速割合を示したのに対し、陰葉では20~28%と陽葉よりも若干高かった。このことは、陰葉の方が気孔が閉じ気味であることを示している。また、水ストレスが強まるに伴って Ψ_{leaf} が低下すると、陽葉では、気孔閉鎖による律

速割合がそれほど変化しなかったのに対し、陰葉では、 $\Psi_{leaf} < -3.0\text{MPa}$ で急激に増大する傾向を示し、 Ψ_{leaf} が約 -4.0MPa では光合成に占める気孔閉鎖の割合が約40%にも達した。また、葉内の細胞間隙 CO_2 濃度は、気孔閉鎖による葉内への CO_2 の拡散の変化と、葉肉細胞での光合成活性の変化の両要因によって決まるものである。すなわち、気孔が閉鎖して葉内への CO_2 の流入が減少しても、葉肉細胞での光合成活性も同時に低下した場合は、細胞間隙 CO_2 濃度はそれほど低下しない。水ストレスによって当然、気孔が閉じることが予想されるが、陽葉では、あまり L_s が増大しなかったことより、気孔閉鎖と共に葉肉細胞の光合成活性の低下も生じていることが予想された。そこで、葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下割合を示す L_m について見た。まず、弱い水ストレス下($\Psi_{leaf}:-2.0\text{MPa}$)での光合成低下の原因は、陽葉では約80%、陰葉では約60%が葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下によるものであり、明らかに陽葉の方が葉内部活性が水ストレスに対して敏感に反応したことが示された。さらに陽葉、陰葉共に、 Ψ_{leaf} の低下に伴って L_m は増加したが、同じ Ψ_{leaf} 下では常に陽葉の方がその割合は大きかった。すなわち、同じ程度の水ストレス下では陰葉の方が L_m の割合は小さいことより、陽葉に比べて葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下によって光合成が減少する割合が小さく、逆に気孔閉鎖によって光合成が低下する割合が大きいことが示された。また、陽葉では Ψ_{leaf} が約 -3.0MPa で光合成の低下が100%葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に依存したが、陰葉ではその割合は若干低く、約90%であった。

3) 光合成に關与する葉内成分含量の変化

CO_2 拡散過程は、気孔の開閉に依存した部分と葉肉細胞の CO_2 固定活性に依存した部分に分けられる。後者の葉肉細胞の CO_2 固定活性に關与する葉内成分は、明反応系の量的な指標としてはクロロフィル含量、暗反応系の量的な指標と

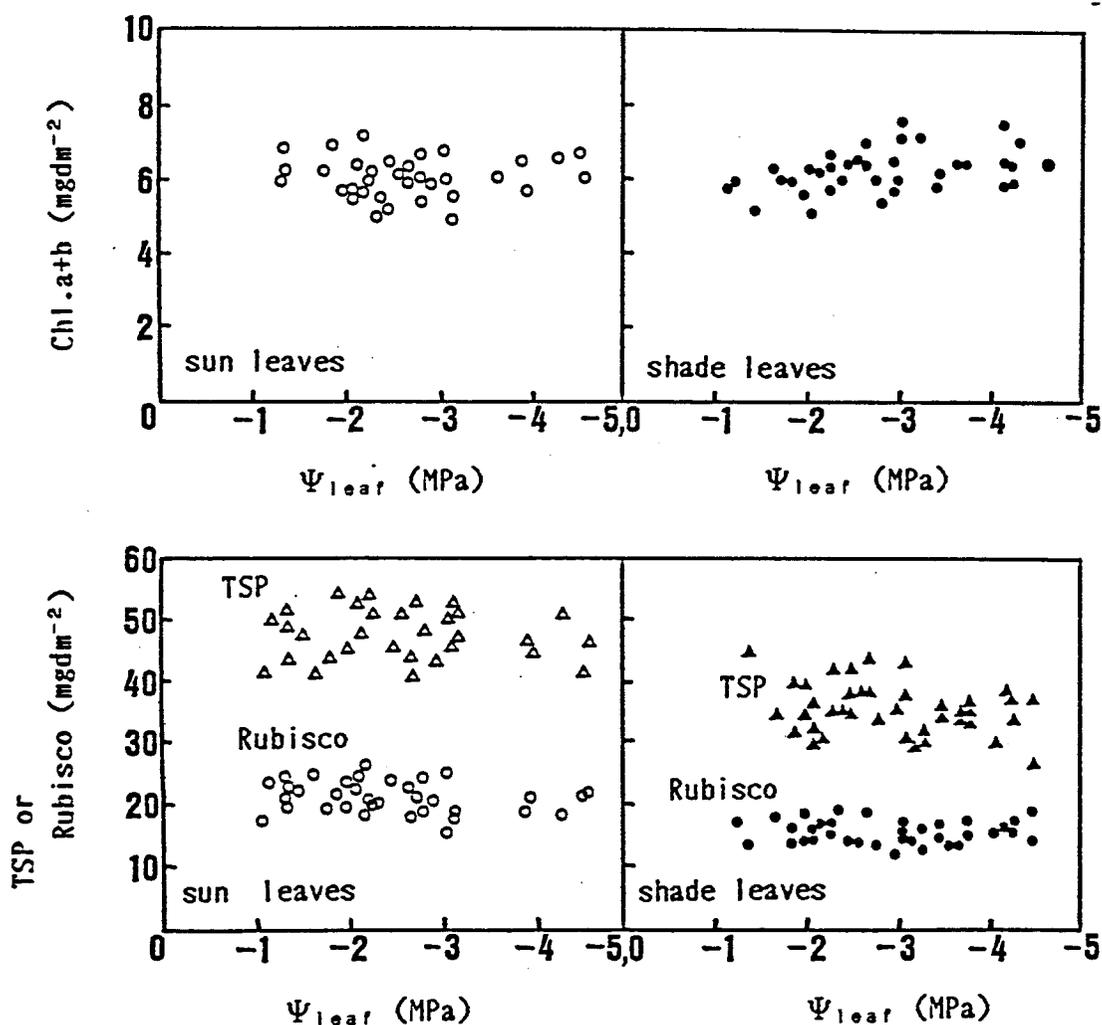


Fig. 13 Contents of chlorophyll a+b (Chl.a+b), total soluble protein(TSP),ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) as a function of Ψ_{leaf} of sun (left) and shade (right) leaves.

Table 9 Average contents of total soluble protein (TSP),ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco), chlorophyll in sun and shade leaves having various Ψ_{leaf}

	Chl.a+b (mgdm ⁻²)	Chl.a (mgdm ⁻²)	Chl.b (mgdm ⁻²)	TSP (mgdm ⁻²)	Rubisco (mgdm ⁻²)
sun leaves	5.7±0.7	4.4±0.5	1.3±0.2	47.2±6.9	20.6±2.6
shade leaves	6.1±0.6	4.6±0.4	1.5±0.1	34.6±4.1 ^A	15.1±1.8 ^A

Data indicate the mean±S.D. in water stress treatment.

A indicates a significant difference ($P<0.05$, t test) within different leaf types (sun and shade).

しては全可溶性タンパクおよびCO₂初期固定酵素のRubisco含量である。 Ψ_{leaf} の低下に伴うこれらの葉内成分含量の変化をFig. 13に示した。

まず全クロロフィル含量について見ると(上図)、陽葉、陰葉共に Ψ_{leaf} の低下に伴う変化は認められず、さらにクロロフィルa、クロロフィルbの各々についても、 Ψ_{leaf} の低下に伴う変化は認められなかった。そこで、それらの平均値をTable 9に示した。全クロロフィル含量は、陽葉で平均 $5.7 \pm 0.7 \text{ mg dm}^{-2}$ 、陰葉で平均 $6.1 \pm 0.6 \text{ mg dm}^{-2}$ であり、クロロフィルa/bも変化なく、陽葉で3.3、陰葉で3.1であった。

次に、 Ψ_{leaf} の低下に伴う全可溶性タンパクおよびRubiscoの含量の変化について見ると(下図)、 $-1.0 \text{ MPa} > \Psi_{leaf} > -4.5 \text{ MPa}$ にわたって、各々の含量変化は認められなかった。そこで、各々の含量の平均値をTable 9に示した。これによると、両成分含量共、陽葉に比べて陰葉の方が有意に低かったが、全可溶性タンパク含量に占めるRubisco含量の割合は陽葉と陰葉で差はなく、平均44%であった。

4) Ψ_{leaf} の変化に伴う光化学反応系およびRubiscoの活性の変化

Fig. 14には、明反応系の活性の指標として単離葉緑体による光化学反応系I + IIの活性(PS I + PS II)の Ψ_{leaf} の低下に伴う変化(上図)と、抽出Rubiscoのカルボキシラーゼ活性の変化(下図)を示した。光化学反応系の活性は Ψ_{leaf} の低下に伴ってほとんど減少することはない、陽葉で平均 $37.2 \pm 4.0 \mu \text{ mol O}_2 \text{ mg Chl}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 、陰葉で平均 $34.5 \pm 3.8 \mu \text{ mol O}_2 \text{ mg Chl}^{-1} \text{ h}^{-1}$ であった。これに対し、抽出Rubiscoの活性は Ψ_{leaf} の低下に伴って明らかに減少した。陽葉では Ψ_{leaf} が約 -2.0 MPa から減少し始め、 Ψ_{leaf} が約 -4.0 MPa では水ストレスが生じていない時の約25%にまで抑制された。また、陰葉では陽葉と同じく Ψ_{leaf} が約 -2.0 MPa から低下し始め、 Ψ_{leaf} が約 -4.0 MPa では約40%に減少した。

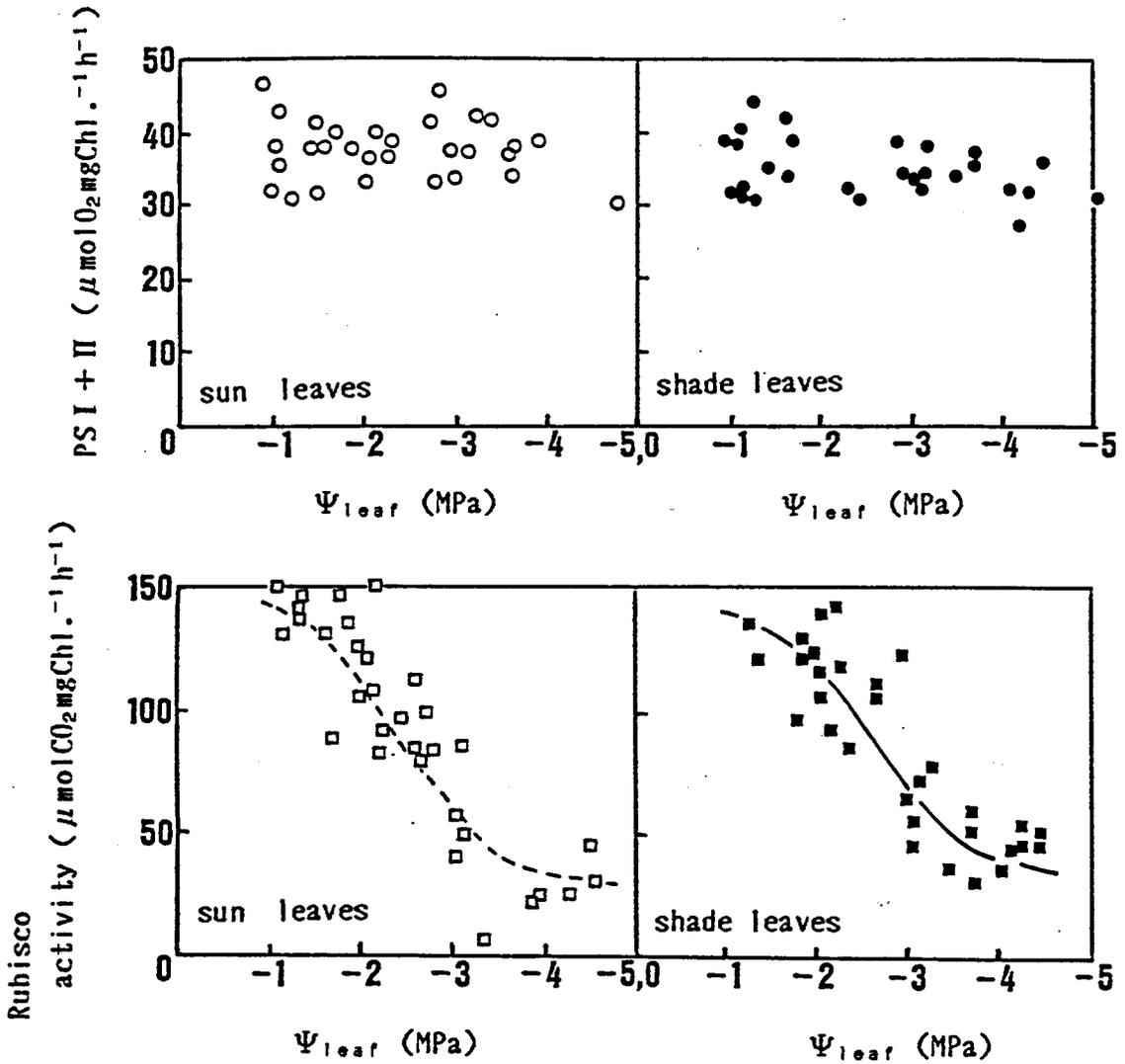


Fig. 14 Whole-chain photosynthetic electron-transport activity (upper; PSI + II) of chloroplast isolated and $^{14}\text{CO}_2$ -fixation activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (lower; Rubisco activity) extracted from sun (left) and shade (right) leaves having different Ψ_{leaf}

考 察

水ストレスによる光合成の低下の原因は、様々な方法によって解析が行われている。中でも着生葉を用いたガス代謝法による解析は、実際の水ストレス状態での光合成の低下を的確に反映し、かつ非破壊的な方法であるため同一葉における経時的変化の測定が可能であることより、有効な方法である。そこで本研究では、水ストレスによる光合成低下の原因を、ガス代謝法を用いた着生葉レベルでの解明を中心に行った。

光合成の律速要因は、Gaastra(1959)による CO_2 拡散抵抗の理論以来、気孔の開閉に依存した気相における CO_2 の拡散によって律速される部分と、葉肉細胞表層から葉緑体内部へ至る液相における CO_2 の拡散によって律速される部分とに分けて考えられてきた。この CO_2 拡散抵抗を用いた初期の研究では、水ストレスによって、光合成の低下と蒸散の低下がほぼ平行して生じることより、光合成の律速要因の中でも気孔閉鎖による気孔抵抗の増大が主因であることが示された。これに対し、近年、Farquhar & Sharkey(1982)によって水ストレス下での気孔抵抗による律速要因の算出が過大評価であることが指摘された。すなわち、葉の全 CO_2 拡散抵抗に占める気孔抵抗の割合 $[r_s / (r_s + r_m)]$ によって、気孔閉鎖による光合成の低下割合を表すことは、水ストレス等によって細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線における CO_2 飽和点が低下した場合に過大評価となってしまう。このことから、現在ではSharkey(1985)の示した CO_2 濃度-光合成曲線による光合成の律速要因の算出法が広く採用され、水ストレス下での光合成の律速要因の解明にも適用されつつある。

そこで、水ストレス下でのコーヒーの光合成の律速要因を明らかにするため、 CO_2 濃度-光合成曲線による解析を行った。その結果から算出した葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に起因する光合成の低下割合(L_m)は、弱い水ストレスによっ

ても陽葉では約80%、陰葉では約60%となった。すなわち、比較的弱い水ストレスによって光合成が低下した場合でも、その低下の少なくとも半分以上が葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に起因していることが明らかとなった。また、 Ψ_{leaf} が低下するに伴って、 L_m の割合は両葉共、急激に増大し、ますます葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下が著しくなる傾向を示した。これは、今まで言われてきたような気孔閉鎖を光合成低下の主因とする考え方が、コーヒーに関しては必ずしも当てはまらないことを示している。既に、Kumar et al(1980b)によって水ストレス下でのコーヒーの光合成の低下に関しては、葉肉抵抗の増大に起因する部分が多いことが示唆されていたが、本研究の結果はこれを裏付けるものと言えよう。また、他の植物においても、気孔閉鎖以外の要因に基づく光合成速度の低下が数多く報告されている(Cornic et al, 1983; Winter & Schramm, 1986; Krieg & Hutmacher, 1986)。特にOrt & Boyer(1985)は光合成に及ぼす水ストレスの影響に関して数多くの知見を見出し、気孔以外の要因に起因する光合成の低下の重要性を指摘している。しかし、このような葉肉細胞での光合成活性の低下を裏付ける機作についての報告は多様であり、統一的な見解は得られていない。この葉肉細胞の光合成活性は、主に二つの要因によって変動すると考えられている。それは、1)葉肉細胞壁表層から葉緑体内 CO_2 固定部位に至る CO_2 の物理的拡散過程と、2)葉緑体内 CO_2 固定部位における化学反応(明反応と暗反応)である。前者の変動を定量的に測定する方法がまだ確立されていないため、報告はほとんど無い。後者に関しては、多様な見解が示されおり、種の違いや測定技術の差異による変化として受け止められている段階で、まだ統一的な傾向は見い出されていない。例えばvon Caemmerer & Farquhar(1984)は、暗反応系の抑制としてガス代謝法で測定した細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線の CO_2 飽和部分の光合成速度が、特に水ストレスに敏感に反応して低下したことを見出し、 CO_2 飽和光合成速度を律速しているRuBPの再生系が、明反応系からの還元力供給の低下によって抑制

されることが光合成の低下の原因であると考えている。この様な明反応系の抑制に関しては、光-光合成曲線における弱光域での初期勾配で表した量子収量の低下 (Mohanty & Boyer, 1976; Mooney et al, 1977)、単離葉緑体による光化学反応系の活性低下 (Boyer & Bowen, 1970c; Keck & Boyer, 1974; Boyer, 1976)、光障害 (Osmond et al, 1980) 等が報告されている。これらは主に明反応系の活性の低下に関与するものであるのに対し、Alberte et al (1975, 1977) は、水ストレスを受けたトウモロコシにおいて、明反応系の光獲得機能である集光性クロロフィル a/b タンパク複合体の特異的な減少に起因するクロロフィル含量の著しい減少を見出し、さらに、Becker et al (1986a) は、インゲンマメにおいて、水ストレスによるクロロフィル含量の低下およびクロロフィル a/b の変化を示している。いわゆる後者の2例は、水ストレスによる明反応系の量的な低下と考えられる。本章では、葉肉細胞での光合成活性の低下の原因を明らかにするため、明反応系および暗反応系の量的変化並びに活性の変化を調査した結果、クロロフィル含量は水ストレスによって影響を受けなかったことより、明反応系の量的低下はないことが推察された。また、光化学反応系 I + II の活性も非常に強い水ストレス下でもほとんど低下しなかったことより、先に示した様な水ストレスに敏感な明反応系の活性低下はコーヒーでは見られなかった。すなわち、コーヒーでは明反応系に対する水ストレスによる障害は比較的少ないと言えよう。

次に、暗反応系に対する水ストレスの影響について検討すると、Plaut (1971)、Becker et al (1986b)、によって光合成に関与する可溶性タンパクの減少が報告されている。中でも CO_2 初期固定酵素である Rubisco 含量に関しては、水ストレスによる影響をあまり受けないとする報告と (Huffaker et al, 1970; Plaut, 1971; Johnson et al, 1974; Lee et al, 1974; O'Toole et al, 1977)、その含量の低下を示す報告 (Björkman, 1968; Jone, 1973) がある。また、その活性に及ぼす影響に関しても、Huffaker et al (1970) や Becker & Fock (1986b) は、Rubisco の含

量および活性のどちらもが水ストレスによってあまり影響を受けなかった事を示したのに対し、Darbyshire et al(1973)やKumar et al(1986)は、著しいRubisco活性の低下を示している。この様にRubiscoに及ぼす水ストレスの影響は、未だ統一的な見解を得ていない。本研究では、陽葉、陰葉共にRubiscoの量的な低下はほとんど見られなかったのに対し、その活性は両葉共、 Ψ_{leaf} の低下に伴って著しく抑制された。Sharkey et al(1982)およびvon Caemmerer & Farquhar (1984)は、低 CO_2 濃度域における初期勾配の値として表される CO_2 固定効率(CE)の低下が、Rubiscoの活性の低下と相関が高かったことより、 CO_2 固定効率の低下はRubiscoの活性低下に起因すると結論している。コーヒーでも水ストレスによってCEが減少したことより、Rubisco活性の低下と細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線におけるCEの低下とが密接な関係にあることが推察される。また、コーヒーにおいてはタンパクの量的な低下が見られなかったことより、Rubiscoの不活性化の機構として、タンパク構造の分解にはいたらない程度の僅かな構造の変化や、活性化を阻害するような物質が水ストレスによって蓄積したこと等が可能性として考えられるが、本研究では明らかにはできなかった。

以上のことから、灌水停止によって比較的短期間で強まる水ストレス下での、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成低下の要因は、陽葉、陰葉共に、葉肉細胞の光合成活性の低下であり、またその機作としては、これまで多くの草本植物で示されているような明反応系の量的低下を意味するクロロフィル含量の低下、あるいは光化学反応系の電子伝達活性の低下ではなく、主に暗反応系のRubiscoによる CO_2 固定活性の低下であることが明かとなり、このことがガス代謝法から算出した L_m の増大の主因でもあると考えられた。

摘 要

灌水停止処理に伴って水ストレスが強まる過程における陽葉並びに陰葉での光合成の律速要因を明らかにする目的で、様々な水ストレス段階における CO_2 濃度-光合成曲線を測定し、それによって作成した細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線から着生葉レベルでの光合成の律速要因の解析を行った。さらに、葉内成分含量、*in vitro*での光合成の活性を表す光化学反応系の活性およびRubiscoの CO_2 固定活性を測定し、細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線より明らかとなった光合成の律速要因との関連を検討した。結果は以下の通りである。

- 1) 細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線に及ぼす水ストレスの影響を見ると、 CO_2 飽和光合成速度および CO_2 固定効率(CE)は、陽葉、陰葉共に、水ストレスが強まるにつれて徐々に低下したが、CEは、いずれの Ψ_{leaf} 域でも陰葉の方が高かった(Fig. 10, Fig. 11-A)。
- 2) ワールブルグ効果として見た光呼吸は、陽葉、陰葉共、 $\Psi_{\text{leaf}} > \text{約} -3.0\text{MPa}$ の範囲では、 Ψ_{leaf} の低下に伴って増加するが、それ以下の Ψ_{leaf} 下では減少する傾向を示した。また、光呼吸はいずれの Ψ_{leaf} 域においても陽葉の方が陰葉よりも大きい傾向があった(Fig. 11-B)。
- 3) 気孔閉鎖による光合成の律速割合(Ls)は、 Ψ_{leaf} の低下に伴って陽葉では顕著な変化は見られなかったが、陰葉では増大する傾向を示した。また、いずれの Ψ_{leaf} 域においても陰葉の方がLsが高かった(Fig. 12)。
- 4) 水ストレス下での、葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に起因した光合成の低下

割合(L_m)は、 Ψ_{leaf} が約 -2.0MPa の弱い水ストレス下では、陽葉で約80%、陰葉で約60%であったが、 Ψ_{leaf} が次第に低下するに伴い両葉共、 L_m は急激に増大し、 $\Psi_{leaf} < -3.0\text{MPa}$ では、陽葉で100%、陰葉で約90%となった。また、いずれの Ψ_{leaf} においても、 L_m は陰葉の方が陽葉よりも小さかった(Fig. 12)。

5) クロロフィル、全可溶性タンパクおよびRubiscoの含量は、陽葉、陰葉共に、水ストレスが強まっても低下しなかった(Fig. 13)。

6) 光化学反応系の活性は水ストレスによって変化しなかったのに対し、Rubiscoの活性には顕著な影響が見られ、陽葉、陰葉共、 Ψ_{leaf} の低下に伴って著しく低下した(Fig. 14)。

以上のことより、短期間で強まる水ストレス下での光合成の低下には、暗反応系の酵素であるRubiscoの CO_2 固定活性の低下が最も関係しており、その結果、着生葉レベルで見た光合成の低下原因に占める葉肉細胞での CO_2 固定活性の低下割合(L_m)が、 Ψ_{leaf} の低下に伴って著しく増大するものと考えられた。

総 括

陸上植物にとって水ストレスは最も頻繁に生じる環境ストレスである。特に葉は、光合成を行うと同時に蒸散によって葉内水分を放出しているため、水ストレスの影響を受け易い器官でもある。そこで、光合成に及ぼす水ストレスの影響が古くから種々の植物で研究され、今では総説としてまとめられている。しかしながら、木本植物に関する報告は草本植物に比べて少なく、特に、コーヒーの光合成に及ぼす水ストレスの影響を生理学的に研究した報告は数例に過ぎない。

そこで本研究では、経済的に最も重要な栽培種であるアラビカコーヒーの光合成に対する水ストレスの影響を明らかにすることを目的とし、以下に示す観点に即して研究を行った。まず第一章では、水ストレスの指標として葉の水ポテンシャルを用い、葉の水ストレスの程度と光合成との関係を基本的に明らかにすることを試みた。すなわち、陽葉と陰葉並びに重要な3種の栽培種において両者の関係を比較検討した。第二章、第三章では、異なる水ストレス下での光合成の律速要因に関して、ガス代謝法を中心とした着生葉レベルにおける検討を行い、さらに葉内要因の量的あるいは活性の変化との関連づけを行った。すなわち、第二章では長期間の慢性的な水ストレスの影響、第三章では短期間で強まる急進的な水ストレスの影響として区別して考えた。なお、第二章では葉齢を考慮し、発育中の葉に対する影響と、成熟葉に対する影響とを比較した。

葉の水ポテンシャル(Ψ_{leaf})と光合成との関係は、多くの種で明らかにされ、代表的な植物に関するデータがBoyer(1976)によってまとめられている。その中から幾つかを抜粋してTable 10に示した。光合成速度の低下が始まる葉の水ポテンシャルの値並びに葉の水ポテンシャルの低下に伴う光合成低下の様相は、種、生育段階あるいは生育条件さらに葉の水ポテンシャルの測定方法によっても異なるが、Boyerはおおよそ葉の水ポテンシャルが $-1.0 \sim -2.0$ MPaの範囲で光合成の

Table 10 The CO₂ exchange rate at various Ψ_{leaf} for a number of plant species (Boyer, 1976)

species	Ψ_{leaf} of initial inhibition	Ψ_{leaf} at 50% inhibition	Ψ_{leaf} at 100% inhibition	Technique for measuring Ψ_{leaf}
rice	-0.2~-0.3	-0.5~-0.6	-1.2~-1.3	DT
maize	-0.3	-1.1	-1.2	DT
wheat	-0.5~-0.6	-0.7~-0.8	-2.0	T
bean	-0.6	-0.7	-1.0	DT
sunflower	-0.7	-1.4	-2.2	IT
tomato	-0.7	-0.9	-1.4	T
sorghum	-1.0	-1.1		DT
barley	-1.0	-1.5	-3.0	T
soybean	-1.1~-1.6	-1.6~-1.8	-2.3~-2.5	P
pine	-0.5	-0.7	-1.1	T
grape	-0.5	-0.9	-1.3	P
spruce	-1.5	-1.7~-1.8	-2.2	P
acacia	-3.0	-4.5	-6.0>	P

DT: Dewpoint thermocouple psychrometer

IT: Isopiestic thermocouple psychrometer

T : Thermocouple psychrometer

P : Pressure chamber

Table 11 The CO₂ exchange rate at various Ψ_{leaf} for three coffee species examined in this study

species	Ψ_{leaf} of initial inhibition	Ψ_{leaf} at 50% inhibition	Ψ_{leaf} at 100% inhibition	Technique for measuring Ψ_{leaf}
<u>C. arabica</u>	-1.5	-2.1~-2.6	-4.0~-5.0	DT
<u>C. canephora</u>	-1.5	-1.7	-3.0	DT
<u>C. liberica</u>	-1.5	-2.1	-3.5	DT

DT: Dewpoint thermocouple psychrometer

低下が始まると結論している。本研究で得たコーヒーのデータ(Table 11)と比較してみると、光合成の低下が始まる葉の水ポテンシャルの値は、比較的低い範囲にあり、光合成速度が100%阻害される葉の水ポテンシャルも低い。従って、コーヒーは葉の水ポテンシャルと光合成との関係から見た場合、耐旱性の強い植物であると考えられる。また、同じコーヒーでもアラビカ種は、ロブスタ種、リベリカ種より耐旱性が強いと言えよう。

水ストレスによって光合成が低下する原因に関しても多くの植物で調べられている。その原因は、大別して、気孔開度の減少と葉肉細胞における光合成活性の低下が考えられており、前者は、葉内への CO_2 の供給を制限することで光合成を律速し、後者は、葉緑体における光化学反応系の電子伝達反応と光リン酸化反応並びに炭酸固定反応の活性の低下によって光合成の活性そのものを律速する。トウモロコシやダイズ(Mederski et al, 1975)、イネ(Ishihara et al, 1979)では、前者が主因であると考えられ、ヒマワリ(Boyer et al, 1970c)やホウレンソウ(Plant et al, 1973)では、後者の重要性が示唆されている。しかし、どちらの要因が主因であるのかを決定するには、実験手法の改良や各々の手法の基となる理論的背景の変化も大きく影響する。すなわち、Gaastra(1959)の CO_2 拡散抵抗の理論以来、数多くの植物で、光合成に対する気孔抵抗(r_s)と葉肉抵抗(r_m)が算出され、光合成の律速要因における気孔の律速割合を、 $r_s/(r_s+r_m)$ として表す傾向があった。Farquhar & Sharkey(1982)は、この手法によって表された気孔による律速の割合は、特に、水ストレス下で光合成の CO_2 飽和点が低くなるような場合には過大評価となることを指摘し、新たに CO_2 濃度-光合成曲線から得られる気孔の律速割合の解析法を示した。さらに、Matthews & Boyer(1984)も、 CO_2 濃度-光合成曲線による解析から、水ストレスや低温ストレス下での光合成の低下をもたらした要因を、気孔閉鎖による部分と葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下による部分とに明確に分ける方法を提唱した。両者の方法は、理論的にも一致

しており、現在、着生葉レベルでの光合成の律速要因を解明する手段としては最も優れていると言えよう。そこで本研究でも、この方法を用い、水ストレス下での光合成の律速要因の解析を行った。まず、長期間に亘る慢性的な水ストレスは、葉の発育過程に及ぼす影響が大きく、成熟期の光合成を著しく低下させることが明らかとなった。この低下の原因は、そのほとんどが葉肉細胞での CO_2 固定能の低下であり、その機作は、暗反応系の量的な低下を意味する可溶性タンパクおよびRubiscoの量的な低下と考えられた。これに対し、成熟葉の光合成に対する慢性的な水ストレスの影響は、発育過程に及ぼすほど顕著ではなかったものの、約50%を抑制し、特に陰葉への影響が大きかった。また、光合成の抑制に占める葉肉細胞での CO_2 固定活性の低下割合は、陽葉では85%であったのに対し、陰葉では100%となった。この陰葉における葉肉細胞での CO_2 固定活性の低下の機作は、発育過程に及ぼす影響と同様、可溶性タンパクおよびRubiscoの量的低下でもたらされる暗反応系の量的低下であると考えられた。一方、成熟葉に対する灌水停止処理によって強まる急進的な水ストレスの光合成に及ぼす影響は、陽葉、陰葉共に、葉肉細胞での CO_2 固定活性の低下割合を急激に増大させた。したがって、コーヒーでは、気孔閉鎖が光合成低下の主因ではなく、Ort & Boyer(1985)が他の植物で指摘しているように、葉肉細胞での CO_2 固定活性の低下が主因であると考えられた。また、その機作は、慢性的な水ストレスの影響とは異なり、明反応系および暗反応系における量的な低下並びに明反応系の活性の低下は見られないのに対し、唯一認められたRubiscoのカルボキシラーゼ活性の低下による暗反応系の活性低下であると考えられた。

摘 要

本研究は、経済的に最も重要な栽培種であるアラビカコーヒーに関して、その物質生産の基礎である光合成に及ぼす水ストレスの影響を調べ、水ストレス下での光合成の律速要因を明らかにする目的で行った。

まず第一章では、水ストレスの指標として葉の水ポテンシャルを用い、葉の水ストレスと光合成との関係におけるアラビカコーヒーの特徴を明らかにすることを試みた。そのため、陽葉と陰葉における差異および異なる3種の栽培種における差異を比較検討した。第二章、第三章では、異なる水ストレス下での光合成の律速要因の解明に関して、ガス代謝法を中心とした着生葉レベルにおける検討を試みた。なお、第二章では、長期間の慢性的な水ストレスの影響を葉齢の違いに着目して、発育中の葉に対する影響と成熟葉に対する影響とに分けて比較し、さらに第三章では、短期間で徐々に強まる水ストレスの影響を調査した。

第一章 水ストレス下での葉の水ポテンシャル並びに光合成速度の変化

葉の水ポテンシャルと光合成との関係を、陽葉と陰葉における差異および種間差異の面から調べ、さらに、葉の水ポテンシャルの変化に伴う光合成速度の変化の原因を、着生葉における CO_2 拡散伝導度から検討した。

1) 土壌の水ポテンシャル(Ψ_{soil})と葉の水ポテンシャル(Ψ_{leaf})との関係は、無遮光下と遮光下では若干異なるが、両葉共に高い相関関係(陽葉で $r=0.806^{**}$ 、陰葉で $r=0.825^{**}$)が認められた(Fig. 6)。

- 2) 初期萎凋点の Ψ_{soil} は、無遮光下、遮光下共に約 -2.0MPa で同じであったが、その時の Ψ_{leaf} は、陽葉で -3.7MPa 、陰葉で -4.5MPa と後者の方が低かった(Fig. 1)。
- 3) Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成速度の低下の様相は、陽葉と陰葉とで若干異なり、 $\Psi_{leaf} > -2.0\text{MPa}$ の弱い水ストレス下では陰葉の光合成が陽葉よりも早く低下し、 $\Psi_{leaf} < -2.0\text{MPa}$ では、陽葉では光合成が低下し続けるのに対し、陰葉ではあまり顕著な低下は見られなかった。その結果、陰葉では著しく低い Ψ_{leaf} 域($\Psi_{leaf} < -4.0\text{MPa}$)でも光合成能力を維持していた(Fig. 2)。また、その様に低い Ψ_{leaf} 域での気孔伝導度および葉肉伝導度は、陽葉に比べて陰葉の方が高かった(Fig. 3)。
- 4) Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成速度の低下には種間差異が認められ、弱い水ストレス下($\Psi_{leaf} > -2.0\text{MPa}$)での光合成の低下にはあまり差異は見られないが、強い水ストレス下($\Psi_{leaf} < -3.5\text{MPa}$)では、アラビカ種がカネフォラ種、リベリカ種に比べて高い光合成を維持した。また、光合成が半減する Ψ_{leaf} は、カネフォラ種で -1.7MPa 、リベリカ種で -2.1MPa 、アラビカ種で -2.6MPa であった(Fig. 4)。
- 5) アラビカ種、カネフォラ種、リベリカ種共、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の低下は、気孔伝導度および葉肉伝導度のどちらとも関係が密接であった。しかし、リベリカ種に関しては、光合成と葉肉伝導度の低下傾向がどちらも直線的で同じであることより、 Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の低下が、葉肉伝導度により強く支配されている可能性が示唆された(Fig. 5)。

第二章 光合成に及ぼす慢性的な水ストレスの影響

葉の葉齢の違いによる慢性的な水ストレスの影響を比較する目的で、葉の発育期および成熟期に約40日に亘る長期間の水ストレス処理を行った。そして、両処理共に成熟葉について、その光-光合成曲線、 CO_2 濃度-光合成曲線、光合成に関与する葉内成分としてクロロフィル、全可溶性タンパクおよびRubisco含量を測定し、細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線による着生葉レベルでの光合成の律速要因の解析を行うと同時に、葉内成分含量の変化との関係を検討した。

- 1) 水ストレス下で発育した葉の光飽和光合成速度およびみかけの量子収量(α)は、対照区に比べて陽葉で各々約60%、約40%、陰葉では各々約75%、約60%低下した(Fig. 7)。
- 2) 細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線における最大光合成速度は、発育期で水ストレスを受けた場合では、陽葉、陰葉共に約80%減少したのに対し、成熟期に達してから水ストレスを受けた場合では、両葉共、平均50%の減少であった。また、 CO_2 固定効率は、発育期に水ストレスを受けた場合で両葉共、約70%の減少となったのに対し、成熟期に達してから水ストレスを受けた場合では、両葉共、約40%減少した(Table 5, Table 7)。
- 3) 長期間に亘る水ストレスは葉の発育過程および成熟葉のいずれに対しても、その光合成を著しく低下させたが、その低下原因のうち、葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に起因する割合(L_m)は、いずれの場合もほぼ100%であり、気孔閉鎖による光合成の低下はほとんど認められなかった(Table 5, Table 7)。

4) 発育過程を通しての水ストレスは、暗反応系に關与する酵素等の合成に大きな影響を及ぼし、特に陰葉においては全可溶性タンパクで27%、Rubiscoで31%と著しい低下が見られた。これに対し、クロロフィル含量の変化はほとんど見られなかった(Table 6)。

5) 水ストレス下で生育を続けた成熟葉の葉内成分含量は、陰葉の全可溶性タンパクおよびRubiscoで約25%減少したが、陽葉では変化しなかった。また、クロロフィル含量は、陰葉、陽葉共に変化しなかった(Table 8)。

第三章 光合成に及ぼす短期間の急進的な水ストレスの影響

灌水停止処理に伴って水ストレスが強まる過程における陽葉並びに陰葉での光合成の律速要因を明らかにする目的で、様々な水ストレス段階における CO_2 濃度-光合成曲線を測定し、それによって作成した細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線から着生葉レベルでの光合成の律速要因の解析を行った。さらに、葉内成分含量、*in vitro*での光合成の活性を表す光化学反応系の活性およびRubiscoの CO_2 固定活性を測定し、細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線より明らかとなった光合成の律速要因との関連を検討した。結果は以下の通りである。

1) 細胞間隙 CO_2 濃度-光合成曲線に及ぼす水ストレスの影響を見ると、 CO_2 飽和光合成速度および CO_2 固定効率(CE)は、陽葉、陰葉共に、水ストレスが強まるにつれて徐々に低下したが、CEは、いずれの $\Psi_{1, \text{leaf}}$ 域でも陰葉の方が高かった(Fig. 10, Fig. 11-A)。

2) ワールブルグ効果として見た光呼吸は、陽葉、陰葉共、 $\Psi_{leaf} > \text{約} -3.0\text{MPa}$ の範囲では、 Ψ_{leaf} の低下に伴って増加するが、それ以下の Ψ_{leaf} 下では減少する傾向を示した。また、光呼吸はいずれの Ψ_{leaf} 域においても陽葉の方が陰葉よりも大きい傾向があった(Fig. 11-B)。

3) 気孔閉鎖による光合成の律速割合(Ls)は、 Ψ_{leaf} の低下に伴って陽葉では顕著な変化は見られなかったが、陰葉では増大する傾向を示した。また、いずれの Ψ_{leaf} 域においても陰葉の方がLsが高かった(Fig. 12)。

4) 水ストレス下での、葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下に起因した光合成の低下割合(Lm)は、 Ψ_{leaf} が $\text{約} -2.0\text{MPa}$ の弱い水ストレス下では、陽葉で $\text{約} 80\%$ 、陰葉で $\text{約} 60\%$ であったが、 Ψ_{leaf} が次第に低下するに伴い両葉共、Lmは急激に増大し、 $\Psi_{leaf} < -3.0\text{MPa}$ では、陽葉で 100% 、陰葉で $\text{約} 90\%$ であった。また、いずれの Ψ_{leaf} においても、Lmは陰葉の方が陽葉よりも小さかった(Fig. 12)。

5) クロロフィル、全可溶性タンパクおよびRubiscoの含量は、陽葉、陰葉共に、水ストレスが強まっても低下しなかった(Fig. 13)。

6) 光化学反応系の活性は水ストレスによって変化しなかったのに対し、Rubiscoの活性には顕著な影響が見られ、陽葉、陰葉共、 Ψ_{leaf} の低下に伴って著しく低下した(Fig. 14)。

以上のことより、コーヒーの Ψ_{leaf} は土壌の水ストレスを的確に反映していることが明らかとなり、葉の水ストレスの生理的な指標として用いることができた。また、3種のコーヒーの中では、アラビカ種が低い Ψ_{leaf} 下においても、最も高

い光合成を維持することが明らかとなり、光合成から見た耐旱性は最も強いことが示された。さらに同じアラビカ種でも、陽葉と陰葉とで Ψ_{leaf} の低下に伴う光合成の低下の様相が異なり、低い Ψ_{leaf} 域では、陰葉の方が高い光合成能力を示すことが明らかとなった。水ストレス下での光合成の反応を見ると、葉の発育過程に及ぼす慢性的な水ストレスの影響は非常に大きく、光合成の暗反応に関与するRubisco等の合成阻害を通じて、葉肉細胞での光合成活性を著しく低下させるものと考えられた。また、陽葉と陰葉とを比べると、慢性的な水ストレスは陰葉に対する影響の方が大きく、光合成の低下をもたらした原因のほとんど全てが葉肉細胞の CO_2 固定活性の低下によるものであった。さらに、比較的短時間で強まる水ストレス下での光合成の低下には、暗反応系の酵素であるRubiscoの活性低下が最も関係しており、その結果、着生葉での光合成の低下原因に占める葉肉細胞での CO_2 固定活性の低下の割合が、 Ψ_{leaf} の低下に伴って著しく増大するものと考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、終始懇切な御指導と御鞭撻を賜りました神戸大学自然科学研究科資源生物学専攻生物生産講座 山口禎教授に謹んで感謝の意を表します。実験の遂行並びに論文の作成に際しましては、数々の御指導、御助言を頂きました同研究科 安田武司助教授に心から謝意を表します。本論文を作成するに当たりまして、種々の有益な御助言並びに御校閲を賜りました同大学自然科学研究科資源生物学専攻 一井隆夫教授並びに同研究科環境科学専攻 寺分元一教授に深謝の意を表します。さらに、本研究の遂行並びに本論文をまとめるに当たり、多大の御指導、御助言と激励を頂きました同研究科 内田直次助手に心から御礼申し上げます。また、コーヒー2種(カネフォラ種、リベリカ種)の貴重な種子を御提供して頂きました農水省 熱帯農業研究センター 和田源七博士に対しまして、ここに記して謝意を表します。また、CO₂赤外線ガス分析装置の利用に際して、上島珈琲株式会社との共同研究による御援助を賜ったことに対しまして厚く御礼申し上げます。最後に、実験の遂行に当たり、数々の御協力を頂き、お世話になった神戸大学農学部熱帯有用植物学講座の学生各位に心から厚く御礼申し上げます。

引 用 文 献

- Acevedo, E., Hsiao, T. C. and Henderson, D. W. 1971 Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status. *Plant Physiol.* 48, 631-636.
- Adams, J. A., Bingham, F. T., Kaufmann, M. R., Hoffman, G. J. and Yermanos, D. A. 1978 Responses of stomata and water, osmotic, and turgor potentials of jojoba to water and salt stress. *Agron. J.* 70, 381-387.
- Alberte, R. S., Fiscus, E. L. and Naylor, A. W. 1975 The effects of water stress on the development of the photosynthetic apparatus in greening leaves. *Plant Physiol.* 55, 317-321.
- Alberte, R. S., Thornber, J. P. and Fiscus, E. L. 1977 Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. *Plant Physiol.* 59, 351-353.
- Arnon, D. I. 1949 Copper enzymes in isolated chloroplasts. *Plant Physiol.* 24, 1-15.
- Barrs, H. D. 1968 Determination of water deficits in plant tissues. *In* *Water Deficits and Plant Growth, Vol. I.* (ed. Kozlowski, T. T.) Academic Press, New York, 236-368.
- Basiouny, F. M. 1977 Response of peach seedlings to water stress and saturation conditions. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 90, 261-263.
- Beadle, C. L., Stevenson, K. R., Neumann, H. H., Thurtell, G. W. and King, K. M. 1973 Diffusive resistance, transpiration, and photosynthesis in single leaves of corn and sorghum in relation to leaf water potential. *Can. J. Plant Sci.* 53, 537-544.
- Becker, T. W., Hoppe, M. and Fock, H. P. 1986a Evidence for the participation of dissimilatory processes in maintaining high carbon fluxes through the photosynthetic carbon reduction and oxidation cycles in water stressed Phaseolus leaves. *Photosynthetica* 20(2), 153-157.
- Becker, T. W. and Fock, H. P. 1986b Effects of water stress on the gas exchange, the activities of some enzymes of carbon and nitrogen metabolism, and on the pool sizes of some organic acids in maize leaves. *Photosynthesis Research* 8, 175-181.

- Bierhuizen, J. F., Nunes, M. A. and Ploegman, C. 1969 Studies on productivity of coffee. II. Effect of soil moisture on photosynthesis and transpiration of Coffea arabica. Acta Bot. Neerl. 18, 367-374.
- Björkman, O. 1968 Further studies on differentiation of photosynthetic properties in sun and shade ecotypes of Solidago virgaurea. Physiol. Plant. 21, 84-99.
- Björkman, O., Downton, W. J. S. and Mooney, H. A. 1980 Response and adaptation to water stress in Nerium oleander. Carnegie Inst. Washington Year Book 79, 150-157.
- Björkman, O., Powles, S. B., Fork, D. C. and Oquist, G. 1981 Interaction between high irradiance and water stress on photosynthetic reactions. Carnegie Inst. Washington Year Book 80, 57-59.
- Bourque, D. P. and Naylor, A. W. 1971 Large effects of small water deficits on chlorophyll accumulation and ribonucleic acid synthesis in etiolated leaves of jack bean (Canavalia ensiformis L.). Plant Physiol. 47, 591-594.
- Boyer, J. S. 1968 Relationship of water potential to growth of leaves. Plant Physiol. 43, 1056-1062.
- Boyer, J. S. 1969 Measurement of the water status of plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 20, 351-364.
- Boyer, J.S. 1970a Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean, and sunflower at various leaf water potentials. Plant Physiol. 46, 233-235.
- Boyer, J. S. 1970b Differing sensitivity of photosynthesis to low water potentials in corn and soybean. Plant Physiol. 46, 236-239.
- Boyer, J. S. and Bowen, B. L. 1970c Inhibition of oxygen evolution in chloroplasts isolated from leaves with low water potentials. Plant Physiol. 45, 612-615.
- Boyer, J.S. 1971 Non-stomatal inhibition of photosynthesis in sunflower at low water potentials and high light intensities. Plant Physiol. 48, 532-536.
- Boyer, J. S. and McPherson, H. G. 1975 Physiology of water deficits in cereal crops. Adv. Agron. 27, 1-23.
- Boyer, J. S. 1976 Chapter 4 Water deficits and photosynthesis. In Water Deficits and Plant Growth, Vol. IV. (ed. Kozlowski, T. T.) Academic Press, New York, 153-190.

- Brix, H. 1962 The effect of water stress on the rate of photosynthesis and respiration in tomato plants and loblolly pine seedlings. *Physiol. Plant.* 15, 10-20.
- Brown, K. W., Jordan, W. R. and Thomas, J. E. 1976 Water stress induced alteration of the stomatal response to decrease in leaf water potential. *Physiol. Plant.* 37, 1-5.
- Butler, D. R. 1977 Coffee leaf temperatures in a tropical environment. *Acta Bot. Neerl.* 26(2), 129-140.
- Cleland, R. 1971 Cell wall extension. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22, 197-223.
- Clough, B. F. and Milthorpe, F. L. 1975 Effects of water deficit on leaf development in tobacco. *Aust. J. Plant Physiol.* 2, 291-300.
- Cornic, G., Prioul, J. L. and Louason, G. 1983 Stomatal and non-stomatal contribution in the decline in leaf net CO₂ uptake during rapid water stress. *Physiol. Plant.* 58, 295-301.
- Darbyshire, B. and Steer, B. T. 1973 Dehydration of macromolecules. I. Effect of dehydration on indoleacetic acid oxidase, ribonuclease, ribulosediphosphate carboxylase, and ketose-1-phosphate adolase. *Aust. J. Biol. Sci.* 26, 591-604.
- Davies, W. J. 1977 Stomatal responses to water stress and light in plants grown in controlled environments and in the field. *Crop Sci.* 17, 735-740.
- Farquhar, G. D. and Sharkey, T. D. 1982 Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33, 317-345.
- Federer, C. A. 1977 Leaf resistance and xylem potential differ among broad-leafed species. *For. Sci.* 23, 411-419.
- Frank, A. B., Power, J. F. and Willis, W. O. 1973 Effect of temperature and plant water stress on photosynthesis, diffusion resistance, and leaf water potential in spring wheat. *Agron. J.* 65, 777-780.
- Friend, D. J. C. 1984 Shade adaptation of photosynthesis in Coffea arabica. *Photosynthesis Research* 5, 325-334.
- Gaastra, P. 1959 Photosynthesis of crop plants as influenced by light, carbon dioxide, temperature, and stomatal diffusion resistances. *Meded. Landbouwhoges. Wageningen* 59, 1-68.
- Ghorashy, S. R., Pendleton, J. W., Peters, D. B., Boyer, J. S. and Beuerlein, J. E. 1971 Internal water stress and apparent photosynthesis with soybeans differing in pubescence. *Agron. J.* 63, 674-676.

- Hanson, A. D. and Hitz, W. D. 1982 Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33, 163-203.
- Hall, A. E. and Hoffman, G. J. 1976 Leaf conductance response to humidity and water transport in plants. *Agron. J.* 68, 846-881.
- Hsiao, T. C. 1973 Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24, 519-570.
- Huffaker, R. C., Radin, T., Kleinkopf, G. E. and Cox, E. L. 1970 Effects of mild water stress on enzymes of nitrate assimilation and of the carboxylative phase of photosynthesis in barley. *Crop Sci.* 10, 471-474.
- Husain, I. and Aspinall, D. 1970 Water stress and apical morphogenesis in barley. *Ann. Bot. (London)* 34, 393-408.
- Ishihara, K. and Hirasawa, T. 1978 Relationship between leaf and xylem water potentials in rice plants. *Plant & Cell Physiol.* 19, 1289-1294.
- Ishihara, K., Kuroda, E. and Ishi, R. 1979 Relationship between nitrogen content in leaf blades and photosynthetic rate in rice plants measured with an infrared gas analyzer and oxygen electrode. *Japan. Jour. Crop Sci.* 48(4), 543-550.
- Jackson, W. A. and Volk, R. J. 1970 Photorespiration. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 21, 385-432.
- John, E. B. and Turner, N. C. 1976 Crop water deficits. *Adv. Agron.* 28, 161-217.
- Johnson, R. R., Frey, N. M. and Moss, D. N. 1974 Effect of water stress on photosynthesis and transpiration of flag leaves and spikes of barley and wheat. *Crop Sci.* 14, 728-731.
- Jolliffe, P. A. and Tregunna, E. B. 1968 Effect of temperature, CO₂ concentration and light intensity on oxygen inhibition of photosynthesis in wheat leaves. *Plant Physiol.* 43, 902-906.
- Jolliffe, P. A. and Tregunna, E. B. 1973 Environmental regulation of the oxygen effect on apparent photosynthesis in wheat. *Can. J. Bot.* 51, 841-853.
- Jones, H. G. 1973 Moderate-term water stress and associated changes in some photosynthetic parameters in cotton. *New Phytol.* 72, 1095-1105.
- Jordan, W. R. and Ritchie, J. T. 1971 Influence of soil water stress on evaporation, root absorption, and internal water status of cotton. *Plant Physiol.* 48, 783-788.

- Keck, R. W. and Boyer, J.S. 1974 Chloroplast response to low leaf water potentials. III. Differing inhibition of electron transport and photophosphorylation. *Plant Physiol.* 53, 474-479.
- Kozlowski, T. T. 1976 *Water Deficits and Plant Growth, Vol.IV.* Academic Press, New York, 1-383.
- Kramer, P.J. 1983 Measurement of plant water stress. *In Water Relations of Plants.* (ed. Kramer, P. J.) Academic Press, New York, 374-388.
- Kriedemann, P. E. and Smart, R.E. 1971 Effect of irradiance, temperature, and leaf water potential on photosynthesis of vine leaves. *Photosynthetica* 5, 6-15.
- Kriedemann, P. E. and Downton, W. J. S. 1981 Chapter 13 Photosynthesis. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants.*(eds. Paleg, L. G. and Aspinall, D.) Academic Press, New York, 283-314.
- Krieg, D. R. and Hutwagner, R. B. 1986 Photosynthetic rate control in sorghum: Stomatal and nonstomatal factors. *Crop Sci.* 26, 112-117.
- Kumar, D. and Tieszen, L. L. 1980a Photosynthesis in *Coffea arabica*. I. Effects of light and temperature. *Exp. Agric.* 16, 13-19.
- Kumar, D. and Tieszen, L. L. 1980b Photosynthesis in *Coffea arabica*. II. Effects of water stress. *Exp. Agric.* 16, 21-27.
- Kumar, S. and Gupta, R. K. 1986 Influence of different leaf water potentials on photosynthetic carbon metabolism in sorghum. *Photosynthetica* 20, 391-396.
- Kung, S. D., Chollet, R. and Marsho, T. V. 1980 Crystallization and assay procedures of tobacco ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase. *Methods in Enzymology*, Vol. 69, 326-331.
- Lakso, A. N. 1979 Seasonal changes in stomatal response to leaf-water potential in apple. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104, 58-60.
- Lawlor, D. W. and Fock, H. 1975 Photosynthesis and photorespiratory CO₂ evolution of water-stressed sunflower leaves. *Planta* 126, 247-258.
- Lee, K. C., Campbell, R. W. and Paulsen, G. M. 1974 Effects of drought stress and succinic acid-2,2-dimethylhydrazide treatment on water relation and photosynthesis in pea seedlings. *Crop Sci.* 14, 279-282.

- Lorimer, G. H., Badger, M. R. and Andrews, T. J. 1977 D-Ribulose-1,5-bisphosphste carboxylase oxygenase. Improved methods for the activation and assay of catalytic activities. *Anal. Biochem.* 78, 66-77.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951 Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol.Chem.* 193, 265-275.
- Ludwig, L. J. and Calvin, D. T. 1971 The rate of photorespiration during photosynthesis and the relationship of the substrate of light respiration to the products of photosynthesis in sunflower leaves. *Plant Physiol.* 48, 712-719.
- Matthews, M. A. and Boyer, J. S. 1984 Acclimation of photosynthesis to low leaf water potentials. *Plant Physiol.* 74, 161-166.
- Mederski, H. J., Chen, L. H. and Curry, R. B. 1975 Effect of leaf water deficit on stomatal and non-stomatal regulation of net carbon dioxide assimilation. *Plant Physiol.* 55, 589-593.
- Meyer, R. F. and Boyer, J. S. 1972 Sensitivity of cell division and cell elongation to low water potentials in soybean hypocotyls. *Planta* 108, 77-87.
- Millar, A. A., Gardner, W. R. and Goltz, S. M. 1971 Internal water stress and water treatment in seed onion plants. *Agron. J.* 63, 779-784.
- Minguez, P. L., Cewlemans, R., Gabriels, R., Impens, I. and Verdonck, O. 1985 Effect of short-term water stress on leaf gas exchange processes and plant water potential in Schefflera. *HortScience* 20, 932-934.
- Mohanty, P. and Boyer, J.S. 1976 Chloroplast response at low leaf water potentials. IV. Quantum yield is reduced. *Plant Physiol.* 57, 704-709.
- Moldau, H. 1973 Effects of various water regimes on stomatal and mesophyll conductances of bean leaves. *Photosynthetica* 7, 1-7.
- Mooney, H. A., Bjorkman, O. and Collatz, G. J. 1977 Photosynthetic acclimation to temperature and water stress in the desert shrub Larrea divaricata. *Carnegie Inst. Washington Year Book* 76, 328-335.
- Nunes, M. A., Bierhuizen, J. F. and Ploegman, C. 1968 Studies on productivity of coffee. I. Effect of light, temperature and CO₂ concentration on photosynthesis of Coffea arabica L. *Acta Bot. Neerl.* 17, 93-102.

- Nunes, M. A., Bierhuizen, J. F. and Ploegman, C. 1969 Studies on productivity of coffee. III. Differences in photosynthesis between four varieties of coffee. *Acta Bot. Neerl.* 18, 420-424.
- Ort, D. R. and Boyer, J.S. 1985 Plant productivity, photosynthesis, and environmental stress. *In* Changes in Eukaryotic Gene Expression in Response to Environmental Stress. (eds. Atkinson, B. G. and Walden, D. B.) Academic Press, New York, 279-313.
- Osmond, C. B., Winter, K. and Powles, S. B. 1980 Adaptive significance of carbon dioxide cycling during photosynthesis in water-stressed plants. *In* Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress. (eds. Turner, N. C. and Kramer, P. J.) Wiley-Interscience, New York, 139-154.
- O'Toole, J. C., Crookston, R. K., Treharne, K. J. and Ozburn, J. L. 1976 Mesophyll resistance and carboxylase activity. A comparison under water stress conditions. *Plant Physiol.* 57, 465-468.
- O'Toole, J. C., Ozburn, J. L. and Wallace, H. H. 1977 Photosynthetic response to water stress in Phaseolus vulgaris. *Physiol. Plant.* 40, 111-114.
- Plaut, Z. 1971 Inhibition of photosynthetic carbon dioxide fixation in isolated spinach chloroplasts exposed to reduced osmotic potentials. *Plant Physiol.* 48, 591-595.
- Plaut, Z. and Bravdo, B. 1973 Response of carbon dioxide fixation to water stress. Parallel measurements on isolated chloroplasts and intact spinach leaves. *Plant Physiol.* 52, 28-32.
- Sambongi, K., Yasuda, T. and Yamaguchi, T. 1986 Effect of shading on photosynthesis of Coffea arabica. *Japan J. Trop. Agr.* 30, 149-152.
- Sharkey, T. D. and Badger, M. R. 1982 Effects of water stress on photosynthetic electron transport, photophosphorylation, and metabolite levels of Xanthium strumarium mesophyll cells. *Planta* 156, 199-206.
- Sharkey, T.D. 1985 Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants: Physics, physiology and rate limitation. *The Botanical Review* 51, 53-105.
- Slatyer, R. O. and Taylor, S. A. 1960 Terminology in plant and soil-water relations. *Nature* 187, 922.
- Slatyer, R.O. and Shmueli, E. 1967 Measurement of internal water status and transpiration. *In* Irrigation of Agricultural Lands. (eds. Hagan, R. M., Haise, H. R. and Edminster, T. W.) Am. Soc. Agron. Medison, Wisconsin, 337-353.

- Sondahl, M. R., Crocomo, D. J. and Sodek, L. 1976 Measurements of ^{14}C incorporation by illuminated intact leaves of coffee plants from gas mixtures containing $^{14}\text{CO}_2$. *J. Exp. Bot.* 27, 1187-1195.
- Steer, B. T. 1973 Control of ribulose-1,5-diphosphate carboxylase activity during expansion of leaves of Capsicum frutescens L. *Ann. Bot.* 37, 823-829.
- Tio, M. A. 1962 Effect of light intensity on the rate of apparent photosynthesis in coffee leaves. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico.* 46, 159-166.
- Turner, N. C. 1981 Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water stress. *Plant Soil* 58, 339-366.
- van den Driessche, R., Conner, D. J. and Tunstall, B. R. 1971 Photosynthetic response of brigalow to irradiance, temperature and water potential. *Photosynthetica* 5, 210-217.
- von Caemmerer, S. and Farquhar, G. D. 1984 Effects of partial defoliation, changes of irradiance during growth, short-term water stress and growth at enhanced $p(\text{CO}_2)$ on the photosynthetic capacity of leaves of Phaseolus vulgaris L. *Planta* 160, 320-329.
- Wardlaw, I. F. 1969 The effect of water stress on translocation in relation to photosynthesis and growth. II. Effect during leaf development in Lolium temulentum L. *Aust. J. Biol. Sci.* 22, 1-16.
- Winter, K. and Schramm, M. J. 1986 Analysis of stomatal and nonstomatal components in the environmental control of CO_2 exchange in leaves of Welwitschia mirabilis. *Plant Physiol.* 82, 173-178.
- Yamaguchi, T. and Friend, D. J. C. 1979 Effect of leaf age and irradiance on photosynthesis of Coffea arabica. *Photosynthetica* 13, 271-278.