

研究紹介

作物生理の動態解析に関する研究

平井儀彦

(作物機能調節学講座)

Analysis of Physiological Dynamics
in Plant Growth

Yoshihiko Hirai

(Department of Eco-physiology for Crop Production)

In order to realize a high-efficient growth control for higher yielding, it is important to clarify the relationships between the physiological dynamics and the growth of a particular crop. Therefore, an assimilation chamber for simultaneous measurement of photosynthesis, shoot and root respiration, transpiration and ion uptake of a whole plant was developed. The relationship between plant growth and constructive respiration coefficient which was calculated by using McCree's equation, was investigated. The coefficient increased with the ratio of the assimilation of nitrogen and carbohydrate ($\Delta N / \Delta C$) during measurement. The higher ratio of $\Delta N / \Delta C$ is closely related to an increase in dry-matter partitioning of the leaf blade. In this measurement, light intensity was daily lowered to estimate the constructive respiration coefficient and plant growth might be influenced under these conditions. Then measurements at constant day-light intensity were done under different humidity and nutrient conditions, using several varieties. Consequently, shoot respiration rate was estimated by relative shoot growth rate and leaf blade/sheath ratio of dry matter increase. Respiratory energy cost for organogenesis differed among the plant parts, and that of the leaf blade was higher than that of the leaf sheath. Root respiration rate was explained by the combination of relative root

growth rate and nitrogen uptake rate. The respiratory energy cost for nitrogen uptake did not change with the transpiration rate, the nitrogen concentration in the culture solution nor with other varieties. Dry matter partitioning ratio to shoot was found to have two main components, i.e. initial nitrogen content of shoot and ratio of assimilated nitrogen and carbon in the first day. Dry-matter increase and dry-matter partitioning of intact plants could be discovered by measuring CO_2 exchange, nitrogen uptake and shoot nitrogen content.

Key words : CO_2 exchange, dry-matter partitioning, plant growth, nitrogen uptake, nitrogen content

緒言

作物栽培では、多収に向けて合理的な栽培管理および生育調節を行なうことが不可欠であり、正確な生育診断法の確立が求められる。そして、作物の生育診断あるいは生育調節に係わる基礎研究を進める上では、個体の生理状態と生育との関係を明確に把握しておくことが極めて重要な課題となる。このような観点から、著者は、光合成・呼吸・水分および養分吸収などの基本的代謝過程を同時に総合的に測定、解析し、作物の形態形成の方向との関連について検討を進めており、さらに、個体の表面電位の測定による生理状態の検出方法の確立を目指した研究も行っている。

植物の呼吸について、McCree⁸⁾は、暗呼吸を総光合成量に比例する構成呼吸と乾物重に比例する維持呼吸の2成分に分けて表わせることを、すなわち、 $R = kPg + cW$ (R : 総呼吸量, Pg : 総光合成量, W : 乾物重, k : 構成呼吸係数, c : 維持呼吸係数) の関係が成り立つことを示した。構成呼吸は植物体の生成に必要な呼吸であり、維持呼吸については、主にタンパク質のターンオーバーと細胞内のイオン濃度勾配の維持に関わる呼吸であることが示唆されており¹³⁾、また、特に根では、呼吸が生長、維持及びイオン吸収の3要素に分けられるとの見解も示され

ている^{7,18)}。しかしながら、個体の生育と生理動態との関係、すなわち光合成、呼吸、養分吸収および蒸散速度等を組み合わせて表現される個体の生理状態及びその変化と生育との係わりについては、必ずしも明確になっていないのが現状である。

本研究では、個体の生育を、CO₂、水分および養分の測定により、非破壊的に生育状態を把握する方法を確立する研究の一貫として、まず、生長量が測定できる程度の長期間、光合成・呼吸等を連続測定するための装置を製作し、McCreeの方法にしたがって構成呼吸量および構成呼吸係数を求め、生育との関係を検討した。また、McCreeの方法は、測定中に光強度を変化させることから生育状態も変化するため、光強度を一定とした条件で、窒素源、湿度および培養液濃度を異にした場合の個体の生育とCO₂収支、蒸散および養分吸収の関係を検討し、さらに、非構造性炭水化物の含有率の異なるイネ品種を用いて、構成成分と呼吸との関係について検討し、同時に乾物分配に係わる要因について検討した。他方、様々な刺激を与えた場合の個体の表面電位について検討した。

1. 根部呼吸速度を赤外線ガス分析計で連続測定可能な個体用同化箱の製作¹⁵⁾

個体の生育と、光合成、呼吸、蒸散および養分吸収との関係を把握しようとする上で、これらの測定は、生長量が測定できる程度に長期間にわたる必要があり、その際の問題点は根の呼吸の測定法である。

着生根で呼吸を測定する場合、一般的には水耕条件下でCO₂放出速度を測定することになるが、培養液のpHは養分吸収および生育に影響を及ぼすとともに養分吸収によりpH自体が変化し^{6,9)}、また、CO₂の溶解度がpHによって異なることから^{1,14)}、培養液からのCO₂の発生あるいは培養液へのCO₂の溶解が根からのCO₂放出速度の測定値に影響を与える。したがって、CO₂の放出量から呼吸速度を測定する場合には、培養液のpHの制御が、測定環境の維持と測定精度の両面において重要な条件となる。

上述の観点から、蒸散速度とともに茎葉部と根部のCO₂収支を別々にしかも同時に測定できる個体用同化箱を、特に根の呼吸速度を連続して長期間測定できるように工夫して作製し、根部呼吸速度を長期間連続測定できることを確かめた。その結果、酸あ

るいはアルカリを同化箱の培養液槽に滴定してpH制御する場合においてもCO₂濃度の変動は一過的なものとなり、赤外線ガス分析法によるCO₂の放出速度に基づいて根部呼吸速度を連続的にかつ高精度に測定するためには、培養液のpHと温度を厳密に制御することが必須条件であることが明らかとなった。

2. イネ幼植物の生育と構成呼吸および維持呼吸との関係²⁾

作物個体の生育と構成呼吸および維持呼吸との関係を明らかにするため、培養液濃度の違いによって生育様相を異にした水稻品種アキヒカリを用いて、日毎に光強度を低下させた場合の個体のCO₂収支を測定、解析した。

その結果、茎葉部の構成呼吸量と茎葉部の乾物増加量との間に、根部の構成呼吸量と根の乾物増加量との間に、各々高い正の相関関係が認められた。さらに、茎葉部の構成呼吸量については、葉身の乾物および葉面積の増加量との間に各々極めて高い正の相関関係が認められたのに対し、葉鞘の乾物増加量との間には有意な相関関係は認められなかった。また、重回帰分析によって、個体の構成呼吸量は、主に乾物増加と窒素増加が関与することが示された。このことは、1g当たりの乾物増加に関わる構成呼吸量が、窒素含有率の高い葉身では葉鞘より大きいことを支持するものと考えられた。また、構成呼吸係数は、異なる培養液濃度条件下において、大きく変化することが認められ、さらに、構成呼吸係数と炭素増加量に対する窒素増加量の比($\Delta N/\Delta C$)との間に高い正の相関関係が認められた。そして、構成呼吸係数と葉身への分配率との間に高い正の相関関係が認められたことから、乾物分配は $\Delta N/\Delta C$ を介して行なわれ、 $\Delta N/\Delta C$ は乾物分配に関わる主要な要因であると推察された。

以上の結果から、個体のCO₂収支の測定によって、光合成産物と窒素増加量の比を知り得ることが明らかになり、その比は乾物分配に密接に関与するものと考えられた。

3. 異なる生育条件下における個体の生育とCO₂収支および養分吸収との関係

1) 培地の窒素形態を異にした場合⁵⁾

根部の呼吸は養分吸収にも密接に係わっているこ

とから、窒素の形態によっては構成呼吸と乾物増加および乾物分配の関係が異なることが予想される。そこで、 NO_3 および NH_4 を窒素源とした場合のコムギ幼植物の生育と CO_2 収支および養分吸収との関係を解析し、この点を検討した。

茎葉部の乾物重および葉面積の増加量は、両窒素培地ではほとんど差がなかったのに対し、根の乾物増加量および根への乾物分配率は NH_4 培地において低かった。個葉の光合成速度は、 NO_3 培地で増加し、 NH_4 培地では低下する傾向にあり、個葉の蒸散速度に差が認められなかったことから、葉肉細胞における光合成系の活性に差があるものと考えられた。また、乾物増加量当たりの窒素吸収量は、 NH_4 培地で平均 $0.082\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ 、 NO_3 培地で $0.060\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ であり、カリウムでは各々 $0.062\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ 、 $0.110\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ であり、光合成速度の違いに関連しているものと考えられた。乾物重当たりの呼吸速度は、茎葉部では両培地で同じで変化がなかったのに対し、根部では NH_4 培地で低下する傾向にあった。

一方、茎葉部と根部との乾物増加と構成呼吸との関係を明らかにするため、維持呼吸量を差し引いて求めた構成呼吸量と乾物増加量との関係を調べた。その結果、茎葉部の構成呼吸量と茎葉部の乾物増加量との間には高い正の相関関係が認められ、根部の構成呼吸量と根の乾物増加量との間にも、窒素欠如培地を除いて高い正の相関関係が認められた。窒素吸収に係わる呼吸がないと考えられる窒素欠如培地の個体を含め、根の構成呼吸量を従属変数、根の乾物増加量と窒素吸収量を独立変数として、窒素の形態別に重回帰分析を行なったところ、各々有意に高い重相関関係が得られた。このことから、根の 1g の乾物増加に係わる呼吸コストは窒素形態に拘わらず同様であることが、また窒素吸収に係わる呼吸コストは窒素の形態によって異なることが示された。

2) 湿度条件および培養液濃度を異にした場合³⁾

培地の養分濃度を高めた場合、養分吸収量が高まることが知られており、また、相対湿度が低い場合、蒸散速度は高まる。このような条件では生長と窒素吸収および呼吸との関係が変化するかどうかを調査するため、イネ幼植物を用いて、光合成、呼吸、蒸散および窒素吸収速度を異なる湿度および培養液濃度条件下で3日間連続測定した。

その結果、茎葉部の呼吸速度は、茎葉部の相対生

長率と葉身増加量/葉鞘増加量比との間に重相関関係が得られた。また、器官形成に関わる呼吸は部位によって異なり、 1g の乾物増加に関わる呼吸は葉鞘より葉身で高かった。そして、根の呼吸速度は、根の相対生長率と窒素吸収速度との間に重相関関係が得られ、窒素吸収に関わる呼吸エネルギーコストは蒸散速度や培地の培養液濃度によって変化せず、形成される器官によって異なることが明らかになった。また、乾物分配率は測定開始時の茎葉部の窒素含有率と測定開始1日目の窒素増加/炭素増加比の2要素によって表わされた。測定開始時の茎葉部の窒素含有率は、これらの結果から、湿度および培養液濃度条件を異にした場合において、個体の CO_2 収支、養分吸収および窒素含有率を測定することで、乾物増加量の推定のみならず、茎葉部への乾物分配率の推定が可能になったことが明らかになった。

3) 非構造的炭水化物含有率の異なるイネ品種を用いた場合⁴⁾

イネ品種の中には、グルコース、スクロース、デンプンなどの非構造的炭水化物 (NSC) の蓄積量の多い品種と少ない品種があることが報告されている¹⁶⁾。そこで、NSC 含有率の異なるイネ6品種を異なる培養液濃度条件下で栽培し、その生育と CO_2 収支及び養分吸収との関係を解析し、茎葉部への乾物分配率、及び NSC の蓄積と消費の様相が推定可能であるかどうか検討した。

その結果、測定期間中の生育については、いずれの品種、培養液濃度区の個体でも NSC 量は増加せず、光合成産物は器官形成に使用される盛んな生育をしたものと考えられた。そして、測定期間中の個体の相対生長率 (RGR) を従属変数、測定前の茎葉部の窒素含有率および葉鞘部 NSC 含有率を各々独立変数として重回帰分析を行なったところ、有意に高い重相関関係が得られ、測定前の窒素含有率および NSC 含有率が高いほど RGR は大きく、窒素含有率の影響がより大であった。

一方、茎葉部の呼吸速度を従属変数、茎葉部の相対生長率と葉身増加量/葉鞘増加量比を独立変数として重回帰分析を行なったところ、有意に高い重相関関係が得られた。測定期間中に NSC が蓄積されなかったことから、構造的炭水化物の構成に係わる呼吸は葉鞘に比較して大きいものと考えられた。また、重回帰式の切片からは茎葉部の維持呼吸速度が

推定され、その値は $21.9\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ で、これまで他の方法で報告されている値と同程度であった。同様に、根の呼吸速度については、根の相対生長率および窒素吸収速度との間に有意に高い重相関関係が得られ、単位当たりの乾物増加あるいは窒素吸収に係わる呼吸は、品種間でほぼ差がないものと考えられた。そして、根部の維持呼吸速度は茎葉部と同様に推定され、その値は $35.7\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ で、茎葉部に比較して高かった。また、3日間の茎葉部への乾物分配率は、測定開始時の茎葉部の窒素含有率および測定1日目の窒素増加/炭素増加比によって表わされ、品種・培養液濃度に拘わらず乾物分配の推定が可能であるものと考えられた。

以上の結果から、培地濃度及び非構造化炭水化物含有率の異なるイネ個体を対象にした場合でも、個体の CO_2 収支、養分吸収および窒素含有率を測定することによって、乾物増加量のみならず、茎葉部への乾物分配率の推定が可能になったことが明らかになった。しかし、本実験では、測定期間中にNSC含有量の増加が認められず、個体のNSCの蓄積あるいは消費の推定に関する検討は行なえなかったことから、今後、測定条件を変えてNSCの蓄積と消費に関する要因を明らかにする必要があるものと考えられた。

4. 刺激に対する表面電位の変化

植物は磁場¹¹⁾や音刺激¹²⁾あるいは各種の匂い物質¹⁰⁾に対して異なる電気的反応を示すことが報告されている。しかしながら、その電気的反応と生理状態との関係については、ほとんど明らかになっていない。そこで、個体の生理状態を検出する手段として、植物の示す電気的反応に着目し、表面電位と個体の生理状態との関係を明らかにする第一歩として、イネおよびダイズを対象とした場合の表面電位の測定方法の確立を目指し、様々な刺激を与えた場合の表面電位の変化について調査するとともに、測定部位の検討を行なった。

ダイズ葉に光、接触、熱、煙、冷水、電気、酸刺激を行なった場合、短時間の急激な電位変化が生じ、生理機能が停止したと考えられる個体ではこの変化が認められないことから、電位変化が生体反応を示すことが考えられた¹⁷⁾。また、イネ幼植物に光を照射した場合、葉身の表面電位はピークを有する波形変

化を示し、葉鞘ではほとんど変化を示さないことから、光照射による表面電位の変化は光合成と関連している現象と考えられた。そして、電極間距離を大きくした場合に光照射による電位変化が大きい傾向が認められたことから、光合成に関連して発生する電位は電極間距離に比例するものと考えられた。しかしながら、個体によるばらつきが大きく、電極の接着位置あるいは接着方法についてさらに検討する必要があるものと考えられた。一方、培養液添加処理では葉鞘にのみ表面電位の変化が認められ、さらに、添加する培養液濃度が高いほどその変化が大きい傾向が認められたことから、葉鞘表面は培地における刺激に対する反応を検出する上で有効であると考慮された。このように、植物の表面電位は外部の刺激に対して極めて迅速に反応することから、植物個体の生理状態を知る指標として利用できる可能性が高いものと考えられた。また、生体電位についての研究報告は極めて少なく今だ未知の分野であり、刺激を与えない状態においても様々な電位変化が計測されたことなど不明な点も数多く、今後さらに測定法の改良を含め、植物の生理状態との関係の解析をより多くの場面において行なうことが必要と思われる。

要 約

光強度を日毎に低下させながら個体の CO_2 収支を測定することによって、光合成産物と窒素増加量の比を知り得ることが明らかになり、その比は乾物分配に密接に関与するものと考えられた。そして、光強度を一定にした場合、異なる湿度および培養液濃度条件下において、あるいは、非構造化炭水化物含有率の異なるイネ個体を対象にした場合でも、個体の CO_2 収支、養分吸収および窒素含有率を測定することによって、乾物増加量の推定のみならず、茎葉部への乾物分配率の推定が可能になったことが明らかになった。このことから、さらに他の環境条件、例えば、光強度、 CO_2 濃度、温度などが異なる条件においても同様の結果が得られるか検討を行なうとともに、実際に、 CO_2 収支、養分吸収および窒素含有率を測定し、乾物分配率を予測する重回帰式に当てはめることで、乾物分配率が推定できることを実証するための実験を行なう必要があるものと考えられた。また、同時に、個体の表面電位の測定による生理状態

の検出方法について研究を進めることで、植物の新たな生育診断法の確立に役立つものと考えられた。

文 献

- 1) 浅田浩二：炭酸ガスと水との相互作用と炭酸ガス固定反応の反応種。炭酸ガスの化学—有効利用のための基礎—(北野康ら著), pp.147-153, 共立出版, 東京 (1976)
- 2) Hirai, Y., H. Ehara and M. Tsuchiya: Relationship between the growth of rice seedling and constructive and maintenance respiration. Jpn. J. Crop Sci. (Submit)
- 3) Hirai, Y., M. Sakakibara and M. Tsuchiya: Respiratory energy costs for organogenesis and nitrogen uptake in rice. Proc. of the 2nd Asian Crop Science Conference, Fukui, Japan 68 (1995)
- 4) 平井儀彦・榊原基弘・土屋幹夫：非構造的炭水化合物含有率の異なるイネの生育と CO₂ 収支および窒素吸収との関係, 日作紀 **64** (別2) 229-230 (1995)
- 5) 平井儀彦・土屋幹夫：窒素形態の異なる培地におけるコムギ幼植物の生育と CO₂ 収支および養分吸収との関係, 日作中支録, **35**, 31-32 (1994)
- 6) 河崎利夫・森次益三：培地のアンモニア態窒素および硝酸態窒素と植物の生育。養液栽培と植物栄養(日本土壤肥料学会編), pp.29-53, 博友社, 東京 (1989)
- 7) Lambers, H. and A. van der Werf: Variation in the rate of root respiration of two *Carex* species: A comparison of four related methods to determine the energy requirements for growth, maintenance and ion uptake. Plant and Soil, **111**, 207-211 (1988)
- 8) McCree, K. J.: An equation for the rate of respiration of clover plants grown under controlled conditions. in Prediction and Measurement of Photosynthetic Productivity. (Setlik, I., Ed.). pp.221-229, Pudoc, Wageningen. (1970)
- 9) 松本英明：根圏の pH に及ぼす植物の作用。土肥誌, **62**, 563-572 (1991)
- 10) 松岡英明：植物細胞とセンサ。細胞工学, **7**, 441-449 (1988)
- 11) 三輪敬之・榊橋康博：カルスの磁気刺激応答性について。生物環境調節, **25**, 117-122 (1987)
- 12) 三輪敬之・榊橋康博・笹川雅之：音刺激下における葉表面電位変化挙動について。生物環境調節, **30**, 29-35 (1992)
- 13) Penning de Vries, F. W. T.: The cost of maintenance processes in plant cell. Ann. Bot., **39**, 77-92 (1975)
- 14) Stumm, W. and J. J. Morgan: Dissolved carbon dioxide. in Aquatic chemistry: an introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters. pp.118-159, John Wiley and Sons, New York (1970)
- 15) 土屋幹夫・平井儀彦：根部呼吸速度を赤外線ガス分析計で連続測定可能な個体用同化箱の製作。日作中支録, **34**, 8-15 (1993)
- 16) 土屋幹夫・西尾耕平・小合龍夫：イネの非構造的炭水化合物含有率と暗中所けるその消長の品種間差異。日作中支録, **32**, 34-35 (1991)
- 17) 土屋幹夫・吉長健嗣・熊野誠一・平井儀彦：音刺激によるダイズおよびキュウリの葉面電位の変化。日作中支録, **36**, 19-25 (1995)
- 18) Veen, B. W.: Energy costs of ion transport. in Genetic engineering of osmoregulation. Impact on plant productivity for food chemical and energy (Rains, D. W. et al. eds.), pp.187-195, Plenum, New York (1980)