学会賞受賞研究要旨
植物生体計測に基づく水分生理に関する研究

野 並 浩

愛媛大学農学部環境植物生理学研究室

A Study of Measurement Techniques in Plant-Water Relationships

Hiroshi NONAMI

*Plant Biophysics/Biochemistry Research Laboratory, Faculty of Agriculture, Ehime University,
Matsuyama 790-8566, Japan*

はじめに

2001年度の日本生物環境調節学会賞を受賞し、誠に名誉なことであり、これまでに行ってきた研究と学会活動が高く評価されたことに対して心から感謝しております。受賞対象研究題目は、「植物生体計測に基づく水分生理に関する研究」であり、植物の組織・器官・細胞レベルの水分計測の重要性に注目し、細胞伸長に伴った水ポテンシャル場について水ストレス応答と関連付けて植物の水環境変動への適応についてこれまでに研究してきた成果が、評価されたものであると理解しております。

研究の概要

生長している植物細胞は約90%以上が水で占められており、細胞伸長は水の流入なしには起こらないことは自明のことであるが、水分生理学的な見地から細胞の伸長機構を解明する研究は近年まで発展していなかった。水分状態計測法が複雑で計測できないことから限界があったが現在はできるようになってきており、水分ストレスに対する応答に関連した組織・器官・細胞レベルでの水分状態と生長制御について、学会賞の受賞に関連した研究について解説する。

1. 植物組織と細胞水分計測の差異はどこにあるか？

植物の組織・器官およびそれを構成する細胞の水分

状態計測における差異についての理解を向上させるために、細胞水分計測におけるプレッシャープローブ法と植物組織での水分状態計測のサイクロメーター法が用いられるが両者を比較することにより細胞水分計測における計測の精度を格段に向上させることができる (Nonami, 1994)。

ムラサキツユクサ (*Tradescantia virginiana* L.) 植物体を暗黒、飽和水蒸気圧状態の環境条件下に数時間放置した後の成熟葉の細胞の水ポテンシャル、浸透ポテンシャル、膨圧を計測した (Nonami and Schulze, 1989)。

蒸散が起こらない状態で、生長していない成熟葉では表皮細胞と葉肉細胞は水ポテンシャルの平衡状態となっている (Nonami and Schulze, 1989)。表皮細胞と葉肉細胞の占める割合に基づいた体積平均値の水ポテンシャルは、サイクロメーターの水ポテンシャル計測値と一致する (Nonami and Schulze, 1989)。このような状態であっても、細胞膨圧の計測では表皮細胞と葉肉細胞の計測値は異なっており、葉肉細胞の方が膨圧が高い (Nonami and Schulze, 1989)。しかし、体積平均すると細胞膨圧の計測値は組織レベルで計測したサイクロメーターの計測値と一致する (Nonami and Schulze, 1989)。プレッシャープローブを用いて採集した細胞溶液を用いオズモメーターで計測した細胞浸透ポテンシャルは、葉肉細胞が低く、表皮細胞が高いが、体積平均すると組織レベルで計測したサイクロメーターの計測値と一致することを明らかにした

(Nonami and Schulze, 1989).

2. 生長が起こっているときの水分状態

プレッシャープローブとオズモメーターを併用して計測した細胞の水ポテンシャルに関しては、蒸散がない飽和水蒸気圧条件下の成熟組織では細胞間での差はほとんどなく、 $-0.07 \sim -0.01$ MPa となっており、サイクロメーターで計測した水ポテンシャルの -0.04 MPa と平衡に達していると言って良い (Nonami and Boyer, 1993)。このことは、蒸散がない条件下で計測したムラサキツユクサの計測と類似している。従って、蒸散が起こっていない成熟組織におけるサイクロメーターで計測した水ポテンシャルは導管の水ポテンシャルと平衡に達しており、導管の水ポテンシャルを計測していると言っても間違いない。

導管の水ポテンシャルは前述したように成熟部位の組織の水ポテンシャルと一致し、サイクロメーターで計測される。また、Nonami and Boyer (1987) が用いた手法のように非破壊の植物体でプレッシャーチャンバーを用い生長部位のアポプラスト溶液を直接抽出することにより、導管溶液としてのアポプラスト溶液の浸透ポテンシャルを計測することができる。計測したアポプラスト溶液の浸透ポテンシャルは -0.041 MPa である (Nonami and Boyer, 1987)。このことから、プレッシャープローブで求めたデータと、プレッシャーチャンバーを用いてアポプラスト溶液を直接抽出して計測して求めたデータは一致し、正確な導管の水ポテンシャルを求めていると結論づけることができる。

活発に伸長しているダイズモヤシの茎の細胞の水ポテンシャルは表皮に近いほど低い値となっており、 -0.28 MPa となっている。木部での小さい細胞の水ポテンシャルは -0.17 MPa となっていて、導管の水ポテンシャルは -0.04 MPa であるため、導管からすぐ周りの細胞には急なポテンシャル勾配があることが明らかとなった。

3. 水ストレスに伴った生長阻害

水ストレスに対して生長はとても敏感に反応し、生長阻害が即座に起こる。水ストレス区として飽和含水量のパーミキュライト (1×) から含水量が 1/8 のパーミキュライト (1/8×) に移植した。移植処理後、数分の内に生長率の低下が起こり、2 時間後にはほとんど生長が阻害された (Nonami and Boyer, 1989; Nonami et al., 1997)。水ストレスで生長が完全に阻害されたに

もかわらず、生長部位の組織としての水ポテンシャルは移植処理後 4 時間はほとんど変化しないことが分かった。一方、伸長部位組織の浸透ポテンシャルは水ストレス処理区 (1/8×) で徐々に低下が始まっており、その結果として膨圧が水ストレス処理区で少し高くなっている。

水ストレス下で生長阻害が起こったときに明らかに生長率の低下と同様に低下するのは導管の水ポテンシャルであり、他の水分状態の要因は生長部位ではほとんど変化しない。導管の水ポテンシャルは水ストレス処理後、2 時間でパーミキュライトの水ポテンシャルに近づき数時間そのままの状態であり、その数時間の間に代謝の変化が徐々に起こってきている。この間に、環境変化としての物理的変化が代謝としての化学的变化に変わり、植物の順化適応反応が起こっていると考えることができる。

導管の水ポテンシャルの低下のみで生長の阻害が起こっているとしたら、導管の水ポテンシャルを回復させるような処理を行えば生長が回復できるはずである。そこで、移植処理で生長が阻害されている状態のダイズモヤシの根圏に圧力をプレッシャーチャンバーを用いてかけることにより、導管の水ポテンシャルを人為的に回復させる処理を行った (Nonami et al., 1997)。根圏にプレッシャーチャンバーでかける圧力は、1/8×パーミキュライトの水ポテンシャルと絶対値が同じ 0.28 MPa の圧力を選んだ。

含水量が低い 1/8×のパーミキュライトへ移植処理後 5 時間経ち生長が阻害されている植物体は、根圏を加圧すると即座に生長率が 4 倍にあがった。根圏への加圧を除くと即座に生長阻害が起こる。根圏加圧処理によつての生長の回復には遅れ時間がなく、また、圧力除去後の生長阻害にも遅れ時間が見られないことから、この処理による生長の回復および阻害は物理的に操作されて起こっており、遺伝子発現等による代謝の変化が直接関与しているとは考えられない。従って、初期の生長阻害過程は物理的な要因によることが大きいと考えても差し支えないことが分かる。ここでの物理的な要因とは導管の水ポテンシャル低下である。

ここで重要なのは、組織全体の水ポテンシャルを非破壊で計測しており、また、浸透ポテンシャルも計測していることである。組織レベルで見た細胞膨圧の平均値は少し高めになっていることから、木部における細胞の膨圧低下はほとんど限定された細胞における現象であることが分かった。木部の細胞は組織全体の

20%を占めているに過ぎず、組織全体でのサイクロメーターを使った細胞の平均膨圧計測では限定された細胞での膨圧低下が検知されていないことが分かる。皮層部の細胞では膨圧変化がないことから、サイクロメーターで計測された膨圧の維持も矛盾なく説明できる。

4. 水ストレス下での生長阻害に伴う細胞壁伸展率および水コンダクタンスの変化

生長しているダイズモヤシの水分状態を非破壊状態で計測することが可能なギロチンサイクロメーターを使用し、水ストレス下での生長阻害に伴う細胞壁伸展率および水コンダクタンスの変化を計測した (Nonami and Boyer, 1990a)。また、水分状態計測中における植物体の生長率および生長に伴った水ポテンシャル勾配、有効膨圧を計測した。水ストレスによって誘導される生長阻害は、生長に伴った水ポテンシャル勾配の変化により、生長阻害が誘導されることを明らかにした。さらに、生長阻害が起こった後、生長部位における細胞壁伸展率の低下が始まり、数時間後に水コンダクタンスの低下が見られることから、物理化学的な変化としての水ポテンシャル勾配の変化が、化学反応を伴う生理代謝変化へと移行し、細胞壁の組成の変化および細胞膜の組成の変化が誘導されることが明らかとなった。

エクステンシオメーターを用いて、細胞壁伸展率の計測をダイズモヤシの生長部位で行うことで、ギロチンサイクロメーターの計測値と比較したところ、まったく同様の計測値が得られたことから、ギロチンサイクロメーターで得られた計測値が正確に求められていることが確認された (Nonami and Boyer, 1990b)。さらに、プレッシャープローブを用いての細胞膜の水透過率の計測から、水コンダクタンスの計測値の変化の傾向が正しいことが確認された (Nonami and Boyer, 1990b)。

組織培養植物においても、生長に伴った水ポテンシャル勾配が生長を制限する要因となることが明らかとなった (Ikeda et al., 1996)。

5. 水ストレス下の気孔開閉機構の解明

ムラサキツユクサを用いて細胞の水ポテンシャル計測、膨圧計測、浸透ポテンシャル計測の開発を行った後、気孔が空気湿度の低下に伴って閉鎖する現象について水分生理学的に解明を行った (Nonami et al.,

1991)。まず、気孔を取り巻くクチクラ層を電子顕微鏡を使って計測した結果、表皮細胞を覆うクチクラ層は孔辺細胞から気孔の内部へ伸展し、副細胞を覆って、さらに、表皮細胞と葉肉細胞が接する位置まで伸びていることが明らかとなった (Nonami et al., 1991)。副細胞、表皮細胞、葉肉細胞の水ポテンシャルを計測した結果、水は気孔の奥の葉肉細胞から蒸発していることが明らかとなり、空気湿度を極端に低下させると導管からの水は主に葉肉細胞を通して蒸発し、副細胞を通じて孔辺細胞へ水が供給されなくなり、孔辺細胞の膨圧が副細胞の膨圧よりも低下するために、気孔が閉まることが明らかとなった (Nonami et al., 1991)。この気孔閉口の条件は、導管の水ポテンシャルに大きく影響され、水が十分あった場合は、空気湿度が極端に低下したとしても気孔の閉口は起こらず、少し導管の水ポテンシャルが低下すると、空気湿度の極端な低下が気孔の閉口を誘導することが明らかとなった。

おわりに

以上の業績は、著者が計測法を開発し、その方法を発展させて研究した成果である。本学会は、環境変化に関連した生体計測に関して研究する会員も多く、これまでに著者が発展させてきた水分計測法が学会の更なる発展につながることを祈っている。また、本受賞に関連した研究成果をまとめ、『植物水分生理学』（養賢堂, pp. 263, 2001 年）を出版し、基礎から解説を行うことで学会員を含めて幅広い読者層に、いかに植物の水分生理が農作物の生長に関連し、生産量および糖集積に関連した果実の高品質化に貢献するかを詳しく解説している。また、同時に水分生理に関する計測法と原理について述べ、計測機器の構造を詳しく説明し、必要に応じて、読者が設計図を参考にしながら自作できるように配慮しており、計測法の普及に努めている。

最後に、著者の研究を支援してくださった方々に対して心からお礼を申し上げる。また、学会活動においても基礎研究を行いながら、実用性のある農業生産・物質生産に関連した環境制御の分野で活躍される若い研究者への今後への期待を膨らませて、学会の更なる発展を祈っており、今後とも新しい計測法として質量分析等の分子生物学における最新の計測に関連した基礎研究を続けながら学会活動において貢献を続けたいと思う次第である。

受賞対象業績論文

- Ikeda, T., Nonami, H., Hashimoto, Y. 1996. Growth-induced water potential regulates growth of tissue-cultured plantlets under environmental. (Japanese text) *Environ. Control in Biol.* **34** : 141-146.
- Nonami, H. 1994. Measurement techniques and environmental control in plant. (Japanese text) *Environ. Control in Biol.* **32** : 203-217.
- Nonami, H., Boyer, J. S. 1987. Origin of growth-induced water potential : Solute concentration is low in apoplast of enlarging tissues. *Plant Physiol.* **83** : 596-601
- Nonami, H., Boyer, J. S. 1989. Turgor and growth at low water potentials. *Plant Physiol.* **89** : 798-804.
- Nonami, H., Boyer, J. S. 1990a. Primary events regulating stem growth at low water potentials. *Plant Physiol.* **93** : 1601-1609.
- Nonami, H., Boyer, J. S. 1990b. Wall extensibility and cell hydraulic conductivity decrease in enlarging stem tissues at low water potentials. *Plant Physiol.* **93** : 1610-1619.
- Nonami, H., Boyer, J. S. 1993. Direct demonstration of a growth-induced water potential gradient. *Plant Physiol.* **102** : 13-19.
- Nonami, H., Boyer, J. S., Steudle, E. 1987. Pressure probe and isopiestic psychrometer measure similar turgor. *Plant Physiol.* **83** : 592-595
- Nonami, H., Schulze, E.-D. 1989. Cell water potential, osmotic potential, and turgor in the epidermis and mesophyll of transpiring leaves : Combined measurements with the cell pressure probe and nanoliter osmometer. *Planta* **177** : 35-46.
- Nonami, H., Schulze, E.-D., Ziegler, H. 1991. Mechanisms of stomatal movement in response to air humidity, irradiance and xylem water potential. *Planta* **183** : 57-64.
- Nonami, H., Wu, Y., Boyer, J. S. 1997. Decreased growth-induced water potential : A primary cause of growth inhibition at low water potentials. *Plant Physiol.* **114** : 501-509.