

令和 4 年 6 月 4 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15942

研究課題名（和文）トマト苗群落の熱収支および水収支を利用した簡便な乾燥耐性指標定量手法の開発

研究課題名（英文）Determining the traits of drought tolerance in tomato seedlings using energy and water balance

研究代表者

藤内 直道（Fujiuchi, Naomichi）

愛媛大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：90791210

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：苗群落の熱収支および水収支の非定常な環境応答から生理学的形質を算出することを試みたが、熱収支が閉じないという問題が生じた。解決には群落内熱移動抑制と群落拡大が必要であるが、これらの操作は恣意的かつ複雑である。そこで、個葉の複数パラメータの簡便な定量方法の開発と、それらを含む個葉蒸散モデルを作成することに取り組んだ。個葉を入れたプレッシャーチャンバー内圧を急激に高めたときの流出速度の経時変化から個葉の通水コンダクタンスと弾性率比例定数を同時に定量することができる回帰式を開発した。また、蒸散増加による膨圧低下と気孔コンダクタンス低下を表現可能なネガティブフィードバックモデルを作成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の膨圧維持能力や気孔調節能力などの水保持・蒸散に関連する形質は、乾燥耐性向上のための育種のターゲットとなり得るのみならず、水ストレス付与による農産物高品質化においても付与すべきストレス強度を見積もる上で重要である。本研究では、ネガティブフィードバックループを備える個葉蒸散モデルを開発し、そこで定義されたパラメータのうち個葉の通水コンダクタンスと弾性率比例定数を同時に定量することができる回帰式と実験方法を開発した。個葉ごとにこれらの値を定量することで、変異体形質評価や植物体蒸散モデルの高精度化が可能となる。

研究成果の概要（英文）：I have tried to calculate the traits of drought tolerance by solving the equations of energy balance and water balance under unsteady state. However, we observed an energy balance error that was difficult to solve within the scope of this research. Therefore, we took a different approach: quantifying the traits of individual leaf and modeling the individual-leaf and whole-plant transpiration. We developed an equation of the time course of water efflux rate from the petiole of the leaf which lamina was pressurized quickly in a pressure chamber. The equation contained the hydraulic conductivity and the proportional constant for bulk modulus. These parameters can be calculated at the same time by applying the equation to the measured water efflux rate. Moreover, we developed a model with the parameters and a negative feedback loop of transpiration rate. These technique and model will contribute to the control of water and nutrient supply.

研究分野：農業環境・情報工学

キーワード：細胞壁弾性率 蒸散モデル 通水コンダクタンス プレッシャーチャンバー 水ポテンシャル

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乾燥耐性の高いトマト品種はトマト栽培で有利である。露地での加工用トマト栽培は一般に夏季に期間に行われて果実は一斉に収穫されるため、花芽分化から収穫にかけての期間に日照があれば、たとえそれが数日間であっても土壌を急激に乾燥させてトマトの果実生産に大きな負の影響を及ぼす。温室での生食用トマト養液栽培においても、何らかのトラブルによって培地に局所的な乾燥が発生して一時的に植物体に乾燥ストレスがかかれば、生長点や花芽の壊死などが生じてその後の成育に大きな負の影響を及ぼす。このため、古くから乾燥耐性の高いトマト系統が選抜され、それらは育種素材として高乾燥耐性品種の開発に利用される、あるいは乾燥耐性マーカー遺伝子の同定などの研究に利用されてきた。

これまでに乾燥耐性の指標として、破壊計測で葉の水ポテンシャルや細胞内浸透圧調節などが、非破壊計測で群落温度などが用いられてきた (Blum, 2011; Reynolds and Tuberosa, 2008)。しかし、遺伝情報に対する形質情報の圧倒的な不足がいまだに解消されていない現在、これらの指標が乾燥耐性系統のフェノタイピングあるいはスクリーニングに有用であるかについては再考しなければならない。これは、1 つには前述のような破壊計測は時間と労力を要するので大量に行うことは不可能であるため、もう 1 つには群落温度のような単体の非破壊計測結果からは複数形質の結果である乾燥耐性を十分に説明できないためである。これまで破壊計測で調べられてきた生理学的形質を非破壊計測する手法の開発が必要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、乾燥耐性の指標を簡便に定量することが可能なシステムおよびプロトコルを開発することである。意図的な環境変化によって苗群落の熱移動・水移動の非定常状態を作出し、そのときの熱収支および水収支から植物体の複数の生理学的形質を非破壊に定量することを試みた。

他方、破壊計測であっても、簡便かつ短時間に複数の生理学的形質を同時に計測できる手法であれば、フェノタイピング手法として有用である。そこで本研究では、個葉内の水移動および水貯留に係る複数のパラメータを同時に定量することができる破壊計測手法を開発することも目的とした。また、そのようにして定量したパラメータを含む個葉蒸散非定常モデルを作成することとした。これらによって、変異体形質評価や植物体蒸散モデルの高精度化が可能となると考える。

3. 研究の方法

愛媛大学植物工場研究センター所有の風洞室内に、苗群落の熱移動・水移動を計測するシステムを作製した。風洞室 (1.8 m (縦)×1.8 m (横)×2.0 m (高さ)) では、送風機 (ABH1250-21-371(4)C, タニヤマ製) を用いて一方向に風を発生させ、暖房機 (200 VAC, 3 φ, 9 kW)、冷凍機 (200 VAC, 1.1 kW)、および加湿機 (200 VAC, 3 φ, 9 kW) を用いて温湿度制御を行った。また、LED アレイ (2000 W) 6 台を風洞室内に設置して下向きに光を照射した。栽植密度 222 m⁻² で栽培したキュウリ苗を風洞室内に置き、各種熱物質移動量を計測した。群落の長波・短波放射フラックス密度の収支を、全天日射計 (MS-40C, 英弘精機製) および赤外放射計 (MS-20, 英弘精機製) を用いて計測した。群落上約 10 cm の面における顕熱フラックス密度を 3 成分超音波風速計 (CYG-81000, YOUNG 製) を用いて計測した。3 成分超音波風速計の計測部分に近接した高度が異なる 2 点 (2 点間距離: 10 cm) で、熱電対 (KMT-100-100-200, アンペエスエムティ製; 線径 0.1 mm) および携帯型光合成蒸散測定装置 (LI-6400XT, LI-COR 製) を用いて、気温差、H₂O 濃度差、および CO₂ 濃度差を計測した。渋谷ら (1997) は、電子天秤 (ロードセル) を用いて苗群落重量を連続計測することで蒸散速度を計算し、蒸散速度を群落上 2 点間 H₂O 濃度勾配で除することで群落上の乱流拡散計数を計算した。本研究では、ロードセルの経時的なドリフトによる測定誤差を懸念し、顕熱フラックス密度を群落上 2 点間気温勾配および空気密度・比熱で除することで群落上の乱流拡散係数を計算した。また、乱流拡散係数と群落上 2 点間 H₂O 濃度勾配・CO₂ 濃度勾配を用いて、群落上の潜熱フラックス密度、H₂O 交換速度、および CO₂ 交換速度を算出した。

閉じた熱収支が観測され、各種計測値が妥当であると判定された場合には、苗群落に与える培養液の濃度を急に高める操作によって、複数の生理学的形質を定量できると考えた。具体的には、培地の水ポテンシャルが急に低下したときに変化する群落貯留熱と群落温度から植物体内水残存量の経時変化を計算し、その経時変化の初期勾配から植物体の通水コンダクタンスを計算し、それと蒸散速度の経時変化から葉の水ポテンシャルの経時変化を計算する。植物体内水残存量と葉の水ポテンシャルの関係から膨圧維持能力および浸透圧調節能力を、葉の水ポテンシャルと水蒸気拡散抵抗の関係から気孔調節能力と気孔密度を計算できると考えた。

他方、プレッシャーチャンバーを用いて個葉内の水移動および水貯留に係る通水コンダクタンスと細胞壁弾性率比例定数を同時に定量する回帰式を開発した。これまでに Franks (2006) によって、プレッシャーチャンバー圧力を急激に高めたときの初期出液速度から個葉の通水コ

ンダクタンスを計算する方法が提案されていた。本研究の手法は Franks (2006) と同じであるが、独自に開発した回帰式を用いて出液速度の経時変化を回帰する。個葉内の水移動の簡易的なモデルでは、茎細胞の水ポテンシャル (ψ_{stem}) と葉細胞の水ポテンシャル (ψ_{leaf}) の差に通水コンダクタンス (k) を乗じたものを植物体内の通水速度 (F) とする。蒸散速度 (E) から F を減じた水分損失速度 (I) の積分値 (積分要素: $1/s$) を個葉水分量初期値 (m_0) から減じて個葉内の自由水の量 (m) とする。水蒸気コンダクタンス (g) を m の関数として、飽差 (D) に g を乗じたものを E とする。また、 ψ_{leaf} は m と細胞壁の弾性率 (ε) の関数としている。個葉内の自由水の最大量を m_{max} 、細胞の膨圧を ψ_p とし、 $m = m_{\text{max}}$ のときに $\psi_p = \psi_{p,0}$ であるとすると、 ψ_p 、 m 、および ε の間には以下の関係がある (Hellkvist et al., 1974)。

$$\varepsilon = \alpha \psi_p$$

$$\psi_p = \psi_{p,0} \cdot e^{-\alpha \left(1 - \frac{m}{m_{\text{max}}}\right)} \quad (1)$$

ここで α を細胞壁弾性率比例定数と呼ぶ。(1) 式を m について整理し、 $\ln \psi_p = y$ と置いて両辺を時間微分すると、以下の式となる。

$$\frac{dm}{dt} = \frac{m_{\text{max}}}{\alpha} \frac{dy}{dt} \quad (2)$$

ここで、 $dm/dt = -I = -(E - F)$ である。遮光袋に入れた切離個葉をプレッシャーチャンバーに供して出液速度を調べる実験を想定すると、 $E = 0$ かつ $\psi_{\text{stem}} = 0$ であるから、細胞の浸透ポテンシャルを ψ_s 、プレッシャーチャンバーのゲージ圧を P とすると、 $dm/dt = F = -k(\psi_{\text{leaf}} - \psi_{\text{stem}}) = -k\psi_{\text{leaf}} = -k(\psi_p + \psi_s + P)$ である。これを式 (2) に代入して整理すると以下の式を得る。

$$-F = \frac{-k^2(\psi_s + P)}{\left(\frac{-k^2(\psi_s + P)}{J_0 - k(\psi_s + P)} - k\right) \cdot e^{\frac{\alpha k(\psi_s + P)}{m_{\text{max}}} t} + k} + k(\psi_s + P) \quad (3)$$

ここで、 $-F$ は、切離個葉をプレッシャーチャンバーに供してゲージ圧を急激に高めたときの出液速度 (J) であるとみなせる。また、 J_0 は初期出液速度である。播種後 31~33 日目に本葉が 8 枚程度展開した矮性トマト品種マイクロトムの個葉を実験数時間前に遮光袋に入れておき、プレッシャーチャンバー (Model 600, PMS Instrument Co.) に供する直前に葉柄基部で個葉を切離した。CO₂ 濃度が 0 である高圧空気を用いて P を 0.3 MPa から 0.8 MPa に急激に高めたときの出液速度の経時変化を計測する。出液速度の経時変化を (3) 式で非線形回帰し、個葉の通水コンダクタンス k と細胞壁弾性率比例定数 α を求める。

4. 研究成果

苗群落の熱移動・水移動を計測するシステムを用いて結果について述べる。定常状態における植物群落の熱収支・水収支を構成する各要素をモニタリングすることが可能であることが確認された。しかし、潜熱フラックス密度および顕熱フラックス密度の値が純放射フラックス密度と比較して小さく、熱収支が閉じないという問題が生じた。水平方向への熱移動を制限する処理をしていなかったことにより、水平方向へ熱が移動していた可能性がある。また、乱流拡散係数の値が予想していたよりも小さかったことから、栽植密度が低かったことにより乱流が起きにくい条件であったと推察する。熱収支が閉じないという問題を解決するためには、群落内・群落上の水平方向への熱移動を制限すること、および群落上の乱流が十分に発達した位置で計測することが必要であると考えた。しかし、前者は群落内環境が実際の栽培環境と大きく異なる結果をもたらし、後者は苗群落を含む実験空間の大幅な拡大を必要とするため、本研究でこれらの操作を行うことは当初の目的にそぐわないと判断した。

プレッシャーチャンバーを用いて通水コンダクタンスと細胞壁弾性率比例定数を同時に定量した結果について述べる。計測開始 120 秒後以降は原形質分離していると思われる。計測開始 10 秒後に計測した出液速度 (J) の値 $1.885 \times 10^{-4} \text{ g s}^{-1}$ を J_0 とし、さらに $\psi_s = -0.9 \text{ MPa}$ 、 $P = 0.8 \text{ MPa}$ 、 $m_{\text{max}} = 0.7 \text{ g}$ とし、計測開始 30、50、80 秒後の 3 点を式 (3) で回帰した。その結果、通水コンダクタンス $k = 0.0036 \text{ g s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ 、細胞壁弾性率比例定数 $\alpha = 16$ を得た。3 点に対する回帰の決定係数は 0.966 であった。この個葉の葉面積は 40.75 cm^2 であったことから、葉面積あたりの通水コンダクタンスは重量をモルに変換すると $49 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ である。これは Zsögön et al. (2015) によって計測されたマイクロトム小葉 1 枚の通水コンダクタンス $25.6 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ と近い値である。また、プレッシャーチャンバー内圧を徐々に高めたときの積算出液量と圧力の関係から求めたマイクロトム個葉の細胞壁弾性率比例定数は $\alpha = 29$ であり、上記の方法で求めたそれと近い値であった。

植物の膨圧維持能力や気孔調節能力などの水保持・蒸散に関連する形質は、乾燥耐性向上のための育種のターゲットとなり得るのみならず、水ストレス付与による農産物高品質化においても付与すべきストレス強度を見積もる上で重要である。本研究では、ネガティブフィードバックループを備える個葉蒸散モデルを開発し、そこで定義されたパラメータのうち個葉の通水コンダクタンスと弾性率比例定数を同時に定量することができる回帰式と実験方法を開発した。個葉ごとにこれらの値を定量することで、変異体形質評価や植物体蒸散モデルの高精度化が可能となる。

<引用文献>

- Blum, A., 2011. Plant Breeding for Water-Limited Environments. Springer.
<https://doi.org/doi.org/10.1007/978-1-4419-7491-4>
- Franks, P.J., 2006. Higher rates of leaf gas exchange are associated with higher leaf hydrodynamic pressure gradients. *Plant, Cell Environ.* 29, 584–592. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01434.x>
- Hellkvist, J., Richards, G.P., Jarvis, P.G., 1974. Vertical gradients of water potential and tissue water relations in Sitka spruce trees measured with the pressure chamber. *J. Appl. Ecol.* 11, 637–667. <https://doi.org/10.2307/2402215>
- Reynolds, M., Tuberosa, R., 2008. Translational research impacting on crop productivity in drought-prone environments. *Curr. Opin. Plant Biol.* 11, 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.02.005>
- Shibuya, T., Kitaya, Y., Kozai, T., 1997. 灌水後におけるセル成型苗個体群の純光合成速度，蒸発散速度，顕熱輸送速度および潜熱輸送速度の変動. *生物環境調節* 35, 227–234.
- Zsögön, A., Alves Negrini, A.C., Peres, L.E.P., Nguyen, H.T., Ball, M.C., 2015. A mutation that eliminates bundle sheath extensions reduces leaf hydraulic conductance, stomatal conductance and assimilation rates in tomato (*Solanum lycopersicum*). *New Phytol.* 205, 618–626. <https://doi.org/10.1111/nph.13084>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤内直道, 村井颯志郎, 高山弘太郎
2. 発表標題 植物体蒸散速度・コンダクタンスの環境応答フィードバックモデルに関する検討
3. 学会等名 農業情報学会2022年度年次大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------