

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05896

研究課題名(和文) 新手法：葉内の光合成産物の産生状況を電氣的に非破壊かつ連続測定する手法の開発

研究課題名(英文) Development of electrical and non-destructive measuring method of productivity of photosynthate in plant leaves

研究代表者

庄野 浩資 (Shono, Hiroshi)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：90235721

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では植物葉内の光合成産物の蓄積とインピーダンス特性との関係性を検討した。予備的に光合成産物の蓄積に伴って同特性が増大する傾向を観察したが、再実験では同特性に不安定な傾向が認められ、この傾向はやや不明確であった。この不安定性の原因究明のために様々な要因を検討した結果、測定位置の「含水率」の微妙な違いが大きくならつきをもたらす現象を確認し、さらに、安定した測定に適する場所を特定した。特に、含水率、言い換えれば乾物率と同特性との関係は重要であり、測定位置を適切に制御すれば光合成産物の蓄積(=乾物率の上昇)が同特性を通じて定量的に測定可能との予備実験の結果を確認する重要な知見と言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の物質生産には葉がどの程度の光合成産物を蓄積したかを経時的に知ることが重要である。光合成の物質生産能力の測定方法にはCO₂ガスやクロロフィル蛍光を用いた測定法があるが、前者では瞬間的な純光合成速度しか測れず光合成産物の蓄積量等の定量的情報は測定困難であり、後者では原理的に効率測定しかできないため定量的測定は困難である。このため現状では植物の物質生産量を定量的かつ経時的に測ることは極めて難しい。本研究はインピーダンスと光合成産物の蓄積状況との定量的関係を検討する初めての試みであり、既存の方法の限界を打破し得る新測定法構築の可能性がある。このため農業や研究分野における意義は非常に高い。

研究成果の概要(英文)：In this study, relationship between impedance characteristics in plant leaves and productivity of photosynthate were examined. In preliminary experiments, phenomena that the scale of the characteristics in leaves of *Brassica rapa* var. *perviridis* which were incubated under growth light during 12 hours became bigger than leaves incubated in darkness simultaneously. For more examinations, same experiments were carried out but volatility of the characteristics interfered the relationship in some cases. To make the cause of volatility clear, some factors which could cause the volatility were considered, and eventually the fact that the subtle deviation of water content in leaves should cause the big volatility of the impedance characteristics. This is the very important discovery for this study, because it means that we could measure quantitatively status of accumulation of photosynthate which should cause decrease of water content through increase of scale of impedance characteristics.

研究分野：農業環境工学

キーワード：植物葉のインピーダンス特性 光合成産物 含水率 乾物率

1. 研究開始当初の背景

本研究は光合成産物の産生状況を非破壊かつ連続測定する技術の開発を目的とする。既にCO₂ガスの吸収速度やクロロフィル蛍光の挙動から植物葉の光合成速度や光合成活性を測る方法が実用化されているが、得られる情報は光合成能力の瞬間値にすぎず、実際の光合成産物の産生・蓄積量を測ることはできない問題がある。本研究は、光合成産物の産生状況が植物葉のインピーダンス特性に敏感に影響する可能性を示す予備研究の結果に基づき、その確認を図るとともに、最終的には入手容易な安価な装置で植物葉の長期的な光合成能力を非破壊的かつ経時的に測定する方法を確立することを目指す。

本研究が発見したインピーダンス特性が植物葉の光合成や呼吸の状況（光合成産物の産生と消費等）を端的に反応する可能性を図1に示す。本図に明らかな様に、光合成処理後に葉内に蓄積あるいは消費された何らかの電気不導体の影響がインピーダンス特性全体の拡大縮小（Cole-Cole plotの形状変化）として明確に把握可能なことが期待できる。

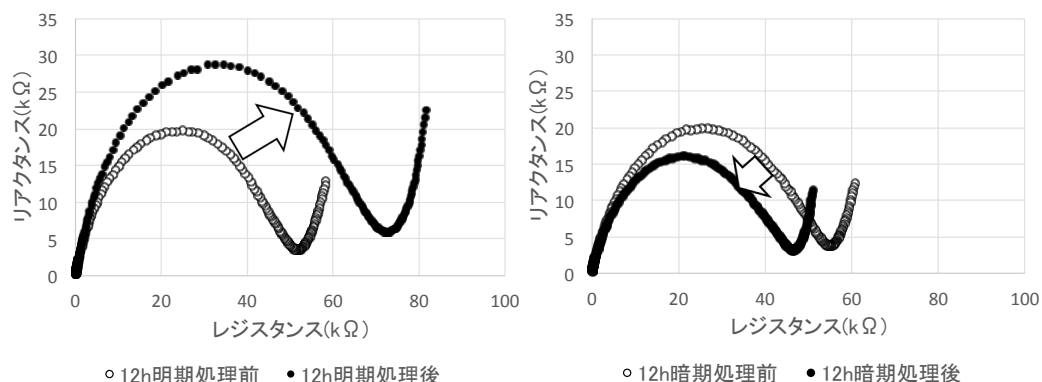


図1 光合成産物の産生（左）と消費（右）によるインピーダンス特性の変化

2. 研究の目的

本研究の最終的な目的は、光合成の暗反応系由来のショ糖やデンプン等の高インピーダンス物質の増減を、インピーダンス特性の変化を通じて把握するこれまでに例のない新しい光合成産物の産生状況の非破壊測定方法の開発である。

3. 研究の方法

(1) 供試材料

供試材料として、市販の岩手県産のコマツナ（但し、研究では一部ハウレンソウも用いたが結果が類似するため本報告書では省略）を用いた。

(2) 実験機材（インピーダンス特性）

インピーダンス特性の測定には LCR テスタ IM3536 (HIOKI, Japan) を使用した。本機の測定周波数は、最低周波数が 4Hz、最高周波数が 8MHz である。測定電極には、直径 1mm のステンレス線の電極を 4 本用い、外側の 2 電極間に 1V の電圧をかけて電流を流しつつ、内側の 2 電極の電位差を基にインピーダンス特性を測定する 4 電極法を採用した。本電極法には、電極と材料間の分極の影響を最小限とする効果が期待でき、より正確なインピーダンス特性の測定が期待できる。尚、各電極間隔は 5mm 等間隔とした。

4. 研究成果

(1) 光合成産物の蓄積状況の実験・評価結果（長時間明期処理）

予備実験の確認のために、日長時間を 0, 3, 6, 12 時間の 4 段階（0 時間は暗期処理）に変え、コマツナ葉片に約 600 μmol photons m⁻²s⁻¹ 下で明期処理をした。さらに処理後、葉片の乾物率とインピーダンス特性の大きさ（図1参照）の関係を検討した。複数反復実験を重ねた結果、反復の中には予備実験と同様に正の相関を示す結果も多数あったが、負の相関を示す結果や全く無相関の結果もあり、全体的に見ると両者の相関性は不明確であった。データの精査から、インピーダンス特性には原因不明の大きなばらつきがあり、これが光合成の効果を不明確とする原因と考えられた。このため、ばらつきが生じる原因究明を最重要課題とし、様々な角度から検討した。

(2) サンプル葉の成熟度および電極位置の違いがインピーダンス特性に与える影響の検討

まず最初にインピーダンス特性の変化を端的に評価するために Cole-Cole プロットの代表的な形状の特徴を以下の様に数値化した。すなわち、Cole-Cole プロット上の低周波領域で現れる直線部分の長さを L1 (Ω)、原点から円弧の頂点までの距離を L2 (Ω) とした（図2）。尚、以下の解析結果は全て TukeyHSD 法（有意水準 5%）による平均値の多群有意差検定の結果であり、またグラフに表示されたエラーバーは標準誤差である。

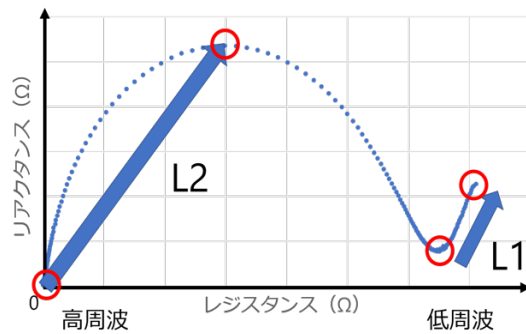


図2 cole-cole plot の形状的特徴の数値化

【実験1】主題：葉の基部から先端部でインピーダンス特性にばらつきはあるか？

実験の結果、全サンプルにおいてインピーダンス特性 (L1, L2) には、先端から基部で有意な違いは見られなかった。但し、L1 では4番目 (葉の中央) 付近でやや大きくなる傾向は認められたが有意なほどではなかった。またL2に関しては位置に関係なくほぼフラットであった。このため、測定する場合、敢えて先端から基部まで測定位置を任意に変更する必要は無いが、少なくとも葉脈との距離を一定にとれば (この点は後述)、先端から基部にかけて測定位置が多少異なってもインピーダンス特性はばらつかず、ほとんど影響が無いことが分かった。

【実験2】主題：葉の成熟度はインピーダンス特性をばらつかせるか？またその要因は？

実験の結果、葉の成熟に伴いL1, L2ともに減少する傾向が認められた。また、成熟度が4以降 (中程度以上) では有意差もなく安定する傾向であった。L1の結果を図3 (左) に示す。

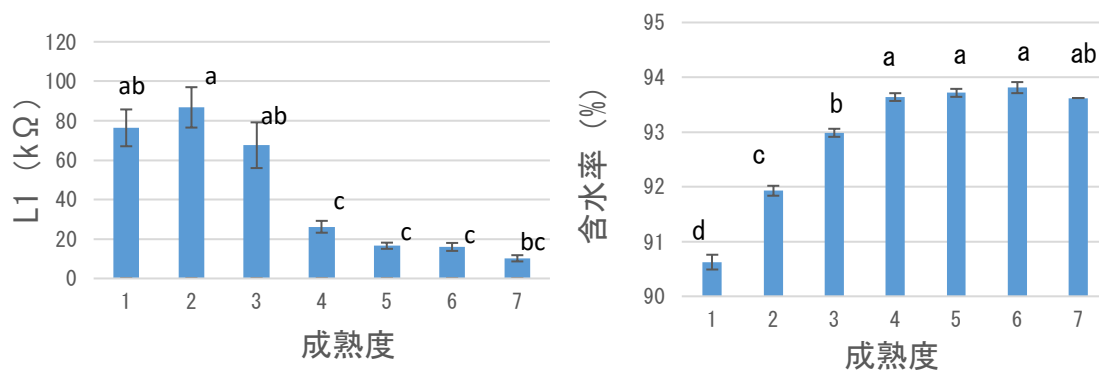


図3 成熟度とL1 (左) および含水率 (右) との関係 (コマツナ)

今回の結果から、成熟度が4以降 (中程度以上) の葉を使用する限り、多少成熟度が異なってもインピーダンス特性はばらつかず、ほとんど影響が無いことが分かった。

考察：成熟度の背後にある直接的影響要因はなにか？

葉の含水率と成熟度の関係 (図3 (右)) を見ると、インピーダンス特性 (L1, L2) の傾向 (図3 (左)) と増減の方向は逆であるが極めて類似している。すなわち、葉の含水率がインピーダンス特性 (L1, L2) の傾向と同期しており、葉の含水率が同特性に直接的に影響を及ぼす要因である可能性が強く示唆される。以上から、成熟度の背後でインピーダンス特性 (L1, L2) に影響を与えている要因は葉の含水率の可能性が非常に高いと考えられる。

【実験3】主題：葉脈と電極の位置関係 (距離) はインピーダンス特性をばらつかせるか？

葉面上、並走する葉脈を2本選び、その葉脈間の複数位置に電極を設置してインピーダンス特性を測定した。測定位置に1 (最初の葉脈上)、2~4 (ほぼ等間隔で葉脈間)、5 (次の葉脈上) と番号を付けた (葉の中心の主脈上は11)。結果を図4に示す。葉脈 (および主脈) の真上でL1, L2ともに極端に小さく、測定位置が葉脈から離れるにつれて有意に増大することが分かる。このことは、葉脈との距離の微妙な違いがインピーダンス特性に大きな影響を及ぼすことを明瞭に示している。すなわち葉脈と電極の距離差に伴うばらつきはここで問題とするインピーダンス特性のばらつきの原因として十分説得力があると考えられる。特筆すべきことは、距離の差は極めてわずかであるにもかかわらず、図4に示す様に、インピーダンス特性 (L1, L2) はあたかも増幅されたかの様に大きく変動し、有意差も観察された点である。葉脈とのわずかな距離差が

インピーダンス特性に大きく影響する直接的要因はなにか。しかもこの場合、単なるランダムなばらつきではなく増減傾向が明らかに測定位置に依存していることは、何らかの意味ある生体情報の分布が背後に存在し、同特性がそれに反応している可能性が高い。

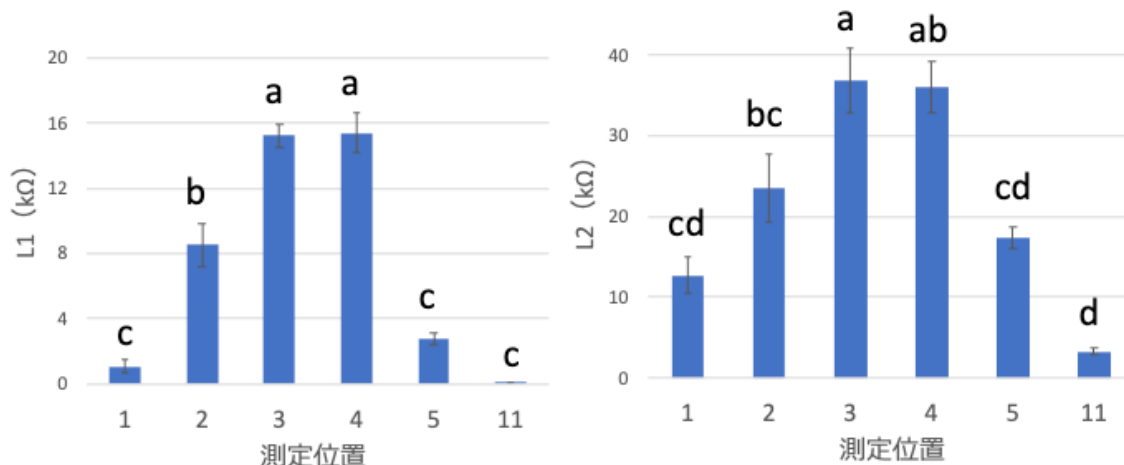


図4 葉脈間の測定位置の違いとインピーダンス特性（左：L1, 右：L2）の関係（コマツナ）

仮説：部分的な含水率の違い

実験2では、葉の含水率が大きいとインピーダンス特性 (L1, L2) が小さく、逆に小さいと同特性が大きくなる可能性を示した。もしこの関係が葉脈間の微小領域においても原則的に成り立つならば、葉脈上および葉脈近傍に比べ、葉肉中央付近の含水率が小さいためにインピーダンス特性が増大したと理解できる。実際、水の供給源である葉脈から離れた葉肉中央付近は、水の確保上不利なために含水率が比較的小さいとしても不自然ではない。含水率が最も大きいと予想される主脈上や葉脈上のインピーダンス特性 (L1, L2) が極小であるのも本仮説を裏付ける。

【実験4】主題：葉面のどこを測定すれば、より安定したインピーダンス特性が得られるか？

葉面上のインピーダンス特性は大きくばらつくが、どこを測定すればインピーダンス特性のばらつきを最低限に抑えられるのかを検討した。実験3で判明した葉脈の影響に注目し、葉の中心の主脈付近（内）、葉端と主脈との中間付近（中）、さらに葉端付近（外）の合計3部位におけるインピーダンス特性 (L1, L2) のばらつきを確認した。3つの測定部位において実験3と同様に葉脈との位置関係を変えながら L1 と L2 を測定した結果（全測定位置の平均値）を図5に示す。

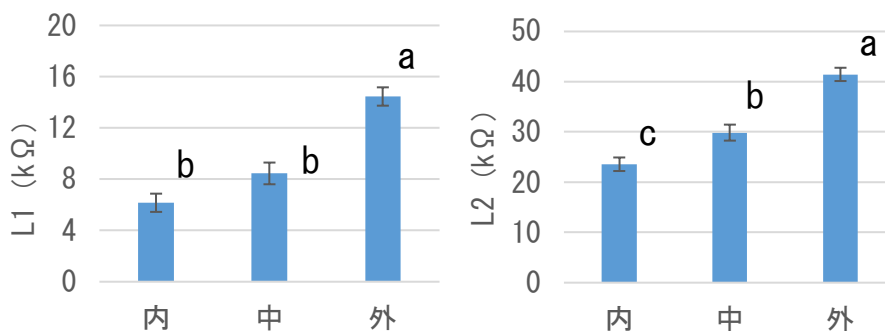


図5 測定部位毎のインピーダンス特性（左：L1, 右：L2）（コマツナ）

L1 および L2 とも、葉脈が目立たない葉端に向かうに連れて有意に増大する傾向が認められる。実験3の仮説では葉端ほど含水率が低いことがその原因となるが、葉端に向かうほど水の供給源である葉脈が目立たなくなることを考えるとこれは不自然ではない。さらに、内、中、外の各部位におけるインピーダンス特性のばらつきも葉端に向かうに連れて小さくなる状況が確認できた。測定例を図6から図8にかけて示す。これらの例でも明らかな様に、葉脈がほとんど目立たない葉端（図8）が葉脈の影響が最も小さくインピーダンス特性のばらつきが小さいことがわかる。以上の結果から、インピーダンス特性を安定的に測定するためには、これまで本研究で実施してきた葉の中央の葉脈間ではなく、葉脈が目立たない葉端の葉肉部分を測定すべきであることがわかった。ここまでの検討で、今回の研究で大きな問題となったインピーダンス特性のばらつきの発生原因とそれを解消する方法を明らかにできたことは大きな進展と考えられる。

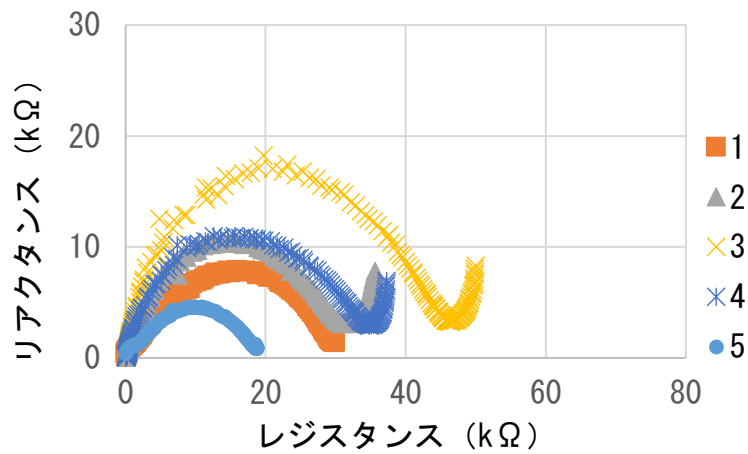


図6 測定部位（内）におけるインピーダンス特性の測定例（コマツナ）

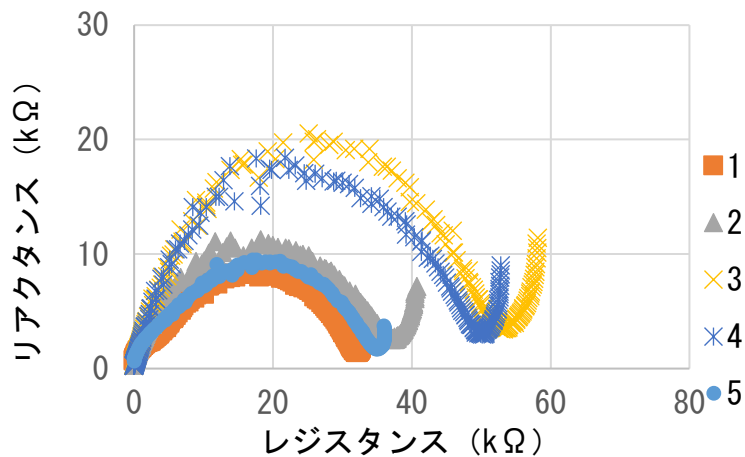


図7 測定部位（中）におけるインピーダンス特性の測定例（コマツナ）

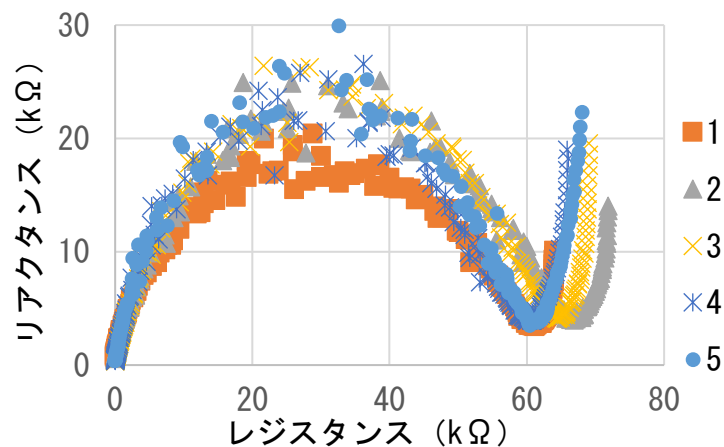


図8 測定部位（外）におけるインピーダンス特性の測定例（コマツナ）

(3) 結論

今回得られた含水率とインピーダンス特性の密接かつデリケートな関係は、極めて重要な発見である。なぜならば、これはインピーダンス特性 (L1, L2) を通じて葉の微小部位の含水率が精密に測定可能であることを意味し、それは同時に「乾物率」(=100(%)−含水率)が精密に測定可能なことを意味するからである。すなわち、光合成産物の蓄積状況を乾物率を通じて定量測定する手法の開発に限りなく接近し、本研究の目的はほぼ達成されたことになると考えられる。

最後に、本研究を進めるにあたって積極的かつ献身的に手伝っていただいた岩手大学農学部農学生命課程生物環境科学分野および同大学同学部食料生産環境学科植物環境制御学研究室の卒業生の諸氏に心より感謝の意を表したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------