

水分欠乏が葉の水ポテンシャルと蛋白質含量に及ぼす影響

堀口 毅

(肥料学研究室)

昭和60年8月10日 受理

Effect of Water Deficiency on Water Potentials and Protein Contents of Leaves

Tsuyoshi HORIGUCHI

(Laboratory of Fertilizer)

諸 言

水は植物の生長にとって重要な限定要因であり、農業生産の基盤となっている。細胞の盛んな代謝は十分な含水量と切り離せない関係にあって、植物に水分欠乏(水ストレス)が生じると細胞の生長や代謝にさまざまな変化が生じる。水ストレスが植物の蛋白質含有率に及ぼす影響については、含有率が低下する、増加する、変わらない、など報告がまちまちである¹⁾。乾物重を基礎としたタンパク質含有率という表現は、蛋白質量と乾物重との相対比によって決まるので、この場合水ストレスが乾物重に及ぼす影響によって蛋白質含有率は大きく変化する。土耕栽培の植物に対する水の供給の程度によって水ストレスを定量的に付加するのは困難な点が多く、これまで植物に水ストレスを定量的に付加して水分欠乏が葉の水ポテンシャルや蛋白質含有量に及ぼす影響を研究した例は多くない。そこで培養液にマンニトールを添加した水耕栽培によって、植物に弱い水ストレスを定量的に付加し、さらに葉位別の水ポテンシャルを pressure chamber 法³⁾によって測定することによって確認した。このように定量的に水分欠乏状態にした植物について、葉位や植物による水ストレスの程度と、窒素代謝のレスポンスの相違およびその指標について検討した。

材 料 と 方 法

1. 植物の培養と処理

植物はトウモロコシ(ゴールデンクロスバンタム)およびカボチャ(スーパー新土佐)を用いた。水耕液の組成は、多量要素はホーグランド液(0.005 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.005 M KNO_3 , 0.002 M MgSO_4 , 0.001 M KH_2PO_4)を基本とし、これを希釈して1/4濃度のものを用いた。微量元素は、3 ppm Fe, 0.3 ppm

Mn, 0.01 ppm Cu, 0.01 ppm Zn, 0.01 ppm Mo, 0.1 ppm B となるように、Fe-EDTA, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 をそれぞれ加えた。水耕液の水ポテンシャルを下げるためには、計算によって浸透圧を2 bar および5 bar 増加させるようにマンニトールを加え、水ポテンシャルをそれぞれ2 bar および5 bar 下げた。

2. 葉の水ポテンシャル測定法

葉の水ポテンシャルは、大起理化学製植物体内水分張力測定器を用い pressure chamber 法³⁾によって測定した。

3. 窒素の分画と定量

採取した植物体は葉位別に分け、70°C 以下で通風乾燥して風乾物重を測定した。風乾した試料は各個体の各部位毎にはさみで3~5 mm の長さに細かく切り遠沈管に入れ、5%トリクロロ酢酸(TCA)溶液20 ml を加えた。冷所に一夜放置後、ホモゲナイザー(西独 Janke Kunkel 社製 Ultra-tarrax)を用いてホモゲナイズし、10,000×g で15分間遠心分離して上澄みと沈澱とに分けた。沈澱はさらに15 ml の TCA 溶液で2回洗浄、遠心分離し、上澄液は全て合併した。沈澱は常法によってケルダール法、上澄液はガニング変法²⁾により分離し、蒸溜、滴定を行って窒素を定量した。

結 果

1. 水耕液へのマンニトールの添加が葉の水ポテンシャルに及ぼす影響

あらかじめ、1/2濃度のホーグランド液で培養したトウモロコシとカボチャについて、比較的弱い水ストレスを与えるために、培養液の水ポテンシャルが2 bar 低下する量のマンニトールを加え、24時間処理後葉位別に水ポテンシャルを測定し、マンニトールを加えない対照と比較した。

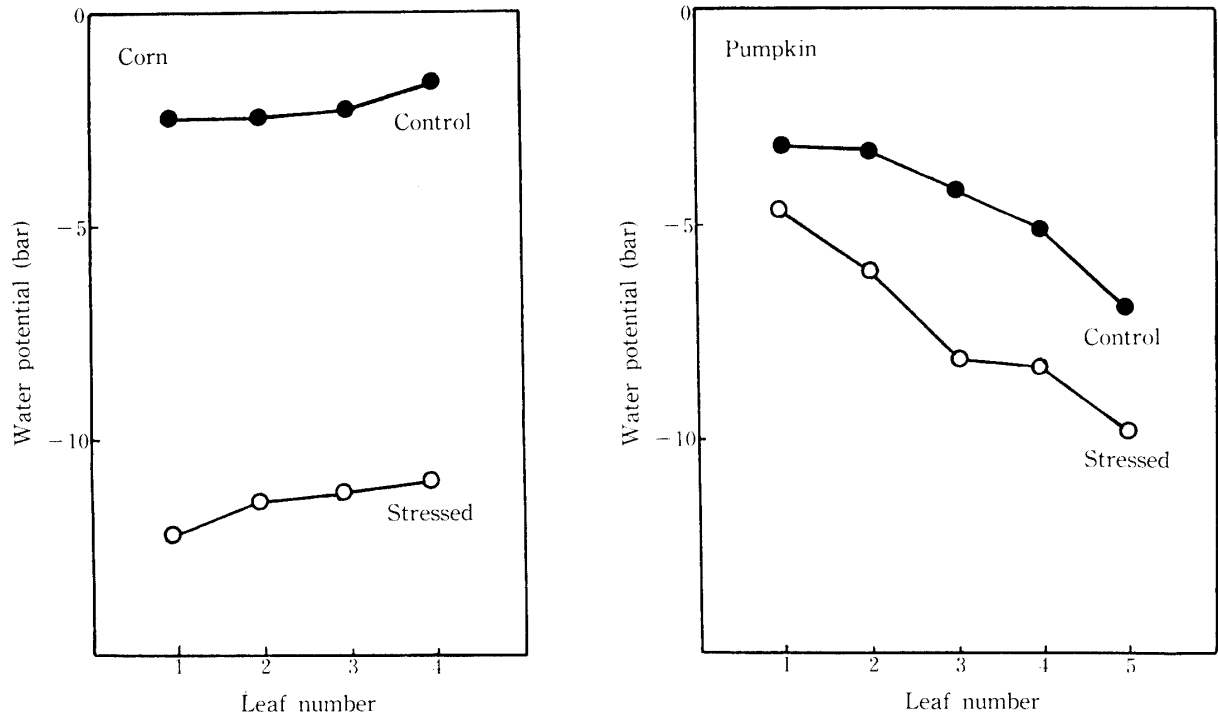


Fig. 1. Changes in water potential of the leaves by addition of mannitol to the culture solution.

トウモロコシとカボチャの葉位別水ポテンシャルをそれぞれ Fig. 1 に示した。葉位は番号の小さい方が下位葉、大きい方が上位葉を示している。マンニトールを加えることによって葉の水ポテンシャルが低下したことがわかる。トウモロコシでは下位葉の方が水ストレスが強かかっており、カボチャでは逆に上位葉の方が強く水ストレスを受けていた。おそらく、トウモロコシでは上位葉の方が内側に巻き込まれていて蒸散が比較的少なく、カボチャでは上位葉の方が日照を強く受け、蒸散量が多いためであろう。

2. 水ストレスが葉位別風乾物重に及ぼす影響

あらかじめ、1/4 濃度のホークランド液で培養したトウモロコシとカボチャについて、マンニトールを培養液の水ポテンシャルが 2 bar および 5 bar 低下するように加えた。24 時間処理後葉位別に分け、さらにトウモロコシは葉身と葉梢に、カボチャは葉身と葉柄に分け、70°C で通風乾燥後風乾物重を測定した。

Fig. 2 の横軸に葉位、縦軸に対照区を 100 とした場合のマンニトール処理区の相対的体重を示した。いずれも上位葉の方が水ストレスの影響を強くうけていた。トウモロコシは -2 bar 区でも強く影響を受け、-2 bar 区と -5 bar 区の差はあまりなかったが、カボチャの葉身は -2 bar 区では影響が少なく、-5 bar 区の上位葉で著しく影響を受けた。トウモロコシでは葉

身よりも葉梢の方が影響を著しく受けており、カボチャでは上位葉の葉柄が強く影響を受けていた。

3. 水ストレスが蛋白質含有率に及ぼす影響

あらかじめ、1/4 ホークランド液で培養したトウモロコシとカボチャを用い、培養液に -2 bar、-5 bar 水ポテンシャルが低下する量のマンニトールを加え、24 時間処理後収穫し、通風乾燥後、TCA 不溶窒素と TCA 可溶窒素を定量した。Table 1 に葉身の形態別窒素の測定結果を示した。植物葉身の場合 TCA 不溶窒素は大部分蛋白態窒素と考えられるので、以下では TCA 不溶窒素を蛋白態窒素、TCA 可溶窒素を非蛋白態窒素として考察する。

水ストレスの影響は、蛋白態窒素の低下と非蛋白態窒素の増加という形で現れているので非蛋白態窒素/蛋白態窒素比 (n.p.N/p.N) によって、この影響を敏感にとらえることができる。トウモロコシの場合、下位葉である第 7 葉よりも上位葉である第 10 葉の方が水ストレスの影響を強く受けた。トウモロコシの上位葉とカボチャの上位葉である第 5~6 葉を比較してみると、カボチャの方がより敏感であり、比較的弱い水ストレス状態である -2 bar 区において、トウモロコシの上位葉では非蛋白態窒素は対照区の 1.45 倍、n.p.N/p.N は 1.51 倍であったのに対し、カボチャの上位葉ではそれぞれ 2.00 倍、2.40 倍と高かった。トウモ

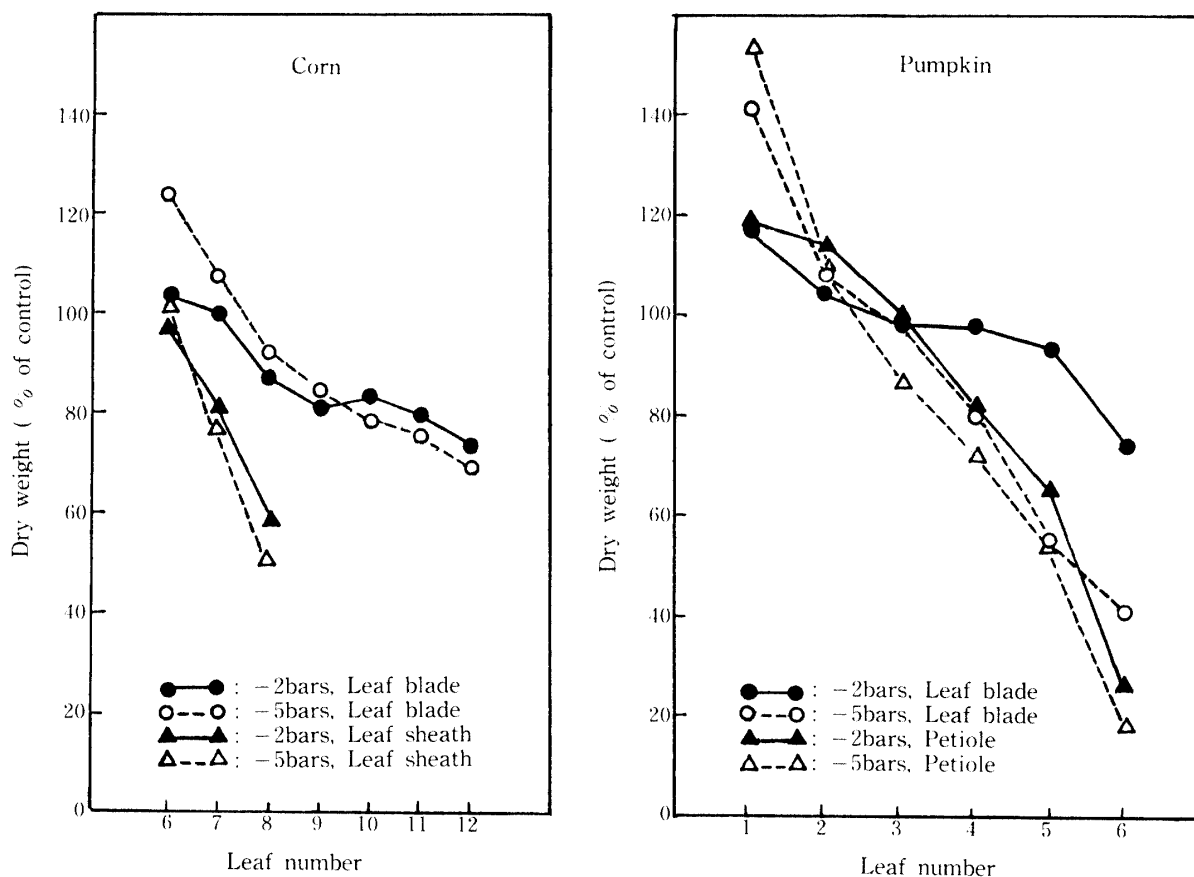


Fig. 2. Effect of water on dry weight of the leaves of different ages.

Table 1. Effect of water stress on protein and non-protein nitrogen contents of the leaf blades

	Leaf number	Water potential in soln.	Protein-N (p.N)	Non-protein-N (n.p.N)	n.p.N/p.N
Corn	7 th	Control	1.30 (100)*	0.32 (100)*	0.24 (100)*
		-2 bars	1.24 (95)	0.36 (113)	0.29 (121)
		-5 bars	1.21 (93)	0.33 (103)	0.27 (112)
	10 th	Control	1.94 (100)	0.69 (100)	0.35 (100)
		-2 bars	1.87 (96)	1.00 (145)	0.53 (151)
		-5 bars	1.64 (85)	0.92 (133)	0.56 (160)
Pumpkin	5-6 th	Control	4.32 (100)	0.24 (100)	0.05 (100)
		-2 bars	3.70 (86)	0.48 (200)	0.12 (246)
		-5 bars	3.64 (84)	0.70 (292)	0.19 (380)

*(): % of control

ロコシでは水ストレスを-2 bar から-5 bar に強めても大きな差はなかったが、カボチャの-5 bar 区の非蛋白態窒素は対照区の 2.92倍, n.p.N/p.N は 3.80倍とさらに著しく影響を受けた。

考 察

葉の水分欠乏状態は、弱い水ストレスの場合は水分

含有率を測定しても判定が困難であり、本実験の場合にも葉の水分含有率にはほとんど差が認められなかった。培養液にマンニトールを添加した水耕栽培によって、植物に弱い水ストレスを定量的に付加することができ、さらに葉の水ポテンシャルを pressure chamber 法によって測定することによって葉位別どの程度のストレスが付加されたかを知ることができる。

Fig. 1 の結果から葉位によって水ストレスの程度が異なること、また、植物の種類によっても水ポテンシャルの葉位別パターンが異なることがわかった。また、マンニトールの添加量を調節することによって弱い水ストレスを付加し、葉の窒素代謝がどの程度水ストレスに敏感であるかを知ることができた (Table 1)。

Hsiao¹⁾ は、植物の生理的、代謝的变化を水ストレスに対して敏感な方から並べると、細胞の生長、細胞壁の合成、蛋白質合成、プロトクロロフィル形成、硝酸還元レベル、ABA 集積、サイトカイニンレベル、気孔の開き、CO₂ 同化、呼吸、プロリン集積、糖集積の順序であると述べている。Fig. 2 の結果からみても、植物体の生長の著しい部位が最も敏感であることがわかる。換言すれば極めて弱い水ストレスも植物の生長を著しく阻害するということが改めて認識される。トウモロコシでいえば、上位葉の葉梢の生長が弱い水ストレスによっても著しく抑えられ、カボチャでは、上位葉の葉柄の生長が敏感であった。-5bar 区の下位葉での生長が対照区や-2bar 区を上回っていたが、これは水ストレスによって上位葉の生長が抑えられた結果、光合成産物、養分、ホルモンなどの配分が下位葉の生長に有利に働いたためであろう。

本実験の結果では、蛋白態窒素の含有率よりも非蛋白態窒素の含有率の方が影響をより強く受けていたが、この結果から蛋白質合成が水ストレスによって影響を受ける程度が小さいとは必ずしもいえない。蛋白態窒素含有率という形で表される数字の中には、処理開始時に既に存在していた蛋白態窒素が多量に含まれていてこれがベースとなっており、24時間の処理期間中に合成された蛋白態窒素の占める割合はわずかであるからである。その上、乾物重も水ストレスによって低下しているのだから、乾物重あたりで表現した含有率の変化は当然小さな値になる。処理期間中の蛋白質合成についてさらに明確な知見を得るためには重窒素を使うのがよりよい方法であろうと思われる。このような問題点があるにもかかわらず、本実験の結果を見ると-2bar の弱い水ストレス区でも蛋白態窒素含有率の低下が見られ、カボチャの方がトウモロコシよりも低下の程度が大きかった。非蛋白態窒素含有率がより敏感に水ストレスに反応した理由としては、①非蛋白態窒素は代謝回転が速く、処理期間中に吸収された窒素の値を比較的よく反映している、②水ストレスによる窒素の吸収よりも、蛋白質合成速度がより強く抑制されたために非蛋白態窒素が増加した、③乾物重の低下が非蛋白態窒素含有率を高めている、などが考えられる。

葉の蛋白質合成は葉の水ポテンシャルが、-10bar にまでは低下しない程度の弱い水ストレス下でも鋭敏に影響をうけており、それが乾物重の低下とあいまって非蛋白態窒素含有率の増加という形で現れているものと考えられる。Table 1 の結果から、非蛋白態窒素/蛋白態窒素比 (n.p.N/p.N) は水ストレスに対する葉の窒素代謝のレスポンスの感度のよい指標になることがわかる。このレスポンスは葉位や植物の種類によって異なり、トウモロコシの生長しつつある上位葉は、下位葉よりも水ストレスに対して n.p.N/p.N の著しい増加を示した。また、カボチャの葉身では弱い水ストレスに対して、トウモロコシの葉身よりも敏感に n.p.N/p.N が増加した。牧草のように硝酸態窒素含有率の増加が収穫物の品質に悪影響を及ぼす作物では、とくに水ストレスと硝酸態窒素含有率との関係に注意を払う必要があるであろう。

要 約

トウモロコシとカボチャはについて、水分欠乏が葉位別水ポテンシャルと蛋白態窒素、非蛋白態窒素含有率に及ぼす影響について検討した。水ストレス区の試料の培養液はマンニトールを添加することによって水ポテンシャルを低下させ、24時間処理後、葉を各葉位別に収穫し、直後に水ポテンシャルを pressure chamber 法によって測定した。葉身は乾燥後トリクロロ酢酸 (TCA) 溶液中でホモゲナイズし、TCA 可溶 (非蛋白態) 窒素と TCA 不溶 (蛋白態) 窒素をケルダール法によって定量した。

カボチャの葉の水ポテンシャルは葉位が増加するのに伴って低下したが、トウモロコシの葉ではやや増加した。トウモロコシの生長しつつある葉鞘とカボチャの葉柄の生長は弱い水ストレスでも著しく抑えられた。乾物重あたりでは、弱い水ストレスは非蛋白態窒素の著しい増加と蛋白態窒素のわずかな減少をもたらした。それ故、非蛋白態窒素/蛋白態窒素比 n.p.N/p.N は水ストレスに対する葉の窒素代謝のレスポンスの感度のよい指標となることがわかった。トウモロコシの生長しつつある上位葉は下位葉よりも水ストレスに対して n.p.N/p.N の著しい増加を示した。カボチャの葉身では弱い水ストレスに対してトウモロコシの葉身よりもより敏感に n.p.N/p.N が増加した。

謝辞 本研究の実施にあたって田中浩二、鷺身充子の両氏の多大な御協力を得ましたので特記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) Hsiao, T. C.: Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 519-570 (1973)
- 2) Moore, H. C.: Determination of nitrogen in nitrates and fertilizer. *Ind. Eng. Chem.*, **12**, 669-673 (1920)
- 3) Scholander, P. F. and Hemmel, H. T., Badstreet, E. D. and Hemmingsen, E. A.: Sap pressure in vascular plants. *Science*, **148**, 339-346 (1965)

Summary

Investigations were carried out in corn and pumpkin leavers, to ascertain the water-deficiency effects on the water potentials at different leaf positions and on the protein contents.

The water stressed samples were exposed to low water potentials by addition of mannitol to the nutrient solutions. Immediately after 24 hours' treatment, the leaves were harvested, and measurement of the potentials was carried out by the pressure chamber method. After the leaf blades were dried, they were homogenized in trichloroacetic acid (TCA) solution. The TCA soluble (non-proteinous) nitrogen and the TCA insoluble (proteinous) nitrogen were determined by Kjeldahl method, respectively.

The water potentials of the leaf blades of pumpkin exhibited a gradient decreasing from the lower to the upper leaf positions, whereas those of corn were in a slight increasing. In response to even a mild water stress, a remarkable reduction in growth was observed both in the developing leaf sheaths of corn and in the petioles of pumpkin. On the dry weight basis, a mild water stress resulted in a marked increase in the contents of non-proteinous nitrogen and a slight decrease in those of proteinous nitrogen of the leaf blades. Consequently, it was ascertained that an increase in non-proteinous nitrogen/proteinous nitrogen ratio (n.p.N/p.N) is a sort of a sensitive index for the response of nitrogen metabolism in the leaves to water stress. Water stress caused a more remarkable increase in n.p.N/p.N in the upper developing leaves than in the lower leaves of corn. Pumpkin was more sensitive than corn in the response of the ratio to mild water stress.