

電気的方法による植物の成長の診断と制御に関する 基礎的研究

江崎, 秀

<https://doi.org/10.11501/3056800>

出版情報 : 九州大学, 1991, 工学博士, 論文博士
バージョン :
権利関係 :

電氣的方法による植物の成長の
診断と制御に関する基礎的研究

江崎 秀

①

電気的方法による植物の成長の
診断と制御に関する基礎的研究

1991

江崎 秀

目次

緒言1
第1章 序論3
1.1 植物工場における植物の非破壊診断の必要性3
1.2 植物が作り出す電気化学的パターン7
1.3 アズキの根に見られる表面電位の時空間構造19
1.4 本研究の目的と内容33
第2章 幼根の伸長領域近傍における電気化学的パターンの形成38
2.1 実験方法39
2.1.1 実験材料の作成39
2.1.2 電気化学パターンの測定法40
2.2 実験結果44
2.3 電気化学ポテンシャルに基づいた解析47
2.3.1 基礎方程式47
2.3.2 電位分布50
2.3.3 イオンの流速と濃度分布57
2.4 考察66
2.5 結論70

第3章 幼根に見られる表面電位の時間振動と成長の関係72
3.1 伸長速度と電位振動の関係73
3.2 電位振動の温度依存性81
3.3 考察90
3.4 結論92
第4章 側根の発生に伴う電気化学的パターンの形成94
4.1 側根の発生時の電位パターン95
4.2 側根の形成に伴う主根の電位パターンの変化108
4.3 水素イオンの拡散による表面電位の発生111
4.4 考察122
4.5 結論126
第5章 茎表面に見られる電流と成長の関係128
5.1 実験方法129
5.1.1 茎表面の電気的絶縁129
5.1.2 電気化学的測定130
5.2 実験結果137
5.2.1 電気的絶縁の伸長に及ぼす影響137
5.2.2 茎表面の電気化学的パターン141
5.3 考察148
5.4 結論150

第6章 電界の印加による根の成長の制御152
6.1 電界の印加方法153
6.2 実験結果157
6.2.1 平行電界による成長の影響157
6.2.2 直交電界による成長の影響164
6.3 電界の水溶液中イオン濃度分布に及ぼす影響172
6.4 考察179
6.5 結論183
第7章 総括185
謝辞193
参考文献194
記号表200

緒言

地球規模での環境破壊が重大な問題として認識されるようになってきている。農業においても、農薬の過度の使用は人間に悪影響を及ぼすだけでなく、土壌や周囲の環境を壊してしまう結果につながる。また、発展途上国での無秩序な農地の開発が、それまでの生態系を壊し、砂漠化を進めてしまうといった現象がおきている。近年、農業の分野で、農作物を人工的な環境で育成するという、いわゆる植物工場の試みが行われる様になってきたが、この試みはこれらの環境問題に対する一つの解決策となる可能性を持っている。現在でも、ビニールハウスなどの園芸施設は広範囲に見られる。しかし、ハウス栽培では連作や化学肥料の使用による土壌の劣化が著しくなる。また病害虫の発生し易い環境であるため、農薬の使用量が増加するという結果になるなど、環境面ではむしろマイナスの要因が多い。これに対し、植物工場では基本的に水耕栽培を行なうため、これらの欠点を解消する事が出来る。現在のところ、コスト面で不利な事から、実用化されているのはごく一部に限られている。しかしながら、環境を人工的に制御する事によって、例えば栽培の無農薬化や収穫量の安定化などといった多くのメリットが得られる。

最近では、コンピュータを中心としたデジタル技術を利用した制御技術の進歩によって、環境の高度な最適制御のための基盤技術の一つが整ってきている。しかし、植物はいろいろな特性に個体差が大きいため、さまざまな生育段階の植物に対して最適な生育環境を維持するためには、成長状態を正確に評価する事が必要となってくる。即ち、植物内部の生体情報を詳細にしかも正確にセンシングしてフィードバックしなければならない。しかしながら、植物の成長状態や果実などの作物の成熟度の診断方法は現在のところ充分には確立しているとは言えず、主として経験の豊富な農業技術者の主観に依存しているところが大きい。

これらの観点から、植物の成長状態を客観的に評価する手段の確立が求められている。植物工場への応用を前提とした植物の生体計測については様々な方向からのアプローチがあるが、基本的には対象である植物を傷つけないで、無侵襲に計測する必要がある。現在のところ、炭酸ガス濃度の測定による光合成速度の評価や、ビデオカメラを用いた葉面の温度分布計測による水ストレスの推定など、いくつかの方法が試みられている。

植物は、細胞膜を介して細胞内部と外部の間で水や各種のイオンを輸送している。細胞膜におけるイオン輸送が空間的に不均一であると、細胞の周囲にイオンの流れによる電界の分布が発生する。近年の研究で、植物を含む多くの生体系で、その周囲に固有の電位パターンが観測されており、さらに、これらの電位パターンが、成長や分化に密接に関連して発生する事が判ってきた。

従って、植物の表面近傍の電位を測定する事によって、植物の成長状態に関する多くの情報が得られる可能性がある。即ち、この方法は植物の無侵襲診断の一つの有効な手段として他の診断方法と共に発達していく事が期待される。この目的のために、高等植物における電気化学的現象と成長現象との関係を明らかにする必要がある。これまでに我々は、アズキの根に沿った表面近傍の電位を同時測定する装置を開発し、成長に伴って形成される電位パターンの時空間構造について研究してきた。本研究は、これらの研究方法を基にして種々の測定装置を作成し、それを用いて根や茎の電位パターンを詳細に解析して電気化学的現象と成長との相関性について調べたものである。さらに、外部から根に電界を印加したときの伸長への影響を調べ、成長の電氣的な制御の可能性に関して検討を行なった。本論文はこれらの一連の研究成果をまとめたものであり、今後のこの分野の発展の一助となれば幸いである。

第1章 序論

1. 1 植物工場における植物の非破壊診断の必要性

人工的な環境を体系的に作りだして、その中で植物を生育させるという試みは、古くは1949年にカリフォルニア工科大学におけるファイトトロンに見る事が出来る⁽¹⁾。ファイトトロンとは、植物と環境の関係を調べるための研究施設の事であり、植物工場などの産業応用を目的にしたものではない。実用レベルでの最初の植物工場は、1957年に作られたデンマークのクリステンセン農場である⁽²⁾。植物工場は、基本的に環境を外部に依存しない形で作り出すが、光に関しては、太陽光を利用する太陽光利用型と人工光照射をする完全制御型に分けられる⁽³⁾。クリステンセン農場は、太陽光利用型の植物工場で、カイワレダイコンに似たクレスという芽菜類を6日程度生育させたものを出荷している。

植物工場は、通常の農法による栽培に比較して次の様な長所を持っている。

- (1) 収穫量の安定化
- (2) 土地生産性の向上
- (3) 無農薬化
- (4) 土壌破壊の防止
- (5) 省力化

上にあげた様に植物工場には多くの長所が見られるが、現在の所、実用化された施設がほんのわずかに過ぎないのは、経済性の問題が大きいからである。照明や空調のための電力だけで、生産原価の約半分を占めると言われている。

一方、植物工場における環境制御の技術は、主としてエレクトロニクス技術の進歩に伴って、より高度な制御方式が可能になってきた。環境制御系は、大きく分け

ると地上部と地下部に分けられるが、地上部では空気の温度、湿度、二酸化炭素濃度、光量などを制御し、水耕栽培である地下部は温度や溶液組成、溶存酸素濃度などが主な制御対象となる。特に、自然光利用型の施設では、完全制御型の植物工場と異なり太陽光という自然条件に依存するために、環境を規格化されたものに維持するにはコンピュータを利用した高度な制御が必要になる⁽⁴⁾。図1-1に太陽光利用型の植物工場において検討されている栽培環境の制御機構のモデルを示す⁽⁵⁾。コンピュータを用いた制御を前提として、3つの制御レベルを考えている。第1のレベルで用いているコンピュータⅠは環境情報データを利用して環境を一定に保つ役割をするもので、現在の多くのグリーンハウスはこのレベルの制御だけを自動化している。第2レベルのコンピュータⅡは、気象条件や植物生体情報データを利用してコンピュータⅠにおける制御パラメータを動的に変更する役割を果たしている。図1-1に示したモデルでは、さらにその上のレベルとして、栽培に関するノウハウなどの知識情報を蓄積したデータベースを利用するコンピュータⅢも用意されている。

これまでは、目標値などの制御パラメータは、自然条件や植物の栽培ステージに応じて人間が変更するといった最も簡単な制御方法を用いる事が多かった。これには技術者の観察や経験を必要としているが、コンピュータⅡはこれにかわるものである。この際、植物は個体差が大きいため、実際に栽培されている植物の生育状況と無関係に制御パラメータを決定しても、必ずしも最適な環境が得られるわけではなく、栽培の促進には自ずと限界がある。そこで、植物の生体情報をセンシングして生育状態を把握し、それを制御に反映しようという研究が進められるようになってきた。この植物の生体情報をモニタしながら行う栽培制御を、Speaking plant approach (SPA)という⁽⁶⁾。蒔種してから収穫されるまで分化成長の多くの段階を経る植物に対して、生体情報を利用した最適な栽培制御 (SPA) を行うためには、成長の生理プロセスに着目して環境と成長の関係を調べるという、生理生態学

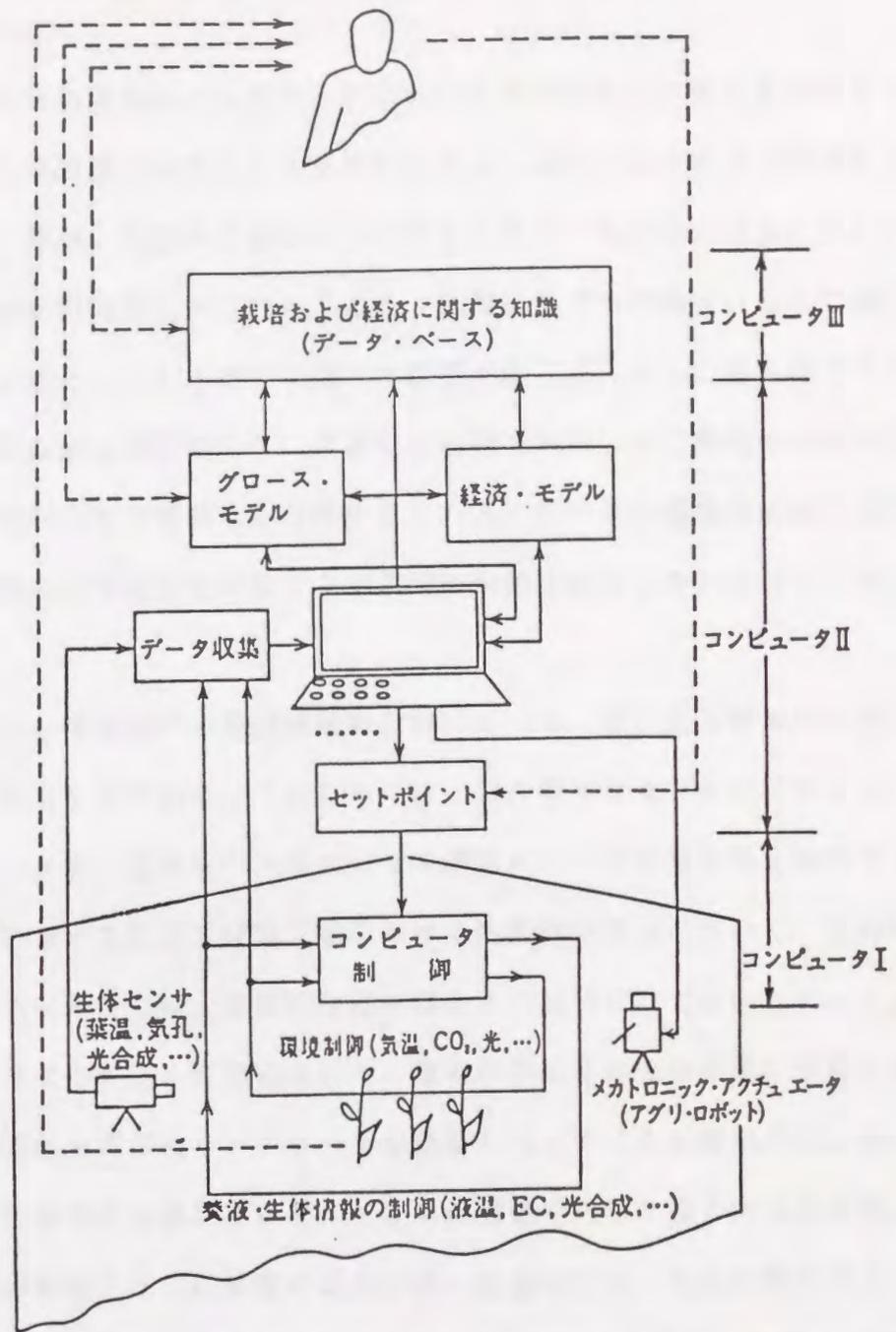


図 1 - 1 植物工場における環境の制御システム。点線は人間による制御の流れであり、実線はコンピュータによる制御の流れを示している。(5)

的な計測が必要になる。

植物工場での植物生体情報の計測は、原則的には植物の成長に関する情報を生きのまま傷つけずに非破壊で収集する事が原則である。植物の基本的な生理活動には、養分や水の吸収、蒸散、呼吸や光合成などが考えられる。光合成の速度に関しては、二酸化炭素濃度の変動の測定が行われている。蒸散に関する情報は、湿度の測定によって得られる。また、これらの平均的な物理量の測定以外にも、赤外線TVカメラを用いた葉面の表面温度計測など、画像処理技術を利用した空間的な分布情報の測定や、環境条件が急激な変動をした時に見られる、葉の平均温度の過渡的な振動現象など、短時間の動的な変化に対する時系列的な測定が行なわれるようになってきた^(7,8)。

以上述べたように植物栽培の最適制御の発展にとって、植物生体情報の計測によるSPAは不可欠なものである。そのためには、より様々なセンサが必要になってくるであろうし、また、個体レベルだけでなく細胞レベルの活動状態を計測する事も課題になっている。これまで植物工場における生体情報計測において、植物電気生理学的な実験法に関しては、直接的な応用はあまり検討されてはいない。しかしながら、植物のみならず広く生物において、電氣的な現象は生命活動に密接に関係しており、今後電気生理学的なアプローチも重要になってくると思われる。細胞内部に電極を刺入し膜電位を測定すると、イオンの輸送に関して多くの情報を得る事が出来るが、電極を刺入せずに植物の表面に置いただけでも、安定な電位パターンが観測されるという事が古くから知られている⁽⁹⁾。植物の成長という観点から表面近傍の電氣的現象に関して詳しく調べられるようになったのは最近の事であるが、この方法では非破壊で長時間連続的に測定する事も可能であるので、植物工場における植物の成長の評価に適用できると思われる。また、今後ホルモンなどの化学的環境や、電氣的環境の制御による成長促進の可能性に着目した研究が期待されており、植物の成長と電気現象との関連性を明らかにする事によって、植物の成長にお

ける最適な電気的環境を制御する事が可能になると思われる。このような観点から、植物の周囲の電気化学的構造と成長の関連性について調べる事は極めて有用である。次節では、生物の周囲に観測される電気的な現象に関する従来の研究について簡単に紹介する。

1. 2 植物が作り出す電気化学的パターン

生物の構成単位である細胞は細胞膜で覆われているが、細胞膜は特定のイオンを選択的に輸送する生理的な機能を持っている。生物の表面または表面付近の電位を測定すると、一般に部位によって異なった電位が観測されるが、これは細胞膜におけるイオンの輸送量の不均一性に起因するものである。イオン輸送の空間的不均一性によって形成される電気化学的なパターンに関しては古くから研究されているが、近年、振動電極法の開発によって、特に成長や分化に伴って形成される電流パターンについて詳しく調べられるようになった⁽¹⁰⁻¹⁵⁾。振動電極はNuccitelliらによって開発されたもので、水溶液中で電極を微小範囲で振動させた時の電位変化を測定する事によって、局所的な電界強度を検出するものである⁽¹⁰⁾。水溶液中であるので電界強度と電流密度は正確には比例しないが、通常は、平均的な溶液組成の導電率を用いて電流密度に換算したうえで評価される事が多い。電極の振動は、ピエゾ素子を用いて10 μ m程度の範囲を数千Hzで行う。電極の振動で検出される信号は、数nVと微小であり雑音に埋もれているため、ロックインアンプで増幅される。従って、電極の振動させる方向の電界強度が得られるが、振動方向を工夫する事で2次元や3次元方向の電界強度を同時に求める事ができるようにした装置も開発されている⁽¹¹⁾。

図1-2に、振動電極によって観測された生物における電流パターンの例をいくつか示す⁽¹²⁾。(a)は、海藻エゾイシゲ*Pelvetia*の卵から仮根が形成される時に現

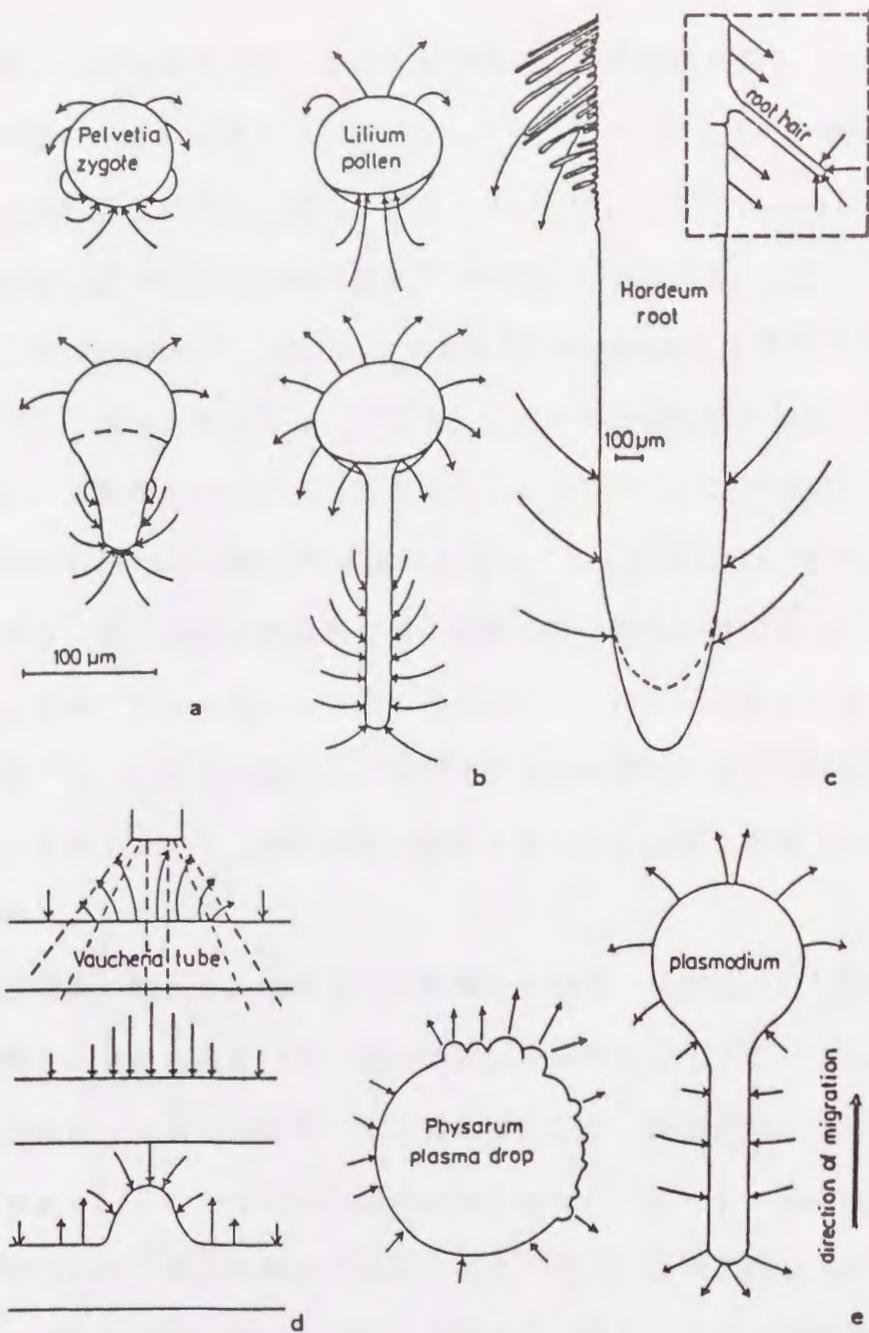


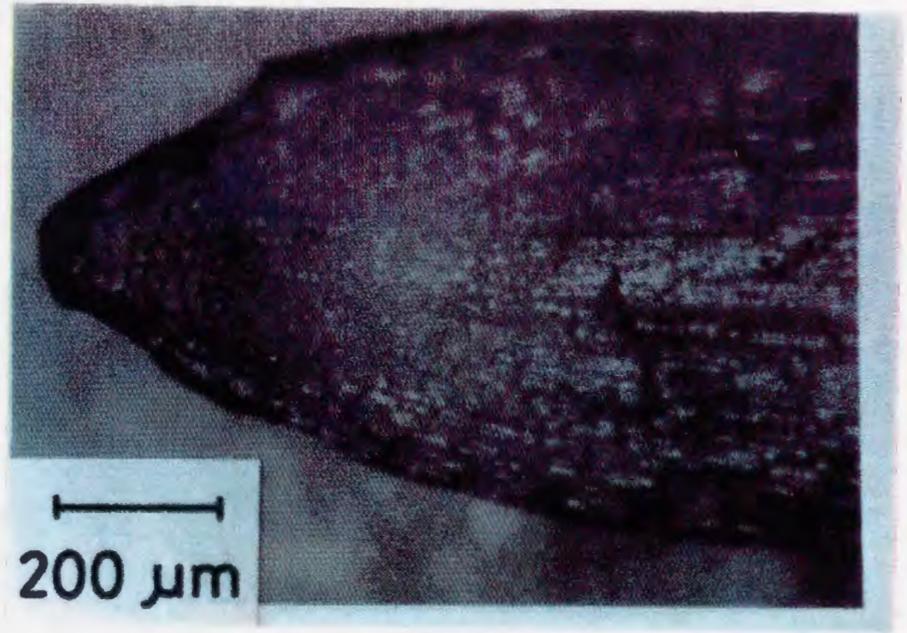
図 1-2 種々の生物の周囲に発生する電流空間パターン。 a:海藻 *Pelvetia* の卵, b:ユリ *Lilium* の花粉, c:オオムギ *Hordeum* の根, d:フシナシミドロ *Vaucheria* の光照射による形態変化時, e:モジホコリカビ *Physarum*. (12)

れる電流パターンで、形状の変化が生じるよりも以前に、将来仮根が発生する部位に電流の吸い込みが起こっている事が明らかになっている。(b)はユリ *Lilium* の花粉で、発芽した時の花粉管側に内向き電流が存在する。(c)は大麥 *Hordeum* の根の先端部に見られる電流で、根や髭根の先端付近で内向き電流が存在する。(d),(e)はそれぞれフシナシミドロ *Vaucheria*、モジホコリカビ *Physarum* における電流パターンである。このように、様々な生物において成長、分化や形態形成時に特定の電流パターンが発生している事が判っている。形態の変化と電流パターンの関係については、図1-2(a)の *Pelvetia* の仮根形成に見られるように、形態形成に先だって電流ループが発生する。また高等植物の根を水平に置くと、重力屈性によって根が垂直方向に曲がりだすが、屈曲が現れる以前に電流パターンの形状に変化が現れる事が報告されている⁽¹⁶⁾。これらの事実は、電氣的な現象が単に成長や形態形成の結果として現れているのではなく、成長現象に関して本質的に重要な役割を担っている事を示唆している。

植物の根は、伸長機能に関して、軸に沿って先端から根冠、分裂領域、伸長領域、既長領域の4つの領域に分けられる⁽¹⁷⁾。根の伸長は伸長領域で起こり、この領域の細胞が長軸方向へ伸長する事で個体としての伸長が生じる。伸長領域よりも基部側は総て既長領域であり、ここではもはや伸長は見られない。茎でも、最先端部が根冠でなく第1葉がついている事を除いて同様である。即ち、動物と異なり植物では、伸長が生じるのは先端付近に限られているのである。図1-3に、本研究の実験対象としたアズキの根の断面の写真を示す。図1-3(a)は先端付近であり、根冠と分裂領域及び伸長領域の一部に相当する。この領域では細胞の大きさが小さいが、基部側に移るに従って少しずつ軸方向に長くなっているのが判る。図1-3(b)は基部側の既長領域の写真であり、細胞は軸方向に細長い形状で、(a)の細胞に比べて長くなっている。

振動電極によって測定された植物の根の先端近傍における電流密度分布の例を図

(a)



(b)

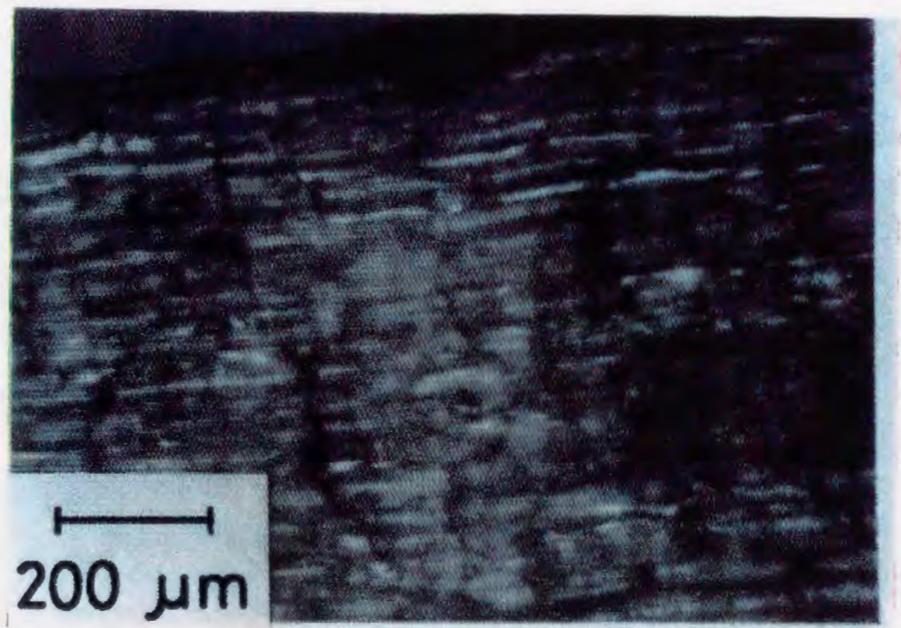


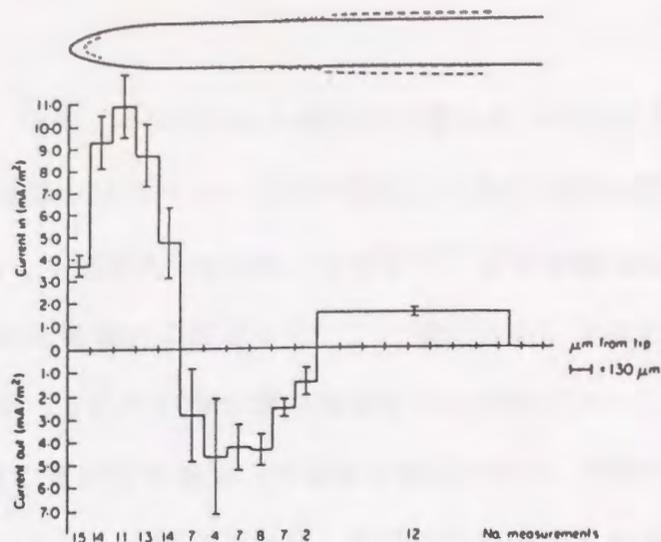
図1-3 アズキの根の断面写真。(a)先端部。(b)先端より約1cm後方。

1-4に示す。根の表面の法線方向の電流密度を軸に沿って測定したものである。Aは、シロツメクサ *Trifolium* における電流を測定したもので、先端の約0.6mmの範囲に内向き電流、その後方約0.8mmの範囲に外向き電流が存在し、それより後方では弱い外向き電流が見られる⁽¹⁸⁾。先端の内向き電流は最大で約 $1\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ($10\text{mA}/\text{m}^2$)程度であり、この領域は根冠、分裂領域と大部分の伸長領域にあたる。それに続く外向き電流のある部位は、伸長領域の一部と既長領域に相当する。また、弱い内向き電流のある部位は、根毛が発生している領域に一致している。図1-4Bは、様々な種の植物の根に対する測定結果であり、形状や大きさは異なるものの、共通して見られる特徴がある⁽¹⁹⁾。先端側で内向き電流、それに続いて外向き電流が存在する。外向き電流と内向き電流では、内向き電流の方が狭い領域で高い密度を示している。多くの場合、分裂領域から伸長領域にかけての領域が、内向き電流の観測される位置に対応している。これらの測定結果は、表面をよぎる電流ループが高等植物の根において普遍的に生じている現象である事を意味している。

単細胞生物など小さな形状の生物では、電界の発生が局所的なために空間的な電位差が小さく、振動電極が開発されるまでは電流パターンの検出が困難であった。一方、高等植物など比較的大きな対象においては、振動電極の開発以前から、表面にそって電位を測定する事により、電位パターンに関する研究が行なわれている。図1-4に示したように、高等植物の根においては部位によって内向き電流が存在する領域と外向き電流が存在する領域に分かれており、これは細胞間にまたがる大きな電流ループが形成されている事を意味している。電流の経路が長いために、電流の湧出し部位と吸い込み部位の間には、通常の電極で検出し得る数mV程度の電位差が発生する。

1940年代にLundは、植物の周囲の電氣的な環境と成長の関係を調べるために様々な実験を行なっている⁽⁹⁾。根や茎の表面の電位を測定し、部域によって数mVから数十mVの電位差が発生している事や、外部から電流を流すと成長速度や方向に影響

A



B

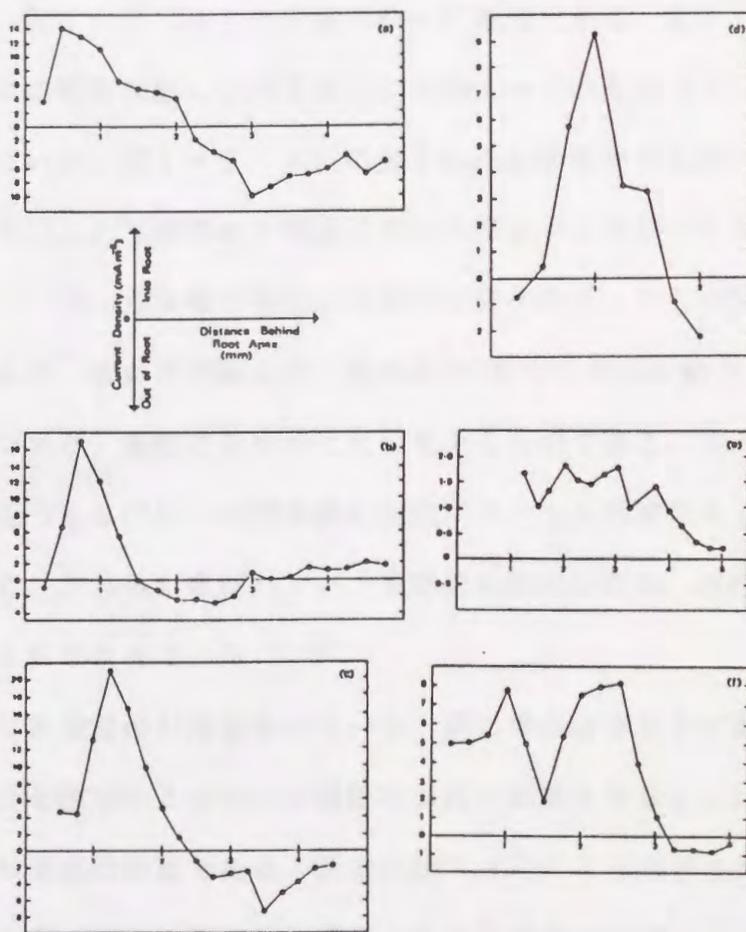


図 1-4 種々の植物の根の電流分布. A:シロツメクサ *Trifolium*, (17)
 B:(a)コムギ *Triticum*, (b)カラスムギ *Avena*, (c)オランダイチゴ *Fragaria*, (d)エゾマツ *Picea*, (e)ドクムギ *Lolium*, (f)ナス *Solanum*. (18)

を与える事などを報告している。また、Scottらは水溶液中に置いたマメ科の植物の根を対象にして、表面付近の電位の空間パターンや時間変化と伸長速度の関係を調べている⁽²⁰⁻²³⁾。根の軸に沿って電極を7mmおきに6本並べ、信号を機械的に切り替える方法で各点の電極の電位を連続的に測定した⁽²⁰⁾。電位の測定方法と測定結果を図1-5に示す。図1-5(b)の右側の図が表面電位の空間パターンで、根の先端部と21mm後方では約3mVの電位差があり、先端側で電位が低く、基部側で電位が高くなっている。図1-4で示した電流分布は、半径方向に流れる電流を測定したものであるのに対して、図1-5(b)は表面に沿った電位である。従って図1-5(b)からは長軸方向の電位勾配しか判らないので図1-4の電流パターンと直接定量的な比較は出来ないが、図1-5(b)に見られる基部側から先端へ向かう電位勾配が、図1-4で示した基部側から先端に向かう電流バスの存在を反映しているものと考えられる。一方、各電極の電位の時間的な変化を示したものが図1-5(b)の左側の図であり、各点で周期6分、振幅0.5mV程度の時間振動をしている。外部の環境は一定であり、振動は自発的に生じているものである。根の位置と振動の位相に一定の関係があるのは、時間振動が空間パターンと相関性をもっている事を示唆している。またこれらの電位パターンや時間振動の特性は、周囲の環境に強く依存している事も報告されている^(21,22)。

植物の茎においても、安定な表面電位が観測されている。茎の場合は空气中に置かなければならないので、電位を測定するためには電極を表面に接触させなければならないため、根の場合よりも測定は困難である。岡本らはマメ科のミトリササゲの下胚軸を対象として表面や内部の電位を測定し、成長に関する等価回路的なモデルを提出している⁽²⁴⁻²⁸⁾。植物は種によって、発芽する際に茎が子葉よりも上側に発生する地下性発芽種子と子葉の下方に発生する地上性発芽種子に分かれる。下胚軸は地上性発芽種子だけに存在するもので、茎のうち子葉である種子部よりも下側に伸長する部分を指す。下胚軸がある程度伸びた後に、上胚軸が発生し下胚軸の

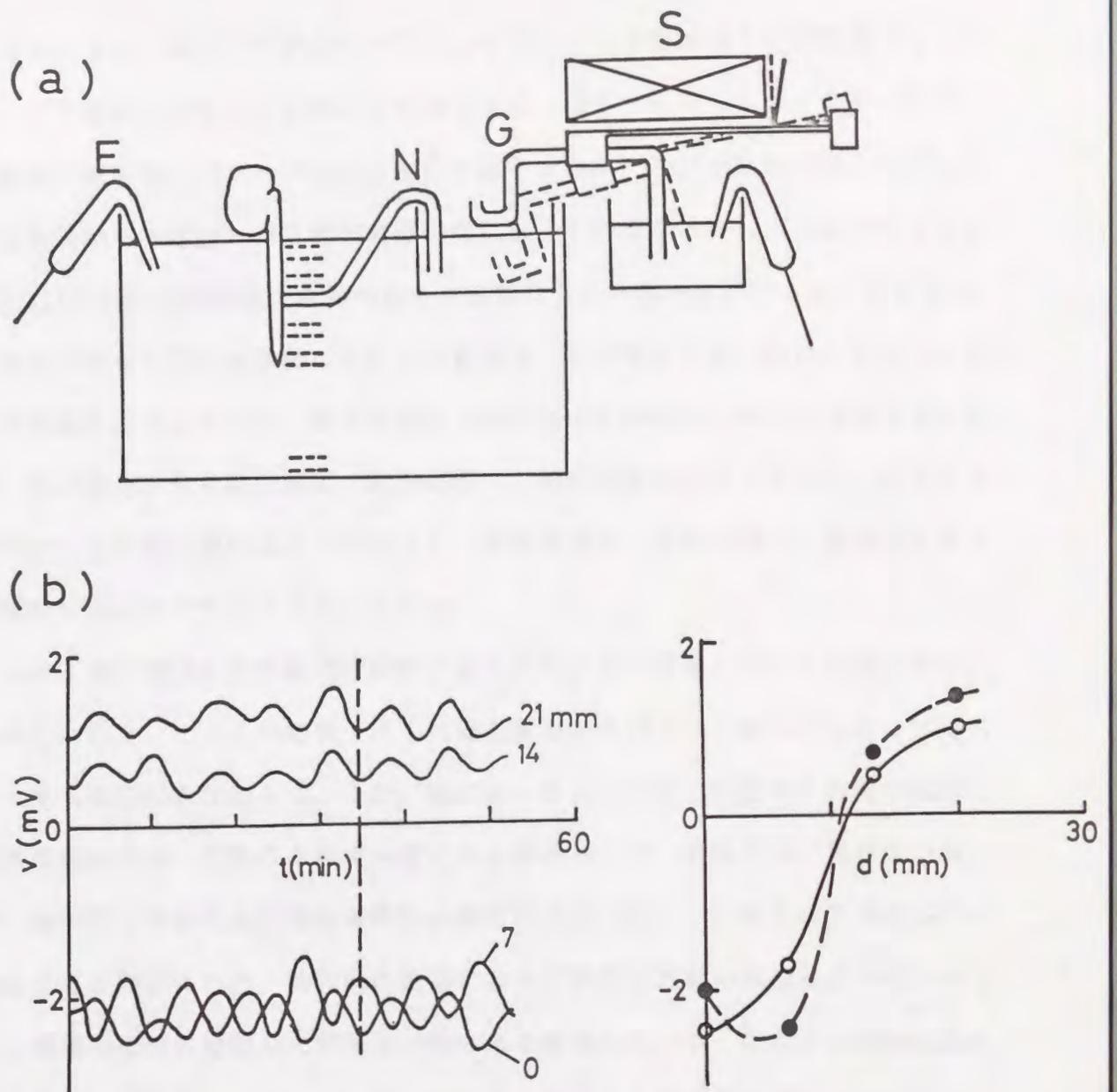


図 1-5 Scottによる根の表面電位の測定。(a)測定法。ソレノイドSによつて溶液スイッチGを機械的に切り替える。E:参照電極, N:表面電位測定用チューブ。(b)測定結果。左図は各電極の電位の時間変化で、図中の数値は根の先端からの距離である。右図は空間パターンで、○と●はそれぞれ左図の電位振動のピーク値を示している。(20)

伸長は停止する。本研究で実験の対象としたアズキの場合は地下性発芽種子であるので、下胚軸は存在せず上胚軸だけが伸長する。図1-6に、ミトリササゲの茎の成長過程で表面電位パターンが移り変わる様子を示す⁽²⁴⁾。下胚軸の長さが20mm以下では先端から基部側への単調な電位勾配になっているが、それ以上に伸長すると、先端から10~20mm下側に電位の谷が見られる様になる。茎が伸長すると、それにつれて電位の谷も上方向に移動していくのが判る。この電位の低い部位がちょうど茎の伸長領域に相当している。茎の場合も先端付近の分裂領域に続いて伸長領域があるが、根の場合よりも伸長領域の範囲は広く、約20mm程度広がっている。茎がさらに伸長して上胚軸が現れるようになると、電位の谷も上胚軸に移り、伸長の止まった下胚軸の電位はフラットになっている。

さらに、表面電位の発生機構を解析するために、微小電極を用いて細胞内電位の測定が行われた⁽²⁵⁾。その結果、微小電極を表面から刺入して軸中心にむけて進めていっても電位の変化はなく、また、軸に沿ったある特定の位置での表面の電位と細胞内電位の差は、位置によらず一定である事が判った。半径方向に電位差が無いのは、柔組織と呼ばれる内部の細胞群が原形質連絡によって一体として機能している事によると解釈された。軸方向の位置によらず表面と内部の電位差が一定であるのは、表面の細胞の起電力に部域差が無い事を意味している。これらの実験結果から、軸方向の表面電位パターンは茎の表面側ではなく内部の起電力が部域によって異なっている事に起因していると考えられた。一方、根を浸した水溶液の電位を基準にとって下胚軸を様々な部位で切断した基部側断面の電位を測定すると、電位は切断位置によらず一定であるという実験結果が得られた。この電位は水の輸送路である導管の電位を主として反映しているものであり、導管は軸方向に電位差が無く部域によらず等電位である事が判った。

従って、茎内部における半径方向の起電力として導管と柔組織の間の起電力を考え、この電位差が部域によって異なるために図1-6に見られる様な表面電位パタ

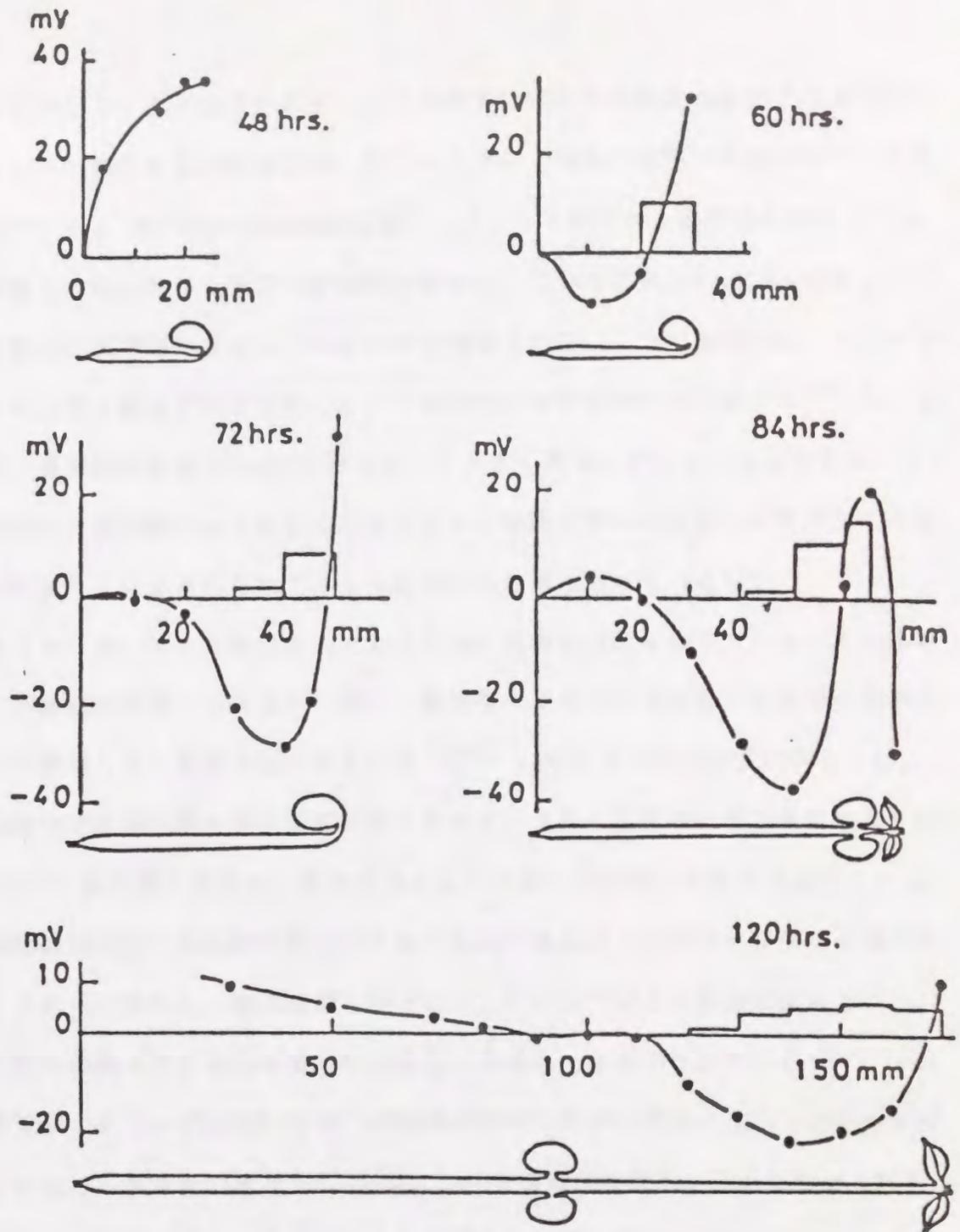


図1-6 ミトリササゲの茎の表面電位パターン。子葉よりも左側が下胚軸で、根は記していない。84時間と120時間は子葉よりも右側が上胚軸である。(24)

ーンが発生していると仮定すると、これらの実験結果を矛盾無く説明する事が出来る。これらの知見を基に岡本らは、図1-7で示す様な二起電力構造のモデルを提出した^(26,27)。茎内部の柔組織細胞群は一体として働くが、表面側の膜だけでなく、導管との間の膜にも独立した起電力があり、二つの起電力 E_{m1} と E_{m2} がちょうど背中合わせに直列につながっているという構造である。二つの起電力は、カスバリ一線と呼ばれる絶縁性の構造物によって物質的にも電氣的にも分離されている。この中で、導管側の起電力 E_{m2} が部域によって大きく異なっていると考えられる。この起電力は、茎内部のpH測定の実験などから細胞内部から導管へ H^+ を排出する起電性の H^+ ポンプにより作られているものであると考えられている⁽²⁷⁾。

水素イオンは、広く生物の成長にとって特に重要な役割を持っているイオン種である。細胞壁の伸長、エネルギー産生、無機養分や水分の吸収など広範囲の生命活動に H^+ が関与している事が知られている⁽²⁹⁻³¹⁾。特に根や茎の伸長に関しては、酸性溶液中では根や茎の伸長速度が速くなるという多くの実験結果が報告されている^(30,31)。根や茎の伸長は、伸長領域における個々の細胞の伸長を意味しているが、植物細胞は硬い細胞壁に覆われており細胞の伸長には細胞壁の伸展が不可欠である。これらの事から、酸成長説と呼ばれる、 H^+ ポンプにより外部に放出された H^+ が細胞壁の伸展を促す役割を果たしているという考え方が支持されている⁽³¹⁾。下胚軸の導管側の H^+ ポンプに関しては、伸長領域で特に H^+ ポンプが活性化された結果図1-7における導管側の起電力 E_{m2} が増大し、表面電位の低下が現れたものと解釈される。この H^+ ポンプは水分を始めとして様々な物質の吸収能力の源泉であり、輸送された H^+ の蓄積を通して、胚軸の成長に不可欠な K^+ などの吸収や水の輸送が行われていると考えられている。

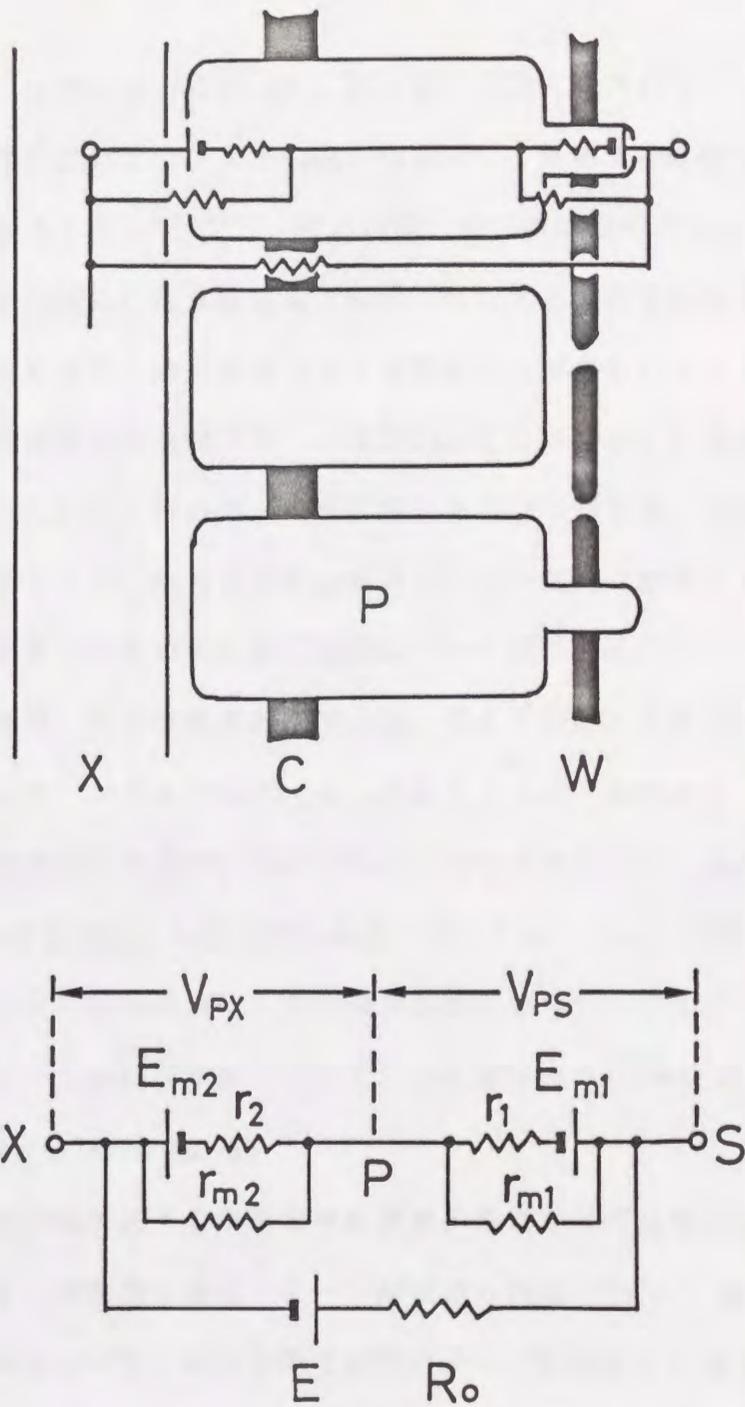


図 1-7 茎の構造の模式図及び半径方向の等価回路. X:導管, C:カスパリー線, P:シンプラスト, W:表皮. (26)

1. 3 アズキの根に見られる表面電位の時空間構造

前節で述べたように、植物は成長に伴って、根や茎の周囲に電気的なパターンを形成している。著者らは、これまでアズキの根を対象にして表面電位を測定し、成長と電気現象の関係を調べてきた⁽³²⁻⁴²⁾。その結果、根の表面近傍の水溶液中の電位を測定すると、根の全域にわたり軸方向に沿ってバンド状の周期的な電位パターンが自発的に形成されており、伸長領域付近では特徴的な固有のパターンを示す事が判った。さらに、根は電位の空間パターンを形成するだけでなく、周期数分の電位の時間振動も起こしている。根の周囲に形成される電位の時間的・空間的構造は、非常に安定した構造であり、成長と密接に関係しながら動的に維持されている。本節では、本研究の背景となるこれらの研究成果について簡単に述べる。

アズキはマメ科の植物で、地下性発芽種子である。図1-8にアズキのいくつかの成長段階での写真を示す。アズキの根は(a)に示すように、蒔種後1、2日して茎に先だてて現れ、室温30℃では1mm/hから2mm/hの速度で伸長する。根の太さは直径1mm程度である。根は主根が1本だけ現れ伸長していくが、(c)に見られるように、主根が長くなると主根から分岐して側根が基部側に発生してくる。出根から1~2日遅れて発芽し、上胚軸が伸長していく。上胚軸は直径約2mmと根よりも太く、伸長速度は2mm/hから3mm/hである。

水溶液を入れた容器の中にアズキの根を水平に置き、根に沿って電極を移動させ表面の電位を測定すると、周期的な電位パターンが観測される^(32,33)。表面電位の測定方法と、根が伸長するいくつかの段階で電位パターンを測定した例を図1-9に示す。電極は、根に接触しないように設置するが、表面と電極の距離によって大きく測定電位が変動するので、根の表面から0.5mmの距離を保ちながら移動させる。電極を根の対面で移動させて電位を測定し比較したところ、ほぼ同一のパターンが得られた。従って、根の周囲の電位分布は、根を取りまく様な軸対称のバンド

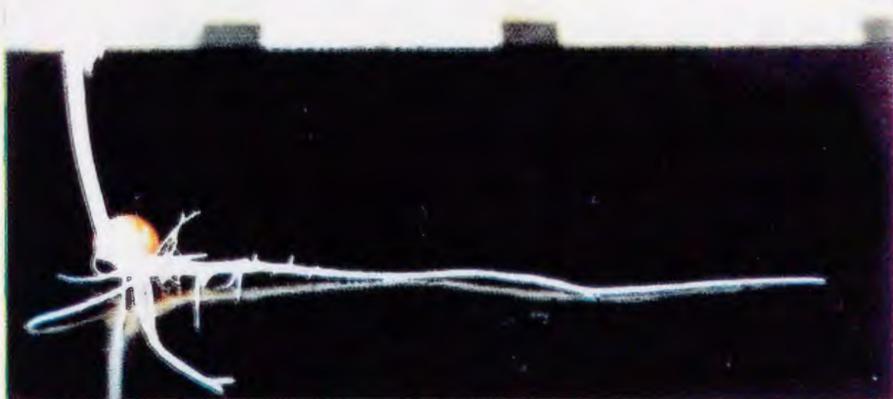
(a)



(b)



(c)



(d)



図1-8 アズキの各成長段階での写真。(a) 蒔種後2日、(b) 3日、
(c) 5日、(d) 18日。

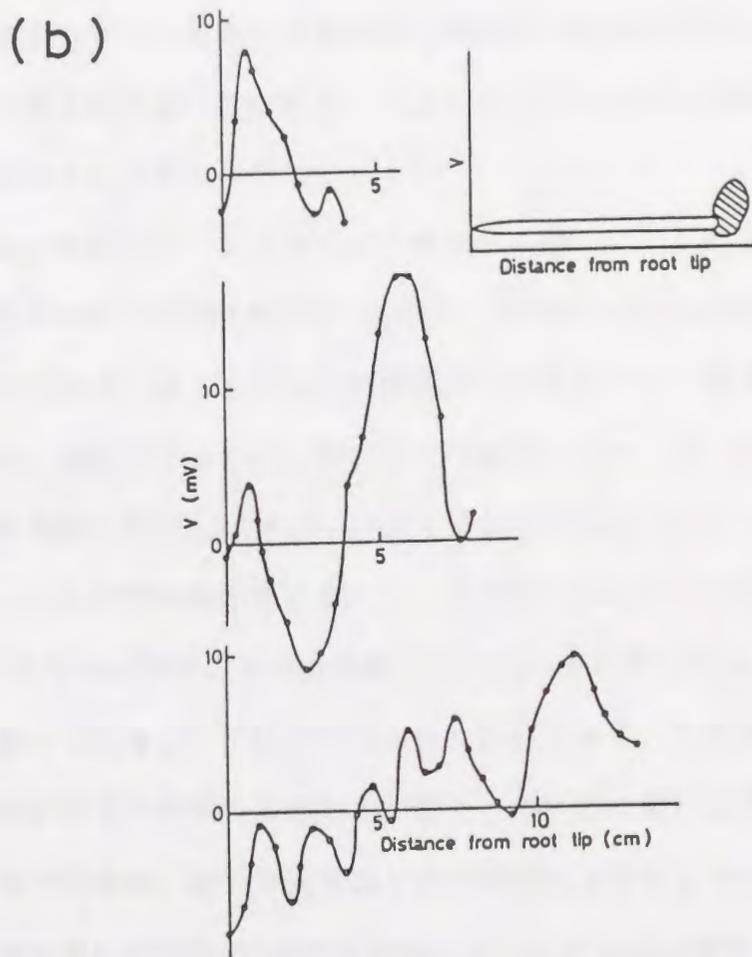
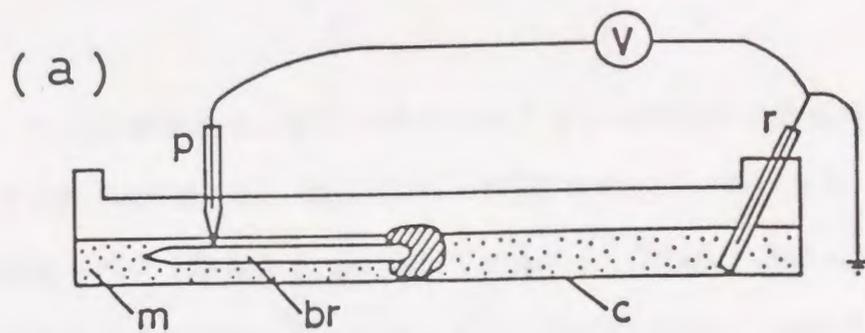


図 1 - 9 根の表面電位の測定方法 (a) 及び測定結果 (b) . p : ピベット電極 .
 r : 基準電極 . br : アズキの根 . c : 容器 . m : 0.01mM KCl 溶液 . 電極の
 先端は根の表面から 0.5mm 離れた位置に置かれる . (32)

状パターンになっている事が判る。電位パターンの大きさは周囲の水溶液の塩濃度に依存するが、0.1mM KCl溶液では、最大で約10mV程度の電位差が発生する。根がごく短い時期では電位パターンはあまり安定していないが、5cm以上伸びると安定なパターンが得られるようになる。図1-9(b)に見られる様に、根が長くなると、電位パターンは周期2cm程度の周期的な形状になり、根が伸びていくに従ってバンドの数が增加する。根が伸びても、電位の山と谷の種子部からの相対的な位置関係はほとんど変化しない。伸長する領域が先端の約1cmの範囲に限られている事を考えると、この測定結果は、根が伸長してもいったん形成された電位パターンはほとんど変化しないという事を意味している。

根の伸長とともに電位パターンが移り変わる様子を図1-10に示す⁽³⁴⁾。根の基部側から測って30mmから50mmの約2cmの範囲を、2~4時間おきに30時間以上にわたって測定したものである。図1-10の各測定データにおいて、最も右側が根の先端に対応している。図に示すように、根が長くなるにしたがって、山や谷が先端側に新しく付加される様な形で、パターンの山と谷の数が増えていく。先端から2cm以上基部側では、一旦形成された電位パターンは大きく変化していない。△で示した、時刻10:02の辺りから顕著に見られる電位の山は、その後もほとんど位置的に変化する事無く残っている。○や□で示した山も同様である。この事は図1-10で示さなかった基部側の0~30mmの範囲でも同様で、絶対値は幾分変化していたものの、大きな山や谷の位置は、総て実験開始から30時間以上変化していなかった。他方、伸長領域を含む根の先端部約1cmの範囲は、例えば測定開始時刻の電位パターンと31時間53分後の電位パターンで良く似かよっているが、その他の時刻でも先端側で電位が低い形状が多く見られている。ただし、山や谷が作られる過程で電位がフラットになる時もあるなど、この部位ではかなり動的な変化も見られる。これは、既長領域で電位のパターンが形成される事によって影響を受けるためであると思われる。この様に、根の表面電位パターンは、既長領域である基部側ではほとんど固

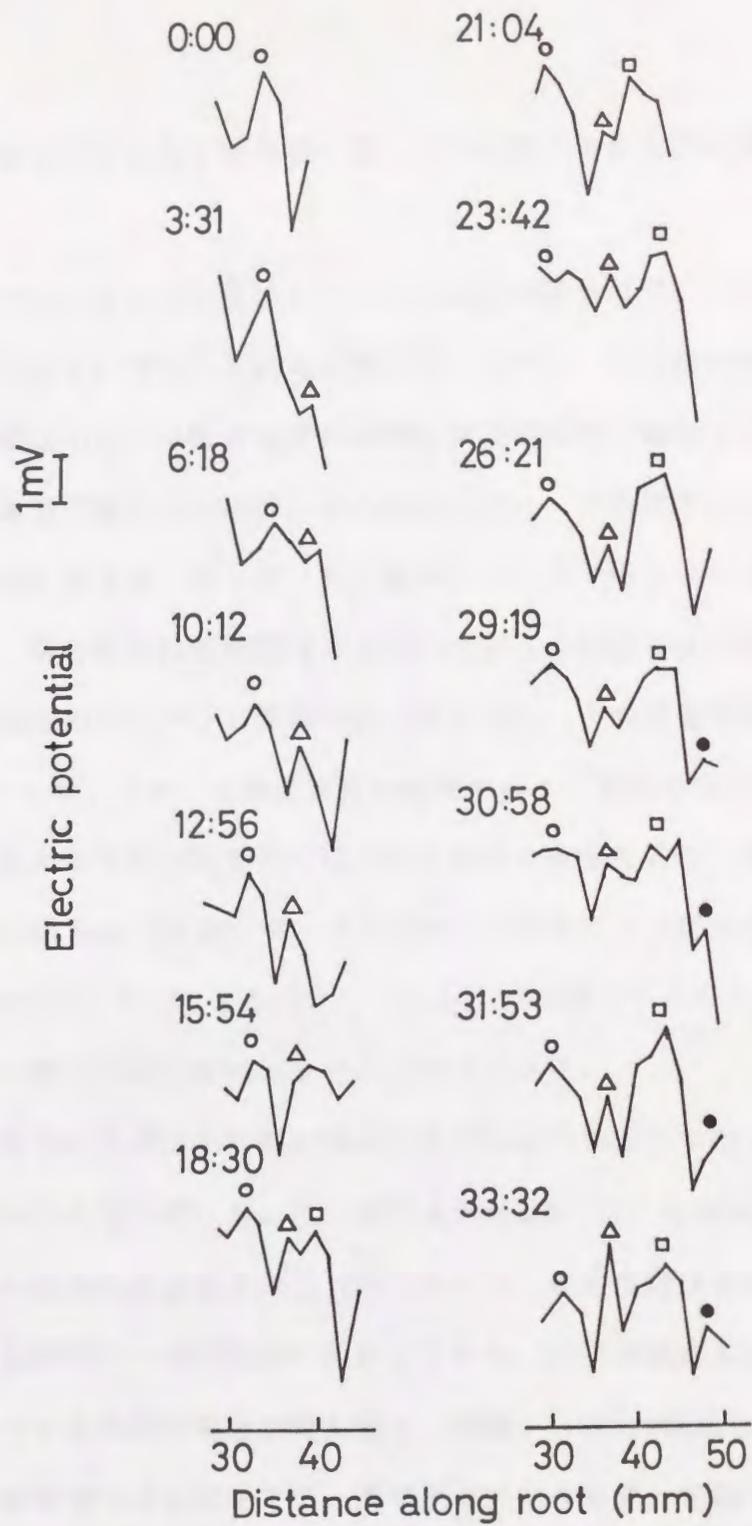


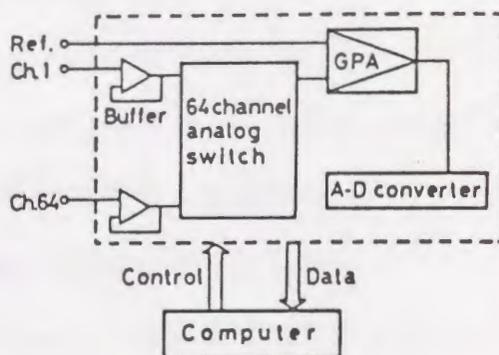
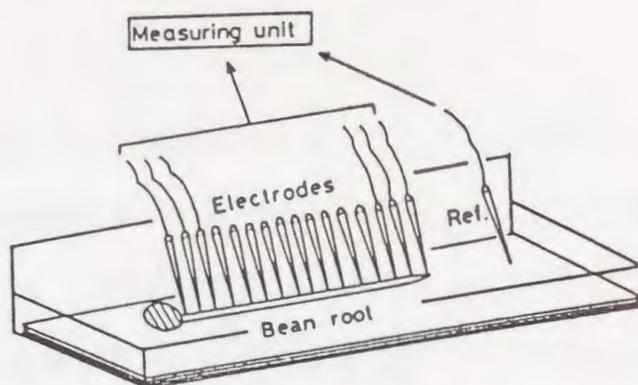
図1-10 伸長に伴う根の表面電位パターンの移り変わり。各データの数字は実験開始からの時間（時間：分）。横軸は根の種子部からの距離を表しており、各時刻の右端のデータが根の先端位置に相当する。(34)

定したものであり、根が長くなると先端部に新たに付け加わる形で形成されている事が判る。

短時間の時間間隔では、ほとんど電位パターンの変化は見られないので、電位パターンは安定に形成されているものであると言える。しかし、一箇所の電位を連続的に測定すると、振幅は小さいが数分程度の周期の時間的振動も観測される。図1-9(a)で示した測定方法で10cm程度の根の電位パターンを測定すると、1回の測定で30分程度の時間を要する。従って、長い時間スケールでのパターンの変動を調べる事はできるが、数分から数時間程度の時間的な変化の測定には不向きである。比較的短時間での表面電位パターンの変動を調べるために、多点電極測定装置を作成した^(35,36)。図1-11(a)に測定装置の構成を示す。電極を根の軸に沿って並べ、各電極で検出する信号を電氣的に切り替えながら測定を行う。従って、各電極の測定値は同時刻のものではないが、コンピュータ制御による測定を行い、1点の測定を0.1秒以内で行う事ができるので、1分以上の時間スケールの現象を測定する場合、電極間の測定時間のずれはほとんど無視できる。

多点電極測定装置を用いて測定した表面電位の測定結果の典型例を図1-11(b)に示す。約12cmの長さの根に対して、電極を4mm間隔で並べ電位を測定したもので、時間的変動と空間的変動を3次元表示している。根の先端は表示したパターンの最も右側で、空間軸の11cmの位置に対応している。伸長領域のある先端付近では、表面電位パターンは先端の電位が最も低く、先端から約1cm程後方に正のピークが見られる。振動電極による測定では、基部側で外向き電流、先端で内向き電流が生じているという結果が得られているが、この電流分布が、基部側から先端に向かう電位勾配を作りだしていると考えられる。一方、基部側では周期約2cm程度の空間的周期構造が見られ、表面をよぎる電流ループがいくつも存在している事を示唆している。これらの特徴はアズキの表面電位として普遍的に見られるもので、1本の電極で測定した結果(図1-9(b))でもほぼ同様である。図1-11

(a)



(b)

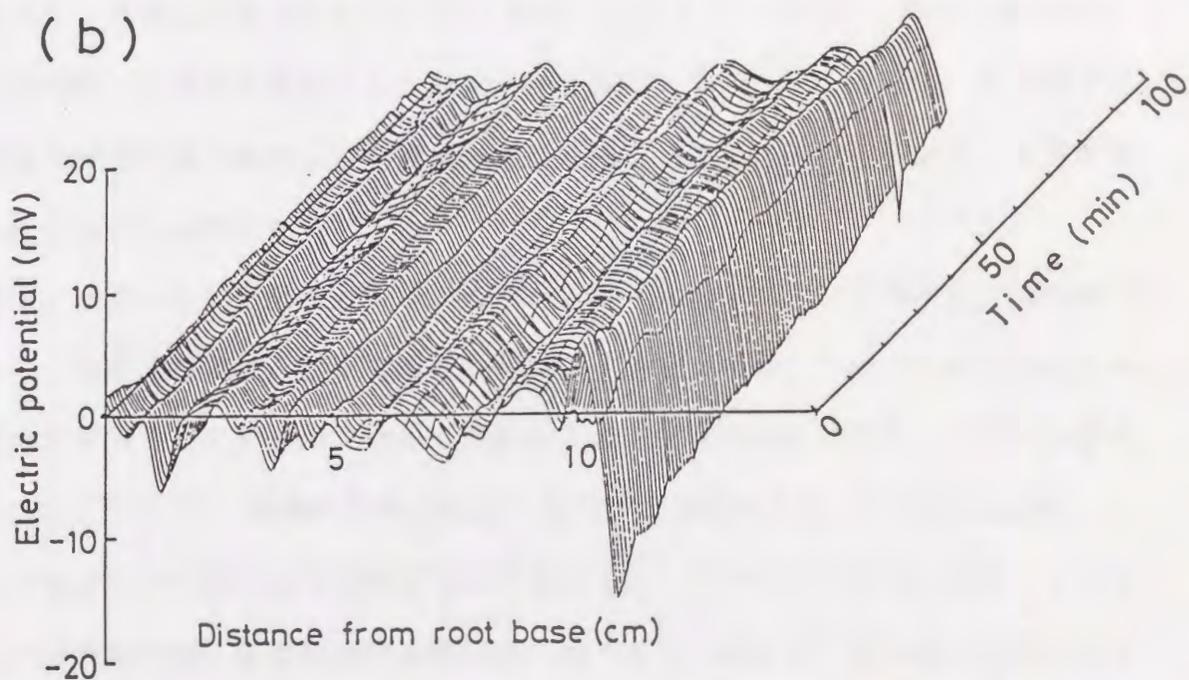


図1-11 多点電極測定装置 (a) 及び測定結果の時空間表示 (b). 横軸の最左端が種子と根の境界で, 表示データの最右端(11cm)が先端位置に相当する. (35)

(b) の空間パターンには小さく不規則なパターンも見られるが、これは電極の先端と根の表面との距離が電極によって僅かに異なる事によって生じる誤差であると思われる。空間パターンは、100分の測定時間ではほとんど変化しておらず、非常に安定したパターンである事が判る。この測定例ではパターンの形状には大きな変化は現れなかったが、根が伸長するに従って先端付近の電位パターンが大きく変化する様な測定例も見られた。これは、伸長とともに新しくバンドが生じる時で、連続的にパターンが移り変わっていくのではなく先端の1~2cmの狭い範囲で電位の急激な変化が起こり、同時に振動的な振舞いも観測された。この時でも、やはり基部側の大部分ではパターンの顕著な変化は見られなかった。

表面電位の空間パターンの形成は、根の成長と密接に関連している現象である。主根の外部の、伸長領域と既長領域の間をプラスチック板とワセリンで電氣的に絶縁すると、伸長は阻害される^(37,38)。他方、プラスチック板の一部に穴をあけたり伸長領域より後方を絶縁しても伸長の阻害は起こらない。この事は、既長領域から伸長領域や先端へ流れている電流が絶縁処理によって妨げられた結果、伸長が阻害されたものと解釈される⁽³⁹⁾。

また、パターンは呼吸などのエネルギー生産で維持されている事が以下の実験で判った。自然状態では、表面電位を数時間以上測定してもパターンの変化はほとんど見られず安定しているが、酸素の供給を止めて呼吸を停止させるとパターンは消失していく^(40,41)。周囲の気体の組成を制御できる様な密閉した容器を制作し、その中にアズキを置いて根の表面電位を測定した。根は約10cmのものを用いているが、この段階では、茎は数cm程度伸びた状態である。植物は、根も茎も表面で呼吸活動をする能力があるが、根は総て水溶液の中に置いており、水溶液は初期の状態から変えていないので、呼吸の大部分は地上部の茎で行われていると思われる。図1-12に無酸素処理した時の表面電位パターンの変化を示す。空気から窒素に置き換える事によって無酸素化した。図中で、空間軸は50mmの位置が根の先端に相当

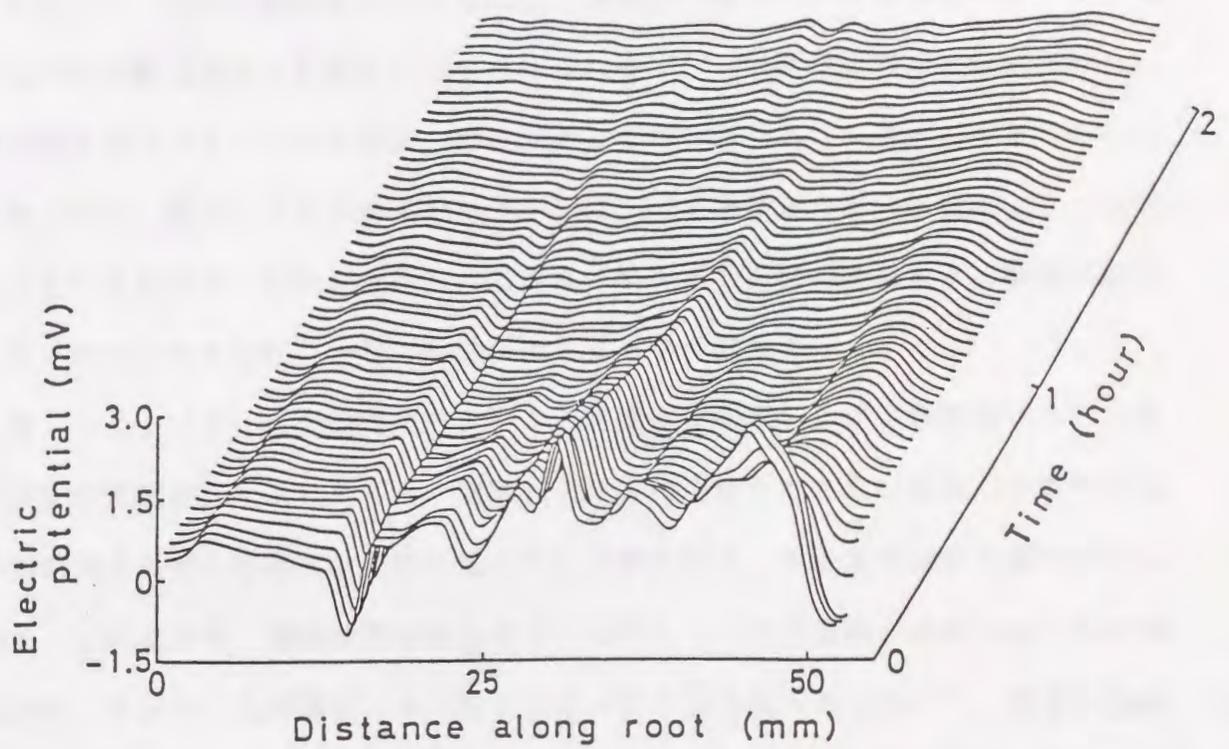


図 1 - 1 2 無酸素処理による根の表面電位パターンの平坦化. 無酸素化した直後からの電位パターンを示している. 横軸は左が基部側で, 表示データの最右端(50mm)が根の先端位置に当たる. (40)

し、時間軸は酸素の供給を停止してからの時間を表している。表面電位パターンが測定範囲の全域にわたってゆっくりと消失し、平坦になっていく様子が判る。無酸素化してから2時間後には、表面電位パターンはほとんど完全に消失してしまっている。伸長速度も同時に測定されたが、電位パターンの消失とともに伸長速度も著しく低下し、成長活動がほとんど停止した事から、大気は無酸素処理によってアズキの呼吸活動はほとんど停止したと考えられる⁽⁴⁰⁾。無酸素処理の実験結果から、根の表面電位パターンの形成は、呼吸によって得られたエネルギーを必要としている事が判る。即ち、これらの電位パターンは、イオン輸送の不均一性によって形成されているもので、呼吸に依存した起電性イオンポンプの活動によって動的に維持されていると考えられ、一種の散逸構造と見る事が出来る。

図1-11(b)に表面電位パターンの時間変化を示したが、各電極における測定電位の時間変化をよく見ると、空間パターンの形状を乱さない程度の小さな振幅で周期10分程度の時間的な振動も生じている事が判る。多点電極測定装置で測定した多くの測定例で、振幅は異なるものの、測定した全域で振動が観測され、その周期は同一であり、位相関係にも一定の性質が見られる事が判った⁽³⁴⁾。振動の振幅は根の位置によって異なり、先端と伸長領域で比較的大きく、基部側の既長領域では先端付近の振幅の数分の一程度である。各電極における時間振動の様子の例を図1-13に示す。各電極の測定データの空間間隔は2mmである。各測定電位は、振動の位相関係を見易いように任意倍率で表示している。根の全域で、位相の揃った電位振動が起こっている事が判る。振動の周期は約12分である。根の最先端が図の中の29番のデータに対応しているが、振動の位相に関して大きく3つの領域に分かれている。基部側から見ると電極の1番から24番まではほぼ同位相で振動しているが、26番及び27番の電極の振動の位相は、ほぼ180度ずれている。25番の電極は、ちょうど境界にあたり、はっきりした振動が見られない。さらに先端付近の電位振動を詳細に見てみると、28番の電極の電位を境界として、最も先端の29番の電極の

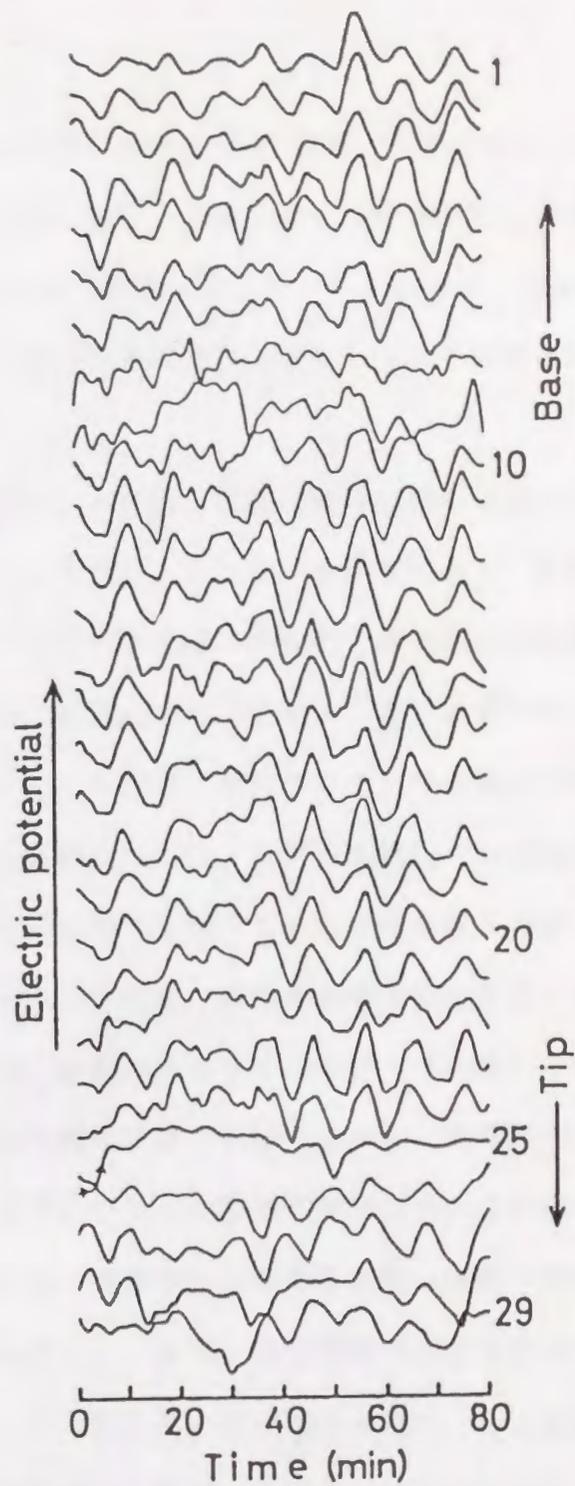


図 1 - 1 3 根の各位置における自励振動の位相関係。電位は相対値で、図中右側の数値は電極の番号を示している。電極は2mm間隔に並べられ、29番のデータが根の先端に当たる。(34)

電位振動は、26番や27番の電位の振動とほぼ180度のずれが生じている、即ち、基部側の振動と同位相である事が見てとれる。これらの事から、先端と基部で同位相の振動、先端から2~6mmで逆相の振動が生じている事が判る。先端から2~6mm後方は、ちょうど伸長領域であり、電位振動の位相が逆転している領域と伸長領域は、ほぼ一致している。

図1-13で示した表面電位の時間的振動現象は、伸長領域から遠く離れた領域を含む、根のほぼ全域にわたるコヒーレンシーを持っており、長距離の相互作用の存在が示唆される。多くの測定結果では、各位置での振動の周波数は一致しており、この場合、振動源は1箇所には局在していると考えてよいと思われる。高等植物の根は多くの細胞により構成されているが、前節で述べた茎の場合と同様に、細胞同士は細胞間連絡により互いに結合しており、内部の組織を一つの巨大細胞とみなす事が出来る。従って、独立した起電力を持っているのは表面と導管に接する細胞膜だけであると考えられ、電位の振動源は、表面側か導管側のどちらかの細胞膜にあると推測される。コヒーレント振動のメカニズムを調べるために、既長領域と伸長領域で表面電位の測定と同時に内部に微小電極を刺入して膜電位を測定した⁽⁴²⁾。その結果、既長領域では膜電位は小さく不規則に変動しているものの振動成分は現れなかった。一方伸長領域では、膜電位は表面電位と同じ周期で振動しており、振動の位相も同位相である事が判った。また、伸長領域での膜電位の振動の振幅は、表面電位の振動振幅に比較して一桁大きい値が観測された。もし振動源が表面側にあるのであれば、膜電位と表面電位の位相は反転していなければならない。実験結果と矛盾する。従って、振動源は伸長領域の導管側に存在し、導管側と表面側の細胞膜を介して根の全域にわたる表面電位の振動が現れていると推測される。

そこで、図1-14(a)の等価回路モデルで表現して考察してみた⁽⁴²⁾。柔組織と呼ばれる細胞連続体内部(Parenchyma symplast)、細胞膜を介した根の表面近傍の水溶液(Extracellular medium)、及び根の中心に位置し水の輸送を担っている

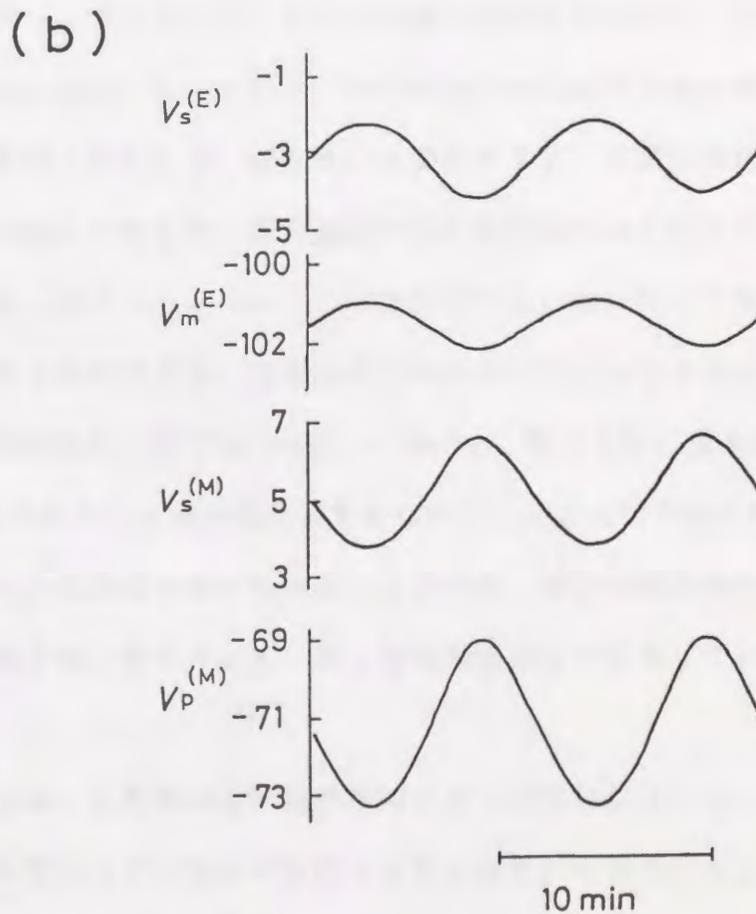
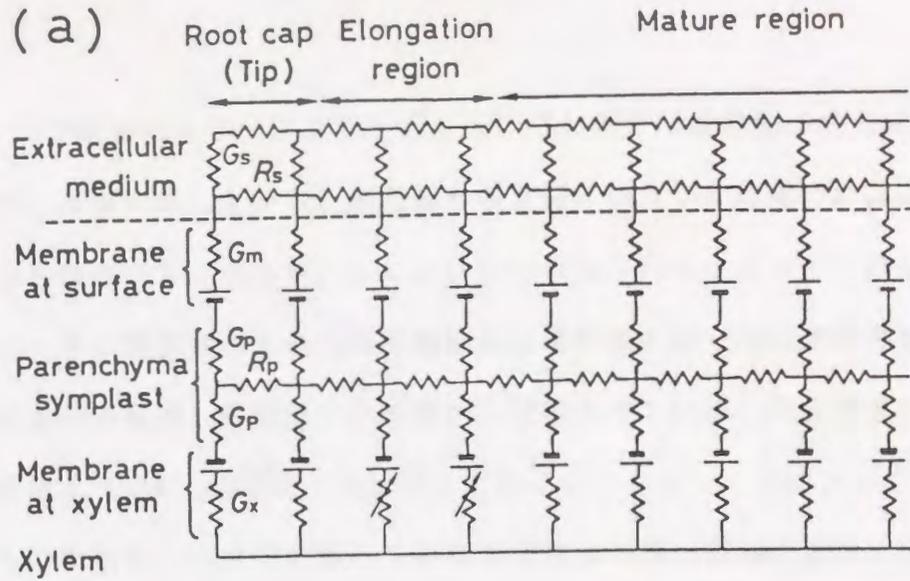


図 1 - 1 4 水溶液中の根の等価回路 (a) 及び等価回路から計算した電位振動の波形 (b) . V_s, V_m, V_p は、それぞれ表面電位、水溶液を基準とした細胞内電位 (膜電位) 及び導管を基準とした細胞内電位を表し、(E) と (M) はそれぞれ伸長領域と既長領域における電位であることを意味している。(42)

導管(Xylem)の3つの領域に大きく分けてモデル化したもので、根の軸に沿って回路素子が分布している事を表している。表面側と導管側に独立した起電力があるのは図1-7の等価回路と同じであるが、ここでは特に長軸方向のイオンの流れに注目しており、図1-7で無視されていた外部溶液及び柔組織の軸方向の連絡を抵抗結合で表現している。導管は、等電位である事から短絡させている。表面側及び導管側の起電力と抵抗 G_m, G_x は、起電性イオンポンプとイオンチャンネルによるものを一緒に表したものである。 R_s は根が浸っている外部溶液の長軸方向の抵抗、 G_s は同じく溶液の半径方向のコンダクタンス、 G_m は表面側の膜コンダクタンス、 G_p は柔組織の半径方向のコンダクタンス、 R_p は柔組織の長軸方向の抵抗、 G_x は導管側の膜コンダクタンスを示している。ここで、伸長領域における導管側の膜コンダクタンス G_x の変化を振動源と仮定する。表面電位を測定すると、既長領域においても広い範囲で振動現象が観測されるが、伸長領域内部に振動源がある場合の振動の伝播について考えてみる。図1-14(a)の等価回路では、軸方向に3本のケーブルが並んでいるとみなす事ができる。各抵抗値を実験的に妥当な値を代入して空間定数を求めると、外部溶液に対応するケーブルでは2mm、根の表面の膜を介したケーブルでは3mmであるのに対して導管側の膜を介したケーブルでは70mmという、実験対象とした根の長さと同程度の値になった。この事は、導管の膜抵抗の変化を源とする電位振動が、導管側の膜を介して、遠くの既長領域まで伝播している可能性を示唆している。

根の軸方向に先端、伸長領域及び既長領域の3つの領域に分けて、等価回路をさらに簡単化し、各回路素子に従来の実験より得られている値を代入して計算して各領域の電位を求める事により、表面電位及び膜電位の位相関係を説明する事が出来る。図1-14(b)にその結果を示す。これは、伸長領域の導管側の膜抵抗を正弦波的に変化させた時の伸長領域の表面電位と膜電位及び既長領域の表面電位と内部電位の振動の様子を示したものである。実験で見られるように、伸長領域の表面

電位と膜電位は同相で振動している。既長領域では内部電位及び表面電位ともに伸長領域の表面電位と逆相になっている事が判る。ただし、先端から離れるにしたがって、既長領域の表面電位の逆相成分は速やかに減衰する。代わりに、やはり伸長領域の表面電位と逆相の、既長領域の内部電位が約700mm/secという大きな速度で導管を伝って根の全域に伝播し、それが表面電位に反映され、根の全域にわたる高いコヒーレンシーとして見える事になる。

1. 4 本研究の目的と本論文の概要

以上、高等植物の根や茎に見られる電気的な現象に関する従来の研究結果について簡単に述べてきた。これらの結果から、根や茎の軸に沿った表面電位パターンの形成は植物においてごく普遍的な現象であり、成長現象と深く関連している事が判る。植物は、環境の変化に対して安定な構造を保とうとする機能を持っており、単に環境に支配されているだけでなく常にイオンの輸送を始めとして、呼吸や光合成など外界との相互作用を行いながら成長している。植物の根や茎の表面に電位パターンが観測されるのは、植物が外界との相互作用の中で内部や外部に最適な電気化学的構造を作り出した結果であると考えられる。これらの研究成果は、電気的な測定手段による植物の生理機能の診断・評価や電気的環境の最適化による成長の制御などの可能性を示唆するものである。

しかしながらこれまでは、植物工場における生体情報計測法には電気生理学的な手法はほとんど用いられていない。現在、多くの個体の平均的な情報として、炭酸ガス濃度や湿度など比較的容易に評価し得る物理量が主として測定されているにすぎない。しかし最近では、より高度な生体情報が求められるようになり、時間的・空間的な情報の測定法や評価法の開発が要請されるようになってきている。特に、植物にとって電気化学的な現象は養分吸収に関連したイオン輸送状態を反映してい

るなど成長現象と本質的な部分で強い相関が存在するため、成長に関連した生理機能に関する多くの情報を含んでいる。従って、電気的な測定は成長の診断の1つの手段としても有力であると思われる。本研究の第一の目的は、植物の生体情報の無侵襲な非破壊計測法として表面の電位を測定し、これと成長の関連を詳細に調べる事によって、成長の診断を行うための基礎的な知見を得る事である。

このためには、植物の根や茎の周囲の電気化学的構造と成長活動との関係を詳しく調べる必要がある。1.3節に述べたように、根の表面電位の時空間構造については既にある程度判っている。しかしながら、成長との関係を調べるためには電位パターンに関してより詳細な測定が必要である。また、コヒーレント振動現象に関しては、成長とどのような関係があるのかは未だほとんど判っていない。一方、茎においては二起電力モデルによって表面電位パターンの発生機構が説明されているが、長軸方向のイオンの流れに関しては考察されておらず、成長との関係も未解決のまま残されている。本研究の第一の目的は、具体的にはこれらの未解決な点を明らかにする事である。

植物の根や茎が成長する過程で、周囲に電気的な環境を自発的に形成しているという事実から、電気的な環境を外部から強制的に与えた場合、成長に影響を及ぼす事が考えられる。これまでも、動物や植物に定常電界や定常磁界、さらには電磁界などを照射してその時の影響を調べる研究は古くから広く行われてきた。しかしながら植物に対しては電気的な刺激の影響はあまりよく判っていない。多くの実験は、高電圧送電線における高電界や電磁波など、大気中の電磁界の影響について調べられたものであり、植物が自発的に形成している電界強度よりもはるかに大きな強度の電界が印加されている。本研究の第二の目的は、電気的環境による成長の制御の可能性を調べるために、これまでは詳しく調べられていなかった比較的弱い電界が植物の成長に与える効果を明らかにする事である。

本論文はこのような目的で行った研究の成果をまとめたもので、7章からなる。

以下の各章の概要は次に述べる通りである。

まず第2章では、本研究の対象としたアズキを水溶液中で生育させた時、根の伸長領域の近傍に形成される電流パターンについて詳細に調べた結果について述べる。根は形状的には均一でも、表面近傍の電位を測定すると軸に沿って数mV程度の電位パターンが形成されており、特に伸長領域付近の電位パターンは伸長に密接に関連している事は既に述べたとおりである。電位パターンは根が周囲の水溶液に対して輸送するイオンの流れを反映していると考えられるが、表面に沿った1次元方向の測定であるために輸送される電流量に直接対応させる事が出来なかった。そこで、測定された表面電位を境界条件として与え、2次元平面上の領域で解析する事によって、根の輸送する電流密度パターンや H^+ をはじめとする各種イオンの流束パターンを求めている。ここで述べる解析手法によって、測定された表面電位から生理活動を直接反映する物理量である電流やイオンの輸送量に定量的に変換する事が可能となった。その結果、伸長領域のやや後方から湧出した電流が先端付近で吸い込まれており、電流の約30%が成長に特に重要と考えられている H^+ の流束によるものである事が示されている。これらの解析結果が、根の伸長領域への H^+ の供給が細胞壁の伸展を介して根の伸長を促しているという、酸成長説の裏付けとなるものであり、また従来 of 振動電極を用いた報告と概ね一致するものである事を述べる。

第3章では、表面電位の時空間構造としてもう一つの特徴である時間的振動現象と伸長活動の関係について調べた結果について述べる。その結果、振動現象が見られる個体群と見られない個体群では伸長速度に大きな差が見られ、振動が生じる個体群の方が高い伸長速度を示す事を明らかにした。さらに振動の周波数に着目すると振動を示す個体群の中でも、周波数の高い個体ほど伸長速度が高い傾向が見られる事を示し、その温度特性についても詳しく述べる。これらの結果から、表面電位の振動現象が生化学反応と関連している事が示唆され、特に振動の周波数が成長活動状態を評価する指標となり得る事を指摘する。

第4章では、根が成長して側根が生じ、根系が形成される時に現れる電気化学的パターンの構造について述べている。側根の出現とともに周囲の電位パターンは大きく変化し、主根の先端と同様に、強い電流の吸い込みが起きている事が示されている。また、長く伸長した後の側根の表面電位パターンを測定した結果を示し、主根における電位パターンの時空間構造との相違点が伸長速度の差から生じるものである事を示唆する。主根の表面電位は側根の形成とともに次第に低下するようになってくるが、これは表面に蓄積した H^+ の拡散によるものである事を理論的に示し、表面電位の発生機構が、成長とともに電流ループによる電位パターンから電流を伴わないイオン拡散による電位パターンへと移行していく様子が明らかにされている。また、この拡散電位が H^+ の放出を通しての無機養分を吸収機能を反映したものである事が示されている。これらの結果は、 H^+ の拡散により発生する表面電位が側根の分布と強い相関がある事を明らかにした上で、表面電位の測定による成長の評価が、主根の基部側においても有用である事を示唆している。

第5章では、茎に見られる表面電位の時空間構造について測定し、さらに軸に沿った表面の電流を阻害した時の成長の影響を調べた結果について述べる。従来、茎表面に流れる電流は確認されていなかったが、茎においても根と同様に電位の空間パターンや時間振動が観測される事から、表面付近に軸に沿って電流が流れている事が示唆された。さらに、茎の一部を輪状にワセリンを塗布して伸長領域と既長領域の間の電流を遮断すると、伸長速度の低下が見られるようになる事を示し、また電流の遮断による伸長速度の低下とともに伸長領域の酸性化が低下する事から、根と同様な H^+ の流れの存在を明らかにする。これらの結果は、表面の電流が成長に果たしている役割の重要性を指摘し、表面電位の測定による茎の成長評価の可能性を示唆するものである。

第6章では、根に対して外部から電界を印加して成長に与える影響を調べた結果について述べる。その際に、電気刺激に対する根の応答の機構を明らかにするため

に、同時に電気化学的測定を行っている。根の軸と平行に電界を印加した場合、電界の極性に応じて伸長の促進や抑制が生じ、直交する電界を印加した場合には正極の方向への屈性が現れる事を示す。電界の印加による伸長速度の増減が酸性化の増減とよく対応している事を示し、伸長速度の変化が電界印加によって生じる根の周囲の H^+ の濃度分布の変化により引き起こされるものである事を、簡単な1次元系を基にした考察により定性的な説明を行う。

最後に第7章において、以上得られた植物の成長活動と表面電位の時空間構造との関連性や、外部電界の印加による成長の制御に関する研究結果を総括し、残された問題や、今後の課題について述べる。

第2章 幼根の伸長領域近傍における

電気化学的パターンの形成

第1章で述べたように、高等植物の根の表面付近の電位を測定すると軸に沿ったバンド状のパターンが形成されていることが判る。観測された表面電位は、空間的には周期的な構造を示すとともに、時間的にも全域にわたってコヒーレントな振動が生じている。従って、根は外見的には軸方向に均一な形状であるにもかかわらず、電気化学的な機能に関しては空間的な不均一性が見られ、細胞間の相互作用が存在していることが示唆される。この表面電位パターンは根の表面をよぎる電流を反映していると考えられるが、表面電位の測定だけでは根の内外の電流ループが生命活動にどのような役割を持っているのかは明らかではない。しかしながら、伸長領域付近に形成されている電流を妨げると伸長速度が低下することなどから、伸長領域の近傍の電流パターンは伸長活動と密接に関係していることが推測でき、その詳細を知る事は成長状態を評価する上で特に重要であると考えられる。

そこで本章では、従来詳細には調べられていなかった伸長領域が存在する根の先端近傍を対象とし、根の周囲の水溶液中に広がる電流や個別のイオンの流れのパターンに関して詳細な研究を行った結果について考察する。根の表皮細胞は、特定のイオンを能動的あるいは受動的に輸送する事で周囲にイオンの流れを形成しており、このイオン流束の空間的な不均一性がマクロな電流ループや濃度分布を作り出す。根の周囲の電流の広がりには3次元的に考察しなければならないが、本研究における実験条件では、根の周囲の水溶液は薄い層状であり、電流は根の表面のごく近傍を除いてほぼ2次元的に広がっていると考えて2次元平面上で解析した。従来振動電極を用いて電流分布を測定する際に、単純に電位勾配に比例して電流が発生すると

いう考え方に基づいて電流密度に変換されてされている⁽¹⁰⁾。しかしながら本来電流を作り出しているのは特定のイオン種であり、電気化学ポテンシャルに基づいて各イオン種の流れが決まるため、電界強度と電流密度は必ずしも比例関係にはなっていない事がこれまでも指摘されていた^(43,44)。本章では電気化学ポテンシャルに基づいて、これまでに得られた表面電位の測定データを解析する事によって、根の周囲に発生するイオンの流れを定量的に求めた。まず周囲の水溶液中に形成される電位やpHのパターンに関する測定を行った結果を示し⁽⁴⁵⁾、その測定結果をもとに、イオン流束の式からイオンの流れと濃度の関係について2次元平面上で理論的に解析し、各種イオンの流れのパターンに関して考察した⁽⁴⁶⁾。

2. 1 実験方法

2. 1. 1 実験材料の作成

本研究では、豆科の高等植物であるアズキを対象としている。生物を実験の対象としているために、形状や成長速度など材料の個体差は非常に大きい。したがって、信頼出来る実験結果を得るためには、均一な環境条件下でアズキを生育し、なるべく成長速度など同じ状態の個体を用意した上で同一の条件での実験を多数回行い、統計的な処理を行うか、または典型的な実験例を示す必要がある。

アズキの種子は湿った雰囲気中に置いておくと出根するが、出根を早めるためにまず種子を40°Cの純水に約4時間浸しておいて吸水させる。アクリル製の容器の中に、0.1mM KClの水溶液で湿らせた濾紙を敷き、その上に吸水させた種子を並べ、さらに上から湿らせた濾紙をのせた状態で恒温槽の中に置く。室温を約30°Cに保って2日間放置すると、種子から1cm程度の長さの根が生じる。この段階で根が浸る程度の量の0.1mM KCl水溶液が入った別の容器に移し換えると、大多数の根はほぼ

直線的に伸びていく。再び約30°Cの恒温槽内で生育させると根の伸長速度は1mm/hから2mm/hなので、一日あたり3cmから5cm程度伸びていく。根の長さが10cmを越えたあたりから、側根が顕著に現れてくるようになるが、本章で行った実験の対象とした根は、長さが6cmから8cm程度の、まだ側根が現れてない個体である。多くの個体を生育させた中で、根の伸長が速く、まっすぐに伸びている個体を選んで実験に用いた。

2. 1. 2 電気化学パターンの測定法

前節で述べた様に、実験に用いるアズキは根を濾紙の上に水平においた状態で生育させるが、この時水溶液は根が浸る程度の量としている。この条件は表面電位などの測定を行う場合も同じであり、根の周囲の水溶液は薄い層状に水平に広がっており、この中で電流パターンが形成される。水平に置かれた根の両面で電位を測定してもパターンにほとんど差は見られない事から、電位パターンはバンド状であり円周方向のパターンは無いものと考えられる⁽³²⁾。この実験環境で深さ方向の電位を測定しても変化はほとんど見られなかった事から、水溶液中の電流の鉛直方向の不均一性は根のごく表面付近を除いて小さいと考えられ、電流パターンの広がりに関しては水平な2次元平面上で考察して差し支えないと思われる。そこで本章で述べる実験では、主として根の先端近傍の2次元平面上の水溶液中の電位分布の詳細を測定し、併せて根の表面のpHパターンの1次元測定も行った。電位の2次元的な空間分布を測定する場合、測定点数が多いため多点電極測定装置を用い、1次元的に配列した電極を移動させる事により2次元データを得た。

多点電極測定装置の概略を図2-1に示す。電極を多数本並べる事によって、各点における電位を連続的に測定することが出来る。根の表面近傍の電極と根から離れた場所に置いた参照電極の間の水溶液中の電位差を測定する。各電極で検出され

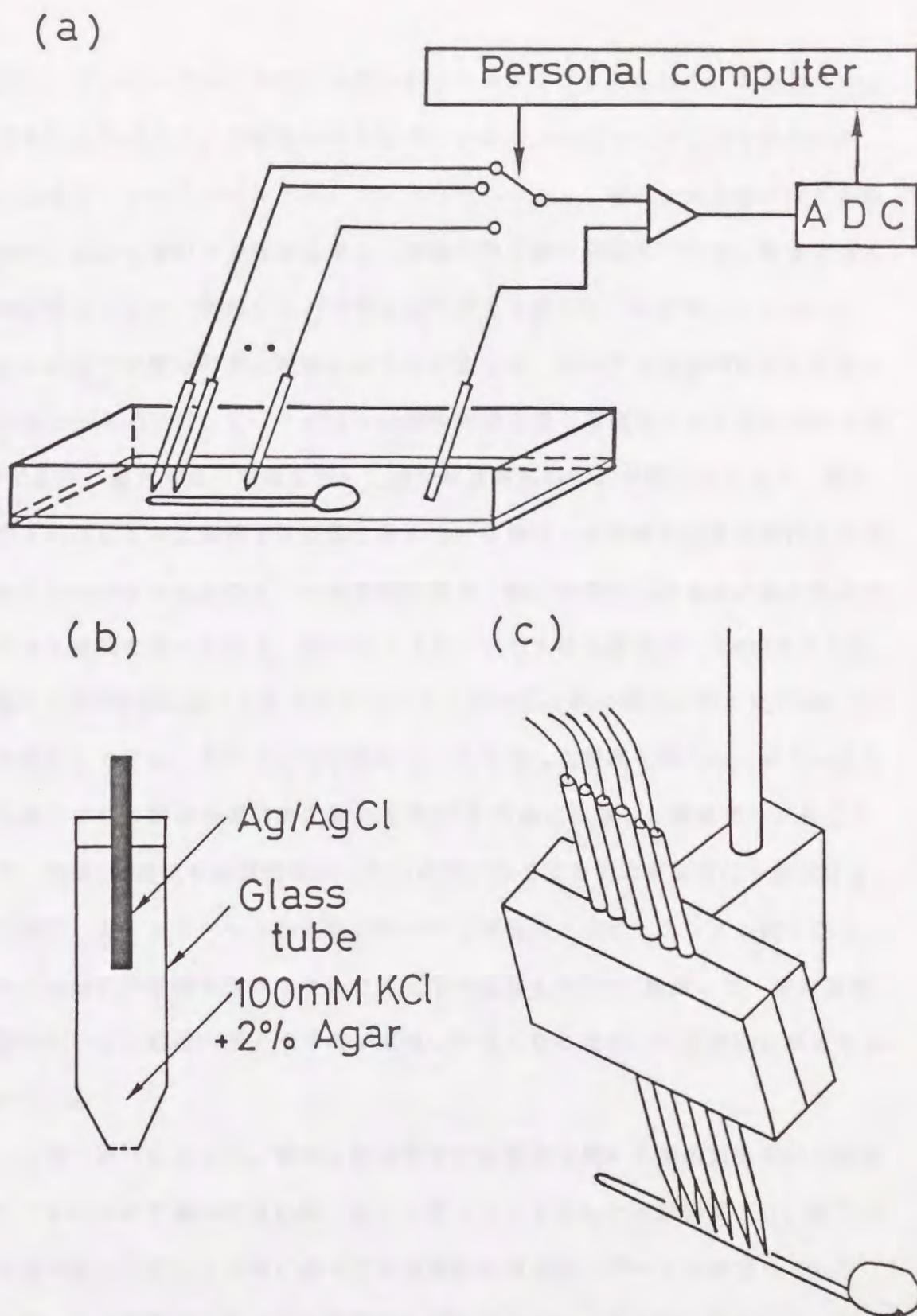


図 2 - 1 多点電極測定装置. (a) 装置全体の構成図. (b) ガラスピペット電極の構造. (c) 電極アレイの構造. ピペット電極の先端と根の表面は0.5mm離れている.

る電位は、インピーダンス変換のためのバッファアンプをとおして、半導体スイッチで切り替えながらA/D変換された後パーソナルコンピュータに取り込まれる。A/D変換はデジタルボルトメータにより行っており、精度や変換時間などの条件を目的に応じて選択する事が出来る。電極の数は最大32点まで任意に設定できる様な回路構成とした。複数の入力信号を切り替えながらA/D変換しているので、厳密には各点での電位の測定時刻にはずれが生じる。検出する現象の時定数は数分以上の値であるのに対して、1点当りの測定時間は最も高精度になる設定の時で約0.1秒であり、最大32点の電極を用いた場合測定時刻のずれが約3秒となり、測定時刻のずれはほとんど無視できる値と言える。電極は、水溶液中の直流電位を安定に検出しなければならないので、生理学的実験で一般的に用いられる銀/塩化銀ガラスピペット電極を用いている。図2-1(b)で示す様に直径が1.5mmのガラス管の先端を0.3mm程度に細くしたガラスピペットの内部に2%の寒天を加えた100mM KCl溶液を満たして固め、その中に塩化銀のメッキを施した銀線を挿入し、封入したものである。ガラス電極内部の塩化銀の周囲のCl⁻濃度に依存した電極電位が発生するので、内部KCl濃度を比較的高い一定の濃度に保てば安定に直流電位を測定する事が出来る。ガラスピペットの先端が細いほど電極のインピーダンスが高くなり、外部からの雑音の影響を受けやすいため先端の直径を0.3mmに調整した。逆に電極の先端が太いほど電極内部の水溶液が流出しやすくなるため、内部溶液に寒天を加え固めている。

1. 3節で述べたように、従来も多点電極測定装置を用いて根の表面電位の時空間パターンについて調べてきたが、図1-9(a)で示した実験装置では、総ての電極を根の表面付近にくる様に並べて表面電位の時空間パターンを測定していた。電流パターンの空間的な広がりを定量的に考察するには2次元的な電位分布の測定が必要になるため、本研究では電極の列を同時に任意の方向に移動できるように電極の固定方法を工夫した。図2-1(c)に示す様に、2mmの間隔で1列に配置し

た電極をアクリル板で一体にして固定したものをマイクロマニピュレータで上部から保持する。電極は根の軸と平行な方向に配置され、電極と根の表面との距離が任意に設定できる様にマニピュレータによって移動させる事が出来る。

根の表面のpH分布はガラス電極pH計により測定した。pH電極に先端のガラスセンサ部の直径が約2mmと小さい複合電極を用いる事で、電極の移動による水溶液の攪乱を防ぎ、局所的なpHを測定する事が出来る。電極はマイクロマニピュレータで支持されており、任意の方向へ移動させる事が出来る。

電位やpHパターンの測定を行なう際、まずアズキを測定用のアクリル製の容器に移す。容器には、0.1mM KCl水溶液が約2mmの深さだけ入っている。移した直後は移動による機械的な刺激の影響などで電位パターンや伸長速度が安定な値を示さない。そのまま30分以上静置してから測定を行なう。pHの測定を行なう場合は、水素イオンが蓄積して安定なpHパターンが形成されるにはさらに時間が必要である。1時間以上静置してから測定を行なった。電位測定を行う場合、根と電極をセットし、電位が安定した後、各電極の電位差を一定時間間隔で必要な時間だけ測定を繰り返す。根の表面とピベット電極の先端との距離は約0.5mmである。2次元平面上での電位分布を測定する際は、5分おきに電極の位置を根の表面から遠ざける方向へ2mm移動させながら連続的に電位測定を行った。多数の電極を用いる場合、各電極の電極電位には固有のばらつきがあり、この値は数mV程度と無視出来ない値である。表面電位の測定終了後に電極を根から離して各電極固有のオフセット電位を測定しておく。このオフセット電位は数時間で1mV程度緩やかにドリフトしていくので、表面電位パターンの正確な測定値を得るためには、各電極のオフセット電位の測定を表面電位測定の度に行わなければならない。このオフセット値を測定電位から差し引いて測定値の補正をする。

pHパターンは、電極をマニピュレータで根の表面に沿って2mmづつ移動させて繰り返し測定した。根の表面と電極先端の距離は約0.5mmに保つ。1点の測定には

測定値が安定するまでに数十秒を要するので、根の先端付近約30mmの範囲のpHパターンを測定するのに10分程度を必要とする。電位とpHのパターンの両方を測定する場合には、まず電位測定を行い、その後にpH分布を測定した。

2. 2 実験結果

根の先端近傍の2次元電位分布の典型的な測定例を図2-2(a)に示す。各パターンは根の軸に沿った電位パターンであり、電極を移動させてから5分後の測定値を示している。表面から10.5mm離れた位置まで測定した。各点の電位は、電極移動後2分以下の緩和時間で安定な電位に落ちついた。根の先端付近の、長軸方向に30mm、半径方向に10mmの範囲で測定を行っている。電位は、軸に沿って谷と山が現れており、第1章で示した表面電位パターンと同様の特徴が見られる。先端では電位が最も低く、先端より約10mmから15mm程後方で高い電位を示している。先端に位置する電位の谷は先端から約2mmの範囲の狭い領域で、絶対値は最大5mVと大きな電位を示しているのに対して、後方の電位の山は、先端より後方6mmから16mmの範囲と比較的広い領域であり、絶対値は最大約2mVと谷に比べて小さい。根の表面から遠ざかるにしたがって、電位パターンの振幅は単調に減衰していくのが判る。半径方向に10mmの範囲を測定したが、表面から10mm以上離れた位置でも、電位パターンは完全に消失してはいない。図2-2(a)は1つの測定例であるが、多くの測定結果を比較すると絶対値には差があるものの、形状的には共通性が見られた。この電位パターンは根が周囲に形成している電流ループを反映していると考えられる。電位勾配の形状から考えると、先端より後方の電位の山から、先端の電位の谷に向かって電流が流れており、この電流が、半径方向にも山と谷の距離と同程度に広がっていると考えられる。

根の表皮細胞は、外部の水溶液との間にイオンポンプによる能動輸送やイオンチ

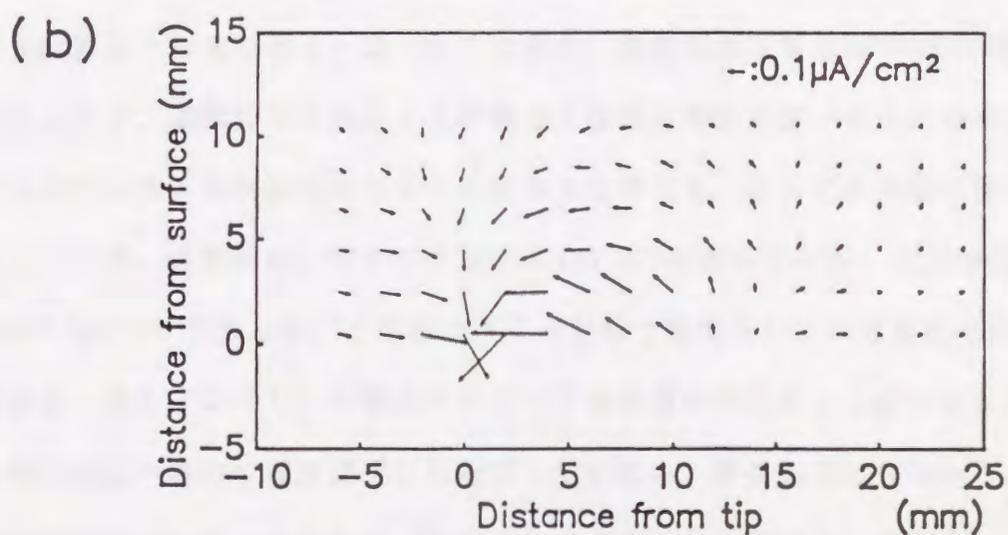
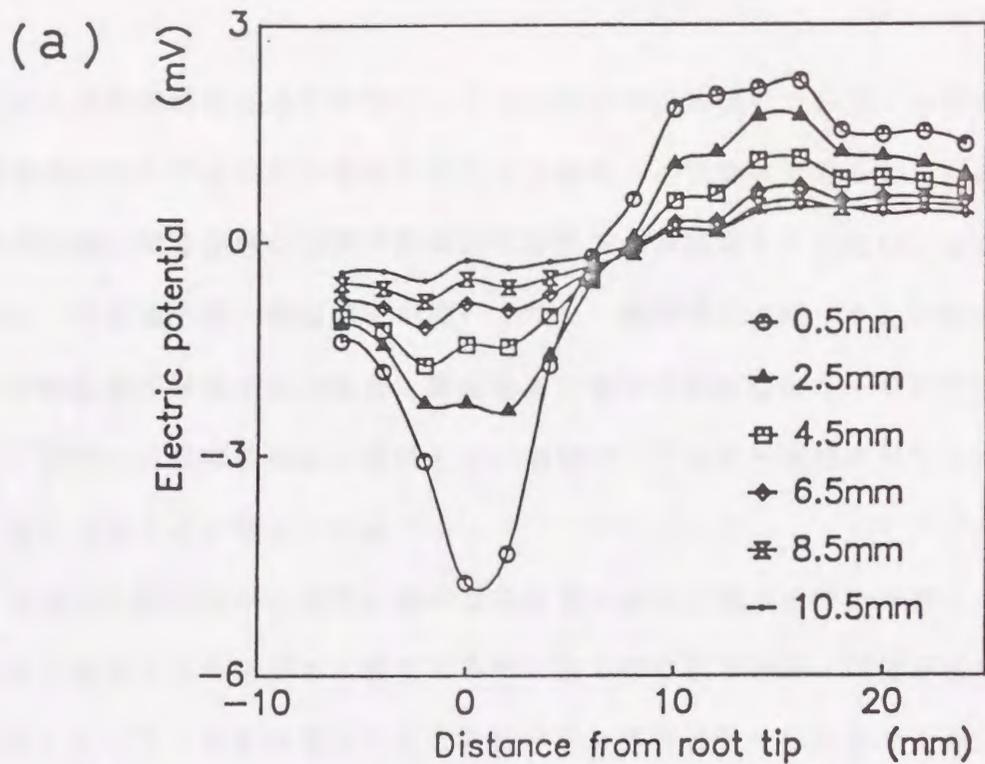


図 2 - 2 根の周囲の 2 次元電位分布と 2 次元電流分布. (a) 根の軸に沿った電位分布. 横軸は基部側を正にとっている. 図中の数値は, 根の表面から測定位置までの距離を示す. (b) (a) の電位分布から計算した電流分布. 各矢印は電流の向きと大きさを表している.

チャンネルによる受動輸送によって特定のイオンを選択的に輸送している。水溶液中では僅かな電荷の偏りでも大きな電界が発生する事から、根全体で見ると、根の内部と外部の水溶液の間で正味の電荷が定常的に移動する事は考えられない。しかし根の部域によって各種イオンの輸送量が均一でなく、局所的には陽イオンの輸送量と陰イオンの輸送量が等しくない場合、表面をよぎるマクロな電流ループが発生する事になる。定性的には電位の高い領域と低い領域が、それぞれ電流の湧出し領域と吸込み領域に対応すると考えられる。

もし、水溶液中の導電率が空間的に均一ならば電流密度は電界強度に比例するが、イオンの流れは電界とともにイオン濃度の不均一性も作り出すため、導電率は均一ではなくなる。従って、本来は電位分布と各種イオン濃度分布を得た上でイオン流や電流を求めなければならないが、まず大体の様子をみるために、導電率が一定と仮定して測定した電位分布から電流分布を求めてみる。2-2(a)の電位分布から電流分布を計算した結果を図2-2(b)に示す。測定された電位は2mm毎の離散データであるので、電流分布を計算する際隣合う位置の電位の差分をその方向の電流に対応させている。電流密度ベクトルの大きさと方向を、それぞれ矢印の長さで表している。導電率は、当初の水溶液0.1mM KClの値を用いた。電流密度の最大値は約 $0.5\mu\text{A}/\text{cm}^2$ であるが、この値は多くの生物で観測されている電流と同程度の値である。図2-2(b)の電流パターンと伸長領域の位置を比較すると、伸長領域と電位の山や谷の位置は必ずしも対応していない。伸長領域は先端からおよそ1mmから5mm後方に位置しているが、電位分布はそれよりも数倍広い範囲に及んでいる。電流ループは伸長領域を取り囲む様に流れ、伸長領域の先端側は電流の吸込み部分であり、基部側は湧出し部分であると思われる。電流の湧出し領域の大部分は既長領域であり、見かけ上は成長していないにもかかわらず、イオンの輸送を通して先端側との相互作用が存在している事が判る。

植物の場合、一般的に水素イオンの輸送が成長をはじめとして生命活動に特に重

要な役割を果たしている事は既に述べたとおりであるが^{(30),(31),(47-49)}, アズキの根の場合でも, 表面のpHを測定すると電位と同様に安定なpHパターンを作っている事が判った. 図2-3に根の表面の電位パターンとpHパターンの測定例を示す. この例では, 外部の水溶液のpHが約6.1であったのに対し, 根の周囲のpHは全体的に低下している. 図に示した先端付近の領域だけでなく, 種子部から根の先端まで全域で表面のpHを測定しても, ほとんどの領域で酸性化しているという結果が得られた. この事は, 根の H^+ の吸収量と放出量が等しくなく, 根が外部の水溶液に H^+ をより多く放出している事を意味している. 最も強く酸性化しているのは先端から4mmから8mm程度後方の領域であり, pH値で約5.4を示している. 表面電位パターンは図2-2と同じ様な特徴が見られるが, 電位の最も高いのは先端から8mm後方の位置であり, pHパターンと比較すると最もpHが低い位置のやや後方に当たる. 他の測定例でも, 最も強く酸性化した部位は電位の最も高い位置か, それよりもやや先端側に位置していた. また, 従来の研究で, 既長領域と伸長領域を電氣的に絶縁すると伸長速度の低下が生じると同時に, 伸長領域や先端近傍の酸性化が弱まるといった事実が明らかになっている⁽³²⁾. これらの事実から, 根の基部側から先端に向かって H^+ を含む電流が流れており, それが表面電位パターンとして観測されている事が示唆されるが, 表面電位パターンを作っているイオンの流れのうち, H^+ がどの程度の割合寄与しているのか次節で定量的に解析する.

2.3 電気化学ポテンシャルに基づいた解析

2.3.1 基礎方程式

水溶液中のイオンは, 電気化学ポテンシャルの勾配に比例する力を受けて流れる. イオン種*i*に対する電気化学ポテンシャル μ_i は次式で与えられる.

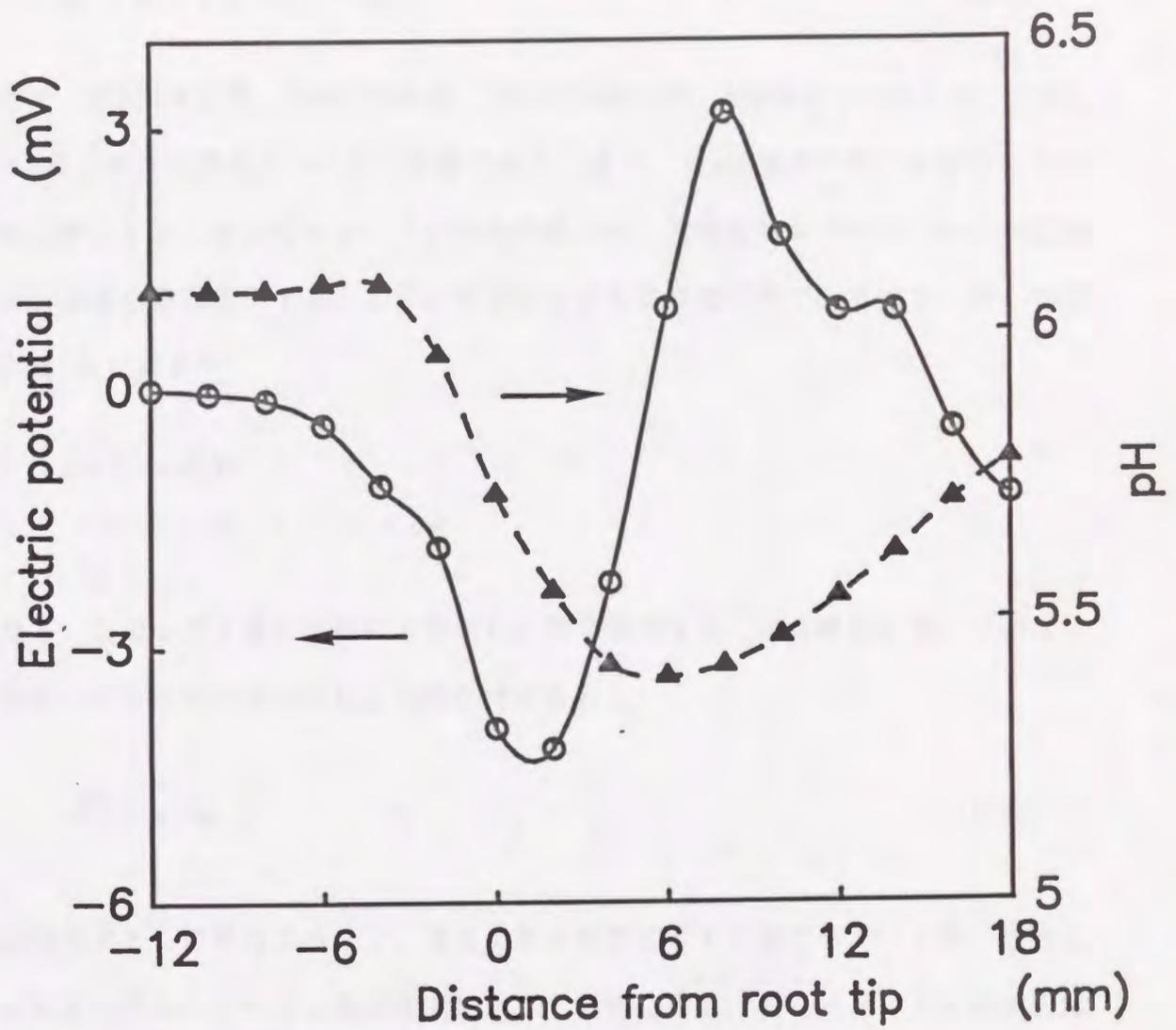


図 2 - 3 根の軸に沿った表面電位パターンと表面 pH パターン. 根の表面から 0.5mm離れた位置で測定した.

$$\mu_i = \mu_{i0} + RT \ln c_i + z_i F \phi \quad (2.1)$$

ここで、 R は気体定数、 T は絶対温度、 F はFaraday定数、 ϕ は電位であり、 c_i 、 z_i は各々*i*種イオンの濃度及びイオン価数である。また、 μ_{i0} は濃度や電位に依存しない標準化学ポテンシャルである。イオンの流束 j_i は、電気化学ポテンシャルの勾配とイオン濃度の積に比例する。この比例定数をモル移動度と呼び ω_i で表す。従って流束 j_i は(2.1)式より、

$$\begin{aligned} j_i &= -\omega_i c_i \nabla \mu_i \\ &= -\omega_i RT \nabla c_i - z_i F \omega_i c_i \nabla \phi \end{aligned} \quad (2.2)$$

となる。右辺の第1項が拡散による流れ、第2項が電界による流れを表している。

濃度と流束は次の保存則により関係づけられる：

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = -\nabla \cdot j_i \quad (2.3)$$

根は時間とともに伸長するので、境界条件も時間とともに変化していくが、伸長速度は電気化学的パターンの形成速度に対して非常に遅く、またパターンは時間的に安定であるので、ここではパターンは時間変化の無い定常状態であると仮定して議論を進める。従って、 $\partial/\partial t=0$ であり(2.3)式は、

$$\nabla \cdot j_i = 0 \quad (2.4)$$

となる。これは、水溶液中でイオンの湧出しが無い事を意味している。

一方、電位 ϕ に関して、Poissonの方程式

$$\nabla^2 \phi = -\rho/\epsilon \quad (2.5)$$

が成立する。ただし、 ϵ は水の誘電率であり、 ρ は、

$$\rho = F \sum_i z_i c_i \quad (2.6)$$

で定義される電荷密度である。(2.2),(2.4),(2.5)式及び(2.6)式を解く事によって、未知数である各イオンの濃度 c_i と電位 ϕ を求める事が出来る。

方程式を解く際に、変数に対する境界条件を与えなければならないが、ここでイオン種として、少なくとも当初水溶液に加えた K^+ と Cl^- 、及び成長に重要な役割を持っていると考えられている H^+ を考慮しなければならない。しかしながら、測定されている量は根の表面の電位分布のみであり、個別のイオン濃度や流束に関する境界条件を実験的に与えることは出来ないので、いくつかの仮定のもとに近似解を求める事にする。

2.3.2 電位分布

実験に標準的に用いた水溶液は0.1mM KClである。0.1mM KCl水溶液の比抵抗は約50k Ω cmであり、誘電率は ϵ_0 を真空の誘電率とすると約80 ϵ_0 である。この値を用いて水溶液中に電荷の蓄積が生じた場合の影響を簡単に評価すると、もし1cm角の立方体全体のイオンのうちの 10^{-6} 程度の微量の分極が生じた場合の電界強度と時定数を計算すると、電界強度は1kV/cm以上になり、定常状態に落ちつくまでの緩和時間は 10^{-6} 秒以下となる。これらの事から水溶液中で電荷の偏りは非常に小さいと考えられ、常に電気的中性が成り立っていると考えるのは良い近似である。即ち、

$$\sum_i z_i c_i = 0 \quad (2.7)$$

を仮定する。従って、(2.5)式の右辺は零になり、Laplaceの方程式

$$\nabla^2 \phi = 0 \quad (2.8)$$

が成立する。(2.8)式はイオン濃度 c_i を含まない電位 ϕ だけの式である。従って、測定された表面電位を境界条件として与えれば直ちに電位分布 $\phi(r)$ を求める事が出来る。そこで、まず(2.8)式を解き電位の空間分布を求める事にする。

ここで、解析する対象を図2-4で示す2次元平面上の矩形領域内部に限定して解を求める。表面電位を測定した位置は、 $r=0$ 即ち z 軸上の $z=0$ から L_x までに対応している。アズキの根の形状は、直径約1mmの円筒状であり、本来は3次元空間上で考察を行なわなければならないが、先に述べたように実験環境下の根が置かれている水溶液の深さは約2mmと浅く、根の表面のごく近傍を除いて電界やイオンの分布はほぼ2次的に広がっている。表面電位やpHの測定は、伸長活動が見られる先端の周囲に限られているので、 z 方向に関しては、表面電位の測定が行なわれた範囲、約30mmを対象にする。また、 r 方向に関しては電位やイオンの分布がほぼ一定値に落ちついていると思われる距離までの有限の範囲で解析する。そこで、境界条件を次の様に与える。

$$\phi(0, z) = f(z) \quad (2.9a)$$

$$\phi(L_x, z) = \frac{1}{L_x} \int_0^{L_x} f(z) dz = C_0 \quad (2.9b)$$

$$\left. \frac{\partial \phi}{\partial z} \right|_{z=0, L_x} = 0 \quad (2.9c)$$

$r=0$ における電位 $f(z)$ が測定された表面電位パターンに相当する。(2.9)式の境界条件の下で、Laplaceの方程式は変数分離法を用いて容易に解くことができ、解の表式は次の様になる。

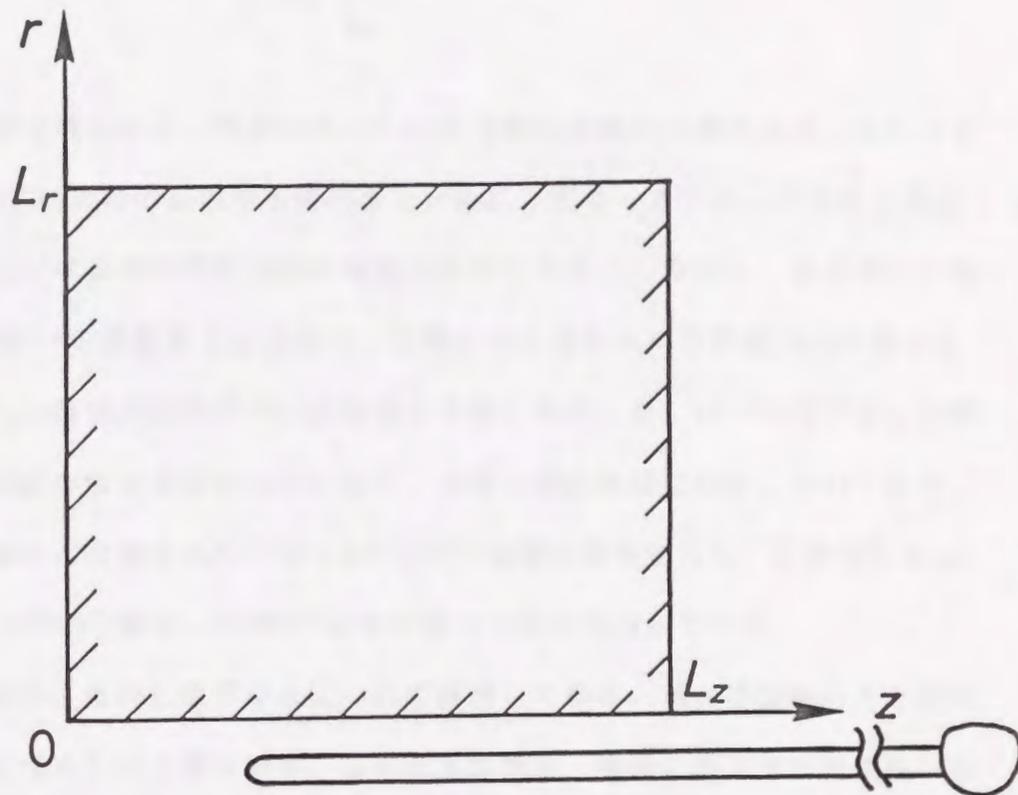


図 2 - 4 解析の対象とする領域. 表面電位を測定した位置 (根の表面から 0.5mm 離れた位置) が z 軸 ($r=0$) 上の $z=0$ から L_z に対応する. L_r は電位勾配が充分小さくなる位置で, ここでは 30mm とした.

$$\phi(r, z) = \frac{1}{L_x} \int_0^{L_x} f(z) dz + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2}{L_x} \cos\left(\frac{n\pi z}{L_x}\right) \int_0^{L_x} f(z) \cos\left(\frac{n\pi z}{L_x}\right) dz \cdot \left[\cosh\left(\frac{n\pi r}{L_x}\right) - \frac{1}{\tanh\left(\frac{n\pi L_r}{L_x}\right)} \sinh\left(\frac{n\pi r}{L_x}\right) \right] \quad (2.10)$$

表面電位の測定値を与え、電位分布 $\phi(r, z)$ を実際に計算した例を図2-5に示す。Laplaceの方程式の適用の妥当性を検討するために、図2-2で示した2次元電位分布の測定例における表面電位の分布を境界条件に与えた。ただし、表面電位の測定値は測定間隔2mmの離散値であるので、補間によりなめらかな曲線 $f(z)$ の表式を与え、両端 $z=0, L_x$ は境界条件(2.9c)式を満たす様に外挿した。(2.10)式で示した解の表式は無限級数の形で表現されているが、加算と共に単調に収束していくので、形状の変化がほとんど見られなくなった $n \leq 35$ で加算を打ち切った。計算を行なった領域は $L_x=L_r=30\text{mm}$ である。 $z=6\text{mm}$ の位置が根の先端に相当している。

電位パターンは、根から遠ざかるにつれて減衰してゆき、20mm程度離れると振幅はほとんど零になっている事が判る。この計算結果は、実際に測定された電位分布(図2-2)と良い一致を示した。図2-6及び図2-7に z 方向と r 方向に関する電位分布の測定値と計算値の比較例を示す。どちらの図も○で測定値を、—で計算値を示している。図2-6は $r=6\text{mm}$ の電位パターンであり、境界付近を除いて良く一致している。両側の境界の近傍で計算値が実測値からややはずれているのは、測定された狭い有限の範囲に計算領域を限定し、境界 $z=0, L_x$ で流れが無いと仮定した事に起因していると思われる。図2-7は、表面電位のピークに相当する $z=22\text{mm}$ の電位の減衰の様子であり、実測値と計算値は良く一致している。他の測定データを用いた計算結果でも、同様な結果が得られた。従って、測定された表面電位を境界条件としてLaplaceの方程式を解く事で求めた電位分布は、実際の電位分布を充分良く再現出来ると考えて良いだろう。

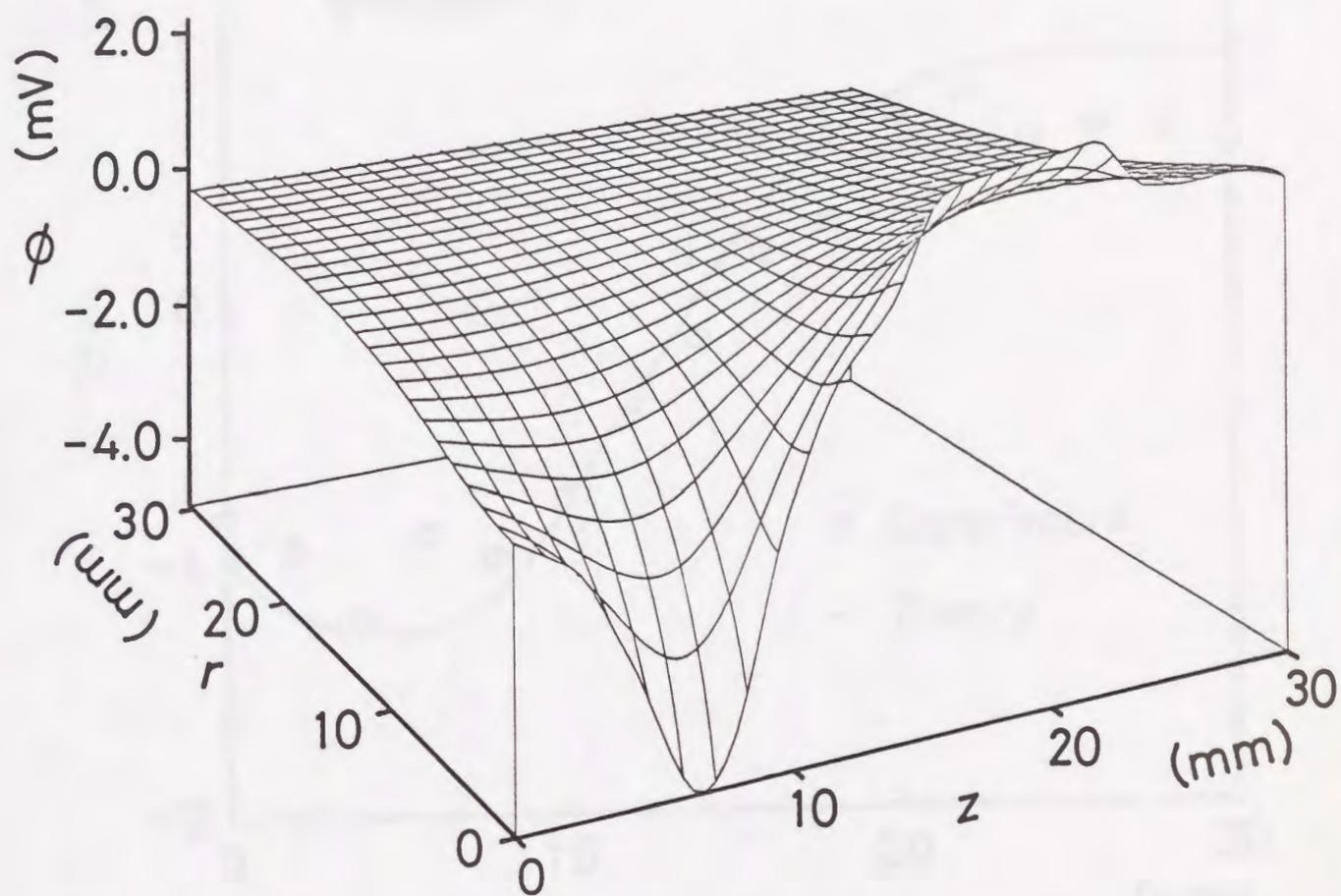


図 2 - 5 表面電位の測定値から計算した 2 次元電位分布. 図 2 - 2 (a) 中の, 表面から 0.5mm 離れた位置での電位パターンを $r=0$ における境界条件として与えた. 根の先端は $z=6\text{mm}$ の位置である.

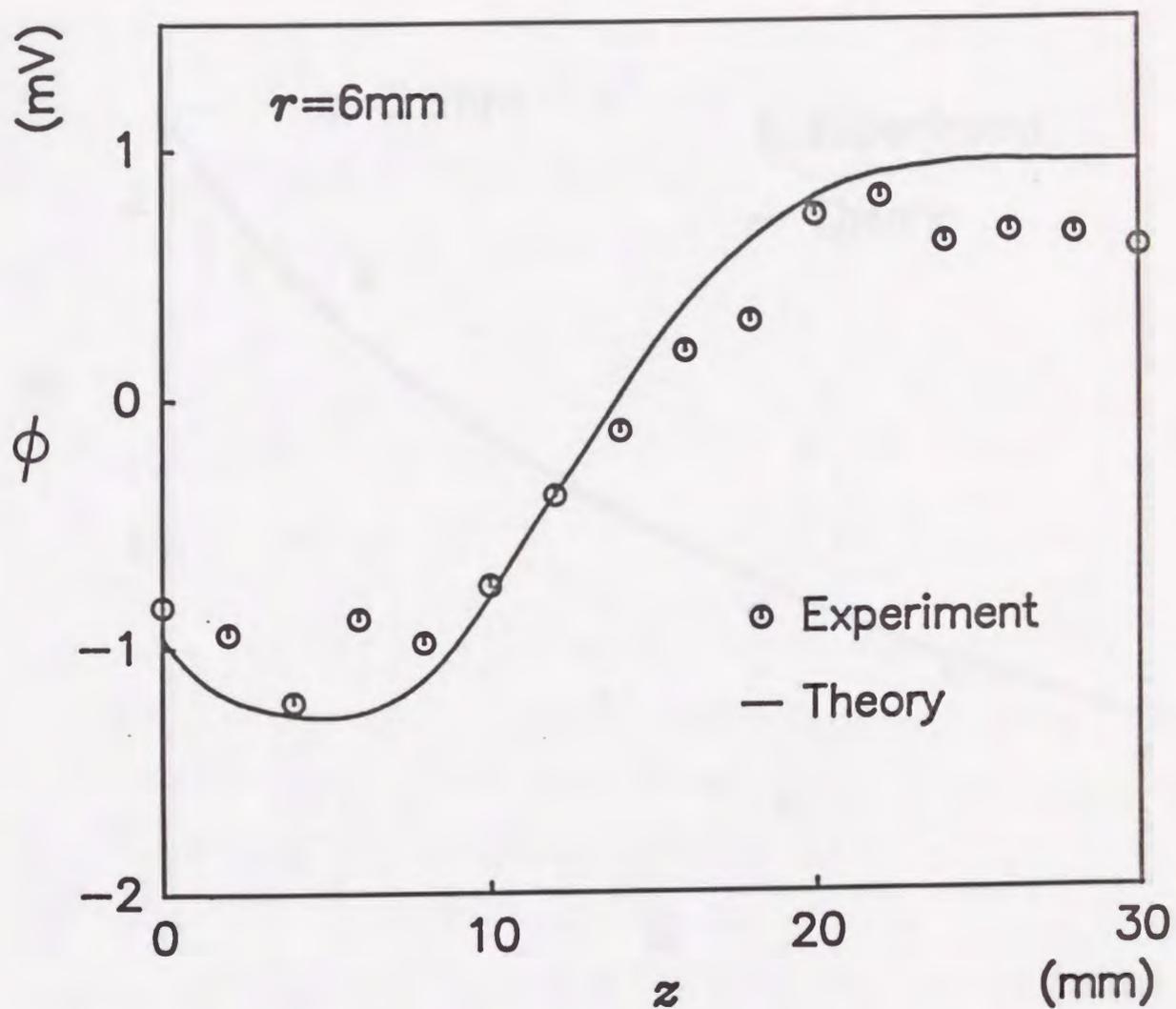


図 2 - 6 2次元電位分布の z 方向における測定値と理論値の比較. 理論値は図 2 - 5 における $r=6\text{mm}$ の位置の値であり, 対応する測定値は図 2 - 2 (a) 中の 6.5mm 離れた位置での電位パターンである.

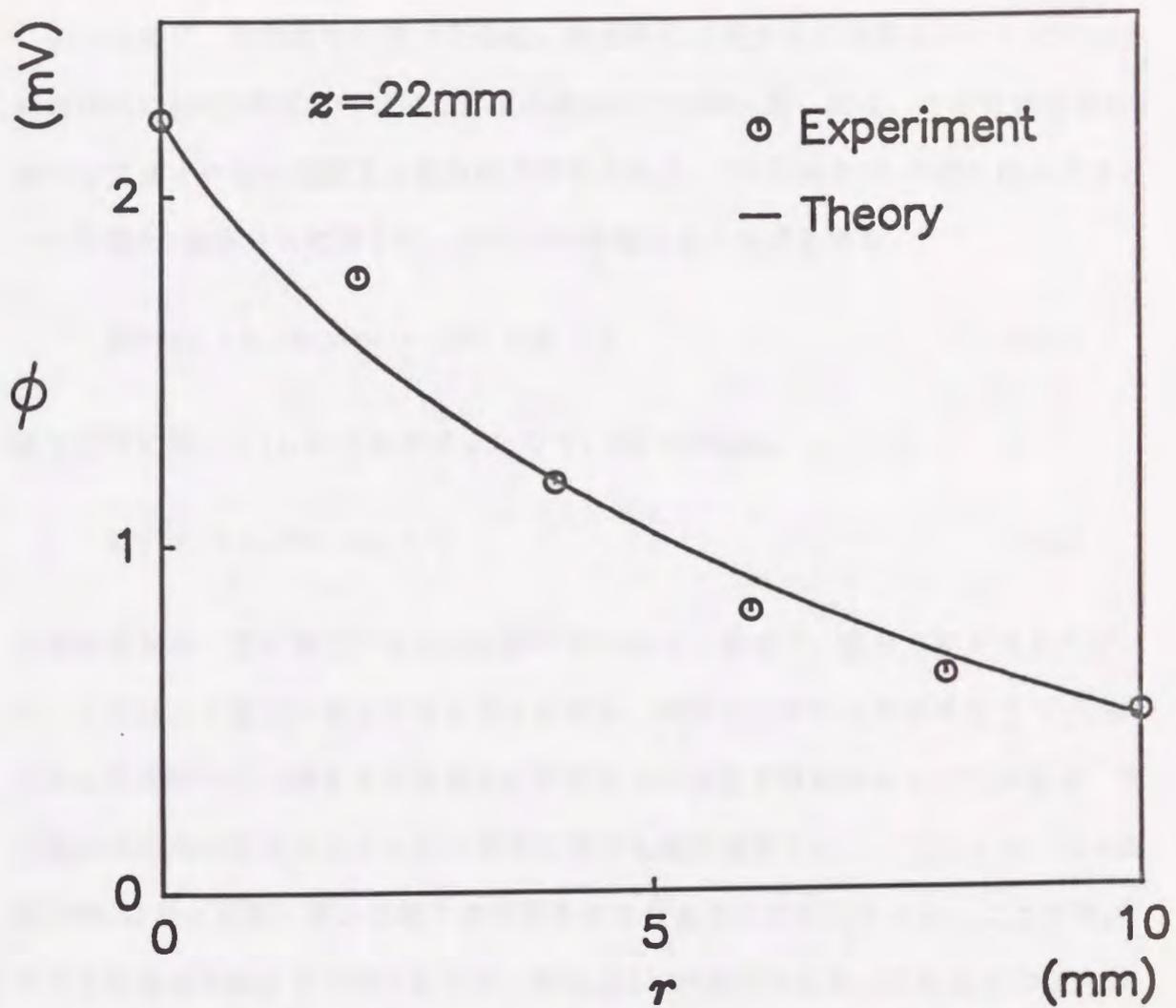


図 2 - 7 2次元電位分布の r 方向における測定値と理論値の比較. 理論値は図 2 - 5 における $z=22\text{mm}$ の位置の値であり, 対応する測定値は図 2 - 2 (a) の先端から 16mm の位置の値である.

2. 3. 3 イオンの流束と濃度分布

以上の様に、水溶液中の電位分布は、表面電位の実測値を境界条件として与えた時のLaplaceの方程式の解で良く近似出来ることが判った。次に、この電位分布を用いて各種イオンの濃度及び流束の分布を求める。(2.2)式を(2.4)式に代入するとイオン種 i の濃度分布に関して、次の2階の偏微分方程式を得る：

$$RT\nabla^2 c_i + z_i F \nabla c_i \cdot \nabla \phi + z_i F c_i \nabla^2 \phi = 0 \quad (2.11)$$

電位分布に関して(2.8)式を仮定したので、(2.11)式は、

$$RT\nabla^2 c_i + z_i F \nabla c_i \cdot \nabla \phi = 0 \quad (2.12)$$

と書き直せる。既に電位分布の近似解は得られているので、境界条件を与えれば、(2.12)式により濃度分布を求める事が出来る。濃度 c_i に対する境界条件は(2.9)式で示した電位分布に関する境界条件に対応させて決定すればよいわけであるが、測定値は表面電位でありイオン濃度に関する情報は得られていないので、根の表面 ($r=0$) における各イオンに関する境界条件を与えることが出来ない。ここで考慮すべき水溶液中のイオン種として H^+ 、 K^+ 及び Cl^- があげられる。これまで H^+ 以外のイオン濃度パターンは測定されていないが、 H^+ に関しては pH パターンと電位パターンの間に強い相関が見られるという実験事実を考慮して⁽³²⁾、ここでは根の表面をよぎる各イオンの流束密度の形状がイオン種によらないという最も簡単な仮定を行う。即ち、根の表面上で、あるイオン種の流束の全流束に占める割合が一定であるとする。従って、境界上で各イオン流束密度は電流密度に比例する事になる。電流密度は既に得られている電位分布から近似的に求める事が出来る。電流を構成する各イオンの流束は(2.2)式で表されるが、右辺第1項の濃度勾配による流束が第2項の電位勾配による流束よりも充分小さいと仮定し、空間の関数である濃度 c_i を

当初の水溶液の濃度 \bar{c}_i ($\bar{c}_K = \bar{c}_{Cl} = 0.1 \text{mM}$, $\bar{c}_H = 10^{-6} \cdot 1 \text{M}$) で置きかえると,

$$j_i = -z_i F \omega_i \bar{c}_i \nabla \phi \quad (2.13)$$

となり、根の表面における半径方向の電流密度 $I_r(0, z)$ は、(2.13)式による各イオンの流束 j_i の表式を用いて、

$$\begin{aligned} I_r(0, z) &= \sum_i z_i F j_{i,r}(0, z) \\ &= - \sum_i z_i^2 F^2 \omega_i \bar{c}_i \left. \frac{\partial \phi}{\partial r} \right|_{r=0} \end{aligned} \quad (2.14)$$

となる。ただし、添字の r は半径方向の成分を意味している。

電位パターンの形成に伴って pH パターンが形成される事や⁽³²⁾、 H^+ 濃度によって電流量が大きく変わる事から⁽⁵⁰⁾、 H^+ の輸送が存在すると考えられる。また K^+ も植物に必須の無機養分であり、電位パターンの形成に関与していると思われる。一方植物では一般的に陰イオンは受動的な輸送しか行われていないとされており⁽¹⁷⁾、また Cl^- を含まない水溶液中でも電流パターンは変化しない事が報告されている事から⁽⁵¹⁾、 Cl^- の輸送量は少なく電流パターンにほとんど寄与していないと考えられる。これらの事実を考慮して、ここでは根の細胞膜を移動し得るイオンが H^+ と K^+ の2種類だけであると仮定する。 H^+ と K^+ の境界での流束は、輸送される各イオンの流束密度の形状がイオン種によらないという仮定に従うと、(2.14)式の $I_r(0, z)$ を用いて、

$$j_{Hr}(0, z) = \varepsilon I_r(0, z) / F \quad (2.15a)$$

$$j_{Kr}(0, z) = (1 - \varepsilon) I_r(0, z) / F \quad (2.15b)$$

で表される。ただし、 ε は全電流の中の H^+ 流束の寄与する割合である。これより、境界 $r=0$ における H^+ 及び K^+ 濃度の境界条件は、(2.2), (2.14)式及び(2.15)式から、

それぞれ次の様になる。

$$\left. \frac{\partial c_H}{\partial r} \right|_{r=0} + \frac{Fc_H(0,z)}{RT} \left. \frac{\partial \phi}{\partial r} \right|_{r=0} = - \frac{\varepsilon I_r(0,z)}{\omega_H FRT} \quad (2.16a)$$

$$\left. \frac{\partial c_K}{\partial r} \right|_{r=0} + \frac{Fc_K(0,z)}{RT} \left. \frac{\partial \phi}{\partial r} \right|_{r=0} = - \frac{(1-\varepsilon)I_r(0,z)}{\omega_K FRT} \quad (2.16b)$$

他の境界条件は電位 ϕ の場合と同様に、境界 $r=L_r$ では、

$$c_i(L_r, z) = \bar{c}_i \quad (i: H^+, K^+) \quad (2.16c)$$

及び境界 $z=0$ と $z=L_z$ では、

$$\left. \frac{\partial c_i}{\partial z} \right|_{z=0, L_z} = 0 \quad (i: H^+, K^+) \quad (2.16d)$$

で与える。

表面電位の測定値からLaplace方程式を解いて求めた電位分布を用いて、(2.12)式の偏微分方程式を(2.16)式の境界条件のもとで解き、濃度分布 $c_H(r, z)$ 、 $c_K(r, z)$ を求めた。既に電位分布 ϕ の近似解は得られており(2.12)式の未知数は濃度 c_i だけであるため(2.12)式は線形の方程式となり、原理的には解析解を得る事が出来る。しかしここでは解の形状を知る事が目的であるので、逐次過緩和(SOR)法を用いて数値的に解を求める事にした⁽⁵²⁾。

H^+ 濃度分布の実測値と計算値を比較するために、pHパターンも同時に測定した図2-3の表面電位の測定例を基にして行った計算結果を示す。表面電位と、求めた2次元電位分布 $\phi(r, z)$ から(2.14)式により計算した、根の表面をよぎる電流密度 $I_r(0, z)$ を図2-8に示す。横軸の $z=12\text{mm}$ の位置が根の先端に相当している。電流密度の正と負がそれぞれ電流が外向きと内向きであることを意味している。電流密度 $I_r(0, z)$ と表面電位 $\phi(0, z)$ の形状を比較すると、大きなピークの位置が一致してお

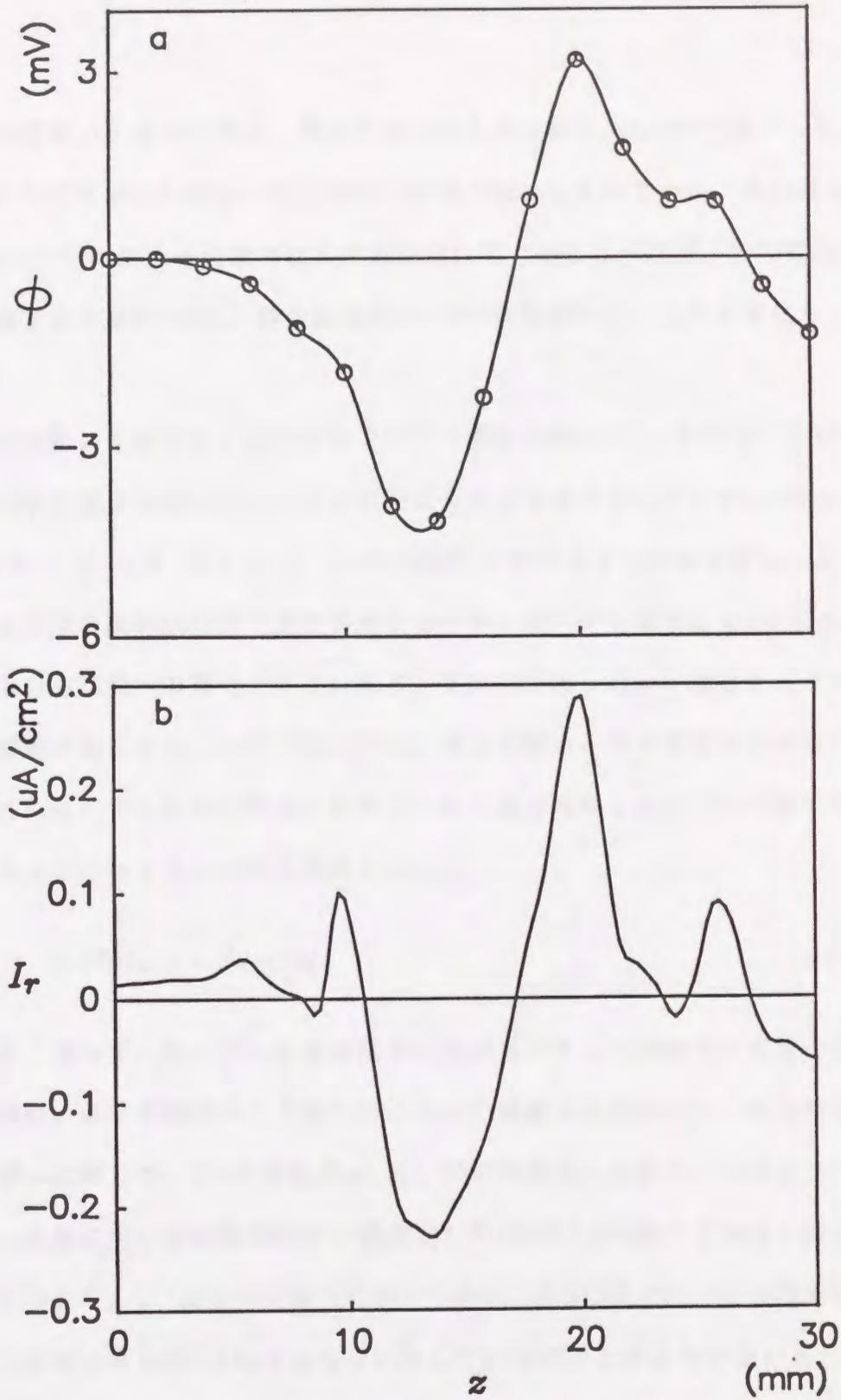


図 2 - 8 表面電位パターン (a) 及び表面電位パターンから計算した根の表面をよぎる電流密度パターン (b) . 電位パターンは図 2 - 3 で示したものと同一であり、根の先端は $z=12\text{mm}$ の位置である、電流密度 I_r は外向きを正としている。

り良く似た形状である事が判る。電流密度の最大値は約 $0.3\mu\text{A}/\text{cm}^2$ であり、電位が高い領域から電流が流れ出し、電位が低い領域で吸い込まれている。根の存在しない $z=0\text{mm}$ から $z=12\text{mm}$ までの位置では本来電流値は零であるはずだが、表面電位を測定した位置である境界 $r=0$ は、根の表面から 0.5mm 程度離れているため零になってはいない。

(2.12)式を解いて得られた根の表面での H^+ の濃度分布 $c_{\text{H}}(0, z)$ を図2-9に示す。境界条件の中には全電流の中に占める H^+ 流束の割合を表すパラメータ ϵ が含まれており、 ϵ を0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0の6通りに変化させて計算を行なった。 ϵ が零付近では電流の吸い込み側で濃度が高くなるが、約0.05を境として ϵ が大きいく、即ち H^+ 流束の全電流への寄与が大きいくほど、電流の湧出し側の H^+ 濃度が高くなり吸い込み側の濃度が低くなる。 ϵ が0.2以上では、電流の吸い込み側の濃度が負の値になっており、これは現実にはあり得ない状態である。流束密度と濃度勾配の関係について考えてみよう。各イオンの流束密度 j_i は、

$$j_i = -\omega_i RT \nabla c_i - z_i F \omega_i c_i \nabla \phi \quad (2.2)$$

で表される。従って、各イオンの流束密度の比が各イオンの移動度と濃度の積の比に等しい場合、濃度勾配は生じず総てのイオンの濃度は空間的に均一に保たれる。 K^+ の移動度 ω_{K} に対して、 Cl^- の移動度 ω_{Cl} 及び H^+ の移動度 ω_{H} は各々1.04倍及び4.76倍であるが、実験に用いた水溶液の H^+ の濃度は K^+ や Cl^- の1/100程度である。従って、全電流のうちの K^+ 、 Cl^- 及び H^+ 流束の比が1:1.04:0.0476の時に均一な濃度分布になる。ここでは陰イオン Cl^- は輸送されないとしているのでこの条件が満たされる事は無いが、 ϵ がおよそ0.05の時 H^+ の濃度勾配はほとんど見られなくなる。ここには示していないが、 ϵ を変化させたときの K^+ の濃度分布の変化は、 H^+ の濃度分布とちょうど逆に、 ϵ が小さいと K^+ 流束の寄与が大きくなるため電流の湧出し側が高濃度になり、 ϵ が大きくなると吸い込み側が高濃度になる。

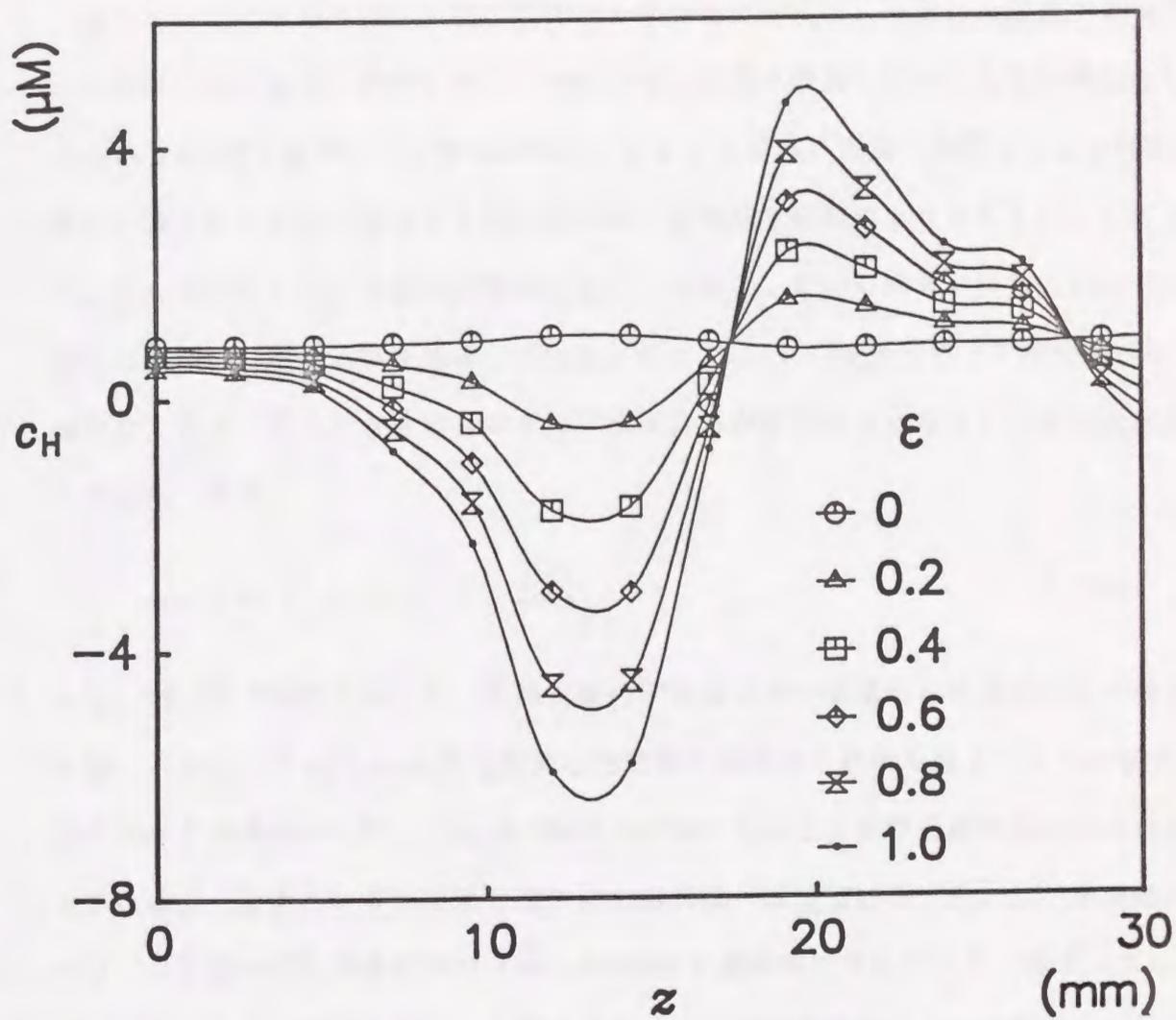


図 2-9 表面電位の測定値 (図 2-3) から計算した根表面における水素イオン濃度分布. $r=0$ における H^+ 流束密度が図 2-8 に示した電流密度に比例すると仮定した. 図中の ϵ は, 全電流の中の H^+ 流束が占める割合である.

図2-9で示される様に、根の表面のイオン濃度分布は、本来の水溶液中の濃度よりも高い領域と低い領域が生じ、電流の吸込み側と湧出し側のどちらが高濃度になるかは ϵ に強く依存している事が判る。しかしながら、実際に観測されるpH分布は、図2-3に見られるように、根の総ての領域で初期のpHよりも低下しており、アルカリ化している部分は見られない。これは、 H^+ の外向きの流れと内向きの流れの量が等しくない事を意味している。そこで、(2.15a)式に従う H^+ 流束の他に、場所によらず一定の大きさの外向きの H^+ 流束 j_{Hrs} が存在すると仮定して解を求め直してみた。即ち

$$j_{Hr}(0,z) = \epsilon I_r(0,z)/F + j_{Hrs} \quad (2.15a)'$$

とし、(2.12)式を解き直した。根の表面の H^+ 濃度分布が測定値と比較的良く一致する様、パラメータ ϵ と j_{Hrs} を選び計算した結果と測定値の比較を図2-10に示す。パラメータの値は $\epsilon=0.3$ 、 $j_{Hrs}=0.1\text{pmol/cm}^2\text{sec}$ とした。先端近傍で値がやや異なっているが、全体として測定値と理論値の傾向は一致している。ただし、実験値のパターンに比べてと理論値のパターンが4mmほど基部側にずれている。図2-9からも判るように、理論計算による濃度パターンは表面電位パターンの形状とほとんど同一であり、パラメータ ϵ を変えてもピークの位置は変わらない。これに対して図2-3の測定pHパターンのピーク位置は電位のピーク位置よりも幾分先端側にずれており、これが図2-10の測定値と理論値の差となって現れている。これは電流密度分布と各イオンの流束密度分布が同一形状であるという(2.15)式の仮定に起因した誤差であると考えられる。実際はイオン種によって流束パターンが異なっており、この測定例の場合では電位の最高値の位置よりも数mm先端側で最も強い外向きの H^+ の流れが発生しているものと思われる。

図2-11に、この時の2次元平面上での H^+ 流束の分布を示す。図の中の各点の流束の密度と向きを矢印で表している。一定の外向き流束 j_{Hrs} を加えているので、

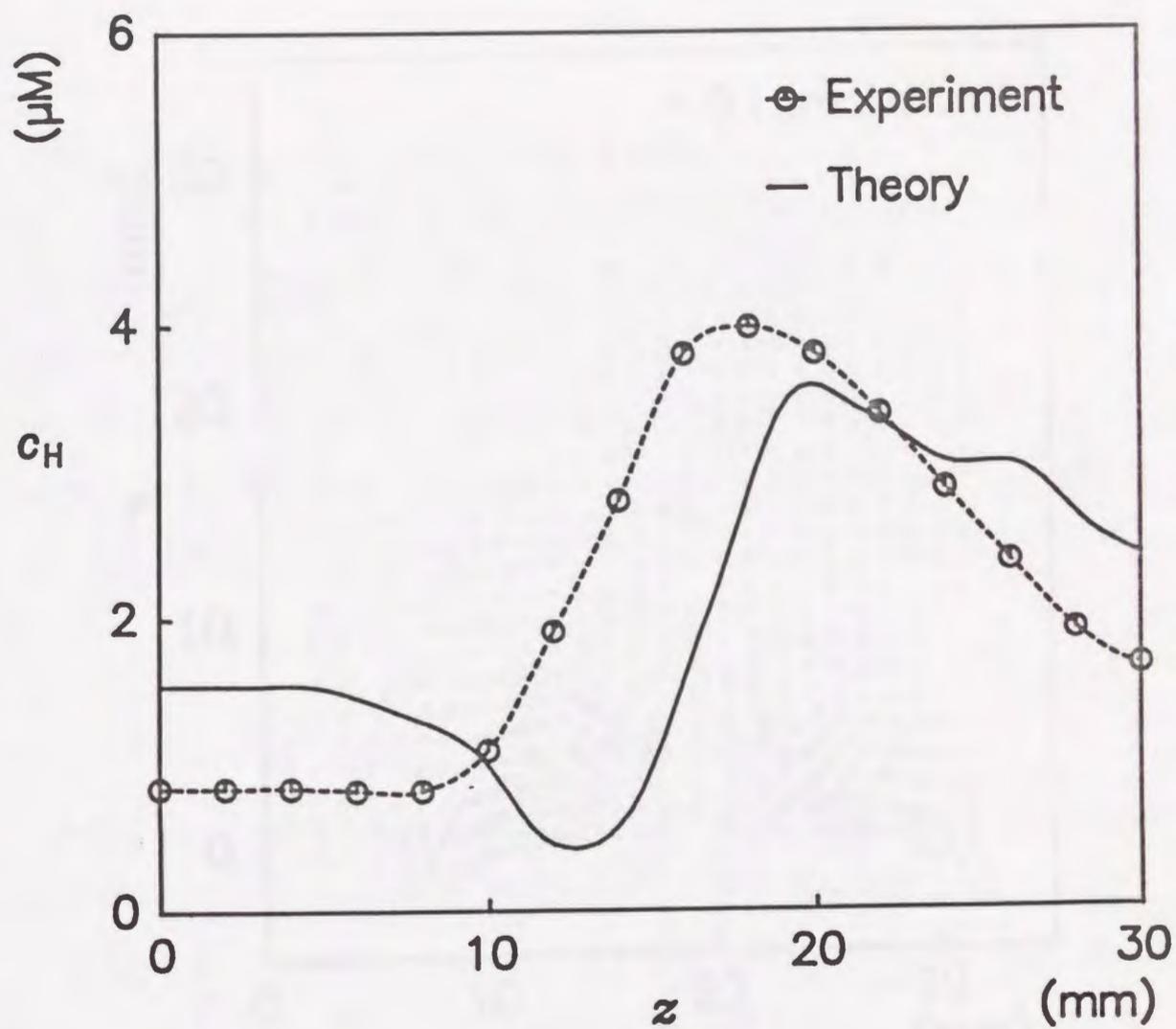


図 2 - 1 0 表面における水素イオン濃度分布の測定値と理論値の比較. 理論値は ϵ を 0.3 とし, 一定の外向き H^+ 流束を $0.1 \text{ pmol/cm}^2 \text{ sec}$ として計算した. 測定値は図 2 - 3 の pH パターンを濃度に変換したものである.

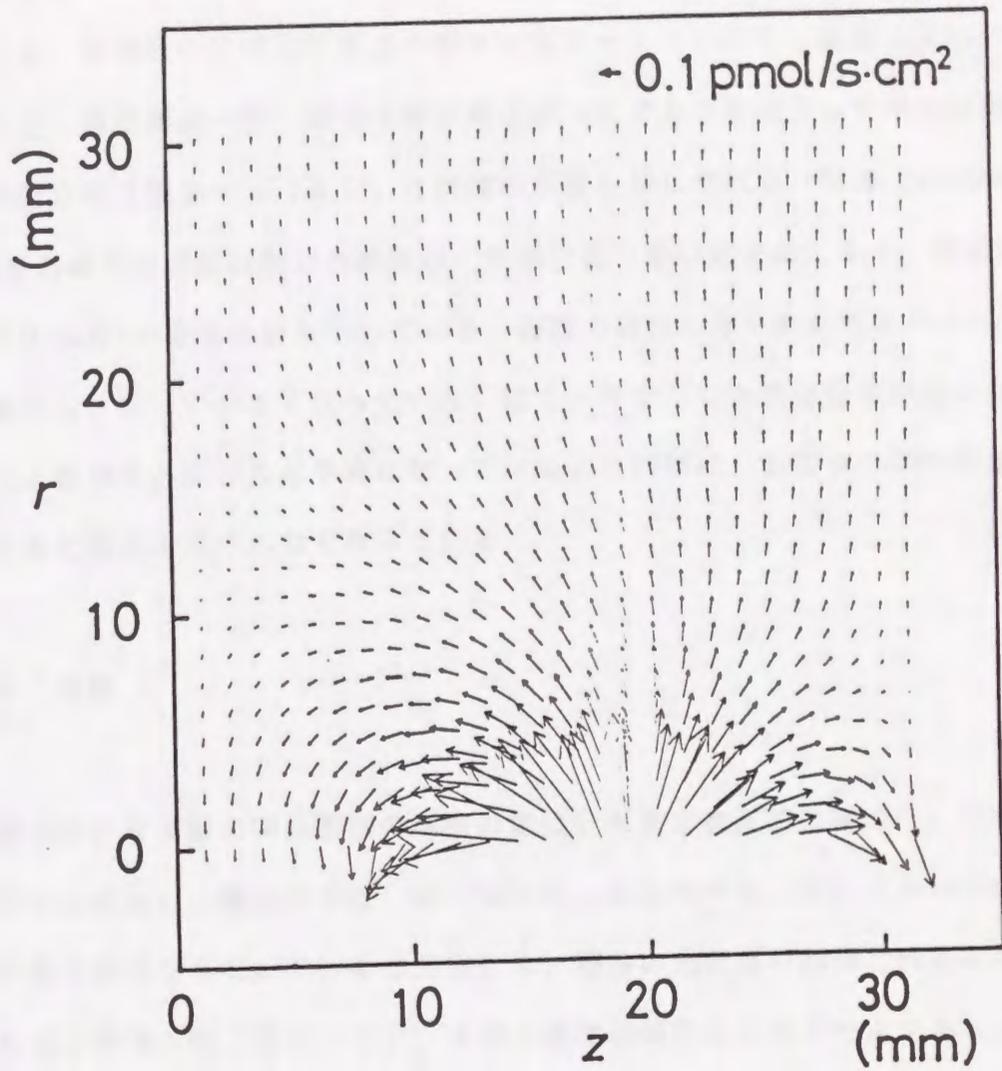


図 2 - 1 1 2次元平面上の水素イオン流束密度分布. 計算には図 2 - 1 0 で用いたパラメータと同じ値を用いた.

H⁺の湧出し領域が多いが、最も低い電位が現れる先端の近傍で、H⁺の吸い込みが生じている。全電流の2次元平面上の分布を図2-12に示す。表面電位のデータは異なるが、導電率が一定、即ちイオン濃度が一定であると仮定して電位分布から求めた電流分布(図2-2(b))と同様の形状を示している。先端(z=12mm)から8mm程後方を中心に流れ出した電流は、先端付近で吸い込まれており、電流密度は最大で0.4μA/cm²程度の値を示している。表面の近傍に作られる電流パターンは根から離れるに従って小さくなっていき、図2-5で示した電位分布が根の表面から20mm以上離れるとほとんど平坦になっているのと同様に、表面から20mm程度離れるとほとんど電流も見られなくなっている。

2.4 考察

本章では、まず根の伸長領域の周囲の電位分布を2次的に測定し、おおよその電流分布を求めた。電位分布は、根の軸に沿って先端が谷、それより10mmほど後方に山がある形状をしており、半径方向にも、電位の山と谷の間隔と同程度の広がりがあることが判った(図2-2)。イオン濃度が場所によらず一定であると近似して2次元平面上で測定された電位分布から電流分布を求め、水溶液中に基部側から先端に向かって電流が流れていく様子を示した。電流は根の表面をよぎって2次的にループを描いているが、そのループは伸長領域として知られている範囲よりも数倍広い1cm以上にわたる範囲に広がっていることが判った(図2-3)。特に、根から外向きの電流を流しているのは大部分が既長領域であった。この事は、伸長領域や先端に外部から陽イオンを供給しているのが主として伸長領域に続く既長領域である事を意味している。従って、既長領域は細胞の伸長は停止してはいるが、成長活動には重要な役割を持っていることが示唆される。また、表面電位と同時にpH分布を測定すると電位の高い位置とpHの低い位置がほぼ一致する事から、H⁺

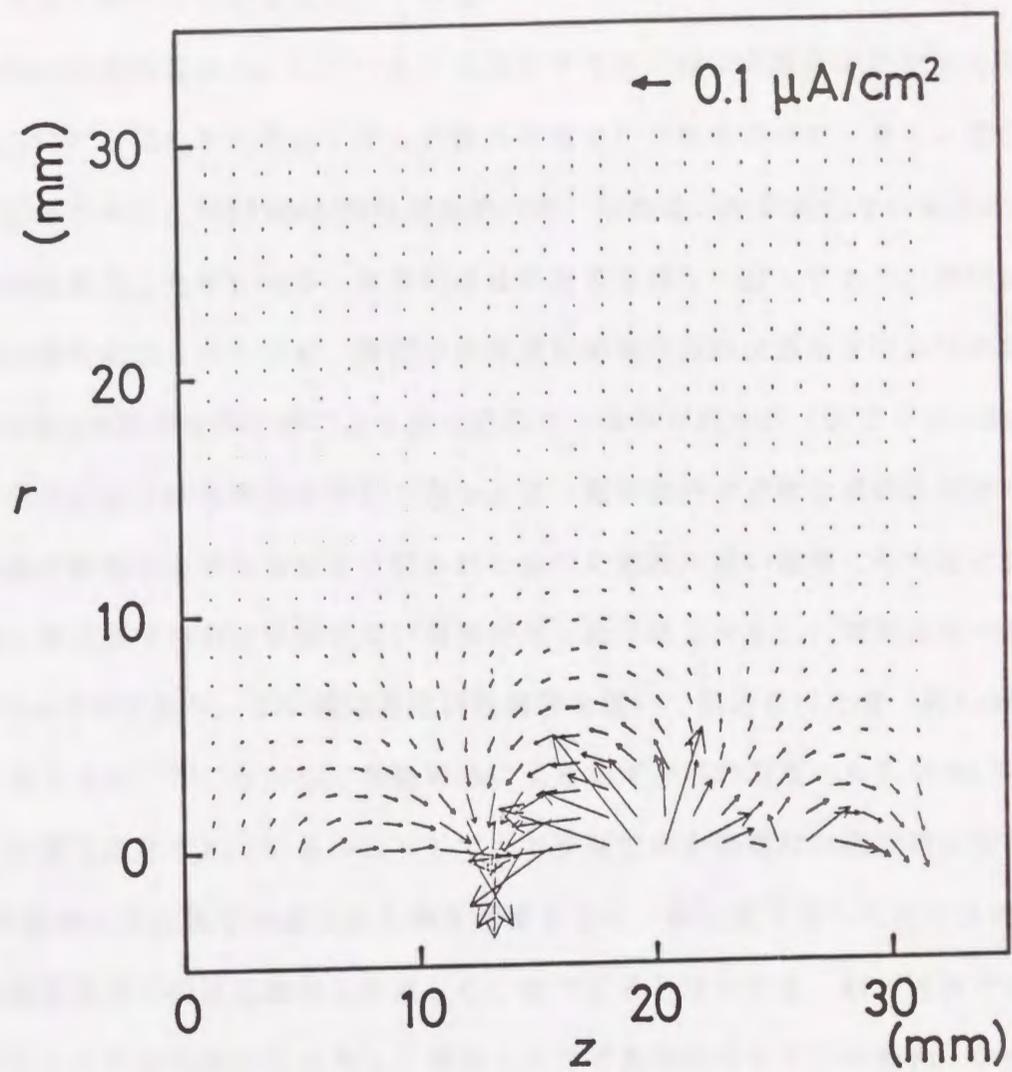


図 2 - 1 2 2次元平面上の全電流密度分布. 計算には図 2 - 1 0 で用いたパラメータと同じ値を用いた.

は電流に大きく寄与していると考えられる。

測定された表面電位から、いくつかの仮定の下で水溶液中の電位の2次元分布を求め、さらに H^+ をはじめとするイオンの流れや濃度の分布を求めた。まず、電位分布の導出にあたって、Laplaceの方程式を用いた。これは、水溶液中での電荷の偏りがない事を仮定した事になる。計算結果は実測値と良く一致しており、実際に2次元電位分布を測定しないでも、周囲の水溶液中の電位分布は表面電位を境界条件としLaplaceの方程式を解く事により良く近似できる事が判った(図2-6、図2-7)。得られた2次元電位分布から根をよぎる電流密度の分布を求める事が出来、その結果根の表面をよぎる電流は予想されたように電位の高い領域で外向きに流れ、電位の低い先端部で内向きに流れている事が判った(図2-8)。電流密度の最大値は約 $0.4\mu A/cm^2$ であり、この値は従来振動電極を用いて測定された値(約 $1\mu A/cm^2$)よりもやや小さい⁽¹⁸⁾。しかし、振動電極による測定が根の表面から $0.1mm$ 以下のごく近い位置で測定されているのに対して、本研究での表面電位の測定値は表面から $0.5mm$ 程度離れた位置での値である事を考慮すると、本研究で得られた輸送電流は従来の振動電極での測定結果と矛盾しない値であると思われる。根の近傍では電流は根の中心からの距離に反比例して減衰すると考えられるので、半径約 $0.5mm$ の根の表面から $0.5mm$ 離れると電流密度はほぼ半分に減少する事になり、根の表面では従来の測定とほぼ同程度の電流が発生していると考えられる。

各イオンの濃度を求める際に、根の表面の電流パターンと各イオンの流束パターンの形状は同一であると仮定して解を求めた。輸送されるイオンが K^+ と H^+ の2種とすると、 K^+ と H^+ の流れの割合によって濃度分布の形状が大きく異なり、流れの割合が多くなる程、湧出し側の濃度が高くなった(図2-9)。この事は、従来1次元系近似で簡単な考察を行なった結果と定性的には一致している⁽³⁹⁾、⁽⁵³⁾。また、電気的中性条件から内向き電流と外向き電流の量は等しくなければならないが、イオンの内向きの流れと外向きの流れが等しい場合、濃度が低下する領域と増加する

領域が必ず現れるが、これは観測と合わない。従って H^+ に関しては水溶液中へ放出される量の方が吸収される量よりも多いと考えられ、一定の外向き流束を加え、これによって測定されたpHパターンをある程度再現する事ができた(図2-10)。この外向きの流れは全電流には寄与しない流れであり、等量の陰イオンの流れが生じているか、逆向きで等量の K^+ の流れが生じている事が考えられる。これまで、電流を作り出すイオン種が何であるのか明らかにされていなかったが、酸性溶液でより大きな電流が観測される事から H^+ によるものと考えられていた。しかしながら今回の解析結果では、電位分布に対して H^+ の流束しか存在しないとして計算すると濃度が負になる領域が生じてしまい、合理的な説明が出来ない。そこで全電流のうち約30%が H^+ 、残りの70%程度が K^+ の流れであるとした場合、測定されたpHパターンに近い H^+ 分布が得られた(図2-10)。

ここでは、根の伸長に特に重要な役割を持っていると考えられる水素イオンの流れを中心に考察してきた。全電流のうち H^+ の流れは約30%程度である事が判ったが、残りのイオンが K^+ である事を直接確かめた訳ではない。水溶液のイオン組成を変えても電流パターンに大きな変化は現れないという実験事実も報告されている⁽⁵⁰⁾。従って、各イオン種の流束パターンを正確に求めるためには各イオン濃度パターンを個別に測定する必要があると思われる。通常のイオン電極では局所的なイオン濃度を測定する事はできないが、近年イオン選択性の微小電極の開発も進んでおり、これらの技術を基にした各種イオン濃度パターンの測定が期待される。その場合でも、今回と同様な解析を行えば、表面近傍の1次元的なイオン濃度及び電位の測定をする事によってイオンの流れの分布を求める事ができる。

また、本章では実験条件に合わせて2次元平面上で解析を行ったが、最も自然な生育環境は根が水溶液中で鉛直方向に成長する状態である。この場合、電流は3次元空間内に広がるが、これまでの研究結果から電流パターンはバンド状で円周方向には均一である事が判っている。従って、3次元空間中の電流パターンを解析する

場合でも、基準とする座標系が直交座標から円柱座標に変わるが θ 成分は無いため、やはり2次元問題として取り扱う事ができ、ここでの2次元平面の場合と同程度の計算量で解析する事ができる。

2.5 結論

本章では、アズキの根の伸長領域近傍の電位分布やpH分布を詳細に測定し、その結果を利用して、イオンの流れや電流の分布を求めた。本章で得られた結果は次のようにまとめられる。

- (1) アズキの根の周囲の電位分布を測定すると、軸方向では、根の先端の電位が低く、先端から5mmから10mmほど後方の電位が高くなる形状が見られた。電位パターンは根の表面から遠ざかるに従って単調に減衰していくが、半径方向にも10mm以上広がっており、伸長領域をとりまく広い範囲での相互作用が存在する事が示唆された。
- (2) 根の周囲の電位分布は、Laplaceの方程式に境界条件として根の表面電位を与えて求めた解で良く近似する事が出来た。この事実は、水溶液中では電荷の偏りが少なく、電気的にほぼ中性である事を意味している。従って、2次元空間上で実際に電位分布を測定しなくても、根の表面に沿った1次元測定で充分周囲の電位分布を予測出来る事が判った。
- (3) Laplaceの方程式を解いて求めた2次元電位分布を利用して各イオン種の濃度分布を求めた。ここでは、特に水素イオンに注目して濃度と流束の計算結果を示した。境界における流束は未知なので、境界での水素イオンの

流束と全電流とが比例すると仮定して計算した結果、水素イオン流束が全イオン流束の約30%とした時の濃度分布が測定値と比較的一致した値を示した。

- (4) 計算した各イオン流束から電流分布を求めると、電流は予想されたように基部側から先端に向かって流れており、電界強度と電流密度が比例すると仮定して求めた電流分布とほぼ同じ形状であった。電流密度の最大値は約 $0.4\mu\text{A}/\text{cm}^2$ であり、従来の実験と矛盾しない値が得られた。
- (5) 根の周囲の2次元空間上で偏微分方程式を解く事によって、測定された表面電位パターンを根の表面をよぎる電流密度やイオン流束密度のパターンに変換する事が出来た。ここでは実験条件から2次元平面としたが、3次元空間の場合でも同じ手法が適用できる。これによって、成長状態の評価に重要であると考えられる、生理活動を直接反映している物理量である電流やイオンの輸送量を定量的に求める事が出来る。

第3章 幼根に見られる表面電位の

時間振動と成長の関係

根の表面に観測される電位が根の成長に強く関係している事を述べてきたが、その特徴は大きく2つに分けられる。1つは前節で述べた空間パターンであり、もう1つは時間的な振動現象である。電位の時間振動は空間的にも根の広い範囲にわたってコヒーレンシーを持っており、空間パターンとも相関性のある現象であると考えられる。1.3節で述べたように、膜電位との位相関係から、根の内部の柔組織と導管の間の膜抵抗あるいは膜電位の振動が根の周囲の電流ループに影響を与え、表面電位の振動として現れたものと解釈されている⁽⁴²⁾。また、根の周囲の水溶液の浸透圧を周期的に変化させると電位振動は浸透圧の変動周期に引き込まれるようになる事から、振動現象は周囲の環境変化に関連している現象である事が判っている^(54,55)。しかしながら、根の表面電位振動は、1950年代から報告されているにもかかわらず、その役割やメカニズムについてあまり詳しく調べられてはいない。

そこで本研究では、表面電位の時間振動現象と成長との関係について調べた⁽⁵⁶⁾。電位振動は、大きく周波数、振幅及び位相関係の3つのパラメータで表現される。振幅や位相は根の位置によって大きく異なるが、伸長していく根と電極の位置関係を一定に保つことは出来ないので、特定の位置での電位の振幅や位相関係を正確に得る事は困難である。一方、多くの根では総ての領域で同じ周波数の電位振動が観測されるので、ここでは特に周波数に着目して、振動と伸長の相関性を求めた。また、根の成長活動は、外部環境に大きく依存しているが、ここでは制御出来る外部環境の中で周囲の温度を制御パラメータとして伸長速度や振動の周波数の依存性を測定し、その結果をもとに振動のメカニズムについて考察した。

3. 1 伸長速度と電位振動の関係

実験に用いたアズキは2. 1. 1節で述べた方法で育成したものであり、本実験では根の長さが6cmから8cmのものを用いた。アズキの根の表面電位の測定にあたって、第2章で述べた多点電極測定装置を用いている。ただし、本研究では伸長速度や振動周波数の温度依存性を調べられるように、実験にあたって根の周囲の水溶液の温度の正確な制御及び測定が可能な容器を作成した。実験装置の概略を図3-1に示す。測定用の容器はアクリル板で作られており、上部の区画と下部の区画に分かれている。上の区画は底に濾紙が敷いてあり、0.1mM KCl溶液が深さ約5mm入れられており、この中にアズキの根を水平に置く。下側の密閉された区画は、水温調節のための区画であり、区画の中は水で満たされており、加熱用のヒーターと、ヒーターの制御用の温度センサであるサーミスタが入っている。ヒーターのある区画と根を置く区画を上下に分離したのは、上部の区画は水溶液の量が少ないために、直接加熱したのでは温度変化や温度勾配が大きくなりすぎるためと、ヒーターから発生する電気的なノイズが、根の表面電位の測定に影響を及ぼすのを防ぐためである。ヒーターとサーミスタは、温度制御回路に接続されており、任意の温度に設定する事が出来る。制御方法は最も単純なON/OFF制御であるが、上部の区画の水溶液の温度は約±0.1℃の精度で制御する事ができる。温度を数度変化させる時、下の区画の水温は3分程度で定常に達したが、上部の区画ではそれよりも遅れて約10分程度を必要とした。

電位測定は時間振動に関する諸特性の中で周波数だけに注目しているので、最も大きな振幅が得られる伸長領域付近の表面電位だけを測定した。伸長領域は時間とともに移動していくため、電極を伸長領域から先端側に1mm間隔で数本並べている。各電極は根が伸長する過程で電極と接触しない様に、先端が根の表面から約0.5mm離れた位置に固定した。また、参照電極は根から数cm離れた水溶液中に置いた。溶

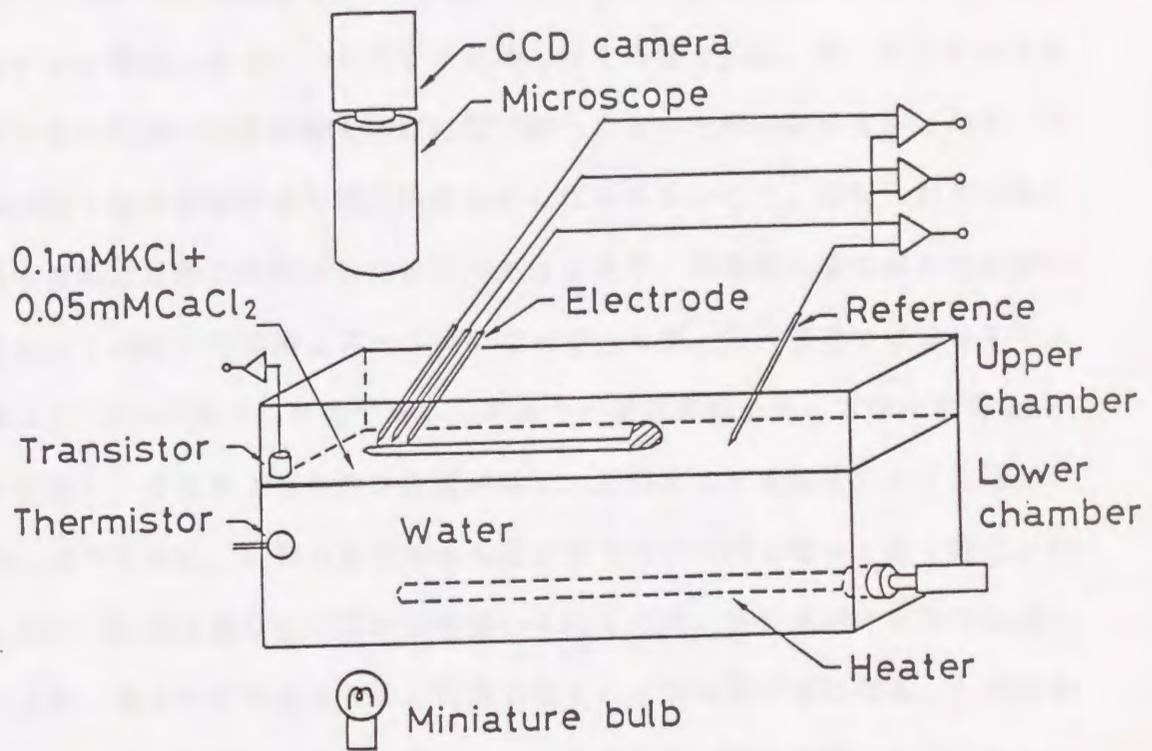


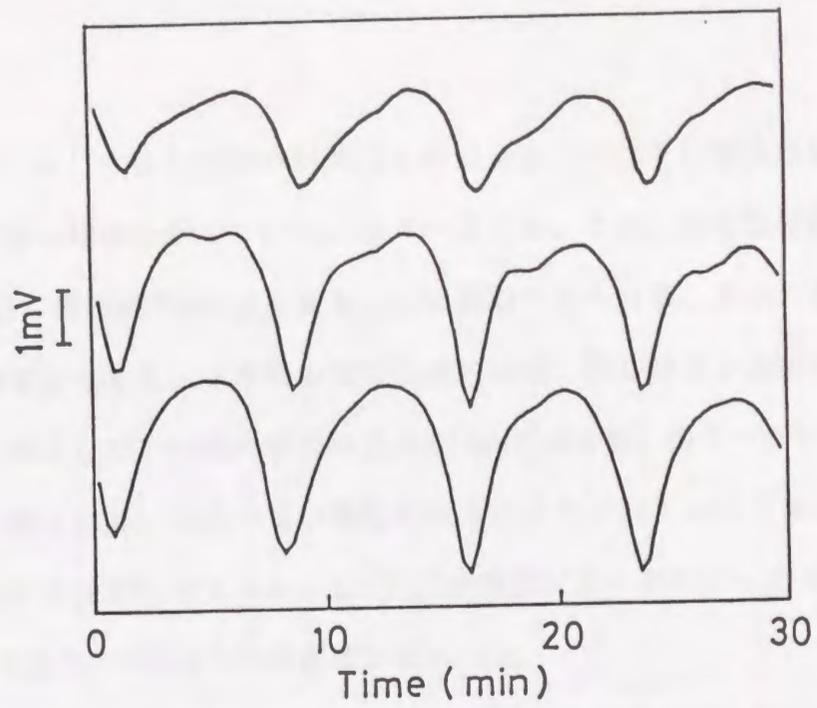
図3-1 根の表面電位の測定装置。多点電極測定装置に水溶液の温度調節用のヒータと温度測定用のトランジスタセンサを組み込んでいる。

液中の温度をモニタするために、トランジスタ製の温度センサを容器の端にセットした。測定された温度は、表面電位と同様にA/D変換されてコンピュータに取り込まれるようになっている。実験中、ビデオカメラを接続した顕微鏡によって観察、録画を行い、根の伸長速度を求めた。根の伸長方向は、実験環境ではわずかに軸方向からはずれる場合もあるが、ここでは伸長方向を考慮せずに、測定開始時から終了時までの根の先端の移動距離を測定時間で割ったものを根の伸長速度と定義した。根の先端付近の位置が顕微鏡で識別出来なければならないので、根を入れる容器に敷いてある濾紙には根の先端付近だけ穴があけてあり、透過光で根の影が顕微鏡に映るようにしてある。顕微鏡はズーム式になっているが、最大倍率ではCRTモニタの映像上で約5 μ mの識別が可能である。アズキの根は容器上部の区画の水溶液の中に水平に置く。根は水よりもやや比重が軽く、このままでは溶液の中で先端部が浮かんでしまうために、0.5%の寒天を含んだ溶液で根の周囲を覆って緩く固定した。根は、不規則に屈曲を繰り返しながら伸長していくため、伸長速度の正確な測定が困難になるが、寒天中で伸長させると屈曲もほとんど現れない様になる。0.5%程度の薄い濃度の寒天溶液では、溶液に寒天をまぜた事による伸長速度の低下は見られなかった。

実験を行なう際、まずアズキや電極を容器にセットし、寒天溶液で覆った後水溶液を5mmの深さになるまで入れる。所定の温度に保った後、根が安定な状態に落ちつくように1時間以上放置する。その後、表面電位及び伸長の測定を行なったが、電位振動の周期は通常5分から10分程度であるので、振動及びその周波数が十分に識別できる時間として測定時間を30分間とした。

アズキの根は自発的に電位振動を起こしている。しかしながら、同一の外部条件でも電位振動を示さない個体もあり、また、長時間測定すると、一個の個体でも振動が見られる時と見られない時がある。図3-2(a)、(b)に、表面電位の時間変動の様子を、振動の起こっている例と起こっていない例についてそれぞれ示す。

(a)



(b)

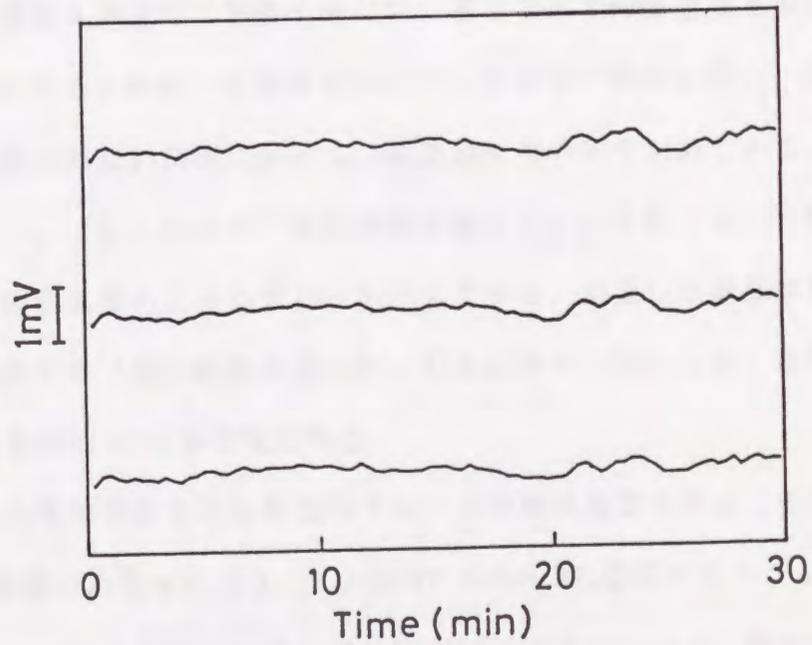


図3-2 根の表面電位の時間変化. 伸長領域近傍に置いた電極の電位である.
(a) 振動現象が現れた例, (b) 振動的な振舞いを示さない例.

ただし、(a)と(b)の波形は別の個体のものである。それぞれ伸長領域付近に位置する3本の電極の電位を示している。図3-2(a)では、伸長領域全域にわたって周期約7.5分、振幅約2mVのはっきりとした振動が見られる。表示したのは総て伸長領域の表面電位であり、3カ所の電位は同じ周期、同じ位相で振動しているのが判る。電位を測定した30分間の根の伸長は667 μ mであった。図3-2(b)は振動が見られない例である。ほぼ一定の電位を保っており、わずかに不規則な変動が見られる。(a)と比較すると(b)は1 $^{\circ}$ Cだけ温度が低い条件だったが、30分間の伸長は429 μ mであり、30%以上伸長速度が低かった。

図3-2では電位振動の見られない根の方が伸長も少なかったが、根は伸長速度に関して個体差が大きいため、必然的に統計的な処理を必要とし、一例だけでは伸長速度と電位振動の関係を議論する事は出来ない。そこでまず伸長速度と振動の有無の相関性を明らかにするために、多数の個体に対して同様の実験を行い、電位振動の見られた個体と見られない個体に分けて、伸長速度の分布を求めてみた。その結果を図3-3(a)、(b)に示す。電位振動を起こしている根(a)と起こしていない根(b)の伸長速度のヒストグラムを示している。測定した総個体数は118本であり、その中の87本で電位振動が見られ、31本は見られなかった。電位振動を起こしている根は全体の74%と多数を占めた。

図3-3(a)の電位振動を示した根のグループの伸長速度分布は、0.6mm/hから2.1mm/hの広い範囲にわたっており、1.0mm/hと1.4mm/hの位置にピークを持っている。(a)のグループの平均の伸長速度は1.34mm/hである。一方、振動の無いグループの伸長速度分布である図3-3(b)では、分布は0.6mm/hから1.4mm/hという伸長速度の低い方に偏っており1.4mm/hを越す伸長速度を示す個体は一つも見られなかった。(b)のグループの平均伸長速度は1.0mm/hである。但し、図3-3のヒストグラムは18 $^{\circ}$ Cから30 $^{\circ}$ Cまでの様々な温度範囲での実験結果を含んでいる。根の伸長速度は温度に強く依存するので、図3-3のヒストグラムの形状そのもの

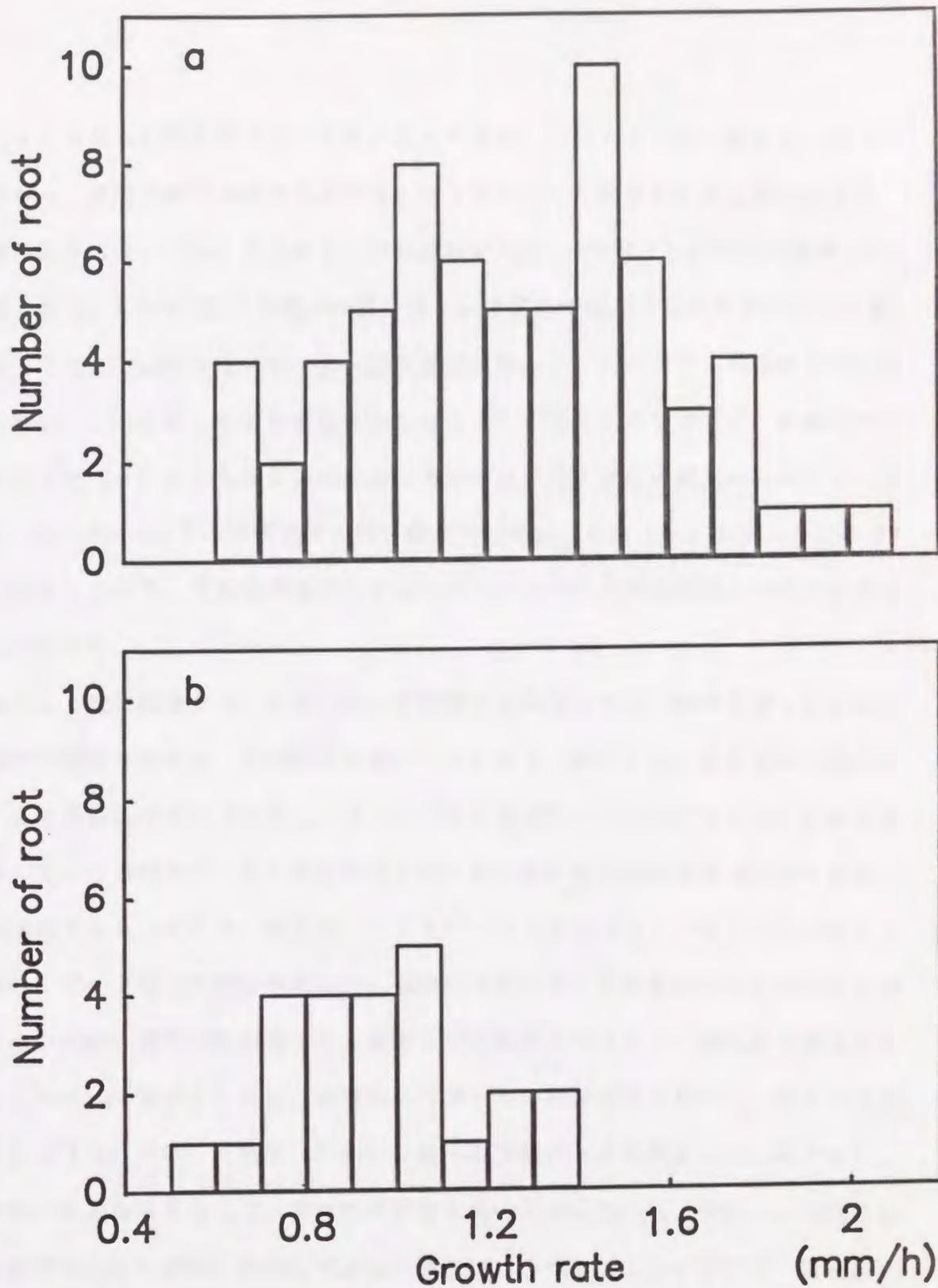


図3-3 根の伸長速度分布。(a) 電位振動を示した個体の伸長速度分布。(b) 振動を示さなかった個体の伸長速度分布。18℃から30℃までの温度範囲での実験結果を含む。

はあまり重要な意味を持っていないと思われるが、(a)と(b)をヒストグラムの差から、電位振動の有無と伸長速度にはっきりとした関連性を見る事が出来る。振動の見られない(b)の分布は、伸長速度が低い1.4mm/h以下の範囲に集中している。即ち、1.4mm/h以上の高い伸長速度を示す個体では必ず電位振動が生じた事になる。ここでは示さないが、狭い温度範囲に限ったヒストグラムも同様な傾向が見られた。これに対して電位振動を示した(a)のヒストグラムでは、振動の見られなかった(b)よりも伸長速度は低い方から高い方まで広い範囲にわたっている。(a)の1.4mm/h以下の伸長速度の低い範囲の分布は、ほぼ(b)のグループの分布と重なっており、電位振動を示すグループの中にも伸長速度の低いものもかなり含まれている。

さらに、電位振動を示した根に関して振動の周波数を求め、伸長速度と振動周波数の相関関係を調べた。その結果を図3-4に示す。測定された電位振動の波形は必ずしも規則的な波形ではなく、ドリフトや単発的なノイズなど多くの非振動成分を含んでいる事が多く、また測定時間も短いため波形から直接振動の周期を求めるのは困難である。そこで、時系列データをパーソナルコンピュータ上でスペクトル解析し、ピーク値の周波数を求めた。振動の周期に対して測定時間は数周期分しか含まないため、測定時間が短くても安定して正確なスペクトルが得られる最大エントロピー法(MEM法)により周波数スペクトルの計算を行った⁽⁵⁷⁾。図3-4は、図3-3(a)で示した結果(87例)と同一の実験データを基にしたものであり、周波数・伸長速度平面上で、各々の測定結果を○で示している。図3-4の直線は最小自乗法により決定したものである。非常にばらつきは大きいものの、電位振動の周波数の高いものほど、伸長速度も高い傾向がある様に見える。

図3-4では伸長速度と振動周波数の間にはあまり強い相関性がある様には見えない。しかしながら図3-4は図3-3と同様に温度が広い範囲にわたっている実験結果を総て含んでおり、図3-4の中には温度差に依存した周波数や伸長速度の

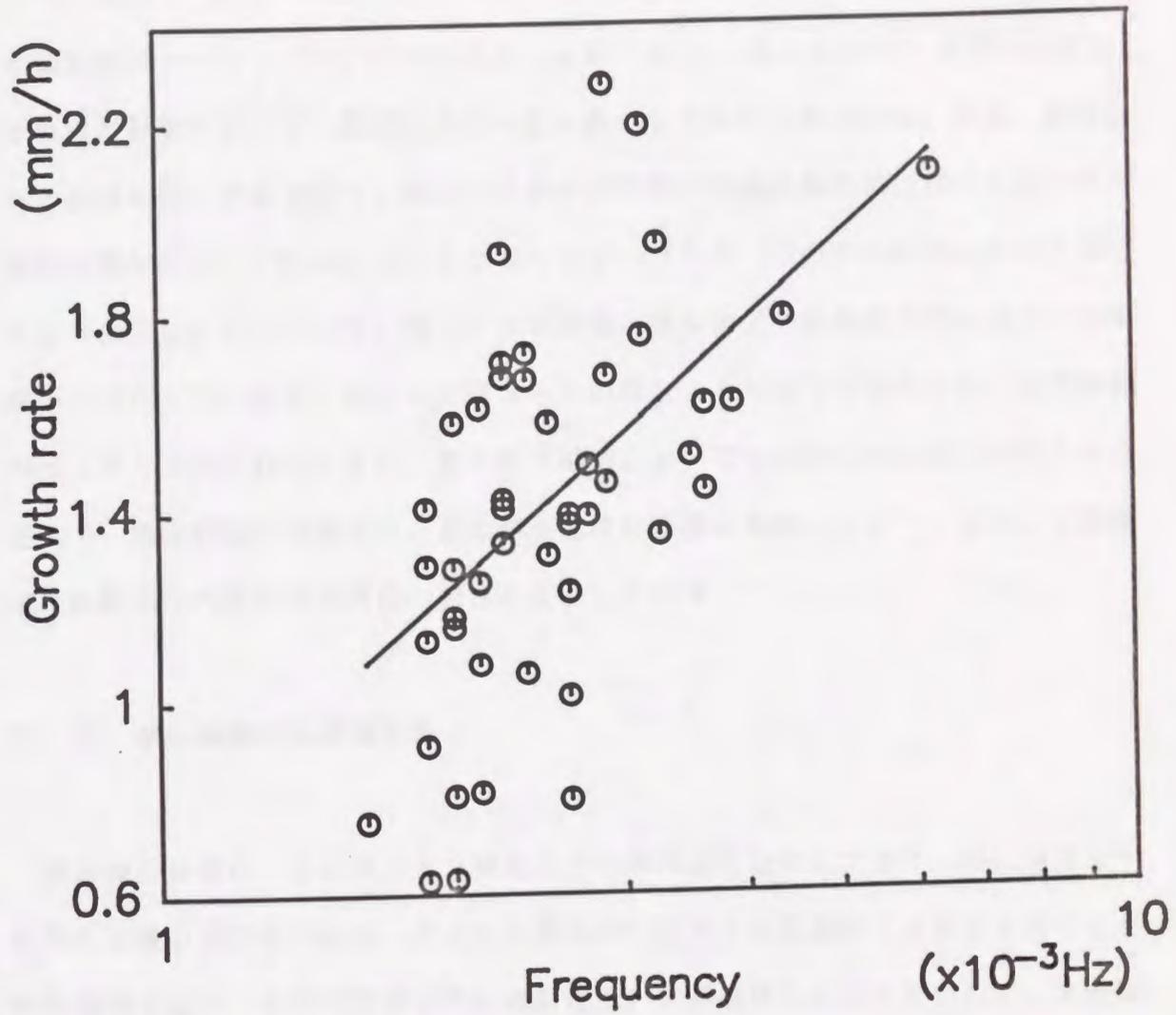


図3-4 伸長速度と電位振動の周波数の相関関係。実験データは、図3-3(a)に示したものと同一であり、18℃から30℃までの温度範囲の実験結果を含んでいる。直線は最小自乗法により決定した。

変化も含まれている。そこで温度を一定にした場合の周波数と伸長速度の関係を図3-5に示す。図3-5は、図3-4で示したデータの中から温度が28°Cから29°Cの範囲内のデータ(13例)だけを示したものである。1°Cの範囲内では根の伸長はそれほど影響を受けず、温度はほぼ一定とみなしてよいと思われる。無論、温度以外の条件も同一であるので、図3-5中の周波数や伸長速度の差は純粋に根内部の状態の個体差だけに依存していると考えてよいだろう。図の中の直線は最小自乗法により決定したものである。図3-4と同様、周波数と伸長速度の間には正の相関関係が存在しているが、明らかに図3-4の場合よりもばらつきは少なく相関関係がはっきりと見られる。また、他の温度帯域においても似かよった傾向が得られた。従って、電位振動の周波数は、根の伸長速度に密接に関連しており、また、外部環境に無関係な内部の伸長活動の強さも反映している。

3. 2 電位振動の温度依存性

根の伸長速度は、温度やイオン濃度など外部環境に依存しており、特に伸長速度と温度は強い相関性がある。アズキの場合30°C以下の温度範囲では温度が低いほど伸長速度も低い。また15°C以下では非常に低い伸長速度しか示さないため、本実験では正常な根の伸長が見られる18°Cから30°Cまでの温度範囲で実験を行なった。前節で根の表面電位の振動周波数と伸長速度の間に正の相関関係がある事を述べた。図3-5で、温度が一定の条件での周波数と伸長速度の関係を示したが、根の伸長速度は温度に強く依存する事から、電位振動もまた温度の影響を受けている事が予想される。そこで、電位振動の周波数と周囲の温度の相関関係を求めた。その結果を図3-6に示す。図3-4と同様に、図3-3(a)で示したデータ(87例)と同一の実験結果を基に、周波数・温度平面上で各々の測定結果を○で示している。測定値である周波数や伸長速度と異なり、温度は制御パラメータであるが、28°C前

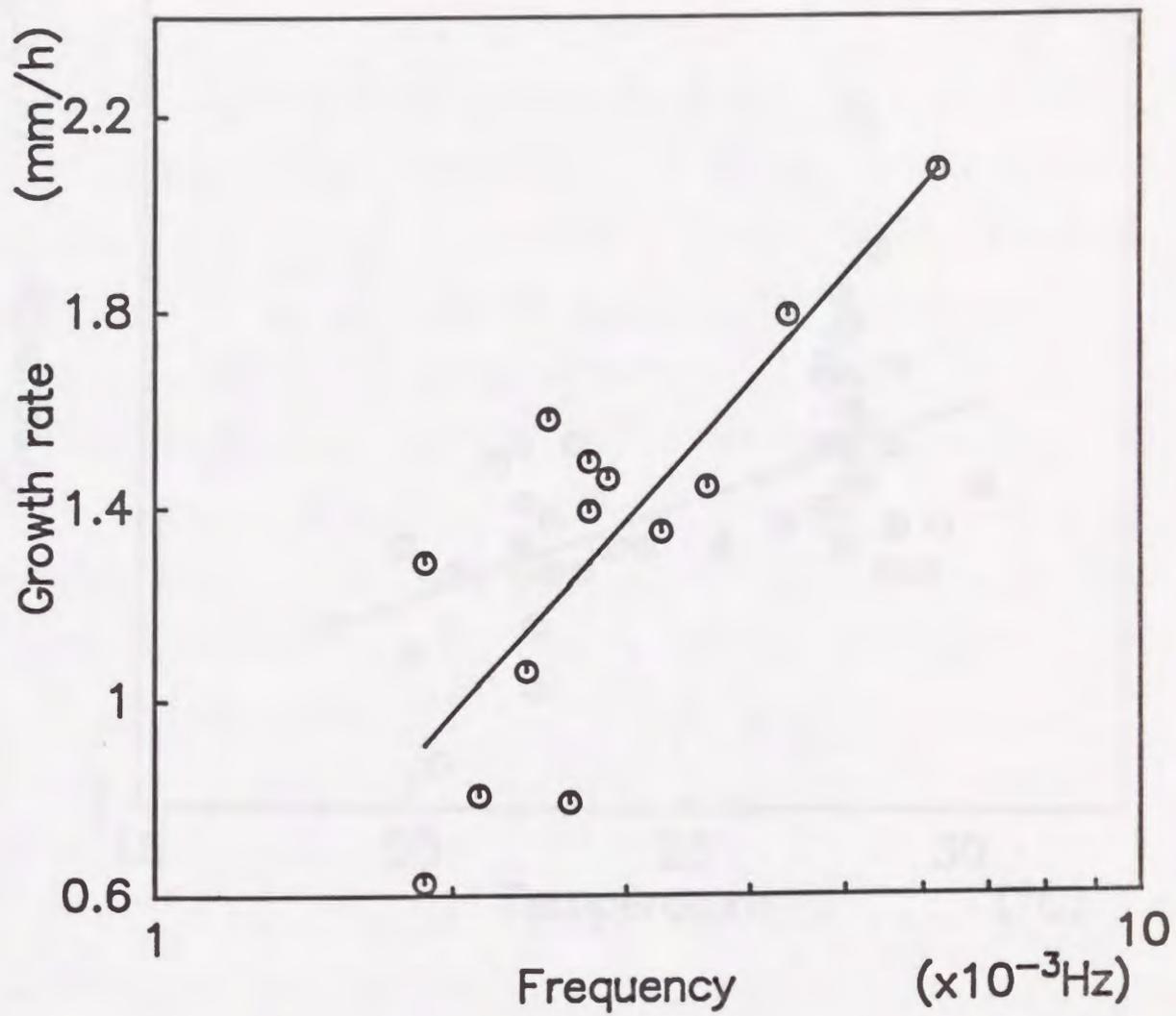


図 3 - 5 伸長速度と電位振動の周波数の相関関係。図 3 - 4 のデータから、28℃から29℃までの温度範囲のものだけを示した。直線は最小自乗法により決定した。

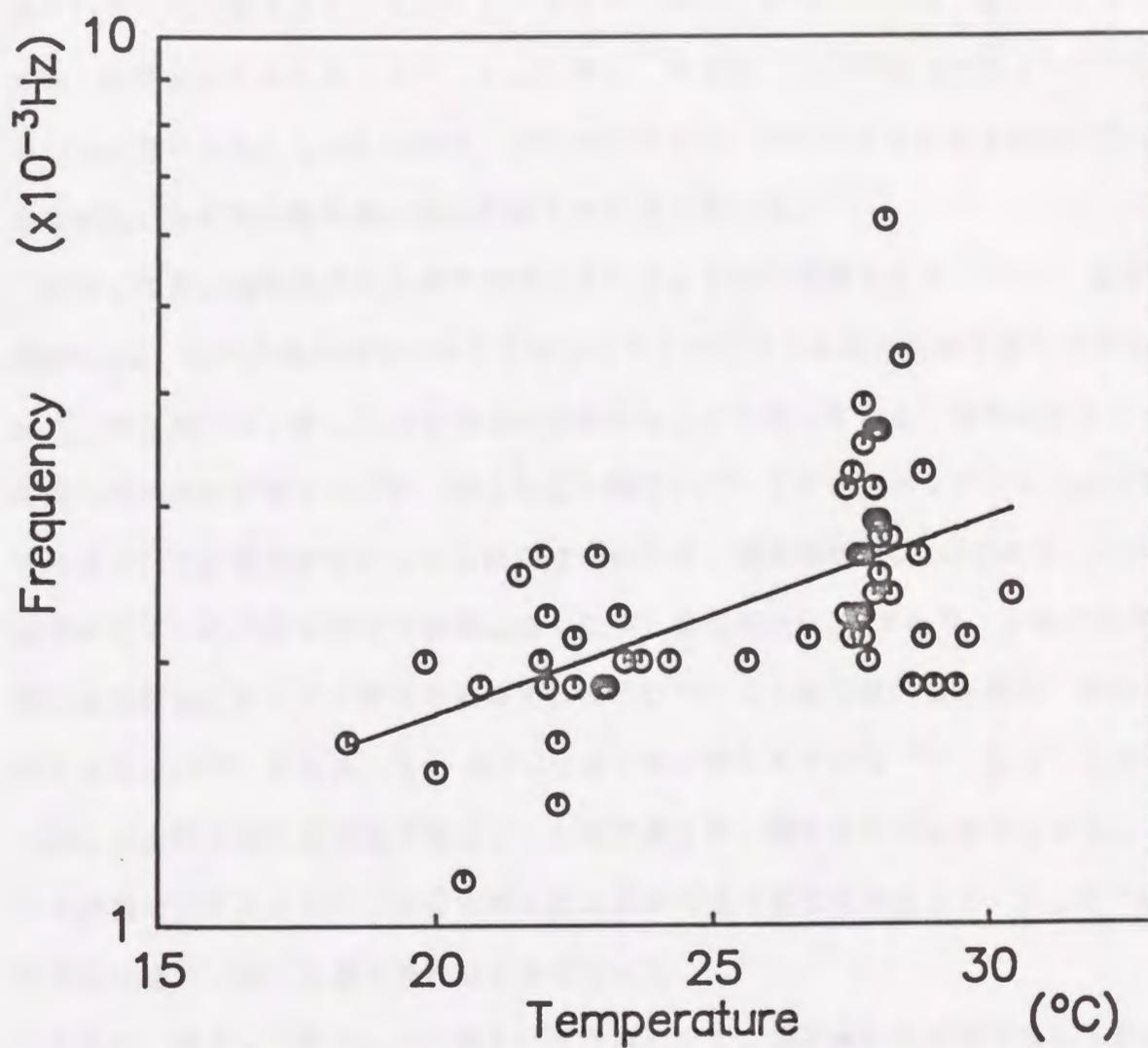


図 3 - 6 電位振動周波数の温度依存性. 実験データは, 図 3 - 3 (a) に示した
 ものと同一である. 直線は最小自乗法により決定した.

後で行なった実験が多かったためデータはその周辺に集中している。図3-4の周波数・伸長速度平面におけるデータと同様に、周波数・温度平面上でもかなりのばらつきが見られる。しかしながら、28℃付近の分布と20℃付近の分布を比較すると、温度が高いほど周波数も高い傾向が明らかに見て取れる。

様々な現象の温度依存性を表す指標の1つとして温度係数がある^(58,59)。温度係数 Q_{10} は、生命活動に関係のある化学反応などに対する温度の影響を表す指標であり、温度が10℃上昇した時の数値が何倍になるかを表している。植物には様々な時間振動的現象が見られるが、例えば広く知られているサーカディアンリズム（概日リズム）では温度が変わっても周期は変動せず、温度係数は $Q_{10} \approx 1$ である。一方通常の化学反応の反応速度は温度に強く依存し温度係数 $Q_{10} \approx 2$ であり、生物の生理学的温度範囲においての酵素が触媒する反応についても同程度の値を持ち、呼吸作用では Q_{10} は2~3、光合成では Q_{10} は1~2である事が知られている⁽⁶⁰⁾。図3-6の中で示した直線は最小自乗法で決定したものであるが、周波数を反応速度とみなして、この直線の20℃及び30℃における周波数の値から温度係数を求めると、 $Q_{10} \approx 1.7$ と化学反応速度における値と同程度の値になった。

さらに、図3-6で示した実験データを基にして、温度依存性が化学反応を反映していると仮定した時の活性化エネルギーを求めてみる。化学反応の絶対温度 T における反応速度定数を $k(T)$ とすると、これらの間には一般的に

$$\ln k(T) = B - \frac{E_a}{RT} \quad (3.1)$$

というArrheniusの式と呼ばれる関係式が成立する。ここで、 R は気体定数、 B と E_a は反応条件に固有な定数であり、 E_a は活性化エネルギーと呼ばれ温度依存性の一つの指標となるものである。この時、反応速度定数 $k(T)$ と温度 T の関係を横軸を絶対温度の逆数、縦軸を反応速度の対数としてプロットすると直線関係が得られる。こ

の直線の傾きから、活性化エネルギー E_a の値を得る事ができる。図3-6で示した電位振動の周波数の温度依存性のデータを、横軸を絶対温度の逆数、縦軸を周波数の対数として書き直したものが図3-7である。最小自乗法により推定した直線を図3-7中に示しているが、直線の傾きは -2031K となり、活性化エネルギーは $E_a=9249\text{cal/mol}$ という値が得られた。この値は、典型的な酵素反応の活性化エネルギーに近い値である⁽⁶¹⁾。

これまでの実験では、温度を一定に保って30分間の伸長速度と電位振動を測定したが、今度は1本の根において長時間測定を行い、途中で温度を変えてみたときに根の伸長速度や電位振動にどのような影響が見られるかを調べてみた。図3-8及び図3-9に2つの例を示す。

図3-8は温度を 20.5°C から 23°C に変化させた時の電位振動の挙動を表した例である。測定の前半90分間温度を 20.5°C に保っているが、測定開始時にはあまり明確に現れていなかった電位振動が30分位から徐々に現れはじめ、1時間位では振幅も 1mV 以上のはっきりとした波形が観測されている。このように、長い時間が経過する中で、電位振動が強く現れたり、はっきり現れなかったりする事はしばしば見られる現象である。温度 20.5°C における振動周期は、 14.8 分であった。測定から90分後に温度設定を 23°C に変更したが、約15分後には一定温度に達している。この時、電位は振動が持続したまま連続的に振動周期が変化していくのではなく、温度を変化させた直後から不連続的な変化を見せている。温度変化を刺激として感知したためか、90分から110分までは電位振動が消え、不規則な変動を示しているのが判る。しかしながら、110分より以降は再び安定した大きな振動波形を示すようになり、3時間の測定を終了するまで振動は持続している。後半の 23°C における振動周期は約 8.7 分であり、前半の温度 20.5°C での周期 14.8 分に比べて短くなっている。他の測定結果も同様な傾向が見られた。この様に、1本の根について温度を変化させて連続的に電位測定を行なった場合も、多数本測定した場合と同様に、温度が高い

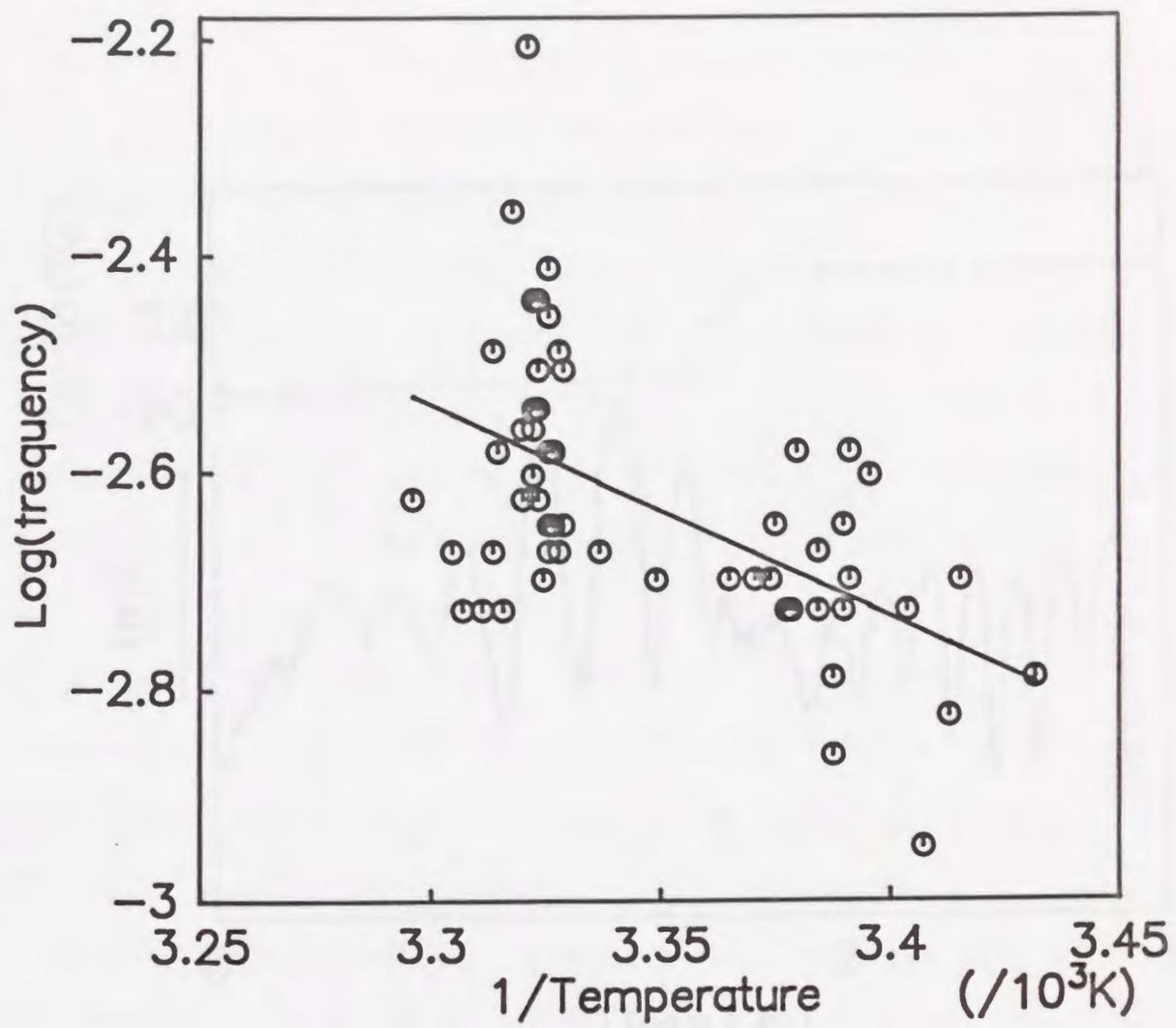


図3-7 図3-6で示した電位振動の周波数と温度の関係をArrhenius plotしたもの。直線は最小自乗法により決定した。

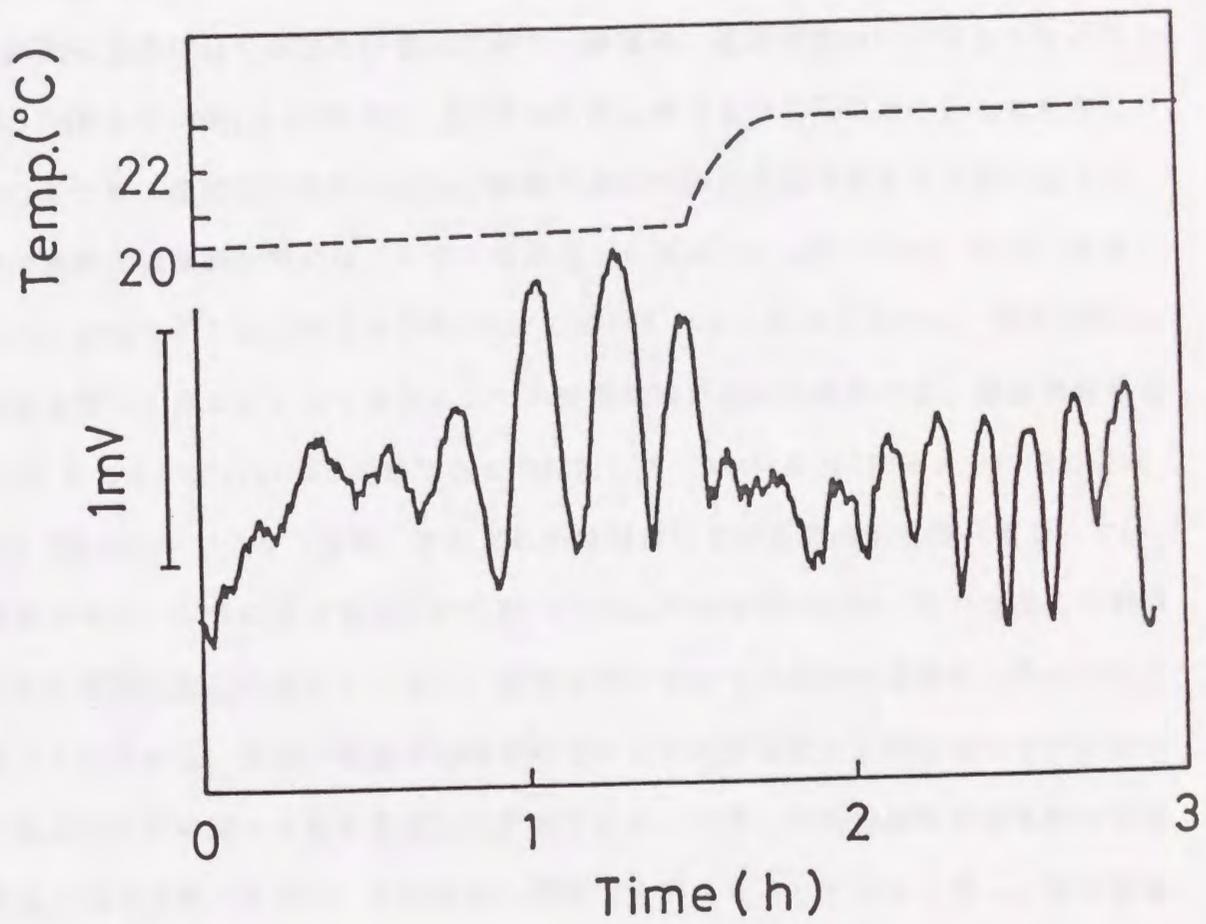


図 3 - 8 温度を変化させた時の電位振動の時間変動の例.

ほど振動周波数も高くなるという結果が得られた。

図3-9は、温度を3段階に変化させた時の電位及び伸長の変動の様子を測定した例である。根の伸長は、根の先端の移動を10分おきに測定した結果を示している。5時間以上連続して測定を行っており、温度は、測定開始から90分までを20℃とし、90分から210分まで22.5℃、210分から測定終了まで27℃になるように設定した。この例では、温度変化に対する電位振動の周期や伸長速度の挙動は単純ではない。電位振動は実験開始時にはごく小さな振幅しか現れていなかったが、次第に大きくなり、温度を27℃に上昇させた210分まで続いている。しかしながら、電位振動の周期を調べてみると、はっきりと2つの時間領域に分ける事ができ、測定開始から140分までは一定の11.5分周期であるのに対して、140分から210分までの振動周期は8.9分となっている。また、それぞれの時間領域での振動波形も幾分異なっている事が判る。90分に温度を20℃から22.5℃に上昇させているが、その直後には電位振動の周期に変化は現れていない。測定当初小さかった振動の振幅が次第に大きくなっているのは、実際に振動源の振幅が増大したのではなく、測定電極と伸長領域の位置関係が時間とともに変化したためである。一方、伸長速度は実験開始から幾分低下傾向があったのが、90分後から温度を上昇させるとともに上昇し、電位振動の周期の短い140分から210分までは高い伸長速度が維持されている。210分で温度を22.5℃から27℃に上昇させたところ、その直後に電位振動は停止し、測定期間中、振動は再び現れなかった。伸長速度に関しても、210分から220分までは一旦大きく増加しているが、その後は温度が高いにもかかわらず徐々に低下し、5時間以降は温度が22.5℃の期間よりもむしろ低い値を示している。この様に、温度を時間変化させた時の時間経過を見ると、温度を上昇させた時でもしばらくは振動周期が変化しなかったり逆に振動が停止するなどの複雑な過渡応答を示す場合もあった。しかしながら、図3-9の場合でも電位振動の様子と伸長速度の関係を見ると、振動の周期が短い140分から210分までの期間が相対的に伸長速度が高く、また振動の停止

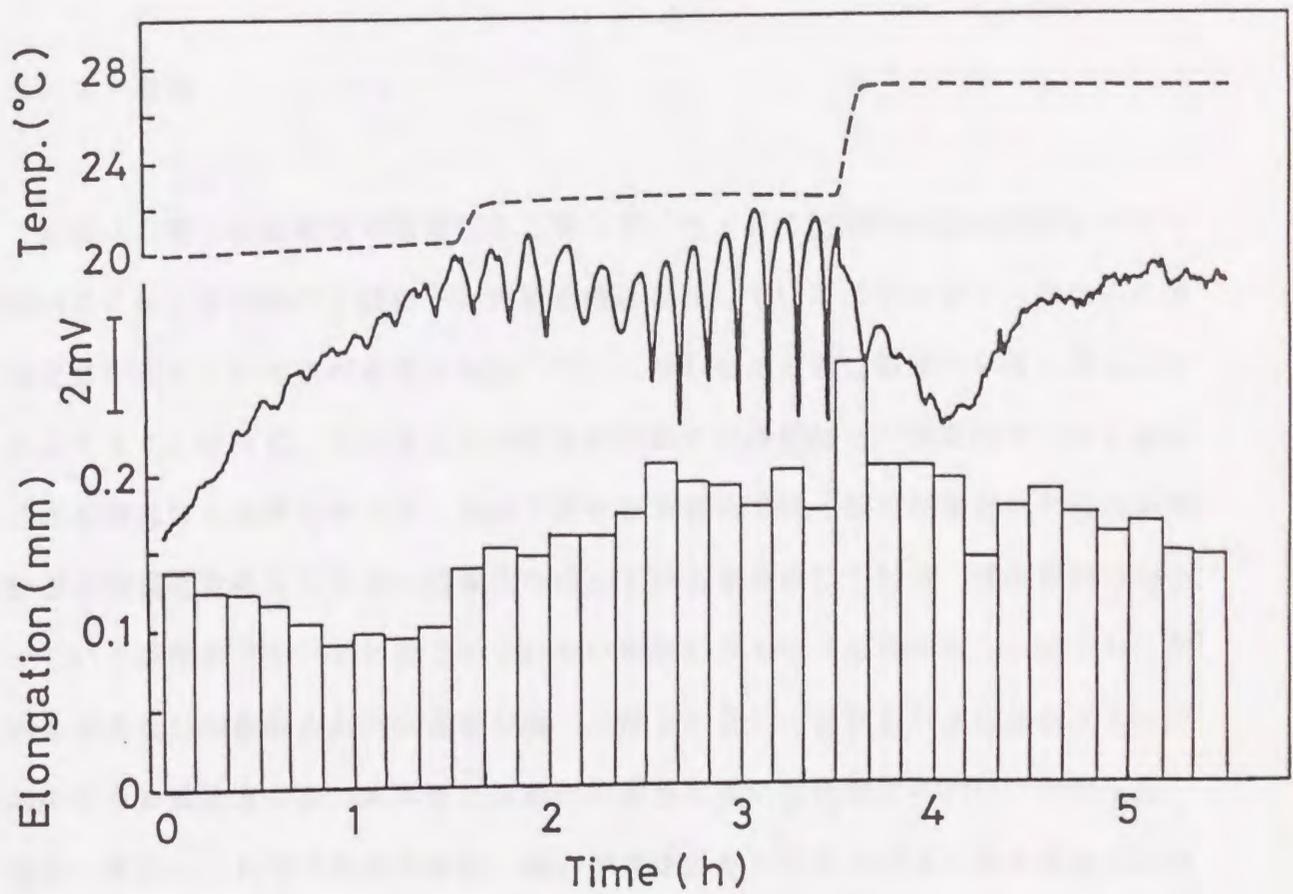


図 3 - 9 温度を変化させた時の電位振動や伸長速度の時間変動の例.

とともに伸長速度の低下が生じるなど、多くの根に対する実験を統計処理した結果と同一の傾向が見られる事が判る。

3. 3 考察

従来は、根の表面電位の振動現象に関して、主として空間的な位相関係について調べてきた。その結果、振動子は表面近傍に存在しているのではなく、内部の導管付近に存在している事が示唆された⁽⁴²⁾。しかしながら電位振動のメカニズムは明らかでなく、従って、これまでその生理的役割や成長現象との関連性について議論された事はほとんどなかった。本章で述べた実験結果は、根の表面電位の振動現象が根の伸長速度に対して強い相関性を持っている事を示している。電位振動の起こっている個体のグループと起こっていない個体のグループに分けると、明らかに振動を示さない個体の方が伸長速度が低く(図3-2)、振動を示す個体のグループの中でも伸長速度の高い個体ほど振動の周波数も高い傾向が見られた(図3-3、図3-4)。これらの実験事実は、高い伸長活動をしている根ほど電位振動も活発である事を意味しており、電位振動の周波数は根の伸長活動の1つの指標となると思われる。

振動の無い個体の伸長速度分布が低伸長速度の狭い範囲に集中しており、高い伸長速度を示す個体は総て振動が現れている事から(図3-2)、電位振動は根の正常な伸長活動に必要な条件であると思われる。実際、図3-9で温度を27℃に上昇させた時、通常ならば温度が高いほど伸長速度も高くなるべきところが、急激な温度変化によるものか、伸長速度は逆に低下してしまっただが、同時にそれまで安定に観測されていた電位振動も停止している。同様な現象は成長ホルモンであるIAAを高濃度で与えた時にも見られており、伸長速度の急激な減少と同時に振動も停止した事が報告されている⁽²¹⁾。一方、振動が観測された個体のグループの中には、

振動の無い個体と同程度の低い伸長速度のものも多く含まれている（図3-2b）。従って、振動が観測されている個体は総て伸長速度が高いとは限らないが、振動周波数まで考慮すれば、内部の伸長活動をかなり良く反映していると言えるだろう。制御し得る総ての外部環境を一定にした状態でも、電位振動の周波数の高いものほど伸長速度が高い傾向がはっきりと現れている（図3-4）。同一の外部環境であれば、伸長速度の差は個体差による内部状態の差だけに起因するものである。従って、電位の振動現象と内部の成長活動との間には、単に温度などの外部パラメータを介した間接的な相関関係があるだけではなく、何らかの直接的な因果関係が存在する事は明らかである。

根が正常な伸長活動を維持できる範囲で温度を変化させて、振動周波数と温度の関係を調べてみたところ、温度が高いほど周波数が高いという傾向が見られた（図3-8）。生物において、時間的な周期変動には様々な現象があるが、必ずしも総てにこの様な温度依存性が見られる訳ではなく、例えばサーカディアンリズムの周期はほとんど温度に依存しない⁽⁵⁹⁾。振動周波数の温度係数 Q_{10} を推定すると約1.7という値が得られた。多くの植物の茎や根で、転頭運動など伸長そのものに振動現象が現れる事が知られている。カラシナの茎では数分の周期で伸長速度が周期的に変動するが、この温度係数 Q_{10} は約2.2から2.4と、ここでの電位振動の温度係数と近い値であり、電位振動と伸長の振動との間に何らかの関係がある事が示唆される^(62,63)。しかしながら、本実験における実験条件では、根は水平に置かれているために自由な運動が妨げられており、転頭運動と表面電位との関係については今後の課題である。また、通常の化学反応では温度係数 Q_{10} はおよそ2程度であり電位振動の温度係数と近い値であるが、電位振動周波数の温度依存性をArrheniusの関係式に当てはめて求めた活性化エネルギーの値が、酵素反応のもつ値と近い値となった事から、根の表面電位振動現象が内部の何らかの酵素反応と関連した現象であり、周波数の温度依存性は酵素反応の温度依存性を反映しているものではないかと思わ

れる。

ここでは、外部環境の制御パラメータとして温度を選んで実験を行ったが、伸長速度は様々な外部環境に影響されるため、他の外部環境の依存性を調べる事は電位の振動現象の発生機構の解明の手助けになると考えられる。特に、電位振動は外部の浸透圧の周期的変動に引き込まれる事が知られている⁽²¹⁾。植物の細胞は堅い細胞壁に覆われており、細胞の伸長は、細胞内と外の浸透圧差による膨圧と細胞壁の伸展を原動力として生じる。従って、細胞の伸長に直接関与している浸透圧の振動に電位変動が引き込まれるという事実は、膨圧と振動現象の関連性を示唆している。単細胞植物であるカサノリでは膨圧と膜電位の関係が詳しく研究されているが、自発的に生じる活動電位、即ち膜電位の振動が膨圧の調整の役割を担っている事が判っている⁽⁶⁴⁾。根の場合にも、電位振動が膨圧の調整に関係している事が充分に考えられ、今後浸透圧と電位振動の関係をさらに調べる事によって、根の成長における電位振動の役割がより明らかになると思われる。

3. 4 結論

本章では、アズキの根の表面電位の振動現象に着目し、温度を制御したうえで電位振動及び伸長速度を同時に測定し、電位振動の性質に関して、伸長速度、振動周期、温度環境の関係について考察した。本章で得られた結果は次のようにまとめられる。

- (1) アズキの根の表面電位を測定すると、時間振動に関して、振動が観測される個体のグループと観測されない個体のグループに分かれた。伸長速度は個体によってかなりばらつきが見られたが、振動の無いグループでは、振動のあるグループに比べて伸長速度の平均値が明らかに低い事が判った。特に、振

動のあるグループは伸長速度の広い範囲で分布していたが、振動の無いグループは伸長速度の高い個体がほとんど無かった。

(2) 温度などの外部環境を一定に保った場合、電位振動の周波数と伸長速度の間には正の相関が見られた。即ち、振動の周波数が高いほど伸長速度も大きいという傾向が見られた。

(3) 水溶液の温度を変えて電位振動の周波数と伸長速度を測定した結果、温度が高いほど振動の周波数も高いという傾向が見られた。生化学的な反応との関係を考察するために温度係数及び活性化エネルギーを求めた結果、電位振動は酵素反応と関連がある事が示唆された。

(4) 以上、表面電位の時間振動現象の諸特性を調べた結果、振動現象が根の成長に密接に関係している事が明らかになった。振動を特徴づける量として振動周波数に着目すると、周波数が高いほど成長活動が活発に行われていると解釈でき、電位振動も成長状態を評価する上での一つの指標となり得ると考えられる。

第4章 側根の発生に伴う電気化学的 パターンの形成

アズキの種子より主根が現れてから数cmになるまでの成長の初期の段階では、最初は低かった伸長速度が次第に増加していくが、主根の長さが2~3cmになると伸長速度はほぼ一定の状態になる。第2章及び第3章では、伸長速度が一定になった段階での主根の伸長と表面電位の時空間構造の関係について述べた。主根がさらに伸びて10cm以上になると、主根の先端付近では伸長やそれに伴って発生する電気化学的事象に大きな変化はないが、主根の基部側では側根が現れてくるようになる。根は茎と異なり、成長しても付属器官が作られず機能的な変化はないが、十分に発達した個体では主根に多くの側根が形成され、側根からもさらに2次、3次と分岐していく。主根や側根は個体を機械的に支える機能と周囲の土壌から無機養分の吸収の機能を持っている。この中で植物工場での環境下では、主に水や養分の吸収能力が重要になるが、吸収能力はほぼ根の表面積に比例するので、植物個体としての成長を評価する場合、主根と同様に側根の分岐と伸長の性質について調べる事も重要である。

そこで本章では、上記の観点から、主根の基部側における成長と電気化学的現象の関係について調べた結果について述べる⁽⁶⁵⁾。まず主根の伸長と共に現れてくる側根の周囲の電位パターンを測定した結果から、側根の出現と電気化学的事象の関連性について議論し、また長く伸びた側根に対しても、主根と同様に表面電位の時空間構造を調べ、主根との比較を行う。さらに側根の発生に伴う主根の表面電位パターンの変化についても考察する。

4. 1 側根の発生時の電位パターン

主根が種子から現れてから間もない、長さ1cm程度のごく短い初期の時期の主根の伸長速度は低い。主根が約3cm以上の長さになると、伸長速度は主根の長さに無関係にほぼ一定になり室温約28℃では1mm/hから2mm/hの値を示す。長さが7cm以下の主根には側根はほとんど見られないが、それ以上に伸長すると、基部側に側根が現れてくるようになる。図4-1に側根の分布している根の写真を示す。側根は主根から半径方向に、放射状に分岐するが、ここでは根を水平に置いて生育させているので、側根も水平面上に伸長している。さらに側根の成長が進むと側根からも2次側根が現れてくるようになるが、ここではそれより前の段階の個体を実験の対象とする。

図4-2に主根の軸を基準とした側根の発生位置と長さの分布の典型例を示す。この例は主根の長さが約25cmの個体のものである。側根は、主根の先端を基準として約7cm後方の辺りから見られたが、7cmから9cmまでに位置する側根は長さが1mm以下で、主根の表面にわずかに突起が現れている状態である。明らかに側根の形状が観察されるのは主根の先端から9cmより後方で、側根の長さは主根の基部側にあるものほど長い。図4-2の中の直線は最小自乗法により決めた平均的な側根の長さで、1cm主根の基部側にいくと側根の長さは約0.22cm長くなる。側根の発生密度は約4本/cmであり、基部側ほど幾分高い値を示す。これは、側根の現れる位置が主根の伸びに関わらず常に先端から6~7cm程後方の周辺に集中しており、それより基部側で新たに生じる側根はわずかである事を反映している。

側根の発生は、根の内部の中心柱と内皮の間の部分から起こり、側根の形態が完成する前の段階を原基と呼ぶ⁽⁶⁸⁾。中心柱とは、導管など、水分や養分の通りみちのある中心部分である。図4-3は根の内部構造の模式図であり、下部に拡大してあるのが内皮で、そのすぐ内側に側根の原基が作られる。根の細胞は互いに細胞間

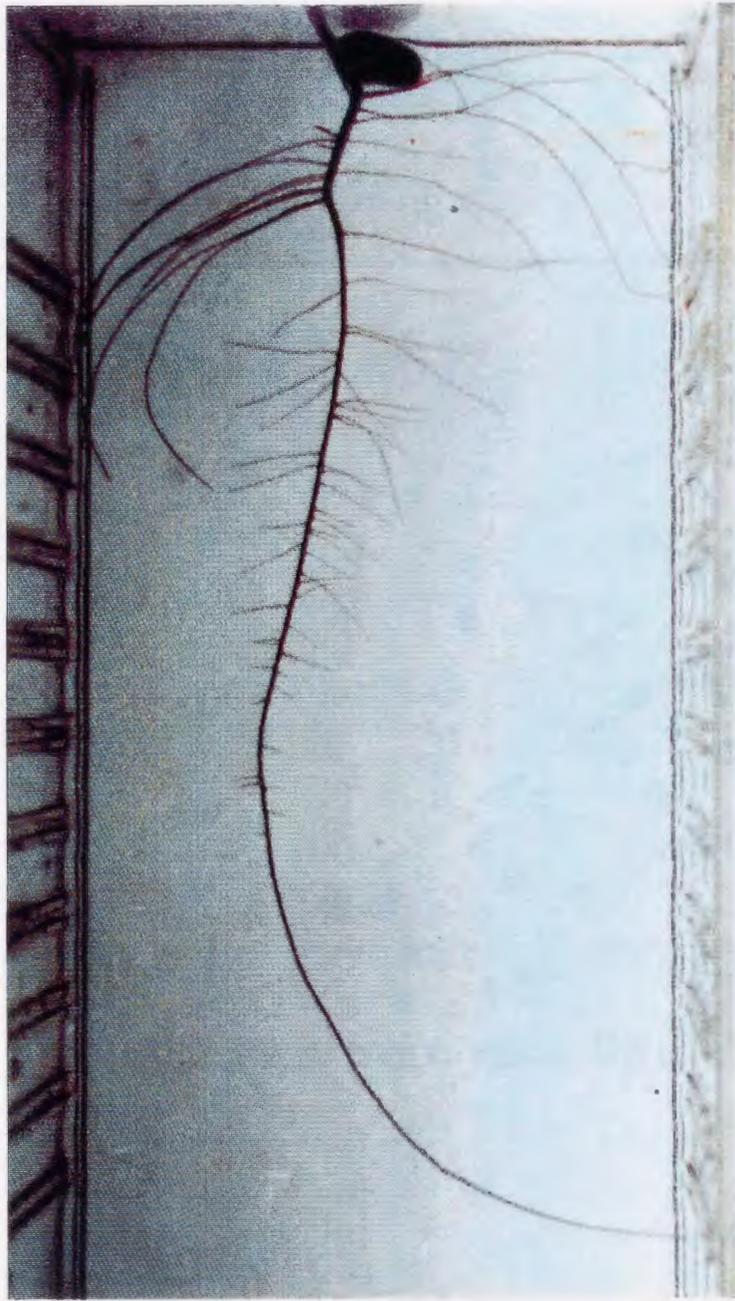


図 4 - 1 側根の発生したアズキの根系の形状

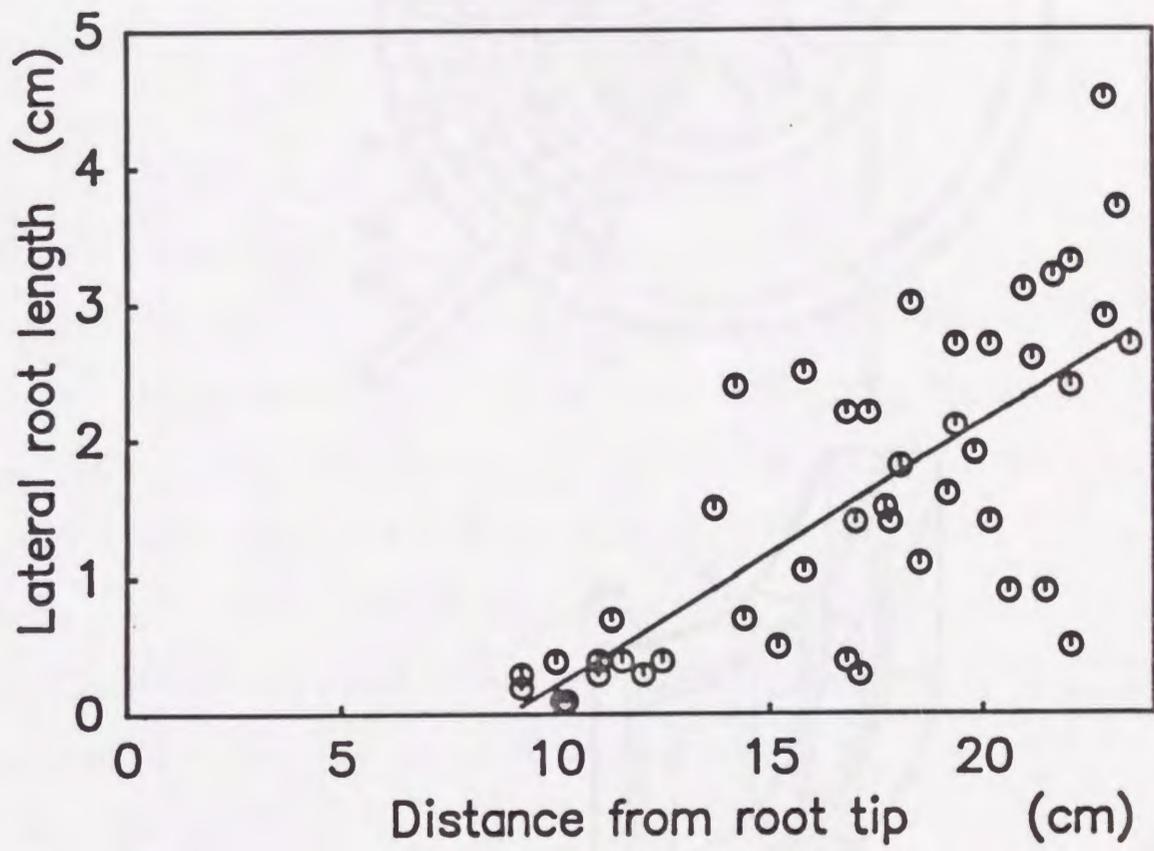


図4-2 主根の軸に沿った側根の分布。側根の長さとは主根の先端を基準とした発生位置を○で示している。直線は最小自乗法で決定した側根の平均的な長さ。

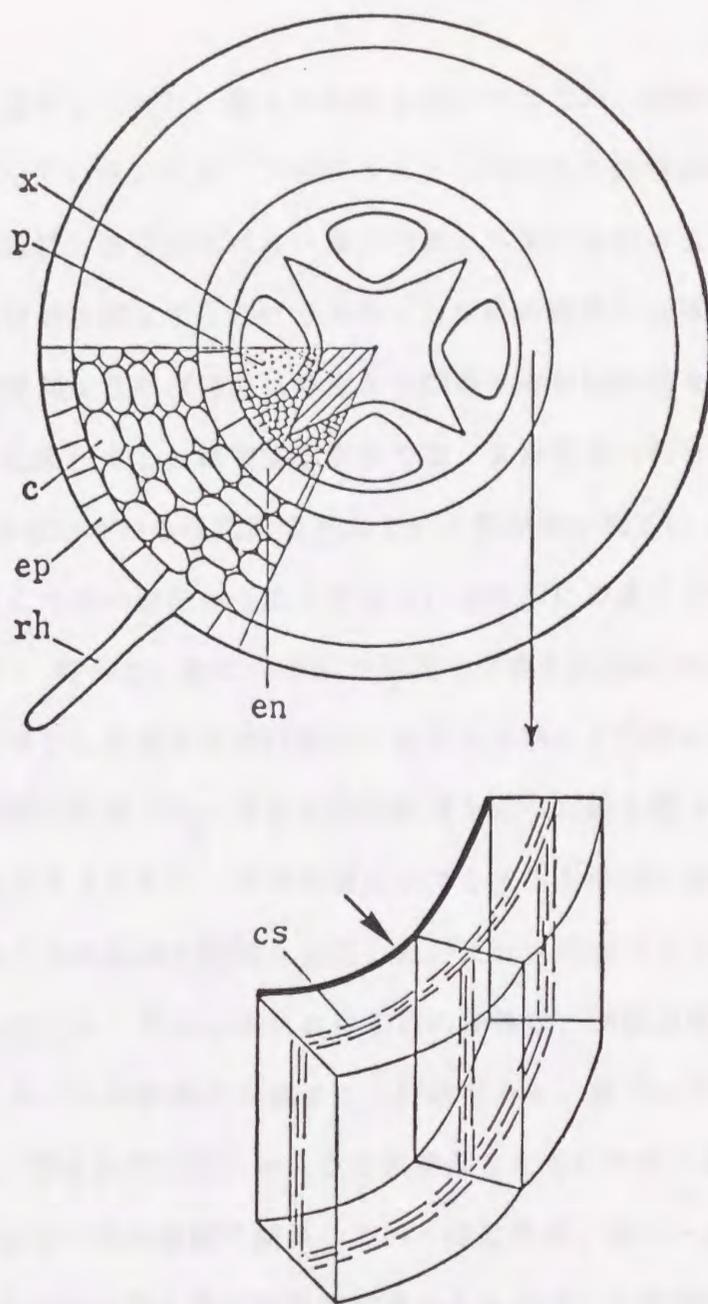


図4-3 根の内部構造. x:木部, p:篩部, en:内皮, c:皮層, ep:表皮, rh:根毛, cs:カスパリー線. 内皮より内側を中心柱と言う. 側根原基は, 下図の内皮のすぐ内側の部分(矢印)より発生する. (66)

連絡によって原形質が連絡しており、個々の細胞は独立ではない。細胞内部を総称してシンプラストと呼んでいる。他方、アポプラストと呼ばれる細胞外部に関して、内皮と中心柱の間は絶縁質であるカスパリー線で内側と外側に分離されている。側根原基は、この境界部分から発生するわけであり、しだいに成長した後主根の表面から外に現れる。側根原基は自然状態では外部から観察する事は出来ないが、細胞分裂が盛んであるために染色すると識別する事ができ、まだ側根の現れていない主根の先端から3~4cm後方あたりから既に形成されている事が知られている^(67,68)。側根の原基の発達はいくつかの段階から成っており、基部側に位置するものほど発達が進んでいる^(69,70)。従って、側根の形成と成長も主根の伸長に伴って進んでいき、主根の先端を基準として基部側の位置ほど側根も成熟した段階にある。

側根が現れてから初期の段階での、伸長の時間経過を示した例を図4-4に示す。側根の伸長を正確に測定するために、実験装置にTVカメラを接続した顕微鏡を組み込みCRTモニタ上で先端位置の軌跡を測定した。また、映像はVTRに間欠録画で連続的撮影を行っている。図4-4における根の伸長は、側根が現れる前の主根の表面を基準にし、そこから側根の先端までの距離である。側根の伸長速度は長さが1mm以下のごく短い間は非常に低いが、その後伸長とともに次第に増加し、長さが2mm以上になるとほぼ一定の速度で伸長していく様になる。図4-4の中の直線は2mm以上の長さでの平均伸長を最小自乗法で求めたもので、平均伸長速度は約0.43mm/hとなった。さらに側根が伸長しても、主根と同様に伸長速度は側根の長さ依存せずほぼ一定である。主根の平均的な伸長速度は約1.5mm/hであるのに対し、側根の伸長速度は主根の1/3から1/5程度の伸長速度である。

側根が主根の外に現れ伸長していく過程での側根の周辺の表面電位を測定した。前章では主根の表面電位を測定するのに多点電極測定装置を用いたが、この装置では電極の形状の制約から測定間隔を1mm以下にする事は困難である。そこで、側根が発達する初期の段階での周辺の詳細な電位パターンを測定する際は、電極をマニ

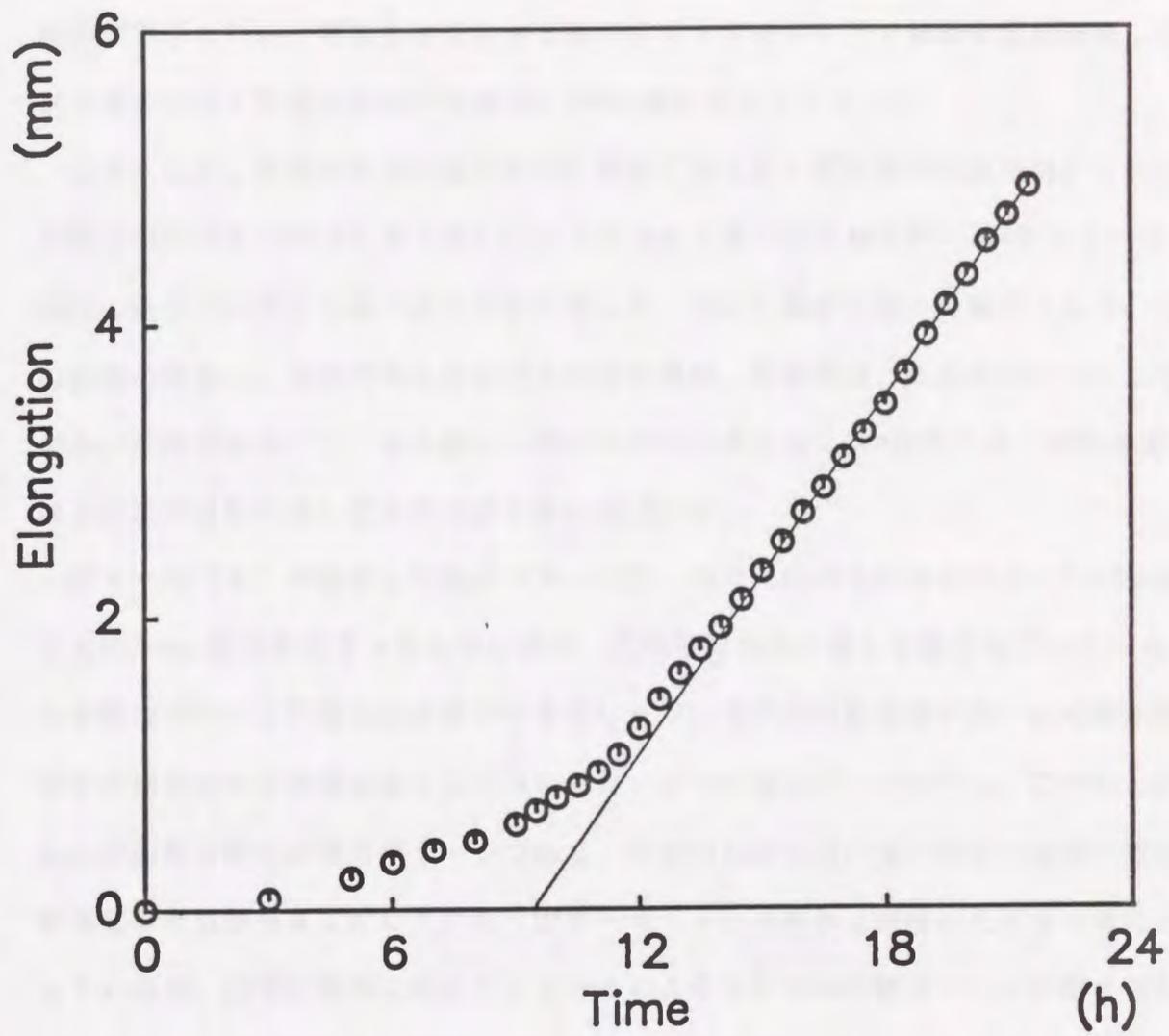


図 4-4 側根発生の初期の段階での伸長の時間変化。縦軸は主根の表面を基準とした側根の長さを表す。直線は長さ2mm以上の時の平均伸長。

ピュレータで保持して移動させながら電位の測定を行う方法をとった。実験は顕微鏡の観察下で行い、電極を移動させる際にはCRTモニタ上で電極位置を確認しながら根の表面と電極の先端の間隔が0.2mmに保たれるようにした。

図4-5に、側根が主根の表面外部に現れて間もない状態での表面電位パターンの測定例を示す。図4-5(b)に示すように主根の表面から約0.2mm伸びている状態の側根の周囲を主根の軸方向に測定した。図の左側が主根の先端側である。この段階の側根は、主根内部も含めてまだ分裂領域、伸長領域、既長領域に分化していない状態である⁽⁷⁾。また図4-4から側根の長さが0.2mm程度では、伸長速度はまだ定常状態に達しておらずごく低い事が判る。

図4-5(a)が測定した電位パターンで、現れた側根の先端を中心に0.14mmおきに約3mmの範囲を測定したものである。電極移動を繰り返して測定を行っているため電位パターンの測定には約15分を要したが、側根の伸長速度が遅いため測定時間中の側根の形状変化はほとんど無かった。2つの測定データのうち、○で示したものが側根の周囲の電位パターンであり、比較のため主根の軸の対面の表面の電位を測定したものを▲で示している。図4-5(a)の横軸は側根の先端を基準にとっているが、側根が外部に現れているのはおよそ±0.15mmの範囲でその外側は側根に続く主根の表面である。電位は側根の先端を中心に低くなっており、その形状は主根の先端側と基部側でほぼ対称的な形を示している。側根の先端より±0.14mmから±0.42mmのあたりで電位が平坦化しているが、この領域は側根と主根の境界の周辺であり表面の形状に凹凸があるため、電極と表面の距離が0.2mmよりも大きくなってしまい正確な測定が出来なかった。従って実際の表面電位は側根の先端を中心に単調な変化をしているものと思われる。主根の軸の反対側で測定した電位(▲)には、側根の周囲に見られるような大きな電位変化は現れていない。この事は、側根が外部に現れるとともにその周辺1mm程度の範囲に局所的な電位の谷が形成されている事を示している。また、側根の先端から1mm以上離れた領域でも-4mVから-5mV

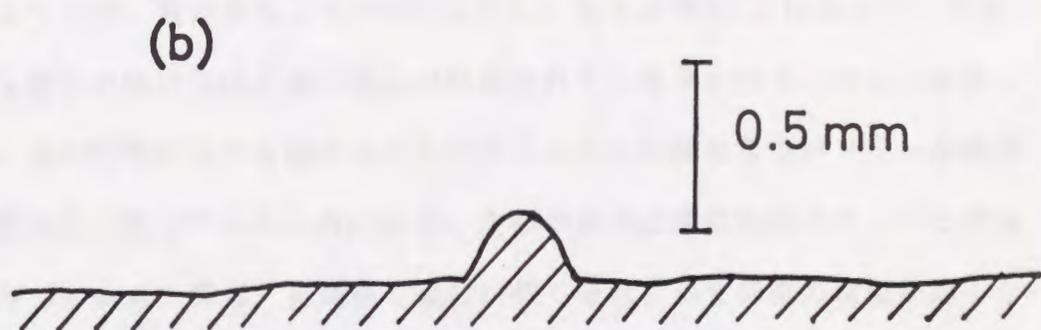
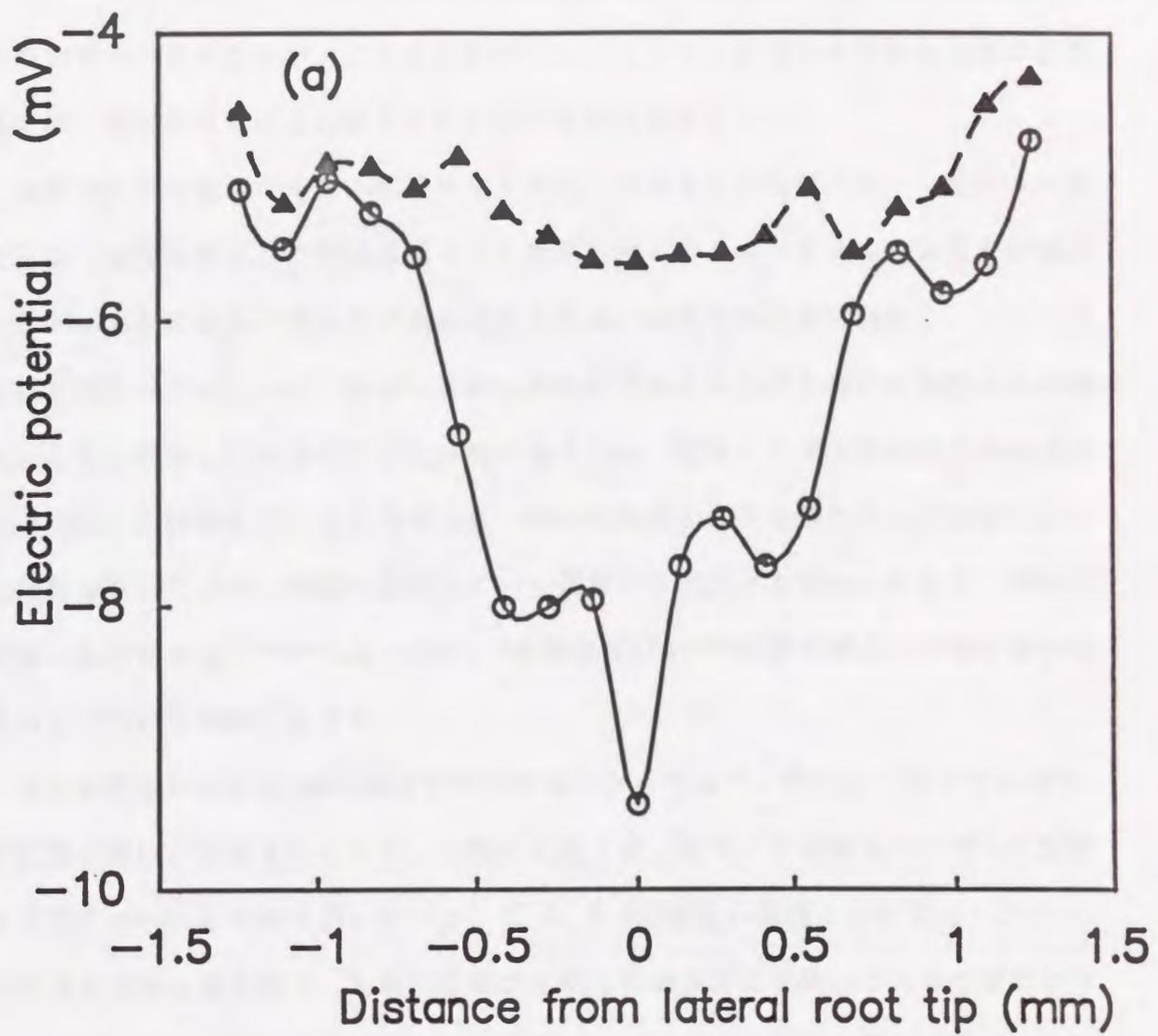


図4-5 側根発生の初期の段階の表面電位パターン。(a) 電位パターン。○が側根の周囲の表面電位で、▲は比較のための主根の対面の表面電位。(b) 測定時の側根の形状。縮尺は(a)の横軸と同一で、左側が主根の先端方向。

程度の電位が見られるが、これは局所的なものではなく側根が分布する主根の基部側では、側根から離れた位置でも常に負の電位が観測された。

側根が主根の表面から数mm程度伸びた段階で観測される電位パターンを図4-6に示す。測定対象にした側根は図4-5で示したものと同一である。側根の先端から0.27mmおきに側根の表面及びそれに続く主根の表面を軸方向に測定し、それぞれ実線と破線で示している。図4-5では側根の先端を中心に主根の先端側と基部側のどちらも測定しているがほぼ対称形であるため、図4-6は主根の基部側の方向のみ測定した結果を示したものである。横軸は側根の先端を基準として表面に沿った距離を表している。側根が伸長していく過程で3回測定を行っているが、初めに測定した時長さは2.44mmであったが、3時間後及び5.5時間後に測定した際にはそれぞれ4.07及び5.42mmであった。

側根の先端付近の約1mmの範囲で電位が低くなっており、それより後方では相対的に高い電位が観測されている。主根の表面では、図4-5の側根から離れた位置と同様に-4mV付近の値を示している。0、3、5.5時間後の側根の表面電位パターンには大きな差は見られず、先端付近及び主根との境界付近を除いて大きな変動はなく、-1mVから-2mVの値を示している。側根が外部に現れた直後の電位(図4-5)が総て周囲よりも低い電位を示しているのに対し、長さが2mm以上になると、主根の表面よりも電位の低い部位と高い部位が形成されている事が判る。ここには示していないが、他の測定結果でも図4-5及び図4-6と同様な電位パターンが観測された。先端付近の電位パターンの形状は、主根の先端近傍の電位パターンと共通した特徴を持っている。即ち、先端部で電位が低くそれに続く部位の電位が高くなっている。これは、側根の基部側から先端に向かう電流の存在を示しているものと思われる。

数cm以上伸びた側根の表面電位を多点電極測定装置を用いて測定した。側根においても主根の表面電位と似通った時空間構造が見られる。図4-7に表面電位パタ

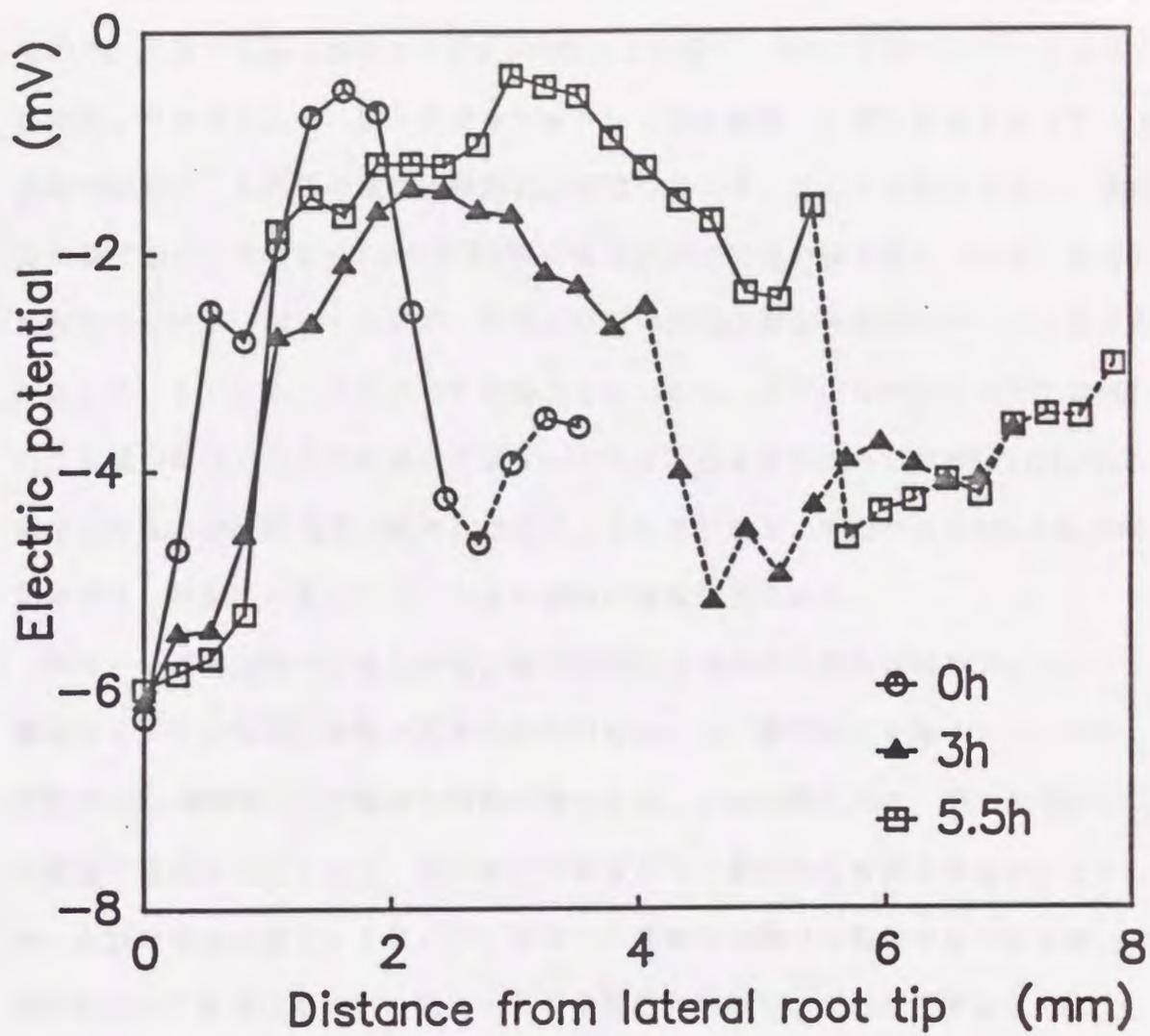


図4-6 数mmの長さの側根の表面電位パターン。図中の数値は測定時刻であり、点線で示した部分は、側根に続く主根表面の軸方向の電位である。

ーンを連続的に測定した例を示す。長さ8cmの側根の先端側約4cmの範囲を測定したもので、31個の電極を表面から約0.5mm離れた位置に1.4mmの間隔で並べ、1分おきに測定したものである。根と電極をセットして30分静置した後に測定を行った。1時間の測定中、各電極の電位は時間的に安定しており、ほとんど変化がない。電位は先端で低く、先端から3mmから6mm程度後ろの部位で高い値を示している。この先端付近の形状は、図4-6に示した長さが数mm程度の側根の電位パターンと傾向が一致している。図4-6に比べて振幅が小さいのは、図4-6が表面から0.2mm離れた位置の電位であるのに対して図4-7では電極を表面から0.5mm離れた位置に設定したために測定電位が減衰した事によると思われる。先端から1cm以上後方の部位では、電位は一定ではなく小さな周期的変動が見られる。

図4-7の測定例では各点の電位は時間的には規則的な変動は現れていないが、個体によっては時間的振動が見られるものもあった。振動波形を図4-8に示す。周期約8分、振幅約0.3mV程度の振動が見られる。この振動波形は、根の先端に置いた電極で測定されたもので、他の部位ではほとんど振動的な変動は検出されなかった。主根の場合は図1-13に示したように通常基部側でも振動が見られるが、先端部に比べて振幅は小さい。図4-8の側根の先端部での振動の振幅は0.3mVと主根に比べて小さい事から、基部側でも検出できない程度のわずかな振幅で振動が起こっていた可能性も考えらる。また、主根の場合は過半数の個体で振動が観測されるが、側根の場合はほとんどの根で規則正しい振動波形は観測されず、約20例ほどの測定中、振動が観測されたのは図4-8を含めて2例だけであった。

長く伸びた側根における表面電位の空間及び時間的な変動例を図4-7及び図4-8に示したが、これらの図に見られる時空間構造の特徴は、主根に対して測定したものと共通している。この事は、主根と側根で生理学的な構造に本質的に違いが無い事から当然予想された結果である。一方、側根は主根に比べて太さや伸長速度が低く、いずれも約1/3から1/4程度の値であるが、この事は図4-7や図4-8に

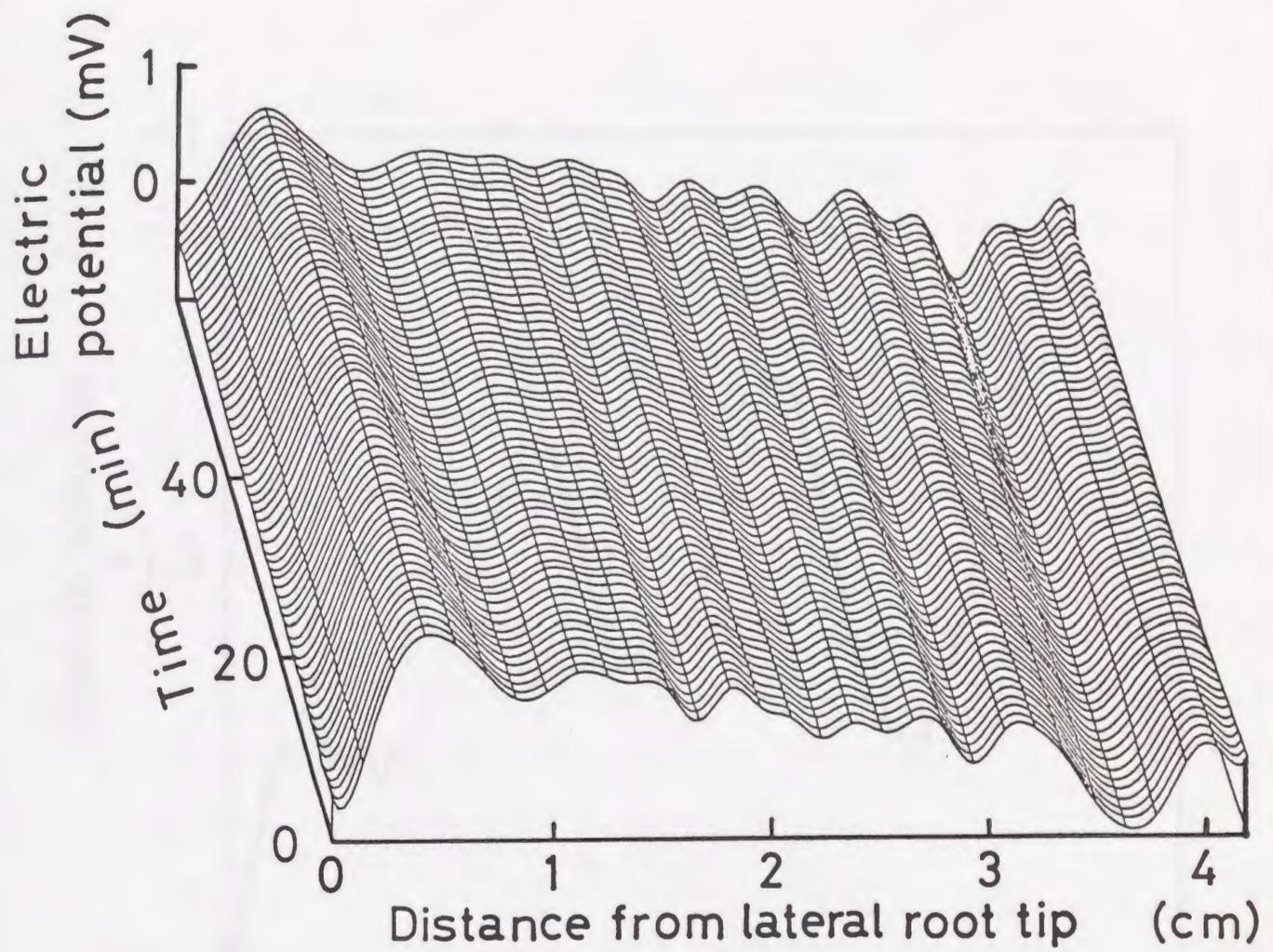


図 4 - 7 側根の表面電位パターンの時空間変化. 長さ約8cmの側根の先端側約4cmを60分間測定した.

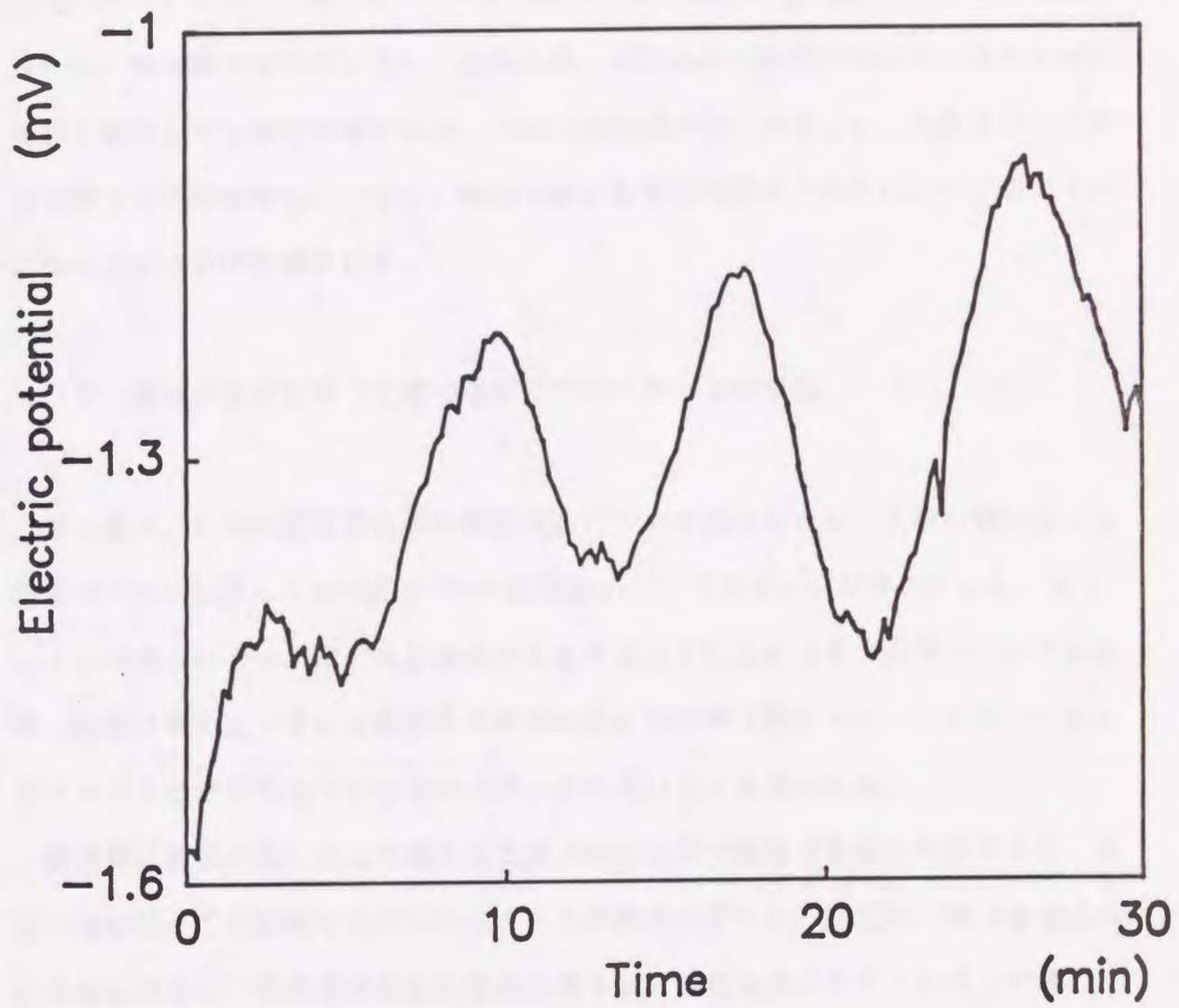


図 4-8 側根の表面電位の時間的振動の波形。側根の先端における電位を示している。

示した電位の測定結果に反映されているように思われる。側根の表面電位パターンの振幅は図4-7に示したように1mVから2mV程度であり、同一の条件で測定した主根のパターンに比べて振幅が小さい。側根では時間振動が観測される事はまれであったが、第3章で述べたように、主根では、表面電位の時間振動の無い個体は振動を示す個体よりも伸長速度が低い。これらの事実から、側根では、主根に比べて伸長に関する活動度が低いために、外部に現れる電氣的現象も主根に比べて弱いものになっている事が推測される。

4. 2 側根の形成に伴う主根の電気化学的パターンの変化

第1章で、主根の表面電位の時空間構造について紹介したが、主根の軸に沿った空間パターンに関しては周期約2cmの安定なバンド状パターンが現れている。図1-11の電位パターンは、まだ側根があまり現れていない状態の個体のものであるが、側根が多く生じている状態まで根が成長した段階で電位パターンを測定すると、図1-11とやや異なった形状のパターンが現れてくる様になる。

基部側に側根が見られる主根の長さが15cmから20cm程度の個体を対象にして、主根の軸に沿って表面電位及びpHパターンの測定を行った。測定は、第2章で述べた方法と同様に、多点電極測定装置及び微小pH電極を用いて行ったが、 H^+ 等のイオン濃度分布が安定に形成される様に、0.3%の寒天を加えた水溶液の中に根を置き2時間程度静置した後、電位及びpHの測定を行った。表面電位の測定を行う場合、電極の先端は根の表面から約0.3mm離れた位置に固定した。測定は0.5cmまたは1cm間隔で行い、主根の先端から種子部の約1cm手前までの、主根のほぼ全域にわたって測定を行った。

図4-9に、主根の表面電位パターンの測定例を2つ示す。いずれも主根の長さが17cmの個体を測定したものである。実線で示しているパターンが一般的に見られ

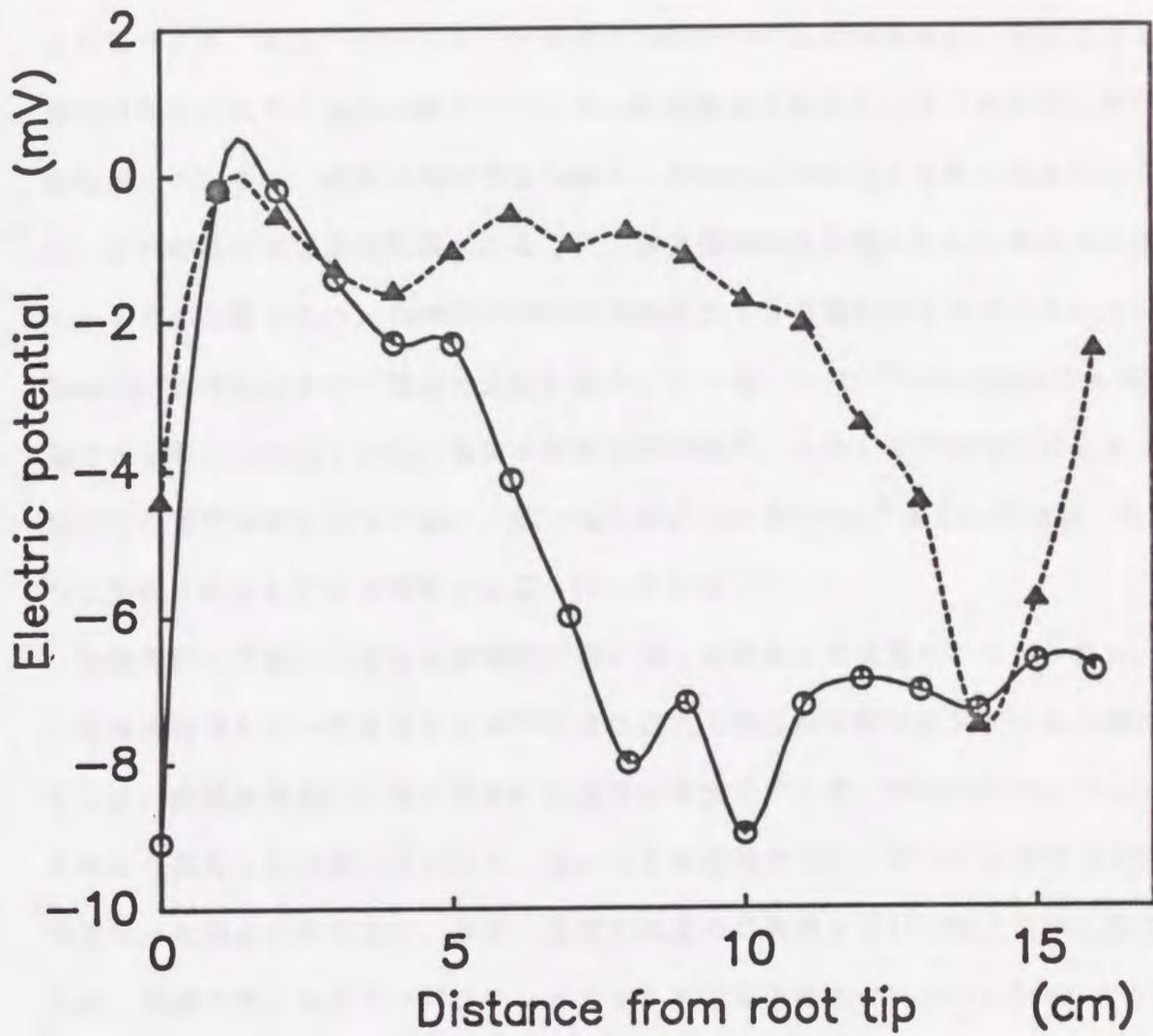


図4-9 主根の軸に沿った表面電位分布. ○:主根の先端より6.5cm後方から側根が分布した個体のパターン, ▲:11cm後方から側根が発生した個体のパターン.

た典型的なパターンであり、この個体では側根は先端から約6.5cmよりも後方の部分で見られた。電位パターンは、先端側の0cmから7cmまでの部分と、それよりも基部側の部分で大きく形状が異なっている。先端側は基部側に比べて全体的に高い電位を示しているが、電位は先端で最も低く、1cmから2cmの辺りで高い値を示している。これは第2章で詳細に調べたように、既長領域から先端に向かう電流を反映しているものと思われる。2cmから5cmまでの範囲は大きな電位変化は生じていないが、5cmから7cm付近にかけて電位は大きく減少している。一方、7cmの位置よりも基部側では全域で-6mV以下の低い電位が観測されており、小さく不規則な変動はあるが規則的な電位勾配は見られない。低い電位が見られる7cmより後方の領域は、ちょうど側根が発生している領域とほぼ一致している。

実験を行った多くの個体は側根の分布に関して大きな差は見られなかったが、同じ生育条件でも、一部に主根の伸長速度は正常であるが側根の発生が少ない個体も生じた。側根の発生が少ない個体の表面電位を測定すると、平均的なパターンよりもかなり異なった特徴が見られた。図4-9の破線で示したデータは側根の発生が少なかった個体の例であり、側根が観察されたのは先端から11cm以上後方の部分である。実線で示した正常なパターンと大きく異なるのは主に6cmから12cmまでの領域であり、この領域では正常な個体は-6mV付近の低い電位を示すのに対して、破線で示したデータは、0mVから-2mVの範囲に収まっている。先端付近(0~5cm)や種子部の付近(13~16cm)の領域では、実線のデータと破線のデータに特に大きな形状の差は見られていない。図4-9の実線で示した標準的な電位パターンと破線で示した側根の分布の少ない個体におけるパターンの形状は異なっているが、側根の発生と電位パターンの関係では共通している特徴がある。どちらのデータも、側根が主根の外部に現れてきた位置、即ち実線のデータでは6cm、破線のデータでは11cm付近から次第に電位が低下し、数mm以上伸びた側根が分布している領域で最も低い電位が観測されている。これは、主根の表面電位と側根の発達の過程に相関性がある事

を意味している。

図4-10に、主根の軸に沿ったpHパターンの測定結果を示す。実線と破線のデータは、図4-9の電位パターンと同様に、それぞれ正常な根のパターンと側根の発生が少ない根のパターンである。実線のpHパターンは、図4-9中の実線で示したものと同一の個体に対して測定したものである。当初の水溶液のpHは6.0であったのに対して、総ての領域でpHが低下している。これは表皮細胞膜面の H^+ ポンプが、根内部の H^+ を外部に能動輸送しているためと考えられる。実線で示した正常な根のパターンでは、先端から4cmまでの酸性化は比較的弱い。4cmから7cmにかけてpHが低下し、7cm以降はpH4.7付近と強く酸性化している。このpHパターンは、先端部の約2cmを除いて電位パターンと非常に似かよった形状である。即ち、伸びた側根が存在している領域で低いpHが観測されている。一方、破線で示した側根の発生が少ない個体では、電位パターンと同様に正常な根に比べて酸性化が弱く、低いpH値を示しているのは基部側の数cmの範囲に限られている。このpHパターンの形状の違いは、図4-9の電位パターンの差と全く同じ傾向である。即ち、主根の表面の電位やpHは、側根の発生とともに低い値を示すようになっている。

4.3 水素イオンの拡散による表面電位の発生

前節で述べたように、主根の表面電位パターンと表面pHパターンの間には形状に強い類似性が見られ、また、これらのパターンは側根の分布とも関係している。側根が十分に伸びている領域では、主根の表面電位が低く、pH値も低くなっている。逆に、伸長領域のある先端付近の数cmでは、電位の谷がある先端で最もpHが高くなっている。先端付近の電位やpHの形状は、第2章で示した電位やpHパターンの測定結果と一致している。即ち、先端付近では、 H^+ を含むイオン輸送により

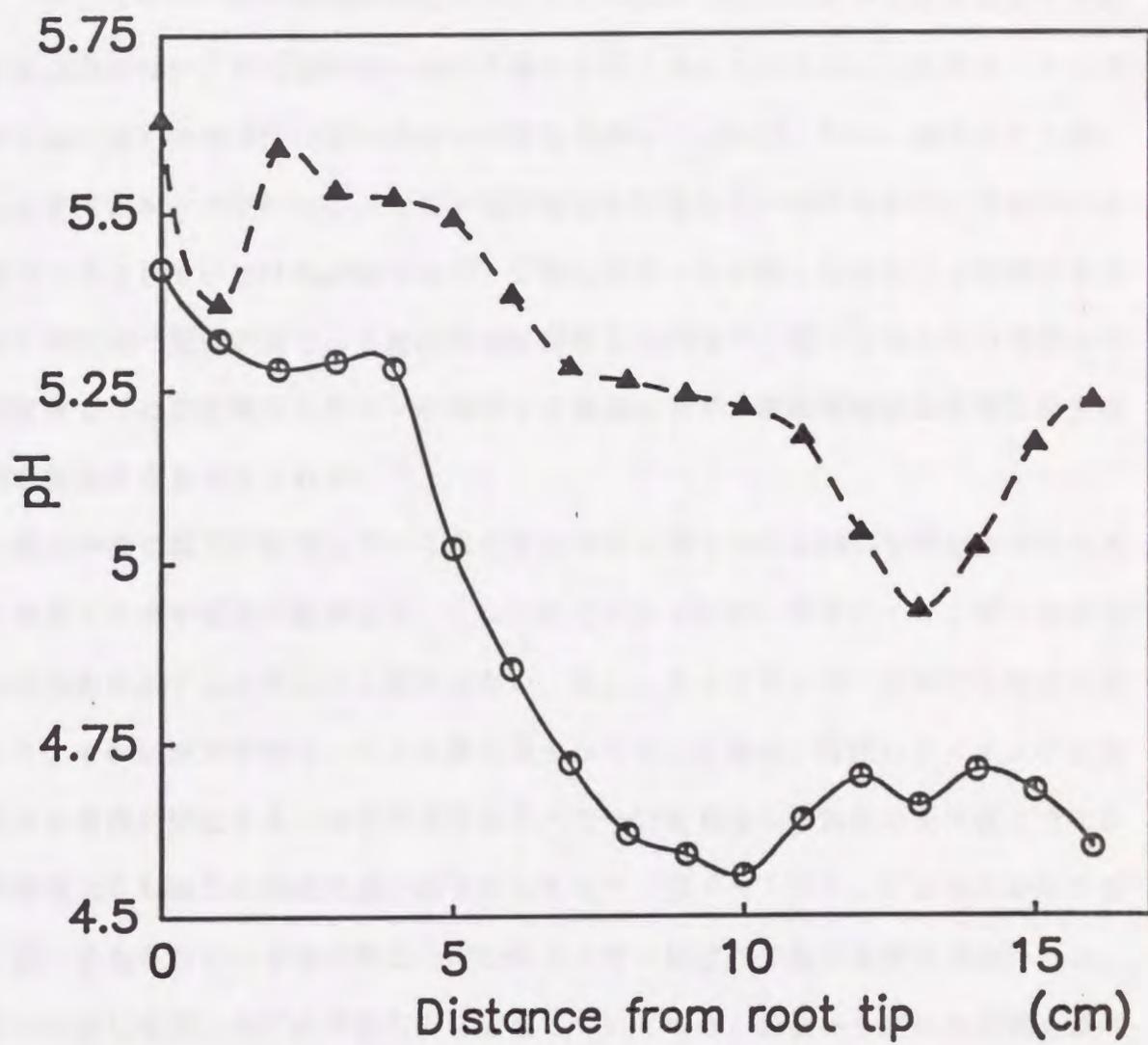


図4-10 主根の軸に沿った表面pH分布. ○:主根の先端より6.5cm後方から側根が分布した個体のパターン(図4-9中の○と同一の個体を測定). ▲:11cm後方から側根が発生した個体のパターン.

作られる水溶液中の電流パターンによって電位勾配が発生し、さらに湧出し口付近に H^+ が蓄積する形でpHパターンが形成されたものと思われる。

しかしながら、既長領域の電位やpHパターンについてこれらの説明を当てはめる事は出来ない。 H^+ 濃度の高い領域で電位も低くなっているという事実は、この領域における H^+ の軸方向の流れが少ない事を意味しているが、もし、他のイオン種による電流のループが存在し、それが表面電位を形成しているのならば、電位の正負がバランスしていなければならない。しかし図4-9に示したように、基部側では総ての領域で電位が負であり正の領域は存在していない。従って軸方向の電流ループだけでこの表面電位パターンを説明する事は出来ず、基部側では他の電位発生機構が存在すると考えられる。

根の内部に電荷が蓄積していく事は生理学的に考えられないので根全体での外向き電流と内向き電流の総量は等しくなければならないが、特定のイオン種の放出量と吸収量は必ずしも等しいとは限らない。もし、あるイオンの一方向的な輸送が起こり、その結果局所的なイオンの濃度差を作りだした場合、蓄積したイオンの拡散による電界が発生する。根の表面のpHパターンを見ると、表面のpH値は当初の水溶液よりも総ての領域で低い値を示しており(図4-10)、 H^+ は内部から外部に強く放出されている事が判る。 H^+ は他のイオンに比べて数倍移動度が高いため、根の表面に蓄積した H^+ が半径方向に拡散していく場合、表面から離れた位置を基準とすると表面付近の電位は負の値をとる事になる。 H^+ の拡散によってどの程度の表面電位が発生するか、半径方向の簡単な1次元系をもとに具体的に計算してみよう。多数のイオン種が存在する時の、 i 番目のイオン種の流束の式は第2章で議論したように、

$$j_i = -\omega_i RT \frac{dc_i}{dr} - z_i F \omega_i c_i \frac{d\phi}{dr} \quad (4.1)$$

で表される。1次元系で定常状態を扱うので、流束 j_i は位置によらない定数になる。(4.1)式とPoissonの方程式をイオン濃度 c_i 及び電位 ϕ を解く事で解が求められる。しかしながら、濃度及び電流密度は測定できても、境界条件としての各イオン個別の流束密度 j_i は判らないため実際に解を得る事は出来ない。ここで理論的に求めたいのは、解である濃度や電位の関数形ではなく根の表面と基準点の間の電位差だけであるが、そのように1次元系の2点間の電位差を計算する際にはしばしば次の様な近似的解法が用いられる⁽⁷²⁾。第1はPoisson方程式の代りに電気的中性条件の式を用いる方法であるが、この場合でも計算は極めて煩雑である。第2は電位勾配、即ち電界強度一定の仮定であり、神経膜の膜電位などを良く記述する。第3は、濃度勾配一定の仮定であり、イオン組成が1-1電解質の場合には拡散電位の表式に一致する。ここでは拡散に近い現象を議論しているので、濃度勾配一定の仮定を置いて議論を進める。即ち位置 r における各イオンの濃度 $c_i(r)$ は、

$$c_i(r) = c_{i0} + (c_{iL} - c_{i0})r/L \quad (4.2)$$

となる。ここで、 c_{i0} と c_{iL} は、境界 $r=0$ (根の表面)と $r=L$ (電位の基準点)におけるイオン濃度である。各イオンの濃度勾配が一定の場合、位置 r によらず自動的に電気的中性条件

$$\sum_i z_i c_i = 0 \quad (4.3)$$

が成立し、電荷の蓄積は生じない事が判る。各イオンの流束の式(4.1)に濃度分布の形状(4.2)式を代入すると、

$$j_i = -\omega_i RT \frac{c_{iL} - c_{i0}}{L} - z_i F \omega_i \left[c_{i0} + \frac{c_{iL} - c_{i0}}{L} r \right] \frac{d\phi}{dr} \quad (4.4)$$

となる。(4.4)式は、電位 ϕ に関する1階の微分方程式である。イオン流束密度 j_i が

既知であれば容易に解く事が出来るが、 j_i を実験的に与える事は出来ない。また仮に流束 j_i が既知であったとしても、(4.4)式を総てのイオン種に対して解く事は矛盾した結果を生む。(4.4)式は、未知数が電位 ϕ のみであるのに、総てのイオン種に対して成立する式であるから、未知数の数に対して式の数が多すぎるのである。これは、もともと各イオン種の濃度 c_i を(4.2)式で与えてしまった事に起因している。そこで、(4.4)式から電流密度の式に変換して解を求める。電流密度 I はイオン流束 j_i を用いて、

$$I = \sum_i z_i F j_i \quad (4.5)$$

と表される。(4.5)式に(4.4)式を代入すると、

$$I = -F \left[\frac{RT}{L} \sum_i z_i \omega_i (c_{iL} - c_{i0}) + F \sum_i z_i^2 \omega_i c_{i0} \frac{d\phi}{dr} + \frac{F}{L} \sum_i z_i^2 \omega_i (c_{iL} - c_{i0}) r \frac{d\phi}{dr} \right] \quad (4.6)$$

となる。(4.6)式は、(4.4)式を加算した事になり、未知数 ϕ に対するただ1個の方程式として妥当であろう。また、境界条件に相当するのは電流密度 I だけになっている。(4.6)式も1階の線形常微分方程式であり、容易に解く事ができる。根の表面電位に相当する。境界 $r=0$ と $r=L$ の間の電位差 $\Delta\phi = \phi_0 - \phi_L$ を求めると、

$$\begin{aligned} \Delta\phi &= \int_{\phi_L}^{\phi_0} d\phi = - \left(\frac{RT\alpha}{F\gamma} + \frac{IL}{F^2\gamma} \right) \int_L^0 \frac{dr}{r + \frac{\beta}{\gamma} L} \\ &= \frac{RT\alpha}{F\gamma} \ln \frac{\beta + \gamma}{\beta} + \frac{IL}{F^2\gamma} \ln \frac{\beta + \gamma}{\beta} \quad (4.7) \end{aligned}$$

となる。ここで、 α 、 β 、 γ はそれぞれ、

$$\alpha = \sum_i z_i \omega_i (c_{iL} - c_{i0})$$

$$\beta = \sum_i z_i^2 \omega_i c_{i0}$$

$$\gamma = \sum_i z_i^2 \omega_i (c_{iL} - c_{i0}) \quad (4.8)$$

で定義される境界のイオン濃度により決まる定数である。(4.7)式の第1項は電流を伴わないイオンの拡散によって発生する電圧であり、第2項は電流が流れる事によって発生する電圧である。第2項から、電流電圧関係は線形になる事が判るが、これは電気抵抗を決めるイオン濃度の形状を(4.2)式の仮定で固定したためである。現実には電流密度によって濃度分布が変化し、抵抗値も幾分変化する。例えば、生体膜では電流電圧特性に弱い非線形性が見られる事が知られている⁽⁷³⁾。電流が流れない、即ち $I=0$ の場合、電位差 $\Delta\phi$ は

$$\Delta\phi = \frac{RT}{F} \frac{\sum_i z_i \omega_i (c_{iL} - c_{i0})}{\sum_i z_i^2 \omega_i (c_{iL} - c_{i0})} \ln \frac{\sum_i z_i^2 \omega_i c_{iL}}{\sum_i z_i^2 \omega_i c_{i0}} \quad (4.9)$$

となる。(4.9)式における $\Delta\phi$ は電流が流れない条件下の電位差であるので、濃度の差によって拡散して流れるイオンの、移動度の違いによってのみ発生する電位を表している。電位差 $\Delta\phi$ は2点間の距離によらずイオンの濃度差だけで一義的に定まる。これは、電位差が濃度勾配の大きさには無関係である事を示している。

(4.9)式を用いて、実験環境で根が H^+ を放出して表面 pH を低下させる事によって発生する電位差を計算してみた。当初の水溶液は pH が6付近の 0.1mM KCl 溶液であり、根から充分離れた位置ではこのイオン組成が保たれている。これに対して低 pH を示す根の表面では H^+ 濃度が増加している事になるが、通常水溶液中ではほぼ電氣的に中性でなければならないので、 H^+ 濃度の変化とともに電氣的中性条件が満

たされるように、他のイオン種の濃度も変化していると思われる。即ち、 H^+ 濃度の増加とともに陽イオンの減少あるいは陰イオンの増加が生じていると考えられるが、ここでは実験的にイオン種の特特定は出来ない。そこでイオン種の依存性を見るために、 H^+ 濃度の増加分だけ K^+ が減少する、または H^+ 濃度の増加分だけ Cl^- が増加するという2通りの仮定のもとで、それぞれ拡散電位の表面pH依存性を(4.9)式から求めてみた。その結果を図4-11に示す。予想したように拡散電位は負値を示し、pHが低いほど電位差が大きくなっている。2つの曲線は非常に似通った傾向を示しているが、 K^+ が減少していると仮定して求めた値の方が、pHが6から4.5までの総ての範囲でいくぶん低い値をとる事が判る。

(4.9)式はイオン濃度勾配が一定であるという仮定のもとで得られた式である。一方電位勾配が一定であると仮定して得られる電位の表式に関しては1-1電解質における拡散電位に一致しないため、ここでは計算結果を示さなかったが、図4-11とほとんど同一の特性が得られた。従って、図4-11における(4.9)式の拡散電位の濃度勾配一定の仮定から生じる誤差は、実験環境の範囲ではごくわずかであると考えられる。また、電位測定を行なう際には測定電極の内部溶液と根の周囲の水溶液との間の界面にも H^+ 濃度差が生じるので、電極内部溶液と被測定溶液の間に生じる電位もpH依存性が生じる可能性がある。そこで、(4.9)式に基づいてこの界面の拡散電位も見積ったが、電極の内部溶液は100mM KClと高濃度であるので、電極表面に発生する拡散電位の根表面のpH変化による依存性は、ほとんど無視できる値であった。

一般に、 H^+ の外部への能動輸送は K^+ を始めとした無機養分の吸収にも役だっていると考えられている(74-76)。例えばオオムギの根では、 H^+ の放出量と K^+ の吸収量が等しいと報告されている(77)。従って、表面付近のpHの増大は表面の K^+ の減少を引き起こしている可能性が高い。そこで、根の表面の H^+ 濃度が増加した分だけ K^+ が減少したと仮定して、根の表面のpHの低下から生じる拡散電位と測定された表

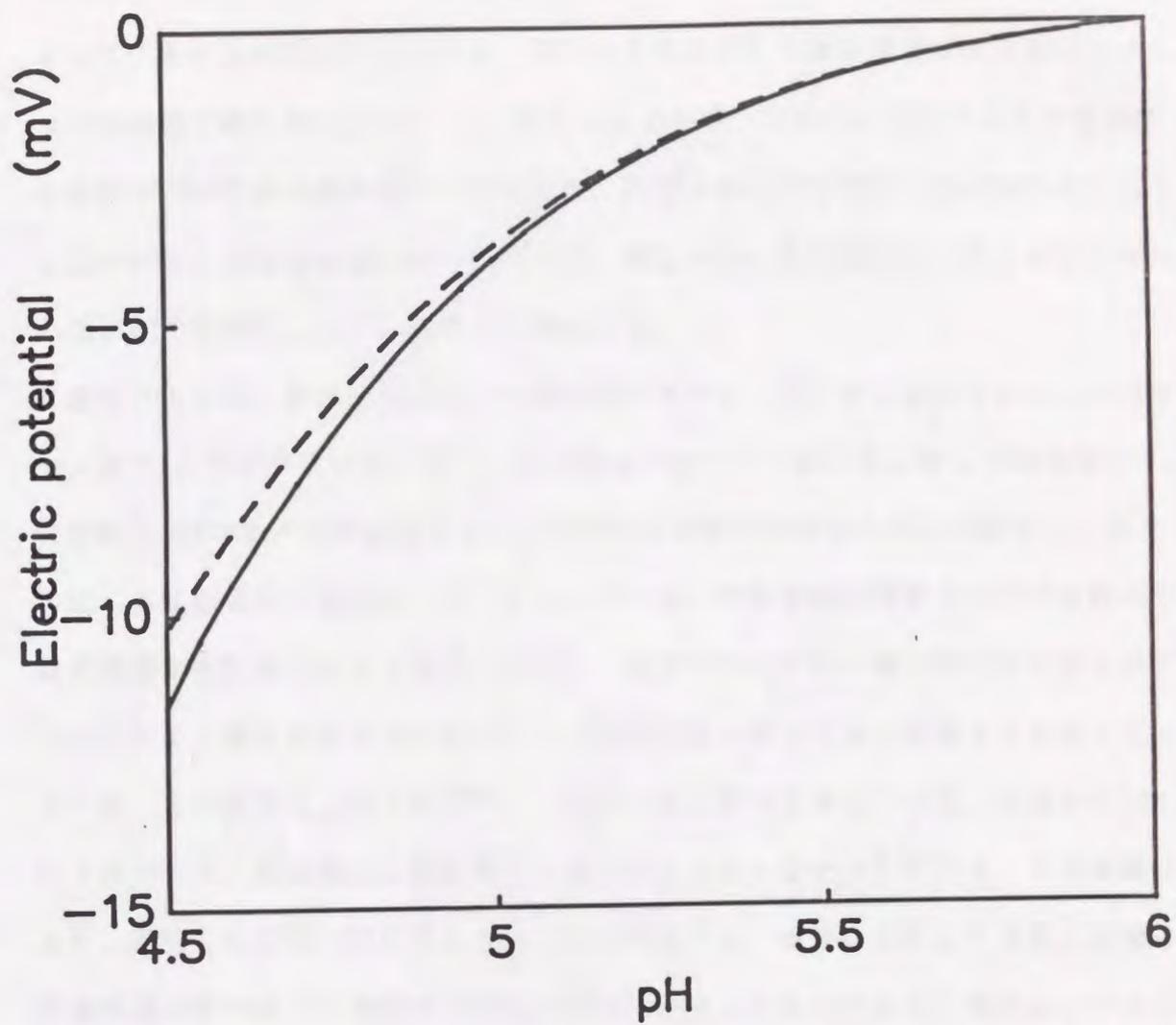


図4-11 H⁺濃度差により発生する拡散電位。基準溶液のpHを6として(4.9)式より計算した。—: H⁺濃度の変化分だけK⁺濃度が変化すると仮定した計算値、---: Cl⁻濃度が変化すると仮定した計算値。

面電位を比較してみよう。根の表面でpHが低下すると、 H^+ の水溶液中への拡散によって、負の表面電位が発生する。図4-10で示した標準的なpHパターンでは、pHは最低で約4.6を示している。図4-11から、この時に発生する拡散電位はおよそ-9.5mVである事が判る。この値は、測定された表面電位と同程度の値である。したがって、pH値の低い既長領域では、測定された表面電位の大部分が電流を伴わない H^+ の拡散によっている事が予想される。

図4-12に、実際に測定した表面電位パターン(○)と、測定されたpHパターンから(4.9)式を用いて計算した拡散電位パターン(▲)を比較した結果を示す。先端から約5cmまでは表面電位と、根の表面と表面から離れた点との間のpH差から生じる拡散電位の形状は大きく異なっている。伸長領域の周囲の先端部の数cmでは基部側から先端に向かう電流が存在し、電流の中に H^+ のイオン流が多く含まれているために、流出部位である基部側の H^+ 濃度が流入部位である先端よりも高くなっている。この結果は、第2章で詳しく解析したとおりである。一方、先端から5cm以上後方では、拡散電位は表面電位の測定値と良い一致を示している。この事実は、pH、電位ともに低い値を示している既長領域では、電位は主として表面に蓄積した高濃度の H^+ の周辺の水溶液中への拡散から発生したものであり、電流ループから生じる電位は少ない事を意味している。以上考察してきた H^+ や K^+ のイオンの流れの基部側と先端側での違いを図4-13に模式的に示す。

測定した表面電位から拡散電位の成分を差し引いた電位パターンを図4-12の中に□で併せて示している。この電位が(4.7)式の第2項に対応する電位であり、実際に発生している電流から作られる電位パターンであると考えられる。これまでに測定されている電位パターンは図4-9で示した電位パターンとは異なり、むしろこの拡散電位成分を差し引いたパターンと同じ特徴を持っているが、この差は十分に H^+ が表面に蓄積する以前に電位パターンを測定したために生じたものと思われる。

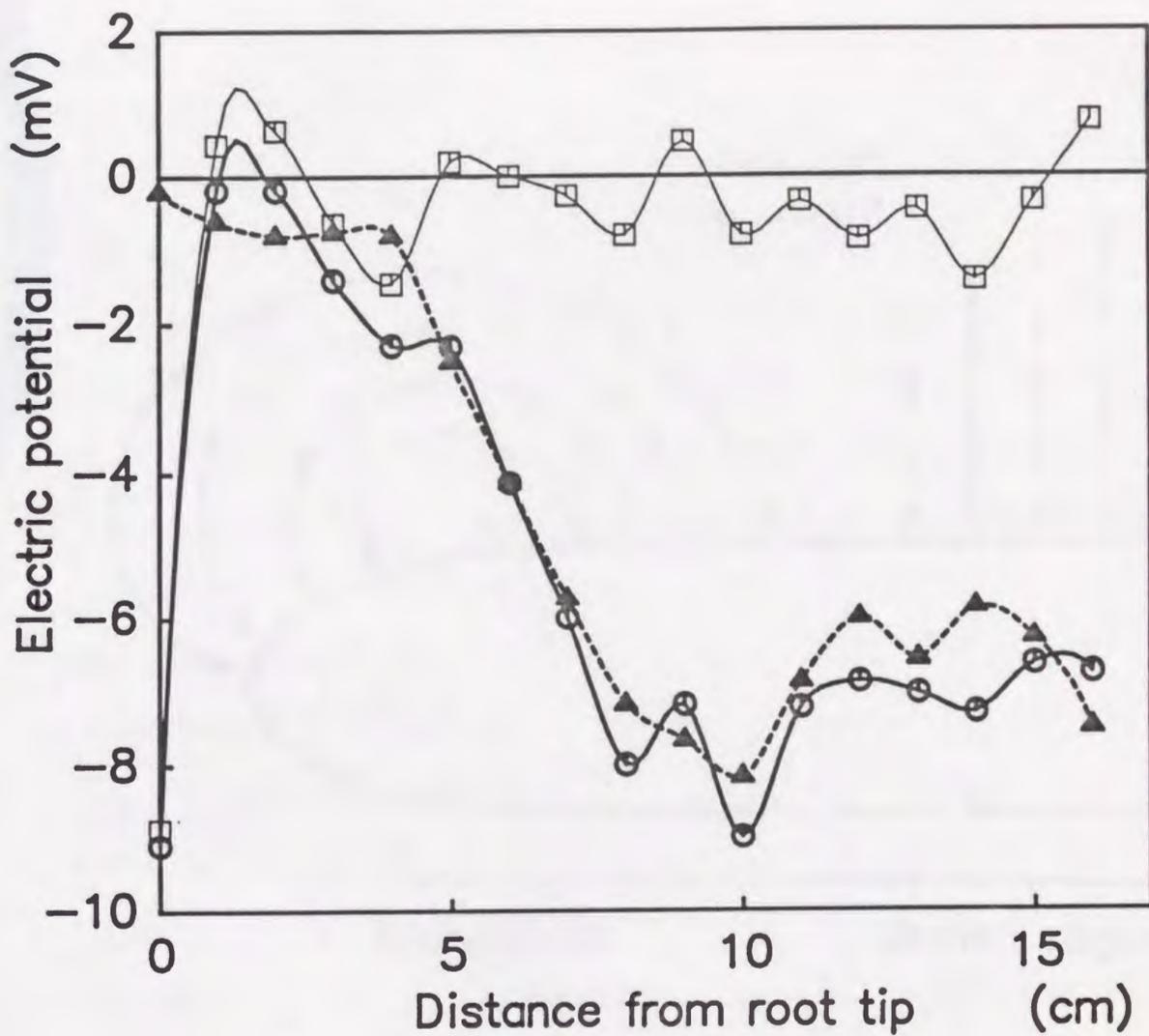


図 4-12 主根の表面電位パターンと H^+ 濃度差により発生する拡散電位パターンの比較。○:表面電位パターン, ▲:pHパターンから計算した拡散電位パターン。□は表面電位○から拡散電位▲を差し引いた値であり、表面電位のうち電流により発生する成分。

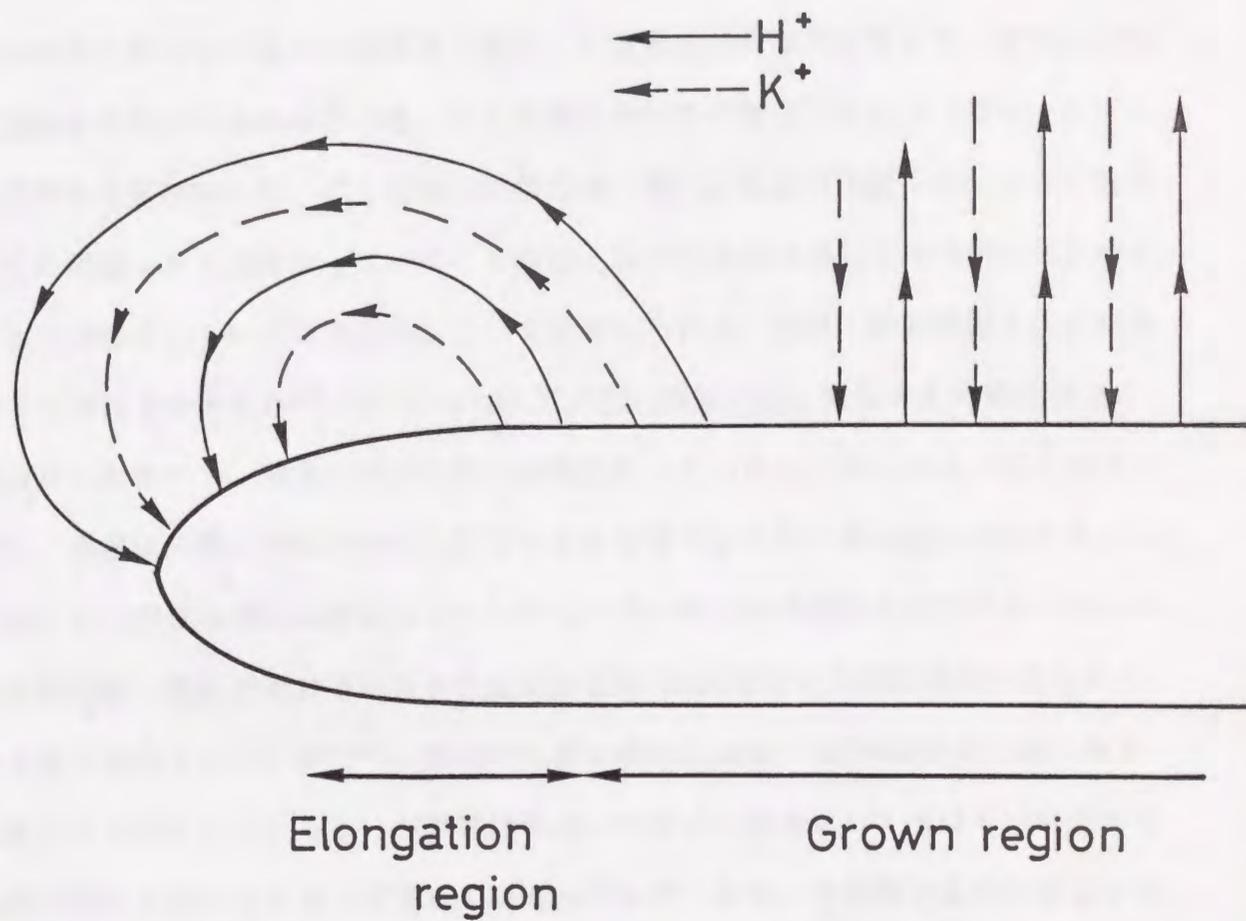


図 4 - 1 3 根の周囲に形成されるイオンの流れの模式図。主根の先端側では表面をよぎる電流ループが中心で、基部側では局所的な H^+ と K^+ の交換が発生している。側根でも主根と同様なイオン流が形成される。

4. 4 考察

根は主根の伸長と側根の発生によって根系として成長していくが、側根の発生は根の伸長と異なり一種の分岐現象であり、形態形成型の成長と言える。側根が主根の表面から外部に現れる時には、その周囲に局所的な電位パターン（図4-5）が形成される事が判った。ごく初期の段階では、現れた側根の先端を中心として電位はその周囲よりも低くなっている。これは、現れた側根の周囲で局所的な電流の吸い込みが起こっている事を反映していると考えられる。実際、振動電極を用いた実験でも内向きの電流が報告されている^(78,79)。周囲に特に電位の高い部位は見られなかった事から、電流の湧出し部位は局在化していないと思われる。前に述べた様に、側根は主根の内部の内鞘と呼ばれるかなり中心に近い部位から発生する。したがって、側根は外部に現れるよりもかなり早い時期から形成されている。マメ科の植物では、側根が現れる位置よりもさらに2~3cm先端側で側根原基が形成されている事が報告されている⁽⁶⁹⁾。側根が外部に現れた直後でも5mV程度の比較的大きな電位差の発生しているという測定結果は、内部では原基として既に早い時期から組織が形成されている事と関係しているものと思われる。本研究では既に側根が主根の外部に現れた後で測定を行っているが、約0.2mmの長さの側根でも明らかなパターンが形成されている事から、それより以前にも外部の電流に変化が現れている事が予想される。どの時期にはじめて電流パターンが形成されるのかについては今後の課題である。

側根の長さが2mmを越えると、先端付近では初期の段階と同様に電位は低いが、基部側では主根の表面に比べて相対的に電位の高い領域が見られるようになる（図4-6）。この電位パターンは、主根の先端近傍で見られる形状と定性的に一致している。先端付近の電位の低い部位が内向きの電流の存在する領域に対応し、基部側の電位の高い部位の存在が外向きの電流が流れている領域が新しく形成された事

を意味しているものと思われる。即ち、先端で吸い込んでいる電流はそのすぐ後方から供給されるようになったと考えられる。主根の場合、内向き電流は先端から伸長領域の一部、外向き電流は主に既長領域に存在していたが、側根の場合も同様であると思われる。図4-5に示した程度の側根発生の初期の段階の側根部は顕微鏡で観察すると細胞が総て小さく、活発に細胞分裂をしている。即ち、まだ伸長領域や既長領域に相当する部分は存在しておらず、従って、成長速度も非常に低い(図4-4)。側根近傍に外向き電流が見られないのはそのためであろう。一方、側根の長さが2mmを越えると伸長速度はほぼ定常状態に達するが、この事は側根が分裂領域、伸長領域、既長領域に分かれて、形態的に整った事を表していると思われる。電位パターンが初期の状態から変化してきたのは、その過程を反映したものと考えられる。

側根でも数cm以上長く伸長すると、表面電位の時空間特性は主根で観測されたものと定性的に同じ性質を持つようになる⁽³⁴⁾。図4-7で示した様な安定な空間パターン及び図4-8で示した様な時間的振動は主根で見られる形状とよく類似している。これは、主根と側根との間には、本質的にはなんら構造に違いが無い事から、当然の結果と言えるだろう。また、主根の電位パターンと側根の電位パターンでは時間振動の起こる頻度や、パターンの振幅などに差があったが、これらの結果は、主根と側根で径の大きさや伸長速度が大きく異なるという事実に起因するものであろうと推測される。即ち、根の伸長活動の強さと電位パターンの振幅や振動の頻度は、主根だけでなく側根を含めて、一定の相関性があると考えられる。従って、高等植物の根の表面に形成される電位パターンは、根の成長に対して本質的な部分で関わっているものと推測される。

一方、主根の基部側の表面電位パターンに着目して、側根の発生している付近の局所的な部分だけでなく、主根の軸に沿って全体的な電位パターンを測定すると、主根の電位パターンには側根の分布と一定の関係がある事が判った。伸びた側根が

十分に分布している程度の長さを持つ主根に対して表面電位パターンを測定すると、側根の存在している基部側では、先端に比べて大きく電位が低下している（図4-9）。平均的な側根分布を示している個体においても側根の発生が少なく側根の見られない領域の範囲が広い様な個体においても、いずれも電位の低い領域と側根の分布する領域が一致している。即ち、主根の表面電位の低下と側根の発生は、深く関係した事象であると考えられる。

主根の全域にわたって測定する目的で電極の間隔を1cmと広くとったため、従来の測定と細かいパターンの比較は難しいが、図4-9の主根の表面電位パターンの形状は、これまで報告してきた周期的なパターン（図1-11）とはかなり異なっている様に思われる。これは、主根が伸長し側根が形成されるようになった事によって、電流パターンが変化した可能性もあるが、実験条件の差も原因のひとつであると考えられる。ここでの主根の表面電位測定は、0.3%の寒天を加えた水溶液を用い、溶液そのものの流れが発生するのを防いでいる。これは、pHパターンも同時に測定しているため根が形成しているH⁺などイオン濃度分布に対して擾乱を与えるのを防ぐためである。寒天濃度はごく薄いため、伸長速度には影響を及ぼす事はない。これに対して、従来多点電極測定装置を用いて表面電位を測定する際は、水溶液には寒天は加えていなかった⁽³⁵⁾。従って、電極の先端位置ではイオン濃度差が十分に形成されていなかった可能性がある。従って、濃度分布の差異が電位の測定結果に影響を及ぼしているという事が考えられる。本章では示さなかったが、電極を根の表面から0.1mm程度まで近づけると、基部側では寒天を含まない水溶液中で電位を測定した場合でも-10mV程度の低い電位が観測されたが、この実験結果は濃度分布の影響を裏付ける事実であると思われる。

もし、イオン濃度がほぼ均一ならば電位差は電流によって発生していると考えてよいが、大きなイオン濃度差がある場合、イオンは電位勾配と濃度勾配の両方に依存して流れる。従って、イオン濃度勾配が存在する場合とそうでない場合では、同

じ電流分布でも電位パターンは大きく異なる可能性がある。そこで、 H^+ の濃度変化が観測される表面電位に及ぼす影響を解析してみた。その結果、主根の表面付近に蓄積した H^+ が、負の拡散電位を作り出す事が判った(図4-11)。これは、 H^+ の移動度が他のイオンに比べて大きい事に起因するものである。測定されたpHパターンを用いて、 H^+ の濃度差による拡散電位を求め測定された表面電位と比較すると、基部側の低い電位の大部分が電流を伴わない蓄積した H^+ の拡散による電位である事が判った(図4-12)。

これらの解析結果から、根の周囲に形成される電流ループは、側根が現れる前の短い根と現れた後の長い根の間に大きな差は無いものと考えられる。一方、図4-9で示される様な側根のある長い根の基部側における低い電位は、pHの低下によって起こるものであり、電流を伴わない H^+ と K^+ の局所的な交換を反映していると考えられる(??)。従って、基部側の表面の電位やpHの低下は K^+ の吸収能力の増大に対応している。植物の成長にとって水分や養分の吸収は重要な機能である事を考えると、側根が外部に現れると同時に、主根の成長に関してもほぼ機能的に成熟した状態になると思われる。主根の中で側根が発生している領域は、電位やpHが低い領域とほぼ一致した位置にあったが、この事は、側根が発生している領域と強い K^+ の吸収を示す領域が一致している事を意味している。即ち、側根は主根が十分に成熟した状態になった時に、分岐して外部に現れる事になる。側根の原基はいくつかの段階を経て発達していくが、発達の段階は、主根の軸に沿って進んでいる事になる。従って、主根の表面電位と側根原基の発達の位置関係を考えると、まだ側根原基が形成されない領域では表面電位の低下は起こっておらず、側根原基が発達していくに従って、その位置における主根の表面電位も低下していくようになる。根の成熟状態を決定する要素が主根の内部にあり、 K^+ 吸収と側根形成の双方の機能は、その成熟度に応じて発達していくものと推測される。即ち、 K^+ 吸収及び側根形成の発達に対して共通に作用するメカニズムがあるものと推測される。

4. 5 結論

本章では、根が成長していく過程で側根が形成される時の、側根の現れる局所的な表面電位の振舞いを測定し、併せて、主根に沿った電気化学的パターンと側根の発生との関係について調べた。本章で得られた結果は次の様にまとめられる。

- (1) 側根が主根の外部に現れるとともに、その周囲に大きな電位パターンが観測された。初期の段階では側根の近傍は周囲よりも電位が低く、局所的な電流の吸い込みが起こっていると考えられる。側根が2mm以上の長さになると、先端からやや後方に電位の高い領域が観測され、側根における電流ループが形成された事が示唆される。
- (2) 数cm程度の長さの側根の表面電位を測定すると、主根と同様に空間パターンが形成されており、時間的な振動現象も見られる事が判った。主根における時空間構造と比較するとパターンの振幅や振動の起こる割合などに相違点が見られたが、これは主根と側根の伸長速度の違いに起因しているものと考えられる。
- (3) 主根の全域にわたって電位やpHを測定すると、電位やpHの空間パターンと側根の分布には強い相関性が見られた。主根の基部側の側根の発生している領域では、まだ側根の現れていない先端側に比べて酸性化が著しく、電位が低くなっている事が判った。さらに側根の発生の遅い個体では、正常に側根が分布している個体に比べて酸性化や電位の低下が少なかった。
- (4) 主根表面の、側根が分布している領域では、強い酸性化と低い電位が観測さ

れた。pHと電位の関係について電気化学的な解析を行った結果、基部側の低い表面電位は、主として根の H^+ の能動輸送によって表面付近に蓄積した H^+ の水溶液への拡散によって生じたものである事が明らかになった。 H^+ の放出は無機養分の吸収を伴っていると考えられ、主根の成熟度と側根の発生に相関性がある事が示唆された。

- (5) これらの実験結果から、これまで主根に対して調べてきた表面電位パターンと成長の関係について、側根においても全く同様の構造を持っている事が明らかになった。また、基部側における表面電位とpHの関係を考察した結果、 H^+ ポンプによる H^+ の放出が表面電位の低下をもたらしている事を明らかにした。この事から、表面電位の発生機構は2種類に分けられ、先端部の電流ループが伸長状態を反映しているのに対して、基部側では H^+ 放出による無機養分吸収の機能を評価出来る事を示唆している。