

博士論文

トマトの物質生産に及ぼす環境ストレスの影響と  
その生体情報に基づく栄養生理学的解析

平成 21 年 3 月

広島大学大学院生物圏科学研究科

環境循環系制御学専攻

金井俊輔

# 目次

## 第1章

序論	1
----	---

## 第2章

K 欠乏が果実肥大期のトマトに与える影響～ソース・シンク関係による解析～	4
緒論	5
材料と方法	9
結果	14
考察	40

## 第3章

K 欠乏が栄養生長期のトマトに与える影響～ソース・シンク関係による解析～	45
緒論	46
材料と方法	48
結果	51
考察	68

## 第4章

N 欠乏が果実肥大期のトマトに与える影響～ソース・シンク関係による解析～	72
緒論	73
材料と方法	75
結果	79
考察	99

## 第5章

茎径変化によるトマトの栄養診断	103
緒論	104
材料と方法	106
結果	109
考察	125

## 第6章

茎径変化の支配要因の解析～アクアポリンおよびKチャンネル阻害からみて～	131
緒論	132
材料と方法	134
結果	138
考察	150

## 第7章

総合考察	153
------	-----

## 第8章

摘要	162
----	-----

## 第9章

参考文献	169
------	-----

## 第10章

謝辞	192
----	-----

# 第 1 章

## 序論

## 植物生長と栄養ストレス

植物の生長は環境によって支配される。ここで述べる環境とは、温度、光、水、必須元素を指している。既往の研究により、植物の必須元素と植物生長との関係は精査されてきた。しかしながら、多くの報告は植物に吸収された栄養素の動態や、その生物化学的な役割についての研究に終始しており (Brian et al 2004, Epstein and Bloom 2005, Broadley and White 2005)、栽培培地からの無機栄養の獲得や、植物体中のイオンの転流、植物個体や細胞の恒常性の維持に対する理解の進展を優先してきた (Shaul 2002, Smith et al 2003, Gradner 2003, Vance et al 2003, Lalonde et al 2004, Ashley et al 2006)。これらの知見による植物生長 (生産) の理解は、かならずしも充分ではない側面がある。

## 植物生長とソース・シンク関係

植物生長とソース・シンク関係は密接に関わっている。植物生産の大部分は、光合成に由来しており、葉で生産された光合成産物は子実や果実などの器官へ転流され、蓄積される。葉をソース、子実、果実、成長点、根、塊茎をシンクと考えると植物生長はソースとシンクのバランスによって成り立っている (藤田 2002)。ソース・シンクを基に植物生長を見ると、単位葉面積あたりの光合成速度が著しく高い場合でも、それに対応した光合成産物を貯蔵する機能を有していない場合、個体生長は低下する。また、これとは逆に貯蔵器官の能力が高い場合でも、それに対応して光合成速度が発現されなければ期待したほど植物生長は増加しない。

## ソース・シンク関係、環境ストレスと収量律速

「ソース・シンク関係」と「栄養ストレス」は作物生産の向上を図る上で重要である。しかしながら、これらの研究は、それぞれ独立した分野で行われており、これらの分野間

による相互交流は極めて限られ (Roitsch 1999)、リン (P) 欠乏 (Fujita et al 2003b) や塩ストレス (Moghaieb et al 2006, Suwa et al 2006) がソース・シンク関係に与える影響が少数報告されているに止まっている。

ソース・シンク関係から作物生産を見ると、現在は光合成速度 (ソース能) の改善による収量の増加は難しく (Long et al 2006)、シンク能の改善によって増収の可能性があるという (Borrás et al 2004, Gambín et al 2006, Miralles and Slafer 2007)。

しかしながら、このような高収性理想型作物の青写真は、インフラストラクチャーの確立により、潤沢な肥料、行き届いた栽培管理下での研究成果の集約である。これに対し、作物生産が行われている耕作面積のおよそ 90% が不良環境であり (藤田 2002)、ストレス下におかれた作物生産が、シンク能の拡大によって理想型の植物となりうるかは不明である。

加えて、上述の通り、これらの回答となりうる環境ストレス下でのソース・シンク関係の変動に関わる報告は極端に少ない (Roitsch 1999)。

このようなことを背景に、本研究は ① トマトを用いて生産能を強く支配する大量必須元素、K および N を例に、これらの欠乏下における生産能の律速因子をソース・シンク関係から解析し、② 得られた研究成果に基づき、高位生産力を損なうことなく施肥の節減を目指す栽培技術の開発について検討すると共に、③ これらの研究の基盤である茎径変化などの生体情報の植物生理学的意義について解析した。

## 第 2 章

**K** 欠乏が果実肥大期のトマトに  
与える影響

～ソース・シンク関係による解析～

## 緒論

### カリウムについて

植物の三大栄養素として窒素、リン酸、カリウム (K) の3種類が知られている。その中で K は一価の陽イオンとして植物中に存在し、主要なカチオンとして植物細胞液、導管液、篩管液の中に存在する。植物中での存在量は N, O, H, C に次いで多い元素であり、収量と密接に関係することから盛んに研究が行われている。それらの成果によると、K は気孔の開閉 (原 2002)、光合成 (Tsunno and Fujise 1965, Terry and Ulrich 1973, Longstreth and Nobel 1980, Marschner 1995, Zhao et al 2001, Peuke et al 2002)、呼吸 (Terry and Ulrich 1973)、酵素活性 (Cram 1976, Marschner 1995)、タンパク質合成 (Marschner 1995, Walker et al 1998)、浸透圧調整 (Cram 1976, Marschner 1995)、細胞内 pH 調整 (Walker et al 1998)、イオン恒常性維持 (Marschner 1995) などに関与する事が判明しており、多くの役割を担う元素として認識されている。

### K 欠乏とトマト生長阻害

K とトマトの関係は古くから研究されており、栄養生長期 (Wall 1940, Lucas 1968)、果実生産期 (Besford and Maw 1975) にわたり高い K 要求を示すことが報告され、K 欠乏がトマトの器官成長を阻害すると結論している。K 欠乏による器官成長の阻害は栄養生長・果実生産の両時期において綿密に研究されている。例えば、栄養生長期では葉にネクロシス、クロロシスの症状が現れ (Besford 1978a, b, Pujos and Morard 1997)、主に根に対する同化産物分配に影響を与える (Haeder and Mengel 1972)。また、果実肥大期では「花の発達」や「着果」が遅れ (Besford and Maw 1975)、着果後では K 濃度の低下が果実の品質低下を招くことが報告されている (Davies and Winsor 1967, Winsor 1968, Trudel and Ozbun 1971)。

トマトでは生殖生長期において果実が最も強いシンクとして働く。例えば、トマトの果実肥大期では、果実の K 要求量は根の吸収量を上回るため、栄養器官から果実への再転流が行われ、その結果として葉では欠乏症を示す (Widders and Lorenz 1979)。

また、果実肥大期では K 欠乏により、葉や根など、相対的に古い栄養器官から果実や生長点などの若い器官へ K の再転流が行われている (Pujos and Morard 1997, Peuke et al 2002)。

このように、果実が強いシンク活性を発揮する場合、栄養器官から無機元素の再転流が積極的に行われるため、果実自体から栄養欠乏症を判定するのは困難であるという (Mengel and Kirkby 1987)。

## ソース・シンク関係と K 欠乏

植物生長は葉 (ソース) で光合成によって合成された光合成産物が、生長の行われる器官 (シンク) へ転流され、消費されることで成り立っている (藤田 2002)。K 欠乏がソース、シンクおよび転流に与える影響について様々な研究が行われてきた。しかしながら、その多くは K 欠乏とソースの関係性に注目し、シンクおよび転流を含めた物質生産系についての報告は少ない。そのため、K 欠乏がソース・シンク関係に与える影響については検討の余地を残している。

K 欠乏によって光合成速度が低下することは多くの研究者によって指摘されている (Tsuno and Fujise 1965, Terry and Ulrich 1973, Longstreth and Nobel 1980, Marschner 1995, Zhao et al 2001, Peuke et al 2002)。しかしながら、このソースの低下は K の主要な機能である膨圧調整や、その結果発生する気孔開度の変化からでは説明できず、他の要因によるという (Behboudian and Anderson 1990)。

転流やシンクについても K 欠乏の影響に明確な結論が得られていない。例えば、転流について見ると、K 欠乏によってソースは影響を受けず、シンク活性が阻害されるため転流が

抑制されるという報告が見られる (Hart 1970, Mengel and Viro 1974)。しかしながら、他方では、K 欠乏による転流の低下はシンク阻害の結果ではなく (Mengel 1980, Beringer and Haeder 1981)、転流自体が直接 K 欠乏の影響を受けるために発生するという (Huber 1984)。また、Geiger and Conti (1983) は、同化産物の転流率や分配率は培養液の K 濃度の変化によって影響を受けなかったとしており、一致した結論に達していない。

一方、シンクに対する影響では、サツマイモにおける主要なシンクである塊茎の生長に K 欠乏が影響を及ぼし、その結果として光合成産物の転流が影響を受けたという報告があるのに対し (Tsuno and Fujise 1965)、Hart (1969) は K 欠乏によって転流は低下したが、その原因はシンクの生長阻害や、転流を担う篩部の壊死によって誘発したものではないと結論している。

このように、K 欠乏が植物の栄養生長に与える影響については、必ずしも十分な解明がなされておらず、K 欠乏下の植物応答をソース・シンク関係の観点から検証する必要が示唆されている (Roitsch 1999)。

## シンク能の評価と環境ストレス

以上のように、栄養欠乏がシンク器官に与える影響は解明されるに至っていない。この解明にあたっては従来法とは異なる高精度な方法を用いてシンク能を測定することが必要である。なぜならば、従来法によるシンク器官の測定は、①植物個体の破壊を伴い、②非破壊法であってもシンク器官の直径の定点観測や、色の変化に頼っている。これらの測定法は ①では個体間差によって正確な影響を読み取ることが出来ず、②では測定精度が低いため定量的な評価が困難である。この点から、K 欠乏がソース・シンク関係、特にシンク能に与える影響を評価することは困難であった。

他方で、シンク器官の直径を高精度で連続測定することにより、シンクに対して適正な評価が下せる可能性が報告されている。例えば、P 欠乏 (Fujita et al 2003b) や塩ストレス

(Fujita et al 2003a, Moghaieb et al 2006) では、歪ゲージ式変位計を用いてシンク活性を連続的に評価し、ソース活性への影響と比較することで、シンク活性の低下から乾物生産の阻害が引き起こされることが報告されている。このような手法を用い、シンク器官を高精度に連続測定することによってシンク活性を評価し、同時並行的にソース能を観察することで、ストレスがソースとシンクのどちらに影響を与えるかを適正に評価することが可能であると考えられる。

しかしながら、K 欠乏がトマトに与える影響をソース・シンク関係から解析した研究は報告はなされていない。

以上を背景に、本章では K 欠乏によるトマトの果実生産能の低下の原因についてソース・シンク関係から解析する。具体的には、①ソース能の指標として光合成速度を連続して測定し、これと平行して、②歪みゲージ式変位計を用いた果実・茎径のモニタリングによってシンク能を評価する。さらに、③光合成産物の転流状態を測定するために  $^{13}\text{C}$  同化実験などを行い、植物体の炭素動態を評価する。

## 材料および方法

### 供試植物および栽培方法

供試植物にトマト（品種 桃太郎 J）を用い、広島大学精密圃場内のガラスハウスで栽培した。トマトをセルポットに播種し土耕栽培によって育苗した後、播種 21 日目にトマト苗を水耕栽培環境（70L バット使用、エアレーション有り）へ移植した。培養液（N [Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O] 3.57 mM, P (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) 0.32 mM, K (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/KCl 1:1) 1.02 mM, Ca (CaCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O) 0.75 mM, Mg (MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) 0.82 mM, Fe (Fe<sup>3+</sup>-EDTA) 0.02 mM, Mn (MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 3.64 μM, B (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 0.05 mM, Zn (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) 0.15 μM, Cu (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) 0.16 μM, Mo (NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) 0.1 μM, Co (CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) 0.17 μM.) は、1N の水酸化ナトリウムと塩酸を用いて 1 日 1 回 pH5.8~6.2 へ調整し、7 日に 1 度の間隔で完全に交換した。

また、腋芽は随時取り除き、加えて、第 3 果房とソース・シンク単位を形成する葉の展開に伴い、第 1~3 果房とソース・シンク関係を形成する葉を残し摘芯を行った。加えて、開花期中すべての花房に対して着果促進のため、トマトーン 100 倍希釈液（ジベレリン濃度 10ppm）を散布した。

処理開始に先立ち、K 欠乏処理を開始する 14 日前から培養液中の K 濃度を 10ppm とし、7 日前から 5ppm とすることで個体の K 含有量をあらかじめ低下させ、播種後 75 日目より K 欠乏処理を開始した。対照区の K 濃度を 40ppm とし、K 欠乏処理は培養液組成から塩化カリウムおよび硫酸カリウムを除いたものを供試した。

### 生育調査および供試試料採取

生育調査は K 欠乏処理後 0、7、14、21 日目に実施した。1 回の調査につき 3 個体を無作為に選び測定に用いた。各個体を葉身、同化葉、葉柄及び茎、根、第 1 果房、第 2 果房および第 3 果房に仕分け新鮮重を秤量した。また、処理後 21 日目に採取した個体は上記の仕

分け方法に加え葉身を第 12 葉以下の葉（第 1 果房とソースシンク単位を形成）、13 葉から 18 葉（第 2 果房とソース・シンク単位を形成）、第 19 葉以上の葉（第 3 果房とソース・シンク単位を形成）に細分した。

全てのサンプルは 70℃で 1 週間熱風乾燥し、乾燥重量を求めた。その後サンプルは振動粉砕機によって微粉砕し各測定に用いた。

## 茎・果実径の測定

茎径および果実径は、処理開始播種後 74 日目より 21 日間にわたって測定した。歪みゲージ式変位計を「トマトの地際より約 15cm 上部」および「第 2 果房中の果実 1 個」に設置した。歪みゲージ式変位計は、茎に対して直径 3mm のゴムひもを用いて固定し、茎とセンサーのレバー部分の間にシリコンゴムチューブを挿入し、ピンチコックでレバーの位置が調整可能となるように設置した (Fig. 17)。果実径測定の場合は、三脚に取り付けた台座に歪みゲージ式変位計を固定し、果実を挟み込むことで測定した (Fig. 1)。茎および果実径は 180 秒に一回収録し、データはデータロガー (DE-1000 型 NEC 三栄社製) を経由してパーソナルコンピュータに記録した。また、茎・果実の生長に伴い、果実では 24 時間毎に 1 度の頻度で歪みゲージセンサーを調節し、茎では同様の操作を 4-5 日に 1 度の割合で行った。

## 光合成速度、蒸散速度、気孔伝導度、葉内 CO<sub>2</sub> 濃度の測定

光合成速度、蒸散速度、気孔伝導度を処理後 0~18 日目に測定した。測定は 11:00~13:00 の間に携帯用光合成測定装置 (LI-6400 型 LICOR 社製) を使用し、第 1 花房直下の先端小葉を用いて行った。対照区と K 欠乏区の中からそれぞれ 3 個体を選抜し、処理期間中これらの経日変化を記録した。選抜した 1 個体を 3 回測定し、3 個体の平均値および標準誤差を求めた。また、すべての測定は光合成有効光量子束密度 1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、葉温 25℃、CO<sub>2</sub>

濃度 380ppm の条件下で実施した。

## 葉面積の測定

葉面積の測定は K 欠乏処理後 0、7、14、21 日目に実施した。採取した葉身から新鮮重で約 5 g を無作為に秤取し、それらの葉面積を計測した（自動面積計 AAM-9 型 林電光機械株式会社）。その後、葉面積を測定した葉を 70°C で 7 日間乾燥し、乾物重を秤量した。この乾物重を基に葉面積との比を求め、1 個体あたりの葉身の乾物重から個体の当たりの葉面積を算出した。

## 葉水ポテンシャルの測定

葉の水ポテンシャルはプレッシャーチャンバー法を用い処理後 0~21 日目に測定した。試料として、第 13 葉から第 15 葉の先端小葉および複葉を用い、全ての測定は A.M. 10:30~11:00 の間に行った。測定は対照区と K 欠乏区でそれぞれ 3 反復ずつ行い、その平均値および標準誤差を算出した。得られた測定値に定数 -0.098 を乗じて水ポテンシャル (MPa) を求めた。

## K の測定

採取した試料の K 濃度は炎光光度計を用いて測定した。K 欠乏処理後 0、7、14、21 日目に採取した試料を熱風乾燥し、得られたサンプル約 50mg 秤取し、硝酸・過塩素酸 (3:1 v/v) によって分解した。その後、分解液を 50ml に希釈し炎光光度計 (ANA-135 型 東京電光株式会社) により測定した。

## 糖・デンプンの測定

糖およびデンプンは、アントロン硫酸法 (Yemm and Willis 1954) に準じて測定した。糖の測定では、微粉碎した試料を大型試験管に約 200mg 秤取し 80%のエタノールを加え、80°Cの温浴槽で 20 分間糖の抽出を行った。その後、溶液を 3000rpm で 5 分間の遠心分離し、上澄み液を収集した。この操作を 3 回繰り返した後、収集した上澄みからエタノールを気化させ、残った溶液を用いて可溶性全糖含有率を測定した。

デンプンの測定では、糖抽出後の残渣を用いて行った。残渣を乾燥機の中に入れ 60°Cで一晩乾燥させ、蒸留水を 2ml 加えて温浴槽で温浴 (10 分間、100°C) した後、室温まで冷却した。冷却後、9.2N の過塩素酸を 2ml、蒸留水 6ml を加えて 15 分間静置し、3000rpm で 5 分間遠心分離を行い、上澄みの回収を行った。その後、再び 4.6N の過塩素酸 2ml を加えて 15 分間静置し、蒸留水を 6ml 加えて遠心分離 (5 分間、3000rpm) によって上澄みを採取した。得られた溶液からアントロン硫酸法によってデンプン含有量を測定した。

## <sup>13</sup>C 同化実験

<sup>13</sup>C の同化は K 欠乏処理後 6、13 日目に第 1 果房直下の葉を用いて行った。葉を透明なビニール袋で覆い、炭酸バリウム (Ba<sup>13</sup>CO<sub>2</sub> 99.6 atom%) に 40%濃度の乳酸 (v/v) を加えて <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> を発生させ、自然光下で 90 分間同化させた。<sup>13</sup>C 同化 30 時間後、カリウム欠乏処理後 7、14 日目に植物体を採取し、ただちに同化葉、葉身、茎及び葉柄、根、第 1 果房、第 2 果房および第 3 果房に仕分けした。その後、各試料を 80°Cで 7 日間熱風乾燥し、振動微粉碎機を用いて微粉碎した。粉碎試料約 100μg を錫コンテナに封入し、質量分析機 (Finnigan 社製、Delta plus) を用いて各部位の <sup>13</sup>C atom%量を測定した。<sup>13</sup>C atom % excess は同化植物と非同化植物個体の <sup>13</sup>C atom %の差を用いた。また、元素分析計によって測定したサンプル中の炭素含有率を算出した。

各器官の同化実験由来の<sup>13</sup>C量 (A) は次式によって算出した。

$$A = \text{各サンプルの } ^{13}\text{C atom \% excess} \times \text{各器官の乾物重} \times \text{サンプル中の炭素含有率 (\%)}$$

また、<sup>13</sup>C 転流率および各器官の<sup>13</sup>C 分配率は次式によって求めた。

$$^{13}\text{C 転流率 (\%)} = \frac{\text{個体の } ^{13}\text{C 量} - \text{同化葉の } ^{13}\text{C 量}}{\text{個体の } ^{13}\text{C 量}} \times 100$$

$$\text{各器官の } ^{13}\text{C 分配率 (\%)} = \frac{\text{各器官の } ^{13}\text{C 量}}{\text{個体の } ^{13}\text{C 量}} \times 100$$

## 結果

### 植物生育量

K欠乏によって個体乾物重は対照区を下回った (Table 1, Fig. 2)。処理 21 日目の個体乾物重は対照区が約 130g、処理区が 83g (64%) と有意に低下した。各器官重の推移は、茎での増大が最も著しく、次いで葉身が続き、第 3 果房が最も小さかった。K欠乏によって各器官重量は減少したが、この減少は茎重が最も大きく、次に葉身重であり、それぞれ対照区の 66.1%、52.8%へ減少した。葉身重の減少は 13 葉から 18 葉 (中段葉) が最も著しく、次に上段葉、下段葉とつづき、それぞれ対照区の 41%、61.2%、63.3%であった。

また、葉身に対する K 欠乏の影響は同一個体内でも異なった (Fig. 3)。処理開始時には、上段葉、下段葉は緑色を呈しており、中段葉には部分的に黄色を示す葉が僅かに混在した。処理後 21 日目では中段葉は最も影響が大きく、ほとんどの葉が枯死していたのに対し、上段葉は黄色となり葉脈とその周辺に緑色が残り、下段葉は処理が進んでも緑色を保つ葉の割合が多かった (Fig. 4)。

### トマトの茎径・果実径

茎径は対照区で経時的に上昇を続けたが、処理区では 6 日目まで肥大を続け、それ以降はその肥大を停止し、ほぼ一定に保たれた (Fig. 5)。

処理 1 日目の茎径の変化を見ると、対照区では朝日による照光の開始とともにすばやく収縮を開始し、その後日射などの環境の変化に合わせて膨張収縮を繰り返した (Fig. 6)。夕方から日没が進むにつれて茎径は膨張を示し、夜間は夜明け前と同様に急速に肥大した。

処理区では対照区とほぼ同様の茎径変化を示した。処理 6 日目の茎径変動を見ると、夜明け前の肥大、および日没後の膨張が処理区と比較して低下していた (Fig. 6)。処理 15 日目の茎径の変動を見ると、対照区では夜間に肥大が認められたが、処理区ではその傾向は

見られなかった (Fig. 6)。一方、日中の照度変化による茎径の小刻みな収縮・肥大は対照区と処理区で同程度であった。

果実径は対照区と処理区ともに経時的な肥大が観測されたが (Fig. 7)、日中では肥大速度が低下し、処理区の肥大速度減少が対照区より大きかった。

K 欠乏処理によって処理 1 日目から夜間の果実の肥大速度は低下し (Fig. 8A)、この低下は処理日数の経過とともに大きくなった。処理 6 日目からその差異は顕著になり (Fig. 8B)、処理 18 日目には処理区の肥大速度は対照区と比較して大きく低下した (Fig. 8C)。

日照時間帯の果実径に注目すると、処理の有無にかかわらず処理開始 6 日目から日中の肥大が停止し、加えて、処理区では日の出に伴う肥大停止が対照区に比べて約 1 時間遅れた (Fig. 8B)。

## 光合成速度

光合成速度 ( $P_0$ ) は K 欠乏処理によって有意に低下した (Fig. 9)。 $P_0$  は処理後 11 日目まで K 欠乏処理による影響は認められず、処理 12 日目に対照区と処理区で  $17.10\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、 $13.58\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  と K 欠乏によって有意に低下した。その後、有意差を拡大しつつ推移し、処理 18 日目では対照区で  $21.37\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、処理区でその 59.7%となった。

## 気孔伝導度

気孔伝導度は K 欠乏処理によって有意に低下した (Fig. 9)。この値は処理後 13 日目まで K 欠乏処理による影響はなく、14 日目に対照区と処理区でそれぞれ  $0.565\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  および  $0.431\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  と有意に低下した。その後、有意差を保ったまま推移し、18 日目では対照区で  $0.505\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、処理区で  $0.252\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  となった。

## 葉内 CO<sub>2</sub> 濃度

葉内 CO<sub>2</sub> は K 欠乏処理によって低下した (Fig. 9)。葉内 CO<sub>2</sub> は処理後 14 日目まで K 欠乏処理による差はみられず、15 日目に対照区と処理区でそれぞれ 291 μmol CO<sub>2</sub> mol、213 μmol CO<sub>2</sub> mol と一時的に有意差を示した。しかし、その後 16、17 日目では区間差が観察されず、処理 18 日目では再び有意に低下し、対照区で 281 μmol CO<sub>2</sub> mol、処理区で 248 μmol CO<sub>2</sub> mol となった。

## 蒸散速度

蒸散速度は K 欠乏処理によって有意に低下し、その変遷は気孔伝導度の推移とほぼ一致した (Fig. 10)。蒸散速度は処理後 13 日目まで K 欠乏処理による差異はみられず、14 日目に対照区と処理区でそれぞれ 8.35 μmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>、6.58 μmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> と有意差を示した。その後、有意差を保ったまま推移し、18 日目では対照区で 7.85 μmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>、処理区でその 56.8% となった。

## 葉面積

葉面積は K 欠乏処理によって有意に低下した (Fig. 10)。処理開始 0、7、14 日目まで対照区、処理区間で差が確認されなかったが、処理 21 日目では対照区で 0.75 m<sup>2</sup> plant<sup>-1</sup> となり、処理区でその 49% に低下した。

## 葉の水ポテンシャル

葉の水ポテンシャルは処理開始から 18 日目に差が確認された (Fig. 10)。水ポテンシャルは処理開始 16 日目まで対照区と処理区でほぼ同様の推移を示し、処理 17 日目には対照区で -0.70 MPa、処理区で -0.78 MPa となった。その後、差を拡大し、処理 18 日には対照区およ

び処理区でそれぞれ-0.70MPa、-0.94MPaとなり有意差が確認された。

## K 濃度・含有量・分配率

K 濃度は K 欠乏処理にともなって低下する傾向が見られた (Fig. 11)。葉では処理 7 日目に対照区で  $184 \text{ g kg}^{-1} \text{ DM}$  であったのに対し、処理区では  $68 \text{ g kg}^{-1} \text{ DM}$  と有意に低下した。一方、果実では処理区が常に対照区より低い値を示したが、有意差は認められなかった。

個体あたりの K 含有量は対照区で処理期間中に増加し、処理終了時には開始時と比べ 1.48 倍となった (Table 2)。一方、処理区では経時的に減少し、処理 21 日目には個体あたりの K 含有量が対照区で  $2139 \text{ mg plant}^{-1}$  に対し、処理区ではその 41% と有意に低下した。

次に、各器官の K 含有量に注目すると、果実では対照区、処理区の両区で他器官より常に高く維持され、この傾向は処理終了時まで維持された (Table 2)。葉では処理 7 日目より有意な低下が認められ、処理 21 日目には対照区で 263mg、処理区でその 14.5% と激減した。加えて、茎では常に処理区が対照区を下回り、21 日目では対照区で 819.5mg あったのに対し処理区でその 27.5% となった。

K 分配率に注目すると、処理開始時には茎で高かったが、日数の経過とともに低下し、反対に果実への分配率は増加した (Fig. 12)。この傾向は K 欠乏によって顕著となり、処理 21 日目では、対照区で K 分配率が 44% であったのに対し、処理区では 67% だった。

一方、茎、葉、根、では K 分配率が経時的に低下し、特に茎では処理 0 日目に 55.1% であったが、21 日目には対照区で 38.3%、処理区で 25.7% と著しく低下した。葉でも同様の傾向が認められ、処理 0 日目に 13.3% を記録したが、21 日目には対照区で 12.3% に対して処理区で 4.3% と大きく減少した。

## 糖濃度

K 欠乏によって葉の糖濃度は対照区を有意に上回った (処理 7 日目, Fig.13)。この差は処理期間中を通じて維持され、処理 21 日目では対照区で 5.0%、処理区で 6.2%であった。

果実の糖濃度は各器官の中で最も高く維持され、加えて、処理区が対照区よりも常に高い濃度を示した。一方、茎では処理 14 日目まで糖濃度に差はなく、21 日目に処理区が対照区を下回り、対照区で 11.0%、処理区で 7.4%と有意差が確認された。根は各器官の中で最も糖濃度が低く、経時的に減少し、最終日では対照区、処理区それぞれ 0.8%、0.6%であった。

## デンプン濃度

各器官のデンプン濃度を Fig.14 に示した。葉では処理 0 日目に 21.3%と最も高く、処理日数の経過に伴って低下し、21 日目には対照区、処理区でそれぞれ 13.1%、6.1%と有意差が確認された。同様に、第 2 果房、第 3 果房も経時的なデンプン濃度の低下を示し、例えば、21 日目の第 2 果房では対照区で 7.7%、処理区で 5.1%であった。しかしながら、第 1 果房ではこのような傾向は認められなかった。

茎では、処理 14 日目まで有意差を確認できず、その後、21 日目に有意に低下した。根は各器官中で最も低いデンプン濃度を示し、処理期間を通じてほぼ一定に保たれ、処理による影響が見られなかった。

## $^{13}\text{C}$ 分配

$^{13}\text{C}$  atom % excess および  $^{13}\text{C}$  集積量をそれぞれ Table 3 および Table 4 に示した。 $^{13}\text{C}$  atom % excess は同化葉で最も高く、次いで果実と続き、葉や茎では低かった。また、対照区、処理区ともに  $^{13}\text{C}$  集積量は経日的に低下した。加えて、一個体あたりの集積量は対照個体が K

欠乏個体より常に高い値を示した (Table 4)。

$^{13}\text{C}$  転流率は K 欠乏処理によって低下した (Fig.15)。処理 7 日目では対照区で 69.1%、処理区で 64.1%であったが、処理開始 14 日目では対照区の 60.7%に対し、処理区では 44.5%と有意に低下した。

分配率は同化葉、果実で高く、次いで茎で高かったが、処理 7 日目では対照区と処理区間ほぼ同様の傾向を示した (Fig.16)。処理 14 日目の同化葉では、対照区および処理区でそれぞれ 39.3%、55.5%となり、K 欠乏によって同化葉にとどまる  $^{13}\text{C}$  の割合が上昇した。一方、果実では、処理 14 日目に対照区で 31.1%、処理区で 21.6%と K 欠乏によって大きく低下した。

**Table 1.** The effect of K deficiency on dry weight of tomato plant organs.

Days after treatment (DAT)	Dry weight (g plant <sup>-1</sup> )					
	0 DAT	7 DAT				
		Control		K deficiency		
1st fruit	8.43 ± 0.91	18.08 ± 0.91	18.28 ± 2.40			
2nd fruit	2.05 ± 0.66	3.93 ± 1.23	6.18 ± 1.64			
3rd fruit	1.88 ± 0.93	6.70 ± 0.90	2.09 ± 0.22			
Amount of fruits	12.36	28.71	26.55			
Leaves	19.41 ± 1.75	22.49 ± 0.68	20.19 ± 1.73			
Stem	32.15 ± 3.23	37.06 ± 1.31	31.08 ± 2.50			
Root	6.61 ± 0.77	8.15 ± 0.11	6.99 ± 0.37			
Whole plant	70.53 ± 5.98	96.41 ± 3.98	84.81 ± 5.42			

Values are given as average ± SEM.

	14 DAT		21 DAT			
	Control	K deficiency	Control	K deficiency	Control	K deficiency
1st fruit	17.47 ± 2.88	15.98 ± 3.92	20.98 ± 1.09	14.54 ± 2.72		
2nd fruit	15.55 ± 2.41	7.49 ± 2.52	12.15 ± 2.90	7.94 ± 1.50		
3rd fruit	0.60 ± 0.23	7.25 ± 0.70	4.70 ± 1.25	3.67 ± 1.20		
Amount of fruits	33.62	30.72	37.83	26.15		
Leaves	22.41 ± 0.32	21.28 ± 1.22	32.11 ± 1.66	16.94 ± 1.57		
Stem	33.87 ± 0.12	33.39 ± 1.70	49.36 ± 2.51	32.62 ± 3.24		
Root	6.94 ± 0.44	6.87 ± 0.43	10.36 ± 0.69	7.47 ± 0.34		
Whole plant	96.84 ± 1.75	92.26 ± 4.01	129.66 ± 4.53	83.18 ± 7.94		

	21 DAT			
	Control	K deficiency	Control	K deficiency
Upper leaves	3.93 ± 0.30	2.46 ± 0.19		
Middle leaves	15.39 ± 0.51	6.64 ± 0.91		
Lower leaves	12.80 ± 0.81	7.84 ± 0.56		

Upper leaves = 19th and more leaves

Middle leaves = 13th ~ 18th leaves

Lower leaves = 1st ~ 12th leaves

**Table 2.** Effect of K deficiency on K content of tomato plant organs.

Days after treatment (DAT)	K content (mg plant <sup>-1</sup> )					
	0 DAT	7 DAT				
		Control	K deficiency			
1st fruit	258.1 ± 31.3	427.1 ± 29.7	394.2 ± 59.5			
2nd fruit	70.8 ± 26.9	89.6 ± 29.0	120.3 ± 32.3			
3rd fruit	67.9 ± 43.7	234.6 ± 39.3	62.6 ± 7.3			
Amount of fruits	396.8	751.2	577.0			
Leaves	193.2 ± 20.8	414.4 ± 27.7	137.6 ± 19.2			
Stem	794.4 ± 115.5	1100.6 ± 58.7	606.7 ± 73.7			
Root	57.8 ± 13.9	199.5 ± 8.7	59.7 ± 6.5			
Whole plant	1442.3	2465.6	1380.9			

Values are given as average ±SEM.

	14 DAT		21 DAT			
	Control	K deficiency	Control	K deficiency		
1st fruit	421.9 ± 71.6	368.9 ± 105.1	535.0 ± 34.1	337.8 ± 72.5		
2nd fruit	424.9 ± 75.8	157.9 ± 53.5	291.3 ± 72.7	168.9 ± 34.7		
3rd fruit	16.4 ± 6.4	152.9 ± 20.2	110.4 ± 31.0	80.7 ± 26.6		
Amount of fruits	863.2	679.7	936.7	587.4		
Leaves	257.7 ± 25.1	60.9 ± 9.6	263.0 ± 32.0	38.3 ± 5.5		
Stem	642.8 ± 35.8	302.2 ± 21.9	819.5 ± 73.5	225.6 ± 30.5		
Root	137.7 ± 17.1	30.5 ± 8.8	119.9 ± 14.4	26.3 ± 4.6		
Whole plant	1901.4	1073.2	2139.1	877.5		

	21 DAT			
	Control	K deficiency		
Upper leaves	27.9 ± 0.12	3.8 ± 0.02		
Middle leaves	120.3 ± 0.42	11.53 ± 0.05		
Lower leaves	97.74 ± 0.41	21.67 ± 0.11		

Upper leaves = 19th and more leaves

Middle leaves = 13th ~ 18th leaves

Lower leaves = 1st ~ 12th leaves

**Table 3.** The effect of K deficiency on  $^{13}\text{C}$  atom % excess in various part of tomato plants at different times after treatment.

Plant parts	7 DAT		14 DAT	
	Control	K deficiency	Control	K deficiency
Fed leaf	0.629 ± 0.048	0.880 ± 0.056	1.250 ± 0.089	1.327 ± 0.096
Other leaves	0.005 ± 0.000	0.004 ± 0.000	0.003 ± 0.000	0.002 ± 0.000
Fruits	0.248 ± 0.016	0.155 ± 0.009	0.080 ± 0.022	0.060 ± 0.013
Stem	0.032 ± 0.002	0.018 ± 0.002	0.035 ± 0.005	0.023 ± 0.002
Root	0.029 ± 0.002	0.026 ± 0.007	0.068 ± 0.017	0.015 ± 0.007

Values are given as average ±SEM.

**Table 4.** The effect of K deficiency on amount of  $^{13}\text{C}$  in various part of tomato plants at different times after treatment.

Plant parts	7DAT				14DAT			
	Control		K deficiency		Control		K deficiency	
Fed leaf	5468 ±	337	4637 ±	770	8111 ±	857	8247 ±	1243
Other leaves	426 ±	24	291 ±	41	220 ±	9	123 ±	20
Fruits	7217 ±	679	5056 ±	1105	5985 ±	321	3476 ±	853
Stem	4355 ±	166	2146 ±	331	4216 ±	620	2683 ±	260
Root	942 ±	54	774 ±	206	1898 ±	468	516 ±	263
Whole plant	18408 ±	1206	12904 ±	1482	20431 ±	1787	15045 ±	2062

Values are given as average ±SEM.



**Fig.1.** Tomato fruit diameter was measured using a shrinkage type micro-displacement detector.

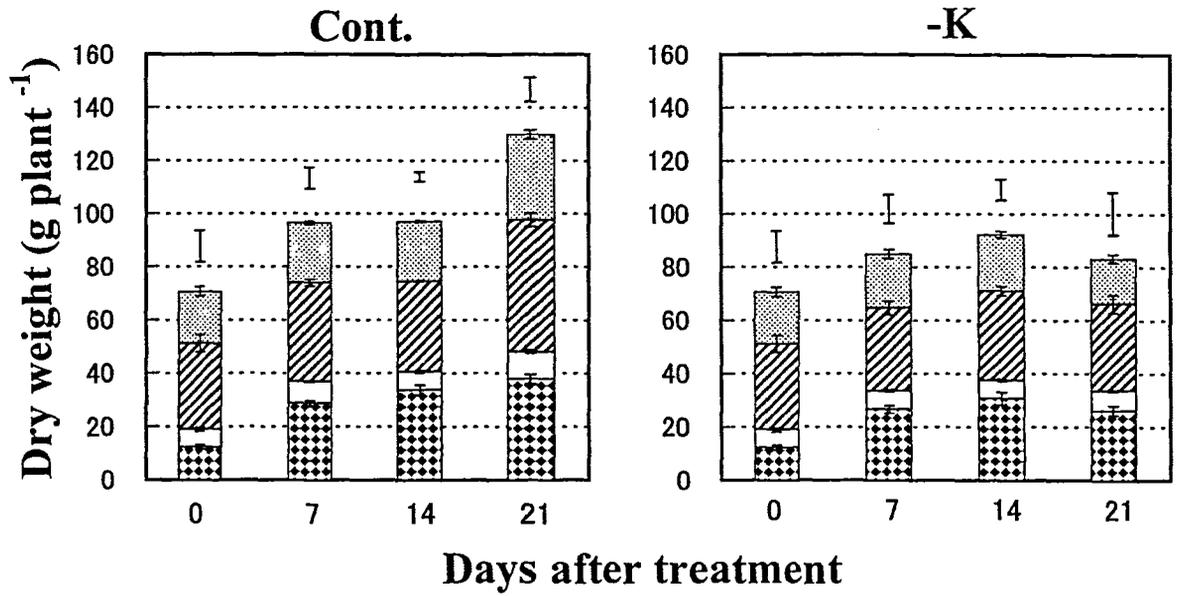
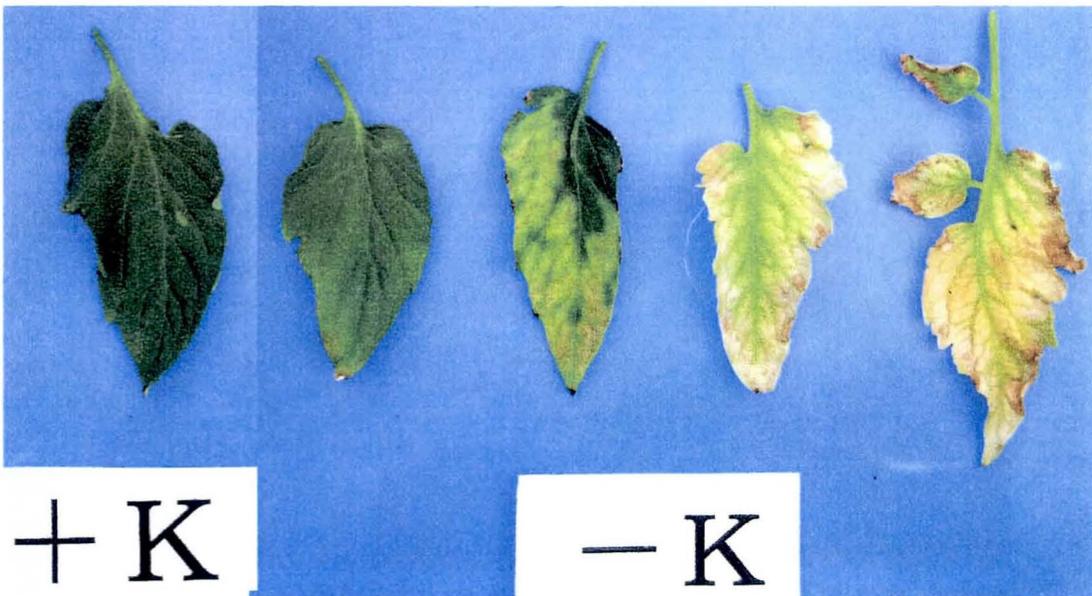
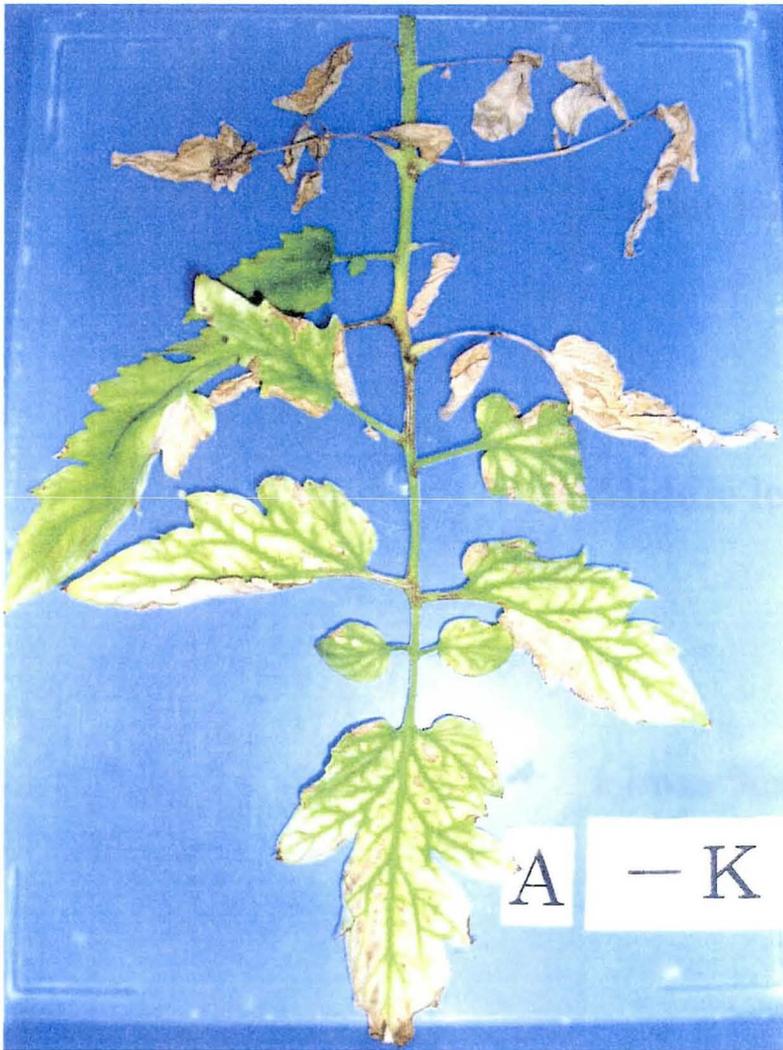


Fig.2. The effect of K deficiency on dry weight of tomato plant organs. 0: Initial of treatment; Cont.: control; -K: K deficiency. Vertical bars denote SEM for whole plant weight and each organ weight. Fruit (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted).



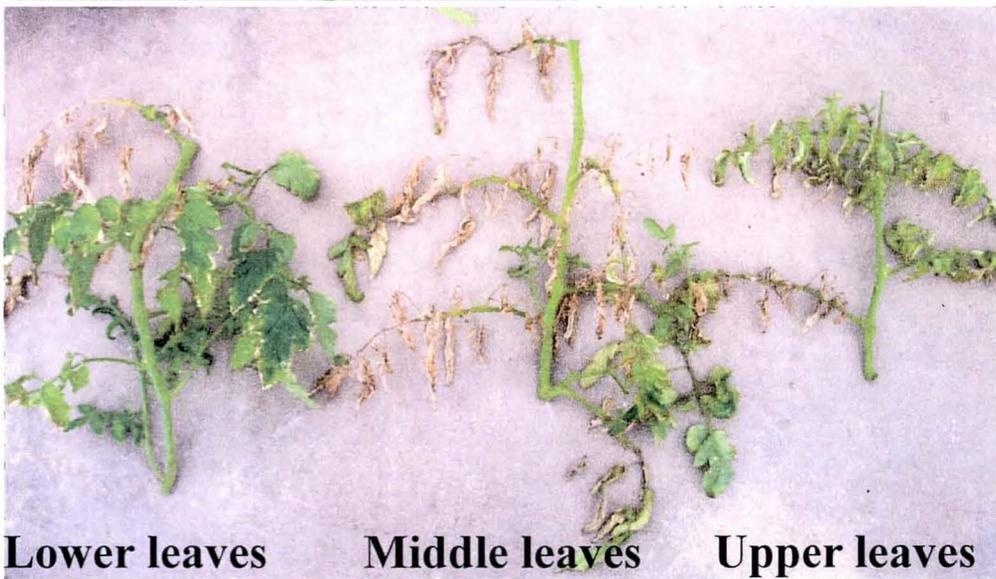
**Fig.3.** The symptom of K deficiency on leaves of tomato plants. Different influence was observed in a leaf of tomato plant.



**Upper leaves**

**Middle leaves**

**Lower leaves**



**Lower leaves**

**Middle leaves**

**Upper leaves**

**Fig.4.** The effect of K deficiency on leaves of tomato plants. The most serious influence comes out in the middle leaves. The lower and upper leaves were lightly affected by K deficiency.

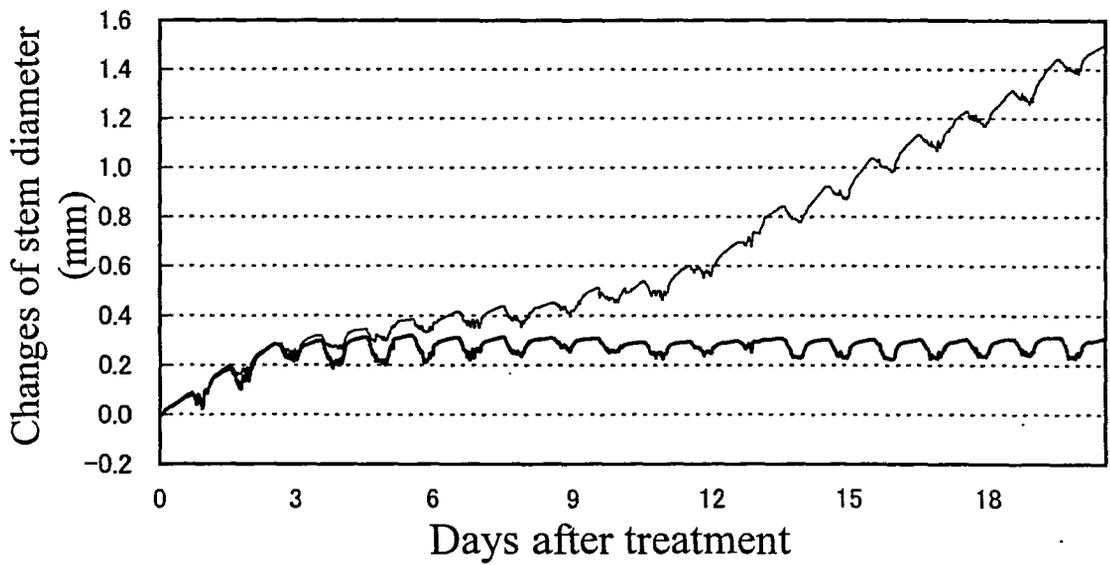


Fig.5. The effect of K deficiency on diurnal changes of stem diameter of tomato plant. Changes in stem diameter were monitored by shrinkage type micro-displacement detector. Data represent the means of two plants. Control (fine line), K deficiency (thick line).

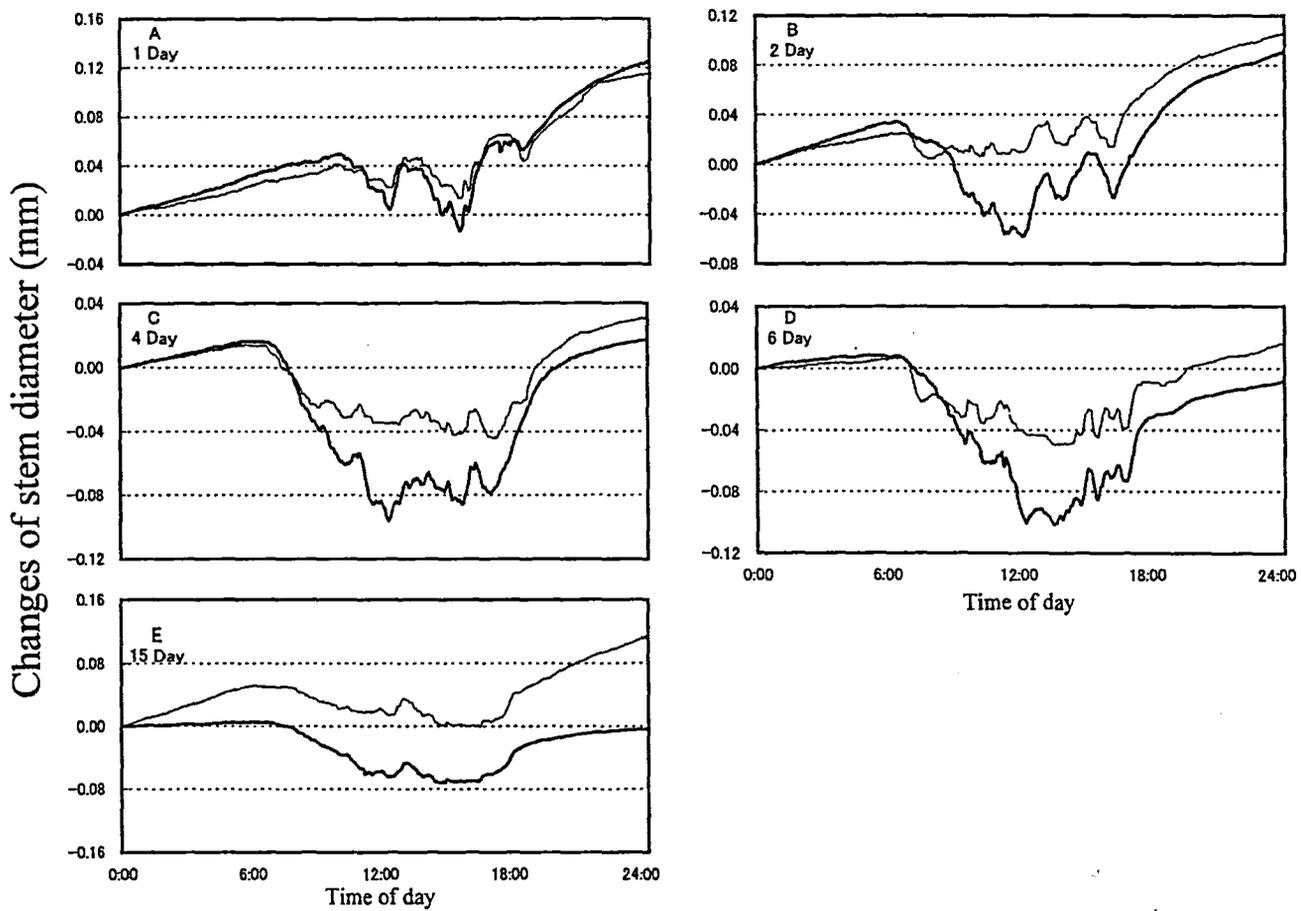


Fig.6. The effect of K deficiency on diurnal changes of stem diameter of tomato plants. On each occasion, the diameter changes in both control and K deficient plants were recorded with reference to 'Zero change' at midnight (0:00 h). Control (fine line), K deficiency (thick line).

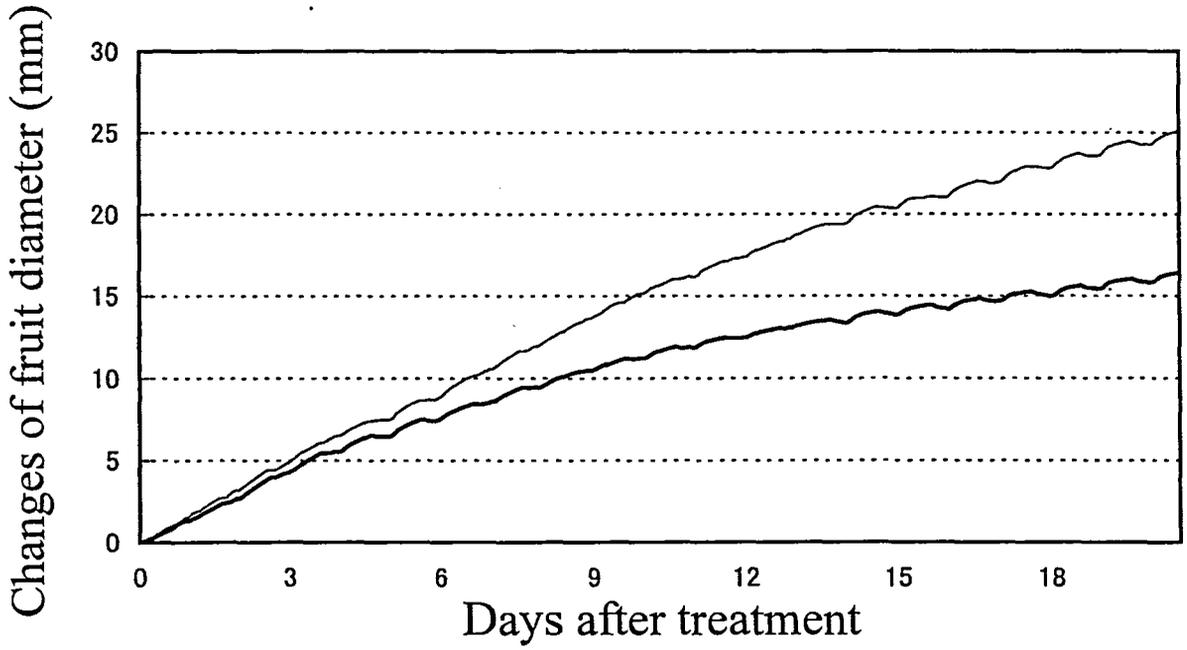


Fig.7. The effect of K deficiency on changes in fruit diameter in tomato. Changes in fruit diameter were monitored as described in Fig.1. Control (fine line), K deficiency (thick line).

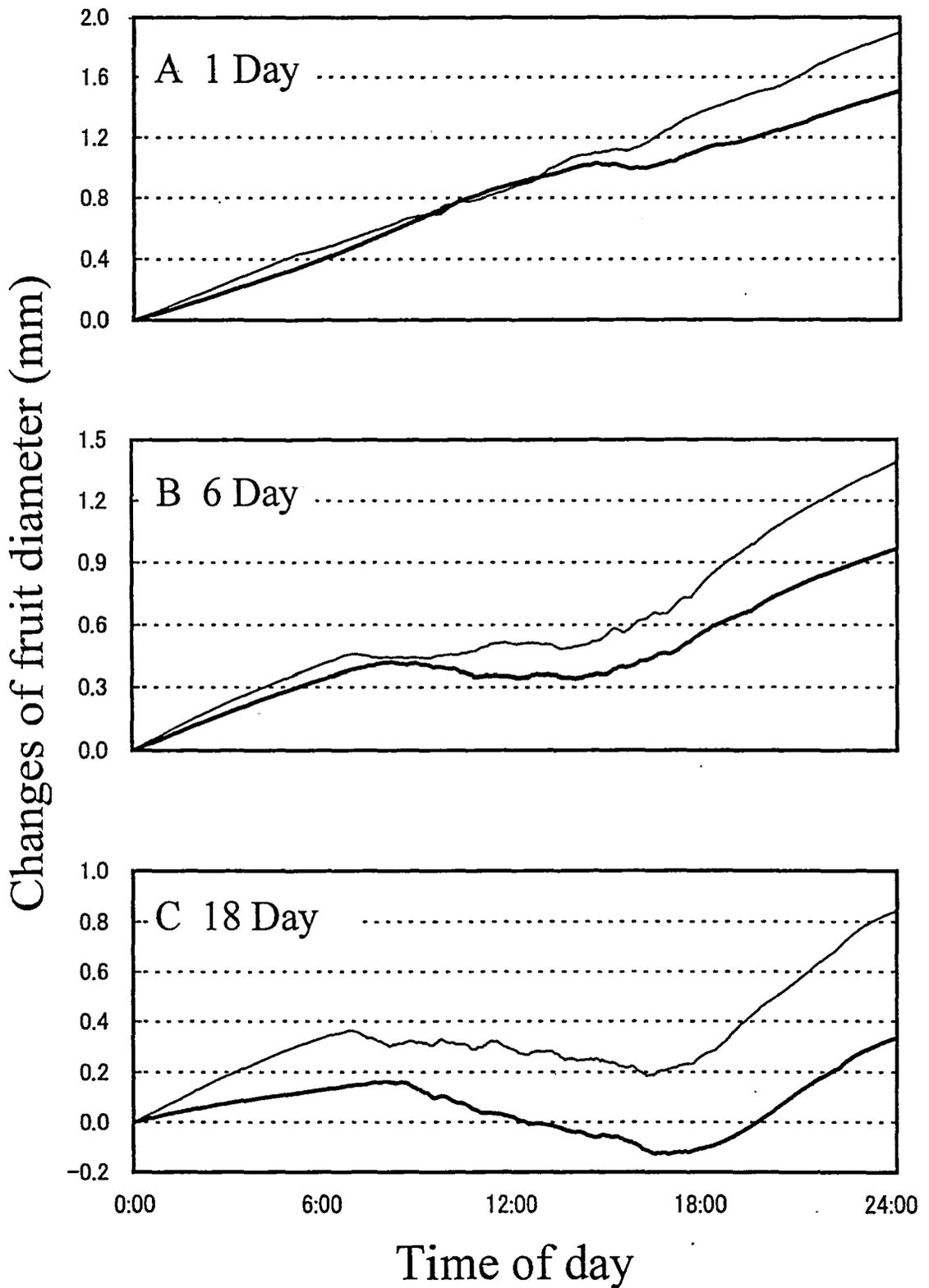


Fig.8. The effect of K deficiency on diurnal changes of fruit diameter of tomato plants. On each occasion, the diameter changes in both control and K deficient plants were recorded with reference to 'Zero change' at midnight (0:00 h). Control (fine line), K deficiency (thick line).

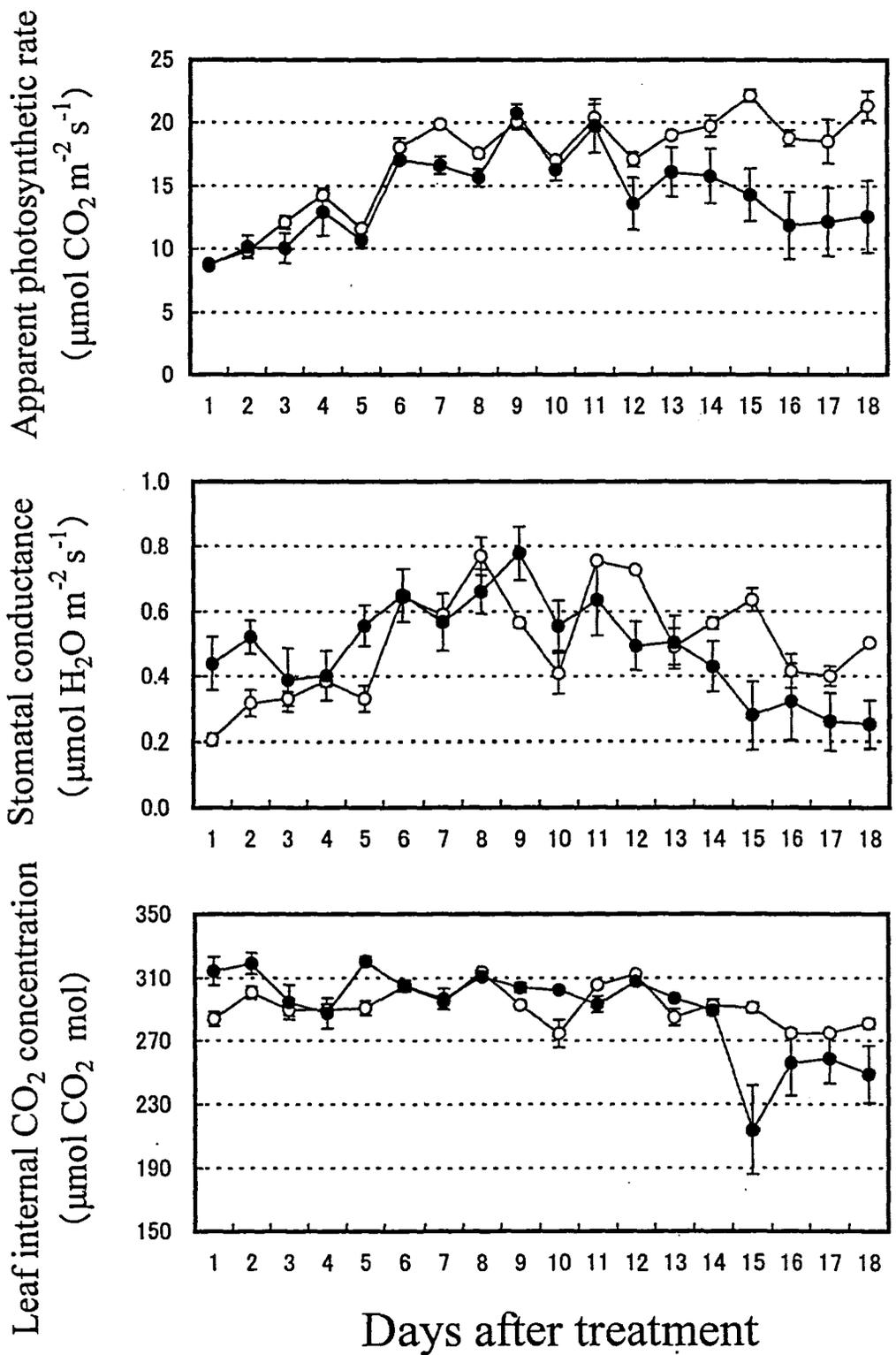


Fig.9. The effect of K deficiency on apparent photosynthetic rate, stomatal conductance and leaf internal  $\text{CO}_2$  concentration of the leaf immediately below the first truss of tomato. Control (white circle), K deficiency (black circle). Vertical bars denote SEM for each value.

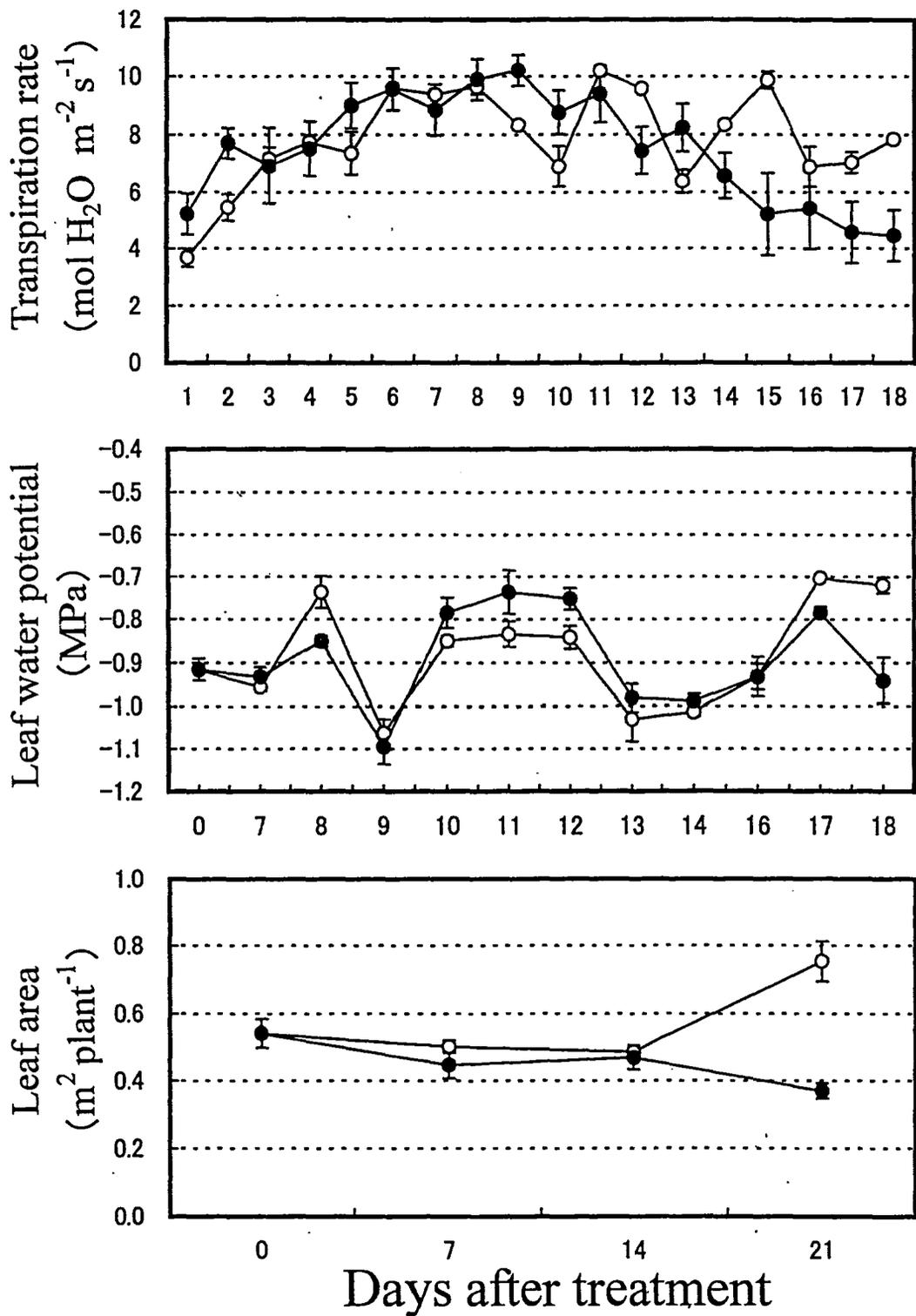


Fig.10. The effect of K deficiency on transpiration rate, leaf water potential and leaf area. Control (white circle), K deficiency (black circle). Vertical bars denote SEM for each value.

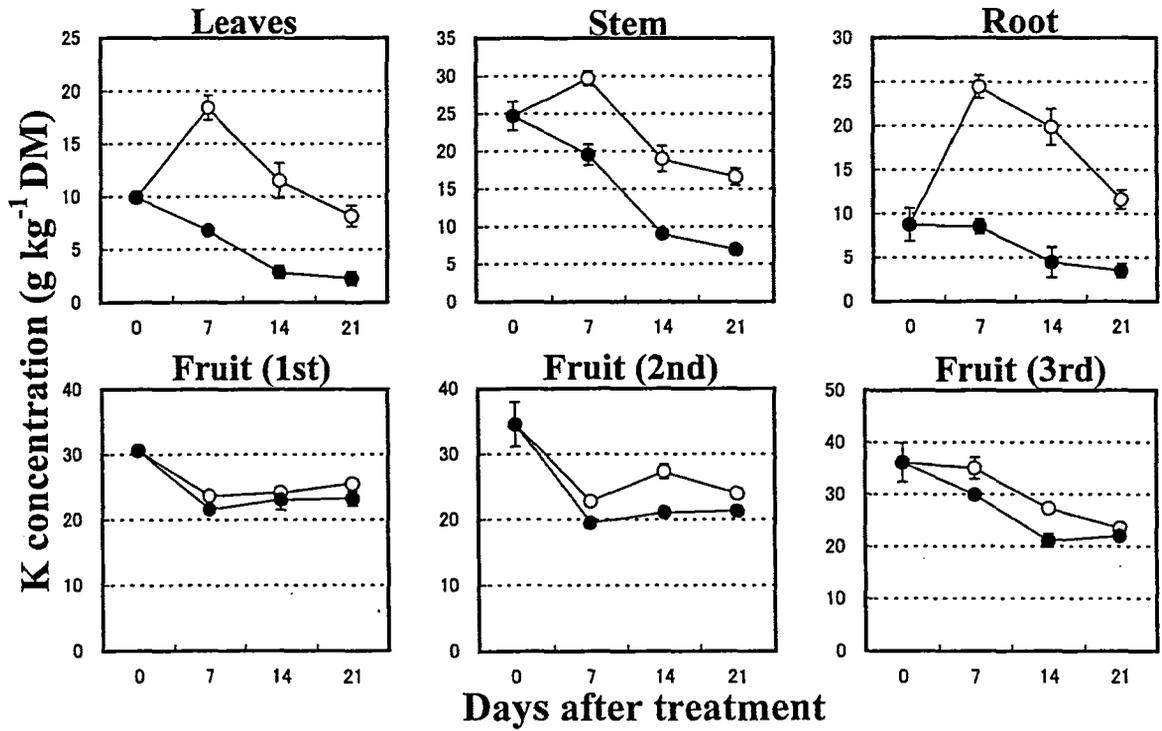


Fig.11. The effect of K deficiency on K concentration in various parts of tomato plants at 0, 7, 14 and 21 d after treatment. Control (white circle), K deficiency (black circle). Vertical bars denote SEM for each value. Fruit (1st): The lowermost fruit of the truss in tomato plant; Fruit (2nd): The middle fruit of the truss in tomato plant; Fruit (3rd): The uppermost part of fruit of the truss in tomato plant.

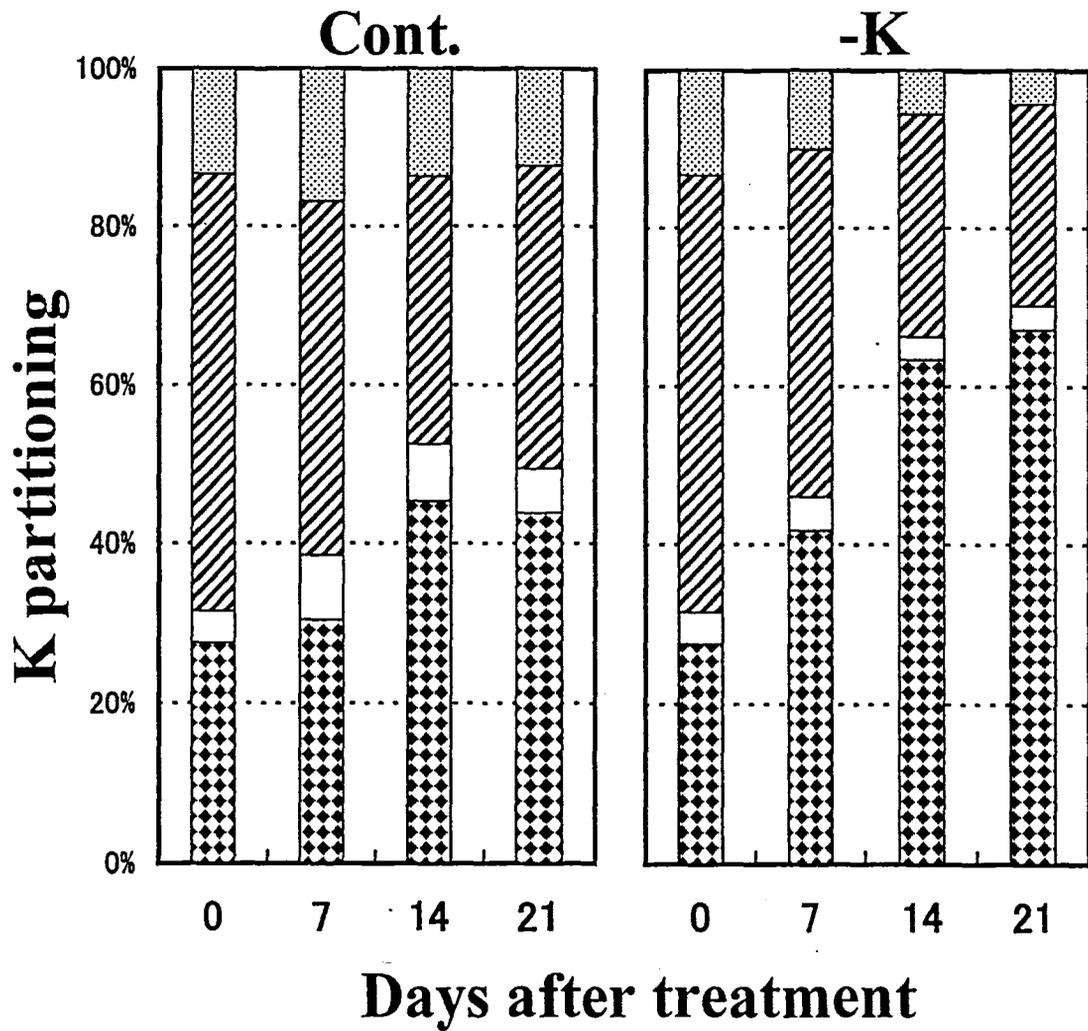


Fig.12. The effect of K deficiency on K partitioning among various parts of tomato plant at 0, 7, 14, and 21 DAT. 0: Initial of treatment; Cont.: control; -K: K deficiency. Fruit (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted).

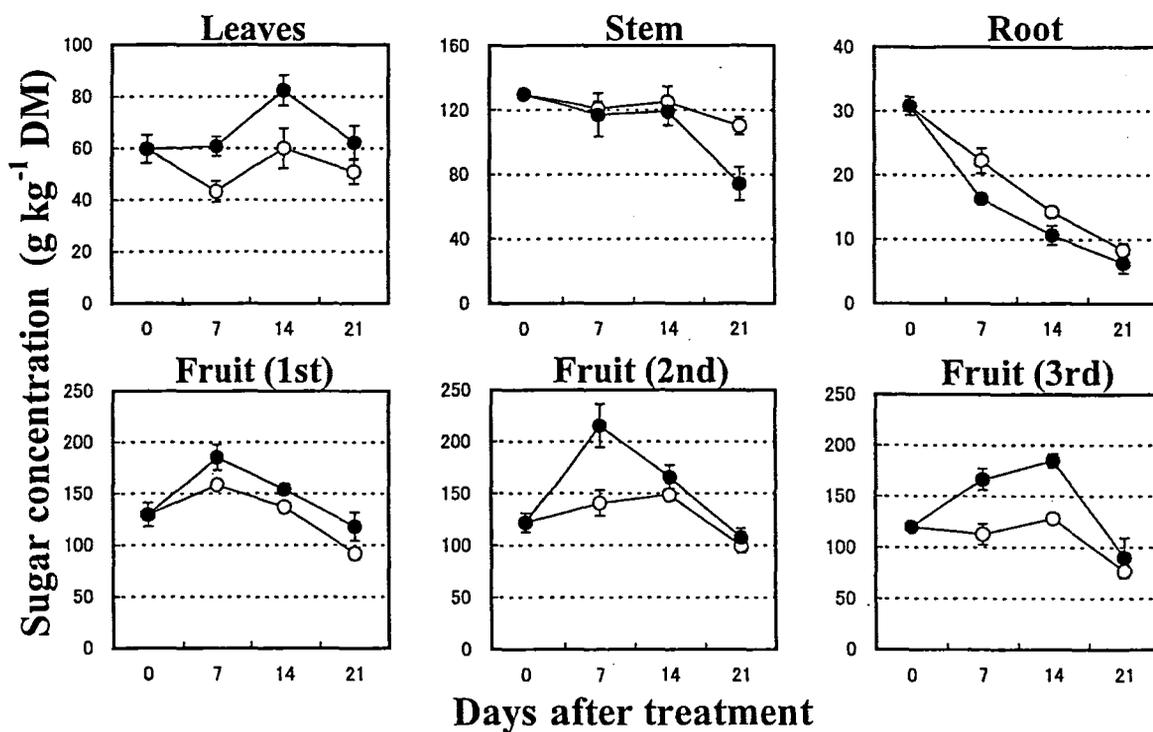


Fig.13. The effect of K deficiency on sugar concentration in various parts of tomato plants at 0, 7, 14 and 21 d after treatment. Control (white circle), K deficiency (black circle). Vertical bars denote SEM for each value. Fruit (1st): The lowermost fruit of the truss in tomato plant; Fruit (2nd): The middle fruit of the truss in tomato plant; Fruit (3rd): The uppermost part of fruit of the truss in tomato plant.

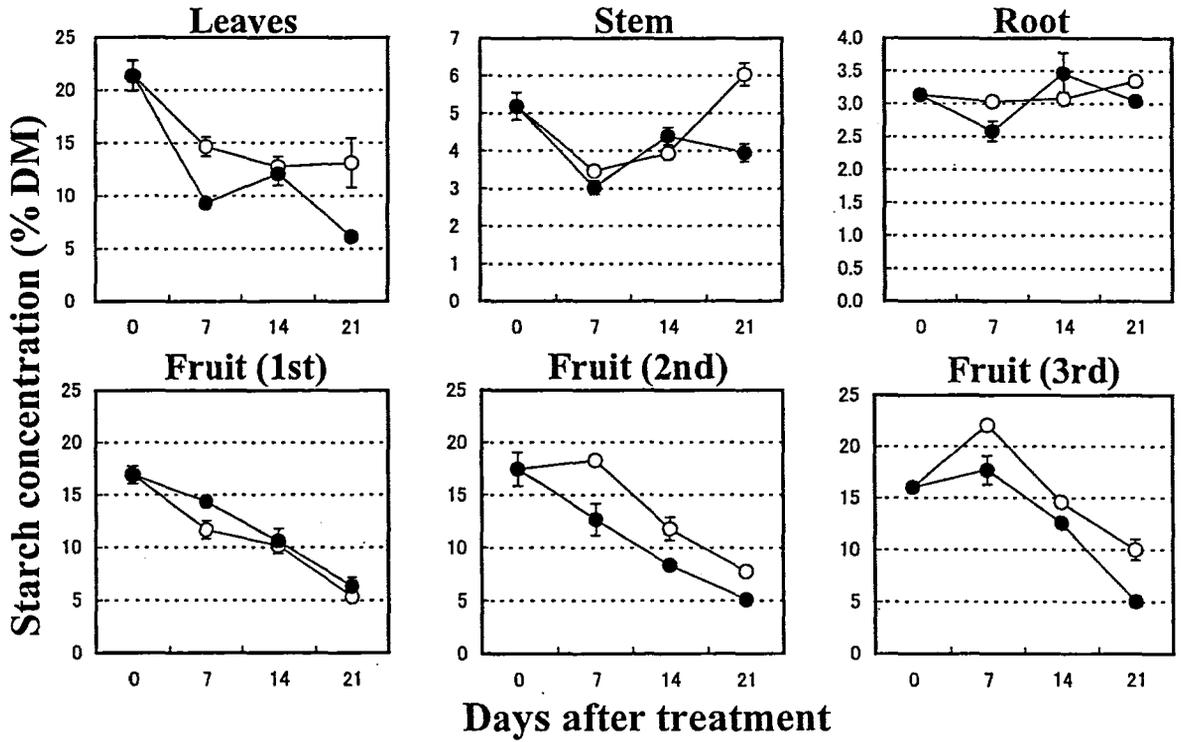


Fig.14. The effect of K deficiency on starch concentration in various parts of tomato plants at 0, 7, 14 and 21 d after treatment. Control (white circle), K deficiency (black circle). Vertical bars denote SEM for each value. Fruit (1st): The lowermost fruit of the truss in tomato plant; Fruit (2nd): The middle fruit of the truss in tomato plant; Fruit (3rd): The uppermost part of fruit of the truss in tomato plant.

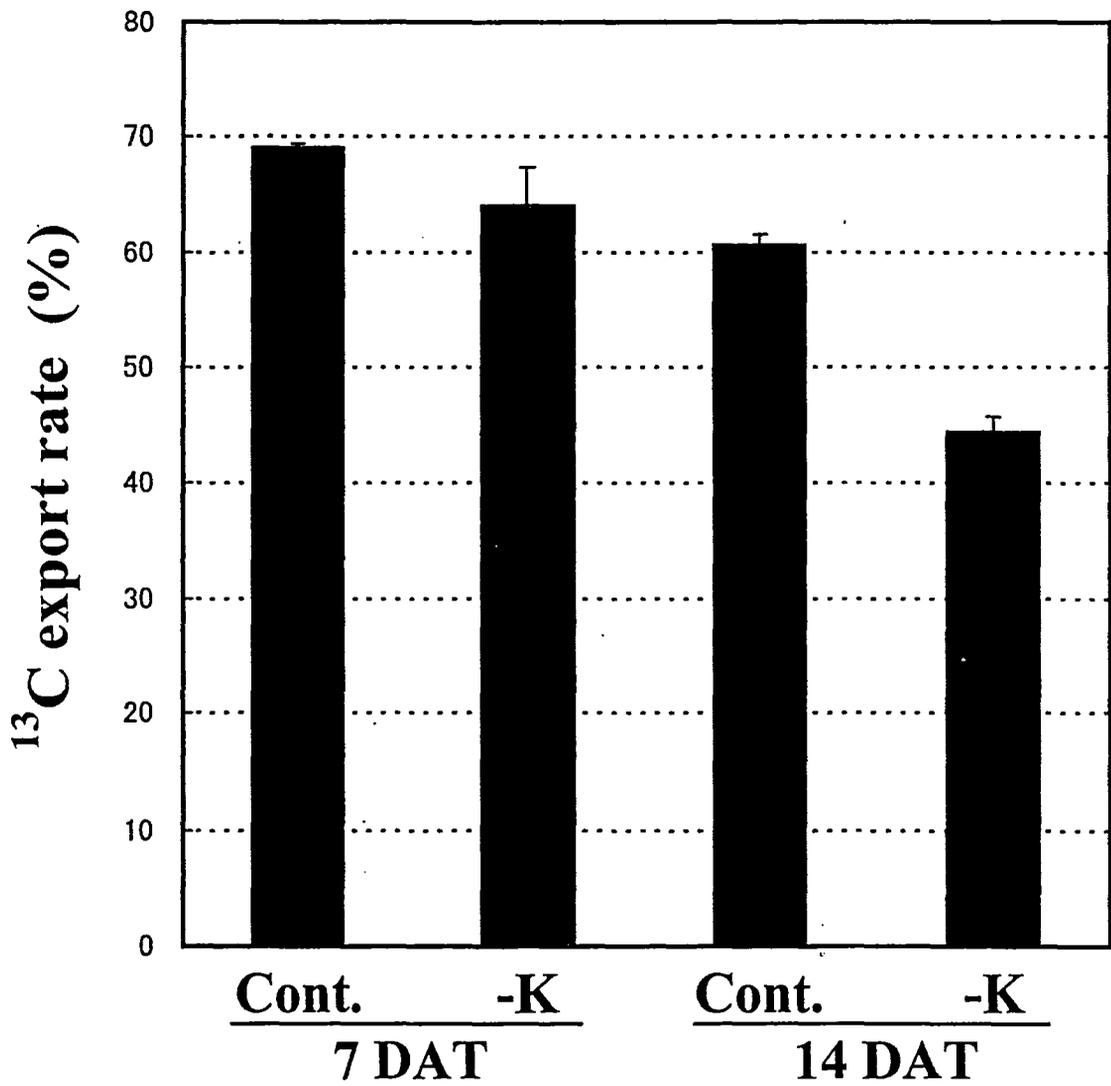


Fig.15. The effect of K deficiency on  $^{13}\text{C}$  export rate from the leaf immediately below the first truss of tomato at 7 and 14 days after treatment (DAT). Cont.: control; -K: K deficiency. Vertical bars denote SEM for each value.

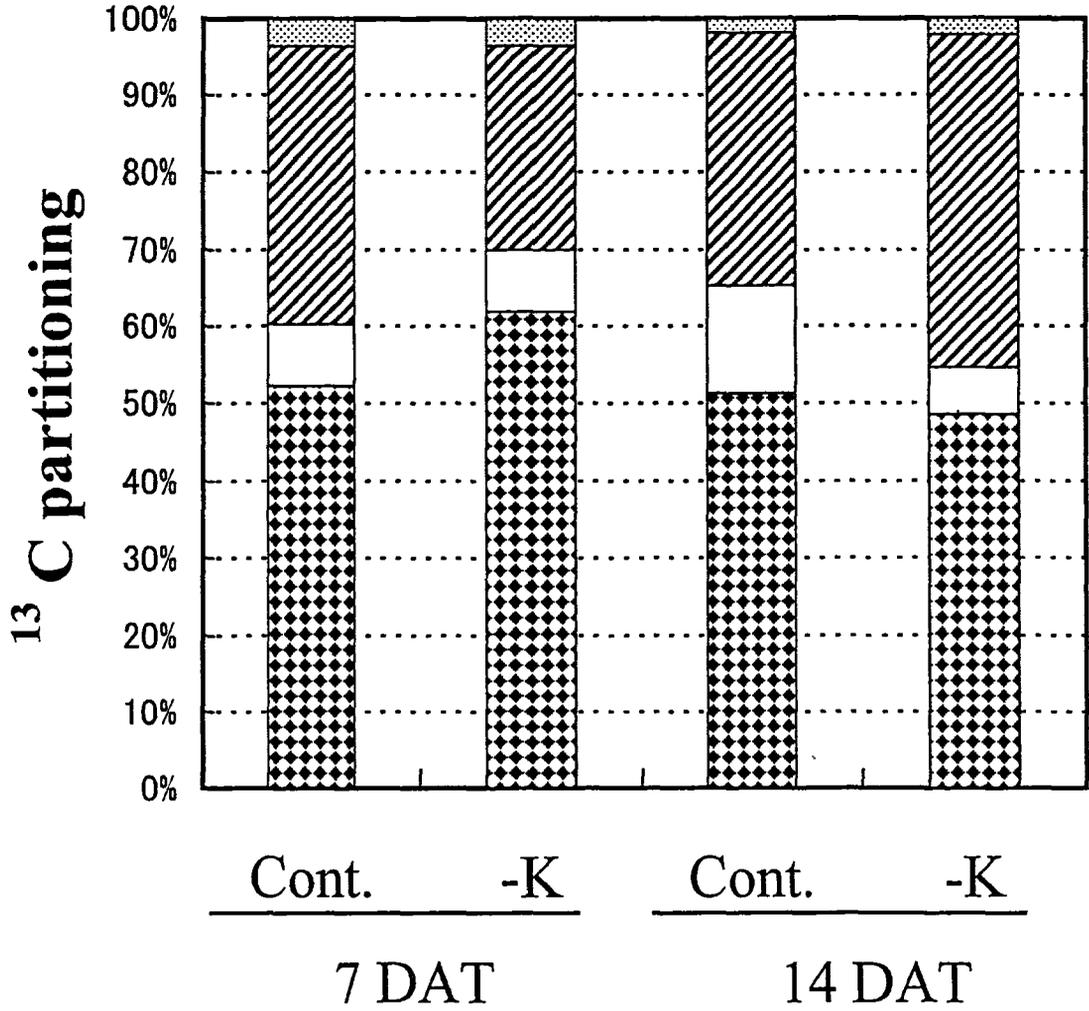


Fig.16. The effect of K deficiency on  $^{13}\text{C}$  partitioning among various part of tomato plant at 7 and 14 days after treatment (DAT). Cont.: control; -K: K deficiency. Among of fruits (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted).

## 考察

### ソース・シンク関係による K 欠乏の解析

K 欠乏は植物に対して様々な影響を与える。本研究ではトマトを用いてこの応答を光合成速度、果実・莖径肥大速度、 $^{13}\text{C}$  転流・分配状態、K 濃度・集積・分配状態などのパラメータから比較した。

これらのパラメータのうち、光合成速度をソース能の指標、果実・莖径肥大速度をシンク能の指標とすると、光合成速度は処理開始 12 日目から (Fig. 9)、果実肥大速度は 6 日目 (Fig. 7)、莖径肥大速度は 4 日目 (Fig. 6) から低下した。また葉面積の低下は 14 日目まで確認されておらず (Fig. 10)、光合成を行う葉面積の差がソース能を左右する要因ではないことを示唆した。以上の結果から K 欠乏では、シンク能が最初に阻害を受け、そのフィードバック阻害により光合成能が低下し、ソース能が抑制されることにより果実生産能の低下を招くと推察される。

### シンク能低下と K 欠乏

K 欠乏によって果実の肥大速度は処理 6 日目から低下し (Fig. 7, 8)、果実重は処理 7 日目より減少した (Table 1, Fig. 2)。果実径の肥大と果実乾物重の関係をみると、両者間には相関関係が認められ (対照区  $R^2=0.99$  処理区  $R^2=0.83$ )、果実径の肥大に伴って乾物重が増加し、この増加は K 欠乏によって鈍化した (Table 1, Fig. 2, 7)。また、果実径肥大速度は処理開始 6 日目から確認されているのに対し (Fig. 6)、果実に対する同化産物の分配は K 欠乏処理開始から 14 日目に大幅に低下しており (Fig. 15, 16)、果実径の肥大停止が果実への同化産物の分配低下に先行して発生する事が確認できる。

以上のことから、K 欠乏が果実 (シンク能) にもたらす影響の 1 つは、果実肥大速度の低下による光合成産物受容能力の低下であると推察される。シンク能はシンク容量とシンク

活性によって左右されることから、K 欠乏によって最初にシンク容量の拡大が抑制され、シンク能が低下すると考えられる。

## ソース能低下と K 欠乏

K 欠乏処理により、乾物重は処理 21 日目で有意に低下した (Table 1, Fig. 2)。これはソースの光合成能低下が主な原因と考えられる。K 欠乏による処理後 12 日目以降の光合成能の低下はサトウキビ (Hart 1969)、サトウダイコン (Terry and Ulrich 1973)、およびワタ (Bednarz et al 1998, Zhao et al 2001) の報告と一致する。また、葉面積は処理 14 日目までコントロール区と処理区の間で有意差は見られなかった (Fig. 10)。以上のことから、K 欠乏によるソース能の低下は処理 14 日目まで光合成速度により支配されている事が示唆される (ソース能=単位葉面積当たりの光合成×葉面積)。しかしながら、K 欠乏区において葉の K 濃度と光合成速度の間に正の相関は認められなかった (コントロール区  $R^2=0.64$ , K 欠乏区  $R^2=-0.78$ )。これらのことから、K 欠乏区の光合成速度 (ソース能) は K 濃度によって左右されているのではなく、葉の糖濃度上昇によるフィードバック阻害によって低下したと考えられる。

## K 欠乏によるトマト果実生産能の低下

K 欠乏は処理後 7 日目に同化葉から他の器官への  $^{13}\text{C}$  転流率を僅かに低下させた (Fig. 15)。この結果は、ジャガイモ (Haeder et al 1973)、サトウキビ (Hart 1969, 1970)、トマト (Haeder and Mengel 1972) の報告と一致する。

果実の肥大停止が確認された後も、光合成速度は処理 12 日目まで、転流率は処理 7 日目まで維持さ、同化産物の転流率、分配率は有意差が認められなかった。体積の増加が停止した後も光合成産物の転流は維持され続けたことにより、果実の糖濃度は上昇したと考え

られる。

果実の糖濃度が上昇した結果、フィードバック阻害により転流率が低下し、 $^{13}\text{C}$  同化産物は同化葉に多く蓄積され (Table 3, Fig. 16)、葉における糖濃度を上昇させた (Fig. 13)。K 欠乏が葉の糖濃度を上昇させる効果は、ワタ (Pettigrew 1999)、ダイズ (Huber 1984) においても確認されている。

他方で、光合成に関わる遺伝子発現に対して糖がシグナルとして働いている事が近年の報告から明らかになり (Kock 1996)、特に光合成系の遺伝子発現に対して糖が抑制効果を持つこと、光合成活性を低下させる事が指摘されている (Morcuende et al 1997, Felitti and Gonzalez 1998, Winder et al 1998)。本章の光合成速度の低下についても、このような糖の関与が考えられる。

本章の結果は K 欠乏処理によって最終的に光合成速度が低下し、乾物の蓄積が著しく低下すること示した。この光合成速度の低下は葉中の K 濃度が直接的に関与しておらず、むしろ K 欠乏がシンク活性を低下させた事によってフィードバック阻害が働き、その結果、葉に糖が蓄積されることによって光合成の低下を引き起こし、最終的に乾物重を大幅に低下させた事を示唆している。

## K の再転流とソース・シンク単位

葉身に対する K 欠乏の影響を見ると、処理 21 日目では中段葉は最も影響が大きく、ほとんどの葉が枯死していたのに対し、上段葉では黄色に変色する中でも葉脈付近に緑色を示し、下段葉では特に影響が見られなかった (Fig. 4)。このような葉身に対する影響の差は、トマトが持つソース・シンク単位によって発生していると考えられる。

トマトでは果房とそれに隣接する 3 枚の葉とがソース・シンク単位を構成しており、こ

これらの葉の光合成産物は主として単位内の花房の果実へ転流し、1 個体はこのソース・シンク単位の積み重ねとして理解できる (Tanaka and Fujita 1974)。ソース・シンク単位内は篩部によってソースとシンクが密接に関わり、単位外のソースやシンクからの物質の受け渡しは少ない。K は再転流し易い元素として知られており (Pujos and Morard 1997)、一般的に植物個体に着生する老化した葉から順次再転流される。しかしながら、本章では、K 欠乏処理を開始した時、第 1 果房はある程度肥大が完了しており葉からの再転流による K を必要とせず、第 2 果房は肥大が旺盛で多くの K を必要とし、第 3 果房は発育途上のため K を多量に必要とする時期ではなかった。このように、各ソース・シンク単位において果房の K の要求度に対する違いが、葉身に対する K 欠乏の影響の差として現われたと推察される。

## 器官直径による K 欠乏診断の可能性

K は植物の器官年齢の古いものから新しいものに積極的に再転流される(原 2002)。この再転流は特に生長途中の果実について顕著であり (Fig.12)、その結果、果実を指標とし、K 欠乏の診断は難しいことが指摘されている (Pujos and Morard 1997)。しかしながら、K 欠乏処理は果実径の肥大速度を処理 6 日目 (Fig. 7) から低下させた。この低下はソース能の低下 (処理後 12 日目) よりも早期に発生し、そのため、ソース能低下をきっかけとして発生する乾物生産の大幅な低下に大きく先行する (Table 1, Fig. 2, 7)。以上の点から、果実径を指標とした K 欠乏の診断は可能であると考えられる。

しかしながら、果実径を指標とする場合、その測定方法に問題があり、莖径による欠乏症状の診断がより実用的であると考えられる。具体的には、果実を栄養欠乏の指標とした場合では果実径の測定が難しく (Fig. 1)、僅かな振動に対しても大きなノイズを記録してしまう。一方、莖を指標とした場合では、果実径測定に対して振動に強く、莖とセンサーの堅牢な固定によって安定した測定が可能である。また、K 欠乏に対する莖径の応答は果実と 48 時間ほどの誤差しかなく (Fig.5, 7)、莖径肥大の停止として影響が観察できることから

簡便に診断が可能であると考えられる。

以上から、茎径の情報から K 欠乏の早期診断実現の可能性が考えられる。

## 第3章

**K** 欠乏が栄養生長期のトマトに  
与える影響

～ソース・シンク関係による解析～

## 緒論

K 栄養は収量と密接に関わっている。第 2 章では、果実生産期のトマトを用いて K 欠乏による影響をソース・シンク間での同化産物および K の分配に注目して調査を行った。一方、栄養生長期においても K は重要な役割を果たしている。特に栄養性長期の生長は果実肥大期の基盤を形成するために重要であり、K 欠乏による生長阻害について、これまでも詳細な調査がなされている (Wall 1940, Lucas 1968)。

## 栄養生長期とソース・シンク関係

しかしながら、栄養生長期における K の至適な濃度について、必ずしも十分に解明されていない。例えば、これらの研究がなされた時代には、シンク能を非破壊・連続的に評価するための指標が無く (Sheriff 1976)、ソース能の指標とされる光合成速度を測定するためにも大掛かりな装置や、植物体の採取や破壊が必要であり (Tsunno and Fujise 1965)、同一個体の非破壊連続的な測定の障害となった。このため、ソース、シンク、転流などを指標に、総合的にトマト幼苗の生理を論じることは困難であった。

また、果実肥大期では果実が主要なシンクであり、摘心や腋芽の除去によって他のシンクを取り除くため、葉をソースとして指標に用い易い。しかしながら、栄養生長期においては葉、莖、頂芽、根など生長中の部位は全器官でシンク能を示し、葉では展開が完了した小葉から順次ソースとしての性質を増してゆく。このように、ソース・シンク関係が器官生長の進展に伴って明らかとなる中で、K 欠乏が乾物生産に与える影響は明確にされるに至っていない。

## 幼植物に対する歪ゲージ式変位計の有効性

歪ゲージ式変位計をはじめ、莖径を調査する手法は主に樹木について行われてきた (Ito et

la 2002, Daudet et al 2005, Sevanto 2002, 2008)。これは、木質化した茎部は機器の設置が容易である事が主な理由である。反面、この機器は水分を多く含む組織や軟弱な組織に対しては測定精度が低下する。例えば、カキとトマトの果実を比較した場合、水分含有率の低いカキでは、茎径と同様に昼夜の日射量変化による径変動が明確に示されるのに対し (Fujita et al 2003a)、トマトではこの変動が明確ではない (Fujita et al 2003b)。このような現象は茎径に対しても当てはまると考えられる。トマトの場合、果実肥大期においては茎の木質化が確認され、茎径の測定には適していることが判明している (Fujita et al 2003b)。一方、幼植物では茎は木質化しておらず、歪ゲージ式変位計を用いた連続的な茎径の測定には適するか否かは不明である。

このような背景を踏まえて本章では、従来の調査手法にソース・シンクの概念を加え、K 欠乏が栄養生長期のトマトに与える影響を調査した。本研究は、①ソース・シンク関係の概念から K 欠乏がトマト幼植物の生育を低下させるメカニズムを明らかにすること、②歪ゲージを用いることによってトマト幼植物の茎径診断の可能性を明らかにすることなどを主目的として実施する。

## 材料と方法

### 供試植物および栽培方法

供試植物は広島大学精密圃場内ガラス室の自然光条件下で栽培した。トマト（品種 桃太郎 8）をセルポットに播種し、育苗した苗を実験に用いた。播種後 20 日目にトマト苗を水耕栽培用バット（70L バット使用、エアレーション有り）に移植し、培養液（第 2 章材料と方法）を週 1 回交換し、1N 水酸化ナトリウムと 1N 塩酸を用いて pH を 5.8~6.2 へ 1 日 1 回調整した。なお、腋芽は随時取り除いた。

播種後 53 日目より K 欠乏処理を開始した。対照区の K 濃度を 40ppm とし、K 欠乏処理は培養液から K ( $K_2SO_4$  および KCl) を除いたものを 21 日間供試した。処理期間中の光合成有効放射は最大で  $1700 \text{ E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、気温および湿度はそれぞれ  $14\sim 35^\circ\text{C}$  および  $30\sim 85\%$  で推移した。

### 生育調査および供試試料採取

生育調査は K 欠乏処理後 0、4、8、12、19 日目に実施した。1 回の調査につき 4 個体を無作為に選び、草丈、根長を測定した後、各個体を生長点、葉身、葉柄および茎、根に仕分け、新鮮重を求めた。その後、自動面積計（AAM-9 型 林電光機械株式会社）を用いて葉面積を測定した。全てのサンプルは凍結乾燥機を用いて乾燥し、乾燥重量を求めた。その後サンプルは振動粉碎機（T1-100 型 HEIKO 社製）によって微粉碎し各測定に用いた。

### K の測定

K は炎光光度計を用いて測定した。K 欠乏処理後 0、4、8、12、19 日目に採取したサンプルを凍結乾燥し、得られたサンプル約 50mg 秤取し、硝酸・過塩素酸の混合溶液（3:1 v/v）によって分解した。その後、分解液を 50ml に希釈し炎光光度計（ANA-135 型 東京電光

株式会社)により測定した。

## 光合成速度、蒸散速度、気孔伝導度、葉内 CO<sub>2</sub>濃度の測定

### ①成葉の測定

携帯用光合成測定装置 (LI-6400 型 LICOR 社製) を使用し、光合成速度、蒸散速度、葉内 CO<sub>2</sub>濃度を測定した。測定は処理後 0, 3, 7, 12, 18 日目に 11:00~13:00 の間で行った。測定には、植物体の地際から上方へ数えて、第 5 葉目の先端小葉および複葉を用いた。

### ②幼葉の測定

携帯用光合成測定装置 (LI-6400 型 LICOR 社製) を使用し、光合成速度、蒸散速度、葉内 CO<sub>2</sub>濃度を測定した。測定は処理後 0, 3, 7, 12, 18 日目に 11:00~13:00 の間で行った。測定には、植物体の頂芽に最も近い、完全展開している葉の先端小葉を用いた。

それぞれの測定は、対照区と K 欠乏区の中からそれぞれ 5 個体を選出し、平均値を測定値とし、標準誤差を求めた。また測定環境は光合成有効放射 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、葉温 25°C、CO<sub>2</sub>濃度 380ppm で統一した。

## 茎径の測定

茎径は、処理開始 2 日前 (播種後 51 日目) より 21 日間に渡って測定した。歪みゲージ式変位計をトマトの地際より約 5cm 上位の茎に取り付けた。茎への変位計の取り付け方法は、直径が 3mm のゴムひもを用いて茎に固定し、次に茎とレバーの間にシリコンゴムチューブをバネとして挿入し、ピンチコックでレバーの位置を調整した (Fig. 17)。茎径は 12 秒に一回の頻度で記録し、収録したデータはデータロガー (DE-1000 型 NEC 三栄社製) を

經由してパーソナルコンピュータで自動収録した。また茎の生長にともなう歪みゲージセンサーをあらかじめ設置したピンチコックで適時調節した。歪みゲージセンサーの調節は4~5日に1度の割合で行った。

## <sup>14</sup>C 同化実験

<sup>14</sup>C 同化は K 欠乏処理後 3, 7, 12, 18 日目に行った。地際から 5 葉目の葉を透明なビニール袋で覆い、炭酸水素ナトリウム ( $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ ) に 40%濃度の乳酸を加えて  $^{14}\text{CO}_2$  を発生させ、自然光下で午前 10 時より 1 時間 30 分同化させた。<sup>14</sup>C 同化後 24 時間目に植物体を採取し、ただちに <sup>14</sup>C 同化葉、葉身、茎及び葉柄、根に仕分けした。その後、70°C で 7 日間通風乾燥し、振動粉碎機 (T1-100 型 HEIKO 社製) で微粉碎した。微粉碎した試料の <sup>14</sup>C 比放射能は液体シンチレーションカウンター (LSC-5100 型 ALOKA 社製) を用いて測定した。

## 結果

### 植物乾物重と水分含量

対照区および処理区で乾物重は経時的に増加した。加えて、K 欠乏処理により、処理区の植物体重は対照区を下回った (Table 5, Fig. 18)。

処理後 4 日目では植物体重に差異がみられなかったが、K 欠乏処理によって各器官への乾物分配率が変化した。具体的には、K 欠乏処理によって葉、茎の乾物重が減少し (対照区と比較して、葉で 92%、茎で 80%)、根では増加が見られた (125%)。処理 8 日目から 12 日目にかけて、K 欠乏区では個体重の増加が見られなかった。処理 19 日目では、K 欠乏によって対照区と比較して葉、茎、根で乾物重の低下が見られた (葉 : 65.5%、茎 : 54.9%、根 : 51.2%)。

水分含量は乾物重の変化とほぼ同じ傾向を示した (Table 6, Fig. 19)。K 欠乏区では処理 4 日目に根新鮮重の増加によって僅かに対照区を上回った。さらに、処理区では処理 8 日目～12 日目にかけて植物体重の増加が見られないにもかかわらず、水分含量は増加した。処理 19 日目では、K 欠乏によって根、葉、茎で水分含量低下が激しく、それぞれ対照区の 51.3%、54.9%、58%であった。

### 葉面積、草丈、根長および K 利用効率

葉面積は K 欠乏処理によって有意に減少した (Fig.20A)。処理 4 日目から処理区が対照区を下回り、この差異は処理期間の推移に伴って拡大した。処理開始 19 日目には対照区で 3858cm<sup>2</sup>、処理区で 2289 cm<sup>2</sup>となった。単位 K 量あたりの葉面積は、処理開始 8 日目より K 欠乏処理によって有意に増加し、この差を拡大しつつ推移した (Fig.20A)。処理最終日には対照区および処理区で約 25.1 および 69.7 cm<sup>2</sup> mg<sup>-1</sup> K であった。

草丈では K 欠乏処理による影響が見られなかった (Fig.20B)。処理最終日には対照区およ

び処理区でそれぞれ 114 および 112cm だった。単位 K 量あたりの草丈は、処理開始 8 日目より対照区と比較して有意に増加し、この差を拡大しつつ推移した (Fig.20B)。処理最終日には対照区で  $25.1 \pm 4.0 \text{ cm}^2 \text{ mg}^{-1} \text{ K}$ 、処理区で  $69.7 \pm 7.9 \text{ cm}^2 \text{ mg}^{-1} \text{ K}$  であった。根長は K 欠乏処理によって増加したが、処理最終日には有意差が認められなかった (Fig.20C)。根長は処理開始 8 日目で有意に増加し、この増加は 12 日目まで確認され、対照区で 83.7cm、処理区で 100.7cm だった。しかしながら、処理 19 日目では対照区、処理区間で差がみられなかった。単位 K 量あたりの根長は、処理開始 8 日目より対照区と比較して有意に増加し、処理 19 日目では対照区で  $1.8 \pm 0.3 \text{ cm mg}^{-1} \text{ K}$ 、処理区で  $9.7 \pm 1.7 \text{ cm mg}^{-1} \text{ K}$  となった (Fig.20C)。

## 茎径変化

茎径は、対照区、処理区ともに昼間の収縮、夜間の膨張を繰り返しながら肥大した (Fig.21)。また、K 欠乏によって処理開始 2 日目まで昼間の収縮を拡大し、夜間の肥大を促進した (Fig.22A)。その後、K 欠乏個体では処理開始 3 日目の夜間から肥大を停止する一方で、対照区では生長を維持した (Fig.22B)。対照区では茎径の生長停止が処理開始 6 日目から観察され (Fig. 21)、その後、処理開始 20 日目まで対照区と処理区間で一定の差を維持しつつ、緩やかな生長をみせた (Fig.22C)。

## 光合成速度、蒸散速度、葉内 CO<sub>2</sub> 濃度

### 1.成葉

成葉の光合成速度は、対照区および処理区で経時的に低下した。加えて、処理後 18 日目に K 欠乏によって有意に対照区の値を下回った (対照区:  $8.1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、処理区  $3.0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , Fig.23A)。

蒸散速度は処理開始 3 日目から K 欠乏処理によって低下し、その差を拡大しつつ推移し

た。処理最終日の蒸散速度は、対照区で約 4.79 および処理区で 1.57mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>であった (Fig. 23C)。

葉内 CO<sub>2</sub> 濃度は処理開始 7 日目に K 欠乏処理によって低下し、その差異を拡大しつつ推移した。処理最終日の蒸散速度は、対照区および処理区で約 311 および 281mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> だった (Fig. 23E)。

## 2.新葉

新葉の光合成速度は K 欠乏処理によって処理 6 日目より有意に低下した (Fig.23B)。この傾向は処理後 18 日目まで持続し、処理最終日の光合成速度は対照区および処理区で 18.3 および 9.4μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> であった。

蒸散速度は、処理開始 3 日目で処理区が対照区を上回り (対照区 : 4.12±0.33mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>、 処理区 : 5.19±0.27mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)、処理開始 7 日目から対照区が処理区を上回った。その後、対照区は処理区を上回りつつ推移し、処理最終日では対照区で 7.27mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>、処理区で 4.32mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> だった (Fig. 23D)。

葉内 CO<sub>2</sub> 濃度は対照区で処理 7 日目まで一時的に低下し (Fig.23F)、K 欠乏区では一定の値を保った。その後、対照区、処理区とも僅かに低下し、処理最終日で有意差は確認できなかった。

## K 濃度

K 欠乏処理によって全器官の K 濃度は著しく低下し、対照区を大きく下回った (Fig. 26)。茎では、K 欠乏区で処理開始 8 日目より K 濃度が低下し、この差は経時的に拡大した。同様の傾向は根および葉でもみられ、それぞれ処理開始 12 日目、19 日目に対照区の濃度を下回った。頂芽では、処理開始 4~8 日目にかけて K 欠乏区が対照区の濃度を上回り、12 日目

では差異が見られず、その後、19日目で対照区の濃度を処理区が下回った。

## <sup>14</sup>C 同化実験

<sup>14</sup>C 比放射能は同化葉で最も高く、ついで茎、頂芽と続き、葉で最も低かった。このような <sup>14</sup>C 比放射能の傾向は対照区、処理区ともに認められ、K 欠乏処理による影響は見られなかった (Table 7)。K 欠乏によって処理3日目に <sup>14</sup>C 転流率が低下し、対照区および処理区でそれぞれ 54%、48%であった。このような傾向は処理最終日まで持続し、処理開始 18 日目では対照区で 65.7%、処理区で 54.6%だった (Fig. 24)。

<sup>14</sup>C 分配率では、茎に最も多くの <sup>14</sup>C が分配され、この傾向は対照区および K 欠乏区で処理期間を通じて認められた (Fig. 25)。対照区では、頂芽、根およびその他の葉に分配される <sup>14</sup>C が増加し、茎への <sup>14</sup>C 分配率が低下した。処理区でも同様の傾向が確認されたが、茎への <sup>14</sup>C 分配率は対照区よりも高かった (Fig. 25)。

**Table 5.** The effect of K deficiency on dry weight of tomato plant organs.

		Dry weight (g plant <sup>-1</sup> )									
Days after treatment (DAT)	0 DAT		4DAT				8DAT				
			Control		K deficiency		Control		K deficiency		
Shoot apex	-	-	0.47 ± 0.03	0.45 ± 0.07	0.30 ± 0.05	0.30 ± 0.02					
Leaves	2.82 ± 0.25	3.85 ± 0.17	3.62 ± 0.25	6.09 ± 0.17	4.75 ± 0.38						
Stem	2.03 ± 0.17	3.57 ± 0.08	2.90 ± 0.22	5.98 ± 0.15	4.06 ± 0.26						
Root	1.03 ± 0.07	1.18 ± 0.08	1.50 ± 0.21	2.54 ± 0.18	1.85 ± 0.16						
Whole plant	5.88 ± 0.46	9.07 ± 0.26	8.47 ± 0.65	14.90 ± 0.24	10.96 ± 0.77						
		12 DAT				19 DAT					
		Control		K deficiency		Control		K deficiency			
Shoot apex		0.41 ± 0.06	0.23 ± 0.03	0.48 ± 0.08	0.43 ± 0.05						
Leaves		8.54 ± 0.90	4.51 ± 0.28	12.07 ± 0.70	7.91 ± 0.86						
Stem		8.49 ± 0.73	4.38 ± 0.25	13.14 ± 0.61	7.16 ± 0.48						
Root		3.28 ± 0.39	1.93 ± 0.23	4.16 ± 0.22	2.13 ± 0.07						
Whole plant		20.71 ± 1.98	11.04 ± 0.43	29.84 ± 1.09	17.62 ± 1.26						

Values are given as average ±SEM.

**Table 6.** The effect of K deficiency on water content of tomato plant organs.

Water content (g plant <sup>-1</sup> )										
Days after treatment (DAT)	0 DAT		4DAT				8DAT			
			Control		K deficiency		Control		K deficiency	
Shoot apex	-	-	-	-	-	-	1.6 ± 0.3	1.5 ± 0.1		
Leaves	18.1 ± 1.5	22.2 ± 0.5	21.6 ± 2.2	35.9 ± 1.8	26.9 ± 2.2					
Stem	32.1 ± 2.4	43.3 ± 1.0	37.1 ± 2.9	66.3 ± 3.4	48.4 ± 3.5					
Root	14.2 ± 1.3	14.0 ± 1.4	23.1 ± 4.3	31.7 ± 4.9	24.3 ± 2.6					
		12 DAT				19 DAT				
		Control		K deficiency		Control		K deficiency		
Shoot apex		2.5 ± 0.3	1.4 ± 0.2	2.5 ± 0.4	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.2	0.2
Leaves		43.5 ± 4.8	32.6 ± 2.0	70.3 ± 3.9	38.6 ± 3.3					
Stem		79.4 ± 7.0	61.3 ± 4.8	128.6 ± 6.2	74.6 ± 3.1					
Root		35.1 ± 3.9	26.5 ± 3.8	53.9 ± 3.8	27.7 ± 1.1					

Values are given as average ±SEM.

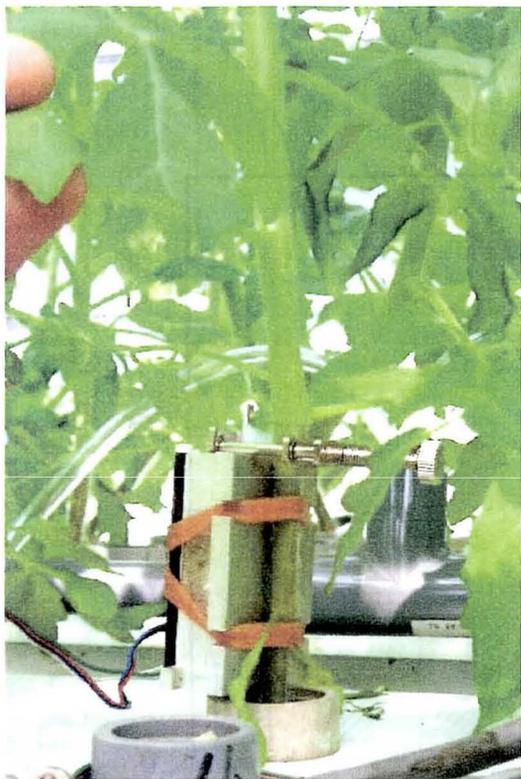
**Table 7.** The effect of K deficiency on  $^{14}\text{C}$  specific activity of tomato plant organs.

		$^{14}\text{C}$ specific activity(DPM mg <sup>-1</sup> DM)							
Days after treatment (DAT)	3DAT				7DAT				
	Control		K deficiency		Control		K deficiency		
Fed leaf	4391 ±	821	6441 ±	521	6520 ±	947	6668 ±	598	
Shoot apex	461 ±	64	481 ±	118	772 ±	236	747 ±	219	
Leaves	26 ±	6	70 ±	29	65 ±	11	79 ±	11	
Stem	1024 ±	161	968 ±	177	801 ±	79	845 ±	90	
Root	82 ±	24	92 ±	32	78 ±	21	97 ±	34	

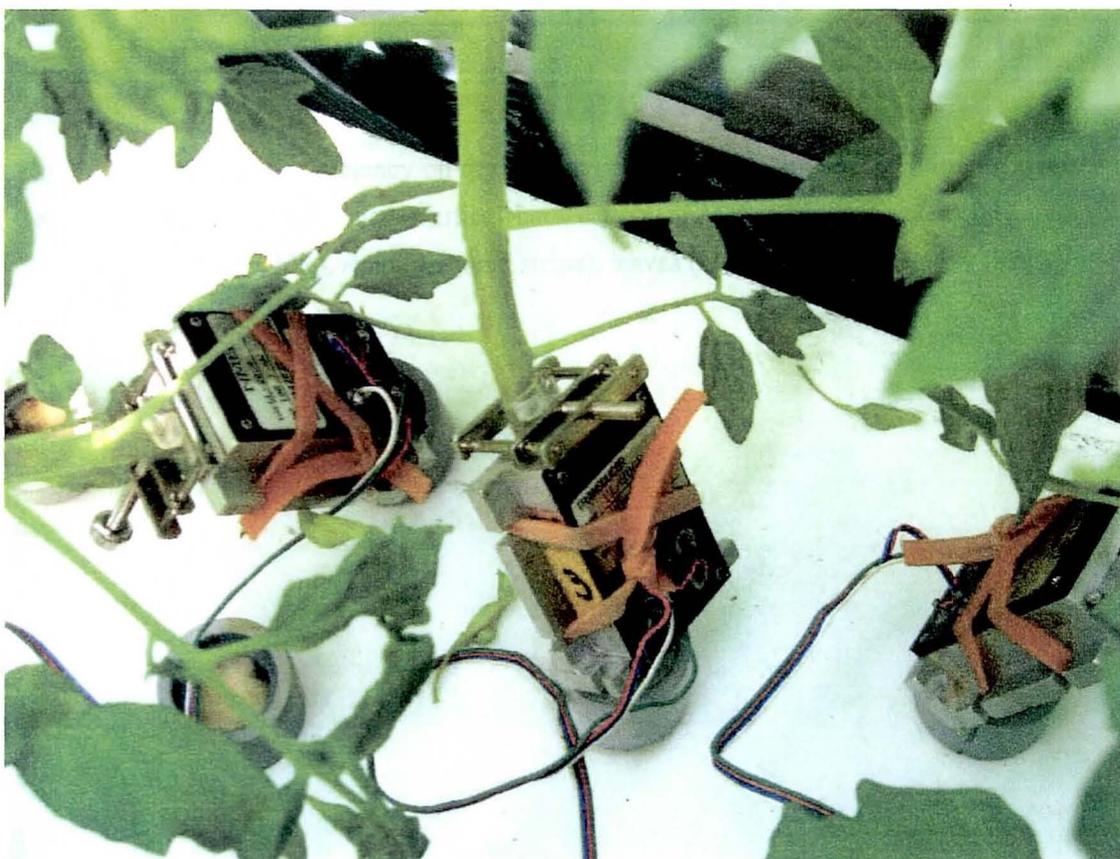
  

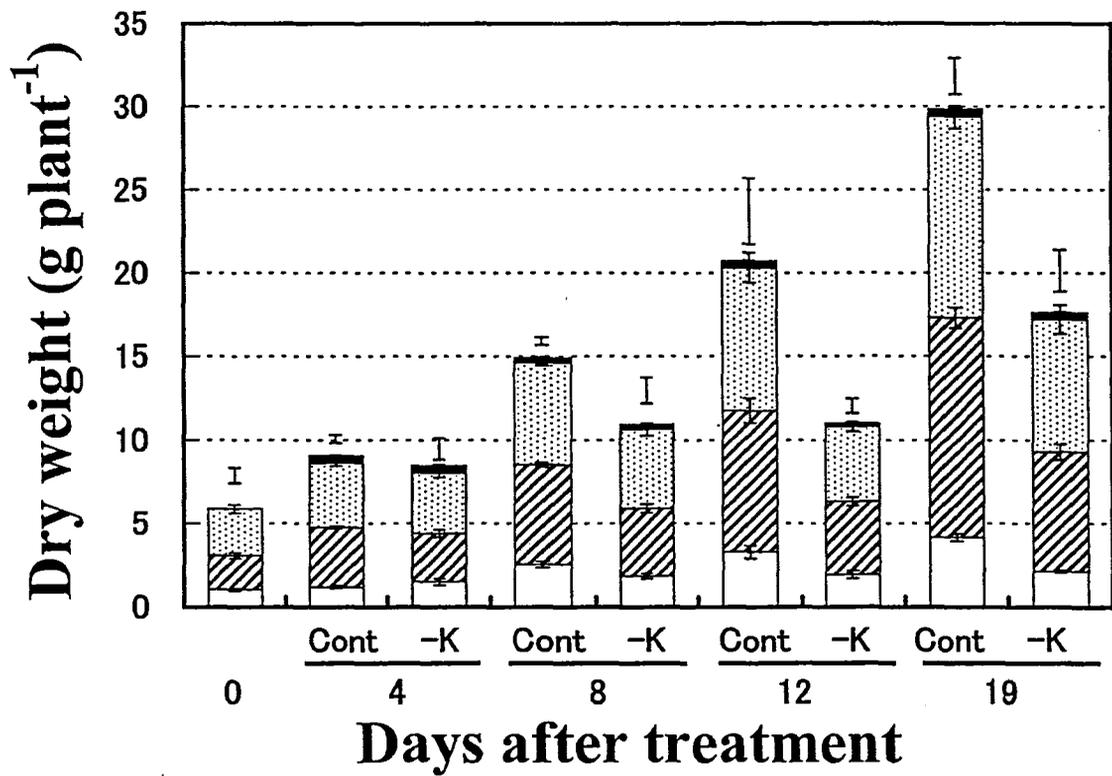
		12 DAT				18 DAT			
		Control		K deficiency		Control		K deficiency	
Fed leaf	427 ±	73	777 ±	159	654 ±	132	256 ±	64	
Shoot apex	148 ±	31	512 ±	96	261 ±	87	117 ±	45	
Leaves	4 ±	1	14 ±	2	17 ±	4	4 ±	1	
Stem	91 ±	11	123 ±	14	59 ±	6	34 ±	11	
Root	49 ±	23	30 ±	13	50 ±	13	14 ±	7	

Values are given as average ±SEM.



**Fig.17.** Stem diameter of tomato at vegetative stage was measured using a shrinkage-type micro-displacement detector.





**Fig.18.** The effect of K deficiency on dry weight of tomato plant organs. 0: Initial of treatment; Cont: control; -K: K deficiency. Vertical bars denote SEM for whole plant weight and each organ weight. Root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted) and shoot apex (black).

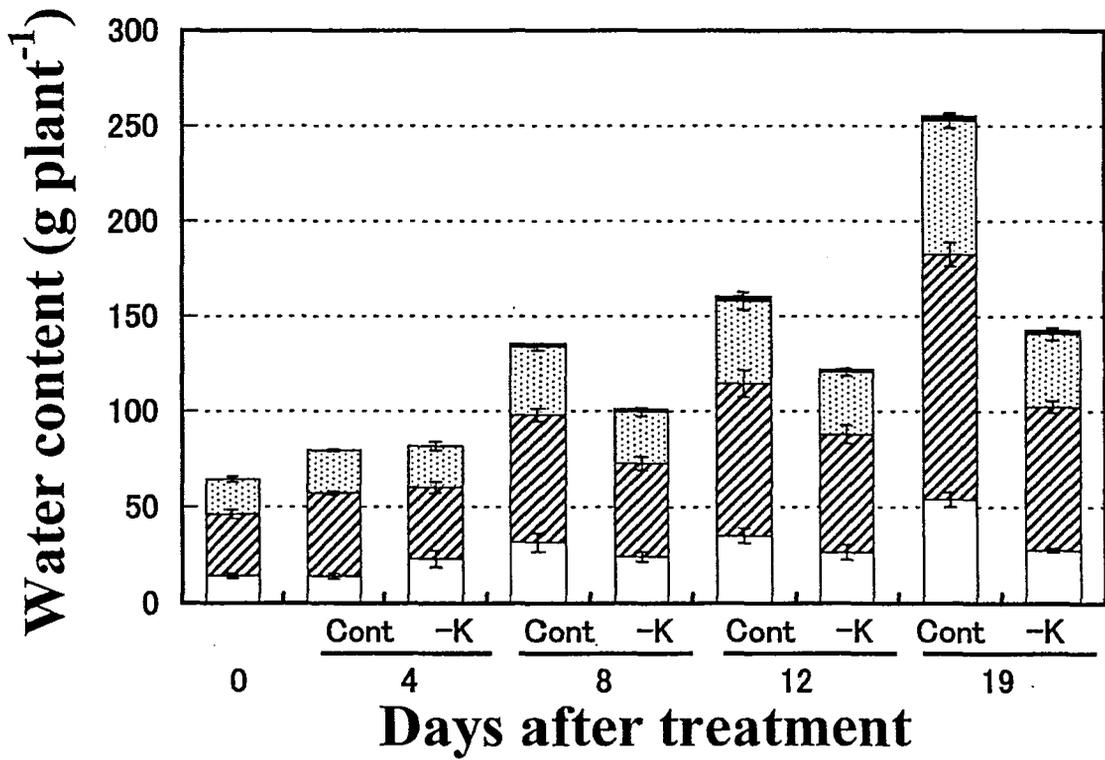


Fig.19. The effect of K deficiency on water content of tomato plant organs. 0: Initial of treatment; Cont: control; -K: K deficiency. Vertical bars denote SEM for whole plant weight and each organ weight. Root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted) and shoot apex (black).

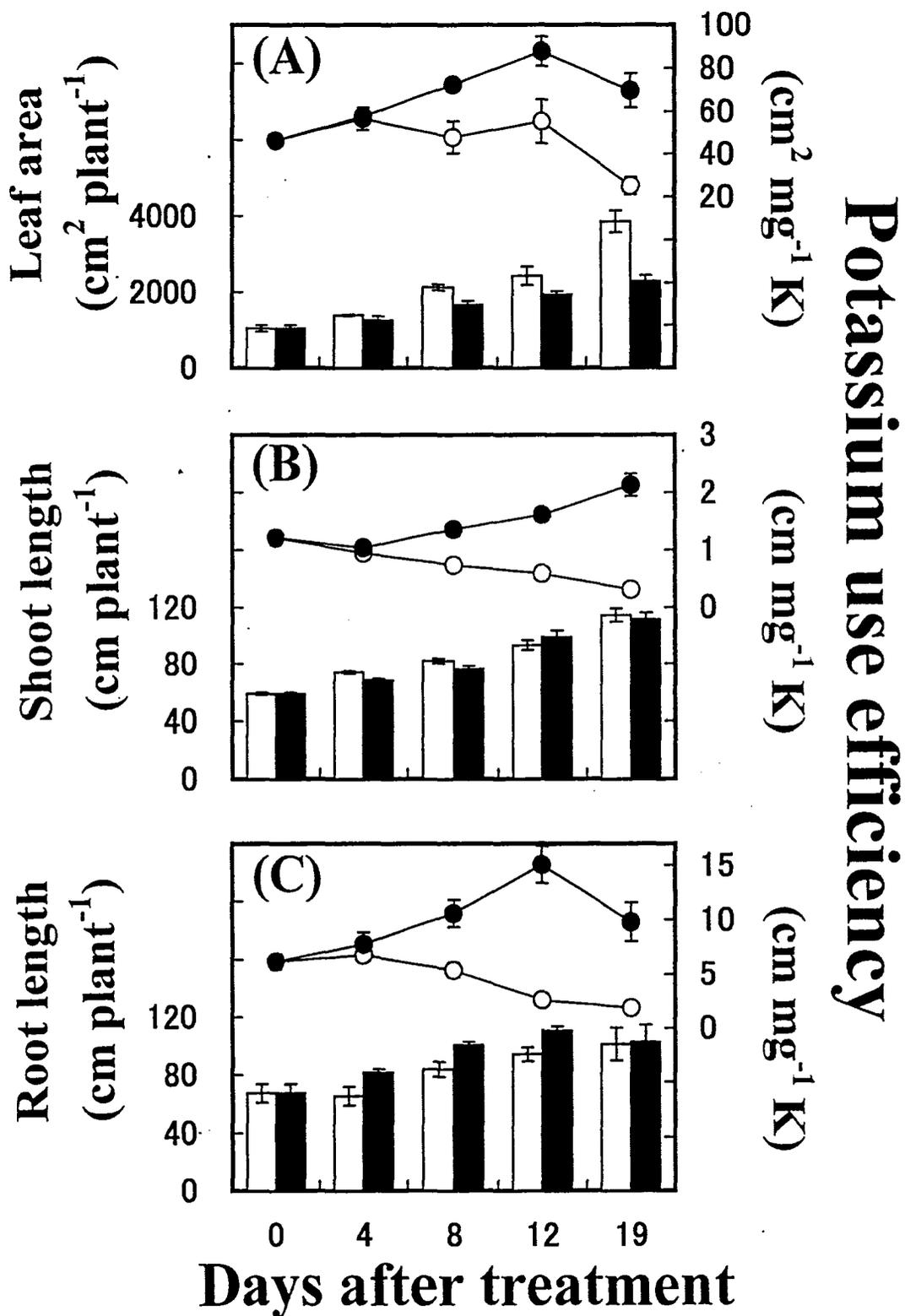


Fig.20. The effect of K deficiency on the leaf area, shoot and root length of tomato plants. Control (open bars), K deficiency (filled bars). Potassium use efficiency were showed by line plots. Control (open circles), K deficiency (filled circles). Data represent the means of four plants and SEM of the value.

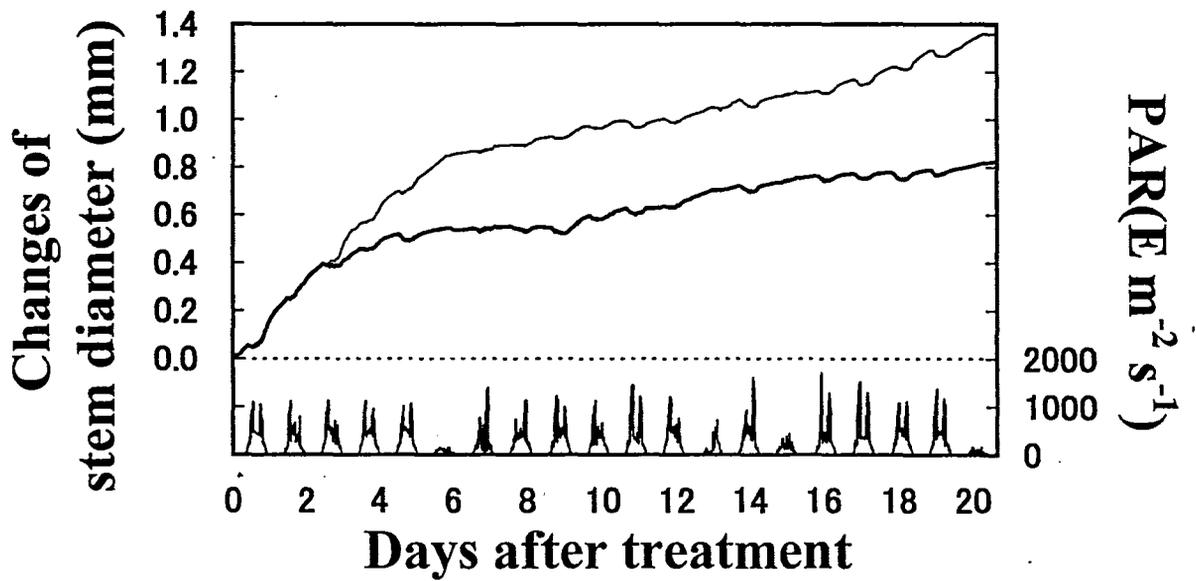


Fig.21. The effect of K deficiency on diurnal changes of stem diameter of tomato plants at the vegetative growth stage. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Photosynthetic active radiation (PAR) was monitored continuously during the experimental periods. Data represent the means of four plants. Control (fine line), K deficiency (thick line) and PAR (most bottom line).

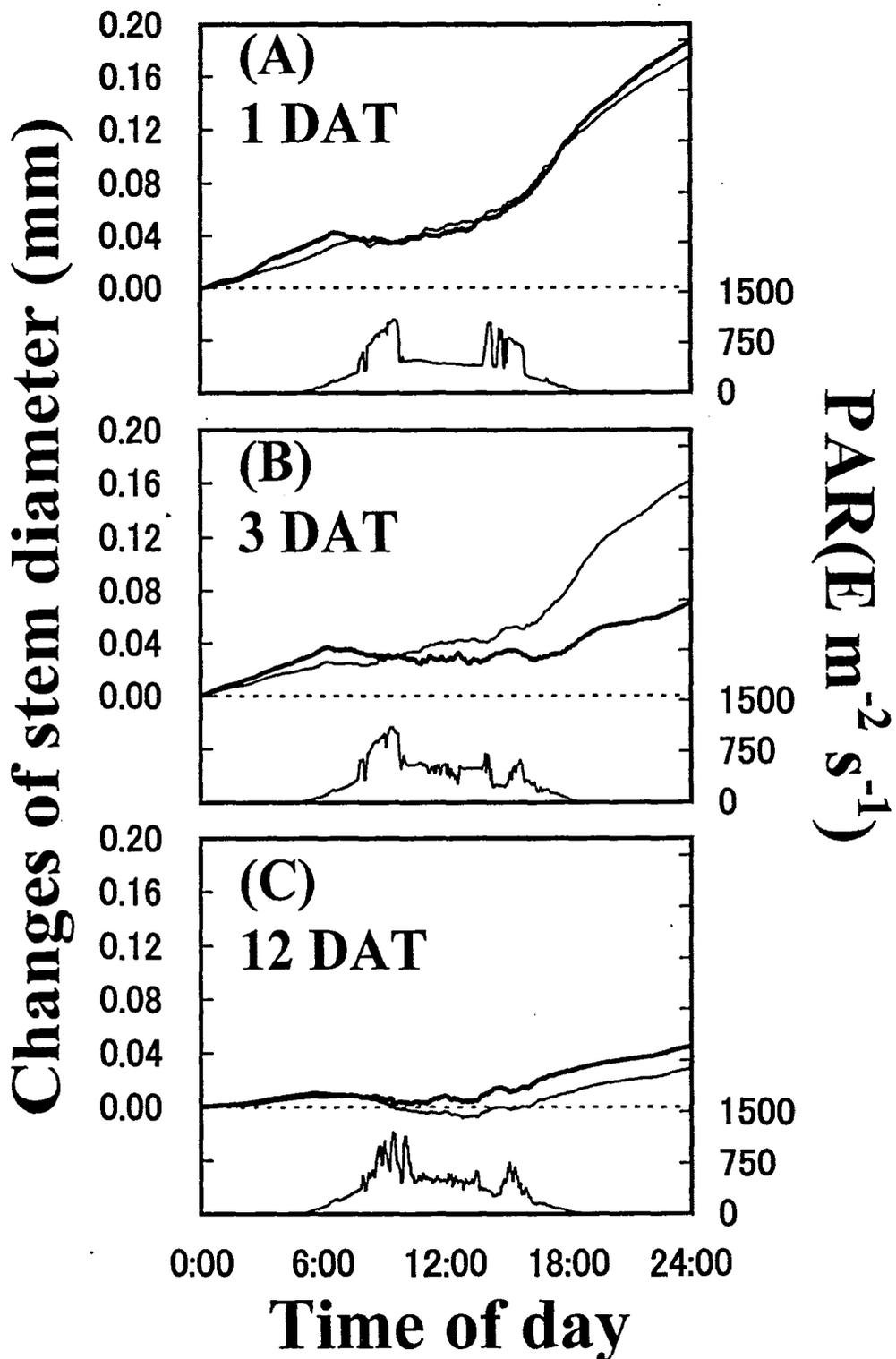
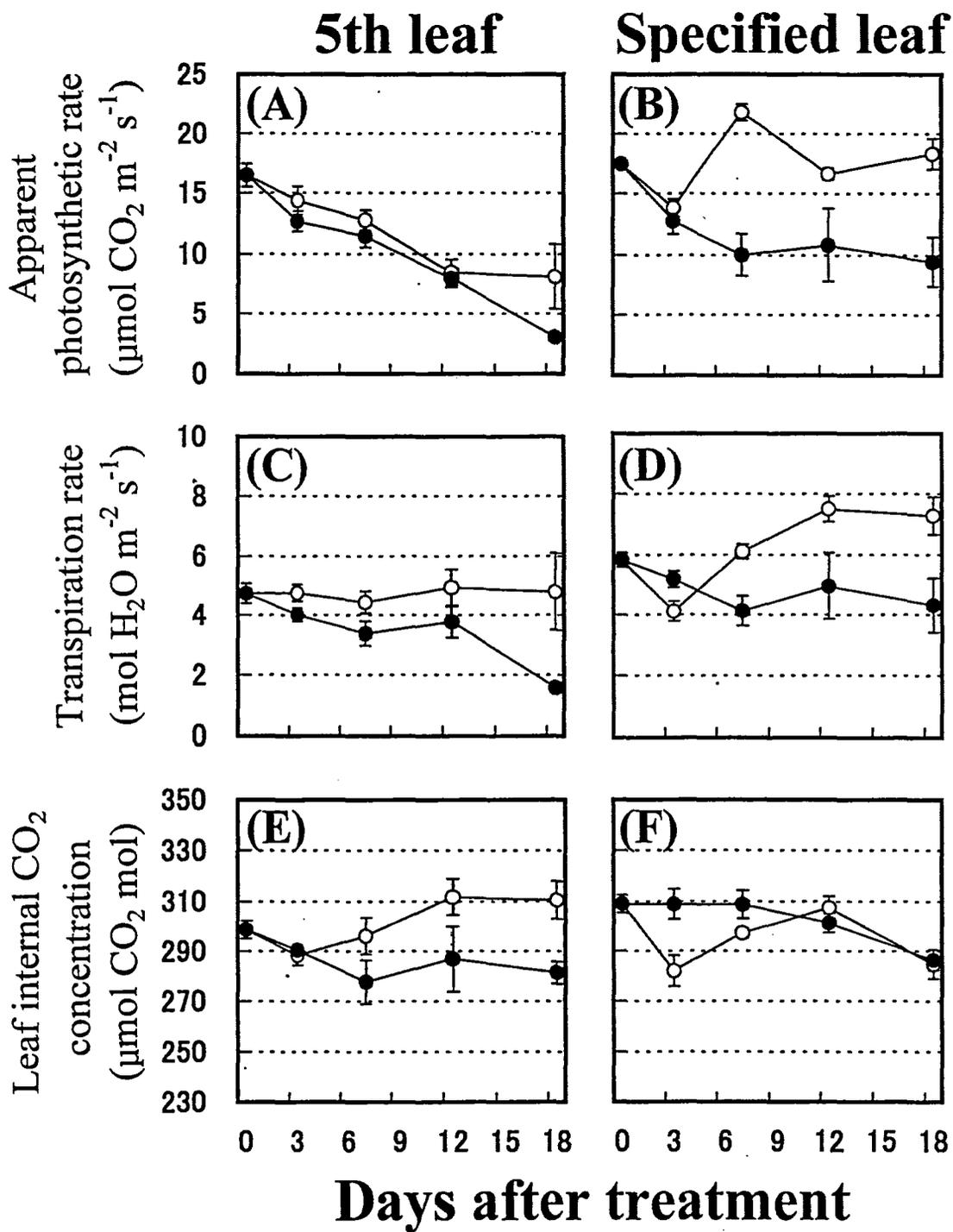


Fig.22. The effect of K deficiency on diurnal changes of stem diameter of tomato plants at the vegetative growth stage. On each occasion, the diameter changes in both control and K deficient plants were recorded with reference to 'Zero change' at midnight (0:00 h). Photosynthetic active radiation (PAR) was monitored continually. Control (fine line), K deficiency (thick line), PAR (most bottom line) and DAT (days after treatment).



**Fig.23.** The effect of K deficiency on the apparent photosynthetic rate, transpiration rate and leaf internal  $\text{CO}_2$  concentration of the fully expanded leaf of tomato plants. 5th leaf: fifth leaf from the bottom of tomato plants; specified leaf: the nearest fully expanded leaf from the shoot apex of tomato plants. Therefore, surveyed leaf as the specified leaf was changed every measurements during the experiment period. Control (open circles), K deficiency (filled circles). Vertical bars denote the SEM for each value. Data represent the means of four plants.

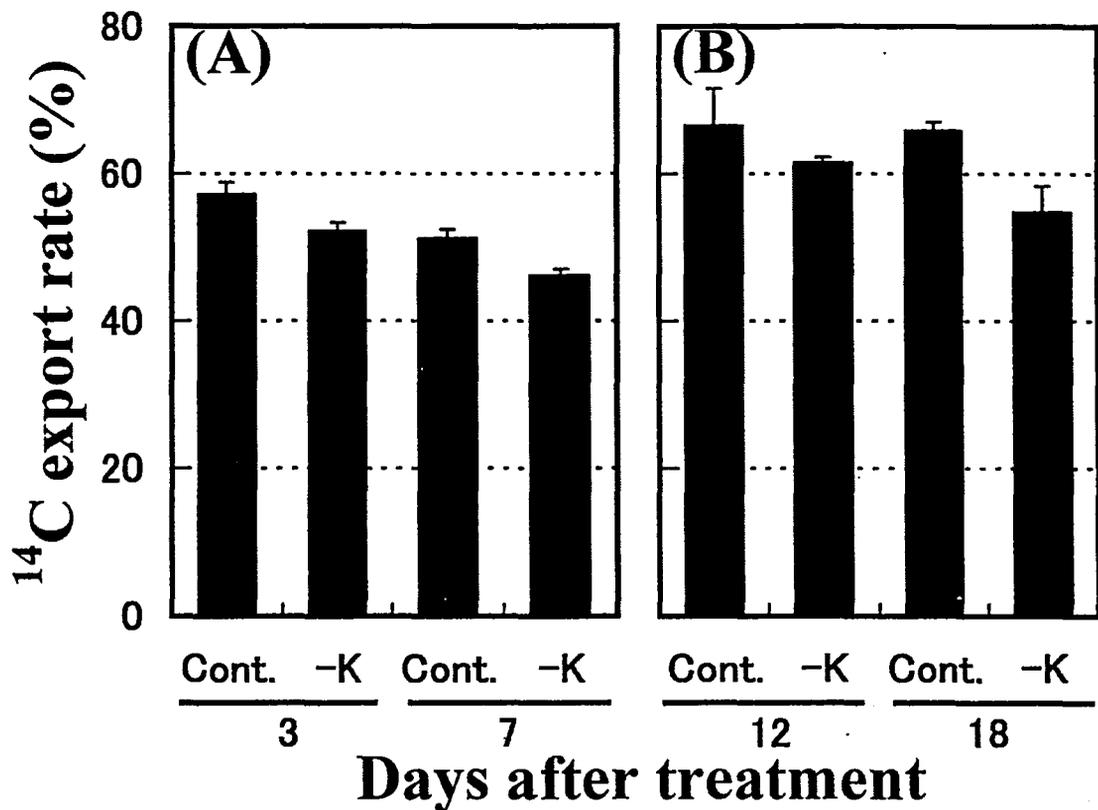


Fig.24. The effect of K deficiency on  $^{14}\text{C}$  export rate from the 5th leaf of tomato at 3, 7, 12 and 18 d after treatment. Cont.: control; -K: K deficiency. The 5th leaf is a fully expanded leaf counted from the bottom. Assimilate time of  $^{14}\text{CO}_2$  was (A) 1.5h and (B) 2h and tomatoes were harvested (A) 24 h and (B) 30h after feeding.

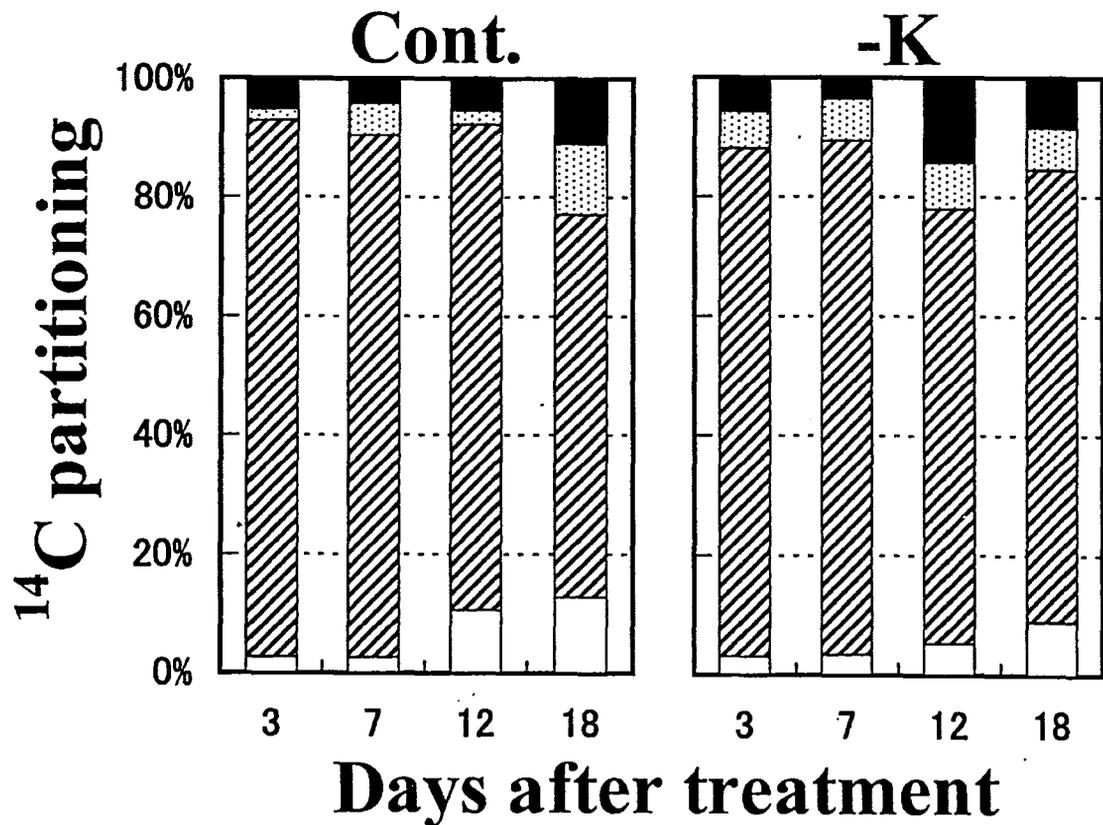


Fig.25. The effect of K deficiency on  $^{14}\text{C}$  partitioning among various parts of tomato plant at 0, 7, 12, and 18 day after treatment. Cont: control; -K: K deficiency. Root (white) stem (diagonal stripes), leaves (spotted) and Shoot apex (black).

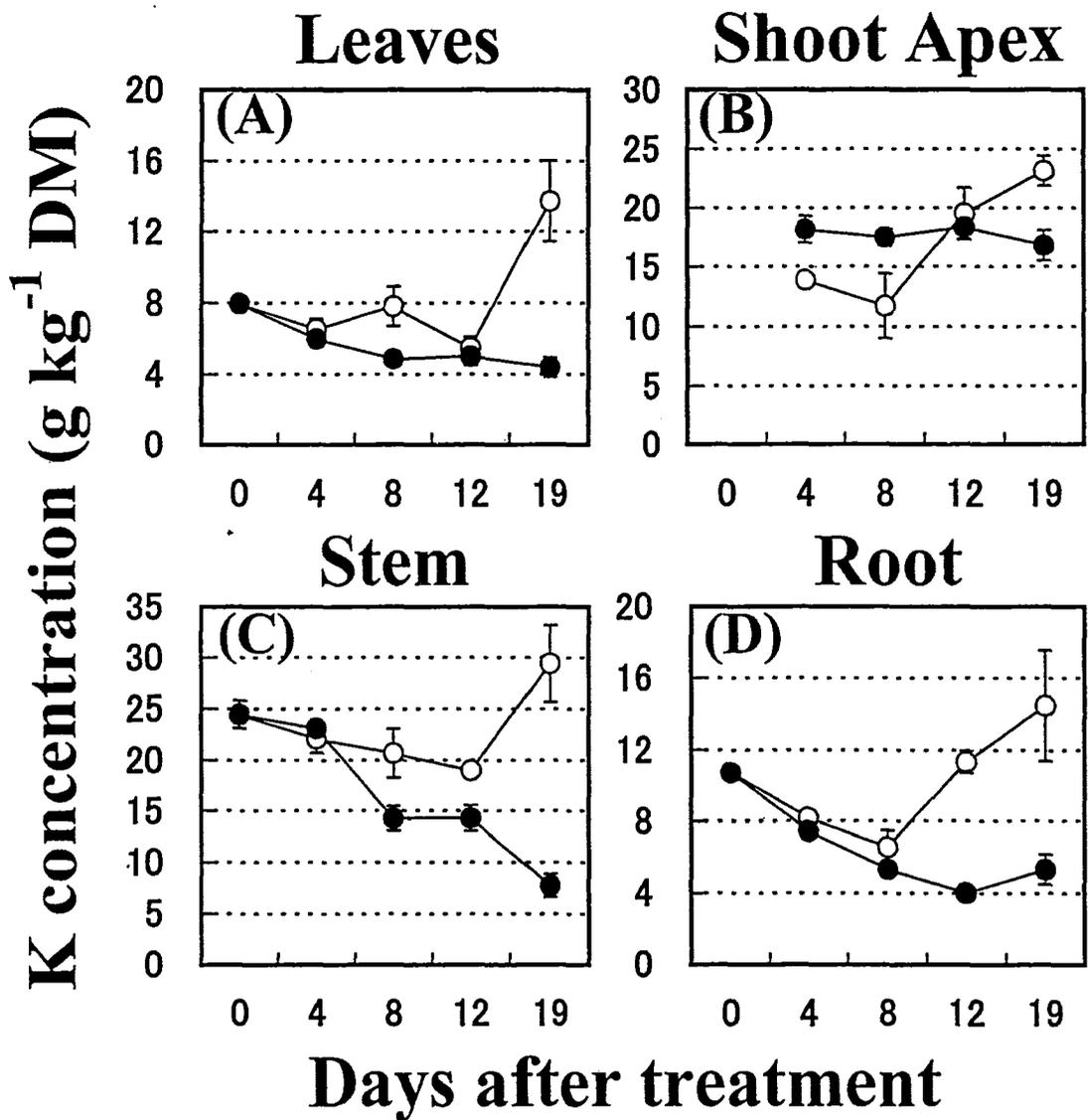


Fig.26. The effect of K deficiency on the K concentration in various parts of tomato plants at 0, 4, 8, 12 and 19 d after treatment. Control (open circles), K deficiency (filled circles). Vertical bars denote the SEM for each value.

## 考察

### 栄養生長期のトマトのソース・シンク関係

炭素化合物の分配率は茎で常に高かった (Fig. 25)。この結果は幼植物において、茎が最も強力なシンクであることを示している。茎径は処理3日目より肥大が抑制され (Fig. 22B)、この差は処理最終日まで保持された (Fig.21, 22C)。一方、ソース活性を見ると処理開始12日目まで影響が認められず (Fig.23A)、葉面積への影響も4日目まで確認されなかった (Fig.20A)。

以上から、K欠乏によって、最初にシンク活性が阻害され、その後ソース活性が低下すると考えられる。このようなK欠乏によるトマトの生長阻害のメカニズムは、果実肥大期、栄養生長期に共通しており、シンク能の活性低下によるフィードバック阻害によって発生すると推察される。

また、茎径の生長停止は乾物生産の停止に先行したことから (Table 5, Fig.18, 21) 歪ゲージ式変位計による茎径診断がトマトの幼植物に対しても有効であることが示唆された。

### トマト幼植物のK欠乏によるフィードバック阻害の開始

最も強いシンクである茎は処理3日目からK欠乏の影響を受けた (Fig.21, 22B)。処理4日目の水分含量は対照区と比較して低いことから (Table 6, Fig. 19)、茎径の低下は水分の供給が低下したことによって発生したと考えられる。このとき、K濃度は影響を受けていないが (Fig. 26A)、茎への<sup>14</sup>C分配は処理によって低下しており (Fig. 23B, 25)、茎での糖濃度低下が浸透圧を減少させたと推察される。その結果、茎への水分供給量が低下し、この水分保持能力の低下がシンク活性阻害の引き金となったと考えられる。

## 幼葉の光合成速度の低下と乾物生産抑制

ソース能について見ると、ソースである成葉では光合成速度が12日目から低下しており (Fig. 23A)、ソースとシンクの両方の性質を持つ幼葉では、処理6日目から低下した (Fig. 23B)。このような幼葉での光合成速度の低下は、発生まで約2週間を要するとも言われるフィードバック阻害では説明がつかない。一方、N欠乏による光合成速度の低下は迅速に発生することから、幼葉に対してN欠乏が発生することで、光合成速度の低下が発生すると考えられる。

そのメカニズムとして、

①NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の対イオンであるKの不足による幼葉へのN供給量の減少 (Peuke et al 2002)、および、  
②浸透圧低下 (Pettigrew 2008)、K欠乏から発生する水分吸収阻害 (Liu et al 2006) が蒸散速度を低下させた結果によるN供給量の減少が考えられ (Fig. 23D)、これらの要因が光合成速度を低下させたと推察される (McDonald et al 2002)。

このように、幼葉の持つソース能としての機能が早期に抑制されることで幼葉自身の生長は抑制され、葉面積が低下し (Fig. 20A) (Peuke et al 2002, Jordan-Meille and Pellerin 2008)、成葉の光合成速度の低下を伴い、処理開始12日目以降の乾物生産の急激な減少に拍車をかけると考えられる (Table 5, Fig. 18)。

## K欠乏と水吸収

K欠乏に対する植物の応答は水ストレスを受けた植物の反応に類似している。具体的には、ABAの生産量増加 (Hsiao 1973, Peuke et al 2002)、葉面積の減少 (Hsiao 1973, Peuke et al 2002, Ohashi et al 2006)、茎径の収縮 (Ohashi et al 2006) などが共通している。本章では、水耕栽培による潤沢な水分供給が常にあるにもかかわらず、葉面積の減少 (Fig.20)、茎径の収縮 (Fig.21, 22) が確認された。このように、水分が十分に与えられているにもかかわらず、

K欠乏による生育阻害は水欠乏と共通する。

過去の報告によると、K欠乏によって遺伝子レベルでアクアポリンに影響を与えることが明らかにされており (Zhu et al 2005, Liu et al 2006, Zhao et al 2008)、Kストレスがアクアポリンに対して影響を与え、その結果、根からの給水が阻害され、K欠乏が水ストレスを誘発させる可能性が示唆される。Kストレスがアクアポリンへの影響は活性化、不活性化の両面が確認されており (Liu et al 2006)、40種類以上が存在するアクアポリンに対してKストレスは複雑な影響を与えることが示唆される。

栄養生長期のトマト器官の中で、茎の水分含有率は最も高かった (Cont : 49~54%, K欠乏 : 45~52%) (Table 5, 6, Fig.18, 19)。茎径はK欠乏によって処理3日目まで夜間の肥大速度の増加を示していることから (Fig.22A)、K欠乏による初期の影響は吸水能力の一時的な強化でありアクアポリン活性への影響の結果と推察される。K欠乏によって、どの型のアクアポリンが活性化、または不活性化されるのかが詳細に明らかとなれば、K欠乏による茎径の初期応答 (Fig. 22) 長期的挙動 (Fig. 21) に対する説明がなされることが考えられる。

## K欠乏と乾物生産

頂芽ではK欠乏によって乾物生産は影響が見られなかった。これは、個体乾物重に占める頂芽の割合が低いにもかかわらず (Table 5, Fig. 18)、同化産物の分配率が高く維持されていたためと推察される (Fig. 25)。

また、草丈は処理期間を通じて対照区と処理区間で差は見られず、葉重も処理開始8日目まで有意差が認められなかった (Table 5, Fig. 18)。これは、K利用効率を上昇させることで個体がK欠乏に適応した結果と考えられる (Fig. 20)

以上から、栄養生長期のトマトではKの利用効率を上昇させることでK欠乏下における乾物生長を維持することがうかがえる。しかしながら、栄養生長期の乾物生産の低下は果実肥大期より顕著であり (Table 1, 5, Fig. 2, 18)、K含有量も果実肥大期と比べて少ない (Table

2, 5, Fig.26)。このような点から、栄養生長期におけるKの栄養診断は果実肥大期と比べリスクが高いと考えられ、Kの再転流に依存した施肥量の削減は、果実肥大期に行うことが適切であると推察される。

## 第4章

N欠乏が果実肥大期のトマトに  
与える影響

～ソース・シンク関係による解析～

## 緒論

水耕法によるトマトの栽培には、高濃度の窒素 (N) 肥料が用いられている。N はトマトの生長や発達に対して最も大量に必要な元素の一つであり、一定の収穫量を確保するために、常に植物の要求量を上回る濃度で与えられている (Siddiqi et al 1998, Bot et al 2001)。一方、このような施肥方法は培養液を廃棄する際、環境中へ多くの N を放出する原因となる。トマトの水耕栽培システムから環境中に放出される N の量は膨大であり、環境負荷が懸念されている (Bellert et al 1998)。

Siddiqi ら (1998) の報告によると、標準培養液の約 50% の N 量で果実収量および品質には影響が見られなかったという。この結果は、トマトが N に対して贅沢吸収を行う可能性を示している。

N は植物体中で再転流され、古い器官から活発に生長している部位に転流されており (Millard 1988)、この特性から植物生長に必要な最低限の N を与えることは難しいとされている (Gastal and Lemaire 2002)。例えば、果実生長期のトマトの場合、N 供給量が少なすぎると、葉中の N が果実に再転流され、最終的に葉の光合成速度が維持できないといった症状が発生する。

このような問題の解決のために、N 欠乏を迅速かつ高精度で検出する方法を開発し、確実な判断を下せる技術を普及させることは、N 資源の有効利用の観点からも重要である。

N は植物細胞中に炭素化合物を形成している (Taiz and Zeiger 2002)。炭素同化 (光合成) と N 同化 (N の有機化) は対を成しており、C 代謝、N 代謝のどちらかがバランスを失うと、その影響はもう一方の代謝に対しても発生する (Ruffy et al 1988)。このことから、C、N 代謝は植物生産を左右する上で重要な代謝経路として認識されている (Lawlor 2002)。

C 代謝と N 代謝の相互作用は、ソースとシンクでそれぞれに研究が進んでいる。例えば、

ソースでは葉の N 濃度と光合成速度間で強い正相関が観察されている (Evans 1983, Evans and Terashima 1987)。N 欠乏が光合成に対して与える影響を具体的に列記していくと、クロロフィル含有量、チラコイド含有量 (Terashima and Evans 1988)、気孔開度、カルボキシル化活性 (Terashima and Evans 1988)、光化学系反応 (Lawlor et al 1987, Lu and Zhang 2000) 等への影響が挙げられる。これらの作用は最終的にバイオマス生産量の低下につながると考えられ、トマトの場合も例外ではない (Chapin et al 1988, Guidi et al 1997)。

一方、シンク器官では、N 欠乏によって根の水透過性が減少し、その結果膨圧が低下することでシンク器官の生長抑制が発生していると考えられている (Radin and Boyer 1982, Barthes et al 1995, Carvajal et al 1996, Clarkson et al 2000)。

しかしながら、これらの研究はソースとシンクの個別になされており、ソース器官、シンク器官、光合成産物の転流に対する N 欠乏の影響を個体レベルで言及した報告は少ない。

そこで本章の目的は、N 欠乏環境下に置かれたトマトを、光合成速度、莖径、果実径変化、転流を同時に観察することにより、個体レベルで N 欠乏を評価することにある。具体的には、N 欠乏がソース能、シンク能のどちらが最初に制限するかを明らかにし、N 欠乏によるバイオマス生産の低下がソース能、シンク能のどちらに起因するかを明確にする。

## 材料および方法

### 供試植物および栽培方法

供試植物は広島大学精密圃場内ガラス室の自然光条件下で栽培した。トマト（品種、桃太郎 J）を土耕栽培によって育苗し、草丈が 5~6cm に達した後、水耕栽培へ移植した（70L バット使用、エアレーション有り）。培養液（第 2 章 材料と方法）を週 1 回交換し、1N 水酸化ナトリウムと 1N 塩酸を用いて pH を 5.8~6.2 に 1 日 1 回調整した。また、腋芽は随時取り除き、着果増進のため開花期中すべての花房に対してトマトトーン 100 倍希釈液（ジベレリン濃度 10ppm）を散布した。

播種後 65 日目（第 1 果房肥大期）より N 欠乏処理を開始し、対照区の N 濃度を 40ppm とし、N 欠乏処理は培養液から硝酸カルシウムを除くことで実施した。

N 欠乏処理を 20 日間継続したが、その間の最低気温、最高気温はそれぞれ 23℃、32℃であった。また、最大日射量は  $3200 \text{ E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、湿度は 45~65%であった。

### 生育調査および供試試料採取

生育調査は N 欠乏処理後 0、9、19 日目に実施した。1 回の調査につき 3 個体を無作為に選び測定に用いた。各個体を葉身、同化葉、葉柄及び茎、根、第 1 果房に仕分け、新鮮重を求めた。また、全てのサンプルは 70℃で 1 週間熱風乾燥し、乾燥重量を求めた。その後サンプルを振動粉碎機（T1-100 型 HEIKO 社製）によって微粉碎し、各種の測定に用いた。

また、第 2 花房直下の葉身を、光合成、糖濃度および窒素濃度の相関関係を調査する目的で採取した。葉身は、処理後 0、3、6、12、20 日後に 4 反復ずつ採取し、得られたサンプルを凍結乾燥し、微粉碎した後、測定に使用した。

## 光合成速度、蒸散速度、気孔伝導度の測定

光合成速度、蒸散速度および気孔伝導度は、第 1 果房直下の葉とその下部に着生している葉の先端小葉および複葉を用いて測定した。測定は携帯用光合成測定装置 (LI-6400 型 LICOR 社製) を用い、対照区、N 欠乏区からそれぞれ無作為に抽出した 3 個体について 11:00~14:00 の間に行った。各パラメータの測定環境は光合成有効光量子束密度  $1000\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、葉温  $25^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{CO}_2$  濃度 380ppm で統一した。

## 茎・果実径の測定

茎径および果実径は、処理開始 1 日前 (播種後 64 日目) より 21 日間に渡って測定した。茎径では歪みゲージ式変位計をトマトの地際より約 15cm 上部に取り付け、果実径では第 2 果房中の果実 1 個を無作為に選出し、センサーを取り付けた。歪みゲージ式変位計は、茎に対して直径 3mm のゴムひもを用いて固定し、茎とセンサーのレバー部分の間にシリコンゴムチューブを挿入し、ピンチコックでレバーの位置が調整可能となるように設置した (Fig. 17)。果実径測定の場合は、三脚に取り付けた台座に歪みゲージ式変位計を固定し、果実を挟み込むことで測定した (Fig. 1)。茎径と果実径は 180 秒に一回の頻度で記録し、収録したデータはデータロガー (DE-1000 型 NEC 三栄社製) を経由してパーソナルコンピュータに自動収録した。また茎・果実の生長にともなって歪みゲージセンサーを適時調節した。この調節は果実で約 24 時間毎に 1 度の頻度で行い、茎で 4~5 日に 1 度の割合で行った。

## N の測定

N 濃度はケルダール法によって測定した。N 欠乏処理後 0、3、6、12、20 日目に採取した葉身を凍結乾燥し乾物重を求めた。その後、微粉碎したサンプル約 50mg を秤取して硫酸・過塩素酸によって分解した。分解液を室温まで冷却し、ケルダール法によってサンプル中

の N 濃度を求めた。

## 糖の測定

糖濃度は、アントロン硫酸法によって測定した。得られたサンプルを微粉碎し、大型試験管に約 200mg を秤取し、エタノール (80%) を加えて温浴槽 (80°C) で 20 分間抽出を行った。その後、抽出液を 3000rpm で 5 分間の遠心分離し、上澄み液を収集した。この操作を 3 回繰り返した後、収集した上澄みからエタノールを気化させ、残った溶液を用いて可溶性全糖の含有率を定量した。

## $^{13}\text{C}$ 同化実験

$^{13}\text{C}$  の同化は N 欠乏処理後 7、17 日目に行った。第 1 果房直下の葉を透明なビニール袋で覆い、炭酸バリウム ( $\text{Ba}^{13}\text{CO}_2$  99.6 atom%) に 40% の乳酸 (v/v) を加えて  $^{13}\text{CO}_2$  を発生させ、自然光下で 60 分間同化させた。 $^{13}\text{C}$  同化 48 時間後 (N 欠乏処理後 9、19 日目) に植物体を採取し、ただちに同化葉、葉身、茎及び葉柄、根、第 1 果房に仕分けした。その後、80°C で 1 週間熱風乾燥し、振動微粉碎機 (T1-100 型 HEIKO 社製) を用いて粉碎した。粉碎試料約 100 $\mu\text{g}$  を錫コンテナに封入し、質量分析機 (Finnigan 社製、Delta plus) を用いて各部位の  $^{13}\text{C}$  atom% 量を測定した。 $^{13}\text{C}$  atom % excess は同化植物と非同化植物個体の  $^{13}\text{C}$  atom % の差を用いた。また、元素分析計によって測定したサンプル中の炭素含有率を算出した。

各器官の同化実験由来の  $^{13}\text{C}$  量は次式によって算出した。

$$\text{各器官の}^{13}\text{C}\text{含有量} = ^{13}\text{C atom \% excess} \times \text{各器官の乾物重} \times \text{サンプル中の炭素含有率 (\%)}$$

また、 $^{13}\text{C}$  転流率および各器官の  $^{13}\text{C}$  分配率は次式によって求めた。

$$^{13}\text{C} \text{ 転流率 } (\%) = \frac{\text{個体の } ^{13}\text{C} \text{ 量} - \text{同化葉の } ^{13}\text{C} \text{ 量}}{\text{個体の } ^{13}\text{C} \text{ 量}} \times 100$$

$$\text{各器官の } ^{13}\text{C} \text{ 分配率 } (\%) = \frac{\text{各器官の } ^{13}\text{C} \text{ 量}}{\text{個体の } ^{13}\text{C} \text{ 量}} \times 100$$

## $^{15}\text{N}$ 同化実験

$^{15}\text{N}$  の同化は N 欠乏処理前に行った。同化処理は、20L のバットを用いて  $^{15}\text{N}\text{-NO}_3$  が 100ppmN となるように培養液を作成し、この溶液にトマトの根を浸して行った。24 時間の同化後、N 欠乏処理を施し、処理後 19 日目に  $^{15}\text{N}$  暴露個体を採取した。採取した個体は果実、葉、茎、根に仕分け、熱風乾燥し (72 時間)、乾物重を秤量した。その後、各植物器官を微粉碎し、 $^{15}\text{N}$  atom% を  $^{13}\text{C}$  同化実験に準じて測定した。

また、 $^{15}\text{N}$  転流率および各器官の  $^{15}\text{N}$  分配率は次式によって求めた。

$$^{15}\text{N} \text{ 転流率 } (\%) = \frac{\text{個体の } ^{15}\text{N} \text{ 量} - \text{同化根の } ^{15}\text{N} \text{ 量}}{\text{個体の } ^{15}\text{N} \text{ 量}} \times 100$$

$$\text{各器官の } ^{15}\text{N} \text{ 分配率 } (\%) = \frac{\text{各器官の } ^{15}\text{N} \text{ 量}}{\text{個体の } ^{15}\text{N} \text{ 量}} \times 100$$

## 結果

### 植物生育量

乾物重は対照区、処理区ともに処理期間中に増加し、開始時に対して処理 19 日目ではそれぞれ 2.43 倍、1.90 倍へと増加した (Table 8, Fig. 27)。N 欠乏区の個体乾物重は 9 日目で対照区を下回ったが、その差は有意ではなかった。処理後 19 日目の個体乾物重は対照区が 52.4g、処理区が 40.9g (78%) と有意差が認められた。各器官重に注目すると、処理期間中、第 1 果房重の増大が最も大きく、次いで茎が続いた。N 欠乏による個体乾物重の低下は主として果実生産の減少 (63.2%) によるものであり、葉、茎、根での器官重の減少は認められなかった (Table 8, Fig. 27)。

### トマトの茎径・果実径

茎は対照区および処理区で経時間的に生長を続けた (Fig. 28)。茎径変化は、処理区では 4 日目まで対照区とほぼ同様の肥大パターンを示したが、5 日目から対照区を上回り、14 日目までこの状態は持続した。処理後 15 日目以降は、対照区が処理区を上回り、処理最終日でもこの状態は維持された。

茎の日変化に注目すると、日の出による日照の開始と共に収縮を開始し、その後、日没によって肥大した (Fig.29A)。この間、日射量が変化すると、それに伴って茎径も微細な変動を示した (Fig.29D)。N 欠乏の影響をみると、処理 1 日目では日の出に伴う日照開始に合わせて対照区で茎径が大きく収縮したのに対し、N 欠乏区では収縮の程度が軽減され、加えて日没に伴う肥大の開始も遅れた (Fig.29A)。処理 11 日目では、N 欠乏区は日の出まで対照区と同様に推移したが、その後大きく収縮し、日没に伴う茎径の回復量も対照区を大きく上回った。しかしながら、日没後の茎径肥大は対照区と大差が無かった (Fig.29B)。処理 11 日目では、N 欠乏区では殆ど生長がみられなかったのに対して、対照区では日没中に大

大きく生長した (Fig.29C)。処理 19 日目では、対照区が日照時間中の大きな収縮を示したのに対し、N 欠乏区ではその程度が軽減された。加えて、N 欠乏区では 1 日を通して殆ど生長がみられなかった (Fig.29D)。

果実径は対照区、処理区ともに処理期間中ほぼ同様の生長を示した (Fig.30)。処理後 2 日目から 11 日目にかけて、対照区が処理区の値を僅かに上回ったが、その他の期間では差異がみられなかった。

果実の日変化に注目すると、対照区、処理区、日照の有無に関わらず、常に生長を続けた。しかしながら、N 欠乏区では日射量の増大に伴い果実肥大速度が僅かに低下し、その後の日没に伴って上昇した (処理後 2 日目、7 日目、Fig. 31AB)。処理 17 日目では、肥大速度は対照区、処理区で差が見られなかったが、正午から対照区の果実肥大速度が低下した (Fig.31C)。

## 光合成速度

光合成速度 ( $P_0$ ) は N 欠乏処理により処理 1 日目から低下した (Fig. 32A)。 $P_0$  は処理後 3 日目まで N 欠乏処理による影響は明瞭でなく、4 日目に対照区および処理区でそれぞれ 12.8 および  $9.3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  と処理によって有意に低下した。その後、この差異を拡大しつつ推移し、17 日目では対照区で  $16.0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  で、処理区でその約 20% に低下した。

## 蒸散速度

蒸散速度は N 欠乏処理によって低下した (Fig.32C)。蒸散速度は処理後 7 日目まで N 欠乏処理による低下は見られず、8 日目に対照区と処理区でそれぞれ  $6.6 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、 $3.6 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  と有意に低下した。その後、この差を拡大しつつ推移し、17 日目では対

照区で  $8.8\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  で、処理区でその 20.8%であった。

## 気孔伝導度

気孔伝導度は N 欠乏処理によって低下した (Fig. 32B)。気孔伝導度は蒸散速度と同様に処理後 7 日目まで N 欠乏処理による差はなく、8 日目に対照区と処理区でそれぞれ  $0.59\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、 $0.24\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  と有意に低下した。その後、有意差を拡大しつつ推移し、17 日目では対照区で  $0.72\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、処理区で  $0.07\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  となった。

## N 濃度・含有量・分配率

N 欠乏処理によって各器官の N 濃度は低下した (Table 9)。処理後 19 日目では、葉では対照区の 38.2%と減少が最も著しく (対照区  $58.2\text{g kg}^{-1}\text{ DM}$ 、処理区  $22.2\text{g kg}^{-1}\text{ DM}$ )、ついで根 (43.8%)、茎 (48.4%) と続いた。一方、果実の N 濃度は他の器官の割合より高く、対照区の 77.4%に維持された。

個体 N 含有量は対照区で処理期間中に増加し、処理開始時と比べ約 2.8 倍に増加した (Table 9)。一方、処理区では経時的に減少し、19 日目に個体含有量が対照区で  $2462\text{mg plant}^{-1}$  に対し、処理区でその 44.3%と有意に低下した。果実では対照区、処理区ともに他器官より常に高く維持された (Table 9)。葉では N 含有量は大きく低下し、19 日目には対照区では  $747\text{mg}$ 、処理区でその 35%と減少した。茎では対照区の約半分となっており、19 日目では対照区で  $253\text{mg}$  であったのに対し処理区ではその 51.6%であった。

N 分配率は、処理開始時では葉で最も高く (42.4%)、次に果実と続いた (36%) (Fig. 38)。処理 19 日目には処理区、対照区ともに葉への分配率が低下し (対照区 : 30.4%、処理区 : 24.2%)、果実への分配率が上昇し (対照区 : 50.4%、処理区 : 55.7%)、その傾向は処理区の方が顕著であった。一方で、茎や根への N 分配は処理期間を通じて処理区、対照区で大き

な差は見られなかった。

## 葉身の N 濃度、糖濃度

N 欠乏区の葉身 N 濃度は処理 3 日目から対照区を下回った (対照区 :  $31.4\text{mg kg}^{-1}\text{ DM}$ 、処理区 :  $25.5\text{mg kg}^{-1}\text{ DM}$ )。加えて、対照区では処理期間中に N 濃度がほぼ一定であったのに対し、処理区では経時的に低下した。処理開始 20 日目の葉身 N 濃度は対照区  $31.8\text{mg kg}^{-1}\text{ DM}$ 、処理区  $12.9\text{mg kg}^{-1}\text{ DM}$  であった (Fig. 36A)。

N 欠乏区の葉身の糖濃度は処理 3 日目から対照区を上回った (対照区 :  $98\text{mg kg}^{-1}\text{ DM}$ 、処理区 :  $134.4\text{mg kg}^{-1}\text{ DM}$ )。処理期間中、対照区の葉身糖濃度が低下したのに対し、処理区では常に高い値を示し、処理開始 20 日目の葉身糖濃度は対照区で  $77.4\text{mg kg}^{-1}\text{ DM}$ 、処理区で  $133.5\text{mg kg}^{-1}\text{ DM}$  であった (Fig. 36B)。

## $^{13}\text{C}$ 分配

$^{13}\text{C}$  atom % excess を Table 10 に示した。 $^{13}\text{C}$  atom % excess は同化葉で最も高く、ついで果実で高かった。一方、葉、茎、根での  $^{13}\text{C}$  atom % excess は低く、これらの傾向は処理期間を通じて維持された。処理開始 19 日目では、N 欠乏処理によって果実の  $^{13}\text{C}$  atom % excess では差が認められなかったが、葉で対照区の 18% に低下した。

$^{13}\text{C}$  転流率は N 欠乏処理によって低下した (Fig. 33)。N 欠乏処理によって処理 9 日目に転流率の低下が確認され (対照区で 71.9%、処理区で 66.7%)、処理 19 日目でこの傾向はさらに強まり、対照区で 76.2%、処理区で 27.5% となった。

$^{13}\text{C}$  分配率は果実で最も高く、この傾向は処理期間中維持された (Fig. 34)。各器官への分

配率では、処理 9 日目に N 欠乏処理によって花柄および根への  $^{13}\text{C}$  分配が低下し、茎への分配率が上昇した。処理開始 19 日目では、N 欠乏処理により茎、根への分配率が上昇し、葉や果柄への分配率が低下した。

## $^{15}\text{N}$ 分配

処理 19 日目の  $^{15}\text{N}$  分配率を Fig.35 に示した。対照区では、葉への  $^{15}\text{N}$  分配率が高く (45.8%)、次いで果実 (38.1%)、茎 (9.85%)、根 (4.54%) と続いたのに対し、処理区では果実への分配率が最も高く (56.3%) 次いで、葉 (25.6%)、茎 (9.77%)、根 (7.84%) となった。N 欠乏処理によって果実や根への  $^{15}\text{N}$  分配が増加し葉や茎で低下する傾向が認められ、特に葉への  $^{15}\text{N}$  分配率は、対照区の 55% と大きく低下した (Fig. 35)。

**Table 8.** The effect of N deficiency on dry weight of tomato plant organs.

Dry weight (g plant <sup>-1</sup> )										
Days after treatment (DAT)	0 DAT		9DAT				19DAT			
			Control		N deficiency		Control		N deficiency	
Fruits	6.95 ±	1.29	14.54 ±	0.55	14.26 ±	0.64	28.87 ±	2.78	18.26 ±	3.32
Leaves	8.25 ±	0.42	9.10 ±	0.68	8.14 ±	0.69	12.84 ±	0.82	11.84 ±	1.58
Stem	4.43 ±	0.27	6.47 ±	0.36	5.77 ±	0.40	7.42 ±	0.40	7.90 ±	0.40
Root	1.96 ±	0.17	2.14 ±	0.18	2.03 ±	0.36	3.27 ±	0.63	3.00 ±	0.16
Whole plant	21.60 ±	1.29	32.24 ±	0.84	30.20 ±	1.84	52.41 ±	2.51	41.00 ±	5.07

Values are given as average ±SEM.

**Table 9.** The effect of N deficiency on N concentration and amount in various parts of the tomato plant during fruit development.

Plant parts	N concentration (g kg <sup>-1</sup> DM)				N content (mg plant <sup>-1</sup> DM)			
	0 DAT		19 DAT		0 DAT		19 DAT	
			Control	N deficiency			Control	N deficiency
Fruit	44.86 ± 13.49	42.95 ± 2.69	33.26 ± 4.52	311.9 ± 57.7	1240.1 ± 119.6	607.2 ± 110.4		
Leaves	44.46 ± 1.92	58.23 ± 1.39	22.27 ± 1.48	366.7 ± 18.5	747.8 ± 47.7	263.6 ± 35.3		
Stem	22.99 ± 2.90	34.15 ± 1.57	16.53 ± 0.86	101.9 ± 6.1	253.4 ± 13.6	130.6 ± 6.6		
Root	43.17 ± 6.62	67.41 ± 1.60	29.53 ± 0.85	84.8 ± 7.5	220.4 ± 42.7	88.7 ± 4.6		
Whole plant	-	-	-	865.3	2461.8	1090.1		

DAT: days after treatment.

Values are given as average ±SEM.

Table 10. The effect of N deficiency on  $^{13}\text{C}$  atom % excess in various parts of tomato plants at different times after treatment.

Plant parts	9 DAT		19 DAT	
	Control	N deficiency	Contrl	N deficiency
Fed leaf	0.557 ± 0.014	1.083 ± 0.141	0.583 ± 0.034	0.938 ± 0.118
Other leaves	0.006 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.038 ± 0.002	0.007 ± 0.000
Fruits	0.115 ± 0.021	0.113 ± 0.032	0.048 ± 0.005	0.045 ± 0.003
Stem, upper	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.034 ± 0.008	0.018 ± 0.004
Stem, lower	0.016 ± 0.001	0.028 ± 0.003	0.022 ± 0.005	0.022 ± 0.003
Roots	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.004 ± 0.001	0.013 ± 0.001

DAT: days after treatment.

Values are given as average ±SEM.

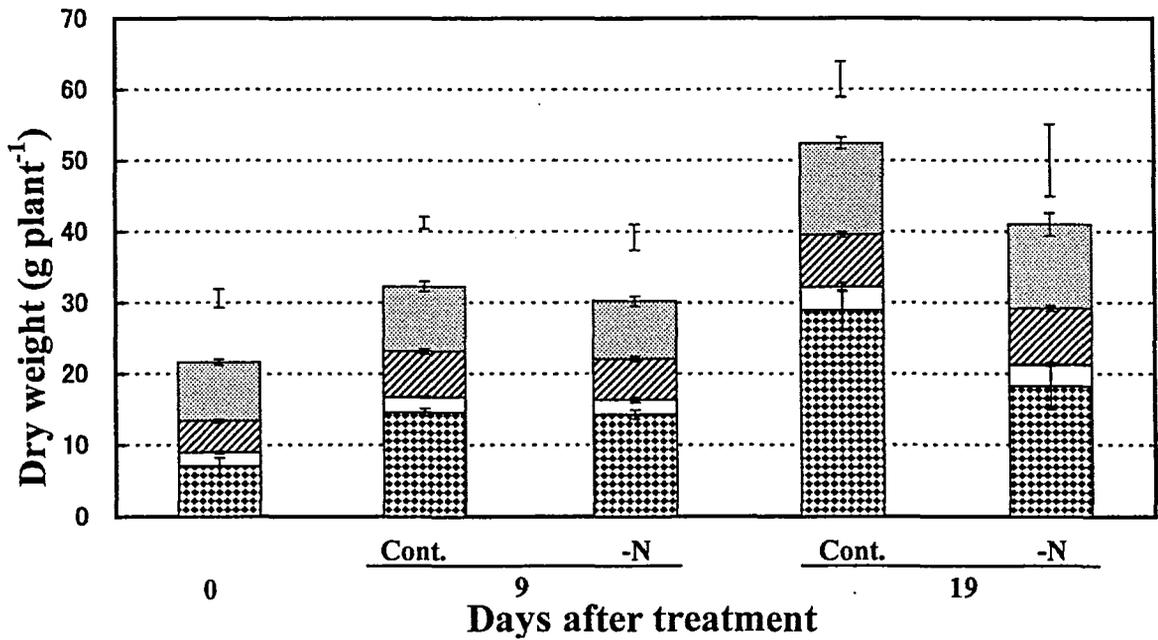


Fig.27. The effect of N deficiency on dry weight of tomato plant organs. 0: Initial of treatment; Cont.: control; -N: N deficiency. Vertical bars denote SEM for whole plant weight and each organ weight. Fruit (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe) and leaves (spotted).

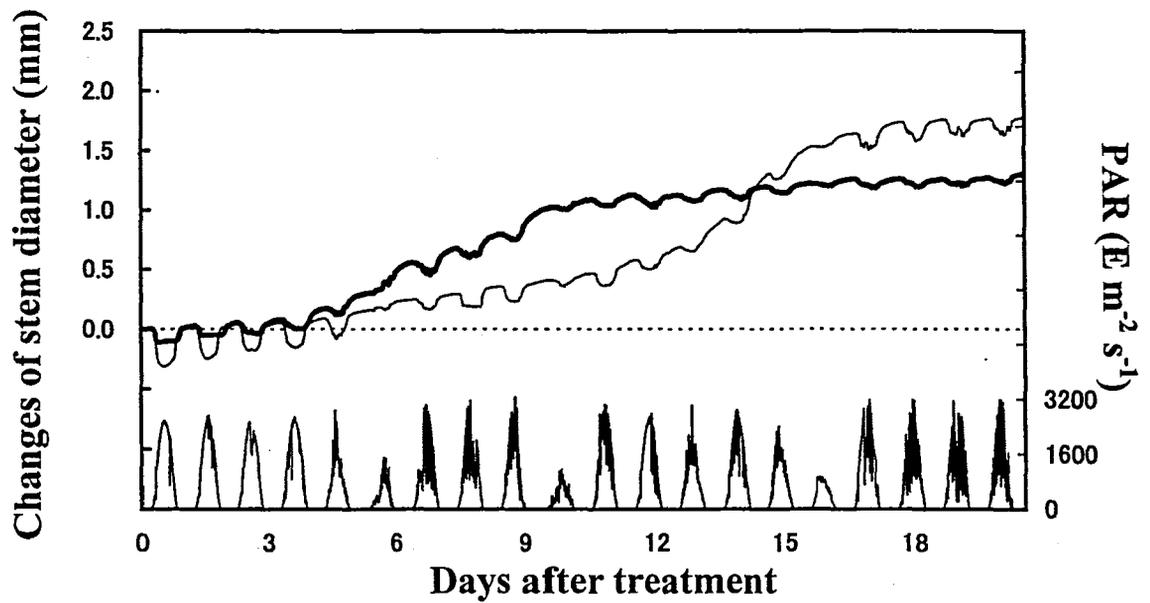
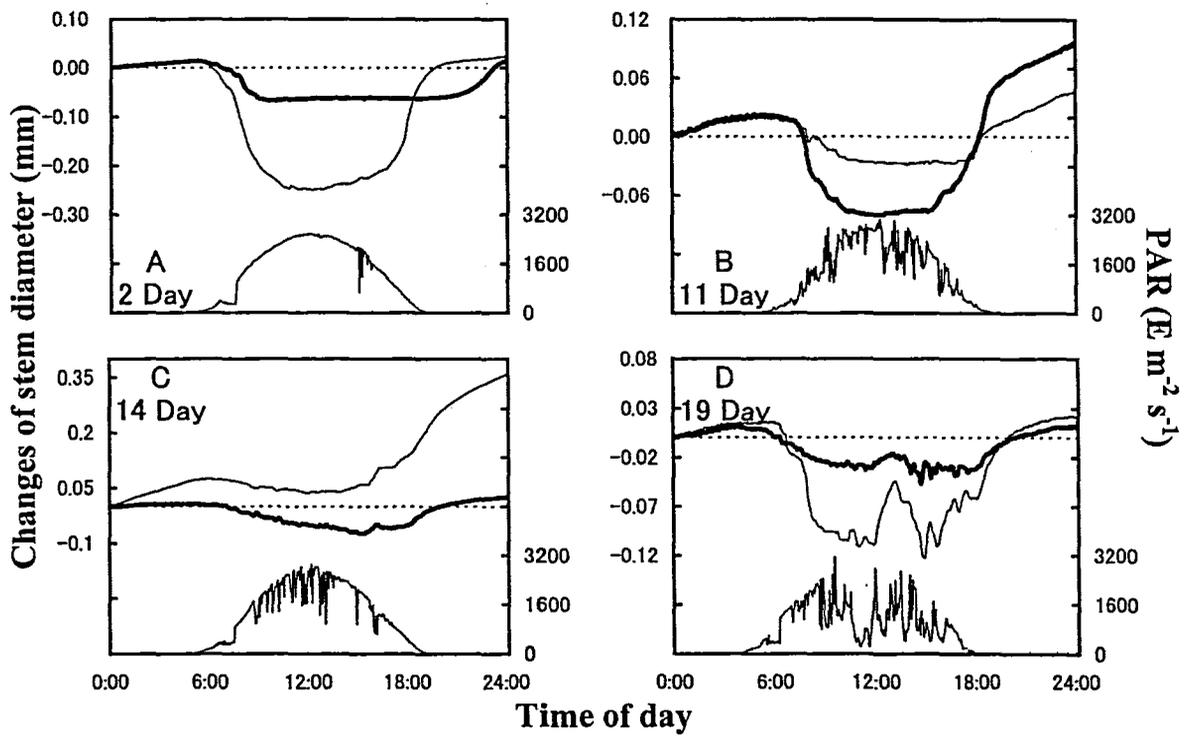
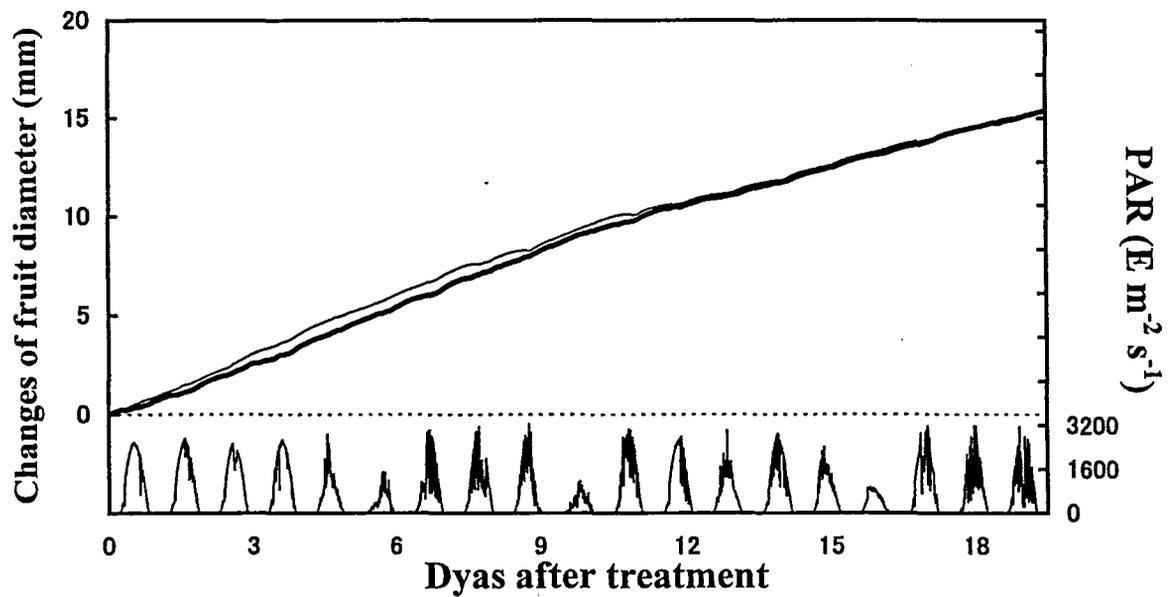


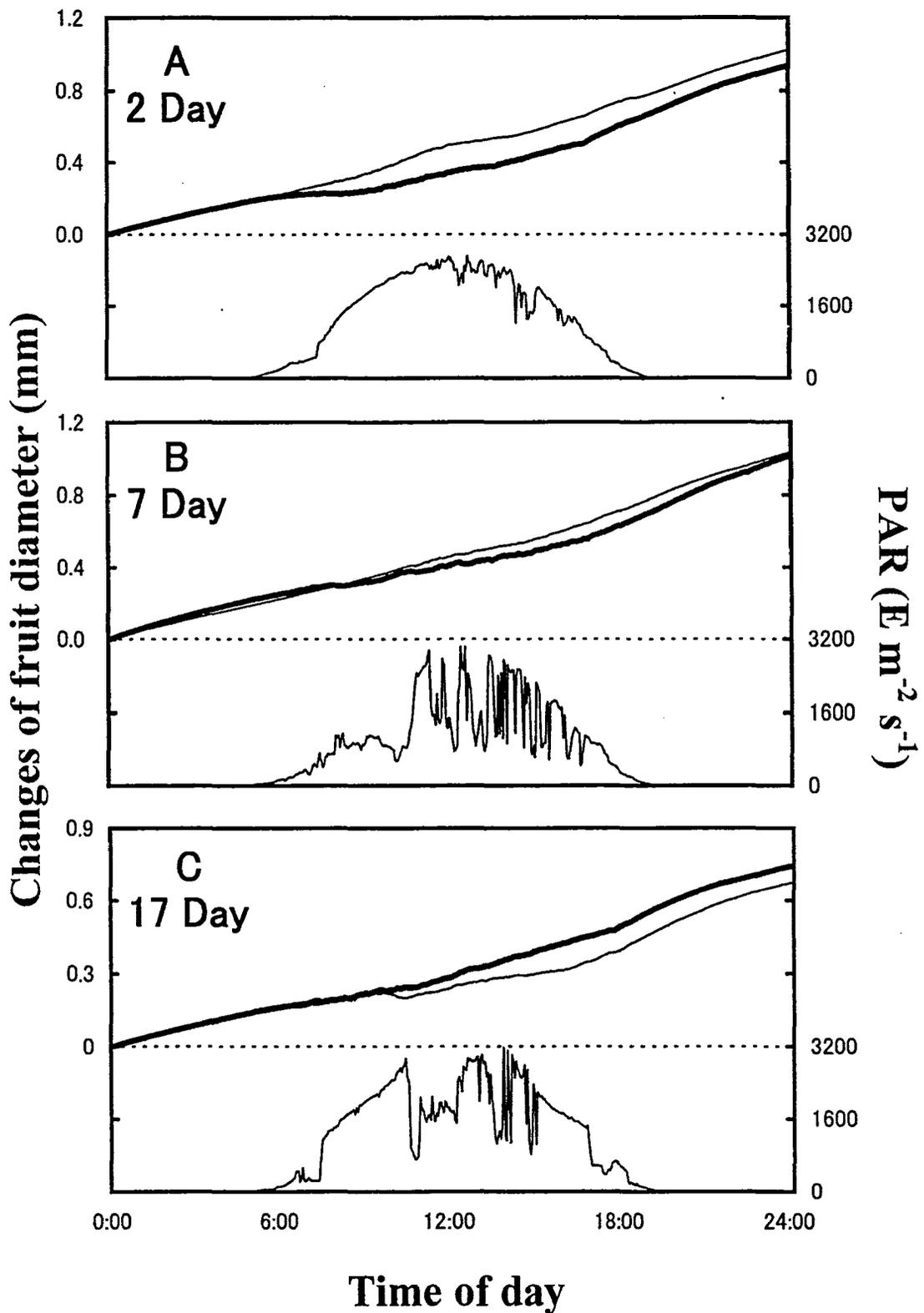
Fig.28. The effect of N deficiency on diurnal changes of stem diameter of tomato plant. Changes in stem diameter were monitored by shrinkage type micro-displacement detector. Data represent the means of three plants. Control (fine line), N deficiency (thick line) and PAR (most bottom line).



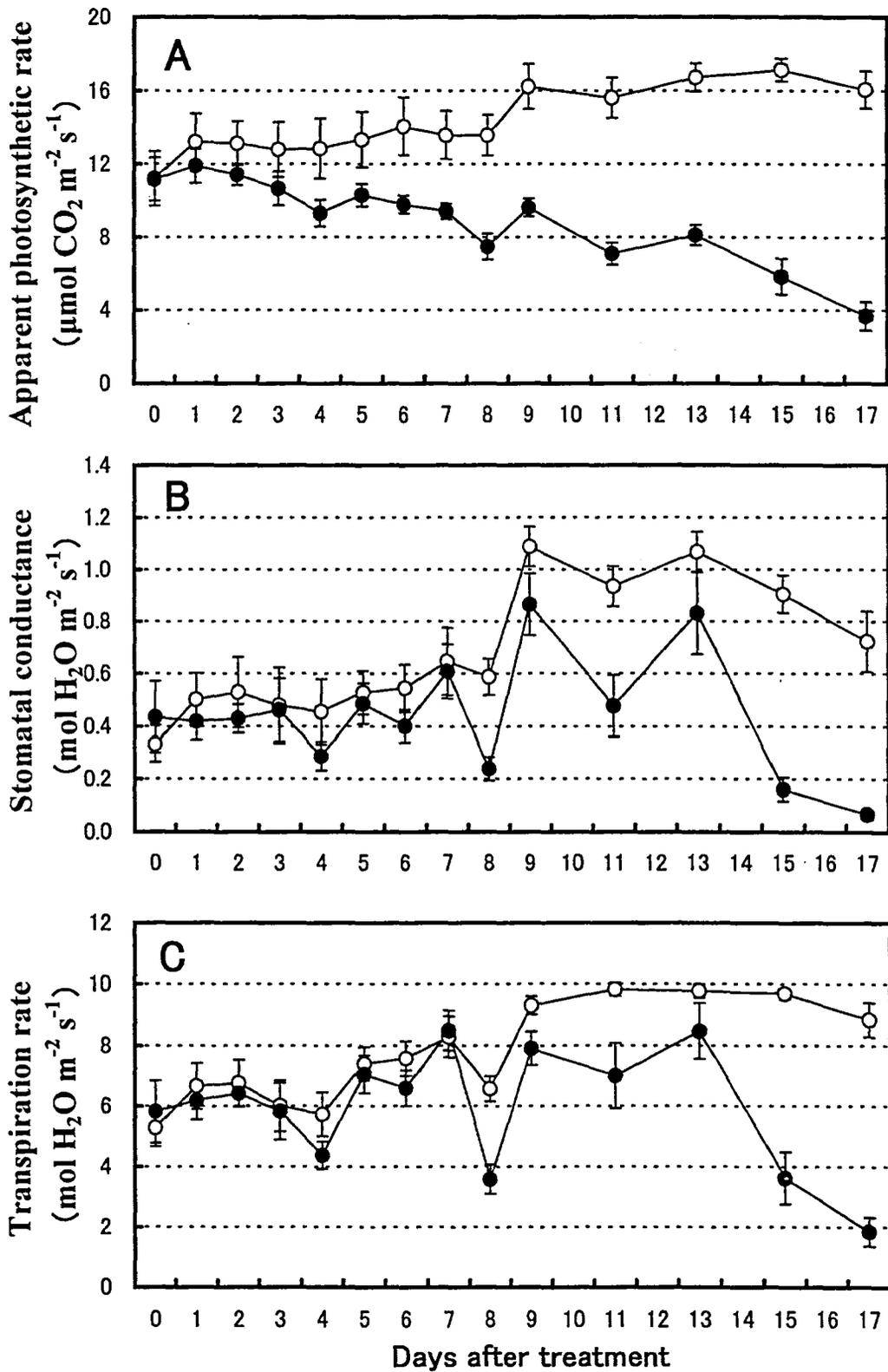
**Fig.29.** The effect of N deficiency on diurnal changes of stem diameter of tomato plants. On each occasion, the diameter changes in both control and N deficient plants were recorded with reference to 'Zero change' at midnight (0:00 h). Control (fine line), N deficiency (thick line) and PAR (most bottom line).



**Fig.30.** The effect of N deficiency on changes in fruit diameter in tomato. Changes in fruit diameter were monitored by shrinkage type micro-displacement detector. Data represent the means of three plants. Control (fine line), N deficiency (thick line) and PAR (most bottom line).



**Fig.31.** The effect of N deficiency on diurnal changes of fruit diameter of tomato plants. On each occasion, the diameter changes in both control and N deficient plants were recorded with reference to 'Zero change' at midnight (0:00 h). Control (fine line), N deficiency (thick line).



**Fig.32.** The effect of N deficiency on (A) apparent photosynthetic rate, (B) stomatal conductance and (C) transpiration rate of the leaf immediately below the second truss of tomato. Control (white circle), N deficiency (black circle). Vertical bars denote SEM for each value.

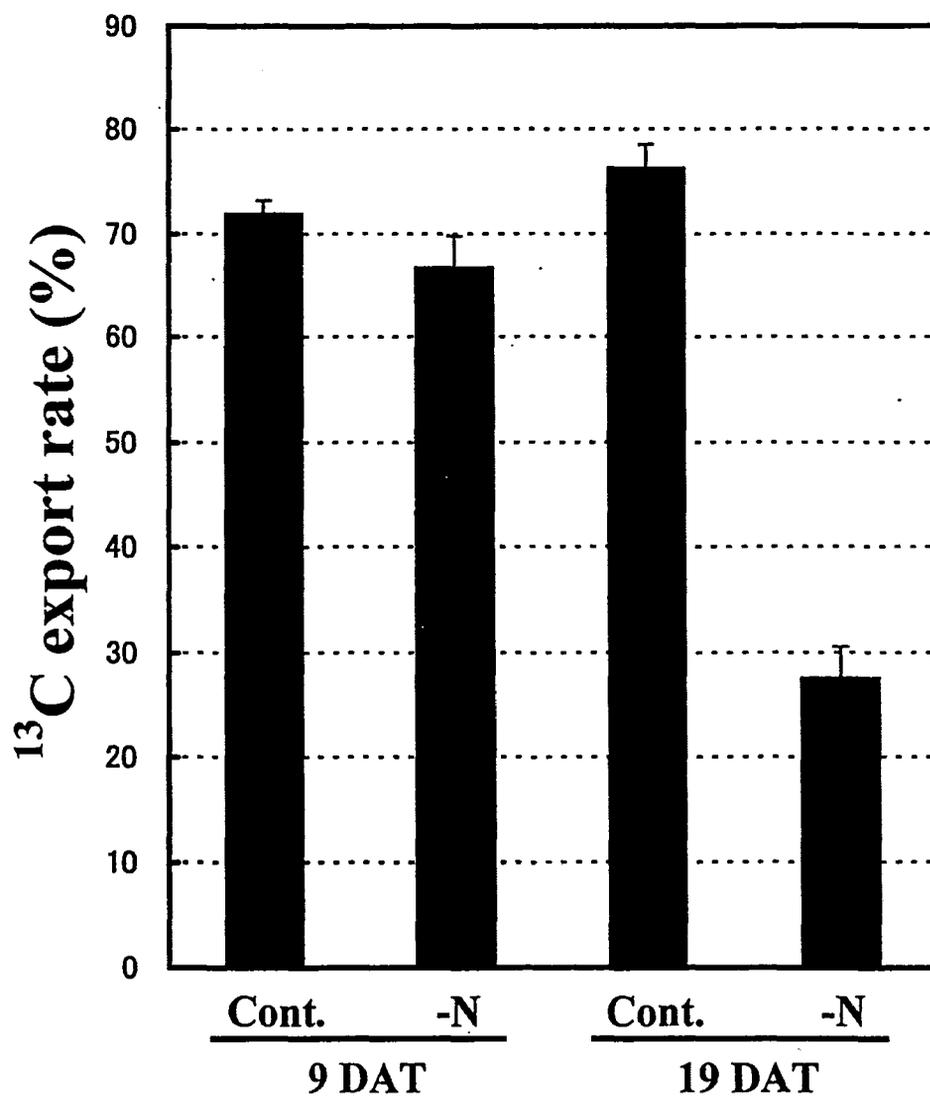


Fig. 33. The effect of N deficiency on  $^{13}\text{C}$  export rate from the leaf immediately below the first truss of tomato at 9 and 19 days after treatment (DAT). Cont.: control; -N: N deficiency.

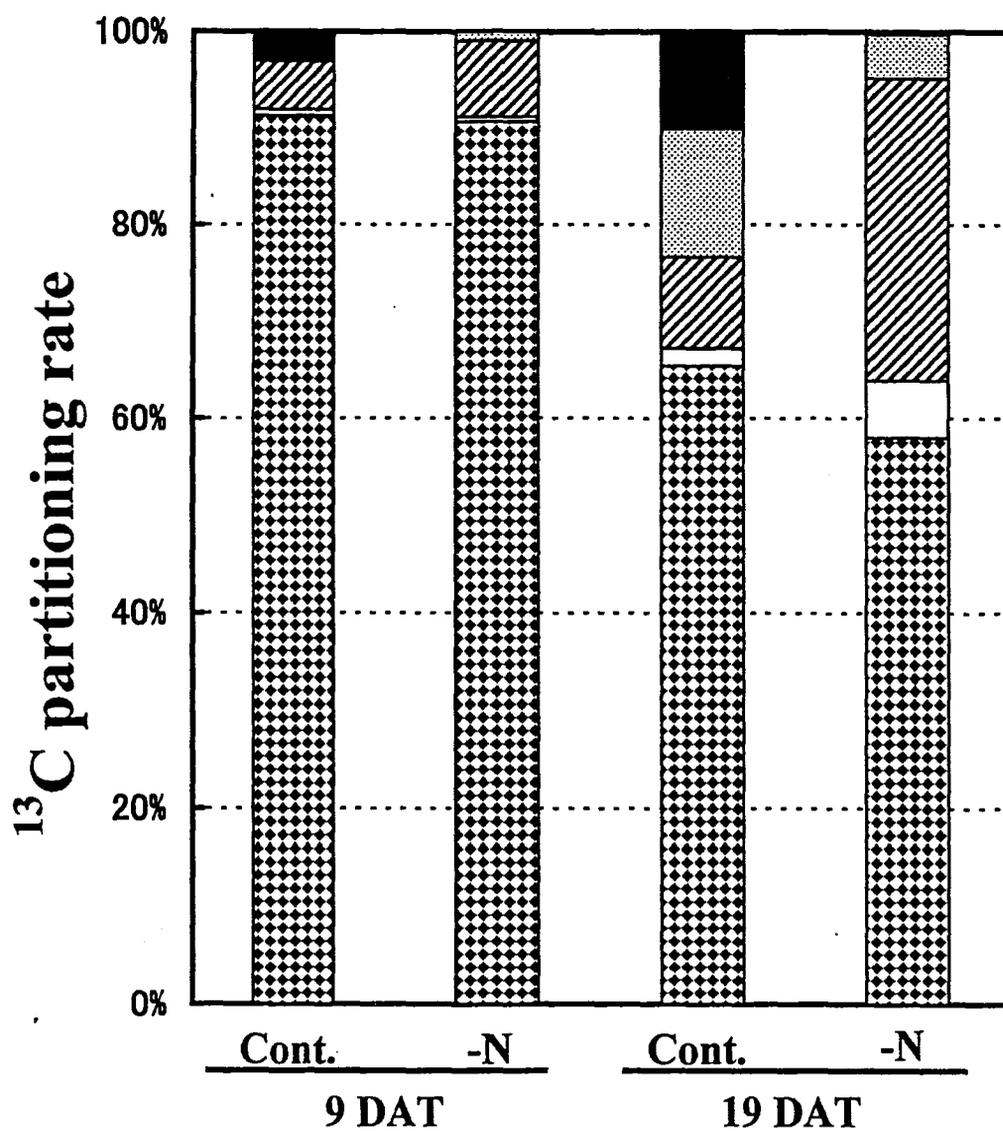


Fig.34. The effect of N deficiency on  $^{13}\text{C}$  partitioning among various part of tomato plant at 9 and 19 days after treatment (DAT). Cont.: control; -N: N deficiency. 1st fruits (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted) and peduncle (black).

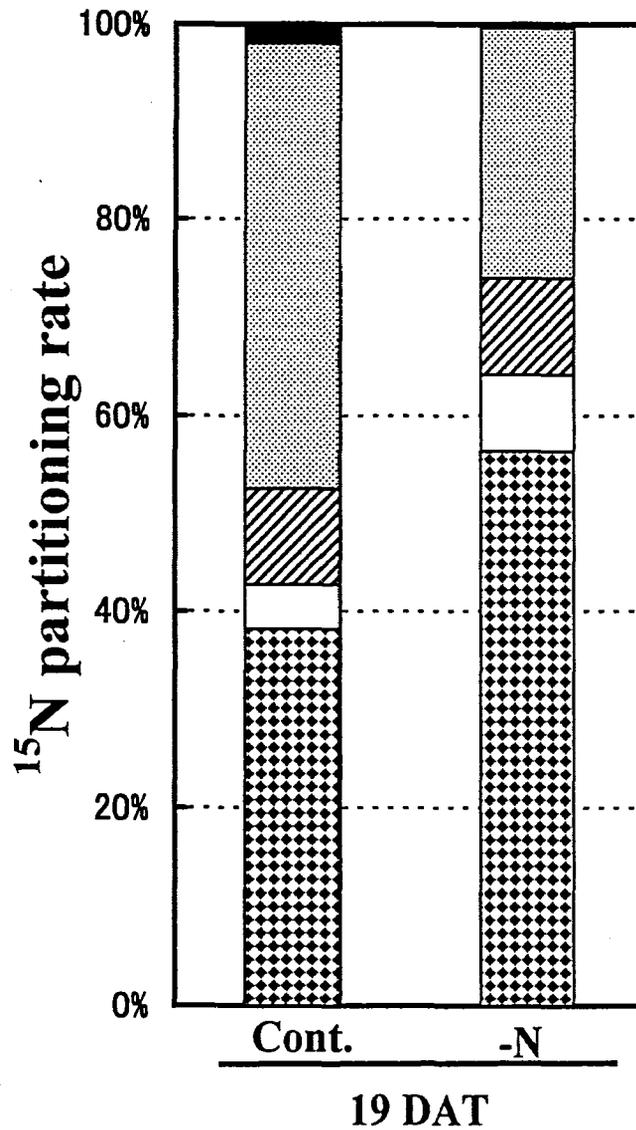


Fig.35. The effect of N deficiency on  $^{15}\text{N}$  partitioning among various part of tomato plant at 19 days after treatment (DAT). Cont.: control; -N: N deficiency. 1st fruits (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted) and peduncle (black).

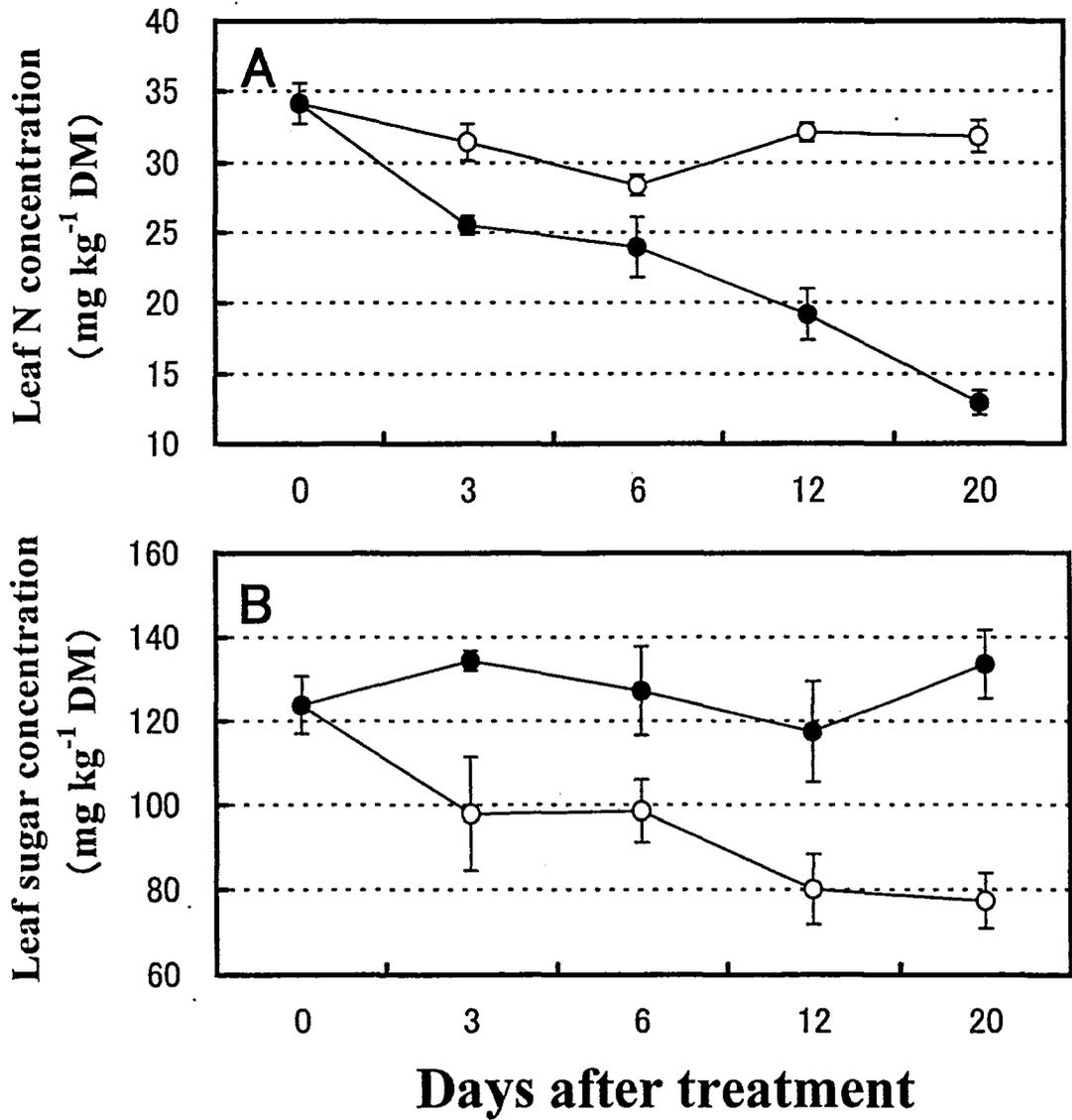


Fig.36. The effect of N deficiency on (A) N concentration and (B) sugar concentration of the leaf immediately below the second truss of tomato. Control (white circle), N deficiency (black circle). Vertical bars denote SEM for each value.

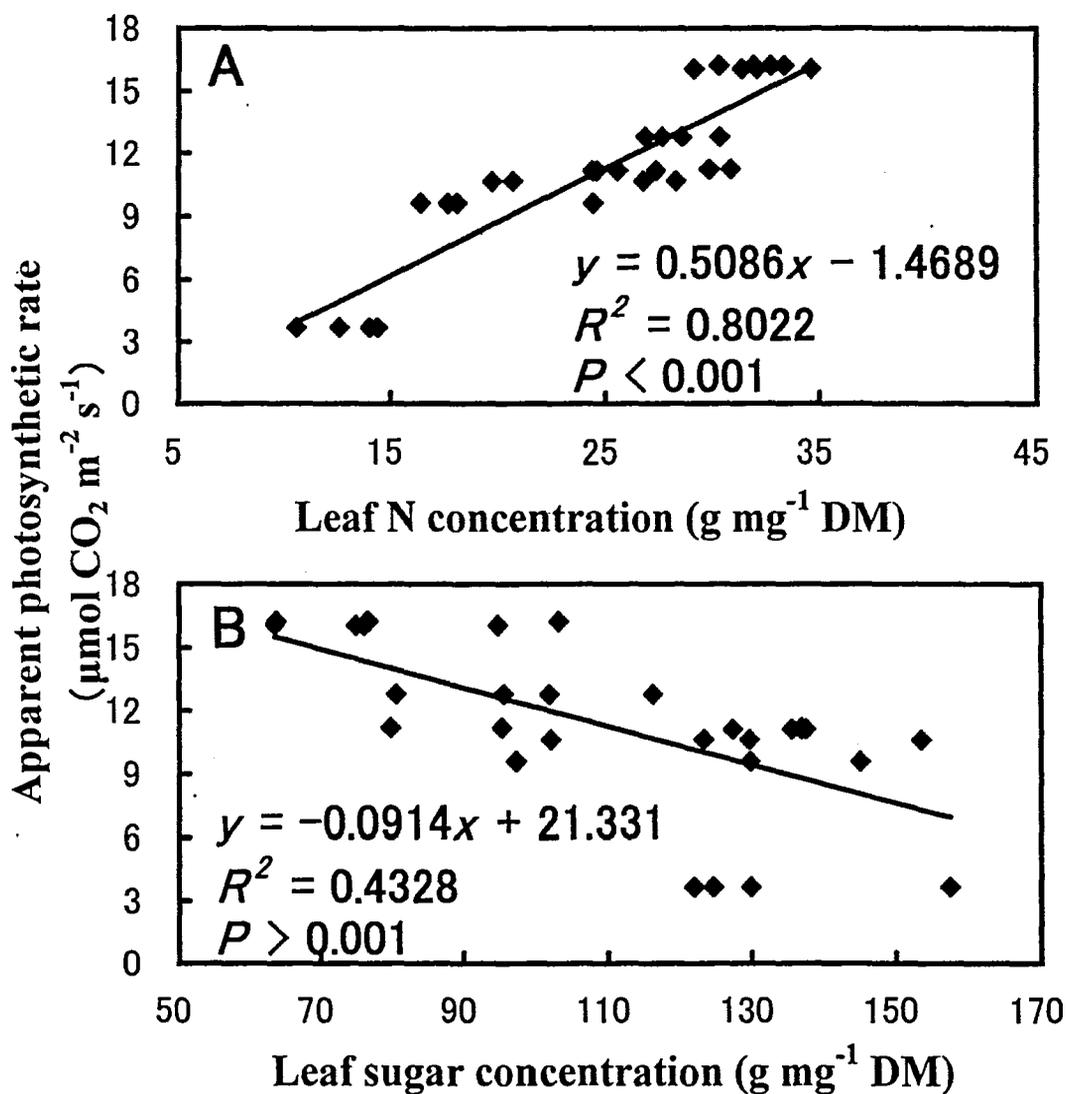


Fig.37. Relationship between (A) leaf N concentration and apparent photosynthetic rate, (B) leaf sugar concentration and apparent photosynthetic rate.  $R^2$  is the linear regression coefficient squared.  $P$  is level of significance.

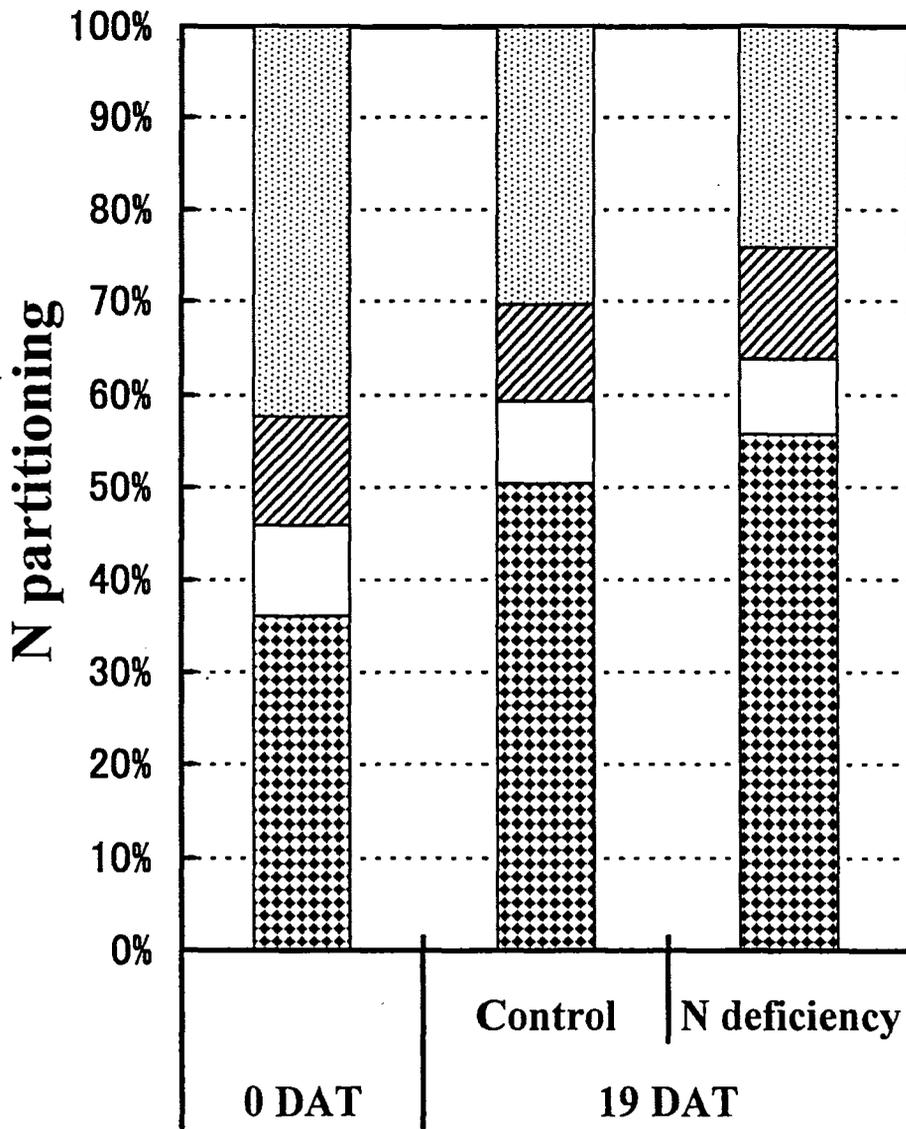


Fig.38. The effect of N deficiency on N partitioning among various parts of tomato plant at 0 and 19 days after treatment (DAT). Fruit (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe) and leaves (spotted).

## 考察

### ソース・シンク関係から見た N 欠乏

N 欠乏は植物に対して様々な影響を与える。本研究ではトマトを用いてこの応答を光合成速度、果実・茎径肥大速度、 $^{13}\text{C}$  転流・分配状態、 $^{15}\text{N}$  分配状態、N 濃度・集積・分配状態などのパラメータから比較した。

これらのパラメータのうち、光合成速度をソース能の指標、果実・茎径肥大速度をシンク能の指標とすると、光合成速度は処理開始直後から低下し (Fig.32A)、果実肥大速度は処理によって影響を受けなかった (Fig.30, 31)。また、茎径肥大速度は処理 1 日目から影響を受けたが、生長は阻害されていなかった (Fig.28)。以上の結果から N 欠乏では、シンク能よりもソース能が早期に阻害を受けて光合成能が低下し、バイオマス生産の低下を招いていると推察される。

### ソース低下のメカニズム

N 欠乏処理を開始した直後から光合成速度の低下が確認された (Fig.32A)。この低下は処理の継続によって拡大されつつ推移した。その間、葉身の N 濃度は経時的に低下し、糖濃度は対照区を上回った (Fig.36AB)。加えて、光合成速度は N 濃度と正の相関があり、糖濃度と負の相関が見られた (Fig.37AB)。すなわち、光合成速度の低下にはこの二つの要因が関与することが示唆され、これまでの多くの報告と一致している。例えば、N 欠乏によって葉中の糖類の濃度が上昇し (Nielsen et al 1998)、その結果、光合成に関する遺伝子の発現を促す事例が報告されている (Koch 1996, Morcuende et al 1997, Felitti and Gonzalez 1998)。一方で、N の欠乏自体が光合成速度に影響を与え (Evans and Terashima 1987)、この原因がクロロフィル含有量低下に由来する事象や (Nielsen et al 1998, Zhao et al 2005)、ルビスコ活性 (Heitholt et al 1991) や量 (Osaki et al 1993) に起因するという症状が報告されている。

また、Paul and Discoll (1997) は葉中の C/N 比の変化が光合成速度低下の原因であると指摘している。

このように、光合成速度に対する葉内での N と C の挙動は単体での作用、相互作用の双方が考えられているが、メカニズムの完全な解明にはいたっておらず (Paul and Foyer 2001)、不明の点が多い。

## 茎径変化に対する N 欠乏の影響

茎径の生長に注目すると、N 欠乏処理により処理 4 日目から 14 日目まで茎径は対照区を上回った。その後、処理 15 日目から、対照区の茎径は急速な生長を見せ、対照区と処理区の関係は逆転した (Fig. 28)。これらの応答がどのような生理的要因によって発生したかは不明であるが、茎径が水分による変動と生長による肥大によって変化することから、N 欠乏がこれらの要因に対して影響を与えていると推察される。

N 欠乏が茎径に与える影響は以下の要因が考えられる。

### ①糖の蓄積

植物内に取り込まれた N は炭素化合物の一部としても使用され (Taiz and Zeiger 2002)、アミノ酸合成に際してはその骨格部分に利用される。N 欠乏処理によって植物中の N は不足し、アミノ酸合成は滞り、可溶性炭水化物 (糖) は植物器官内に蓄積したと推察される (Taiz and Zeiger 2002)。糖は細胞の浸透圧調整物質として働くことが知られており (Serraj and Sinclair 2002, Basu et al 2007)、これらは水分状態の変化を通じて茎径の変動に影響を与えると考えられる。

### ②有機酸の蓄積

N 欠乏によって硝酸還元において使用される有機酸や糖類を上昇させることから

(Steingrover et al 1986, Rufty et al 1988, Urbanczyk-Wochniak and Fernie 2005)、N 欠乏によって、糖、有機酸の蓄積により浸透圧調整を変動させ、これらの変動が複雑に絡み合った結果が茎径変化に反映されていると推察される。

## 果実径変化に対する N 欠乏の影響

$^{13}\text{C}$  転流率に注目すると、処理 9 日目までは N 欠乏による差異は認められなかったが、その後大きく低下した (Fig.33)。加えて、 $^{13}\text{C}$  分配率も同様に、処理 9 日目までは果実に対する分配率に大差はみられなかったが、19 日目では低下した (Fig.34)。しかしながら、果実径は処理期間を通じて対照区とほぼ同様の推移を示した (Fig.30)。果実径も茎径と同様に、水による可逆的な生長と、炭素の蓄積による不可逆的な生長によって支配されていることから (Fujita et al 2003b)、処理 9 日目以降、果実径は水分によって調節されていたことが示唆される。

この現象を支持する他の結果として、乾物重が挙げられる (Table 8, Fig. 27)。乾物重に注目すると、処理後 9 日目まで果実の乾物重に差は見られず、19 日目に減少が確認された。果実径の結果と合わせると、処理 9 日目以前では N 欠乏によって果実の水分含量が僅かに低下したため果実径が減少し (Fig.31A, B)、その後、果実の乾物生産が抑制され、それと入れ替わるように水分の要求が上昇し、果実径を対照区と同じレベルまで維持している事が示唆される。

一方で、 $^{15}\text{N}$  分配率に注目すると、N 欠乏処理によって果実へ積極的に植物内の N が再転流されている (Fig.35)。既往の研究成果によると、根から吸収された硝酸態窒素は蒸散流に乗って葉に転流されることが示唆されているが (McDonald et al 2002)、果実への N 再転流に関しても水分の移動と密接に関わっている可能性がある。

## N 欠乏による植物水分状態の変化

N 欠乏処理の開始後 3 日の間に、1 日の茎径肥大量に対する影響は認められなかった (Fig.28)。しかしながら、茎径の日変化に注目すると、日中の茎径収縮は大きく軽減され、夜間の肥大は対照区よりも遅れた (Fig.29A)。トマト果実・茎径の規則的な日周変動は、個体内の水分量の変化と強い相関関係にあり (Johnson et al 1992)、器官の径は根からの吸水と、葉からの蒸散によってコントロールされている。本研究結果では、蒸散速度は処理開始 8 日目から低下し (Fig.32C)、処理 7 日目までは蒸散速度の差は確認されていない。すなわち、日中の茎径収縮の軽減は根の吸水が促進されたためと考えられ、一時的なアクアポリン活性の増加が暗示される。このような水分状態の変化は、水圧の変動となってシグナルを伝達する役割があり (Proseus et al 2000)、栽培環境中の栄養状態を察知している可能性がある (Clarkson et al 2000)。

本章の結果は N 欠乏がアクアポリン活性を高めることを示唆したが、これは他の報告とは一致しない。例えば、Clarkson ら (2000) や Gloser ら (2007) は N ストレスを与えることで根の水透過性が低下し、根の吸水能力が減少したことを示している。しかしながら、両グループの報告は植物体の破壊することで得られた結果を元に議論を進めているのに対し、歪ゲージ式変位計を使用した結果は植物体の破壊を伴わない。このような差異は、N 欠乏が植物体に与える影響が一致しない原因を作ると考えられる。非破壊による植物体の調査結果を使用し、蒸散とアクアポリン活性の関係を明白にすることで、栄養欠乏による水分状態の変化をより正確に捉える事が可能であると考えられる。

また、茎径変化は現在ブドウ (Imai et al 1991) やモモ (Simonneau et al 1993) の水分管理の指標として用いられているが、N 欠乏、P 欠乏 (Fujita et al 2003b)、K 欠乏 (第 2 章、第 3 章) で異なることから、栄養欠乏の早期診断にも利用できる可能性がある。

## 第5章

### 茎径変化によるトマトの栄養診断

## 緒論

植物生産は栽培環境に強く依存している。植物の生理機能に悪影響を与える栽培環境を環境ストレスと呼び、例えば、栄養ストレス、水ストレス、塩ストレス等があげられる。植物が環境ストレスを受けると、植物の生理機能は影響を受け、植物生産性が低下する。生産現場ではこれらの回避のため葉色、果実色または草丈を指標にストレスを診断してきた（農山漁村文化協会 1984）。しかしながら、目視によるストレス診断は明確な基準として設定できず、それゆえ、ストレスの評価の客観性が乏しくなり、再現性が低い。

近年、環境ストレスの客観的な評価方法の開発が進められてきた（Ehret et al 2001, Kacira et al 2005）。植物器官の形態変化を指標とした診断方法として、植物水ポテンシャル連続測定システム（Stem hygrometer: Dixon et al 1984）、差動変圧器システム（LVDT: Salager et al 1991, Ginestar and Castel 1998）などが挙げられ、植物の吸水、蒸散、水分含量と高い正相関を示す植物器官の径変動が水分状態の指標として用いられている。また、植物の水分状態を左右する温度、光、湿度などの環境因子も径変動によって間接的に測定できる（Grange and Andrews 1993, Pearce et al 1993a, b, Yao et al 2000）。

また、既往の研究によって、植物器官の径変動が必ずしも水分状態だけに支配されていない事が示唆された。例えば、Ehret and Ho（1986）は水耕培養液中の電気伝導度の違いによって果実径の変動が異なる事を示している。また、土耕栽培環境下では、施肥が植物器官に与える影響に注目し、茎径や節間長を指標に栄養診断を行うという試みもなされている（久保 1990）。

一方、水耕栽培環境下では精密な培養液濃度の調節が可能なことから、N 欠乏（第 4 章）、P 欠乏（Fujita et al 2003b）、K 欠乏（第 2 章、第 3 章）への応答がトマトを用いて調査されている。これらの研究結果から、茎径がそれぞれの栄養欠乏の発現の初期（処理開始 1~3

日目) に特徴的な応答を示すことが判明している。

そこで本章では、N、P、K 欠乏による特徴的な茎径変化からトマトの栄養診断を行い、施肥量を節減し、かつ果実収量を維持する診断法について検討した。

## 材料と方法

### トマトの生育および栽培環境

供試植物は広島大学精密圃場内ガラス室の自然光条件下で栽培した。トマト（品種桃太郎 8）をセルポットに播種し、育苗した苗を実験に用いた。播種後 36 日目にトマト苗を水耕栽培用バットに移植し（70L バット使用、エアレーション有り）、培養液（第 2 章材料と方法）を週 1 回交換し、1N 水酸化ナトリウムと 1N 塩酸を用いて pH を 5.8~6.2 へ 1 日 1 回調整した。

### 茎径を用いた栄養欠乏の判定法

播種後 68 日目（第 1 果房肥大期）の植物個体を用いて以下の処理区を設け、20 日間にわたり処理を継続した。

対照区：完全培養液（第 2 章 材料と方法）

N 欠乏区：完全培養液から N（硝酸カルシウム）を除外

P 欠乏区：完全培養液から P（リン酸二水素ナトリウム）を除外

K 欠乏区：完全培養液から K（塩化カリウム、硫酸カリウム）を除外

N, P, K 欠乏区：完全培養液から NPK（硝酸カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、塩化カリウム、硫酸カリウム）を除外

それぞれの区は、70L バットにトマト 3 個体を栽培し、この区を 2 反復もうけた。この 6 個体のトマトのうち、無作為に抽出した 1 個体に歪みゲージ式変位計を設置した (Fig.17, 特願 2008-071991)。

N 欠乏区、P 欠乏区、K 欠乏区で処理開始日よりモニタリングした茎径変化を 24 時間毎

に对照区と比較し、植物体の応答パターンの差異から、N、P、K 欠乏を判別した。

以下に N 欠乏を例に判別法の手順について述べる (Fig. 39)。

① 茎径を 24 時間にわたってリアルタイムで測定し、N 欠乏区における茎径変化を对照区と比較し、② N 欠乏区の茎径変化が N 欠乏の症状を呈した時 (特願 2008-071991) を供試作物が欠乏症状を発現した時とし、③ ②が確認された翌日 A.M. 7:30 に N 欠乏区の片方の植物に 40ppm N (对照区と同様の濃度) となるように N を添加した。同様の方法によって P および K についても判別を行った。

以下にそれぞれの欠乏症の特徴 (特願 2008-071991 に準ずる症状) を説明する。第 1 暗期、明期、第 2 暗期は Fig. 40 を参照。

N 欠乏 : 欠乏処理によって、明期において茎径収縮が对照区の個体よりも小さく、かつ、第 2 暗期に入り茎径回復が見られる中で、第 1 暗期で对照区の茎径の最大値に对照区が達するより、第 1 暗期で欠乏個体の茎径の最大値に栄養欠乏個体が達する方が遅い場合、この栄養欠乏を N 欠乏と判定する (Fig.40, 第 4 章)。

P 欠乏 : 欠乏処理によって、明期における茎径収縮が对照区よりも小さく、かつ、第 2 暗期に入り茎径回復が見られる中で、【第 1 暗期で对照区の茎径の最大値に对照区が達する】より、【第 1 暗期で欠乏個体の茎径の最大値に栄養欠乏個体が達する】方が早いという条件を満たした場合、この栄養欠乏を P 欠乏と判定する (Fig.40, Fujita et al 2003b)。

K 欠乏 : 欠乏処理によって、明期において茎径収縮が对照区よりも大きく、かつ、第 2 暗期に入り茎径回復が見られる中で、【第 1 暗期で对照区の茎径の最大値に对照区が達する】よ

り、【第1暗期で欠乏個体の莖径の最大値に栄養欠乏個体が達する】方が遅いという条件を満たした場合、この栄養欠乏をK欠乏と判定する (Fig.40, 第2章)。

## 生育量の測定

処理後0および20日目の個体をそれぞれ3個体ずつ採取し、葉、莖、根、第1果房および第2果房に仕分けて新鮮重を測定し、70℃で7日間熱風乾燥した。乾燥後の試料を電子天秤により秤量し、生育量を求めた。

## 結果

### 生育量

#### (i) N 欠乏と N 再供給処理

処理 20 日目の個体乾物重は N 欠乏によって対照区の約 60%にまで減少した (Table 11, Fig. 47, 対照区 : 156.9±6.7g、N 欠乏区 : 94.6±5.4g)。この減少は、果実で最も著しく (51.1%) 次いで葉 (54.2%)、茎 (66.5%)、根 (68.1%) と続いた。一方、茎径によって N 欠乏を診断し、N 再供給処理を行った区では、個体乾物重が対照区の約 78%にとどまった (対照区 : 156.9±6.7g、N 再供給区 : 121.6±12.1g)。N 欠乏区と N 再供給区の乾物重を比較すると、N 添加によって葉の乾物重の低下が最も軽減され、以下、根、茎、果実の順となった。

#### (ii) P 欠乏と P 再供給処理

処理 20 日目の個体乾物重は P 欠乏によって対照区の約 65%にまで低下した (Table 11, Fig. 47, 対照区 : 156.9±6.7g、P 欠乏区 : 102.5±15.4g)。この低下は、果実で特に著しく (約 21%)、次いで葉 (74.0%)、茎 (74.6%) および根 (76.6%) で高かった。一方、茎径によって P 欠乏を診断した後、P 再供給処理によって、乾物重が対照区の約 94%に回復した (対照区 : 156.9±6.7g、P 再供給区 : 148.1±4.0g)。P 欠乏区と P 再供給区の乾物を比較すると、P の再供給によって果実重の減少が最も軽減され、ついで葉、茎、根と続いた。

#### (iii) K 欠乏と K 再供給処理

処理 20 日目の個体乾物重は K 欠乏によって対照区の 64%にまで低下した (Table 11, Fig. 47, 対照区 : 156.9±6.7g、K 欠乏区 : 100.4±0.4g)。この低下は、茎で最も著しく (約 60%) 次いで果実 (64.1%)、葉 (65.0%)、根 (78.9%) と続いた。一方、茎径によって K 欠乏を診断し、K を再供給した区では、乾物重が対照区の約 75%にとどまった (対照区 : 156.9±6.7g、

K 再供給区：117.2±4.1g)。K 欠乏区と K 再供給区の乾物を比較すると、K 添加によって葉重の低下が各器官中最も軽減され、根、茎と続いた。しかしながら、果実重では K 欠乏区よりも低い値を示し、K 欠乏区の 94%であった (K 欠乏 17.2±1.4g : K 添加 16.1±6.1g)。

#### (iv) NPK 欠乏

処理 20 日目の個体乾物重は NPK 欠乏によって対照区の 52%にまで低下した (Table 11, Fig. 47, 対照区：156.9±6.7g、K 欠乏区：82.1±9.0g)。この低下は、茎で最も激しく (約 48%)、次いで葉 (53.2%)、果実 (54.1%)、根 (66.8%) と続いた。NPK 欠乏では各器官重とも全ての処理区の中で最も大きく減少した。

## 果実生産量

第 1 果房および第 2 果房の総果実生産量は対照区で最も大きく (26.9g)、次いで P 再供給区 (24.4g : 90.8%)、K 欠乏区 (17.2g : 64.1%)、K 再供給区 (16.1g : 60%) の順であった (Table 11, Fig. 48)。K 欠乏区は P 再供給区に次ぐ果実生産量を示したが、第 2 果房の着果が認められなかった。

一方、果実生産量が最も減少した区は P 欠乏区 (5.6g) で、対照区の 20.7%にとどまった。NPK 欠乏区 (14.5g)、N 欠乏区 (13.8g) および N 再供給区 (15.4g) の果実生産量は同様の値を示したが、N 再供給区では第 2 果房の着果がみられなかった (Table 11, Fig. 48)。

## 茎径変化

茎径は、全ての処理区で日照期間中に収縮し、日没期間中に肥大する日変化を示しながら、処理期間を通して生長した。以下に各欠乏症に分けて結果をまとめる。

(i) N 欠乏による茎径変化

N 欠乏によって処理開始 1 日目の日没後より茎径の肥大速度は低下した (Fig. 41)。茎径診断によると、処理開始 5 日目に N 欠乏症状を示し (Fig. 46)、翌 6 日目より N 添加区に N を 40ppm になるように添加した。N 添加によって茎径肥大速度は対照区を上回り (Fig. 45)、処理後 17 日目には対照区の茎径を上回った。一方で、N 欠乏を継続した区では、茎径の肥大速度の増加が見られず、常に対照区を下回った。

(ii) P 欠乏による茎径変化

処理開始 1 日目の日没後より茎径の肥大速度は P 欠乏によって低下した (Fig.42)。茎径による診断の結果、処理開始 5 日目に P 欠乏症状を示し (Fig.46)、翌 6 日目より P 再供給区に P を 10ppm になるように添加した。P 添加によって茎径肥大速度は対照区、P 欠乏区を上回り (Fig.45)、処理後 8 日目には対照区の茎径を上回った。また、P 欠乏を継続した区でも茎径の肥大速度の増加が観察され、処理 14 日目に対照区の直径を上回った。

(iii) K 欠乏による茎径変化

K 欠乏によって処理開始 2 日目の日没後より茎径の肥大速度は低下し、処理期間中を通じて K 再供給区、K 欠乏区が対照区の値を上回ることにはなかった (Fig. 43)。茎径を診断した結果、処理開始 5 日目に K 欠乏症状を示し始め (Fig. 46)、処理後 9 日目より K 再供給区に K を 40ppm になるように添加した。K 添加によって、日照時間中の茎径収縮が K 欠乏を継続した区よりも軽減されたが、肥大速度の増加は見られなかった (Fig. 45)。

(iv) NPK 欠乏による茎径変化

NPK 欠乏によって、処理 2 日目から茎径の肥大速度は低下し、処理期間中を通じて対照区を上回ることにはなかった (Fig. 44)。加えて、NPK 欠乏による茎径の日変化は、どの元素

を単体で欠乏させた場合の変化とも一致しなかった (Fig. 46)。日照時間中の茎径収縮はN欠乏、P欠乏と同様に軽減されるが、日没後の変化はK欠乏の変化と類似した。

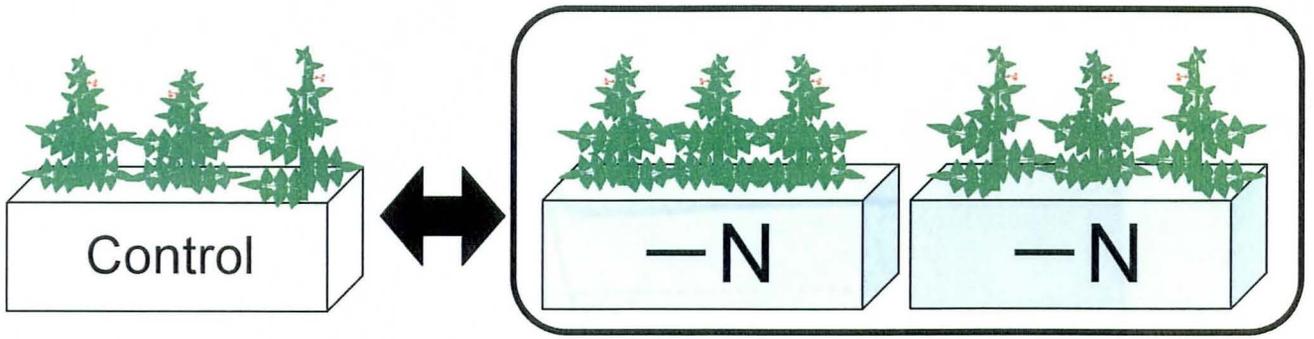
**Table 11.** The effect of nutrient deficiency and resupply on dry weight of tomato plant organs.

Days after treatment (DAT)	Dry weight (g plant <sup>-1</sup> )			
	0DAT		20DAT	
			Control	
1st fruit	-	±	-	19.13 ± 5.26
2nd fruit	-	±	-	11.63 ± 0.09
Amount of fruits	-	±	-	26.88 ± 2.93
Leaves	12.87	±	0.11	47.98 ± 2.26
Stem	16.06	±	0.91	67.72 ± 4.48
Root	5.75	±	0.29	14.30 ± 0.99
Whole plant	34.69	±	1.17	156.87 ± 6.70

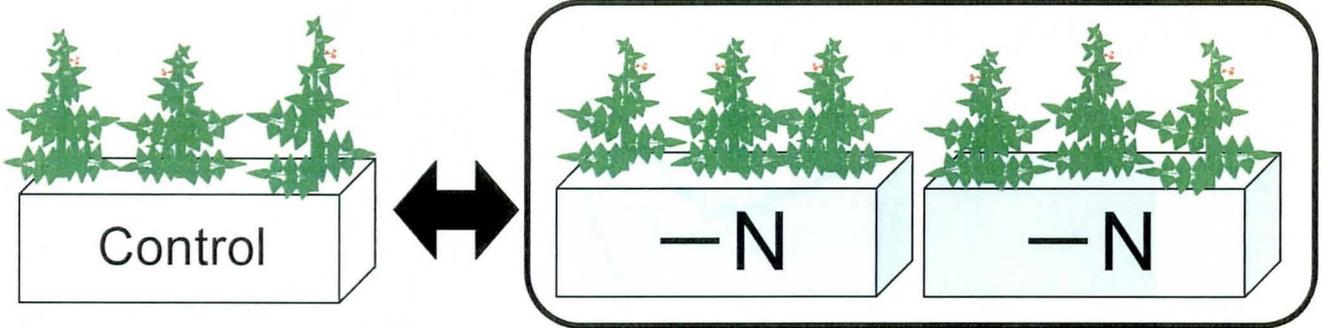
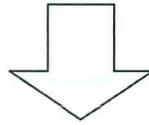
Values are given as average ±SEM.

	20DAT		
	-NPK	-N	Resupply N
1st fruit	12.02 ± 2.47	13.03 ± 2.18	15.43 ± 3.50
2nd fruit	3.77 ± 1.42	2.15 ± -	- ± -
Amount of fruits	14.54 ± 1.09	13.75 ± 1.56	15.43 ± 3.50
Leaves	25.51 ± 2.95	26.03 ± 2.86	41.28 ± 3.63
Stem	32.55 ± 3.82	45.04 ± 3.83	53.33 ± 4.76
Root	9.55 ± 1.24	9.74 ± 0.67	11.56 ± 1.00
Whole plant	82.15 ± 9.01	94.56 ± 5.39	121.59 ± 12.09

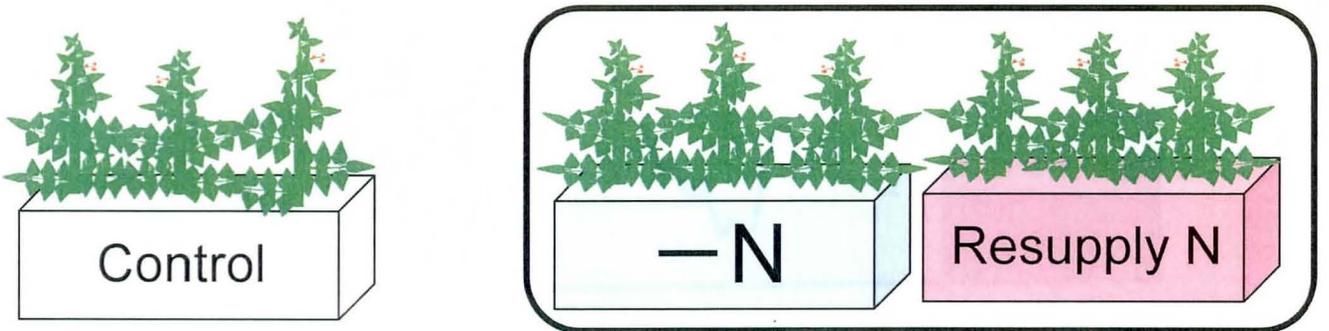
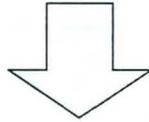
	20DAT			
	-P	Resupply P	-K	Resupply K
1st fruit	7.07 ± 3.61	14.67 ± 2.67	17.22 ± 1.41	13.88 ± 4.02
2nd fruit	2.53 ± -	14.60 ± 0.57	- ± -	6.80 ± -
Amount of fruits	5.55 ± 3.95	24.40 ± 7.06	17.22 ± 1.41	16.14 ± 6.12
Leaves	35.48 ± 5.26	48.86 ± 2.74	31.20 ± 1.18	38.86 ± 4.33
Stem	50.48 ± 10.06	63.14 ± 5.25	40.75 ± 0.59	49.55 ± 3.85
Root	10.95 ± 1.34	11.70 ± 0.37	11.28 ± 0.31	12.67 ± 1.32
Whole plant	102.47 ± 15.42	148.10 ± 4.04	100.44 ± 0.40	117.22 ± 4.11



①. The stem diameter of control and  $-N$  were compared by a shrinkage type micro-displacement detector during 24h.

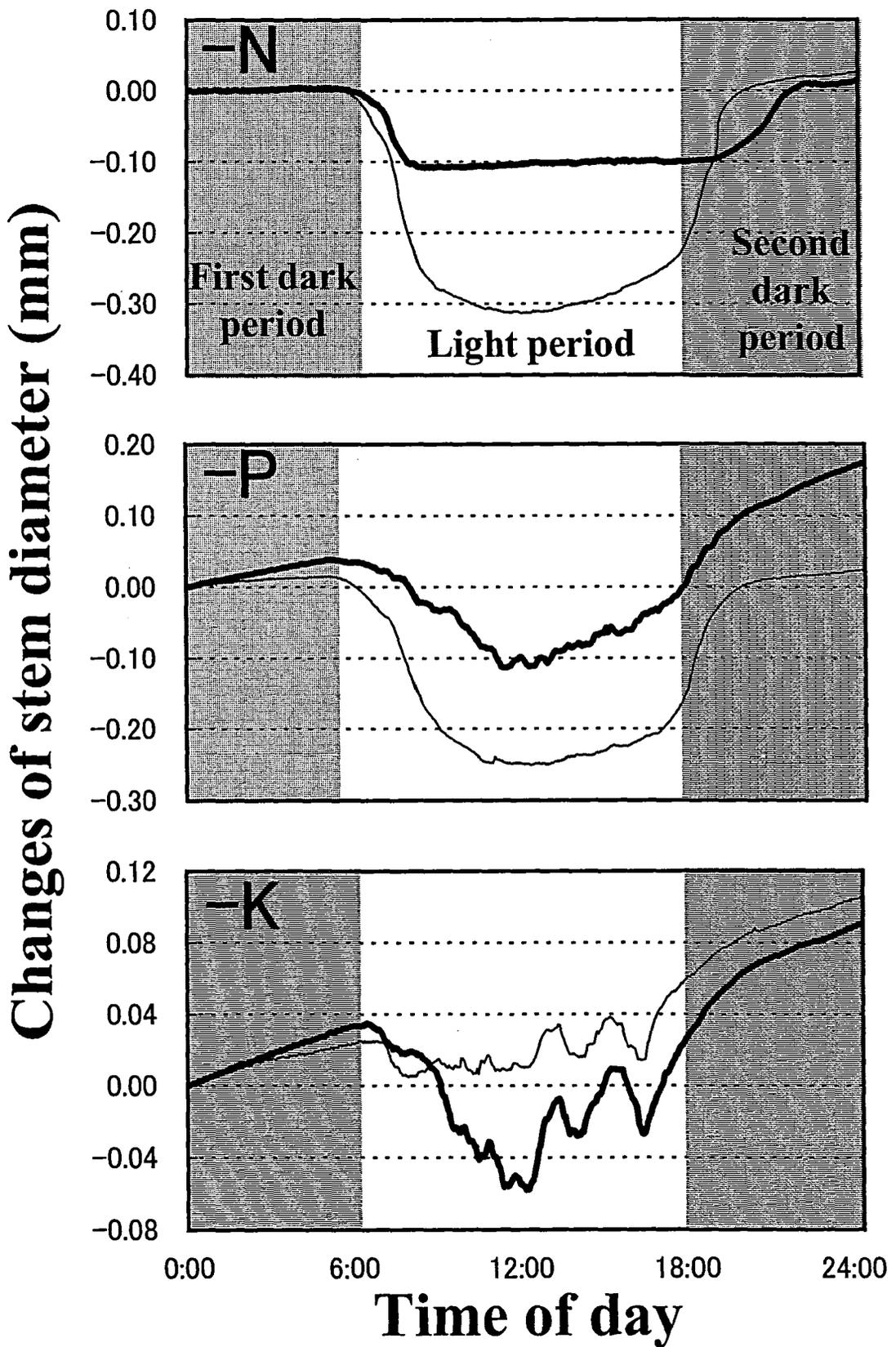


②. Difference in changes of stem diameter of control and  $-N$  plants were monitored by a shrinkage-type micro-displacement detector.



③. Treatment of resupply N was started from the next morning at A.M.7:30.

**Fig. 39.** Diagnostic procedure of nutrient deficiency by changes in stem diameter monitored by a micro-morphometry technology.



**Fig. 40.** Changes of stem diameter and nutrient stress. The effect of nutrient deficiency on diurnal changes in stem diameter of tomato plants. On each occasion, the diameter changes in both control and nutrient stress (-N or -P or -K) plants was recorded with reference to 'Zero change' at midnight (0:00 h). Control (fine line), N, P and K deficiency (thick line). First and second dark period show sunrise and sunset periods.

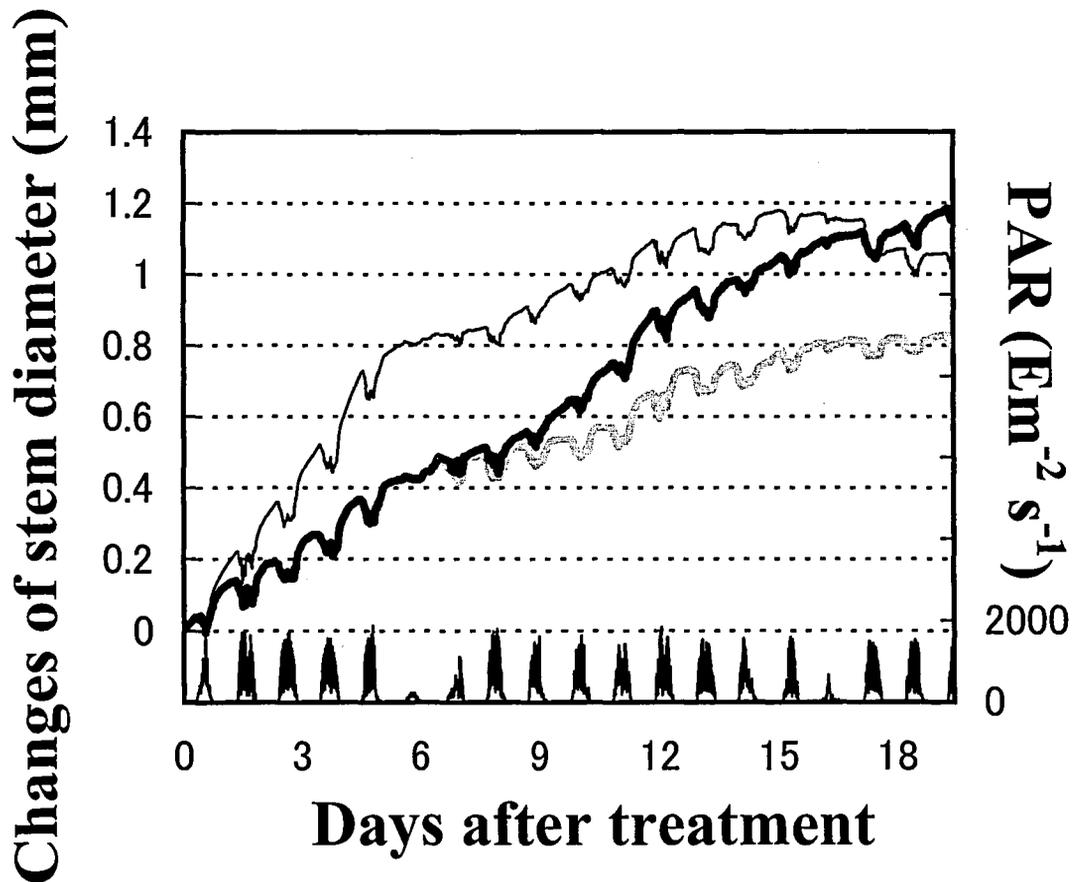
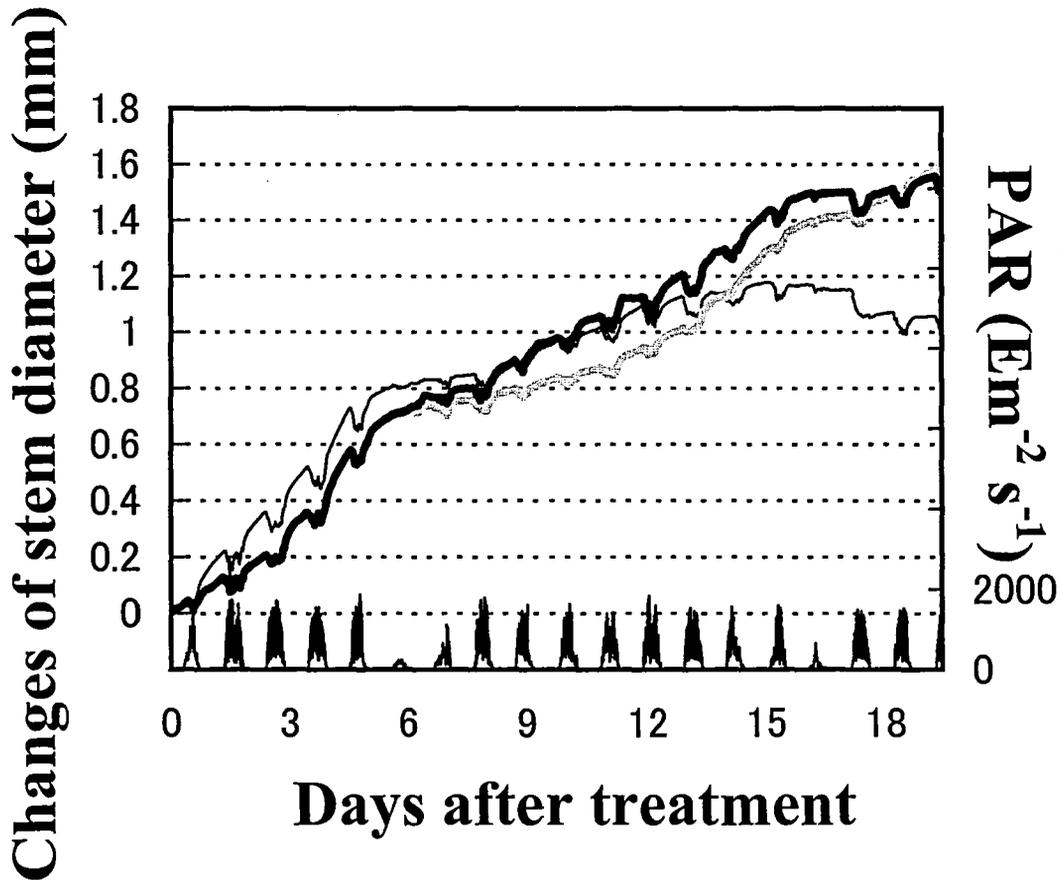
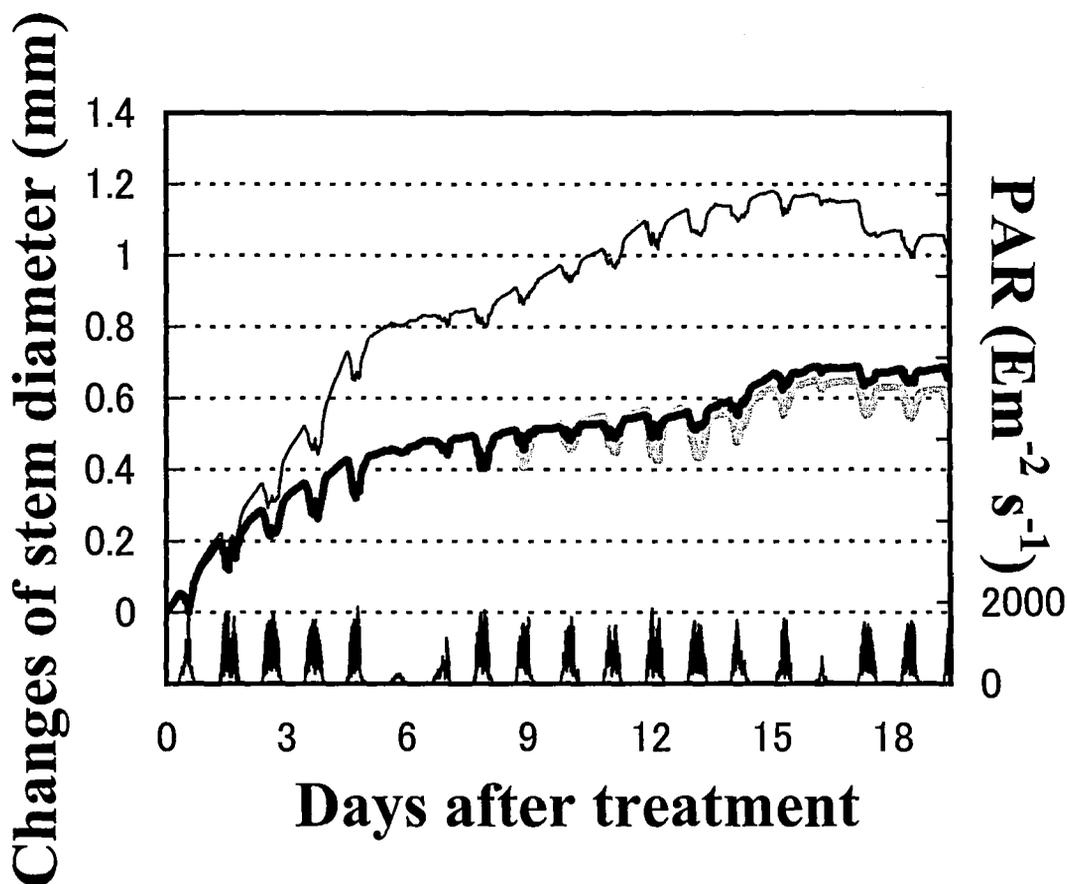


Fig. 41. The effect of N deficiency on diurnal changes in stem diameter of tomato plants. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Data represent the means of three plants. Control (fine line), -N treatment (gray line), resupply N treatment (thick line) and photosynthetically active radiation (PAR: most bottom line). In the resupply N area, tomato plants were made the diagnosis of N deficiency by micro-morphometry of stem diameter at 5DAT was added to culture medium at 6 DAT A.M. 7:30.



**Fig. 42.** The effect of P deficiency on diurnal changes in stem diameter of tomato plant. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Data represent the means of three plants. Control (fine line), -P treatment (gray line), resupply P treatment (thick line) and PAR (most bottom line). In the resupply P area, tomato plants were made the diagnosis of P deficiency by micro-morphometry of stem diameter at 5DAT and P (10 ppm) was added to culture medium at 6 DAT A.M. 7:30.



**Fig. 43.** The effect of K deficiency on diurnal changes in stem diameter of tomato plant. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Data represent the means of three plants. Control (fine line), -K treatment (gray line), resupply K treatment (thick line) and PAR (most bottom line). In the resupply K area, tomato plants were made the diagnosis of K deficiency by micro-morphometry of stem diameter at 8DAT and K (40 ppm) was added to culture medium at 9 DAT A.M. 7:30.

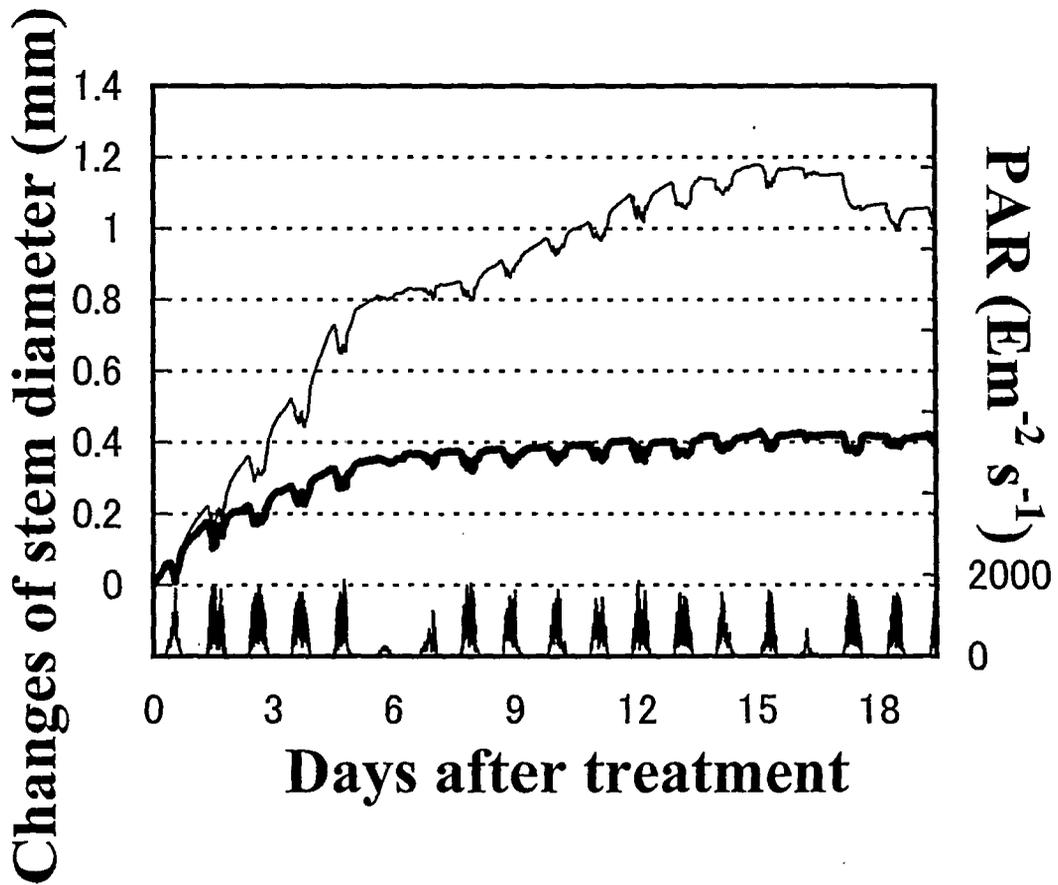
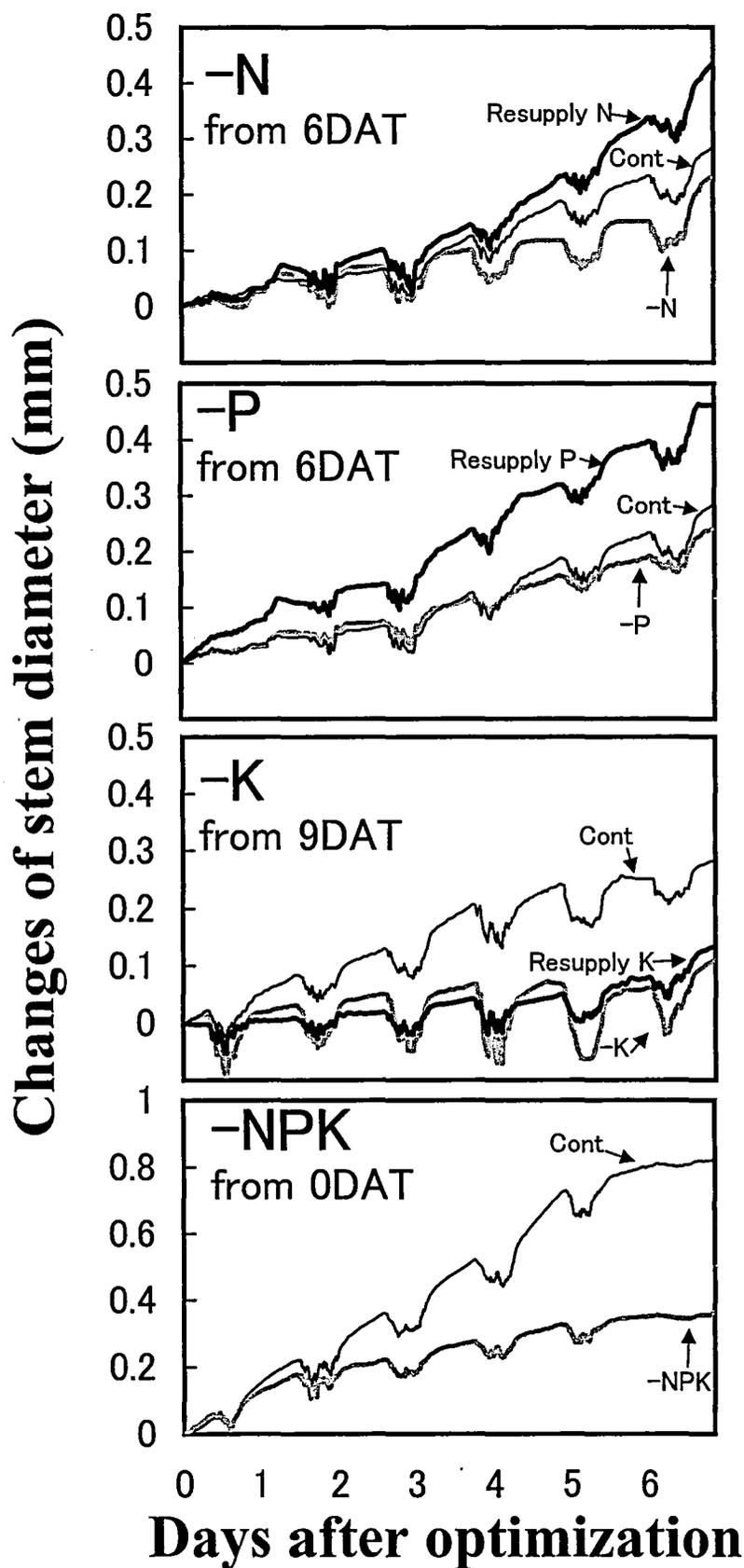


Fig. 44. The effect of N, P and K deficiency on diurnal changes in stem diameter of tomato plant. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Data represent the means of three plants. Control (fine line), -NPK treatment (thick line) and PAR (most bottom line).



**Fig. 45.** The effect of nutrient deficiency on diurnal changes in stem diameter of tomato plant. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Control (fine line); -N, -P, -K and -NPK treatment (gray line); N, P and K resupply treatment (thick line). The stem diameter changes in both control and nutrient stressed (-N, -P, -K and -NPK) plants were recorded with reference to 'Zero change' at the optimization day of culture medium (-N: 6DAT, -P: 6DAT and -K: 9DAT).

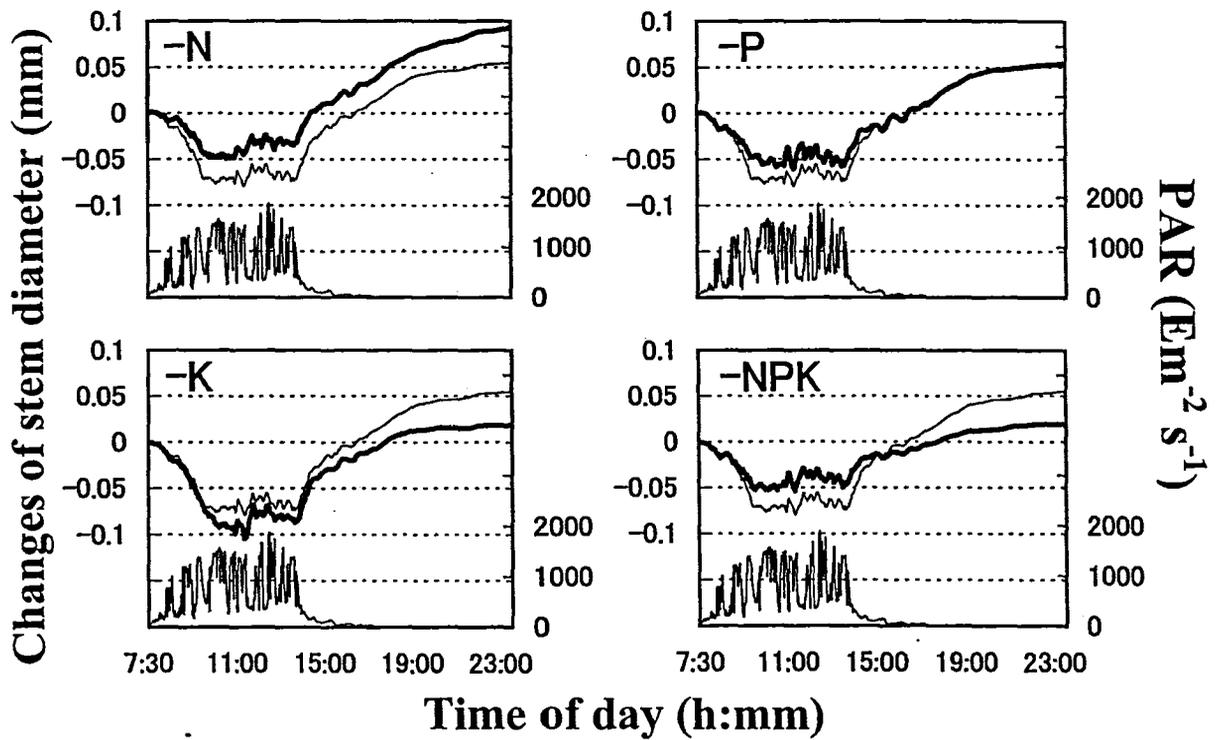


Fig. 46. The effect of nutrient deficiency on diurnal changes in stem diameter of tomato plants at 5 DAT. On each occasion, the diameter changes in both control and each nutrient deficient plant were recorded with reference to 'Zero change' at A.M. 7:30. Control (fine line), -N, -P, -K and -NPK treatment (thick line) and most bottom line is PAR.

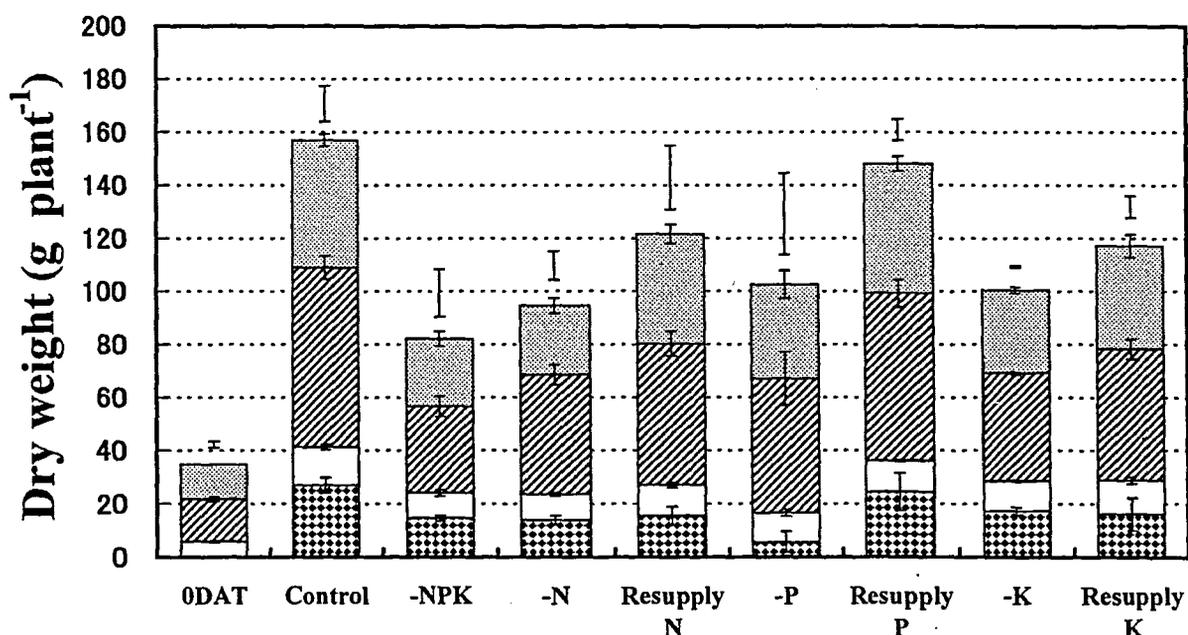


Fig. 47. The effect of nutrient deficiency on dry weight variation of tomato plants. Vertical bars denote SEM for whole plant weight and each organ weight. Total amount of fruit (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted) were shown. Changes in stem diameter were adopted as a tool for nutrient deficiency detection by a shrinkage-type micro-displacement detector. The diagnostic procedure was used to "Resupply N", "Resupply P" and "Resupply K" area. N, P and K were compensated to culture medium of each area as well as control at 6 DAT (Resupply N and P area) and 9 DAT (Resupply K area). Effect of -N and -P treatments were observed at 5 DAT in stem diameter (Fig. 46) and -K treatment was detected at 8 DAT (Data not shown).

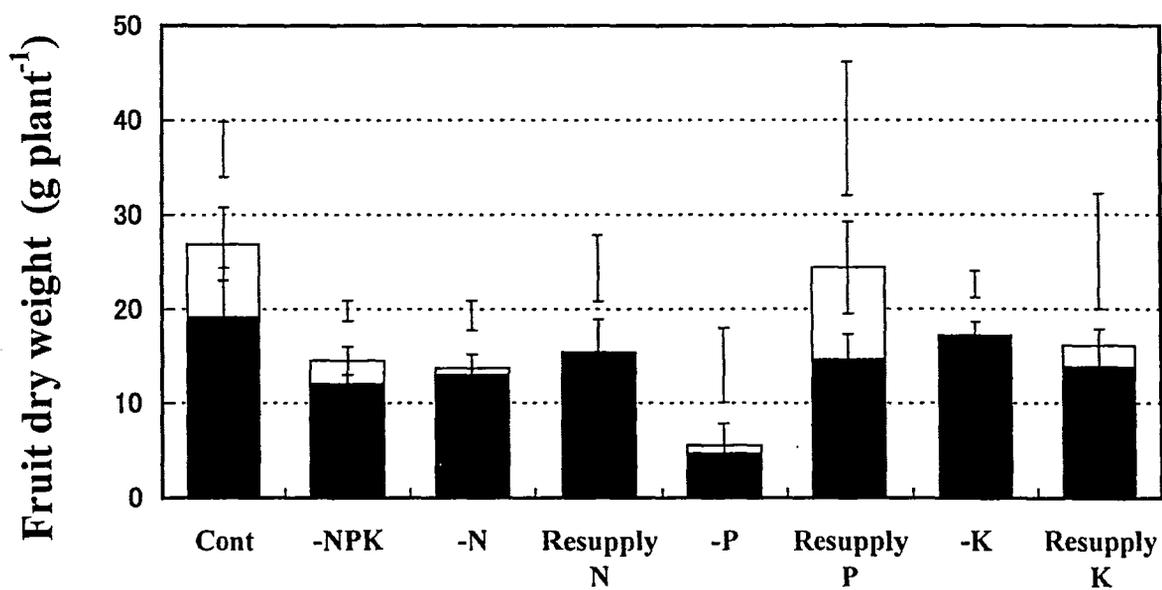


Fig. 48. The effect of nutrient deficiency on fruits dry weight at end of treatment periods. Each bar show amount of fruits dry weight (white part indicates 2nd truss; black part shows 1st truss) . Vertical bars denote SEM for amount of fruits weight and each truss weight.

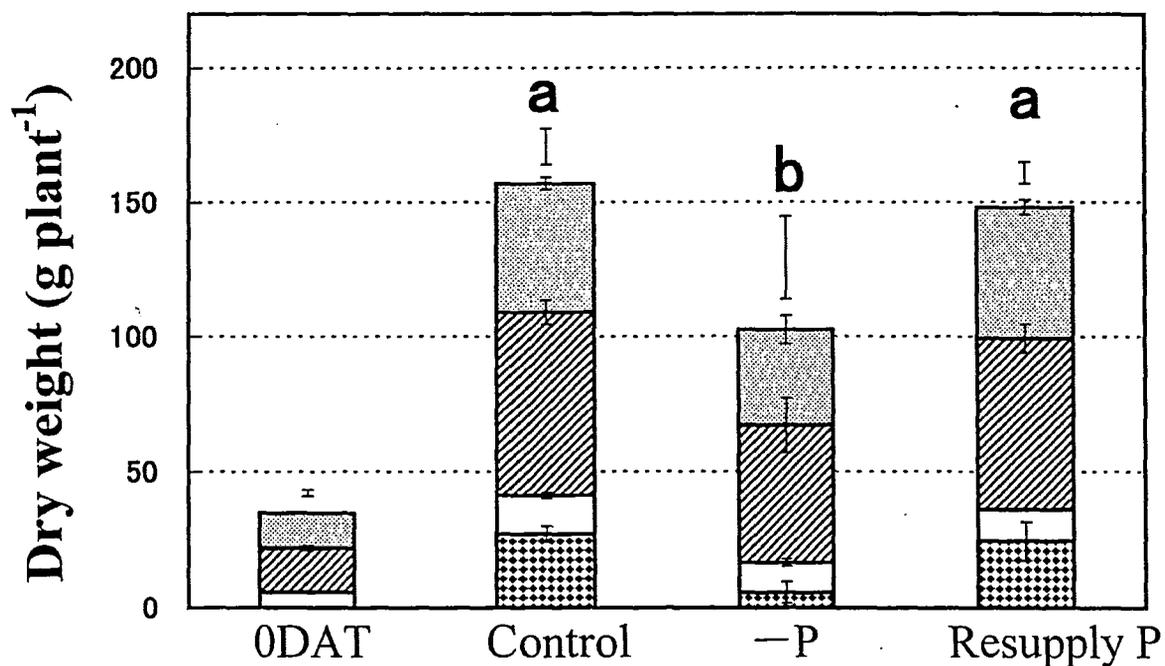


Fig. 49. The effect of P deficiency on dry weight of respective tomato plant parts. Vertical bars denote SEM for whole plant and each organ weight. Total amount of fruit (black and white checks), root (white), stem (diagonal stripe), leaves (spotted). Different letters indicate significantly different means, Tukey's Test,  $P < 0.05$ .

## 考察

### 茎径診断による施肥量削減と収量の維持

N、P、K 欠乏による茎径変化はそれぞれ異なる特徴を持っており、茎径変化から栄養欠乏の診断が出来る可能性を示した。本章はこの測定結果を基に、収量を維持しつつ、植物に与える栄養元素量を削減可能かについて検討を行った。結論として、P 欠乏を茎径によって診断することで施肥量の削減を図り対照区とほぼ同等の生育および収量を維持しうることが期待できる。以下に詳細を記述する。

#### ～P 欠乏の茎径診断と乾物重～

P 欠乏環境に置かれたトマトについて茎径診断した結果、処理 5 日目に茎径は P 欠乏に特有の症状を示し (Fig.42, 46)、その症状は以前に観察された茎径の反応と同一であった (Fujita et al 2003b)。さらに、茎径診断に従って、P を再供給したところ、果実生産量は対照区の 90%維持された。この結果は、P 欠乏の茎径によるリアルタイム診断によって収量を維持しつつ、施肥量削減を可能にする事を示唆している。

本実験では果実収量を第 1 果房、第 2 果房で評価した。個体あたりの果実重は対照区が 26.8g に対して P 再供給区では 24.4g と対照区の 90.8%の果実収量を示し (Table 11, Fig. 48)、この傾向は新鮮重でも同様であった。この要因として、①他の栄養欠乏区や N, K 再供給に比べて葉乾物重の低下が見られないこと (Table 11, Fig. 47: 対照区の 101%)、②果実肥大期のトマトにおいて、P 欠乏が光合成速度に与える影響は処理開始から約 9 日を要することから (Fujita et al 2003b)、一時的な P 欠乏がソース能に与える影響が少なかった事などが推察される。

また、P を再供給した後の茎径の肥大からみた生長速度は、N 再供給区、K 再供給区と比

較して高かった (Fig. 45)。茎径の生長は乾物重と水分の両方によって左右されることから (Sevanto et al 2002, Daubet et al 2005)、このような差異は P 欠乏によって一時的に水分状態が改善されたことを示唆している。短期間の P 欠乏は葉の気孔を一時的に閉鎖させることで植物水分状態を改善させることが報告されている (Radin 1984, 1990)。加えて、P 欠乏が根の水透過性を低下させるには 4~8 日間を要することから (Fan et al 2007)、P 欠乏による吸水能力の阻害が進行せず、気孔が閉鎖したために個体の水分状態が改善されたと考えられる。また、日照時間中の茎径収縮の軽減はこのような水分状態の改善を裏付けている (Fig. 46)。このように、一時的な P 欠乏によって水分状態の改善を図ることが乾物重の維持に作用したと考えられる。

P 欠乏を茎径によって診断した場合、P 再供給区の個体乾物重は対照区と有意な差が見られなかった (Table 11, Fig. 49)。反面、P 欠乏を継続した場合の個体乾物重は対照区の 65% にとどまり (危険率 5%で対照区と有意差有り)、果実生産は全ての処理区の中で最低の値を示した (5.6g : 対照区の 20.6%)。

### ～N 欠乏の茎径診断と乾物重～

N 欠乏環境に置かれたトマトを茎径から診断した結果、処理 5 日目に茎径は N 欠乏に特有の症状を示した (Fig. 41, 46)。加えて、その症状は以前に観察された茎径の反応と同一であった (第 4 章)。しかしながら、茎径診断に従い、N を再供給した場合でも果実生産の増加はみられず、対照区の約 57% (15.4g) に減少した (Table 11, Fig. 48)。この結果は、第 2 果房が不受精のため、収量が低下した結果とも考えられるが、現段階では N 欠乏の茎径によるリアルタイム診断による、収量維持および施肥量の低減が困難であることを示している。

過去の報告を見ると、N 欠乏によってソース器官である葉に影響があることは多くの研究によって報告されており (Evans 1983, Evans and Terashima 1987, Lawlor et al 1987, Chapin et al 1988, Terashima and Evans 1988, Guidi et al 1997, Lu and Zhang 2000, Broadley et al 2001, Zhao et al 2005)、特に N 欠乏がソースとシンクに与える影響を比較した場合、ソースへの影響が早期に発生することが明らかになっている (第 4 章)。本研究の場合も、シンク器官である茎への影響が確認される以前にソース能が低下したと考えられる。すなわち、N 欠乏による影響が茎径 (シンク能の指標) よりも早期にソース能に影響を与え、そのために果実収量が低下したと推察される。茎径診断によって N を添加した場合、乾物が最も回復したのは葉であった。この原因は N 欠乏時に果実への N 再転流のコストを葉が主に支払っていることが原因と考えられ (Fig.35, 38)、N 欠乏が進行していた葉へ吸収した N が分配されていたと考えられる。このように、茎径診断による N の添加はソース能の回復をもたらしたが、5 日間の N 欠乏によるソース能への影響を打ち消すほどの効果は得られず、最終的に果実乾物重を減少させたと考えられる。

### ～K 欠乏の茎径診断と乾物重～

K 欠乏に置かれたトマトを茎径から診断した結果、処理 5 日目に茎径は K 欠乏に特有の症状を示した (Fig. 43, 46)。また、その症状は以前に観察された茎径の反応と同一であった (第 2 章)。しかしながら、茎径診断に従い K を再供給した場合でも果実生産の維持は観察されず、対照区の 60% (16.1g) と減少した (Table 11, Fig. 48)。この結果は、第 2 果房が不受精となった結果とも受け取れるが、現段階では K 欠乏の茎径によるリアルタイム診断によって、収量を維持ししつつ、施肥量を低下させる事が難しいことを示している。

## 栄養欠乏の違いが茎径変化に与える影響

N 欠乏、P 欠乏、K 欠乏、NPK 欠乏に対する茎径の日変化は全て異なった (Fig.46)。樹木の茎径変化は植物の水分状態が主に影響を与える可逆的な変化と乾物蓄積による不可逆的な変化の二つによって構成されている (Sevanto et al 2002)。タバコ (Moghaieb et al 2006, Suwa et al 2006) やトマト (Fujita et al 2003b) といった草本植物とカキ (Fujita et al 2003a)、ナシ (Ito et al 2002)、ブドウ (Imai et al 1991) といった樹木との間で同様の茎径変動が観察されることから、これらの定義は草本植物にも当てはまると考えられる。

水分による可逆的な茎径変動は昼間の茎径収縮として観察されており (Fujita et al 2003a, b, Daubet et al 2005)、根の吸水による水分獲得を上回る量を、蒸散によって飛散させるために発生していると考えられる (伊藤 2002)。このような理解のもとに結果を見ると、N 欠乏、P 欠乏、K 欠乏、NPK 欠乏で茎径の変化が異なる理由の一つが、植物の水分状態を左右する吸水や蒸散に対して異なる影響を与えている事が考えられる。過去の報告を見ると、N, P, K の各栄養素が単体で欠乏した場合には、根の水透過性がそれぞれ異なる応答を示すことが報告されており、例えば、N 欠乏では根の水透過性の低下が確認されている (Radin and Matthews 1989, Karmoker et al 1991, Barthes et al 1995, Carvajal et al 1996, Reinbott and Blevins 1999, Clarkson et al 2000, Schraut et al 2005)。

一方で、第 4 章の結果では N 欠乏が水透過性を増加させる症状がうかがえる。具体的には、N 欠乏が蒸散速度に与える影響は処理 7 日目まで確認されず (Fig. 32C)、加えて、日中の茎径収縮は対照区より N 欠乏区が小さかった (Fig. 29A)。蒸散速度に差がない場合、既往の研究結果と同様に、根からの吸水が低下するならば、N 欠乏区の茎径収縮は対照区を上回るはずである、が、逆の傾向を示している (Fig. 29A)。

茎径変動が根の水透過性と蒸散速度の変化から説明できない現象は K 欠乏による茎径変化にも見られる。K 欠乏では根の水透過性の増加が確認されており (Quintero et al 1998,

Schraut et al 2005)、蒸散速度は処理開始 14 日目まで差が見られなかった (Fig. 10)。それにもかかわらず K 欠乏によって茎径の日中収縮は対照区を上回っている (Fig. 6, 46)。

P 欠乏では研究成果が完全には一致せず、根の水透過性を減少させるという報告が見られる中で (Clarkson et al 2000, Fan et al 2007)、反対に水透過性を増加させるという結論も得られている (Schraut et al 2005)。

このように、栄養ストレス下におかれた植物の茎径と水透過性の関係についての見解が異なる要因として、根の水透過性を調査する際に植物体の切断を伴う事が挙げられる。植物の吸水能力は根の水透過性だけではなく、葉の蒸散によっても支えられており、これら双方を加味した結果、茎径が変動している。この理由から、根の通導抵抗を強く反映する水透過性の測定方法では、根から地上部への水移動を評価することは困難であると考えられる。

## 茎径診断法の植物生産への利用と問題点

N 欠乏、P 欠乏、K 欠乏に対する茎径の日変化は全て異なった (Fig. 40, 46)。これらの結果は、茎径をモニタリングすることによって栄養ストレスを検知できる可能性を示しており、植物工場等の培養液管理を作物の計測によって行える可能性が出てきた。

過去の報告を見ると、茎径の栄養診断への利用は報告されておらず、茎径変化と植物の水ポテンシャル相関関係を利用した水分状態の管理にとどまっている (Simonneau 1993)。一方で、非破壊の栄養診断法は、イメージデータの利用が主流となっており (Meyer et al 1990, Hetzroni and Miles 1992, Thai et al 1999)、栄養ストレスの影響を葉色から感知するため、使用される作物種は葉物野菜を中心としている。このような中で、歪ゲージ式変位計を用いた栄養診断は、使用する作物品種を大きく広げる可能性がある。同時に、植物が必要とする

元素をリアルタイムで診断し、最適な栽培環境を整えることで栽培培地の交換頻度を低下させ、現在課題となっている肥料コストの削減や環境負荷低減 (Kirimura and Inden 2004) に寄与できる可能性がある。

しかしながら、歪ゲージ式変位計を使用する注意点として以下の事が考えられる。

- ①植物の水分状態に影響を受け易く、特に太陽光を用いた栽培では誤診断の可能性がある。
- ②茎径測定中に振動を加えると、茎径変化にノイズが記録される。
- ③本研究で用いた歪ゲージ式変位計は耐水性が無いことから野外でのリアルタイム診断には課題が残る。

これらの問題点の解決として、注意点①および③では、培養液の管理を植物工場などの閉鎖空間で行うことで解決が可能である。植物工場では近年発光ダイオード (LED) を用いた栽培が中心となっており、光環境の変化から来る茎径変化の誤診断が発生しにくく、また栄養診断に必要な第 1 暗期、明期、第 2 暗期の環境を整え易い。②では、振動による計測データへのノイズ混入をソフトウェアによって自動的に取り除くことが可能である。

このような問題の解決と併せて、さらに具体的な研究を進めることによって、植物工場での茎径診断の実用性が判明すると考えられる。

## 第 6 章

### 茎径変化の支配要因の解析

～アクアポリンおよび **K** チャンネル阻害からみて～

## 緒論

茎径変化は主として水による可逆的な肥大と、乾物蓄積による不可逆的な肥大の 2 種類に分かれている (Sevanto et al 2002)。第 5 章では、栄養ストレスの違いが茎径変化に特徴的な変化を与えることから、その情報を元に栄養ストレス診断の可能性を示した。このような栄養ストレスの差による茎径の収縮や肥大の差が栄養ストレスを負荷した直後から見られることから、栄養ストレスを負荷した初期の茎径応答は【乾物蓄積に与える影響】よりも、【水分に与える影響】によって発生していると考えられる。

植物の水分状態を支配する主な要因は、根の吸水と葉からの蒸散である。このうち、根からの吸水の 70~90%を支配するとされるのが、MIP (major intrinsic proteins) の一種であるアクアポリンである。アクアポリンが栽培培地の栄養ストレスに対して特異的な反応を示すことは既に報告されている。例えば、N 欠乏 (Glose et al 2007)、P 欠乏および S 欠乏が根の水透過性を低下させることからアクアポリン活性の低下が指摘されている (Clarkson et al 2000)。また、K 欠乏および K チャネル阻害によって PIP 型のアクアポリンが遺伝子レベルで影響を受けることが報告されている (Liu et al 2006)。このように、第 5 章で確認された N、P、K 欠乏による特徴的な茎径変化が観察された原因がアクアポリンにあるとすると、培地中に存在する栄養素の有無や種類が異なることがアクアポリンに特徴的な変化を与えていることが示唆される。また、茎径は蒸散速度によっても左右されるため、アクアポリンに対する栄養素の影響が植物の水分状態を通して間接的に蒸散速度を制御している可能性がある。しかしながら、茎径の変化が水分状態と密接に結びついていることは多数の論文に見受けられるが (Ito et al 2002, Sevanto et al 2002, 2008, Fujita et al 2003a, b, Daubet et al 2005, Ohashi et al 2006, Suwa et al 2006, Moghaieb et al 2006)、実際に植物の水分状態を調節する「蒸散」「アクアポリン活性」および「茎径変化」などの相互関係について検討した研究は見当たらない。

そこで本章では、栄養ストレスと茎径変化の関係を明確にするための第一歩として、植物の水分状態を調整するアクアポリン活性、蒸散速度と茎径変化との関係を明確にする。

さらに、これらの関係を明確にした後、K チャネルの阻害剤を用いて K チャネルとアクアポリン活性との関係を調査する。K チャネルとは、イオンチャネルの一種であり、細胞膜上に存在する K イオンを選択的に通過させる孔である (Jiang et al 2002, 末吉 2002)。一般的に、K ストレスや水ストレスによって地下部/地上部比の上昇が見られ、アブシジン酸の生産が著しく増加するという共通の応答が報告されている (Hsiao 1973, Creelman et al 1990, Peuke et al 2002, Schraut et al 2005, Jordan-Meille and Pellerin 2008)。最近の報告によると、K 飢餓処理、K チャネルブロッカー阻害剤の添加によって K チャネルとアクアポリンの活性が高まり、同様に、アクアポリン阻害剤を与えることによってアクアポリンと K チャネルの活性が増加するという (Liu et al 2006)。これらの応答は、アクアポリン阻害剤、K チャネル阻害剤添加から 30 分以内に発生するものもあり、K ストレスと水ストレスの間でシグナル伝達の初期応答に共通する機構が存在すると考えられる。そこで、明確化された茎径変化、アクアポリン活性、蒸散速度の関係性をもとに、K チャネルとアクアポリン活性阻害との共通機構について検討する。

## 材料と方法

### トマトの生育および栽培環境

植物体は2007年に広島大学精密圃場内のガラス室で栽培した。トマト（品種 桃太郎 8）をセルポットに播種し、播種30日後に育苗された個体を水耕栽培に移植した。水耕栽培環境はエアレーション設備を備えた70Lバットを用い、培養液（第2章 材料と方法）を7日に1度の割合で交換した。培養液は1N水酸化ナトリウムと1N塩酸を用いて24時間に1度の割合でpH5.8~6.2に調節した。栽培によって得られたトマト苗を用いて各種の実験を行った。

### アクアポリン阻害剤と茎径変化

実験は全てドラフトチャンバー内（DALTON社製）で行った。14日間水耕栽培したトマトを3Lのワグネルポットに移植し、十分なエアレーションの下で完全培養液を与え生育させた。その後、アクアポリン活性阻害剤として、phloretin（以下フロレチン, 1mM）（Dordas et al 2000, Moshelion et al 2002, 2004, Volkov et al 2007）、AgNO<sub>3</sub>（80μM、400μM）（Tazawa et al 2001, Niemietz and Tyerman 2002, Volkov et al 2007）をそれぞれ培養液に添加することでAQP阻害処理を施した。ドラフト内の光源としてナトリウムランプ2基、蛍光灯1基を用い、光合成有効放射量として約800E m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>を確保した。茎径は歪みゲージ式変位計を用いて測定し、8秒に一度の割合で茎径を連続測定した。

### アクアポリン阻害剤による根水透過性への影響と茎径変化

実験は全てドラフトチャンバー内（DALTON社製）で行った。7日間水耕栽培したトマトを20Lバットに移植し、完全培養液を与え、十分なエアレーションを行った。その後、アクアポリン活性阻害剤として、AgNO<sub>3</sub>（500μM）を培養液に添加することでアクアポリン

阻害処理を施した。また、ドラフト内の光源としてナトリウムランプ 2 基、蛍光灯 1 基を用いた（光合成有効放射量：約  $800\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ）。

歪みゲージ式変位計による茎径連続測定と平行して、木部液をプレッシャーチャンバー法により採取した（Miyamoto et al 2001）。具体的には、培養液を満したポリビンをプレッシャーチャンバー内に設置し、地上部を切断したトマトをプレッシャーチャンバー内の培養液に根が浸るように設置した。その後、ただちに圧搾窒素ガスを用いて圧力をかけ（ $0.39\text{Mpa}$ ）、マイクロピペットを用い、あらかじめ重さを計測しておいたエッペンチューブに木部液を回収し、液量を定量した。また、培養液の浸透圧を測定するために 20L バット中の培養液を採取した。

採取した木部液および培養液の浸透圧はサイクロメーター（Wescor 社製 5500 Vapor pressure osmometer）を用いて測定し、浸透圧、濃度差、木部液採取量および採取時間から根の水透過性を算出した（Dalton et al 1975）。

## アクアポリン阻害剤による葉の水ポテンシャルへの影響と茎径変化

実験は全てドラフトチャンバー内（DALTON 社製）で行った。14 日間水耕栽培したトマトを 20L バットに移植し完全培養液を与えた（エアレーション有り）。その後、 $\text{AgNO}_3$ （ $500\mu\text{M}$ ）を培養液に添加し、アクアポリン活性阻害処理を施した。また、ドラフト内の光源としてナトリウムランプ 2 基、蛍光灯 1 基を用い光合成有効放射量を約  $800\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  に保った。

歪みゲージ式変位計による茎径の連続測定と平行して、葉の水ポテンシャルをプレッシャーチャンバー法により測定した。

## アクアポリン阻害剤による蒸散速度への影響と茎径変化

実験は明期、暗期の両条件下の中、ドラフトチャンバー内 (DALTON 社製) で行った。14 日間水耕栽培したトマトを 3L バットに移植し完全培養液を与え、実験中もエアレーションを行った。その後、アクアポリン活性阻害剤として、 $\text{AgNO}_3$  (500 $\mu\text{M}$ ) を培養液に添加し、アクアポリン阻害処理を施した。また、明期ではドラフト内の光源としてナトリウムランプおよび蛍光灯を用い、光合成有効放射量を約  $800\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  に保ち、暗期では  $0\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  とした。

歪みゲージ式変位計による茎径の連続測定と平行し、携帯用光合成蒸散測定装置 LI-6400 を用いて葉の蒸散速度を測定した。蒸散速度の測定にはトマトの地際から数えて第 6 葉目の先端小葉および複葉を用いた。蒸散速度は、明期では光合成有効光量子束密度  $1000\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、葉温  $25^\circ\text{C}$ 、 $\text{CO}_2$  濃度 380ppm、暗期では光合成有効光量子束密度  $0\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、葉温  $25^\circ\text{C}$ 、 $\text{CO}_2$  濃度 380ppm の条件で測定した。

## K チャネル阻害剤と茎径変化

実験は全てドラフトチャンバー内 (DALTON 社製) で行った。14 日間水耕栽培したトマトを 3L のワグネルポットに移植し完全培養液を与えた (エアレーション有り)。その後、K チャネル阻害剤として、 $\text{BaCl}_2$  (30mM) (Barbara et al 1994, Papernik and Kochian1997, Bei and Lusan 1998, Mehmel et al 2003)、 $\text{CsCl}$  (20mM) (Bei and Lusan 1998, Liu et al 2006, Mehmel et al 2006)、TEA (Tetraethylammonium chloride) (30mM) (Barbara et al 1994, Papernik and Kochian1997, Bei and Lusan 1998, Zhang and Tyerman 1999, Tazawa et al 2001, Liu et al 2006) をそれぞれ培養液に添加することで K チャネル阻害処理を施した。加えて、K チャネル阻害と比較する目的で、Na チャネル阻害剤 Oubain (50 $\mu\text{M}$ ) (Davis and Jaworski 1979)、及び  $\text{H}^+$ ATPase 阻害剤オルトバナジン酸ナトリウム (100 $\mu\text{M}$ ) (Briskin et al 1995, Balsamo and

Thomson 1996) を同様の条件下で供試した。ドラフト内の光源として光合成有効放射量として約  $800\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  を確保した。茎径は歪みゲージ式変位計を用いて測定し、8 秒に一度の割合で茎径を連続測定した。

## K チャネル阻害剤による蒸散速度への影響と茎径変化

実験は全てドラフトチャンバー内 (DALTON 社製) で行った。14 日間水耕栽培したトマトを 20L バットに移植し完全培養液を与えた (エアレーション有り)。その後、K チャネル活性阻害剤として  $\text{BaCl}_2$  (30mM) を培養液に添加することで K チャネル阻害処理を施し、光合成有効放射量を約  $800\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  とした。

歪みゲージ式変位計による茎径の連続測定と平行し、携帯用光合成蒸散測定装置 LI-6400 を用いて葉の蒸散速度を測定した。蒸散速度の測定にはトマトの地際から数えて第 6~7 葉目の先端小葉および複葉を用いた。全ての測定は光合成有効光量子束密度  $1000\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、葉温  $25^\circ\text{C}$ 、 $\text{CO}_2$  濃度 380ppm で行った。

## 結果

### アクアポリン活性阻害剤と茎径変化

2種類のアクアポリン阻害剤処理によって茎径は収縮した (Fig. 50, 51)。フロレチンによる処理では処理5分後から茎径収縮が確認され、20分後にピークに達した (Fig. 50)。その後茎径は肥大し、処理40分後には肥大が停止し、一定に推移した。Ag処理によるアクアポリン阻害処理では、80 $\mu$ Mおよび400 $\mu$ Mで処理10分後から茎径の収縮が確認された。400 $\mu$ Mでは処理開始45分後に収縮のピークに達し、その後10分間ピークを持続した後、徐々に肥大した。一方、80 $\mu$ Mでは処理開始から400 $\mu$ Mと比較して弱い収縮を見せ、処理開始2時間後にピークに達した後、ほぼ一定の値を示した (Fig. 51)。以後、アクアポリン阻害剤として500 $\mu$ M Agを使用する。

### 葉の水ポテンシャルと茎径変化

Ag処理によって茎径は収縮し、合わせて葉水ポテンシャルは低下した (Fig. 53)。アクアポリン阻害剤処理 (Ag: 500 $\mu$ M) によって、処理開始5分後から茎径の急速な収縮がみられ、処理後40分後までこの状態は継続した。この間、葉の水ポテンシャルも低下し、対照区の-0.38MPaに対して、処理区では-0.60MPaを示した。一方、対照区の茎径は処理期間中緩やかな肥大を示しながら推移した。同様に、葉の水ポテンシャルも大きな変動は観察されず、ほぼ一定に処理期間中を推移した。処理区の茎径は処理開始1時間15分後から2時間30分頃まで一定に推移し、その後、緩やかに低下した。最終的に葉の水ポテンシャルは、対照区で-0.43MPa、処理区で-0.74MPaを示した。

### 根の水透過性と茎径変化

Ag処理によって茎径は収縮し、同時に根の水透過性は低下した (Fig. 52)。アクアポリン

阻害剤処理 (Ag : 500 $\mu$ M) によって、処理開始 5 分後から茎径の急速な収縮がみられ、処理後 1 時間後までこの状態は継続した。この間、処理区の水透過性は大きく減少し (最小値 : 0.002 gH<sub>2</sub>O sec<sup>-1</sup>MPa<sup>-1</sup>)、その後はやや回復し (0.021 gH<sub>2</sub>O sec<sup>-1</sup>MPa<sup>-1</sup>)、ほぼ一定に推移した。一方、対照区の水透過性は常に処理区の値より高く推移した (0.046~0.050 gH<sub>2</sub>O sec<sup>-1</sup>MPa<sup>-1</sup>)。最終的に対照区の水透過性は 0.050 gH<sub>2</sub>O sec<sup>-1</sup>MPa<sup>-1</sup> 処理区の水透過性は 0.017 gH<sub>2</sub>O sec<sup>-1</sup>MPa<sup>-1</sup> を示した。

## 蒸散速度と茎径変化

明期の Ag 処理によって茎径は収縮し、同時に葉の蒸散速度は低下した (Fig.54)。しかしながら、暗期では Ag 処理による僅かな茎径の収縮がみられたが、蒸散速度に差は見られなかった (Fig. 55)。明期において、アクアポリン阻害処理 (Ag 500 $\mu$ M) は処理開始約 5 分後から急速な茎径収縮が確認され、処理 1 時間後にピーク (-0.11mm) を迎え、その後やや肥大した (処理 2 時間後 : -0.06mm)。蒸散速度は、Ag 処理によって茎径収縮がピークを迎える約 10 分前から対照区を下回り (対照区 : 2.47mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, 処理区 : 2.20mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>)、それ以後には対照区との差を維持しつつ緩やかな低下を示し、最終的に蒸散速度は対照区で 2.24 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, 処理区で 1.69mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> となった。一方で、対照区の茎径は処理後 1 時間後までほぼ一定に推移し、その後緩やかな肥大を見せた。その間に蒸散速度は 1.65~2.86 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> の間で推移した。

## K チャネル活性阻害剤と茎径変化および蒸散速度

3 種類の K チャネル阻害剤処理によって茎径は収縮した (Fig. 56)。一方、Na チャネル阻害および H<sup>+</sup>ATPase 阻害処理では茎径に影響が認められなかった (Fig. 58)。

全ての K チャネル阻害区では、処理開始 5 分以内に急速な収縮を開始し、CsCl 区および

BaCl<sub>2</sub>区では処理開始約10分および20分後から緩やかに収縮した。TEA区では処理開始約20分後から茎径収縮が停止し、その後処理終了時まで一定に推移した。処理開始から1時間後で最も収縮した処理区はBaCl<sub>2</sub>区で、ついでCsCl区、TEA区と続いた。

次に、最も茎径収縮が見られたBaCl<sub>2</sub>を用いて蒸散速度と茎径変化の関係を調査した(Fig.57)。茎径は処理によって1分後から急速に収縮を見せ始め、約15分後からゆるやかな収縮を示し、その後、処理終了時までこの傾向は続いた。蒸散速度も処理によって開始直後から減少し、この差を保持し、処理終了時まで推移した。

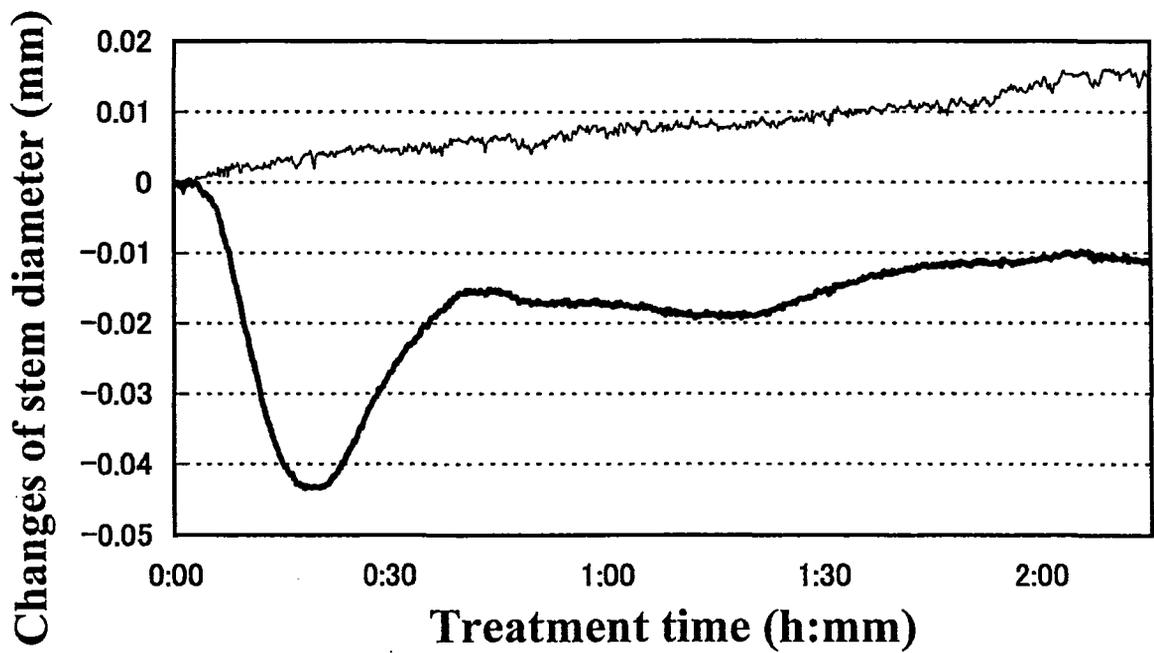


Fig. 50. The effect of phloretin (1mM) on changes in stem diameter of tomato plant during light period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Control (fine line) and phloretin treatment (thick line).

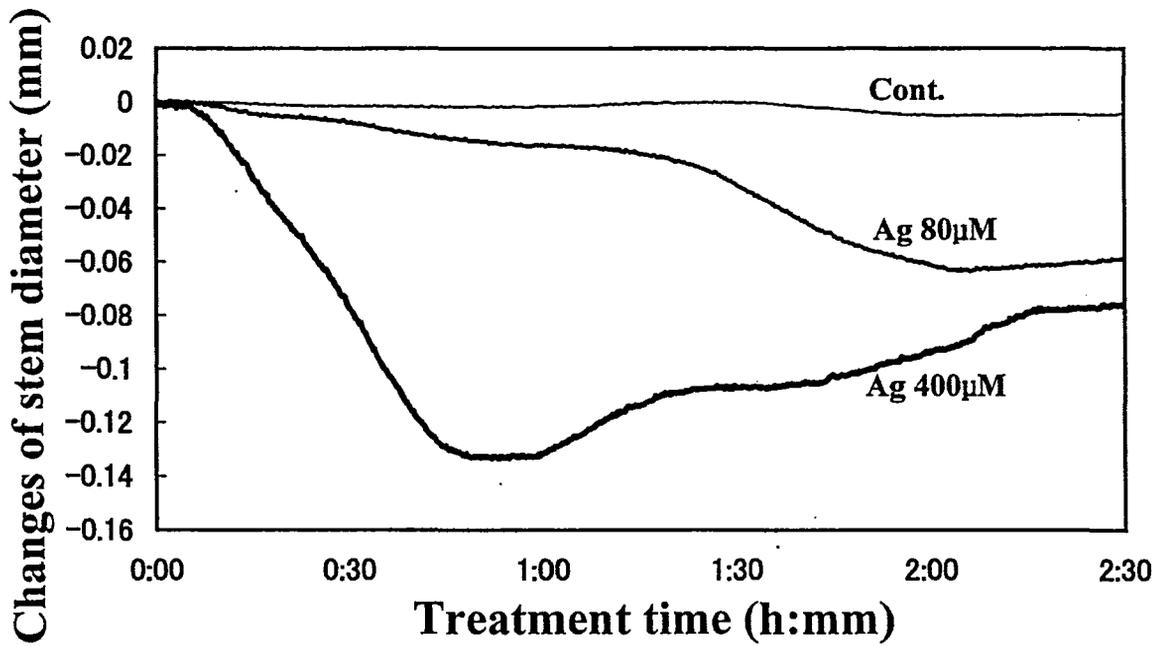


Fig. 51. The effect of  $\text{AgNO}_3$  ( $80\mu\text{M}$  and  $400\mu\text{M}$ ) on changes in stem diameter of tomato plant during light period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Control (fine line),  $80\mu\text{M}$  Ag (middle line) and  $400\mu\text{M}$  Ag treatment (thick line).

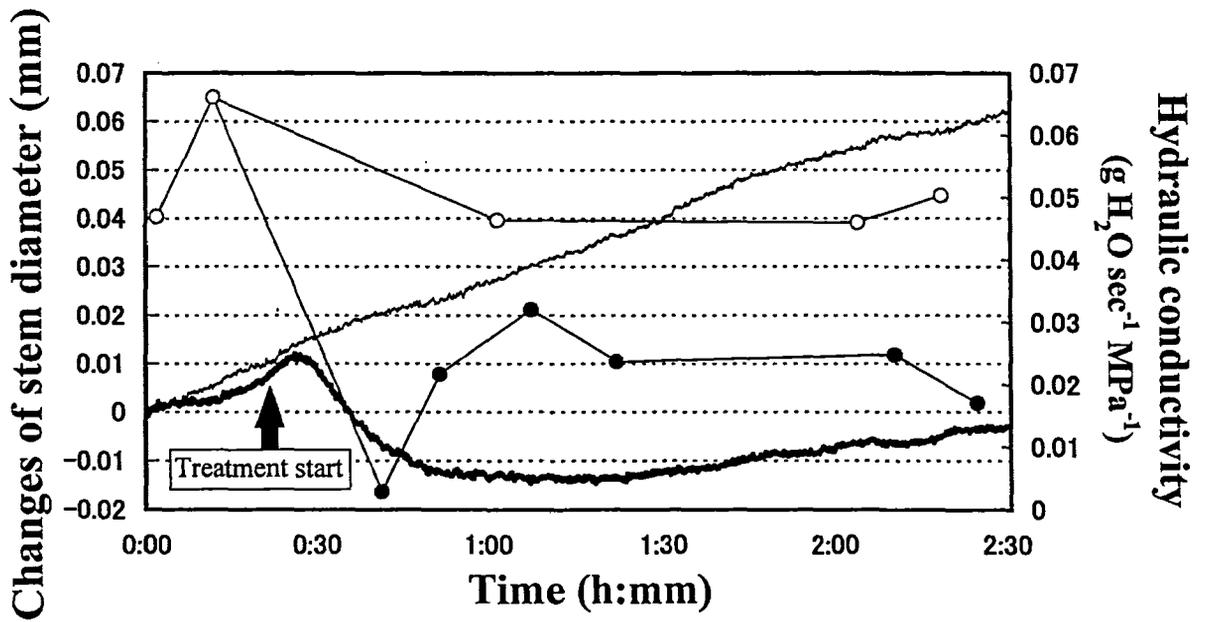


Fig. 52. The effect of  $\text{AgNO}_3$  ( $500\mu\text{M}$ ) on changes in stem diameter and root hydraulic conductivity of tomato plant during light period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Stem diameter: Control (fine line), Ag treatment (thick line). Hydraulic conductivity: Control (open circles) Ag treatment (filled circles).

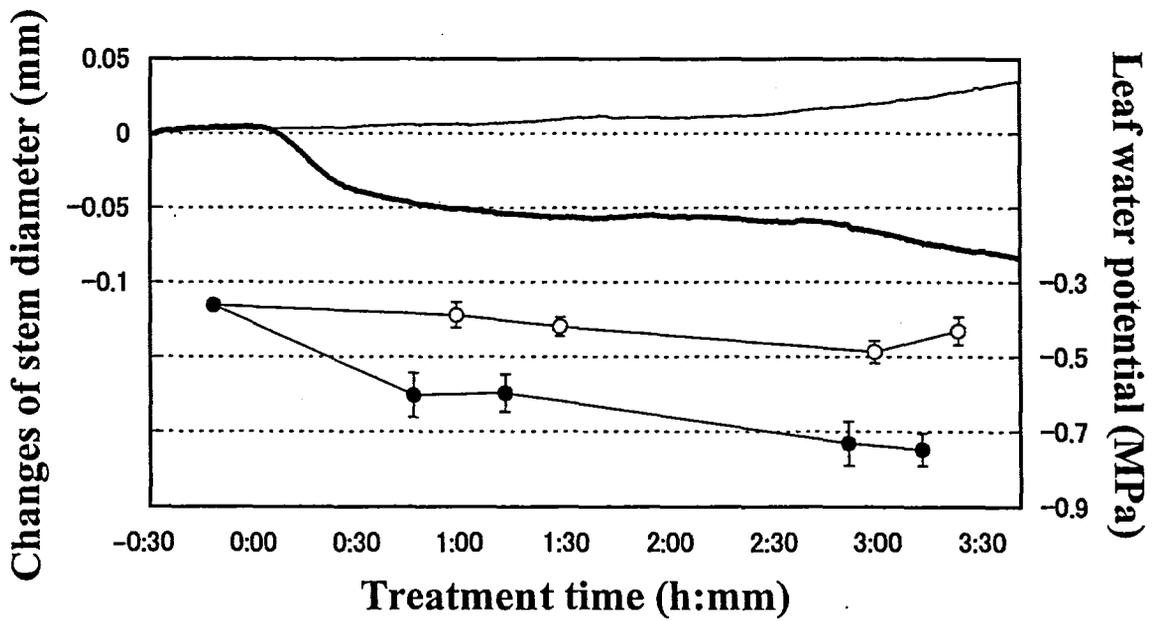


Fig. 53. The effect of  $\text{AgNO}_3$  ( $500\mu\text{M}$ ) on changes in stem diameter and leaf water potential of tomato plant under light period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Stem diameter: Control (fine line), Ag treatment (thick line). Leaf water potential: Control (open circles) Ag treatment (filled circles). Vertical bars denote the SEM for each value.

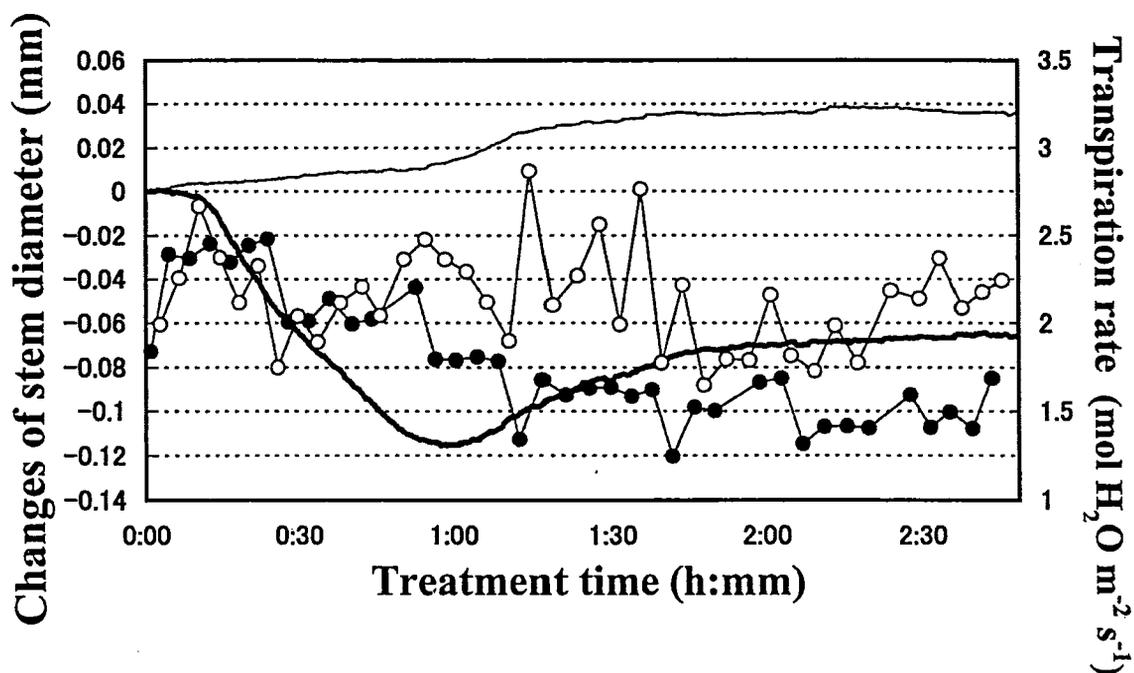


Fig. 54. The effect of  $\text{AgNO}_3$  ( $500\mu\text{M}$ ) on changes in stem diameter and transpiration rate of tomato plant under light period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Stem diameter: Control (fine line), Ag treatment (thick line). Transpiration rate: Control (open circles) Ag treatment (filled circles).

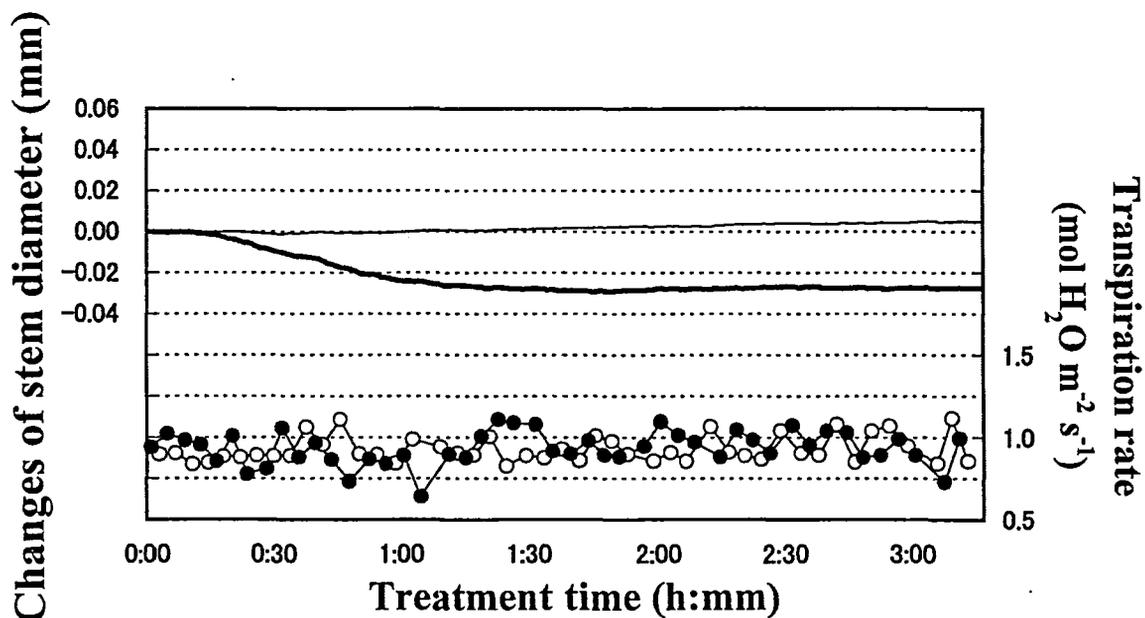


Fig. 55. The effect of  $\text{AgNO}_3$  ( $500\mu\text{M}$ ) on changes in stem diameter and transpiration rate of tomato plant during dark period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Stem diameter: Control (fine line), Ag treatment (thick line) . Transpiration rate: Control (open circles), Ag treatment (filled circles).

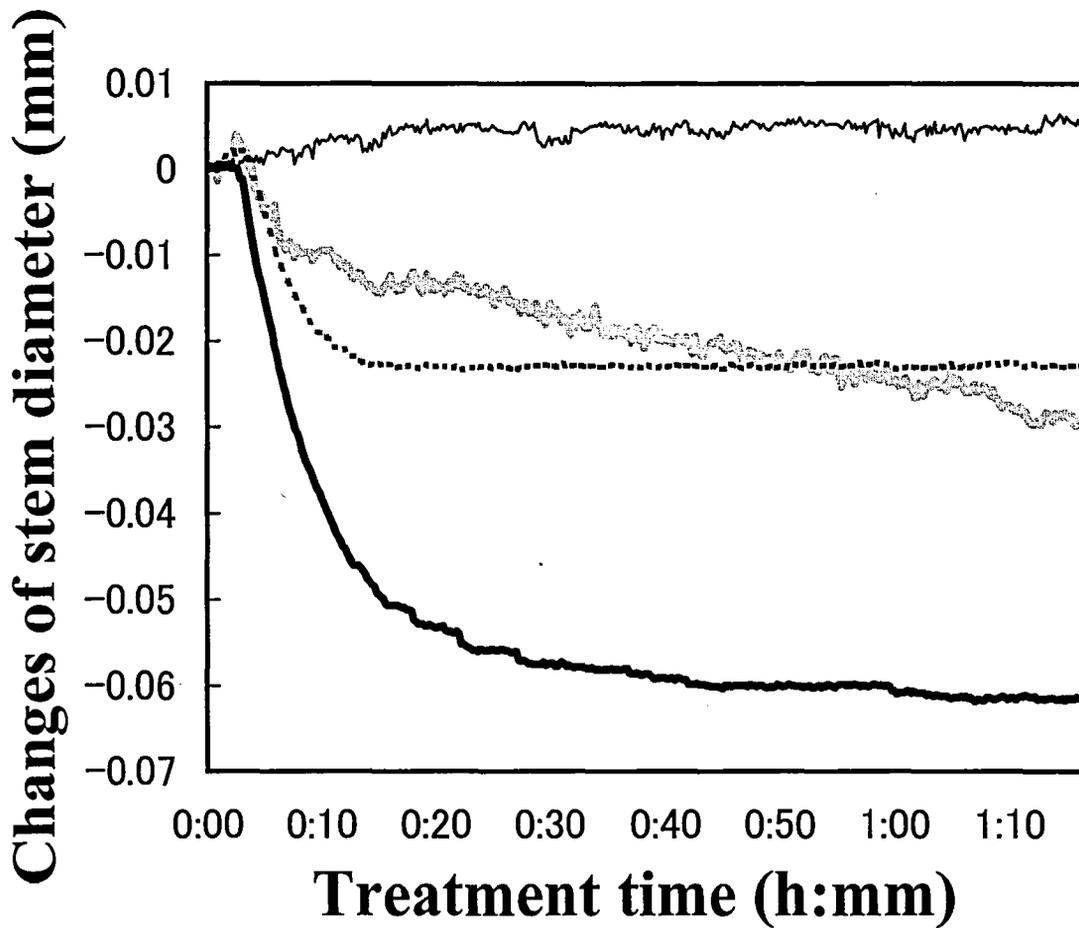


Fig. 56. The effect of K channel inhibitors ( $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{CsCl}$  and TEA) on changes in stem diameter of tomato plant under light period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Control (fine line),  $\text{BaCl}_2$  (thick line),  $\text{CsCl}$  (gray line) and TEA (broken line).

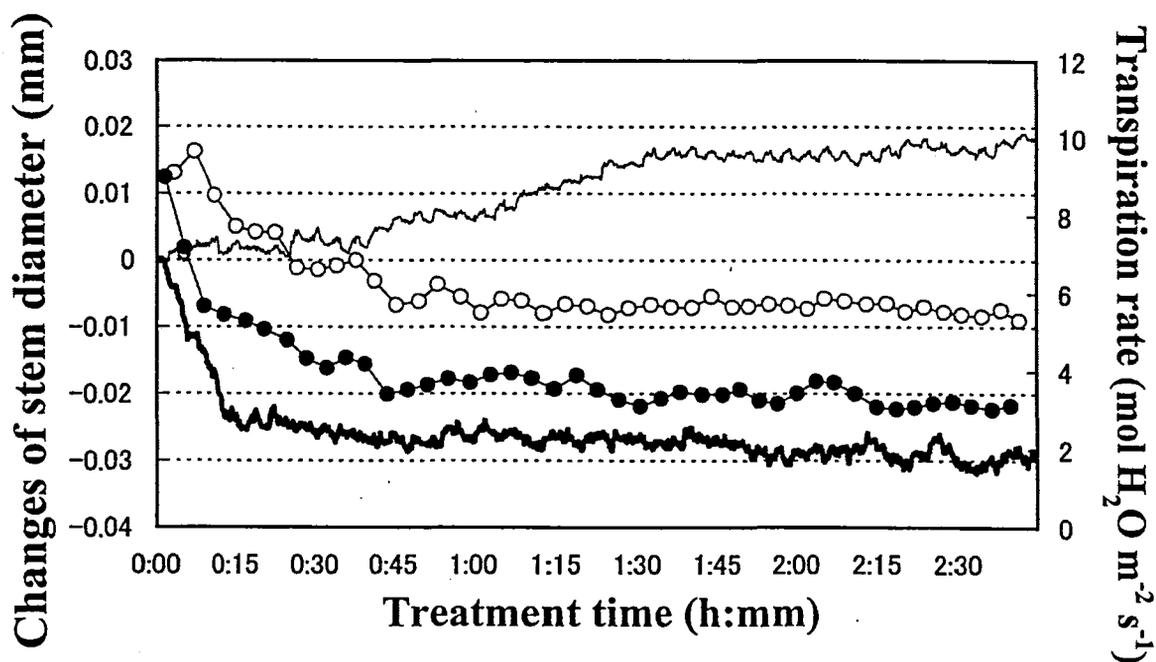


Fig. 57. The effect of K-channel inhibitor ( $\text{BaCl}_2$ ) on changes in stem diameter and transpiration rate of tomato plant under light period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Stem diameter: Control (fine line), Ag treatment (thick line). Transpiration rate: Control (open circles), Ag treatment (filled circles).

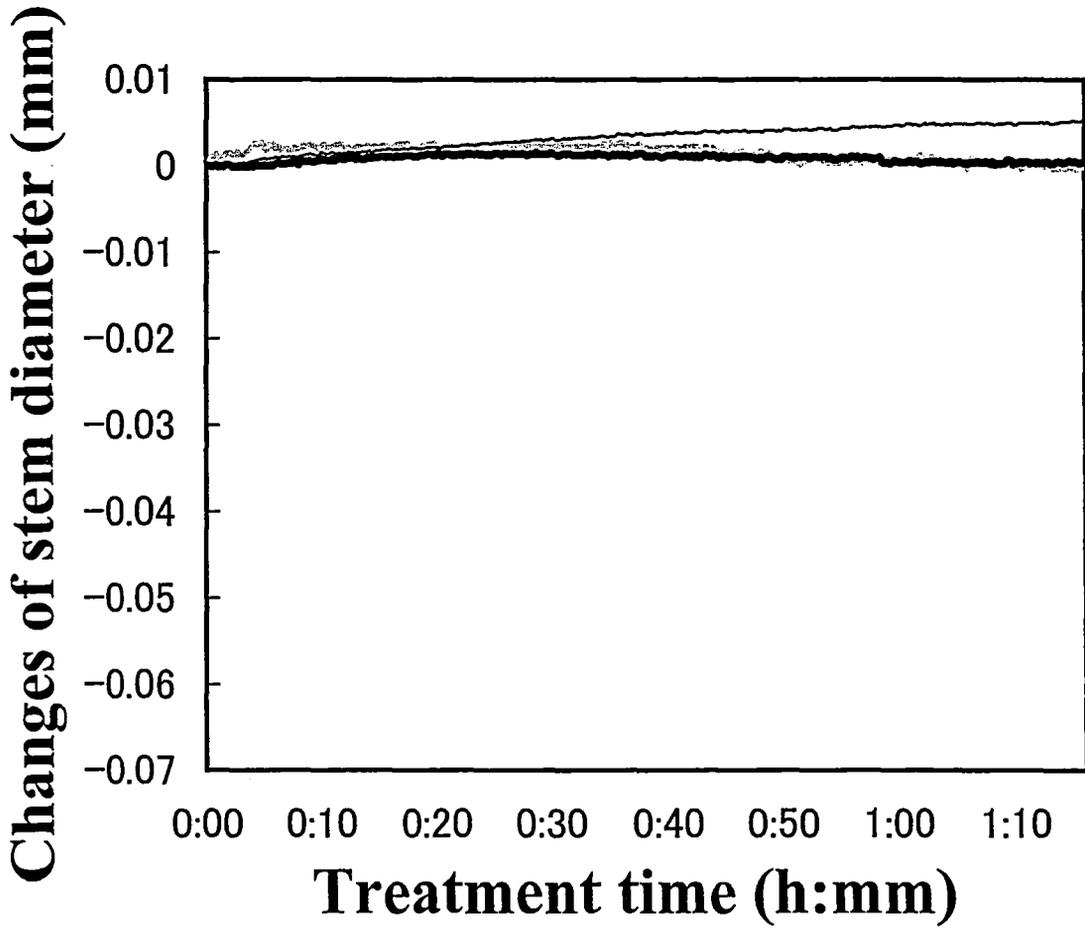


Fig. 58. The effect of sodium orthovanadate ( $H^+$  ATPase inhibitor) and ouabain (Na channel inhibitor) on changes in stem diameter of tomato plant under light period. Changes in stem diameter were monitored by a shrinkage type micro-displacement detector. Control (fine line), sodium orthovanadate (thick line) and ouabain (gray line).

## 考察

茎径の変化は「水の動態による可逆的な変化」と、「茎の生長による不可逆的な変化」の2つの要素によって左右されると考えられている (Sevanto et al 2002)。さらに、Daudetら (2005) は樹木を用いてこの分類を細分化し、4つの要素が茎径変化を支配していると報告している。このような茎径変化の定義は、樹木 (カキ: Fujita et al 2003a、ナシ: Ito et al 2002) の茎径の日変化と草本植物 (トマト: Fujita et al 2003b, Suwa et al 2008、タバコ: Moghaieb et al 2006, Suwa et al 2006、ダイズ: Ohashi et al 2006) の茎径変化で同様のパターンが得られていることから、本章で用いたトマトにも当てはまると考えられる。本章では、アクアポリン活性阻害剤によって吸水を制限することで、茎径を支配する要因の一つである水分状態を調査した。また、処理期間を2~3時間に設定することで茎の乾物蓄積による生長の影響を可能な限り小さくしたため、乾物蓄積による茎径への影響は考慮していない。

Ag80 $\mu$ M 処理に比べて、Ag400 $\mu$ M 処理による茎径収縮は大きくなった (Fig. 51)。これは、Agによるアクアポリンを構成するタンパク質の可逆的な変化がアクアポリン阻害剤の濃度によって左右されることを示している。本章では、この点を踏まえ、全ての実験をAg濃度500 $\mu$ Mで統一して実施した。

## 蒸散速度、根の透水性、葉水ポテンシャルと茎径変化

植物の水分状態を左右する因子として、葉からの蒸散 (水の支出) と根からの吸水 (水の収入) が挙げられる。本章の結果から、葉の蒸散 (Fig.54, 55)、根の吸水 (Fig.52) は茎径の変動と密接に関わっている事が判明した。例えば、明期にAg処理を施したトマトの根の透水性は茎径収縮と同時に低下していることから (Fig. 52)、アクアポリンの立体構造が変化することによって (Chang-Xing et al 2004) 水の吸水能力が低下し、植物体の水の吸収が減少し、茎径収縮の原因となることを示している。一方、蒸散速度では、茎径の収縮

が最大値に達する直前に蒸散速度が低下しており、茎径収縮を押し止める要因として蒸散速度の減少が寄与していると考えられる (Fig. 54)。蒸散速度の低下に伴い、葉の水ポテンシャルの低下も見られることから (Fig. 53)、アクアポリン活性阻害による水ストレスが蒸散速度の低下を招いたと考えられる。蒸散速度の低下には、根への Ag 処理から約 50 分を要しており (Fig. 54)、この間に根から受け取られたアクアポリン活性低下のシグナルが葉に伝達され、蒸散速度が低下したと考えられる。水ストレスのシグナルとして、ABA などの植物ホルモンによる伝達や、水ストレスによる植物内の水圧低下による伝達 (hydraulic signal) が指摘されている (Comstock 2002, Christmann et al 2007)。しかしながら、現時点では hydraulic signal の指標として有効な指標が報告されていない。このような中で茎径変化は、根の透水性 (Fig. 52) や葉の蒸散速度と密接に関係すること (Fig. 54, 55)、維管束の切断による植物内の水圧に影響をもたない連続測定法であることから、茎径の連続測定が hydraulic signal の有力な指標となる可能性を示している。

## アクアポリン活性阻害剤と茎径変化の関係

アクアポリン活性阻害剤としてフロレチン (Zhang and Tyerman 1999, Dordas et al 2000, Moshelion et al 2002, 2004, Volkov et al 2007)、Ag (Tazawa et al 2001, Niemietz and Tyerman 2002, Volkov et al 2007) の利用が過去に報告されている。本実験ではこれら阻害剤で茎径の収縮が確認されたが、収縮のパターンはそれぞれ異なった。例えば、フロレチン処理では茎径収縮の最大値は処理開始約 20 分であるのに対し (Fig. 50)、Ag 処理は約 1 時間で最大値を迎えている (Fig. 51)。アクアポリンは *Arabidopsis* で 38 種類を数え、PIP (Plasma membrane Intrinsic Protein) (Santoni et al 2003)、TIP (Tonoplast Intrinsic Protein) (Maeshima 2001)、NIP (Nodulin-26 like Intrinsic Protein) (Wallace et al 2006)、SIP (Small basic Intrinsic Protein) (Johanson and Gustavsson 2002) の 4 種類に大別することができる (Kaldenhoff et al 2007)。そのため、茎径収縮の最大値が発生する時間のずれは、それぞれのアクアポリン阻害剤が

影響を及ぼすアクアポリンの型が異なるためと推察される。

## K チャネル阻害剤と茎径変化および蒸散速度の関係

アクアポリン活性阻害剤を用いた実験結果から、茎径の収縮時に根の水透過性が低下し、同時に蒸散速度も減少している事が判明した。これらの現象は、根に対して処理を行っていることから、①根での水透過性低下による吸水力の低下、②吸水力が低下したことによる茎径の収縮、③茎径の収縮（水圧の減少=hydraulic signal）による葉での蒸散速度低下、④水支出の低下（蒸散速度低下）による茎径収縮の緩和、といった順序で発生していると考えられる。茎径収縮は、このような機構が作動することで発生する事を念頭に K チャネル阻害の結果を見返すと、処理開始数分後から BaCl<sub>2</sub> 処理によって蒸散速度が低下し、併せて茎径の急速な収縮が確認できる (Fig. 57)。すなわち、K チャネル阻害剤による茎径収縮も①～④からなる機構が作動したために発生したと考えられる。

一方で、Na チャネル阻害剤、及び H<sup>+</sup>ATPase 阻害剤の処理による影響は茎径に対して認められなかった (Fig. 58)。Na は K が不足した場合にその代価となり浸透圧を形成することが知られているが (間藤 2002)、Na チャネルの阻害は茎径に影響を与えないことから、水分吸収や蒸散に対しては影響を持たないことが K との差異と考えられる。また、根から栄養素を吸収する手段として、エネルギーを使った能動輸送が挙げられるが (末吉 2002)、原動力となるプロトン勾配の形成を阻害した場合にも茎径変化が観察されなかったことから (Fig. 58)、K チャネル阻害とアクアポリン活性が特異的な関係を持つ可能性が示唆される。

また、K チャネル阻害として BaCl<sub>2</sub>、TEA、CsCl を供試したが、全ての処理によって茎径の収縮が見られ (Fig. 56)、アクアポリンや蒸散 (Fig. 57) との関与があると推察された。3種類全ての阻害剤で茎径収縮が確認されたことから、試薬の副作用とは断定しがたく、K チャネルの阻害による影響であると考えられる。

# 第7章

## 総合考察

## 総合考察

Kについて1960～70年代にかけて盛んに研究が行われてきた。それらの成果によってKが生理的にどのような効果を持つかについて多くの知見が得られている。しかしながら、収量を維持する三大栄養素に数えられながら、どのようなメカニズムを持って収量を左右するかについては明確な結論が得られていない。そこで本研究は、ソース・シンク関係からKの機能について解析を行い、収量を左右するメカニズムについて研究を行った。また同様の検証をNについても行い、Pの結果(Fujita et al 2003b)とともにトマトの育種方針に対する指針を示す。

本研究で用いたトマトはソース・シンク単位が明確であり、かつ果実肥大期にはK要求量が高いという生理的な特徴を持っている。同時に、現在の日本では先端農業の一つとしてシステム化された溶液栽培が盛んに行われている作物である。以上のような背景のなか、本研究は、Kの生理的機能にソース・シンク関係から迫ると同時に、歪ゲージ式変位計を用いた栽培管理技術への貢献と収量維持を目的としている。

### 1. 果実肥大期とK欠乏

光合成速度をソース能の指標、果実・莖径肥大速度をシンク能の指標とすると、果実肥大期のトマトでは、果実肥大速度は6日目(Fig. 8)、莖径肥大速度は4日目(Fig. 5)から低下し、光合成速度は処理開始12日目から低下した(Fig. 9)。また葉面積の低下は14日目まで確認されておらず(Fig.10)、光合成を行う葉面積の差がソース能を左右する要素ではなかった。

以上の結果からK欠乏では、シンク能が最初に障害を受け、そのフィードバック障害として光合成能が低下し、ソース能が抑制されることにより果実生産能の低下を招いていると推察される。

### 2. 栄養生長期とK欠乏

また、このようなK欠乏による生育障害機構は、栄養生長期におけるトマトにおいても同様であっ

た。栄養生長期のトマトに対して $^{14}\text{C}$ 同化実験を行ったところ、炭素化合物の分配は茎に対して常に高い割合を示した (Fig. 25)。この結果は幼植物において、茎が最も強力なシンクであることを示している。このことから、シンクの指標として茎径を用いると、処理3日目より茎径の肥大は抑制され (Fig.22A, B)、この差は処理最終日まで保持された (Fig.21, 22C)。

一方、ソース活性を見ると処理開始12日目まで影響が認められず (Fig.23A)、葉面積への影響も4日目までは確認されなかった (Fig. 20A)。

以上から、栄養生長期においても、K欠乏により最初にシンク活性が影響を受け、その後ソース活性が低下することで、生育阻害が発生すると考えられる。また、K欠乏に対するトマトの応答は果実肥大期および栄養生長期に共通していると推察される。

### 3. K 欠乏がトマトの果実肥大期、栄養生長期に与える影響の相違点

果実肥大期・栄養生長期の双方でソースおよび転流に対する K 欠乏の初期応答はみられなかった。例えば、光合成速度では、双方で処理開始 12 日目頃からの低下が確認され (Fig.9, 23A)。同様に、葉面積の減少には果実肥大期で14日 (Fig.10)、栄養生長期で12日 (Fig. 20A)の時間を要した。 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$  転流率では果実肥大期、栄養生長期ともに K 欠乏区の転流率が僅かに低く (Fig. 15,24)、その後その状態を保ったまま推移し、明確な減少を示すのに双方で 14 日以上時間を要した。

次に、シンクへの影響をみると、果実肥大期と栄養生長期で K 欠乏の最初の応答としてシンク器官への影響が観察された (Fig.5, 7, 21)。果実肥大期では K や同化産物に対して果実が最も強力なシンクとして作用するのに対し (Fig.12,16)、栄養生長期では茎にその役割がある (Fig.25)。このように、栄養生長期と果実肥大期との間で K 欠乏はシンクに初期に影響を与え、フィードバック阻害によってソース能を低下させているという機構を共有している。

しかし、それぞれの生育ステージで果実と茎は最大のシンクであるが、シンクとしての強度が異なった。例えば、果実・茎径肥大を比較すると、対照区の茎径は処理期間中で 1.5mm の生長を見

せたのに対し (Fig. 5)、果実では 25mm の肥大がみられる (Fig. 7)。また、果実肥大期の  $^{13}\text{C}$  および K 分配率では、対照区、処理区に関わらず、常に果実が大量の光合成産物、K を受け取っているのに対し (Fig.12)、栄養器官の乾物分配率が上昇している場合には、そのコストとして茎への乾物の分配が減少している (Table 5, Fig.18)。栄養生長期の  $^{14}\text{C}$  分配でも同様の傾向が見られ、頂芽への分配率が上昇した場合には、根や葉ではなく、茎の分配率が減少している (Fig. 25)。

このように、茎は継続的に同化産物を蓄える機能には特化しておらず、一時的に栄養素を貯蔵し、他器官の生長が著しい場合には柔軟に自身の構成要素を再転流させる機能を有すると考えられる。

#### 4. N 欠乏とトマトの果実肥大期

K はトマトのシンク能に対して影響を与え、その後、フィードバック阻害によってソース能作用すると考えられる。一方で、三大栄養素である P も同様にシンクに影響を与え、そのフィードバック阻害によってソース能影響を与えることが報告されているが (Fujita et al 2003b)、N 欠乏をソース・シンク関係から論じた報告は見受けられない。そこで、トマトを用いて N 欠乏の応答を光合成速度、果実・茎径肥大速度、 $^{13}\text{C}$  転流・分配状態、 $^{15}\text{N}$  分配状態、N 濃度・集積・分配状態などのパラメータから比較し、ソース・シンク関係から解析した。

これらのパラメータのうち、光合成速度をソース能の指標、果実・茎径肥大速度をシンク能の指標とすると、光合成速度は処理開始直後から低下し (Fig.32A)、果実肥大速度は処理によって影響をほとんど受けなかった (Fig.30,31)。また、日中の茎径収縮は処理 1 日目から影響を受けたが、生長は阻害されていなかった (Fig.28, 29A)。以上の結果から N 欠乏では、ソース能が最初に阻害を受けて光合成能が低下し、バイオマス生産の低下を招いていると推察される。

## 5. K 欠乏、N 欠乏が果実肥大期に与える影響とその差異

K 欠乏と N 欠乏が果実肥大期のトマトに与える影響は明確に異なる。K 欠乏では、シンク能活性を低下させることをきっかけとして、フィードバック阻害が発生し、ソース能に影響を与え、同化産物生産が滞ることで乾物重を低下させる。それに対して N 欠乏では、ソース能へ直接的に影響を与えることで光合成産物の生産が低下し、乾物重を低下させている。しかしながら、K 欠乏と N 欠乏によるソース能低下のメカニズムは異なるが、共通する機構も存在することが推察される。

K 欠乏および N 欠乏では、双方に葉の糖濃度の上昇がみられ (Fig.13,36)、これをシグナルとして光合成速度が低下すると考えられる (Kock 1996, Morcuende et al 1997, Filitti and Gonzalez 1998, Winder et al 1998)。

K 欠乏による葉への糖蓄積はフィードバック阻害によるものと考えられる。一方、N 欠乏では光合成速度が低下するにもかかわらず (Fig. 32A)、葉内に同化産物が蓄積されているが (Fig. 36B)、この原因は葉からの転流率低下にあると考えられる (Fig. 33)。

K は硝酸態窒素の対イオンとして働くことから、トウゴマでは K 欠乏によって硝酸態窒素の吸収、葉への転流が抑制された (Pujos and Morard 1997)。しかしながら、本研究の結果では K 欠乏処理による葉内の N 濃度低下は見られなかった (データ未記載)。N 欠乏による光合成速度の低下には葉内 N 濃度が強く関係しているが (Fig.37A)、K 欠乏によるソース能の低下はフィードバック阻害によるもののみと推察される。

また、K 欠乏と N 欠乏では果実に与える影響が異なった。K 欠乏では処理開始 1 日目から徐々に果実肥大速度が低下し、日数の経過とともに対照区との差が拡大したのに対し (Fig. 7)、N 欠乏では大きな差は見られず、処理最終日には N 欠乏区と対照区で果実径に差が認められなかった (Fig.30)。N 欠乏では果実への同化産物転流は低下しており (Fig.33, 34)、果実の乾物重も低下していることから (Table 8, Fig.27)、一見差がみられなかった果実径は水分によって補填されていると

考えられる。一方、K 欠乏のトマトでも果実への同化産物転流は低下したが (Table 3,4, Fig.15,16)、果実径は対照区を大きく下回った (Fig. 7)。これは、K 欠乏の場合、水分による果実径の補填が行われなかった事を示している。

また、果実の水分状態に与える影響が異なった原因は過去の報告から説明が出来ない。例えば、N 欠乏による吸水能力の低下は根のアクアポリンで確認されており (Clarkson et al 2000)、K 欠乏によって一部のアクアポリンでは活性が強化されることが報告されている (Liu et al 2006)。すなわち、N 欠乏では吸水が阻害されるため、果実の吸水による肥大は困難になり、K 欠乏では吸水による補填の発生を行い易くなると考えられるが、本研究ではその逆の影響が確認された。このような差が発生した原因は、栄養欠乏を非破壊で調査したために観察されたと考えられ、従来法によるアクアポリンの活性診断によっては、かならずしも十分に個体の水分状態を把握することが出来ないことを示している。

## 6. N, P, K 欠乏とトマトの育種方針

トマトの育種方針に対して重要な要素となったのは消費者の動向であった (住田ら 2008)。しかし、近年の肥料資源の高騰 (農林水産省生産局 2008) から施肥量と収量の関係から育種を見直す可能性が高い。加えて、貧栄養環境での収量の維持はこれまで重要視されてこなかった。このような中で本研究は水耕栽培において N, P, K 欠乏に耐性を持つトマトの育種方針として以下の指針を示すことが出来る。

果実肥大期のトマトに対する三大栄養素欠乏をソース・シンク関係から整理すると以下のような特徴が分かる。①N 欠乏ではソース能が早期に影響を受け、その結果乾物生産能力が低下し収量を低下させる (第 4 章)。②P 欠乏 (Fujita et al 2003b)、K 欠乏 (第 2, 3 章) ではシンクへの影響が先行し、フィードバック阻害によってソース能に影響を与え、収量の低下につながっている。すなわち、貧 N 環境が予想される場合、トマトでは光合成速度 (ソース能) を維持できる品種が有効であり、貧 P および貧 K 環境では果実生長 (シンク能) を維持できる品種が有望であると考えられる。

## 7. 茎径診断を指標とした施肥量削減と収量維持について

N、P、K 欠乏による茎径変化はそれぞれ特徴的であり、茎径変化から栄養欠乏の診断が出来る可能性を示した。この測定結果を基に、収量を維持しつつ、いかに植物に与える栄養元素量を削減しうるかについて検討を行った。結論として、P 欠乏を茎径によって診断することによって施肥量の削減を図り、対照区とほぼ同等の生育および収量を維持しうる事が期待できる。

P 欠乏環境に置かれたトマトを茎径変化から診断した結果、処理 5 日目に茎径は P 欠乏に特有の症状を示した (Fig.40, 46)。さらに、茎径診断に従って、P を添加したところ、果実生産量は対照区の 90%維持された。この結果は、P 欠乏の茎径によるリアルタイム診断によって収量を維持しつつ、施肥量削減を可能にする事を示唆している。

この収量維持の要因として、P 欠乏による光合成速度の低下には時間を要すること (Fujita et al 2003b)、および水分状態の改善が影響していると考えられる。

一時的な P 欠乏による気孔閉鎖、および蒸散抑制による水分状態の改善は過去に報告されており (Radin 1984,1990)、かつ、根の水透過性の低下に 4~8 日間を要することから (Fan et al 2007)、水分状態の改善が推察される。日照時間中の茎径収縮の軽減は、このような水分状態の改善を裏付けており (Fig. 46)、P 欠乏による水分状態の改善効果も植物生長の維持に寄与していると推察される。

## 8. 茎径変化と蒸散速度、アクアポリン活性、K チャネル

第 5 章より、茎径変化による診断によって施肥量を削減する可能性が示唆されたが、欠乏する元素によって茎径変化が異なる原因とはなんだろうか。茎径の変化は「水の変動による可逆的な変化」と、「茎の生長による不可逆的な変化」の 2 つの要素によって左右されると考えられている (Sevanto et al 2002)。さらに、Daudet ら (2005) は樹木を用いてこれらの要素を細分化し、4 つの要素が茎径変化を支配していると報告している。このような茎径変化の定義は、樹木 (カキ: Fujita et

al 2003a、ナシ:Ito et al 2002)での茎径日変化と、草本植物(トマト:Fujita et al 2003b, Suwa et al 2008、タバコ:Moghaieb et al 2006, Suwa et al 2006、ダイズ:Ohashi et al 2006)の茎径変化で同様のパターンが得られていることから、トマトについても当てはまると考えられる。そこで、茎径を支配する水の要素を、アクアポリン活性阻害剤を用いることで調査した。

その結果、根へアクアポリン活性阻害処理を施すことで、吸水が阻害され、植物体の水分含量が低下することで茎径の収縮が開始し(Fig.52)、水分含量の低下によるシグナルの伝達(hydraulic signal)によって蒸散速度が低下したことが推察された(Fig.54)。同様に、根へのKチャンネル阻害剤処理によっても茎径の収縮(Fig.56)、蒸散速度の低下が確認された(Fig.57)。一方で、Naチャンネルの阻害や $H^+$ ATPaseの阻害では茎径の収縮が確認されなかった(Fig.58)。以上から、Kチャンネルの阻害によるアクアポリン活性の阻害は特異的であると考えられ、Kストレスによって水ストレスが併発される可能性が示唆された。

## 9. K 欠乏の生育低下メカニズムについて

### ①栄養生長期の特色

K 欠乏による影響をソース・シンク関係からみると、栄養生長期において最初にシンク能に対して影響を持ち(Fig.21)、その後、フィードバック阻害を通じてソース能を低下させると考えられる(Fig.23A)。このソース能の低下が、乾物重蓄積の急激な低下に拍車をかけていると考えられるが(Table 5, Fig.18)、成葉と幼葉とではK欠乏の影響は異なった(Fig.23A,B)。多くの報告がK欠乏によるソース能の変化を光合成速度の低下として報告しているが(Tsuno and Fujise 1965, Terry and Ulrich 1973, Longstreth and Nobel 1980, Zhao et al 2001, Peuke et al 2002)、多くが成葉一枚を対象としており、幼葉を対象としていない。トマトは、ソース・シンク単位が明確な作物であり(Tanaka and Fujita 1974)、果実とその直下の葉2枚、直上の葉1枚がソース・シンク単位を形成している(藤田 1991)。トマトの生長は、このソース・シンク単位を積み重ねるように進むため(藤田 1991)、K欠乏による影響の出方は植物中の各所で異なる。特に幼葉の蒸散速度の急激な低下は

(Fig.23D)、成葉では発生せず(Fig.23C)、生長途中にある幼葉への窒素源の供給低下に直結している可能性が考えられる(McDonald et al 2002)。加えて、Kは硝酸態Nの対イオンとして葉へのN転流に密接な関係を持つため(Pujos and Morard 1997)、K欠乏に陥った幼葉は深刻なN欠乏も併発している可能性がある。

一方、幼葉の蒸散速度の急激な低下は、hydraulic signal によるシグナル伝達によってK欠乏を水ストレスとして受け取った可能性がある。Comstock (2002)によれば、hydraulic signal とは、水圧の変化自体がシグナルとして導管内を伝達し、気孔開閉制御の役割を担っているという。本研究結果から、茎径の急激な収縮がKチャンネル阻害(Fig.56)およびアクアポリンの阻害でも確認された(Fig.50, 51)。Kチャンネル阻害による茎径の収縮は水分保持量の低下(水圧の低下)を示しており(Sevanto et al 2008)、茎径の収縮に合わせて気孔伝導度の減少による蒸散速度の低下が認められた(Fig.57)。このように、Kが植物に吸収されないというストレスが水ストレスとしても感知され、幼葉での蒸散速度低下につながったと推察される。しかしながら、幼葉と成葉に対する影響がそれぞれ異なる原因については不明な点が多い。

## ②果実肥大期の特色

果実肥大期では栄養生長期と異なり、Kや同化産物に対する強力なシンクとして果実が存在している。特に、トマトのソース・シンク単位は「果実とその直下の2葉および直上の1葉」で形成されており、その単位外からの同化産物再転流は少ない(藤田 1991)。Kは移動し易い元素の一つであるが、このソース・シンク単位の系外には再転流されにくく、本研究では果実肥大が旺盛な果実とソース・シンク単位を形成していた中段付近の葉ほどK欠乏の影響を強く受け、肥大途上であった上段と、肥大がほぼ完了していた下段では枯死するほどの影響は少なかった(Fig. 4)。

第5章の結果では茎径診断によるK欠乏の回復処理を行っても茎径は回復せず(Fig.45)、さらに、各個体の果実重のばらつきがその他の区と比較して大きかった(Table 11, Fig.48)。このような結果はソース・シンク単位ごとにシンクの強度でK欠乏の影響が異なることが原因と推察される。

# 第 8 章

## 摘要

ソース・シンク関係から植物生産を論じた場合、シンク能によって作物収量は律速されている場合が多い。しかしながら、シンク能による収量の律速は、良好な栽培環境下で実施された研究を基に論じられており、様々な環境ストレス下においても作物の生育が、シンク能によって律速されるか否かについては不明である。

そこで本研究では、トマトを用い、環境ストレスの一つである栄養ストレス下における植物生長の律速因子について、ソース・シンク関係から検討した。本研究では、

①果実生長のリアルタイム測定によってシンク能の指標とし、それと平行して光合成能の測定によってソース能を評価し、栄養ストレス下の収量律速因子についてソース、シンク関係から議論した。

②本研究は、植物生長、栄養ストレスの支配要因についてソース・シンク関係より解析した点で特徴的であり、さらに、これらを解明して施肥量を削減した新しい栽培方法の確立を目指すなど実践的にも有意義であると考えられる。

③また、様々な環境条件下における器官の径変動の要因をアクアポリン活性、K チャネル活性の阻害から検討し、水分動態と径変動との関係について検討した。

## 1. K 欠乏が果実肥大期のトマトに与える影響

### ～ソース・シンク関係による解析～

K は植物の生理現象に対して様々な役割を担っている。しかしながら、既往の K の基礎的、応用的な知見を集約しても、K 欠乏による収量減少のメカニズムの解明にはかならずしも充分ではない。そこで、水耕栽培のトマトを用いて、K 欠乏に対する応答を光合成速度、果実・莖径肥大速度、 $^{13}\text{C}$  転流・分配状態、K 濃度・集積・分配状態などから解析し、ソース・シンク関係から収量の低下要因について検討した。

これらの測定項目のうち、光合成速度をソース能の指標、果実・莖径肥大速度をシンク

能の指標とすると、光合成速度は処理開始 12 日目から、果実肥大速度は 6 日目、茎径肥大速度は 4 日目から低下した。また葉面積の低下は 14 日目まで確認されておらず、葉面積の差がソース能を左右する因子ではないことを示した。

以上の結果から K 欠乏では、シンク能が最初に阻害を受け、そのフィードバック阻害により光合成能が低下し、ソース能が抑制されることにより果実生産能の低下を招くと推察される。

## 2. K 欠乏が栄養生長期のトマトに与える影響

### ～ソース・シンク関係による解析～

ソース・シンク関係から栄養生長期のトマトを見た場合、植物器官の生理的な特性が明確ではない。例えば、葉、茎、頂芽、根など生長中の部位は全ての器官でシンク能を示し、葉では展開が完了した小葉から順次ソースとしての性質を示していく。このような変遷の中で、K 欠乏の影響は果実肥大期と同じ器官であっても各所で異なり、K 欠乏が乾物生産に与える影響は明確ではない。そこで、栄養生長期のトマトを用いて K 欠乏の影響を、茎径変化、 $^{14}\text{C}$  転流・分配状態、K 濃度・集積・分配状態などから解析し、ソース・シンク関係から生育阻害のメカニズムについて検討した。

その結果、栄養生長期では茎に対する  $^{14}\text{C}$  分配が常に高く、幼植物において茎が最も強力なシンクであることを示した。茎径（シンク）は処理 3 日目より肥大が抑制され、この差異は処理最終日まで継続された。一方、ソース活性を見ると処理 12 日目まで K 欠乏の影響が認められず、葉面積への影響も 4 日目まで確認されなかった。

以上から、K 欠乏によって最初にシンク活性が阻害され、その後ソース活性が低下すると推察される。また、このような K 欠乏によるトマトの生長阻害のメカニズムは、果実肥大期、栄養生長期のトマトに共通していると考えられる。

## 4. N欠乏が果実肥大期のトマトに与える影響

### ～ソース・シンク関係による解析～

Nは植物細胞中に炭素化合物を形成しており、光合成とNの有機化は対を成している。C代謝、N代謝の重要性から、これらの相互作用はソース、シンクそれぞれについて研究が進められた。しかしながら、このようなソース、シンクに対する個別の調査では、N欠乏による生育低下をメカニズムとして捉える場合、かならずしも充分ではない。

そこで、N欠乏環境下に置かれたトマトを、光合成速度、茎径、果実径変化、<sup>13</sup>C転流などを同時に測定することにより、N欠乏がソース能、シンク能のどちらが最初に制限されるかについて明らかにし、N欠乏によるバイオマス生産の低下がソース能とシンク能のどちらに起因するかを明確にする。

実験の結果、光合成速度をソース能の指標、果実・茎径肥大速度をシンク能の指標とすると、光合成速度はN欠乏開始直後から低下したが、この時点で果実および茎径肥大速度に阻害がみられなかった。以上の結果から、N欠乏ではソース能がシンク能と比較して早期に阻害を受けて光合成速度が低下し、その結果、バイオマス生産の低下を招いていると推察される。

## 5. 茎径変化によるトマトの栄養診断

植物が環境ストレスを受けると、生産性が低下する。生産現場では環境ストレスの回避のため葉色、果実色または草丈を指標にストレスを診断した。しかしながら、目視によるストレス診断は明確な基準にはならず、客観性および再現性が低い。

一方で、栄養ストレスに注目すると、N欠乏、P欠乏、K欠乏初期（処理開始1～3日）に茎径変化がそれぞれに特徴的な応答を示すことが判明している。

そこで、この初期応答の違いを利用し、茎径診断によってトマトの栄養診断を行い、施肥量の節減、果実収量の維持を試みた。

N 欠乏を茎径から診断した結果、処理 5 日目に N 欠乏に特有の症状を示した。しかしながら、茎径診断に従い、N を添加した場合でも果実生産の増加は認められず、対照区の約 57%に止まった（対照区で約 27g、N 再供給区で約 14g）。この結果は、第 2 果房が不受精のため、収量が低下したとも考えられるが、現段階では N 欠乏の茎径によるリアルタイム診断による、収量維持および施肥量の低減については更なる検討を要する。

P 欠乏を茎径変化から診断した結果、処理 5 日目に P 欠乏の特徴的な症状を認めた。さらに、茎径診断に従って P を添加したところ、果実生産量は対照区の 90%維持された（対照区で約 27g、P 再供給区で約 24g）。以上の結果から、P 欠乏の茎径リアルタイム診断によって、収量を維持ししつつ、施肥量の削減を可能にすると考えられる。

K 欠乏を茎径から診断した結果、処理 5 日目に K 欠乏に準じる症状が観察された。しかしながら、茎径診断に従い K を添加した場合でも果実生産の維持は観察されず、対照区の 60%と減少した（対照区で約 27g、K 診断区で約 16g）。この結果は、第 2 果房が不受精となった結果とも考えられるが、現段階では K 欠乏の茎径によるリアルタイム診断による収量維持、および施肥量の削減を実現させるには更なる検討を要すると考えられる。

結論として、P 欠乏を茎径診断することにより、施肥量の削減を図り、対照区とほぼ同等の生育および収量を維持しうることが期待できる。

## 6. 茎径変化の支配要因の解析

### ～アクアポリンおよびKチャネル阻害からみて～

先の研究から、異なる栄養ストレスの負荷により、茎径変化に特徴的な症状が表れることが認められた。他方で、茎径の生長は「水分状態」と「乾物の蓄積」に支配されている。異なる栄養ストレスによる茎径の特徴的な症状は、ストレスを負荷した直後から見られることから、栄養ストレスの違いが、植物の水分状態に異なる影響を与え、特徴的な茎径変化をもたらしていると推察できる。

植物の水分状態を左右する要因は、根による吸水、葉からの蒸散の二つが挙げられ、器官の径変動と植物水分状態との関係について盛んに論じられてきた。一方、植物の吸水を担うアクアポリンが植物で発見され、その活性と環境ストレスの関係が検討されている。しかしながら、器官の径変動、アクアポリン活性、蒸散の相互関係について詳細に検討した研究は見受けられない。

そこで、本章では、アクアポリン活性、蒸散速度および茎径変化との関係を明確にするとともにKチャネル阻害剤等を用いてKチャネルとアクアポリン活性との関係を調査し、栄養ストレスと茎径変化の関係について検討した。

実験の結果、根に対するアクアポリン活性を阻害することによって、①根での水透過性低下による吸水力の低下、②吸水力が低下したことによる茎径の収縮、③茎径の収縮（水圧の減少=hydraulic signal）による葉での蒸散速度低下、④水支出の低下（蒸散速度低下）による茎径収縮の緩和、といった順序で水ストレスが植物個体内を伝播されると考えられた。

また、Kチャネル阻害の場合でも、同様のメカニズムが作動したと考えられ、Naチャネルの阻害や、 $H^+$ ATPase（能動輸送の原動力）の阻害では茎径に変化が確認されなかったこ

とから、水ストレスとKストレスとで共通する特徴的なシグナル伝達の存在が推察された。

# 第 9 章

## 参考文献

Ashley MK, Grant M, Grabov A. Plant responses to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins. *Journal of Experimental Botany* 57 (2006) 425-436.

Balsamo RA, Thomson WW. Isolation of mesophyll and secretory cell protoplasts of the halophyte *Ceratostigma plumbaginoides* (L.): a comparison of ATPase concentration and activity. *Plant Cell Reports* 15 (1996) 418-422.

Barbara JG, Stoeckel H, Takeda K. Hyperpolarization-activated inward chloride current in protoplasts from suspension-cultured carrot cells. *Protoplasma* 180 (1994) 136-144.

Barthes L, Bousser A, Hoarau J, Deleens E. Reassessment of the relationship between nitrogen supply and xylem exudation in de-topped maize seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 33 (1995) 173-183.

Basu PS, Ali M, Chaturvedi SK. Osmotic adjustment increases water uptake, remobilization of assimilates and maintains photosynthesis in chickpea under drought. *Indian Journal of Experimental Biology* 45 (2007) 261-267.

Behboudian MH, Anderson DR. Effect of potassium deficiency on water relations and photosynthesis of tomato plants. *Plant and Soil* 127 (1990) 137-139.

Bei Q, Luan S. Functional expression and characterization of a plant K<sup>+</sup> channel gene in a plant cell model. *The Plant Journal* (1998) 13: 857-865.

**Bellert C, Bot JL, Dorais M, Lopez J, Gosselin A.** Nitrogen accumulation and growth of fruiting tomato plants in hydroponics, in: Carpena RM (Ed.), Proceedings IS Water quality and quantity in greenhouse horticulture, Acta Horticulturae, ISHS, 458 (1998) 293-299.

**Bendnarz CW, Oosterhuis DM, Evans RD.** Leaf photosynthesis and carbon isotope discrimination of cotton in response to potassium deficiency. *Environmental and Experimental Botany* 39 (1998) 131-139.

**Beringer H, Haeder HE.** Influence of potassium nutrition on starch synthesis in barley grains. *Zeitschrift für Pflanzenernährung and Bodenkunde* 144 (1981) 1-7.

**Besford RT, Maw GA.** Effect of potassium nutrition on tomato plant growth and fruit development. *Plant and Soil* 42 (1975) 395-412.

**Besford RT.** Effect of replacing nutrient potassium by sodium on uptake of and distribution of sodium in tomato plants. *Plant and Soil* 50 (1978a) 399-409.

**Besford RT.** Effect of sodium in the nutrient medium on the incidence of potassium-deficiency symptoms in tomato plants. *Plant and Soil* (1978b) 50:427-432.

**Borrás L, Slafer GA, Otegui ME.** Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Research* 86 (2004) 131-146.

**Bot JL, Jeannequin B, Fabre R.** Growth and nitrogen status of soil less tomato plants following nitrate withdrawal from the nutrient solution. *Annals of Botany* 88 (2001) 361-370.

Brian GF, Jeff FH, Kochian L. Focus on plant nutrition. *Plant Physiology* 136 (2004) 2437-2576.

Briskin DP, Basu S, Assmann SM. Characterization of the red beet plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase reconstituted in a planar bilayer system. *Plant Physiology* 108 (1995) 393-398.

Broadley MR, Escobar-Gutierrez AJ, Burns A, Burns IG. Nitrogen-limited growth of lettuce is associated with lower stomatal conductance. *New Phytologist* 152 (2001) 97-106.

Broadley MR, White PJ. Plant nutritional genomics. Blackwell (2005).

Carvajal M, Cooke DT, Clarkson DT. Responses of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water channel function. *Planta* 199 (1996) 372-381.

Chang-Xing Z, Xi-Ping D, Sui-Qi Z, Qing YE, Steudle E, Lun S. Advances in the studies on water uptake by plant roots. *Acta Botanica Sinica* 46 (2004) 505-514.

Chapin FS III, Walter CHS, Clarkson DT. Growth response of barley and tomato to nitrogen stress and its control by abscisic acid, water relations and photosynthesis. *Planta* 173 (1988) 352-366.

Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E. A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *The Plant Journal* 52 (2007) 167-174.

Clarkson DT, Carvajal M, Henzler T, Waterhouse RN, Smyth AJ, Cooke DT, Steudle E. Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and effects of nutrient stress. *Journal of Experimental Botany* 51 (2000) 61-70.

**Comstock JP.** Hydraulic and chemical signaling in the control of stomatal conductance and transpiration. *Journal of Experimental Botany* 53 (2002) 195-200.

**Cram WJ.** Negative feedback regulation of transport in cells. The maintenance of turgor, volume and nutrient supply. In ULuttge, MG Pitman, eds, *Encyclopaedia of Plant Physiology, New Series, Vol 2: Transport in Plants II, Part A.* Springer- Verlag, Berlin (1976) 284-316.

**Creelman RA, Mason HS, Bensen RJ, Boyer JS, Mullet JE.** Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. *Plant Physiology* 92 (1990) 205-214.

**Dalton FN, Raats PAC, Gardner WR.** Simultaneous uptake of water and solutes by plant roots. *Agronomy Journal* 67 (1975) 334-339.

**Daubet FA, Améglio T, Cochard H, Afrechilla O, Lacoïnte A.** Experimental analysis of the role of water and carbon in three stem diameter variations. *Journal of Experimental Botany* 56 (2005) 135-144.

**Davies JN, Winsor GW.** Effect of nitrogen, phosphorus, potassium, magnesium and liming on the composition of tomato fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 18 (1967) 459-466.

**Davis RF, Jaworski AZ.** Effects of ouabain and low temperature on the sodium efflux pump in excised corn roots. *Plant physiology* 108 (1979) 940-946.

- Dixon MA, Grace J, Tyree MT.** Concurrent measurements of stem density, leaf and stem water potential, stomatal conductance and cavitation on a sapling of *Thuja occidentalis* L. *Plant, Cell and Environment* 7 (1984) 615-618.
- Dordas C, Chrispeels MJ, Brown PH.** Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiology* 124 (2000) 1349-1361.
- Ehret DL, Ho LC.** Effects of osmotic potential in nutrient solution on diurnal growth of tomato fruit. *Journal of Experimental Botany* 37 (1986) 1294-1302.
- Ehret DL, Lau A, Bittman S, Lin W, Shelford T.** Automated monitoring of greenhouse crops. *Agronomie* 21 (2001) 403-414.
- Epstein E, Bloom AJ.** Mineral nutrition of plants: principles and perspectives second edition. Sinauer Associates (2005).
- Evans JR.** Nitrogen and photosynthesis in flag leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.), *Plant Physiology* 72 (1983) 297-302.
- Evans JR, Terashima I.** Effects of nitrogen nutrition on electron transport components and photosynthesis in spinach. *Australian Journal of Plant Physiology* 14 (1987) 59-68.
- Fan M, Bai R, Zhao X, Zhang J.** Aerenchyma formed under phosphorus deficiency contributes to the reduced root hydraulic conductivity in maize roots. *Journal of Integrative Plant Biology* 49 (2007) 598-604.

**Felitti SA, Gonzalez DH.** Carbohydrates modulate the expression of the sunflower cytochrome c gene at the mRNA level. *Planta* 206 (1998) 410-415.

藤田 耕之輔. 現代植物生理学⑤ 物質の輸送と貯蔵 ソース・シンク関係と植物生産 pp145-156 東京 朝倉書店 (1991).

藤田 耕之輔. 植物栄養学 第2版 IV.炭素同化,炭素代謝 3.光合成産物の転流と蓄積 pp84-89 東京 文永堂出版 (2002).

**Fujita K, Ito J, Mohapatra PK, Saneoka H, Lee K, Kurban H, Kawai K, Ohkura K.** Circadian rhythm of stem and fruit diameter dynamics of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) is affected by deficiency of water in saline environments. *Functional Plant Biology* 30 (2003a) 747-754.

**Fujita K, Okada M, Lei K, Ito J, Ohkura K, Adu-Gyamfi JJ, Mohapatra PK.** Effect of P-deficiency on photoassimilate partitioning and rhythmic changes in fruit and stem diameter of tomato (*Lycopersicon esculentum*) during fruit growth. *Journal of Experimental Botany* 54 (2003b) 2519-2528.

**Gambín BL, Borrás L, Otegui ME.** Source-sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Research* 95 (2006) 316-326.

**Gardner RC.** Genes for magnesium transport. *Current Opinion in Plant Biology* 6 (2003) 263-267.

**Gastal F, Lemaire G.** N uptake and distribution in crops: an agronomical and eco-physiological perspective, *Journal of Experimental Botany* 53 (2002) 789-799.

**Geiger DR, Conti TR.** Relation of increased potassium nutrition to photosynthesis and translocation of carbon. *Plant Physiology* 71 (1983) 141-144.

**Ginestar C, Castel JR.** Use of stem dendrometers as indicators of water stress in drip-irrigated citrus trees. *Acta Horticulturae* 421 (1998) 209-219.

**Gloser A, Zwieniecki MA, Orians CM, Holbrook NM.** Dynamic changes in root hydraulic properties in response to nitrate availability. *Journal of Experimental Botany* 58 (2007) 2409-2415.

**Grange RL, Andrews J.** Growth rates of glasshouse tomato fruit in relation to final size. *Journal of Horticultural Science* 68 (1993) 747-754.

**Guidi L, Lorefice G, Pardossi A, Malorgio F, Tognoni F, Soldatini G.F.** Growth and photosynthesis of *Lycopersicon esculentum* (L.) plants as affected by nitrogen deficiency. *Biologia Plantarum* 40 (1997) 235-244.

**Haeder HE, Mengel K, Forster H.** The effect of potassium on translocation of photosynthates and yield pattern of potato plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 24 (1973) 1479-1487.

**Haeder HE, Mengel K.** Translocation and respiration of assimilates in tomato plants as influenced by K nutrition. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 131 (1972) 139-147.

原 徹夫. 植物栄養学 第2版 VI.植物の成育と栄養システム 1. 多量必須元素 (3)カリウム (K) pp133-137 東京 文永堂出版 (2002).

**Hart CE.** Effect of potassium deficiency upon translocation of  $^{14}\text{C}$  in attached blades and entire plants of sugarcane. *Plant Physiology* 44 (1969) 1461-1469.

**Hart CE.** Effect of potassium deficiency upon translocation of  $^{14}\text{C}$  in detached blades of sugarcane. *Plant Physiology* 45 (1970) 183-187.

**Heitholt JJ, Jhonson RC, Ferris DM.** Stomatal limitation to carbon dioxide assimilation in nitrogen and drought-stressed wheat. *Crop Science* 31 (1991) 135-139.

**Hetzroni A, Miles GE.** Machine vision monitoring plant health. *ASAE paper* (1992) No. 92-3574, pp11.

**Hsiao TC.** Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* 24 (1973) 519-570.

**Huber SC.** Biochemical basis for effects of K-deficiency on assimilate export rate and accumulation of soluble sugars in soybean leaves. *Plant Physiology* 76 (1984) 424-430.

**Imai S, Iwao K, Fujiwara T.** Measurements of plant physiological information of vine tree and influence of soil moisture control (3) Influence of soil moisture on daily variation-characteristics of stem and fruit diameter of vine trees. *Environment Control in Biology* 29 (1991) 19-26.

伊藤 純樹. ニホンナシ‘幸水’における植物生体情報に基づく樹体および果実形質に対する環境要因の影響の栄養生理学的解析 博士論文 (2002).

**Ito J, Hasegawa S, Fujita K, Ogasawara S, Fujiwara T.** Changes in water relations induced by CO<sub>2</sub> enrichment govern diurnal stem and fruit diameters of Japanese pear. *Plant Science* 163 (2002) 1169-1176.

**Jiang Y, Lee A, Chen J, Cadene M, Chait BT, MacKinnon R.** The open pore conformation of potassium channels. *Nature* 417 (2002) 523-526.

**Johanson U, Gustavsson S.** A new subfamily of major intrinsic proteins in plants. *Molecular Biology and Evolution* 19 (2002) 456-461.

**Johnson RW, Dixon MA, Lee DR.** Water relations of the tomato during fruit growth. *Plant, Cell and Environment* 15 (1992) 947-953.

**Jordan-Meille L, Pellerin S.** Shoot and root growth of hydroponic maize (*Zea mays* L.) as influenced by K deficiency. *Plant and Soil* 304 (2008) 157-168.

**Kacira M, Sase S, Okushima L, Ling PP.** Plant response-based sensing for control strategies in sustainable greenhouse production. *Journal of Agricultural Meteorology* 61 (2005) 15-22.

**Kaldenhoff R, Bertl A, Otto B, Moshelion M, N Uehlein.** Characterization of Plant Aquaporins. *Methods in Enzymology* 428 (2007) 505–531.

**Karmoker JL, Clarkson DT, Saker LR, Rooney JM, Purves JV.** Sulphate deprivation depresses the transport of nitrogen to the xylem and hydraulic conductivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. *Planta* 185 (1991) 2269-2278.

**Kirimura M, Inden H.** Optimization of calculation for the ion concentration control in hydroponics. *Journal of Society of High Technology in Agriculture* 16 (2004) 183-192.

**Kock KE.** Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47 (1996) 509-540.

久保 省三. 日本土壤肥料学会監修、編者植物栄養実験法編集委員会編集、「生育評価法（トマト）」、植物栄養実験法、株式会社博友者発行、(1990) 397-401.

**Lalonde S, Wipf D, Frommer WB.** Transport mechanisms for organic forms of carbon and nitrogen between source and sink. *Annual Review of Plant Biology* 55 (2004) 341-372.

**Lawlor DW, Boyle FA, Young AT, Keys AJ, Kendall AC.** Nitrate nutrition and temperature effects on wheat: photosynthesis and photorespiration of leaves. *Journal of Experimental Botany* 38 (1987) 393-408.

Lawlor DW. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany* 53 (2002) 773-787.

Liu HY, Sun WN, Su WA, Tang ZC. Co-regulation of water channels and potassium channels in rice. *Physiologia Plantarum* 128 (2006) 58-59.

Long SP, Zhu XING, Naidu SL, Ort DR. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant, Cell and Environment* 29 (2006) 315-330.

Longstreth DJ, Nobel PS. Nutrient influences of leaf photosynthesis effects of nitrogen, phosphorus and potassium for *Gossypium Hirtutum* L. *Plant Physiology* 65 (1980) 541-543.

Lu C, Zhang J. Photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *Plant Science* 151 (2000) 135-141.

Lucas RE. Potassium nutrition of vegetable crops. In: The role of potassium in agriculture—Kilmer VJ, Younts SE, Brady NC, eds. American Society of Agronomy (1968) Chapter 22.

Maeshima M. Tonoplast Transporters: Organization and Function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52 (2001) 469-497.

Marschner H. Mineral nutrition of higher plants (1995) London: Academic Press.

間藤 徹. 植物栄養学 第2版 VII.植物の成育と有用元素 2.ナトリウム (Na) pp192-196 東京文永堂出版 (2002).

- McDonald EP, Erickson JE, Kruger EL. Can decreased transpiration limit plant nitrogen acquisition in elevated CO<sub>2</sub>? *Functional Plant Biology* 29 (2002) 1115-1120.
- Mehmel M, Rothermel M, Meckel T, Van Etten JL, Moroni A, Thiel G. Possible function for virus encoded K<sup>+</sup> channel Kcv in the replication of chlorella virus PBCV-1. *FEBS Letters* 552 (2003) 7-11.
- Mengel K. Effect of potassium on the assimilate conduction of storage tissue. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 93 (1980) 353-362.
- Mengel K, Kirkby EA. Principles of plant nutrition (1987) Bern: International Potash Institute.
- Mengel K, Viro M. Effect of potassium supply on the transport of photosynthates to the fruits of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Physiologia Plantarum* 30 (1974) 295-300.
- Meyer GE, Troyer WW, Fitzgerald JB. Vision methods for inspection of greenhouse poinsettia plants. *SPIE-The International Society for Optical Engineering* 1379 (1990) 99-105.
- Millard P. The accumulation and storage of nitrogen by herbaceous plants. *Plant, Cell and Environment* 11 (1988) 1-8.
- Miralles DJ, Slafer GA. Sink limitations to yield in wheat: how could it be reduced? *Journal of Agricultural Science* 145 (2007) 139-149.

Miyamoto N, Steudle E, Hirasawa T, Lafitte R. Hydraulic conductivity of rice roots. *Journal of Experimental Botany* 52 (2001) 1835-1846.

Moghaieb REA, Tanaka N, Saneoka H, Murooka Y, Ono H, Morikawa H, Nakamura A, Nguyen NT, Suwa R, Fujita K. Characterization of salt tolerance in ectoine-transformed tobacco plants (*Nicotiana tabaccum*): photosynthesis, osmotic adjustment, and nitrogen partitioning. *Plant, Cell and Environment* 29 (2006) 173-182.

Morcuende R, Perez P, Martinez-Carrasco R. Short-term feedback inhibition of photosynthesis in wheat leaves supplied with sucrose and glycerol at two temperatures. *Photosynthetica* 33 (1997) 179-188.

Moshelion M, Becker D, Biela A, Uehlein N, Hedrich R, Otto B, Levi H, Moran N, Kaldenhoff R. Plasma membrane aquaporins in the motor cells of *Samanea saman*: diurnal and circadian regulation. *The Plant Cell* 14 (2002) 727-739.

Moshelion M, Moran N, Chaumont F. Dynamic changes in the osmotic water permeability of protoplast plasma membrane. *Plant Physiology* 135 (2004) 2301-2317.

Nielsen TH, Krapp A, Röper-Schwarz U, Stitt M. The sugar-mediated regulation of genes encoding the small subunit of Rubisco and the regulatory subunit of ADP glucose pyrophosphorylase is modified by phosphate and nitrogen. *Plant, Cell and Environment* 21 (1998) 443-454.

Niemietz CM, Tyerman SD. New potent inhibitors of aquaporins: silver and gold compounds inhibit aquaporins of plant and human origin. *FEBS Letters* 531 (2002) 443-447.

農山漁村文化協会. 農業技術体系 土壌施肥編 4 土壌診断 生育診断 生理障害の診断 社団法人農山漁村文化協会発行(1984) 323-456.

農林水産省生産局. 肥料価格の現状等について (2008)

[http://www.maff.go.jp/chushi/seisan/hiryou\\_koutou/pdf/hiryougenjyou.pdf](http://www.maff.go.jp/chushi/seisan/hiryou_koutou/pdf/hiryougenjyou.pdf)

Ohashi Y, Nakayama N, Saneoka H, Fujita K. Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. *Biologia Plantarum* 50 (2006) 138-141.

Osaki M, Shinano T, Tadano T. Effect of nitrogen, phosphorus, or potassium deficiency on the accumulation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and chlorophyll in several field crops. *Soil Science and Plant Nutrition* 39 (1993) 417-425.

Papernik LA, Kochian LV. Possible involvement of Al-induced electrical signals in Al tolerance in wheat. *Plant Physiology* 115 (1997) 657-667.

Paul MJ, Discoll SP. Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signaling nitrogen deficiency through source:sink imbalance. *Plant, Cell and Environment* 20 (1997) 110-116.

**Paul MJ, Foyer CH.** Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52 (2001) 1383-1400.

**Pearce BD, Grange RI, Hardwick K.** The growth of young tomato fruit. I. Effects of temperature and irradiance on fruit grown in controlled environments. *Journal of Horticultural Science* 68 (1993a) 1-11.

**Pearce BD, Grange RI, Hardwick K.** The growth of young tomato fruit. II. Environmental influences on glasshouse crops grown in rockwool or nutrient film. *Journal of Horticultural Science* 68 (1993b) 13-23.

**Pettigrew WT.** Potassium deficiency increases specific leaf weights and leaf glucose levels in field-grown cotton. *Agronomy Journal* 91 (1999) 962-968.

**Pettigrew WT.** Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. *Physiologia Plantarum* 133 (2008) 670-681.

**Peuke AD, Jeschke WD, Hartung W.** Flows of elements, ions and abscisic acid in *Ricinus communis* and site of nitrate reduction under potassium limitation. *Journal of Experimental Botany* 53 (2002) 241-250.

**Proseus TE, Zhu GL, Boyer JS.** Turgor, temperature and growth of plant cells: using *Chara corallina* as a model system. *Journal of Experimental Botany* 51 (2000) 1481-1494.

**Pujos A, Morard P.** Effect of potassium deficiency on tomato growth and mineral nutrition at the early production stage. *Plant and Soil* 189 (1997) 189-196.

**Quintero JM, Fournier JM, Ramos J, Benlloch M.** K<sup>+</sup> status and ABA affect both exudation rate and hydraulic conductivity in sunflower roots. *Physiologia Plantarum* 102 (1998) 279-284.

**Radin JW, Boyer JS.** Control of leaf expansion by nitrogen nutrition in sunflower plants. Role of hydraulic conductivity and turgor. *Plant Physiology* 69 (1982) 771-775.

**Radin JW, Matthews MA.** Water transport properties of cells in the root cortex of nitrogen and phosphorus deficient cotton seedlings. *Plant Physiology* 89 (1989) 264-268.

**Radin JW.** Responses of transpiration and hydraulic conductance to root temperature in nitrogen- and phosphorus deficient cotton seedlings. *Plant Physiology* 92 (1990) 855-857.

**Radin JW.** Stomatal responses to water stress and abscisic acid in phosphorus-deficient cotton plants. *Plant Physiology* 76 (1984) 392-394.

**Reinbott TM, Blevins DG.** Phosphorus nutritional effects on root hydraulic conductance, xylem water flow and flux of magnesium and calcium in squash plants. *Plant and Soil* 209 (1999) 263-273.

**Roitsch T.** Source-sink regulation by sugar and stress. *Current Opinion in Plant Biology* 2 (1999) 198-206.

Rufty TW, Huber SC, Volk RJ. Alterations in leaf carbohydrate metabolism in response to nitrogen stress. *Plant Physiology* 88 (1988) 725-730.

Salager JL, Fanreguettes J, Berger A. A microcomputer-based measurement system of water stress in higher plants. *Computers and Electronics in Agriculture* 6 (1991) 201-211.

Santoni V, Vinh J, Pflieger D, Sommerer N, Maurel C. A proteomic study reveals novel insights into the diversity of aquaporin forms expressed in the plasma membrane of plant roots. *Biochemical Journal* 373 (2003) 289-296.

Schraut D, Heilmeier H, Hartung W. Radial transport of water and abscisic acid (ABA) in roots of *Zea mays* under conditions of nutrient deficiency. *Journal of Experimental Botany* 56 (2005) 879-886.

Serraj R, Sinclair TR. Osmolyte accumulation: can it really help crop increase yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment* 25 (2002) 333-341.

Sevanto S, Nikinmaa E, Riikonen A, Daley M, Pettijohn JC, Mikkelsen TN, Phillips N, Holbrook NM. Linking xylem diameter variations with sap flow measurements. *Plant and Soil* 305 (2008) 77-90.

Sevanto S, Vesala T, Perämäki M, Nikinmaa E. Time lags for xylem and stem diameter variations in a Scots pine tree. *Plant, Cell and Environment* 25 (2002) 1071-1077.

Shaul O. Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. *BioMetals* 15 (2002) 309-323.

Sheriff DW. A new dendrometer for the measurement of small stem in the laboratory. *Journal of Experimental Botany* 27 (1976) 175-183.

Siddiqi MY, Kronzucker HJ, Britto DT, Glass ADM. Growth of a tomato crop at reduced nutrient concentrations as a strategy to limit eutrophication. *Journal of Plant Nutrition* 21 (1998) 1879-1895.

Simonneau T, Habib R, Goutouly JP, Huguet JG. Diurnal changes in stem diameter depend upon variations in water content: direct evidence in peach trees. *Journal of Experimental Botany* 44 (1993) 615-621.

Smith FW, Mudge SR, Rae AL, Glassop D. Phosphate transport in plants. *Plant and Soil* 248 (2003) 71-83.

Steingrover E, Ratering P, Siesling J. Daily changes in uptake, reduction and storage of nitrate in spinach grown at low light intensity. *Physiological Plantarum* 66 (1986) 550-556.

末吉 邦. 植物栄養学 第2版 III.植物による必須栄養素の吸収と移行 3.根による必須元素の吸収機構 pp41-54 東京 文永堂出版 (2002).

住田 敦, 加屋 隆士, 畠中 誠. 完熟トマト '桃太郎' 系品種の育種と普及 *園芸学研究* 7 (2008) 1-4.

**Suwa R, Fujimaki S, Suzui N, Kawachi N, Ishii S, Sakamoto K, Nguyen NT, Saneoka H, Mohapatra PK, Moghaieb RE, Matsubishi S, Fujita K.** Use of positron-emitting tracer imaging system for measuring the effect of salinity on temporal and spatial distribution of  $^{11}\text{C}$  tracer and coupling between source and sink organs. *Plant Science* 175 (2008) 210-216.

**Suwa R, Nguyen NT, Saneoka H, Moghaieb RE, Fujita K.** Effect of salinity stress on photosynthesis and vegetative sink in tobacco plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 52 (2006) 243-250.

**Taiz L, Zeiger E.** Plant Physiology (third ed.), (2002) Sinauer Associates, Inc., Publishers, Massachusetts.

**Tanaka A, Fujita K.** Nutrio-physiological studies on the tomato plant IV. Source-sink relationship and structure of the source-sink unit. *Soil Science and Plant Nutrition* 20 (1974) 305-315.

**Tazawa M, Sutou E, Shibasaka M.** Onion root water transport sensitive to water channel and  $\text{K}^+$  channel inhibitors. *Plant Cell Physiology* 42 (2001) 28-36.

**Terashima I, Evans JR.** Effects of light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in spinach. *Plant and Cell Physiology* 29 (1988) 143-155.

**Terry N, Ulrich A.** Effect of potassium deficiency in the photosynthesis and respiration of leaves of sugar beet. *Plant Physiology* 51 (1973) 783-786.

**Thai CN, Evans MD, Schuerger AC.** Spectral imaging of bahia grass grown under different zinc and copper treatments. *ASAE Paper* (1999) No. 99-3171, pp16.

**Trudel MJ, Ozburn JL.** Influence of potassium on carotenoid content of tomato fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 96 (1971) 763-765.

**Tsuno Y, Fujise K.** Studies on dry matter production of sweet potato. Bulletin of the National Institute for Agricultural Science (1965) Series D, No. 13. (津野 幸人, 藤瀬 一馬. 農業技術研究所報告 D13 号 甘藷の乾物生産に関する作物学的研究)

**Urbanczyk-Wochniak E, Fernie AR.** Metabolic profiling reveals altered nitrogen nutrient regimes have diverse effects on the metabolism of hydroponically-grown tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. *Journal of Experimental Botany* 56 (2005) 309-321.

**Vance CP, Uhde-Stone C, Allan DL.** Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* 157 (2003) 423-447.

**Volkov V, Hachez C, Moshelion M, Draye X, Chaumont F, Fricke W.** Water permeability differs between growing and non-growing barley leaf tissues. *Journal of Experimental Botany* 58 (2007) 377-390.

**Walker DJ, Black CR, Miller AJ.** The Role of cytosolic potassium and pH in the growth of barley roots. *Plant Physiology* 118 (1998) 957-964.

**Wall ME.** The role of potassium in plants. II. Effects of varying amounts of potassium on the growth, status and metabolism of tomato plants. *Soil Science* 49 (1940) 315-331.

**Wallace IS, Choi WG, Roberts DM.** The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1758 (2006) 1165-1175.

**Widders IE, Lorenze OA.** Tomato root development as related to potassium nutrition. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 104 (1979) 216-220.

**Winder TL, Jindong S, Okita TW, Edwards GE.** Evidence for the occurrence of feedback inhibition of photosynthesis in rice. *Plant and Cell Physiology* 39 (1998) 813-820.

**Winsor GW.** A long-term factorial study of the nutrition of greenhouse tomatoes. (1968) Florence, France: Proceedings of the 6th Colloquium, International Potash Institute.

**Yao C, Moreshet S, Aloni B, Karni L.** Effects of climatic factors and water stress on the diurnal fluctuation in diameter of bell pepper fruit. *Journal of Horticultural Science and biotechnology* 75 (2000) 6-11.

**Yemm EW, Willis AJ.** The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal* 57 (1954) 508-514.

**Zhang WH, Tyerman SD.** Inhibition of water channels by HgCl<sub>2</sub> in intact wheat root cells. *Plant Physiology* 120 (1999) 849-857.

**Zhao CX, Shao HB, Chu LY.** Aquaporin structure-function relationships: Water flow through plant living cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 62 (2008) 163-172.

**Zhao D, Oosterhuis DM, Bednarz CW.** Influence of potassium deficiency on photosynthesis, chlorophyll content, and chloroplast ultra-structure of cotton plants. *Photosynthetica* 39 (2001) 103-109.

**Zhao D, Redd KR, Kakani VG, Reddy VR.** Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. *European Journal of Agronomy* 22 (2005) 391-403.

**Zhu C, Schraut D, Hartung W, Schäffner AR.** Differential responses of maize MIP genes to salt stress and ABA. *Journal of Experimental Botany* 56 (2005) 2971-2981.

# 第 10 章

## 謝辭

本研究の遂行ならびに論文のとりまとめに際し、終始御指導を賜りました  
広島大学教授 藤田耕之輔博士に心より感謝の意を表します。藤田耕之輔博士には、研究の  
指導教官として教えを頂いただけでなく、様々な分野から多くを学ばせていただきました。  
御指導を賜りました5年間は、私の人生の宝であります。

広島大学教授 正岡淑邦博士、河野憲治博士、准教授 実岡寛文博士、ならびに  
四日市大学教授 大倉克己博士には、快く審査員を承諾していただいただけでなく、多くの  
御助言を頂くと共に、校閲の労を賜りました。心より御礼申し上げます。

植物栄養生理学研究室の諸先輩、学友には、苦楽を共にし、充実した学生生活を送る手  
助けを頂きました。本当にありがとうございます。同研究室の後輩には、互いに教えあう  
ことで私自身が多くを学ばせていただきました。とても感謝しております。

本研究を進めるにあたり、お世話になりました全ての方々に御礼の言葉を申し上げます。

最後に、両親には長い学生生活を暖かく見守っていただきました。心から、ありがとう  
ございます

平成21年3月

金井俊輔