

植物の細胞から群落に及ぶ水・エネルギー輸送 メカニズムの解明

桑形恒男

(農業・食品産業技術総合研究機構 農業環境研究部門)

Studies on water and energy transport mechanism at plant cellular to canopy level

Tsuneco Kuwagata

(National Agriculture and Food Research Organization, Institute for Agro-environmental Sciences)

1. はじめに

このたびは、伝統ある日本農業気象学会学術賞を賜り、大変光栄に存じます。ご推薦いただいた小林和彦先生、宮田明博士、長谷川利弘博士、ならびに学会賞選考委員ほか皆様に厚く御礼申し上げます。これまでの研究に対して、「気候変化の農作物への影響や水田微気象プロセスの研究をすすめる一方で、植物組織、細胞、細胞内の水輸送現象の解明に農業気象学の新たな研究領域を拓いた」とのご評価をいただき、まことに身に余る思いです。受賞の対象となった後半の内容は、イネのアクアポリンに関する研究で、農林水産省・東北農業試験場（東北農試、現在の農研機構・東北農業研究センター）在籍時から現在までに、羽田野（村井）麻理博士を中心とするメンバーと共同で実施したものです。また前半の内容に関しては、1993年の大冷害を契機に開始した水田水温に関する研究を、作物の温暖化影響に関わる「水田微気象プロセス」の研究に発展させた内容で、農研機構・農業環境研究部門のメンバーとの協力の下で実施した研究となります。

2. アクアポリンとの出会い

私は東北大学理学部の地球物理学専攻（気象学）で学位を取得し、同専攻で助手を6年半務めた後、1992年10月に東北農試に異動しました。赴任した直後の1993年に平成の大冷害が発生し、やませ等に関わる耕地気象環境の研究に従事することになりました。当時の東北農試には農業気象関係の研究室が2つあり、井上君夫室長や岡田益己室長（現所属：岩手大）を始めとした、個性的な7名の研究者が集まっていました。1996年度の組織再編で2つの研究室は1つに統合され、小沢聖博士（現所属：明治大）を室長とする気象評価制御研究室が発足しました。同研究室は、研究成果については厳しいものの、とても自由でオープンな雰囲気、基礎から実用まで幅広い内容の研究が実施できる環境にありました。そのような状況の中、1997年に赴任した羽田野（村井）博士や、濱寄孝弘氏（現所属：農研機

構本部）と共同で、根域温度の低下が吸水・蒸散を通してイネの生育に与える影響を調べることになりました。植物の低温生理で学位を取得している羽田野（村井）博士からは、アクアポリン（水チャンネル）という膜タンパク質が1992年に発見され（2003年ノーベル化学賞）、植物におけるその役割が未解明であることを聞き、植物の吸水・蒸散に対するアクアポリンの役割の解明を、研究の最終目標とすることにしました。これまでの自分の専門とは全く異なる植物生理学や分子生物学に関わる内容を扱うことになり、土壌物理やSPAC（土壌-植物-大気連続系）の水移動がご専門の石田朋靖先生（現所属：高崎健康福祉大）や、作物の水分生理に詳しい平沢正先生（東京農工大）、植物細胞膜の物質輸送に関して遺伝子・分子レベルで最先端の研究をされている前島正義先生（名古屋大、現所属：中部大）、且原真木先生（岡山大）などの方々から多くの助言をいただきながら、1999年より研究を開始しました。

3. イネアクアポリンに関する研究の進展

私は、2001年4月に農業環境技術研究所（農環研、現在の農研機構・農業環境研究部門）に異動しましたが、東北農業研究センター（東北農研）には羽田野（村井）博士や石川淳子博士（現所属：農研機構・作物研究部門）を中心としたアクアポリン研究に関する強力なチームが結成され、チームのメンバーの支援を受けてイネアクアポリンに関する共同研究を継続することができました。研究開始から約20年が経過しますが、JSPS 科研費などの支援を受けて現在も研究を続けています。これまでの主な研究成果について、以下で簡単に紹介したいと思います。

3.1 細胞膜・液胞膜の高精度な水透過率推定手法の開発

アクアポリンが根の吸水や植物体内の水輸送に果たす役割を組織・細胞レベルで理解するためには、細胞膜や液胞膜の水透過率を正確に評価する必要があります。そこで、前島先生のご支援も受けて、単一プロトプラストにおける細胞膜と液胞膜の水透過率を分離評価する手法を開発しました（Kuwagata and Murai-Hatano, 2007）。この方法を用いると、高張（低張）溶液中で、プロトプラストならびにそれより単離した液胞の収縮（膨張）速度を測定することで、両膜

の水透過率を評価することができます。この新しい計測原理に基づいて、ダイコンの根から単離したプロトプラストの細胞膜と液胞膜の水透過率を評価したところ、両膜の水透過率とも $500 \mu\text{m s}^{-1}$ をこえる高い値であることが分かりました (Murai-Hatano and Kuwagata, 2007)。この結果は、「液胞膜は細胞膜よりも水透過率が著しく高い」という従来の定説に変更を迫る重要な発見であるとして、野並先生 (後述) などからのご推薦を受け、2008 年度 JPR 論文賞 (JPR Best Paper Award 2008) をいただくことができました。本手法はもともと、イネの根細胞の水透過率を計測する目的で、羽田野 (村井) 博士の発案により 1999 年頃から開発を開始しましたが、計測の安定化や精度の検証、論文の審査に至る各段階で難航をきわめ、最終的に論文の形で出版されるまでに約 8 年間の年月を費やしました。論文発表後はお互いに別の研究業務などで時間が取れなくなり、当初の目的であるイネの根細胞の計測までに至っていないことがやや心残りですが、植物細胞の生理学的研究で世界的に著名な田沢仁先生からご評価いただき、現在は奈良久美博士 (奈良女子大) などの方々に利用していただいています。

3.2 根の通水機能の根域温度に対する依存性とアクアポリンの役割

農環研に異動した直後の 2001 年春に、「植物水分生理学」という書籍が出版されたことを偶然に web サイトで見つけ、熱力学を中心とした物理化学を基礎とする植物水分生理学の研究手法に強い関心を持ちました。当時、東北農研におられた岡田益己先生からのご紹介で、国際的に活躍されている著者の野並浩先生 (愛媛大) から直接お話を伺うことができました。2002 年度には羽田野 (村井) 博士と共に野並先生の研究室に滞在し、植物水分生理学の基礎と最前線についてご指導をいただくと共に、当時大学院生であった和田博史博士 (愛媛大) などの支援を受けて、野並先生が自ら設計されたプレッシャーチャンバーや等圧式サイクロメータを用いて、根の通水機能の根域温度に対する依存性とアクアポリンとの関係について調べました。水耕栽培イネ (あきたこまち) の幼植物体の根の通水コンダクタンスの根域温度に対する依存性を定量的に評価し、通水コンダクタンスが 15°C 以下の根域温度で急激に低下することと、その低下の原因がアクアポリンのタンパク量の減少ではなく、アクアポリンの機能低下に関係している可能性を示すことができました (Murai-Hatano *et al.*, 2008)。野並先生からはその後も引き続き、継続的なご指導とご支援をいただいています。

3.3 根域温度と湿度環境がイネの吸水・蒸散、生育とアクアポリン発現におよぼす影響

根域温度と湿度環境が栄養成長期のイネの吸水・蒸散、生育とアクアポリン発現におよぼす影響を、水耕栽培イネ (あきたこまち) を用いて調べました (Nagasuga *et al.*, 2011; Kuwagata *et al.*, 2012)。その結果、「① 根域温度 $T_w=13^{\circ}\text{C}$ で生育したイネは、 $T_w=25^{\circ}\text{C}$ で生育したイネに比べて乾物生産量と葉面積はともに小さくなる。② 乾物の根への分配率は

T_w の低下により減少するが、純同化率は T_w や湿度環境に依存せず、水利用効率は逆に T_w が低い方が上昇する。③ 根と葉に発現する大部分のアクアポリン分子種は、低湿度環境で発現量が増加する。一方、 T_w の低下にともなう、根に特異的に発現する細胞膜型アクアポリン *OsPIP2;4* と *OsPIP2;5* の発現量が大幅に増加する。」ことなどがわかりました。 T_w が低く低湿度の環境ほどイネは水ストレスを受けやすくなりますが、形態変化とアクアポリン遺伝子の発現調整の両者を通して、水ストレスに対して適応していることが示されました。これらの結果は、羽田野 (村井)、石川両博士に加え、長菅輝義博士 (現所属: 三重大) や林秀洋博士、Arifa Ahamed 博士などの方々と、東北農研の大型人工気象室を用いて実施した実験の成果です。また、実験を実施するにあたり、2 年間の毎年 4 か月ほどの期間につくばから盛岡に定期的に通いましたが、生育調査から日々の水耕液交換などに至るまで、高杉カツ子氏と大森保夫氏、業務支援の方々に多大なご支援をいただきました。

3.4 イネの根で発現するアクアポリンの野外環境に対する発現応答特性

発芽後 16 日目の水耕栽培イネ (あきたこまち) を用いた野外実験により、日々の天気の変動と根のアクアポリン発現量の関係について調べた結果、根局在型のアクアポリン (*OsPIP2;4*, *OsPIP2;5*, *OsTIP2;1* など) の午前 8 時の発現量は、早朝の蒸散要求量 (午前 4~8 時のポテンシャル蒸発量) と高い正の相関を持つことが明らかになりました。その一方で、早朝の蒸散要求量と負の相関を持つ分子種 (*OsPIP2;6* など) も存在します。すなわち蒸散要求量の変化に応じて、イネが自らの吸水機能を調整している可能性があります (Murai-Hatano *et al.*, 2015)。本研究は、農業気象の分野で使用されるポテンシャル蒸発量のような微気象的な指標と、遺伝子の発現解析という従来では異なる分野を結びつけた新規的な研究であることが評価され、2016 年度日本農業気象学会論文賞をいただくことができました。

これまで植物の遺伝子の環境応答機構は、実験室内の制御された環境で研究されてきましたが、植物が実際に生育している野外では、光環境や気温・地温条件などの複数の環境がさまざまな時間スケールで変動し、実験室の環境とは大きく異なります。最近、野外環境での遺伝子の発現応答を明らかにしようとする新たな試み (フィールド・トランスクリプトミクス) が実施されるようになり、Nagano ら (2012, Cell 151,1358–1369) による先駆的な研究により、イネの葉で発現する全遺伝子の半数近くが、日々の気象条件に依存性して発現量をダイナミックに変化させていることが示されています。フィールド・トランスクリプトミクスの提唱者である永野惇博士 (龍谷大) とは 2012 年日本植物生理学会年会のポスター会場で偶然に知り合うことができ、ハクサンハタザオの野外環境適応性のメカニズムを分子レベルで研究されている工藤洋先生 (京大生態研) などをご紹介いただき、貴重な情報交換を実施することができました。永野博士にはイネの RNA-seq やトランスクリプトームデータの解析で引き続きお世話になっています。現在、イ

ネを対象としたフィールド・トランスクリプトミクスに関する研究を、羽田野 (村井)、石川両博士に加え、伊川浩樹博士 (農環研)、松波麻耶博士 (岩手大)、近藤始彦博士 (現所属:名古屋大)、中河嘉明博士 (滋賀大) などの方々と推進しています。

4. 水田水温モデルの開発と水田群落微気象プロセスに関する研究

話は東北農試の時代に戻ります。1993年の大冷害を契機に、東北農試では水稻冷害早期警戒システムが立ち上がり、水田水温を広域的に把握する必要性が指摘されました。1996年度より5年間の計画で水田水温の予測手法を開発することになり、大気-植生相互作用を専門とする渡辺力博士 (森林総合研究所, 現所属: 北大低温研) の協力を得て、同僚の濱寄孝弘氏と共に取り組みを開始しました。水田水温は農業気象学の古典的な研究テーマですが、実際に研究を開始してみると新しい発見もあり、2001年1月までに広域水田水温予測のための簡易モデルを完成させることができました (桑形・濱寄, 2001; Kuwagata *et al.*, 2008)。このモデルでは簡易性を重視して、最初に一般気象データのみから、イネが植えていない状態の水田水温 T_{w0} (日平均値) を計算し、次に T_{w0} に葉面積指数 LAI と気象データの関数で表したイネ群落の影響を補正して、水田水温 T_w (日平均値) を計算します。2001年1月に、当時北大農学部で助教授をされていた長谷川利拓博士を、イネのアクアポリン研究に関する相談のために羽田野 (村井) 博士と共に訪問する機会があり、たまたま完成直後の水田水温モデルのことはお話ししたところ、当時大学院生の下野裕之博士 (現所属: 岩手大) と取り組んでおられたイネ生育モデルのサブモデルとして利用していただけることになりました (Shimono *et al.*, 2007)。長谷川博士は2003年度から農環研に異動されることになり、現在に至るまで農研機構のイネ生育モデル (H/H モデル) のサブモデルとしてご利用いただいています。

水田水温の研究では、水温に影響を与える群落微気象環境の把握と共に、水田群落微気象モデルの構築にも取り組みました。構築した水田群落微気象モデルを用いることで、気象条件とイネの生育にともなう水田水温・葉温・地温と熱収支の変化を再現することができます (Maruyama and Kuwagata, 2010; Maruyama *et al.*, 2017; 桑形ほか, 2019)。また熱収支観測データと組み合わせることで、気孔コンダクタンスの日変化やイネ生育にともなう気孔コンダクタンスの推移、光合成と気孔コンダクタンスの定量的な関係を高精度で評価することができ (Maruyama and Kuwagata, 2008; Ono *et al.*, 2013)、さらに群落光合成モデルを組み入れることで、品種特性の違いや大気 CO_2 濃度の変化が群落光合成や水利用効率におよぼす影響の評価も可能です (桑形ら, 2019)。これらは、渡辺博士 (北大低温研)、石田祐宣博士 (弘前大)、徐健青博士、ならびに農研機構の濱寄氏、丸山篤志博士、小野圭介博士、伊川浩樹博士など、多くの方々と共同研究の成果です。

また、水田群落微気象プロセスが周辺の大気環境におよぼす影響についても検討し、農環研の福岡峰彦博士や萩野谷成徳博士 (気象研) による支援も受けて、水田群落と大気間の水・熱交換が気温や湿度などの水田の局地気象に大きな影響を及ぼすことを、観測と理論的考察により解明しました (Kuwagata *et al.*, 2014; 2018)。

5. モデル結合型作物気象データベース (MeteoCrop DB)

農環研では長谷川利拓博士、石郷岡康史博士、吉本真由美博士、西森森貴博士などと共に、作物の生育に影響を与える気象・微気象環境の推定手法の開発に取り組み (Kuwagata *et al.*, 2008; Masaki *et al.*, 2011; Yoshimoto *et al.*, 2011; 村上ら, 2011)、これらの研究成果を活用して、イネ生育に影響を与える気象・微気象データを全国レベルで提供する仕組みを構築しました。具体的には、全国のアメダスと地上気象観測所 (気象官署など) 地点を対象に、これらの気象・微気象データを収納した、モデル結合型作物気象データベース (MeteoCrop DB) を開発し、自らの研究グループの基盤データとすると共に、一般のユーザに対しても公開しました (Kuwagata *et al.*, 2011)。本データベースを用いることで、日本全国におけるイネの生育状況を推定し、稔実や登熟に影響を与える水田内の微気象環境 (水田水温や穂の温度) が算定できます。さらに作物データベースや栽培試験データと組み合わせることで、近年の温暖化傾向や気象変動が水稻生産に及ぼしている影響を解析・解明するためのデータを容易に作成することが可能です。データベースは現在も運用中で、日々のデータが準リアルタイムで更新されています。データベースの構築・運用においては上記メンバーに加え、データベースの基本的なレイアウトを考案した内海美砂子氏を筆頭に、祖映紅氏、眞崎良光博士、齋藤理博士、村上雅則氏、鳥谷均博士、近藤始彦博士、滝本貴弘博士、福井眞博士 (現所属: 水産研究・教育機構) など、多くの方々にお世話になっています。

6. おわりに

今回の受賞は、多くの先生方や共同研究者の方々のご指導やご協力の賜物です。とりわけ東北大学在学中の指導教官である近藤純正先生 (東北大名誉教授) からは、野外計測から仮説の設定、検証、論文作成までに至る研究の基本をご指導いただき、東北農試在籍時に上司 (研究室長) であった井上君夫先生と小沢聖先生には、受賞対象となる研究テーマを始めるきっかけを与您いただきました。またいずれの成果も職場の業務支援の方々のご協力や、学会や研究会における会員の方々や知り合いの研究者との交流や議論がなければ成しえなかったものです。この場を借りて厚く御礼を申し上げます。

引用文献

- Kuwagata T, Haginoya S, Ono K, Ishigooka Y, Miyata A, 2018: Influence of local land cover on the meteorological conditions in farmland: Case study for rice paddy field near Tsukuba City, Japan, *Journal of Agricultural Meteorology* **74**, 140-153.
- 桑形恒男・濱寄孝弘, 2001: 水稻生育の広域監視に利用可能な日平均水田水温の推定モデル. 農業研究センター, 総合農業の新技术 第14号, 196-199.
- Kuwagata T, Hamasaki T, Watanabe T, 2008: Modeling water temperature in a rice paddy for agro-environmental research. *Agricultural and Forest Meteorology* **148**, 1754-1766.
- 桑形恒男・伊川浩樹・丸山篤志・小野圭介・吉本真由美・石田祐宣・渡辺力, 2019: 水田群落微気象モデルの概要と農学分野への応用. *低温科学* **77**, 125-136.
- Kuwagata T, Ishigooka Y, Fukuoka M, Yoshimoto M, Hasegawa T, Usui Y, Sekiguchi T, 2014: Temperature difference between meteorological station and nearby farmland –Case study for Kumagaya city in Japan. *SOLA* **10**, 45-49.
- Kuwagata T, Ishikawa-Sakurai J, Hayashi H, Nagasuga K, Fukushima K, Ahamed A, Takasugi K, Katsuhara M, Murai-Hatano M, 2012: Influence of low air-humidity and low root-temperature on water-uptake, growth and aquaporin expressions in rice plants. *Plant and Cell Physiology* **53**(8), 1418-1431.
- Kuwagata T*, Murai-Hatano M*, 2007: Osmotic water permeability of plasma and vacuolar membranes in protoplasts. II. Theoretical basis. *Journal of Plant Research* **120**(2), 193-208. *contributed equally
- Kuwagata T, Yoshimoto M, Ishigooka Y, Hasegawa T, Utsumi M, Nishimori M, Masaki Y, Saito O, 2011: MeteoCrop DB: an agrometeorological database coupled with crop models for studying climate change impacts on rice in Japan. *Journal of Agricultural Meteorology* **67**(4), 297-306.
- Maruyama A, Nemoto M, Hamasaki T, Ishida S, Kuwagata T, 2017: A water temperature simulation model for rice paddies with variable water depths. *Water Resources Research* **53**(12), 10065-10084.
- Maruyama A, Kuwagata T, 2008: Diurnal and seasonal variation in bulk stomatal conductance of the rice canopy and its dependence on developmental stage. *Agricultural and Forest Meteorology* **148**, 1161-1173.
- Maruyama A, Kuwagata T, 2010: Coupling land surface and crop growth models to estimate the effects of changes in the growing season on energy balance and water use of rice paddies. *Agricultural and Forest Meteorology* **150**(7-8), 919-930.
- Masaki Y, Kuwagata T, Ishigooka Y, 2010: Precise estimation of hourly global solar radiation for micrometeorological analysis by using data classification and hourly sunshine. *Theoretical and Applied Climatology* **100**, 283-297.
- Murai-Hatano M, Kuwagata T, 2007: Osmotic water permeability of plasma and vacuolar membranes in protoplasts. I. High osmotic water permeability in radish (*Raphanus sativus*) root cells as measured by a new method. *Journal of Plant Research* **120**(2), 175-189. *contributed equally
- Murai-Hatano M*, Kuwagata T*, Hayashi H, Ishikawa-Sakurai J, Moriyama M, Okada M, 2015: Rice plants sense daily weather and regulate aquaporin gene expressions in the roots -close correlation with potential evaporation-. *Journal of Agricultural Meteorology* **71**(2), 124-135. *contributed equally
- Murai-Hatano M*, Kuwagata T*, Sakurai J, Nonami H, Ahamed A, Nagasuga K, Matsunami T, Fukushima K, Maeshima M, Okada M, 2008: Effect of low root temperature on hydraulic conductivity of rice plants and the possible role of aquaporins. *Plant and Cell Physiology* **49**, 1294-1305. *contributed equally
- 村上雅則・桑形恒男・石郷岡康史・西森基貴, 2011: 農耕地モニタリング地点の選定とその気温変化傾向に関する地域的な特性. *生物と気象* **11**, 41-50. *共同第一著者
- Nagasuga K, Murai-Hatano M, Kuwagata T, 2011: Effects of root temperature on dry matter production and root water uptake in rice plants. *Plant Production Science* **14**(1), 22-29.
- Ono K, Maruyama A, Kuwagata T, Mano M, Takimoto T, Hayashi K, Hasegawa T, Miyata A, 2013: Canopy-scale relationships between stomatal conductance and photosynthesis in irrigated rice. *Global Change Biology* **19**, 2209-2220.
- Shimono H, Hasegawa T, Kuwagata T, Iwama K, 2007: Modeling the effects of water temperature on rice growth and yield under a cool climate: II. Model application. *Agronomy Journal* **99**, 1338-1344.
- Yoshimoto M, Fukuoka M, Hasegawa T, Utsumi M, Ishigooka Y, Kuwagata T, 2011: Integrated micrometeorology model for panicle and canopy temperature (IM²PACT) for rice heat stress studies under climate change. *Journal of Agricultural Meteorology* **67**, 233-247.