



ミトリササゲ胚軸の電気生理学的構造

加藤 潔

略号解説

CCCP: carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone.

DNP: 2,4 dinitrophenol.

E-zone: cotyledonary node から根に向、210mm~20mm に位置し、最も伸長生長の盛んな部域

G-zone: cotyledonary node から根に向、235mm~45mm に位置し、既に伸長生長を終えた部域

H-zone: cotyledonary node から根に向、25mm までの hook 領域

E_H : H^+ の平衡電位

E_K : K^+ の平衡電位

E_{m1} : V_{ps} を生ぜしめる起電力

E_{m2} : V_{px} を生ぜしめる起電力

V_a : 胚軸切片の両切断面間にみえる電位差

V_s : 根外液を基準にした時の胚軸の表面電位

$V_s(E)$: E zone の表面電位 V_s $V_s(H)$: H zone の表面電位 V_s

$V_s(G)$: G zone の表面電位 V_s

V_p : 根外液を基準にした時の cortical parenchyma の細胞内電位

V_x : 根外液を基準にした時の xylem の電位

V_{ps} : 胚軸表面を基準にした時の cortical parenchyma の細胞内電位

V_{anoxia} : anoxia 条件下に於ける V_{ps} の値

V_{CO80} : 80% CO + 20% O_2 気中で膜が最も脱力した時の V_{ps} の値

V_{psn} : 空気中に於ける V_{ps} の値

V_{px} : xylem を基準にして測られる cortical parenchyma の細胞内電位

V_{sx} : 半径方向電位差、xylem を基準にした時の表面電位

Δ : anoxia により生ずる電位の変化量、 $\Delta V = V_{air} - V_{anoxia}$

1950年代に、太田を中心としたグループにより、ミトリササゲを材料として、発芽期の高等植物に於ける機能分化と代謝パターンの対応に関する数多くの研究がなされた(53)(54)。その中で、分解的器官と合成的器官の違いはエネルギー的なもので、前者には低い $\sim P$ レベルが、後者には高い $\sim P$ レベルが対応し、この対応の形成に、



なる制御回路が寄与していることが明らかにされた。一方合成的器官といっても一樣ではなく、生長機能に時間的、空間的分化がみられること、特に逸早い幼茎の生長が発芽期幼植物の著しい特徴であることが指摘された。中でも胚軸は、分裂的生長 \rightarrow 伸長的生長 \rightarrow 成熟による生長の停止、といった典型的な生長の制御過程を発芽期間中に完結させることが明らかにされ、これらの過程の解析から、分裂的生長に蛋白合成と呼吸とが、伸長的

生長に壁物質の合成と有質的代謝とが対応し、この対応の序はエネルギー的なものではないと結論された。

この種の対応関係は様々な次元の生活機能が integrate されて形成されるものであり、形成された対応関係が新たに別の対応関係への移行の原因となるような、一種の生理学的構造を伴うものであると考えられる。そうだとすると、先の結論が主として *in vitro* の系で得られた実験事実に基づいている實に不安が残る。一方、Bünning の教科書(5)にみられるように、いわゆる極性と生長分化との相関関係について古くから関心が持たれていて、Lundら(34)により、電氣的極性と生長、呼吸、ホルモンとの相関関係についてこの矢駈的研究がなされていた。このような環境の下で、*intact* な個体のままに、その内部の細胞の生理活性及び生体内環境を示す諸指標を観測できる物理的方法を新たに開発、導入することが期待された。

岡本は静止電位を「シンデ」として、発芽期に特徴的な生長パターンを形成する高等植物幼莖の生長の解析を始めた。その過程で、従来必ずしもはっきりしていなかった、発芽期に於ける高等植物の軸性器官の伸長生長と、表面静止電位分布との間の相関関係を明らかにし、作業仮説を立てた(46)(21)。それを要約すると、

- (I) 伸長域は表面電位分布の伸長軸に関する2次微係数が正の部分と一致する。
- (II) 表面電位分布は子葉から供給されるイオンが胚軸内を軸方向に拡散することにより生じ、軸上2点間の表面電位差は各々の部域に於けるイオンの化学ポテンシャルの差により決まる。

というもので、電位分布の伸長軸に関する2次微係数が正ならば、イオンの活動度分布の2次微係数は正となり、吸引中心を形成している伸長域でイオンの蓄積が想定される旨目的々には興味ある作業仮説であった。一方

ミトリササゲのメバエは、水と Ca^{++} と空気を除き、すべて子葉からの物質供給により生活できるが、この貯蔵物質の輸送は温度依存性が高く、みかけの活性化エネルギーは5 kcal/mole と16 kcal/mole の2成分からなり、輸送速度は受動的拡散から予想される速度の10~20倍も大きいことが見出された(48)。従ってこの物質輸送はエネルギー代謝の存在を必要とする能動的なもので、このことと、先の作業仮説との間に矛盾が生ずるであろうことが予想された。

以上のような経過を踏まえて、以下のように研究を進めた。

- (I) 起電力発生に係わる物質の探索。
- (II) 起電力素子の同定とその性質の調査。
- (III) (I)と(II)の結果を基にした胚軸の生理学的構造の解明。

1. 起電力発生に係わる物質

先に述べた岡本の作業仮説に立てば、胚軸の表面静止電位分布の形成に寄与する物質の活動度の分布は、表面電位分布と平行又は鏡像の関係にあることが予想される(46)。生体電位は荷電粒子つまりイオンが生体膜を透過する過程で生ずるものと考えられており(9)、先の作業仮説もイオンが胚軸内の膜系を透過する過程を念頭に置いたものである。そこで最初に電位分布と似た濃度分布をするイオンを搜した。以後の実験はほとんど、冷暗所に1年以上保存したミトリササゲ(*Vigna sesquipedalis*)の種子を6~8時間30℃暗所で吸水させ、その後、植木鉢の砂の中に蒔き、27~30℃で3日間暗発芽させた胚軸長約5.5 cmの植物体を用いた。

K^+ , Na^+ , Mg^{++} ($Ca^{++} + Mg^{++}$) なる無機陽イオンの平均濃度は cotyledonary node から根に向って単調に減少する。陰イオンについても、無機燐

酸は同様であつたが、 NO_3^- 及び Cl^- は検出されなかつた(図1)。ついでながら、ここにみられる全陽イオンと全陰イオンの charge の差は、組織内に存在する全有機酸陰イオンの charge に等しいことが岡本により明らかにされている(51)。この他に易動度からみて、濃度は低くても電位差発生に寄与が大きいと考えられる水素イオン(H^+)の濃度分布も調べる必要を感じ、これまでイオンの分析と同様に胚軸切片の磨砕汁を作り、これらに3倍量の蒸留水を加えた液の pH を測つた。すると、全域にわたつて pH は6と一定で、 H^+ は表面電位分布の発生に何ら係わりを持たないことが判明した(図2)。しかしながら、このような方法による測定では、 H^+ の場合特に、組織破壊に由来する Artifact をみている恐れがあるので、 H^+ が表面電位の発生に寄与する可能性をたがひには排除できなしいと考え、組織破壊の影響のはるかに少ないと考えられる溢出組織液の pH を測ることを試みた。

カ 3 図 に 示 す 測 定 装 置 を 作 り、 $1 \sim 10 \mu$ の
溶 液 の pH を 測 定 で き る よ う に し て、メバエを
胚 軸 部 分 で 2 つ に 断 断 し た 時 に、下 断 面 か ら
溢 出 す る 液 (A 液) と、上 断 面 か ら 溢 出 す る 液 (B 液) の pH を 系 統 的 に 調 べ た。　　と る と、A 液
と B 液 の pH に は 顕 著 な 差 が み ら れ、その 分 布
は 図 2 の 中 で A, B と 記 し た 曲 線 を 描 く こ と
が わ か っ た。　　A 液 の pH 分 布 が 表 面 電 位 分 布
と ま さ に 一 致 す る。　　A, B 両 液 は 通 導 組 織
液 で あ る と 推 定 で き る が、pH 指 示 色 素 に よ る
切 断 面 の 染 色 に よ り、A 液 は xylem 液、B 液 は
phloem 液 で あ る と 同 定 し た (23)。　　同 時 に 磨 碎
汁 の pH 6 と い う 値 は、通 導 組 織 以 外 の 柔 組 織
の 細 胞 内 pH を 反 映 し た も の で あ る こ と が わ か
っ た。　　こ の 実 験 事 実 は xylem 内 の H^+ 濃 度 は 伸
長 帯 (E-zone) で 極 大 と な り、周 圍 柔 組 織 の 細 胞
内 H^+ 濃 度 と は 実 に 2 pH 単 位 の 落 差 を 保 ち、既
伸 長 帯 (G-zone) で も 1 pH 単 位 の 落 差 を 持 つ こ と
を 意 味 す る。　　先 の 作 業 仮 説 に 立 っ て 考 え る
と、伸 長 帯 で は 柔 組 織 か ら xylem に 向 け て、 H^+

の湧出が起る、こゝのものと理解できる。

これとは違って、A液の K^+ 濃度は、絶対値こそ違うものの、その分布パターンは図1(a)の K^+ 濃度分布と同じと言つてよく、同じxylem液であつてもpH分布パターンとは、はっきり違うことがわかつた(23)。

以上の実験結果は、胚軸の表面静止電位分布の発現に直接関係するイオンは H^+ であり、xylem内部に図2AのようなpH分布パターンを積極的に作り出す H^+ の能動的輸送過程が電位分布の形成に重要な役割を果たしていることを示唆する。

2. 起電力素子の同定とその性質

胚軸表面に生ずる静止電位分布は、それを構成する組織、細胞の起電活性がintegrateされて発現するものと考えられるが、具体的にはどのような種類の起電活性が関与しているの

であろうか？ H^+ が子葉から出て胚軸内を根に向って受動的に拡散することは起電活性の基本的過程であると考えれば、少なくとも、子葉と胚軸が一体となった構造の保存が電位分布発生のための必要条件と言える。しかし伸長域での H^+ の湧出が基本であれば、この条件は必ずしも満たされなくてもよい。

そこで、胚軸を 1 cm の切片に分断し、各切片の両切断面間の電位差 (V_a) を測ってみた。

すると、このような切片にも電気的極性が保存されていることがわかり、これらを再構成してみると、表面電位と同じパターンが得られた(図4)。このことは、胚軸に表面静止電位分布を作り出す起電活性はそれぞれの胚軸切片に個々の活性であることを示唆する。

さらに、図5に示すように、胚軸切片を小容積の容器に閉じ込め、 V_a の連続観測を行いながら、容器内の空気をすばやく窒素で置換し無酸素状態 (anoxia) にしてやると、一定の潜伏期を経過した後には V_a はすみやかに消失する

(図6)。 Amoxia により V_a が減少しはじめてから V_a の全変化量の半分のレベルに達するまでに必要な時間は約 30 秒と短い。再通気すれば V_a は可逆的に回復するが、その際しばしば規則的な振動を繰り返す(42)。この V_a の変化は、運動性の一部の高等植物で見られる活動電位(64)を除けば、多細胞系である高等植物の電氣的反応としては速いものに属する。

Amoxia 反応の潜伏期の長さの温度依存性は高く、みかけの活性化エネルギーは 18 kcal/mole にもなり、再通気による V_a の最大回復速度の pO_2 に対するみかけの K_m は $2.1 \times 10^5 \text{ M}$ と高等植物の cytochrome oxidase の pO_2 に対する K_m と同じ桁になる(23)。 V_a はまた一酸化炭素により光回復性のあるすばやい阻害を受け、青酸ガスによってもただちに阻害される(42)。

これらの諸事実は、表面電位分布発生にかかわる H^+ の輸送過程が受動的拡散ではあり得ないことを示唆し、好氣的エネルギー代謝に依存した能動的な起電機構が胚軸に在って、

それは胚軸を切片に切断しても動作できる状態にあることを示唆する。しかしながら切片といえども複雑で、その中では性質の異なった組織や細胞が整合した状態にあるので、より基本的な能動的起電機構は切片内の異種組織の間の境界面や、個々の細胞の界面に局在しているものと考えられる。

微小電極法により、胚軸を構成する細胞の細胞内電位の計測を行い、胚軸の起電機構の解析を試みた。最初は広く行なわれているように、薄片にした胚軸の細胞内電位を測ったが、値も小さく、anoxiaにも反応しなかった(24)。しかし胚軸を薄片にするような操作自体に問題があり、細胞が非生理的状态に陥っている恐れもあるので、より生理的状态に近いと考えられる2cmの長さの胚軸切片を用いることにした。図7に示す装置に切片を水平に固定し、無傷の胚軸表面に下側から比較電極をあて、上側から軸の中心に向って微小電極を進めた。微小電極は外径2mmの

Pyrex ガラス管を機械引きして内部に 3MKCl を満した先端抵抗 10 ~ 30 MΩ のものを選んで使用した。この方法を用いても、切片を切り出して容器内に固定してから 20 ~ 30 分の間は -30 ~ -40 mV と小さな細胞内電位 (V_{ps}) しか得られず、anoxia にも反応しないが、その後、 V_{ps} は急速に発達して -110 mV 前後に達し、ほぼ安定化することがわかった (30)。発達した V_{ps} は anoxia に反応して速やかに減少し、再通気により回復して振動する。 V_a の anoxia 反応と異なるのは、anoxia 下でも一定の電位が残存する点であるが、他の高等植物の細胞内電位もこの V_{ps} と同じく、起電的成分と受動的成分に分離できることが知られている (1) (6) (20) (24) (33) (50) (58)。微小電極を奥へ進めた時、少なくとも cortex の細胞に限る限り、 V_{ps} の絶対値とその起電性成分に表面からの深さによる大きな差はみられなかった (図 8)。そればかりか、各細胞の V_{ps} は同調して変化していることがわかった。つまり anoxia などにより V_{ps} が

変動している最中に微小電極の先端が原形質の運動により seal off (70) される現象がしばしば見られるが、そんな時、次の細胞内に微小電極を進めると、その細胞の V_{ps} の軌跡は前の細胞の V_{ps} の軌跡の延長線上にきて、両者はあたかも同一細胞のもののように見えることが明らかになった(図9)。故に胚軸の伸長軸に直角な薄い円盤内にある cortical parenchyma の細胞群は symplast を形成していて、各細胞の細胞内電位やその起電活性が等しく、それらの反応の同調性が良くなっているものと考えるのが自然である(11)(35)(36)(69)。しかしながら表面電位分布に部域差があり(46)、 V_{ps} の anoxia 反応の速さとパーセントにはっきりした部域差が見られることから(30)、この symplast は伸長軸方向にはあまり発達せず、主として半径方向に発達した薄い円盤状のものと考えられる。胚軸を簡単な模型で表現するならば、通導組織を中心軸にして円盤状の symplast が層状に積み重なった円筒と言えよう。従って

円盤状の symplast が起電活性を生ずる基本単位
と言える。

V_{ps} の大きさとそのエネルギー代謝依存性成
分には細胞の生長機能に対応する、伸長軸に
沿った、部域的差がみられない (図 8、表 1)。

しかしながら表面電^位_Aには差があり、切片に
は V_a として電気的極性が保存される。この
矛盾は表面静止電位の発生機構を考える時、
解くのが難しい問題と言わざるを得ない。

生長機能に対応した差を V_{ps} の性質の内に何と
か見出そうとして、手始めに ΔV_{ps} が依存する
好氣的エネルギー代謝系の性質を調べた。

図 10 に示すように、 V_{ps} は暗条件の 80% $CO + 20$
% O_2 混合気中で、 CO による呼吸阻害に基づい
て減少するが、光照射によりただちに回復す
る。また光照射をしなくとも、ゆっくりと
自然に回復する。この現象は V_a について観
察されたものと一致する (42)。H-zone での光
回復がはっきりしないのは、この zone では V_{ps}
自身が光の照射に反応して相対的に大きな過

渡変化をさるのび(図16)、この効果はCO阻害の
光回復効果に重なるためと考えられる。 V_{ps}
のCO阻害の程度を

$$\text{inhibition ratio} = (V_{psn} - V_{cso}) / (V_{psn} - V_{anoxia})$$

で表わして、伸長軸に沿った部域的差を調べ
てみると、伸長域(H- と E-zone)で阻害が大き
く、既伸長域(G-zone)で小さいことがわかつた
(表1)。さらに胚軸を切片にしてから2~
3時間もすると、伸長域の細胞でもCOによる
阻害を受けにくくなることもわかつた(図11)。

このことは、胚軸を切片や薄片にする操作
が胚軸細胞の歳の進行をはやめると考えると
理解しやすい。そうだとすると、切片などで
得られる細胞の起電活性に関する知見には
おのずと限界があると思われる(33)(41)。

故に、その知見だけを基に個体の表面電位
分布の発生機構を論ずるのは、伴う危険が大
きいと言える。

ここに至って *in situ* の細胞の活性、つまり
、個体を器官、組織片へと分解していく過程

で失なわれたり、見逃されてしまった活性を直接捉える必要が生じた。

3. 胚軸の電気生理学的構造

[1] 半径方向の電位差(22)

市野によると、メバエの根を浸す溶液に比較電極を置き、メバエの胚軸を任意の位置で分断した直後の下切断面の電位を比較電極に対して誘導すると、この電位には、伸長軸に沿った、部域的差がみられない。しかし、切断面とそこから十分に離れた(2cm)胚軸表面との間の電位差には部域的な差がみられ、正常個体の胚軸表面の、比較電極(根外液に置いたもの)に対する電位 V_s と同じパターンを示す(22)。切断面の電位はxylemの電位と思われるので(10)(65)、この事実は、伸長軸方向には起電力が存在せず、半径方向に起電力があって、これが V_s の分布を決めているこ

とを示唆する。次にナバエを、地上部と根とが別々の室に納まるように設計した容器内に閉じ込め、根を溶液中に浸し、そこには比較電極を置いてアースに落す。胚軸表面の生長機能の異なる部域に電極を取り付け、比較電極に対してそれぞれの部域の電位 V_s を誘導する。この時、地上部のみに N_2 を通じてやると、各部域の V_s が特徴のある変化をうる(22)。つまり、 $V_s(E)$ の変化は小さく過渡的であるのに対し、 $V_s(G)$ は大きく変化して空气中とははっきり異ったレベルに移行する。 $V_s(H)$ の変化は両者の折衷型である。しばらくすると V_s の分布はほぼ平坦となり、再通気をすると $V_s(G)$ はたちちに回復するが、 $V_s(E)$ は約1時間にわたる過渡的变化を経て anoxia 以前のレベルに戻る。これらの anoxia 反応は、 V_s の分布が、xylem と胚軸表面との間の、半径方向の呼吸依存性起電力により生じているものと考えれば理解しやすい。そうだとすると、この半径方向の起電力は既伸長帯で最も大

きく、伸長生長の最も盛んな E-zone で最も小さいように見える (22)。

[2] 2 起電力仮説

市野の結論は、 V_{ps} に部域差がないという先の結論と著しく矛盾する。 V_{ps} に関する知見が胚軸切片の細胞について得られたものであるので、恐れていたような切断効果が重なって、in situ の細胞の V_{ps} とは異なった性質のものを観測していたのかもしれない。しかし一方で、伸長生長が最も盛んで、 H^+ の能動輸送が一番活発と考えられる E-zone で、能動的起電活性が最小と言うのも不自然にみえる。これらの矛盾を克服する仮説として、我々は次のような 2 起電力仮説を立てた (52)。

$$V_{sx} = V_{px} - V_{ps}$$

\vdots
起電力 E_{m2}
が対応

\vdots
起電力 E_{m1}
が対応

V_{px} は xylem と cortical symplast の界面に生ずる起電力 E_{m2} により生じ、 V_{ps} は cortical symplast の表皮膜にある起電力 E_{m1} により生ずる。 V_s の伸

長軸に沿った分布は V_{px} と V_{ps} の相対的な関係により決まる。図 12 には 2 つの極端な場合を挙げておいた。a は、正常個体に於いても切片同様 V_{ps} に部域差がない場合で、 $|V_{px}|$ は伸長帯で極大となる。この場合、 V_s の分布パターンは V_{px} の部域的差により決まる。しかしながら、正常個体の V_{ps} が切片の V_{ps} と異なる可能性を先験的に排除できないので、この場合も考慮する必要がある。つまり、 V_{px} に部域的差がなく、 V_{ps} に部域差があり、その絶対値が伸長帯で極小となる場合で、この場合の V_s 分布パターンは V_{ps} の部域差により決まる。

E-zone では xylem と cortical symplast の間に 2 pH 単位の H^+ 濃度差があり、G-zone でも 1 pH 単位の差があるので、 V_{px} には呼吸に依存する起電性成分が含まれているはずで、その成分は a、 whichever の場合でも E-zone の方が G-zone より大きくなるはずである。

[3] 完全な anoxia に於ける表面電位の挙動

市野により V_x のレベルには部域差がなく、

ほぼ一定であることが明らかにされたが、 V_x を直接かつ連続的に観測するには技術上の困難を伴う。 V_x が実験中に変わるようなことが無ければ、 V_{px} を V_p で読み換えることができる。市野は anoxia 時に根で電位変化が起り地上部の変化に重畳するのを防ぐため、根は好気条件下に置いたまま、地上部のみを anoxia にした。この実験は意義のあるものであるが、弱点もある。つまり、地上部のみを無酸素条件下に置いてやっても、通導組織を介して酸素が根から地上部へ供給されている可能性を排除できない。特に E_{m2} が位置すると考えられる xylem と cortical symplast の界面への酸素の供給は比較的容易で、市野の実験条件では E_{m2} の活動を十分に阻害できない恐れがある。

この可能性について検討を加えるために V_s (E) と V_s (G) の挙動を同時に観測しながら地上部と根のがス条件を別々に変化させる実験を行った。まずメバエを容器内に固定し、根を

$1\text{ mM KCl} + 0.5\text{ mM CaSO}_4$ 溶液に浸してから地上部と根に十分量の空気を通じて放置した(図14参照)。すると、 $V_s(G)$ は変動も小さく比較的短時間のうちに安定化した。が、 $V_s(E)$ は著しい変動をして、最初 $-60 \sim -50\text{ mV}$ と深かったものが3時間以上かかって振動しながら浅くなり安定化した。安定化した状態の表面電位はそれぞれ、 $V_s(E) = -17.3\text{ mV}$ 、 $V_s(G) = 11.4\text{ mV}$ となり、その差は -28.7 mV であった。この現象は、メバエを鉗から抜き取って容器内に固定する操作がE-zoneの細胞を著しく刺激して興奮させるので、その回復に3時間以上の時間がかかるものと考えれば理解できる。現に、外部刺激により興奮を起し増大した表面電位差がもとの状態に戻ってゆく現象は時間単位の過程であることが岡本により明らかにされている(47)。それ故、以後の実験は興奮が収まって V_s が安定化するのを待って行った。この状態でまず地上部のみをanoxiaにすると、市野の報告通り、 $V_s(E) \simeq V_s(G)$ となる。 $V_s(E)$

は浅くたった分だけ変化量が増す。それから約 20 分ほど後に根も anoxia にすると、 $V_s(E)$ は大きな回復をみせるが、 $V_s(G)$ の回復は小さい (図 13)。電位差 $V_s(E) - V_s(G)$ は、好氣的条件、地上部のみの anoxia、完全な anoxia の各々の条件に対応してはっきり異なった値をとる。根の起電活性に起因する電位とその変化は、表面電位の差をとることにより同相雑音として消去される。従って電位差 $V_s(E) - V_s(G)$ は地上部にある起電活性の反映である。この結果は地上部のみの anoxia では阻害されないう呼吸依存性の起電力が地上部に存在することを意味する。Xylem の近傍に位置すると考えられる E_{m2} がそれに該当するものと思われる。

あらかじめ根を切り取ったメバエの V_s はそのレベル、挙動共に正常な根を持つメバエの V_s と違わず、またあらかじめ根のみを anoxia にしておいても V_s のレベルに大きな差はみられない。

以上の結果を踏まえて、メバエを完全な ano-

に於ける実験条件を選べば ΔV_p を ΔV_p で近似できると判断した。

[4] 2 起電力仮説の証明

図 14 に示すように、メバエを容器内に固定して、問題とする区域の V_s を記録しながら 3 時間以上放置する。 V_s が安定化したら根に N_2 を通じ始める。その後 30 分以上たつてから、微小電極を胚軸の中心軸に向って水平に進めて組織細胞内に刺入する。根外液に置かれた基準電極に対する細胞内電位 V_p 、表面電極に対する細胞内電位 V_{ps} 、表面電位 V_s を同時に追跡記録する。 V_p 、 V_{ps} の安定化を見定めて後、地上部にも N_2 を通じて anoxia 反応を起させる。20 分ほどして各々の電位が安定化した頃を見計らって再通気し、電位変化の可逆性を確かめる。このような方法で得られた V_p 、 V_{ps} 、 V_s の同時記録が 15 図であり、a は H-zone、b は E-zone、c は G-zone の記録を示す。

まず H-zone では anoxia により市野の報告と似

た V_s の過渡変化とレベルの移行が起る。但し過渡変化の程度はより大きい。後で述べる E-zone、G-zone での V_s の挙動と比較すると、過渡変化は $V_s(E)$ より、レベルの移行は $V_s(G)$ よりそれぞれ小さい。再通気により複雑な振動を始めるが、1時間ほど後に anoxia 以前のレベルに戻る。この時、 V_p と V_{ps} は共に anoxia に反応して比較的単純な時間経過の脱分極を起し、再通気により回復する。 V_p と V_{ps} の anoxia 反応は時間経過にズレがあり、かつ V_{ps} は anoxia 初期に一旦大きく脱分極してから少し戻るといふ特徴のある過渡変化をするので、 V_p と V_{ps} の差が一時的に増大する。これが $V_s(H)$ の anoxia 時の過渡変化の原因である。 V_p のレベルの変化は V_{ps} のそれの約 60% である。このことが $V_s(H)$ のレベル変化の原因と言える。再通気後の V_s の複雑な振動は、 V_p と V_{ps} の回復反応の時間経過のズレと、切片細胞にもみられた V_{ps} の振動が原因となつて起る。

E-zone の V_s は anoxia により市野の報告と同様の

過渡変化をうるが、変化の程度はより大きく、前述の $V_s(H)$ の過渡変化よりも大きい。再通気により $V_s(H)$ 同様の振動を始めるが、1時間もしくは $anoxia$ 以前のレベルにまで戻る。

この時、 V_p と V_{ps} は H-zone と同様の変化をうるが、 V_p の変化が大きく、両者の変化量はほぼ等しくなる。このことが $V_s(E)$ の $anoxia$ 反応を過渡的なものに留めている原因である。 $V_s(E)$ の再通気後の振動は $V_s(H)$ の振動と同じ理由による。

G-zone の V_s は H-及び E-zone と異なる型の $anoxia$ 反応をうる。つまり $anoxia$ に感応して一旦負の方向へ増大した V_s は戻りが少ない。反応当初に必ず活動電位様の変化を伴うが、これはオ1回目の $anoxia$ 処理の時だけに見られるもので、2回目以後は発生しない。図15cから明らかなように、 $anoxia$ 時の V_p の変化量は V_{ps} に比べて約半分の小さい。又両者の変化の時間経過にズレが少ない。これが V_s の過渡変化を小さくさせている原因である。 V_s の活

動電位に似た変化は V_{ps} の変化に起因する。

再通気後の V_s の回復過程で振動が少ないのは、 V_{ps} の回復反応が振動の少ないものであることを反映したものである。

表 2 に各条件下で安定又は準安定な状態にある V_p 、 V_{ps} 、 V_s の各値と、それらから計算された呼吸依存性成力 Δ の値をまとめておく。

この表からわかるように、個体内にあって、生理的状态にある細胞の $|V_{ps}|$ 及び $|\Delta V_{ps}|$ は G-zone でより大きく、H-及び E-zone でほぼ等しい。この結果は切片細胞のものと明らかに違う。一方 V_p の呼吸依存性成力の絶対値は E-zone, H-zone, G-zone の順で大きく、予想通り E-zone で最大となった。 $\Delta V_p / \Delta V_{ps}$ 比はさらに明瞭な部域差を示す。

いずれの場合に於いても V_p と V_{ps} の変化の時間経過が明らかに異なり、このことと、相互に干渉がみられないことから、 V_{px} と V_{ps} を発生させる起電力 E_{m2} と E_{m1} は互いに直列に繋がっており、これらを短絡する半径方向の apoplast

の漏れ抵抗は、 E_{m2} 、 E_{m1} の内部抵抗に比して十分に大きな値を持っているものと考えられる。

これらの結果は基本において2起電力仮説を支持するもので、胚軸内部の電位分布は V_p 及び V_{ps} 両方に部域差のみされる図12のa、b両模型の折衷型をとる。

4. 胚軸内電位分布の生理的意義

岡本により伸長生長との強い相関関係を指摘された胚軸表面の静止電位分布は(46)(21)、好氣的エネルギー代謝に依存した能動的性格を持ち、胚軸半径方向の起電活性の部域差により決まる(22)。軸方向の起電活性はあっても大きくないと推測される。半径方向の電位差 V_{sx} は2つの電位差成分 V_{px} と V_{ps} の代数和として理解できる ($V_{sx} = V_{px} - V_{ps}$)。これらの電位差成分は、xylem と cortical symplast の

界面と、cortical symplast の器官表面側とに局在すると思われる 2 つの起電力 E_{m2} 、 E_{m1} により生ずると考えられる。

V_{px} に係わる起電力 E_{m2} が発生する基本的過程は好氣的エネルギー代謝に依存した起電性の H^+ ポンプであると思われる。組織内の pH 分布と ΔV_p から判断して、伸長生長に伴って起電性 H^+ ポンプの活動が次第に盛んとなり、その終焉に伴って活動も弱まるものと考えられる。この起電性 H^+ ポンプの生理的意義の 1 は K^+ をはじめとする栄養物質の伸長域への吸引である。よく知られているように、伸長生長をしている胚軸の組織は水、無機イオン、その他の栄養物質を要求し、いわゆる吸引中心を形成する (25) (31) (54)。起電性 H^+ ポンプは xylem と cortical symplast の間に一定の電位差を作り出し、 K^+ をはじめとする電解質の吸収を可能にするだけでなく、出来上った H^+ 自身の電気化学ポテンシャルの落差を利用した xylem から cortical symplast へ向う有機物質の

cotransport も可能にする (32) (37) (59) (67)。

ちなみに xylem と cortical symplast 間の H^+ 、 K^+ の平衡電位 E を計算してみると、

伸長帯で

$$E_H = \frac{RT}{F} \ln \frac{10^{-4}}{10^{-6}} = 116 \text{ mV}$$

$$E_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{15 \times 10^{-3}}{30 \times 10^{-3}} = -17 \text{ mV}$$

市野の実験に基づいて $V_x = -101 \text{ mV}$ とすると

$$V_p - V_x = -127 + 101 = -26 \text{ mV}$$

既伸長帯では

$$E_H = \frac{RT}{F} \ln \frac{10^{-5}}{10^{-6}} = 58 \text{ mV}$$

$$E_K = -17 \text{ mV}$$

$$V_p - V_x = -117 + 101 = -16 \text{ mV}$$

となり、cortical symplast から xylem への H^+ 輸送は uphill transport であるが、 K^+ の xylem から cortical symplast への輸送は伸長帯で downhill transport、既伸長帯で平衡状態であることがわかる。

カ 2 は ΔV_p として認識できる呼吸に依存した起電性 H^+ ポンプが、植物細胞の伸長生長に

必要条件と考えられている細胞壁の弛緩を可能にする点である。1970年代になつて auxin の伸長生長の促進効果と、1930年代に発見された H^+ の伸長生長促進効果とが関連づけられた (15) (62)。Hager は auxin の伸長生長促進作用は anaerobiosis や CCCP により阻害されるが、nucleotide triphosphate の添加により阻害が解除されることを明らかにし、auxin が細胞膜に作用して、呼吸に依存した H^+ ポンプを活性化し、その結果細胞壁空間が酸性化して (pH4) 細胞壁の弛緩が起るといふ仮説を立てた。実際に auxin は H^+ の分泌と伸長生長の促進をすることが *Avena* 子葉鞘やマメの莖の組織で明らかにされている (7) (38) (61)。この促進効果は呼吸阻害剤や蛋白合成阻害剤により阻害を受けることも明らかになつてい (7) (15) (39)。Auxin は同時に細胞膜を過分極させ、その電位差を増大させることが知られてい (8) (14)。伸長生長を促進する phytoxin の fusicoccin の作用機作についても同様の報告がある (40) (57)。従、

て E_{m2} を生ずる起電性の H^+ ポンプと細胞の伸長生長には深い相関関係があるものと思われる。

V_{ps} と ΔV_{ps} に関しては、その絶対値が伸長域でむしろ小さめになり、 ΔV_p のようには、きりした説明はしにくい。しかしながら伸長生長との係わりについて、次のことは指摘できる。伸長域 (H と E -zone) の胚軸切片の V_{ps} は切断後しばらくの間 (2~3 時間) CO 感受性が高く、光で回復するが、既伸長帯では感受性が低い。このことから、伸長生長をしている細胞の呼吸系は cytochrome oxidase を持つ典型的なものであるが、生長の終焉に伴って terminal oxidase の異なるより効率の悪い電子伝達系に切り換わるものと推測できる (68)。大田は乾燥した種子についての吸水実験から、メバエの能動的吸水には cytochrome oxidase を持つ典型的な呼吸系の活動が必要条件であると指摘している (55)。 V_{ps} の CO 阻害の結果は、胚軸細胞の伸長生長に伴う吸水にも同様の法則性が

成り立ちうることを示唆し、 E_{m1} を生ずる起電性ポンプと伸長生長との間に何らかの繋がりを想像させる。この場合、 ΔV_{ps} といった強度因子のみを比較することに問題があると思われる。 $|\Delta V_{ps}|$ が伸長域でより小さく、みかけ上、伸長域の起電活性が小さくなるのは E_{m1} の短絡抵抗が小さいためで、ポンプ電流(たぶん H^+ 電流)は逆により大きくなったという可能性がある。既伸長帯では、呼吸系のポンプへのエネルギー供給効率が悪いと考えられるにもかかわらず、*anoxia*による V_{ps} の減少速度は小さい。伸長域では、この関係は全く逆転する。このことは、伸長域でのポンプのより速い回転をうかがわせる(30)。

伸長域の V_s の光に対する反応は V_{ps} の光に対する反応としてその大きさも、変化の方向も、時間経過も完全に説明できる。既伸長帯では反応はあっても小さい(図16)。光に対する V_{ps} の変化は*anoxia*条件下では起らないので、光が起電性ポンプに作用しているものと考え

えられる。暗発芽組織を用いているため、他の材料で観察されているような光合成に関係した現象(6)(36)ではなく、etiolation 阻害などの伸長生長の制御に関係した現象と思われる、 V_{ps} の伸長生長への関与がうかがわれる。

V_p の変化と V_{ps} の変化の分離が良いことは、胚軸の半径方向のapoplastの漏れ抵抗が比較的大きいことを意味する。その原因として、根の内皮にみられるCaspary stripや、腺組織にみられるincrustation(35)(56)に似た構造が胚軸にもあって、維管束系と皮層柔組織のapoplastを介する結合を切っている可能性が考えられる。というのは胚軸にも内皮と思われる細胞層がみられるし、その細胞壁には一般にcinnarubin や suberin が蓄積しやすいと言われている(13)。このような構造は、植物組織内を物質が vectorial に運ばれて、一種の生理学的勾配が形成されるための重要な構造因子である。

以上の実験結果と考察を基に、胚軸の構造

を模式的に図17に表わしておく。

5. 結びにかえて

古くからいわゆる極性と生長分化との係わりについて強い関心が持たれてきた(5)。中でも物理的実体として客観性が高く、連続して計測できる電気的極性と高等植物の生長に関する先駆的な仕事は Ramshorn (60) や Lund (34) によってなされている。

一方最も基本的な、植物細胞に於ける膜電位のエネルギー代謝依存性に関する研究は、巨大藻の細胞を中心とした Blinks (3)(4) の仕事にその起源をみる。その後、植物細胞の膜電位発生機構に関する研究は主として巨大細胞藻を中心にして展開された。Davies (9) は植物細胞の膜電位も、基本的には動物細胞と同じように、イオンのポンピングの結果として起るイオンの受動的拡散により生ずると

考えた。同時にイオンポンプに、中性のポンプと起電性のポンプがあり得て、それらは代謝阻害剤によりポンプを急停止させた時の膜電位の挙動から判別可能であると指摘した。その後、この関係の研究は急速に発展し、1970年を境にして起電性 H^+ ポンプが細菌、菌類、藻類、高等植物の植物界全般、及び葉緑体、ミトコンドリアなどの細胞内器官にも存在していると考えられるようになった(2)(16)(19)(43)(49)(66)。

電氣的極性と生長分化に関する研究の進展は遅く、わずかに fucoid egg の発芽(26)、Acetabularia の再生(44)、ユリの花粉管の伸長生長(71)などと膜電位、膜電流に関する研究にその流れを見る。高等植物については、根の伸長生長と電位勾配と auxin の関係を feed back model circuit で解析した研究が目立つ程度である(27)(28)。研究の発展が遅れた理由の第1には植物細胞の起電活性に関する知見の欠如が挙げられる。起電性 H^+ ポンプが

共通の認識となるようになったのは、実に 1970 年代になつてからのことである。力 2 には多細胞系の器官の機能を、それを構成する細胞機能の integration として理解するための有効な解析手段を持っていなかったことが挙げられる (2)(63)。Scott の表現を借りれば (63) "sophisticated techniques" が使えるようになるまで問題は解決しないという状況下にあった。

このような状況下でも、salt gland に於けるイオンの分泌や、根のイオン吸収を研究する中で、微小電極法、代謝阻害法、フラックス解析法、実験形態学的方法などを組合わせて複雑な組織系の生理機能を、それを構成する細胞の機能を基にして理解を進めようとする地味な努力が重ねられた (35)(56)。

我々の研究はこのような流れの中で、Ramsbørg (60) や Lund (34) の研究に於いて混乱のみられた伸長生長と表面電位の分布の関係を明確にした岡本の研究を出発点として (46)、電氣的極性と伸長生長の相関関係の解明をめざし

た。組織、細胞の生理活性を追求する過程で、伸長帯での高い H^+ の生産性や、生体電位のエネルギー代謝依存性を見出し、これらの活性を個体次元の活性へと integrate する過程で、胚軸の電気生理学的構造を明らかにした。

図13下にみられるような、表面2点間の電位差としてみると複雑きわまりない現象も、この構造に関する知識に基づけば、個々の成分に分解でき、target が明確になるので、多細胞系でも単細胞系で行なわれているような解析が可能となる。技術的には表面誘導法、微小電極法、代謝阻害法の併用が有効な解析手段となった。中でも、anoxiaによる活性の可逆的阻害は大きな力となった(17)。というのは、根のイオン吸収機構を研究する中で、Dunlop と Bowling は(12) back potential なる概念を根の exudate potential の外部 K^+ 濃度変化に対する反応を説明するために導入した。DNP による exudate potential の阻害の経過(65)も back potential で説明できるとしているが、阻害

の経過が、阻害剤の組織内への浸透が遅いせい
いか、5時間にも及ぶので、とても起電性の
電位変化とは認めにくい。又彼らの提出し
たイオン吸収機構の模式の中で、back potential
が起電性である必要がないといった矛盾した
ものであった。以来 back potential を彼等自
身も取り上げることはなかった。この系に
対しても anoxia は有効な解析手段となるであろ
う。

2 起電力説にみられるような、生体内での
物質の vectorial flow を起させる組織の生理学的
微細構造を解明する研究は、動物の上皮組織
について古くから行なわれてきたが、意外に
難しく、近年になってようやく信頼度の高い
実験結果が得られるようになった(18)(45)。

微小電極による細胞膜電位の誘導が難しか
ったのが原因らしく、動物組織であることを
考えるとむしろ意外に思えるが、研究方法の
基本は我々の志向と同質のものである。胚
軸は3次元的な構造をとっているので、より

問題が複雑になっているのは否めない。

最後に、初めに述べた“特定の生長様式に特定の代謝様式が対応する”という対応機構の解明は残念ながら未だ十分とは言えない。

しかし、この様な対応が形成されていると思われる器官内部の生理学的構造はかなりの程度明らかになった。従って、外部環境や生長制御因子に対してこの構造がどの様に対応するかを解明するのが今後の問題となる。近年になって、細胞、組織と個に別々に理解されてきた植物の生理活性を、各分野の研究者が協力して integrate し、個体生理学を志向する動きが出てきたことは(29) 我々を励ますにはおかない。

謝 辞

この研究を遂行する中で、討論並びに実験作業をともにした岡本尚博士、市野和夫氏に心からの謝意を表します。また終始激励を下さった森健志名誉教授、太田行人教授に感謝の意を表します。教養部の学生であった頃、この道を選ぶきっかけとなつた高木典雄教授、太田行人教授から受けたガイダンスは忘れ難い。実験に必要な装置の設計製作にご助力下さった名古屋大学理学部金属工作室の諸氏にお礼を申し上げます。

文 献

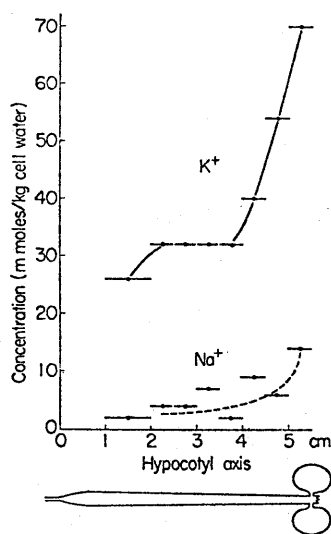
- (1) Anderson, W. P., D. L. Hendrix and N. Higinbotham 1974. Plant Physiol. 54: 712-716.
- (2) Bentrup, F. W. 1975. Fortsch. Botan. 37: 64-77.
- (3) Blinks, L. R. 1939. J. Gen. Physiol. 23: 495-520.
- (4) Blinks, L. R., M. L. Darsie, Jr. and R. K. Skow 1938. J. Gen. Physiol. 22: 255-279.
- (5) Bunning, E. 1953. Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Springer-Verlag, Berlin Göttingen Heidelberg.
- (6) Cheeseman, J. M. and B. G. Pickard 1977. Can. J. Bot. 55: 497-510.
- (7) Cleland, R. 1973. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 70: 3092-3093.
- (8) Cleland, R., H. B. A. Prins, J. R. Harper and N. Higinbotham 1977. Plant Physiol. 59: 395-397.
- (9) Dainty, J. 1962. Ann. Rev. Plant Physiol. 13: 379-402.
- (10) Davis, R. F. and N. Higinbotham 1969. Plant Physiol. 44: 1383-1392.
- (11) Dunlop, J. and D. J. F. Bowling 1971. J. Exp. Bot. 22: 434-444.
- (12) Dunlop, J. and D. J. F. Bowling 1971. ibid. 22: 453-464.
- (13) Esau, K. 1965. Plant Anatomy. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- (14) Etherton, B. 1970. Plant Physiol. 45: 527-528.

- (15) Hager, A., H. Menzel und A. Krauss 1971. Planta 100: 47-75
- (16) Hanson, J. B. and D. E. Koeppe 1975. In Ion Transport in Plant Cells and Tissues, ed. D. A. Baker and J. L. Hall, p. 79-99. North-Holland Publishing Company.
- (17) Harper, J. R. and N. Higinbotham 1977. Plant Physiol. Suppl. 59: 85.
- (18) Helman, S. I. and R. S. Fisher 1977. J. Gen. Physiol. 69: 571-604.
- (19) Higinbotham, N. 1973. Ann. Rev. Plant Physiol. 24: 25-46.
- (20) Higinbotham, N., J. S. Graves and R. F. Davis 1970. J. Memb. Biol. 3: 210-222.
- (21) Ichimura, K. and H. Okamoto 1958. Bot. Mag. Tokyo 71: 201-207.
- (22) Ichino, K. Plant & Cell Physiol. 19: in the press.
- (23) Ichino, K., K. Katou and H. Okamoto 1973. Plant & Cell Physiol. 14: 127-137.
- (24) Ichino, K., K. Katou and H. Okamoto 1974. In Membrane Transport in Plants, ed. U. Zimmermann and J. Dainty, p. 418-422. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- (25) Izawa, M. 1958. Jap. J. Bot. 16: 135-152.
- (26) Jaffe, L. F., K. R. Robinson and R. Nuccitelli 1974. In Membrane Transport in Plants, ed. U. Zimmermann and J. Dainty, p. 226-233. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- (27) Jenkinson, I. S. 1962. Aust. J. Biol. Sci. 15: 101-114.
- (28) Jenkinson, I. S. and B. I. H. Scott 1961. Aust. J. Biol. Sci. 14: 231-247.

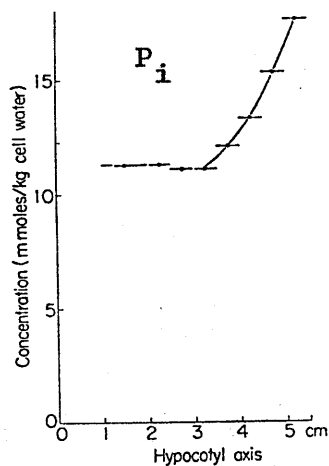
- (29) Jennings, D. H. (ed.) 1977. Symp. Soc. Exp. Biol. 31.
Cambridge University Press.
- (30) Katou, K. Plant & Cell Physiol. 19. in the press.
- (31) Katou, K. and H. Okamoto 1970. Plant & Cell Physiol.
11: 385-402.
- (32) Komor, E. and W. Tanner 1974. J. Gen. Physiol. 64: 568-581.
- (33) Lin, W. and J. B. Hanson 1974. Plant Physiol. 54: 799-801.
- (34) Lund, E. J. 1947. Bioelectric Fields and Growth.
The University of Texas Press.
- (35) Lüttge, U. 1971. Ann. Rev. Plant Physiol. 22: 23-44.
- (36) Lüttge, U. and C. K. Pallaghy 1969. Z. Pflanzenphysiol.
61: 58-67.
- (37) Malek, F. and D. A. Baker 1977. Planta 135: 297-299.
- (38) Marrè, E., P. Lado, F. Rasi-Caldogno and R. Colombo 1973.
Plant Sci. Lett. 1: 179-184.
- (39) Marrè, E., P. Lado, F. Rasi-Caldogno and R. Colombo 1973
ibid. 1: 185-192.
- (40) Marrè, E., R. Colombo, P. Lado and F. Rasi-Caldogno 1974
ibid. 2: 139-150.
- (41) Mertz, S. M., Jr. and N. Higinbotham 1976. Plant Physiol.
57: 123-128.
- (42) Mizuno, A. submitted for publication. Plant & Cell Physiol.
- (43) Nobel, P. S. 1975. In Ion Transport in Plant Cells and
Tissues, ed. D. A. Baker and J. L. Hall, p. 101-124.
North-Holland Publishing Company.
- (44) Novák, B. and F. W. Bentrup 1972. Planta 108: 227-244.

- (45) Okada, Y. and A. Inouye 1976. Seibutsu Butsuri 16: 126-135
- (46) Okamoto, H. 1955. Bot. Mag. Tokyo 68: 1-13.
- (47) Okamoto, H. 1955. Bot. Mag. Tokyo 68: 141-149.
- (48) Okamoto, H. 1962. Plant & Cell Physiol. 3: 83-94.
- (49) Okamoto, H. 1975. Seibutsu Butsuri 15: 113-124.
- (50) Okamoto, H. 1976. Plant & Cell Physiol. 17: 1273-1280.
- (51) Okamoto, H. 1978. Seibutsu Kagaku in the press.
- (52) Okamoto, H., K. Ichino and K. Katou 1978. 日本植物生理学会
1978 年度年会および第19回シンポジウム講演要旨集 p. 69.
- (53) Oota, Y. 1953. Kagaku 23: 60-65.
- (54) Oota, Y. 1954. Kagaku 24: 544-550.
- (55) Oota, Y. 1958. Physiol. Plantarum 11: 710-721.
- (56) Pitman, M. G. 1977. Ann. Rev. Plant Physiol. 28: 71-88.
- (57) Pitman, M. G., N. Schaefer and R. A. Wildes 1975. Planta
126: 61-73.
- (58) Poole, R. J. 1974. Can. J. Bot. 52: 1023-1028.
- (59) Racusen, R. H., and A. W. Galston 1977. Planta 135: 57-62.
- (60) Ramshorn, K. 1934. Planta 22: 737-766.
- (61) Rayle, D. L. 1973. Planta 114: 63-73.
- (62) Rayle, D. L. and R. Cleland 1972. Planta 104: 282-296.
- (63) Scott, B. I. H. 1967. Ann. Rev. Plant Physiol. 18: 409-418.
- (64) Sibaoka, T. 1966. Symp. Soc. Exp. Biol. 20: 49-73.
- (65) Shone, M. G. T. 1969. J. Exp. Bot. 20: 698-716.
- (66) Slayman, C. L. 1974. In Membrane Transport in Plants, ed.
U. Zimmermann and J. Dainty, p. 107-119. Springer-Verlag,
Berlin Heidelberg New York.

- (67) Slayman, C. L. and C. W. Slayman 1974. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71: 1935-1939.
- (68) Solomos, T. 1977. Ann. Rev. Plant Physiol. 28: 279-297.
- (69) Spanswick, R. M. 1976. In Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, ed. U. Lüttge and M. G. Pitman, 2B: 35-53. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- (70) Walker, N. A. 1955. Aust. J. Biol. Sci. 8: 476-489.
- (71) Weisenseel, M. H., R. Nuccitelli and L. F. Jaffe 1975. J. Cell Biol. 66: 556-567.



(a)



(b)

図 1

伸長軸に沿った無機イオンの平均的な濃度分布

胚軸を長さ5 mm の切片に分断し、秤量した後、それぞれをテフロン製のホモゲナイザーで磨砕し、組織の磨砕汁を濾過してから95°C×15分の熱処理又は5% TCA で除蛋白した液について、アルカリ性燐は蛍光光度法、無機大腸菌は Fiske-Subbarow の方法の 中村の改良法により定量した。 Cl^- 、 NO_3^- は自然状態では検出できなかった、用いた方法は酸化蒸留法と Cd-Cu カラム 還元法である。2価陽イオンの分析は岡本によりなされた、方法は文献(48)に詳しい、結果は文献(31)を参照されたい。

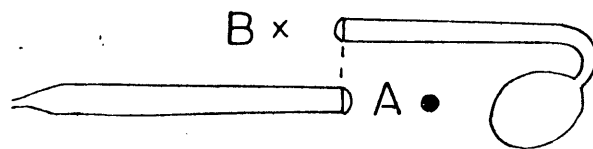
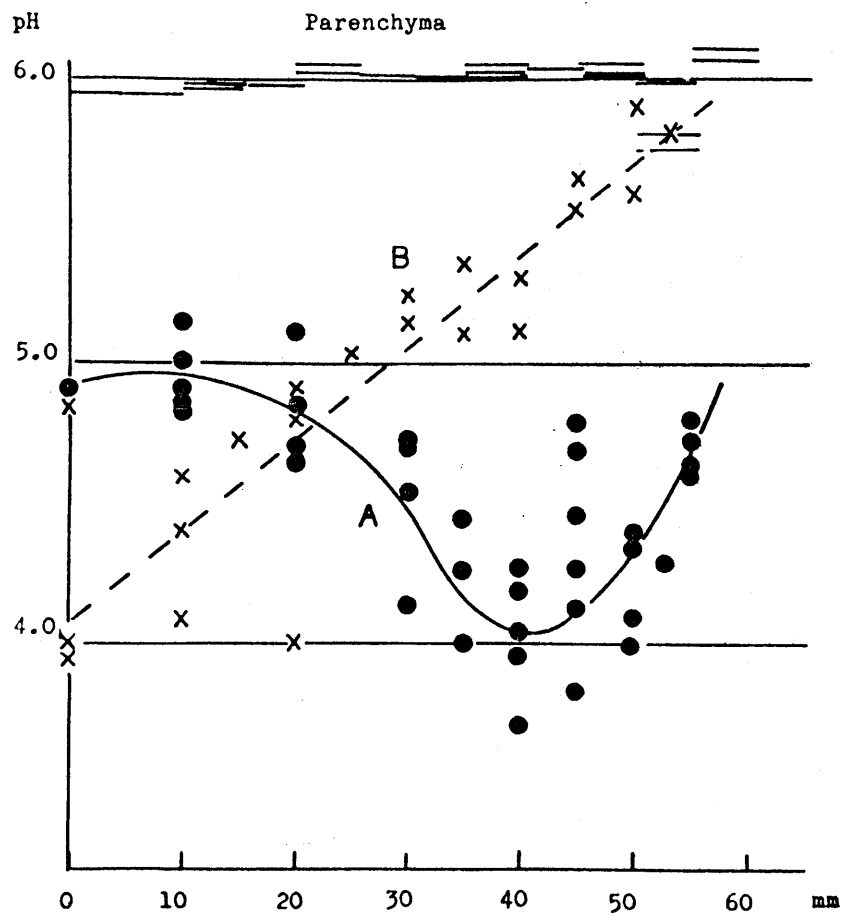
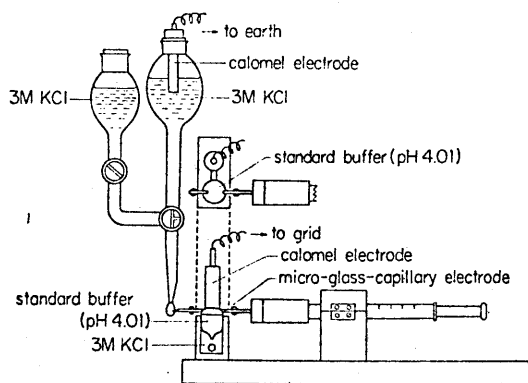


図 2 胚軸の伸長軸に沿った pH の分布

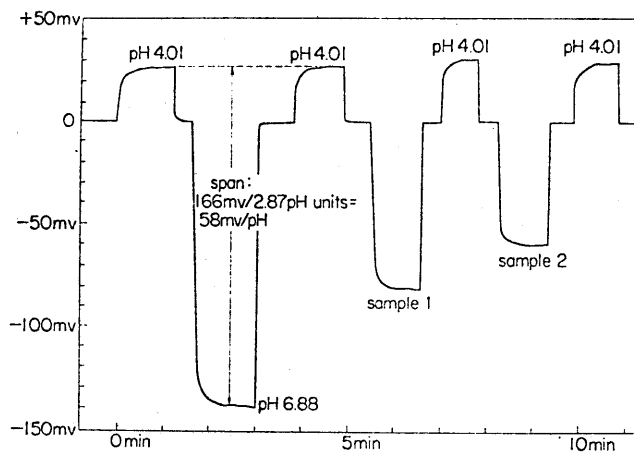
A: 向頂的な溢液。故林政信氏の測定による点を 10 個含む。

B: 向基的溢液。

Parenchyma: 組織磨砕汁の pH 分布。



(a)



(b)

図 3

微小容量ガラス毛细管 pH 測定装置

(a) ガラス毛细管は汎用の軟質ガラスを引いて作り、管壁厚は $50 \mu\text{m}$ 以下、内部抵抗は $1.6 \times 10^{10} \Omega$ である。

用いた電位計は Toshiba 3S4-SF を特殊な条件で動作させたもので、グリッド電流は 10^{-16} A に落ちている。

(b) この pH 測定装置の性能を示す、感度は 58 mV/pH と理論値通りで、安定性も申し分ない。

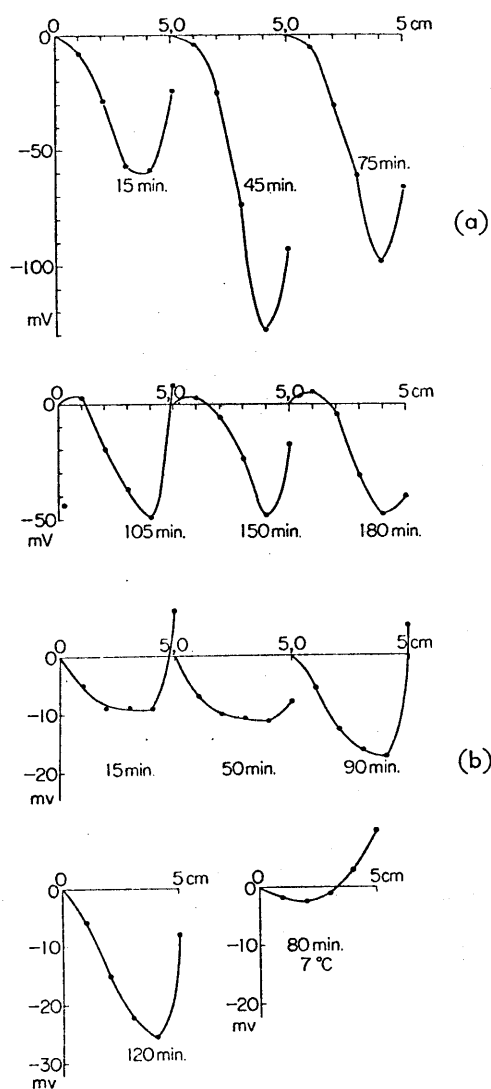


図 4

胚軸切片兩切断面間の
電位差 (V_a) の再構成
パターンとその時間的
変動。

(a): 22 °C に於ける記録、

(b): 15 °C 7 °C に於ける記録、

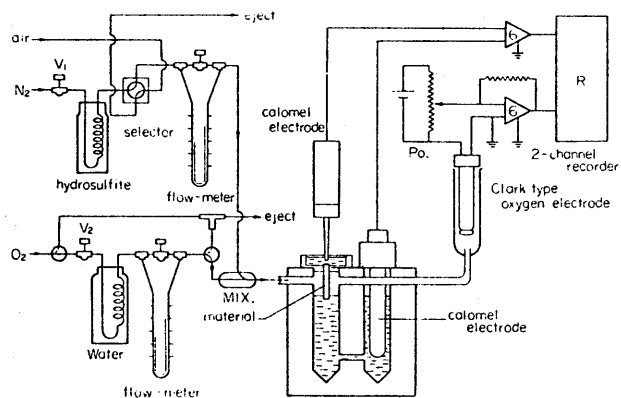


図 5

任意の酸素分圧下に
於ける V_a の連続記録
装置

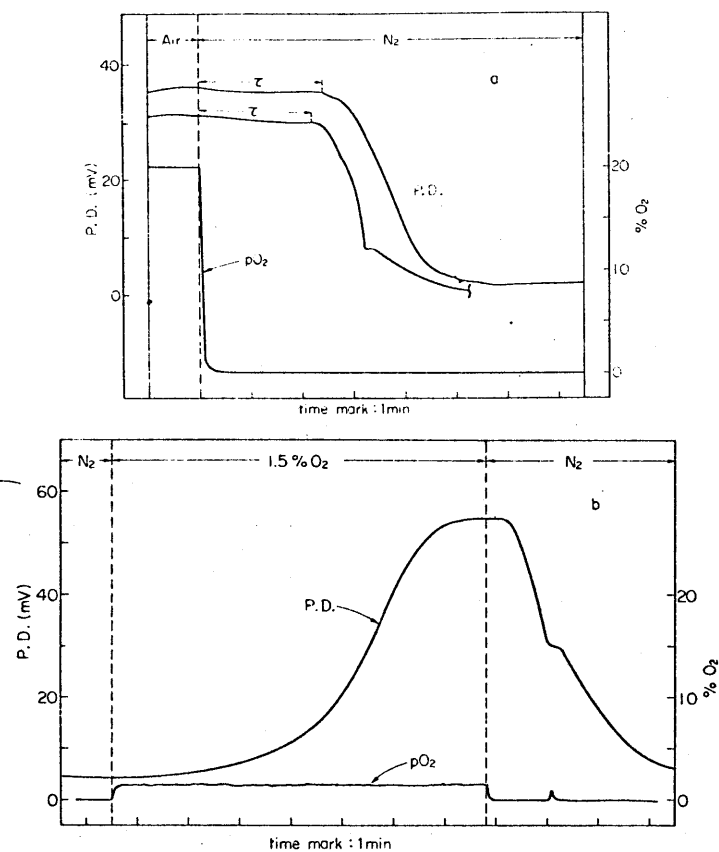


図 6

酸素分圧の変化による V_a の反応

a: anoxia にした時に
みられる 2 つの型の
反応、 τ は反応遅延時間

b: 低酸素分圧下で
みられる V_a の回復反応

すべて 19 °C

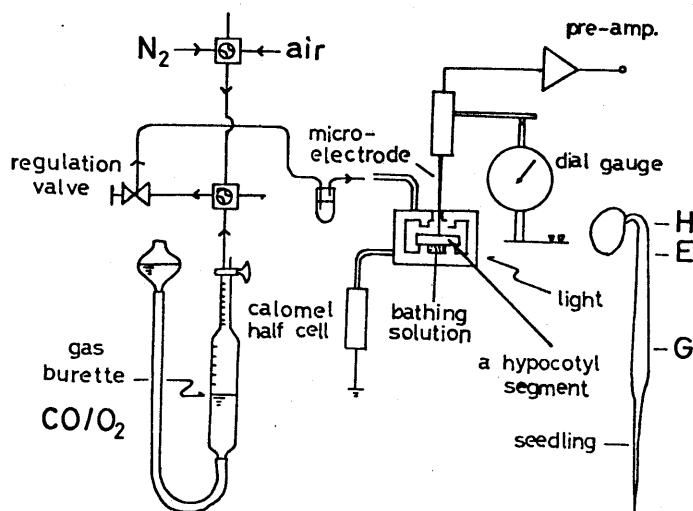
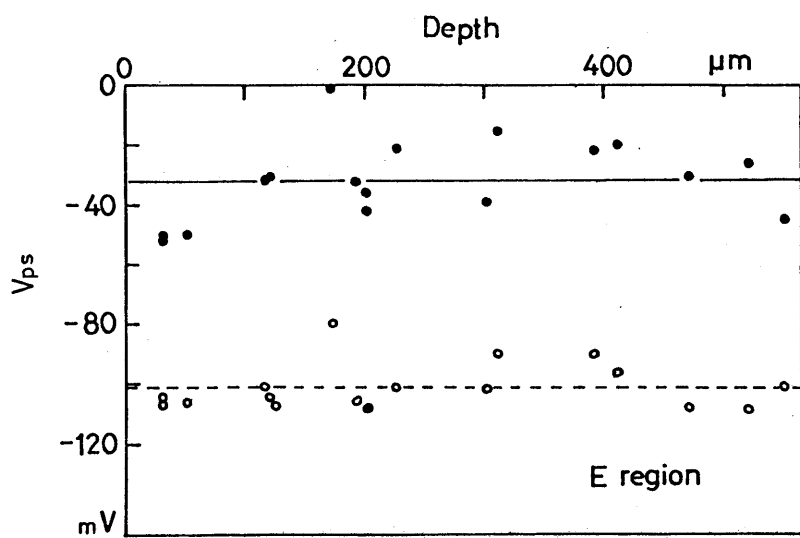


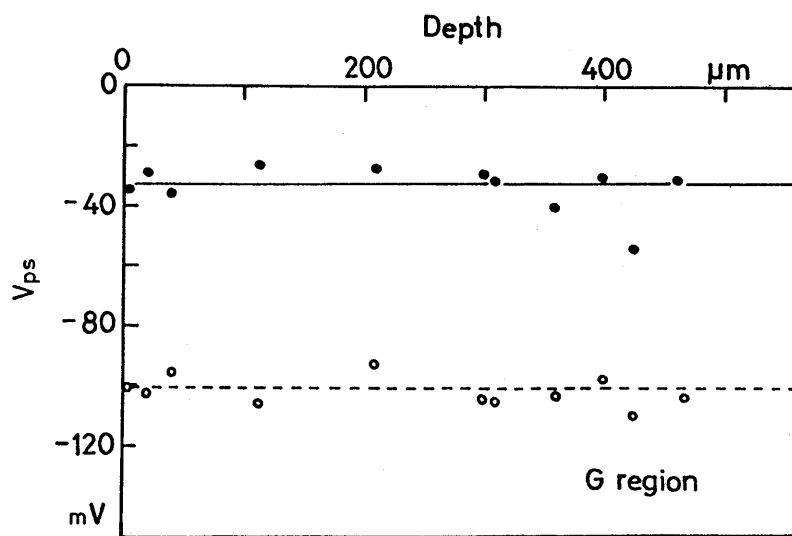
図 7

任意のガス条件
下で V_{ps} を記録
する装置

H, E, G は略号
解説を参照のこと.



$20\sim 23\text{ }^{\circ}\text{C}$



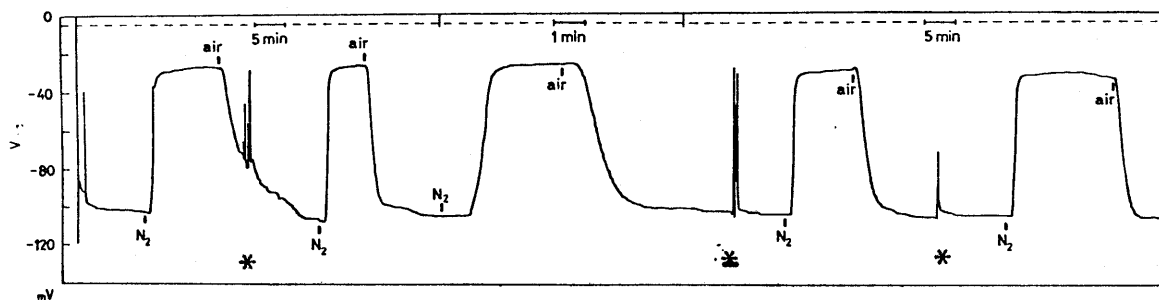
$30.5\sim 26\text{ }^{\circ}\text{C}$

図 8 胚軸切片の伸長軸に直角な平面内にある細胞の V_{ps} の半径方向の分布

Depth: 胚軸表面から測った半径方向の深さ

○: 空気中に於ける V_{ps} , --- その平均

●: anoxia 条件下の V_{ps} , ———— その平均



1-20 μm - 155 μm - 300 μm - 465 μm - 1

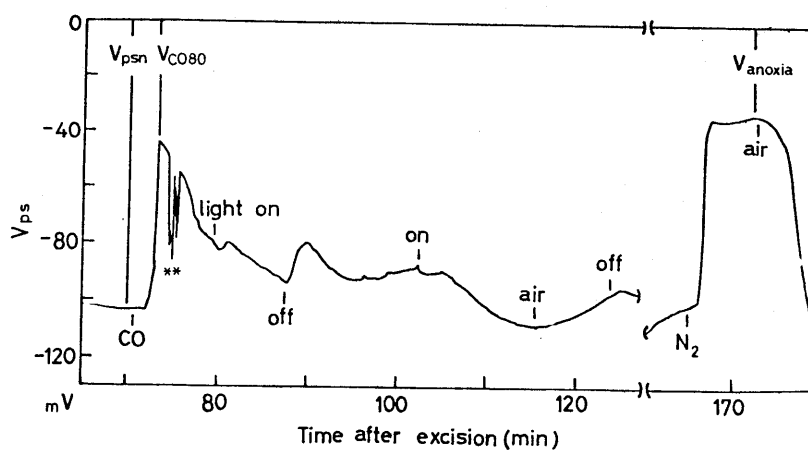
図9 伸長軸に直角な平面内にある細胞の
 V_{ps} の均一性と同調性

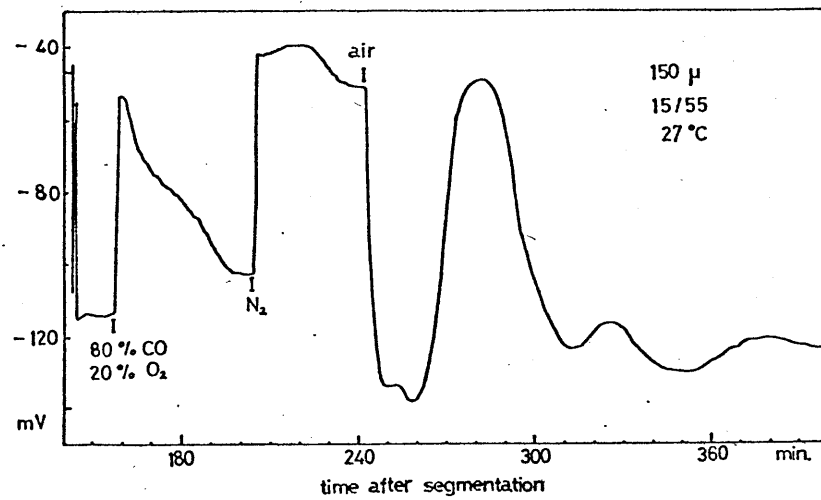
20 μm , 155 μm , 300 μm , 465 μm : 測定をした

細胞の表面から半径方向の距離.

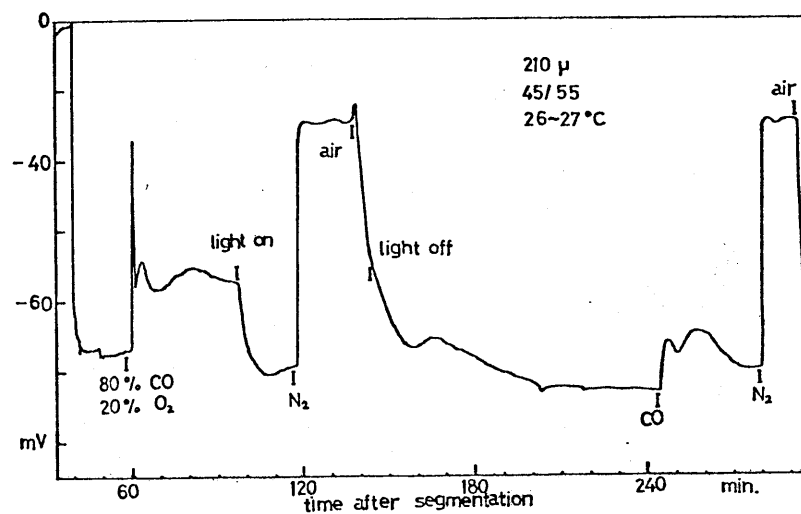
G-zone 30 °C,

*: 電極の seal out と再利入





(b)



(c)

図 10 一酸化炭素の V_{ps} に及ぼす効果

CO: 80% CO + 20% O₂

a: H zone, 表面からの深さ 15 μm , 22°C.

b: E zone, 深さ 150 μm , 27°C.

c: G zone, 深さ 210 μm , 26~27°C.

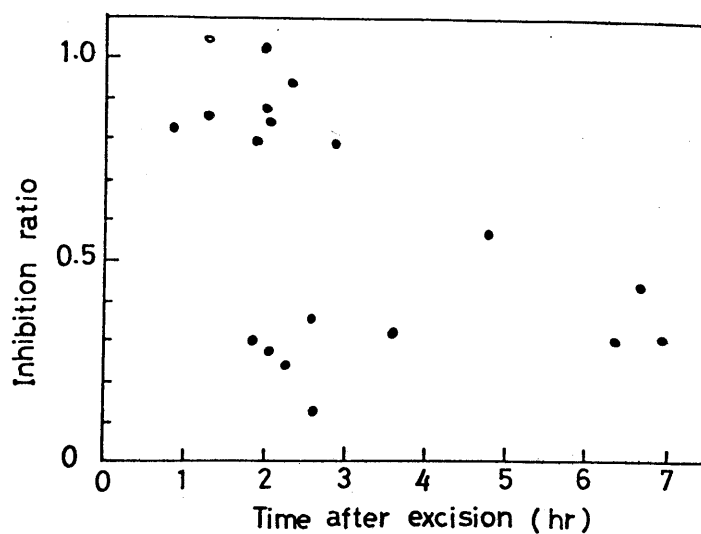
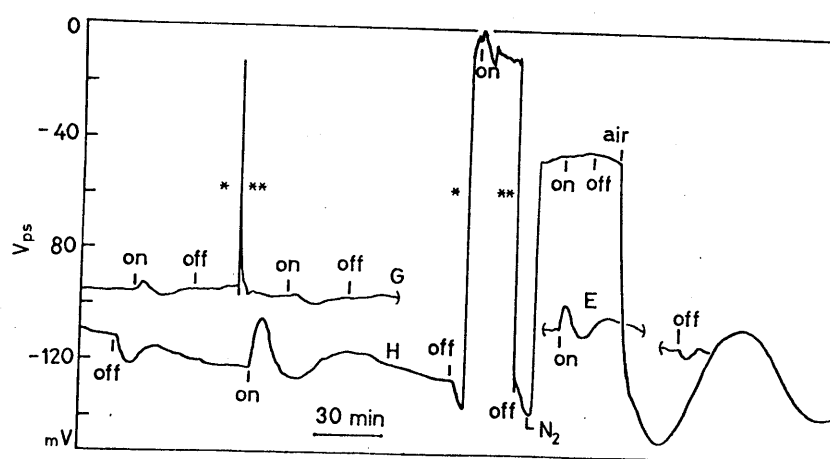


図 11 伸長帯 (E zone) 胚軸切片細胞に於ける
 V_{ps} の CO 感受性の時間変化

$$\text{Inhibition ratio} = \frac{V_{psn} - V_{CO80}}{V_{psn} - V_{anoxia}}$$

(図 10a を参照のこと), 19~23 °C.

○ は 2つの観測値を意味する



16 V_{ps} の光に対する反応

*: 電極の seal out

** : 電極の再刺入

G: G-zone の記録, E: E-zone の記録 H: H-zone の記録

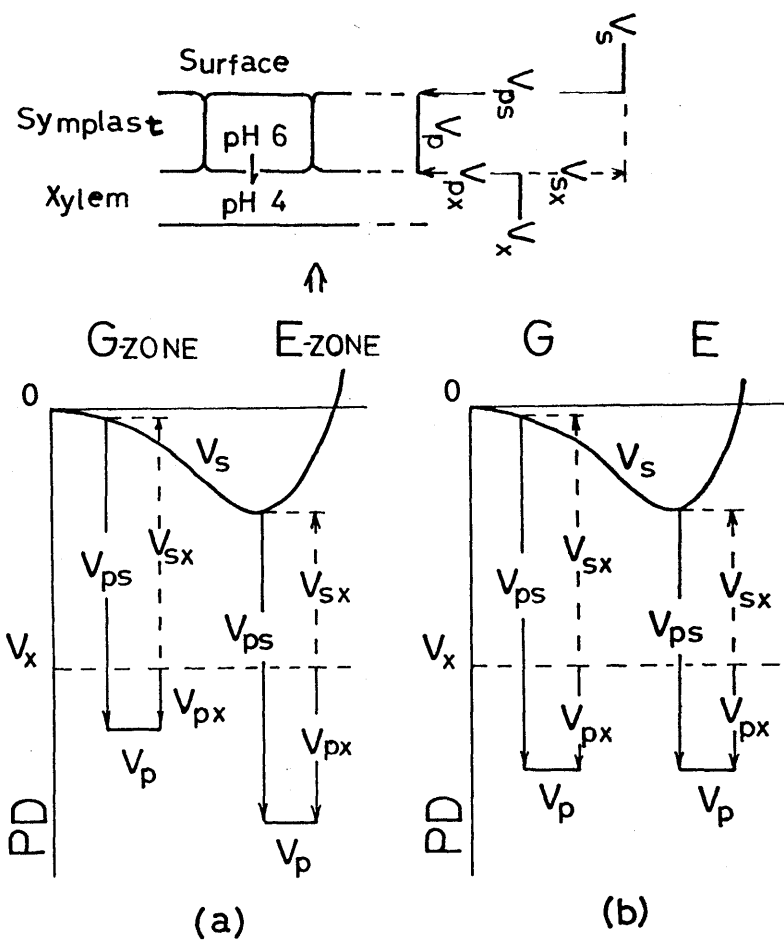


図 12 2 起電力仮説の模式図

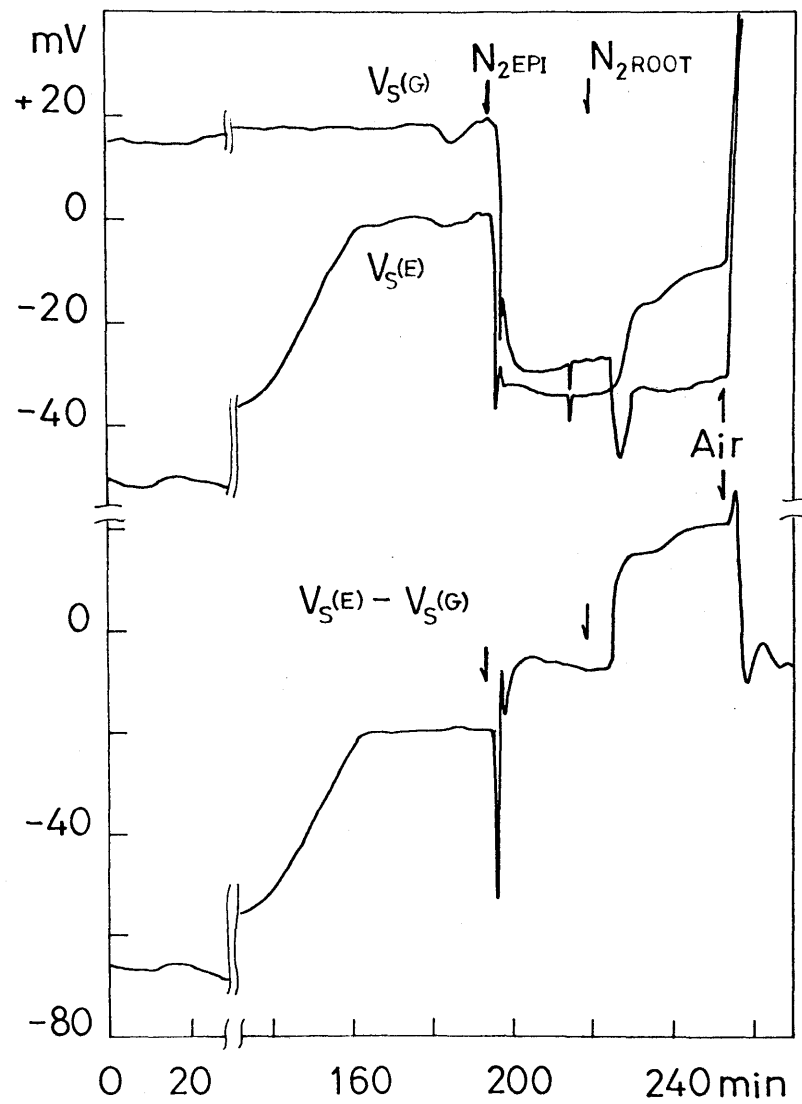


図 13 $V_s(E)$, $V_s(G)$ とその差の anoxia 反応の
同時記録例

N_2EPI : 地上部のための部分 anoxia

N_2ROOT : 完全 anoxia

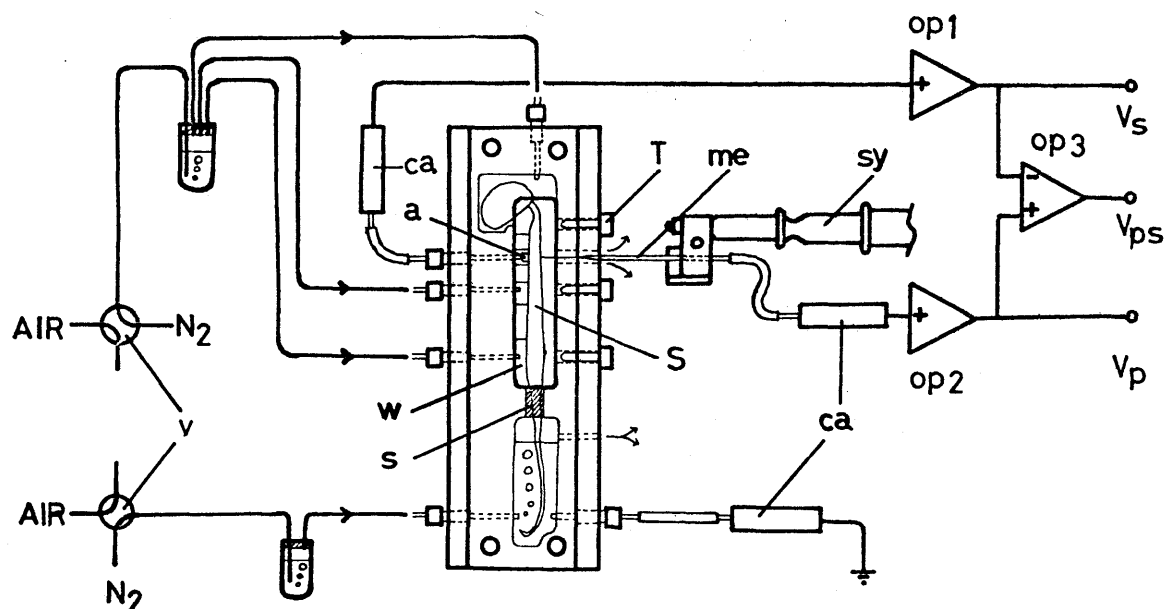


図 14 anoxia に 伴う V_s , V_{ps} , V_p の 反 応 の 同 時
記 録 装 置

a: agar 片

ca: カソード電極

s: シール剤

me: 微小電極

w: ガラス窓

sy: ガラス製注射器

S: ミトリアサゲメバエ

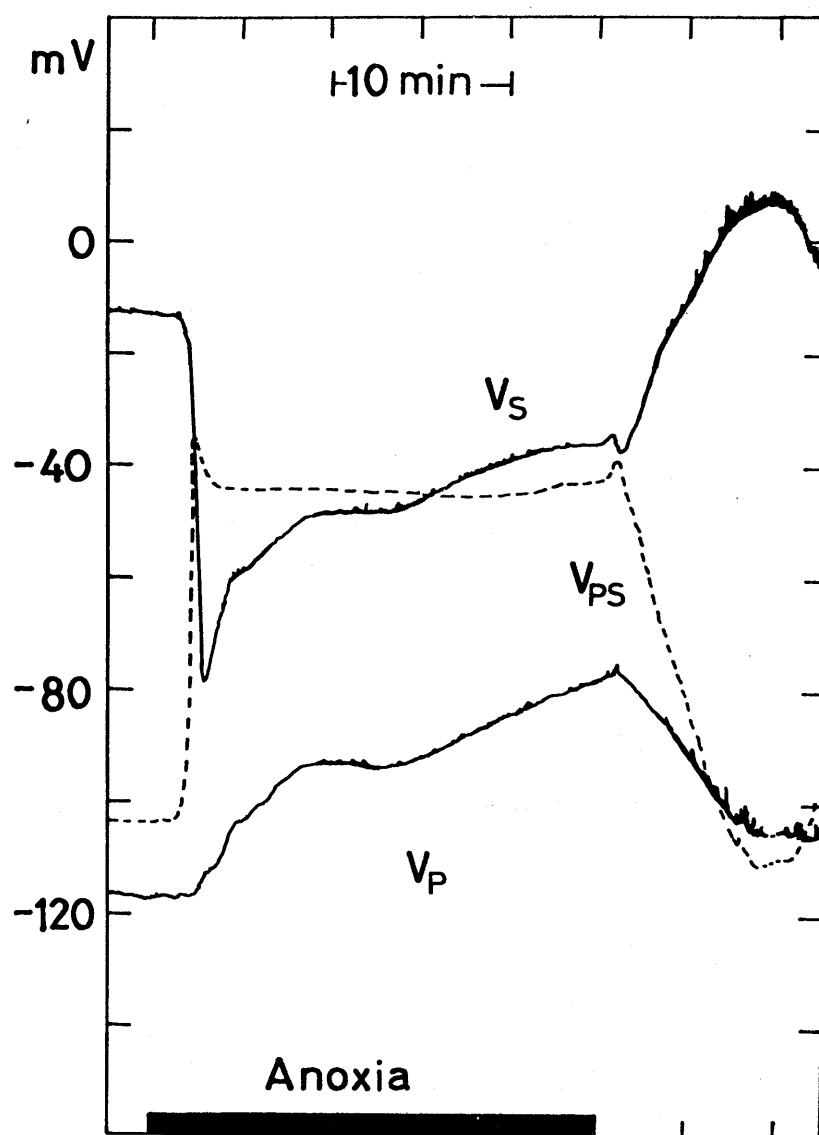
op₁: FET 演算増幅器 1425-01

T: 圧力センサー

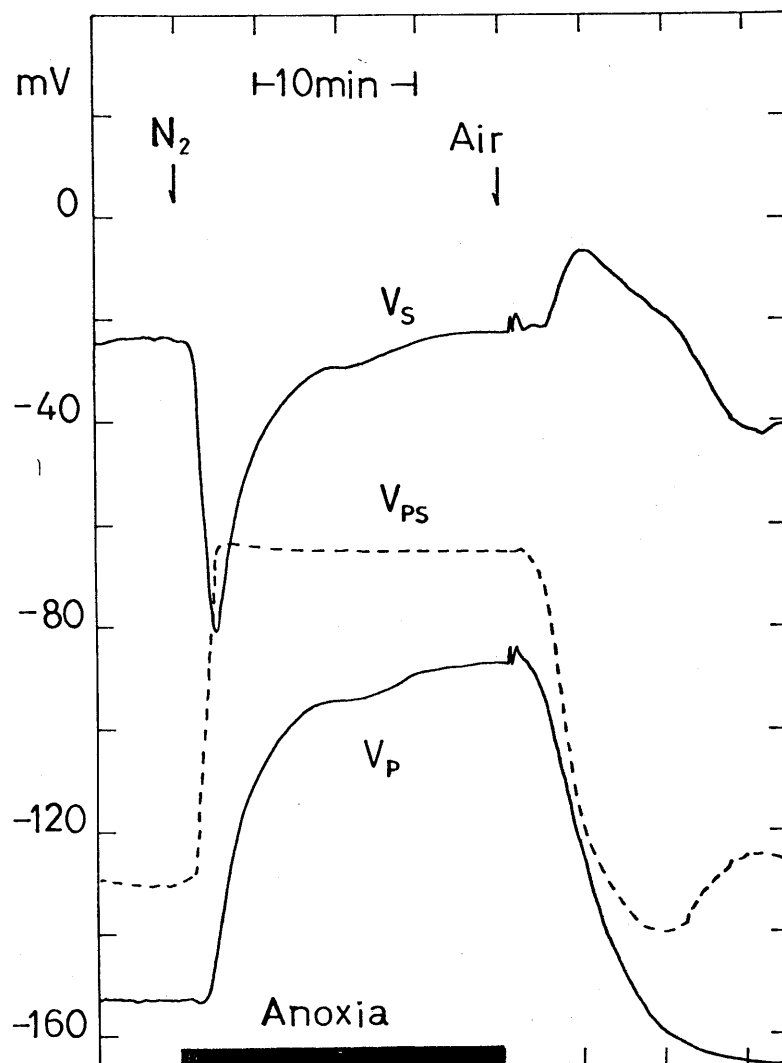
op₂: 同 1482-02

V: ガス切替バルブ

op₃: 同 741

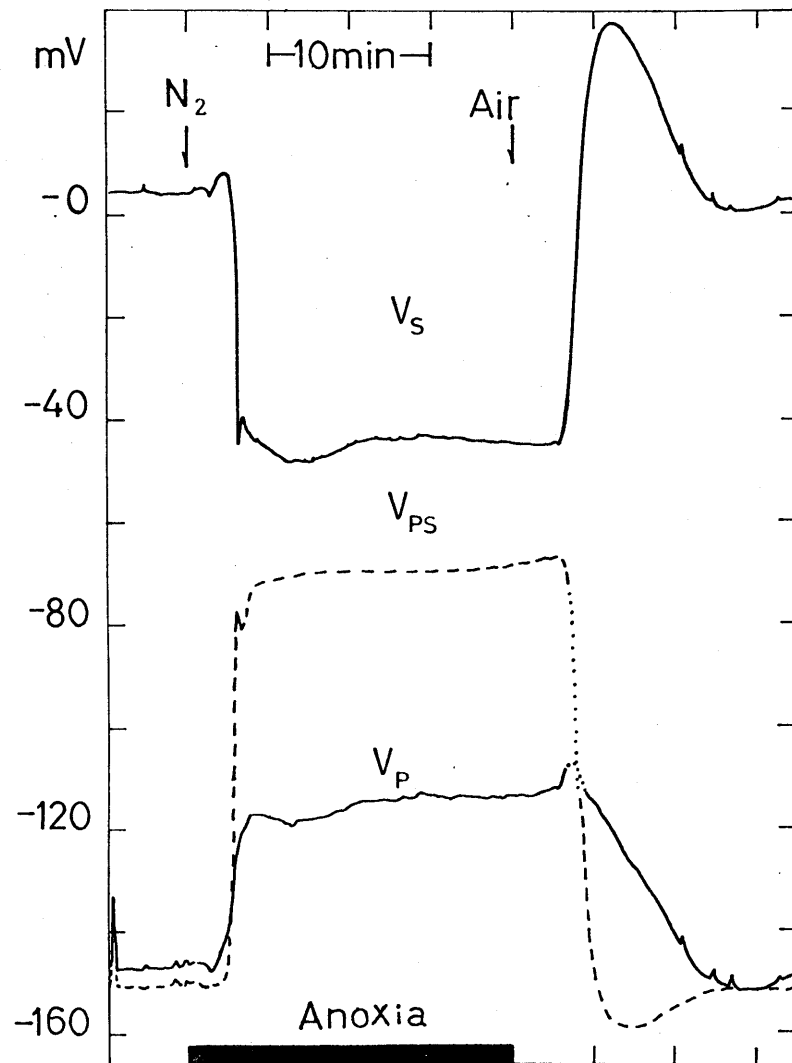


15 (a) H-zone における V_s , V_{ps} , V_p の anoxia
反応の同時記録例



15 (b) E-zone に於ける V_s , V_{ps} , V_p の anoxia

反応の同時記録例



15 (c) G-zone に於ける V_s , V_{ps} , V_p の anoxia

反応の同時記録例

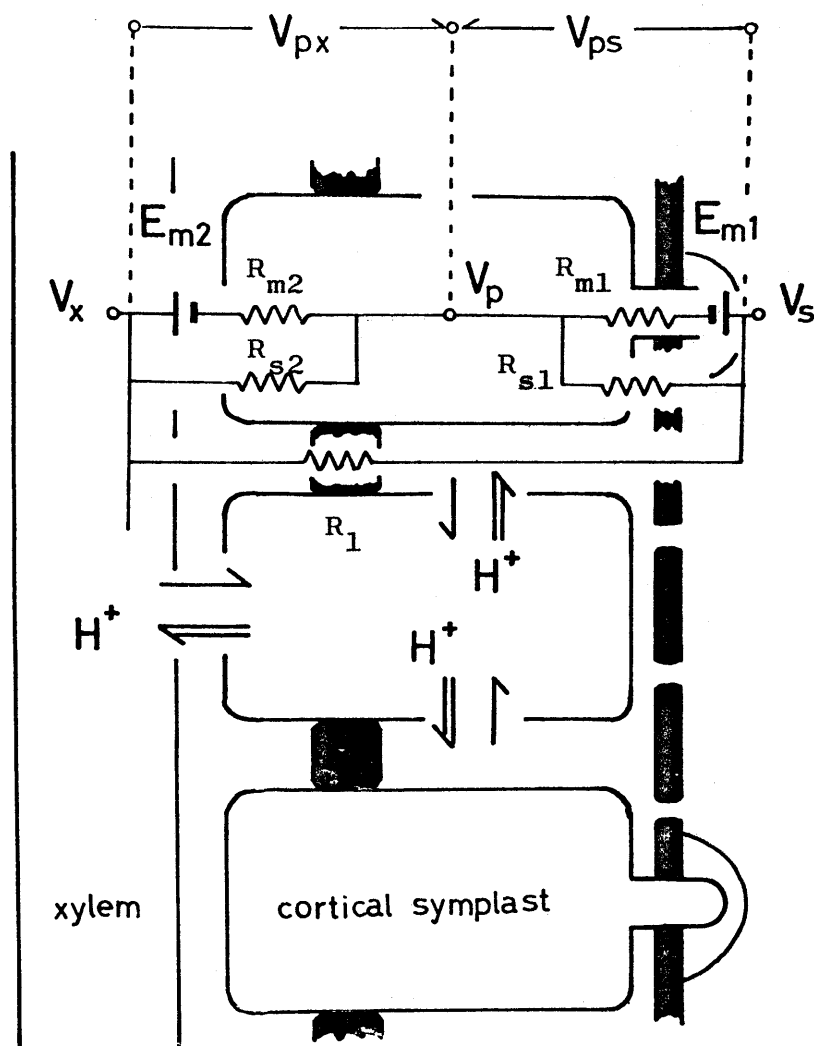


図 17 胚軸の構造模式

⇐ : 起電性 H^+ 輸送

■ : Incrustation (内皮と表皮にみられる)

表皮から突び出した symplast は排水毛を表わす

R_m : 起電力の内部抵抗

R_s : 起電力の短絡抵抗

R_1 : Apoplast の 漏れ抵抗

表 1

Intracellular potentials of parenchyma cells in the hypocotyl segment
of Vigna sesquipedalis

Region	V_{psn} (mV)	Electrogenic ΔV_{ps} ($V_{psn} - V_{anoxia}$) (mV)	Inhibition ratio $\frac{V_{psn} - V_{CO80}}{V_{psn} - V_{anoxia}}$	Temperature °C
Elongating	-103 ± 7.5 (7)	-84 ± 8.1 (5)		31 ~ 29.5
Elongating	-105 ± 10.5 (8)	-68 ± 8.2 (7)	0.90 ± 0.06 (5)*	30.5 ~ 26
Grown-up	-101 ± 5.0 (14)	-69 ± 7.1 (12)	0.29 ± 0.09 (6)	"
Hook	-111 ± 8.1 (8)	-70 ± 6.5 (8)	0.81 (3)*	20 ~ 23.5
Elongating	-101 ± 8.0 (19)	-67 ± 10.5 (19)	0.90 ± 0.10 (10)*	"
Grown-up	-113 ± 9.4 (13)	-69 ± 10.3 (13)	0.06 ± 0.04 (12)	"

The values given are the mean \pm standard deviation, except for the temperature values.

() indicates the number of experiments.

* : values in the CO-sensitive stage.

表 2

Binary structure of the electrogenic activity
responsible for the radial potential difference

zone		in air (mV)	under anoxia (mV)	Δ (mV)	n
H	V_s	-5.8 ± 14.0	-32.4 ± 13.3	27.6 ± 5.2	9
	V_p	-110.7 ± 11.7	-74.1 ± 9.9	-36.6 ± 4.1	"
	V_{ps}	-105.2 ± 6.0	-41.7 ± 9.5	-63.6 ± 7.3	"
	$\Delta V_p / \Delta V_{ps}$			0.58 ± 0.07	"
E	V_s	-17.3 ± 6.8	-27.4 ± 9.3	10.1 ± 9.5	9
	V_p	-127.2 ± 11.5	-79.7 ± 9.7	-47.6 ± 9.5	"
	V_{ps}	-109.6 ± 9.2	-52.1 ± 5.1	-57.4 ± 7.3	"
	$\Delta V_p / \Delta V_{ps}$			0.83 ± 0.16	"
G	V_s	11.4 ± 15.4	-33.0 ± 12.2	44.6 ± 8.1	9
	V_p	-117.2 ± 20.0	-89.9 ± 19.7	-27.3 ± 4.6	"
	V_{ps}	-128.6 ± 10.8	-56.4 ± 11.4	-72.1 ± 9.7	"
	$\Delta V_p / \Delta V_{ps}$			0.38 ± 0.05	"

The values given are the mean \pm standard deviation.

Δ : electrogenic component ($V_{\text{in air}} - V_{\text{anoxia}}$).

n: the number of experiments.