九州大学学術情報リポジトリ Kyushu University Institutional Repository

根の呼吸および吸水に関する環境生理学的研究

吉田, 敏

https://doi.org/10.11501/3078962

出版情報:九州大学, 1994, 博士(農学), 論文博士 バージョン: 権利関係:

視の呼吸および吸水に関する 環境生理学的研究

根の呼吸および吸水に関する 環境生理学的研究

0

吉 田

敏

1994

根の呼吸および吸水に関する環境生理学的研究

目 次

第1章 緒	言	1
第2章 水	耕における根の呼吸および吸水のオンライン計測	7
2 - 1	気密水耕装置における根部環境制御システム	7
2 - 2	2 ポーラログラフ方式 O2 センサによる根の O2	
	吸収の計測	10
2 - 3	3 ポテンショメトリCO2センサによる根のCO2	
	放出の計測	14
2 - 4	電気水位計ーポトメータによる根の吸水の	
	計測	21
第3章 水	耕における根の形態	28
3 – 2	植物材料および生育条件	28
3 - 2	2 根の形態の評価法	31
3 - 3	3 根の形態に対する溶存 O2 濃度の作用	36

第4章 根0	D呼吸および吸水に対する根温の作用	46
4 - 1	根の呼吸の温度依存性	46
4 - 2	根の吸水の温度依存性	53
4 - 3	根の通水抵抗に対する根温の作用	56
第5章 根の	D呼吸への基質の転流およびO2の輸送	67
5 - 1	気密チャンバにおける空気制御システム	68
5 - 2	¹³ CO ₂ トレーシングによる光合成固定炭素の	
	根への転流の動態解析	72
5-3	O2欠乏根部環境における根の呼吸および吸	
	水の動態	79
5 - 4	¹⁸ 02トレーシングによる地上部02の根の呼	
	吸への輸送の解析	83
5-5	根の呼吸と吸水との関係	89
第6章 綜合	合考察	96
摘安		107
謝辞		111
引用文献		112

第1章 緒 言

植物・環境系において根は土壌と植物とのイン タフェイスとみなすことができる. その主要な機 能は土壌からの水および養分の吸収である (Fitter, 1991). これらの根の生理的活性は, 呼吸に 基づく生体エネルギーによって維持されており (Goddard and Meeuse, 1950; James, 1953; Lambers et al., 1991), 根の周辺の物理的, 化学的 環境(根部環境)によって複雑に支配されている. とくに、土壌水分、養分、地温およびガス組成は 根の機能をとおして植物の生長と生産を支配して いる (May et al., 1965; Williamson, 1968; Williamson and Splinter, 1968; Watts, 1972; Nielsen, 1974; Lawrence and Oechel, 1983; Turner et al., 1983; Buwalda et al., 1988; Macduff et al., 1987; Schildwacht, 1989). さらに、地上部環境も葉の光合成および蒸散をと おして根の機能に深く関与している (Kozlowski, 1968; Osman, 1971; Aston and Lawlor, 1979;

-1-

Whipps, 1984; Hansen et al., 1992). すなわち, 地上部の光合成は根へ呼吸基質を供給し, また蒸 散は吸水の駆動力としての水ポテンシャルの勾配 を形成する. 地上部の環境要素すなわち光, 気温, 湿度, 風速, CO2濃度が光合成および蒸散を支配 することから (Pallas, 1965; Kramer, 1983; Agata et al., 1985; Kawamitsu et al., 1987), 地上部環境が間接的に根の機能に作用していると 考えられる. そこで, これらの環境と根の機能と の動的関係を経時的に抽出し, 根の機能に対する 環境作用を定量的に解析することが望まれる. こ のような根の機能の環境生理学的解析は植物生産 環境の最適化の研究においても有用な知見を提供 するものと考えられる.

根の呼吸については, 生成された生体エネルギ ーによる生理的過程の維持, すなわち維持呼吸の 概念が認められており, 根のイオン吸収およびタ ンパク質合成との関連が研究されている (Amthor, 1984; Lambers, *et al.*, 1983; Szaniawski and Kielkiewicz, 1982). 従来の研究では, ワールプ ルグ検圧計等を用いて単離根の呼吸速度が計測さ れ、単離根の呼吸に対する温度および02濃度の作 用に関して多くの知見が得られている (Vartapetian et al., 1978; Girton, 1979; Atwell et al., 1985; Johnson et al., 1989; Tachibana, 1989; Palta and Nobel, 1989bc; Hole et al., 1992). しかし、単離根では光合成および蒸散を とおした地上部環境の作用を解析することが困難 である.したがって、根部だけでなく地上部を含 めた環境と根の呼吸との動的な関係を把握するた めには、非破壊植物個体を対象とした根の呼吸速 度等のオンライン計測が必要である. さらに, 植 物個体における根の呼吸には呼吸基質および02の 供給が関連しているので (Huck et al., 1962; Armstrong and Gaynard, 1976; Saglio et al., 1983; Drew et al., 1985; Lambers et al., 1991). 光合成固定炭素の転流および02の輸送に ついて解析することが望まれる.

根に吸収された水は植物体内を経てその大部分が葉から蒸散される。植物体内の水は膨圧による

形態保持,生長,気孔運動に関与し,種々の代謝 過程の溶媒および物質移動の媒体となる重要な物 質である (Kramer, 1969). 根の吸水に対する環境 作用に関する研究の多くは種々の環境条件のもと での定常状態においてなされており、受動的吸水 の物理的過程について多くの知見が得られている (Boyer, 1971; Markhart et al., 1979; 長野・ 石田, 1984; Palta and Nobel, 1989a; Nobel et al., 1990, 1991; Alm and Nobel, 1991). しか し , 根 の 吸 水 は 代 謝 活 性 等 の 生 理 的 過 程 に も 依 存 しており (Persons and Kramer, 1974; Shirazi et al., 1975; Clarkson, 1976; Veen, 1977; Koide, 1985; Lopez and Nobel, 1991), 水の透 過性における生理的過程の環境依存性について解 析することが重要である.また,吸水に対する環 境作用の機作をより定量的に明らかにするために は、環境に対する根の吸水の動態を把握すること が有効であると考えられ (Andersen et al., 1984; Everard and Drew, 1987, 1989), このためのオ ンライン計測法の確立が必要である.

-4-

このような観点から根の呼吸および吸水に対す る環境作用を解析するためには、諸環境要素の厳 密な計測と制御、ならびに根の生体計測が重要な 課題となる.しかし,諸要素が複合する土壌環境 の計測と制御、ならびに土壌における根の生長、 形態,生理的活性の生体計測には困難をともなう (Kramer and Jackson, 1954; Scotter et al., 1967).一方,水耕では根系全体を均一な培養液 に浸して栽培することができるので、根部環境の 計測と制御、さらに根の生体計測が土耕に比して 容易となり、とくに呼吸速度および吸水速度のオ ンライン計測が可能となる.本研究では、根の呼 吸と吸水に対する根部および地上部の環境の作用 について解析することを目的として、制御環境に おける根の呼吸速度と吸水速度を計測する水耕シ ステムを開発するとともに(第2章),根の形態 の定量的計測法を確立して水耕における根の特性 を検討したうえで(第3章),根の機能に対する 環境作用として、根の呼吸と吸水に対する根温の 作用について解析した(第4章).さらに、安定

-5-

同位体 (¹³CO₂ および¹⁸O₂)を用いたトレーサ分 析および根の呼吸に対する地上部環境作用の解析 に基づき,呼吸基質としての光合成固定炭素およ びO₂の根における呼吸への供給について明らかに した (第5章).以上で得られた結果から根の呼 吸と吸水に対する環境作用について綜合的に考察 した (第6章).

第2章 水耕における根の呼吸および吸水のオン

ライン計測

根の呼吸および吸水に対する環境作用の解析の ためには制御された根部環境における根のガス交 換(02吸収およびCO2放出)速度および吸水速度の オンライン計測が必要である.その計測システム の構築においては,根部環境を気密にして外気と のガス交換を遮断することによって,根部環境の 02およびCO2の濃度変化から根のガス交換速度を 評価することが可能となると考えられる.本章で は,気密水耕装置(airtight hydroponic system) において根部環境を制御し,02吸収速度,CO2放 出速度および吸水速度を計測するシステムの開発 について述べる(Yoshida and Eguchi, 1988).

2 - 1 気密水耕装置における根部環境制御シス テム

Fig.1 に, 気密水耕装置における根部環境制御



Figure 1. Schematic diagram of instrumentation and environment control system in airtight hydroponics for analyses of respiration and water uptake in the intact root of a plant. システムの模式図を示す.培養液を満たしたステ ンレスポット(12)内に1個体の植物を植栽し,さ らにセンサを設置してゴム栓およびシリコングリ スで根部環境と地上部環境とのガス交換を遮断し た.ポット内の圧力は、後述の吸水速度計測用ポ トメータの自由水面(流動パラフィン層によりガ ス交換を遮断)を介して大気圧レベルに維持した. また、根部環境(培養液温度、溶存02濃度、溶存 CO2濃度等)の空間分布を小さくするために, 培 養液をスターラで攪拌した.このポットをウォー タバス(36 l)内に設置し、ウォータバス内の温 度を水温制御装置(CL-300、大洋科学工業)で制 御することによって培養液温度を制御した.また, ウォータバス上面を発泡スチロールで十分断熱す ることにより地上部気温や放射の変動にともなう 外乱を防いだ、本システムでは、地上部環境を気 温 25℃, 光 強 度 (photosynthetic photon flux density, PPFD) 200 μ mol m⁻²s⁻¹とした条件下で, 5~40℃の範囲において±0.3℃の精度で培養液温度 の定値制御が可能であった、本研究では、培養液

温度と根温とは平衡しているものとして, 培養液温度を根温とみなした.

この気密水耕装置を人工照明グロースキャビネ ット(Matsui et al., 1971)内に設置し,地上部 環境(気温,湿度および光条件)を制御した. Fig. 2 に,その外観写真を示す.このグロースキャビ ネットにおいては,気温制御範囲 -5~40℃,精度 ±0.5℃および湿度制御範囲 40~80%RH,精度 ±3%RH を満足する.また,白色蛍光灯(FLR110EH・W/A, 東芝ライテック)を光源として,光強度および日 長を設定することが可能である.

2-2 ポーラログラフ方式 Ozセンサによる根の Oz吸収の計測

根の呼吸に伴う 02吸収速度を、気密にした培養 液の溶存 02濃度の変化から求めた. センサとして はポーラログラフ方式 02センサ (UD-1, セントラ ル科学)を用い、溶存 02濃度 ([02])をオンライン で計測した. Fig.3 に、センサの写真 (a)および





Figure 3. Polarographic O_2 sensor. a, photograph of the probe equipped with the O_2 -permeable membrane (I) and the electrode in the probe (II); b, schematic diagram of the polarographic O_2 sensor.

模式図(b)を示す.ポーラログラフ方式02センサ は隔膜, 電解液(KC1), 電極(白金・銀)および温 度センサで構成されている. 隔膜は撥水性テフロ ンの多孔質膜で、その孔隙内部に空気が保持され、 根部環境の培養液とセンサの電解液とは接してい ない.したがって、この孔隙をとおして02ガス分 子は拡散により透過するが、水および電解質は透 過しない. 隔膜を透過して電解液中に拡散した02 は電極表面において電解される.この時の電解電 流を検出し、さらに温度の影響を温度センサから の出力信号で補正することにより、根部環境の [0₂] (0~20 mg l⁻¹) に比例した電圧信号 (0~10 mV)が出力される. 本センサの測定範囲は0~20 mg l^{-1} (0~0.625 mM), 精度は±0.03 mg l^{-1} (±0.009 mM) であり, 遅れ時間は10秒である. 本研究では, センサの出力信号をオンラインでコンピュータへ 入力し, [02]の経時的な変化量を基に, 根の単位 乾 物 重 あ た り の 0₂吸 収 速 度 (R o)を 次 式 で 算 出 し た .

$$R_{\odot} = \frac{\begin{bmatrix} 0_2 \end{bmatrix}_t - \begin{bmatrix} 0_2 \end{bmatrix}_{t+\Delta t} \quad 1}{\Delta t} \qquad (1)$$

-13-

ここで, [0₂]_tおよび [0₂]_{t+Δt}は時間 tおよび t+Δt (Δt=30 分) における溶存 0₂濃度 (mM), V はポッ ト内の培養液の体積 (ℓ), W は根の乾物重 (g)であ る.

Fig.4 に, R_oの計測例を示す. 十分に通気した 培養液を用いてキュウリ植物(3 葉期)を植栽した 場合, $[0_2]$ は根の呼吸によって0.24 mM(初期値) から急速に減少し, 18時間後には0.003 mMとな った (Fig.4a). R_oは計測開始後4時間で最大値 (0.05 μ mol g⁻¹s⁻¹)に達し, その後減少して18時 間後にほぼ0 μ mol g⁻¹s⁻¹となった (Fig.4b). こ のように, このセンサを用いて植物の根の02吸収 速度を十分な精度と応答性で計測することが可能 となった.

2-3 ポテンショメトリCO2センサによる根の CO2放出の計測

根の呼吸に伴う CO2放出速度を、気密にした根部環境の溶存 CO2濃度の変化から求めた.根の呼



Figure 4. Time course patterns of dissolved O_2 concentration (a) in airtight hydroponics and O_2 uptake rate (b) per root dry weight in the intact root of a plant under the environmental condition of a *PPFD* of 200 µmol m⁻² s⁻¹, an air temperature of 25°C, a relative humidity of 40%RH and a root temperature of 25°C.

吸により放出された CO₂は,分子状炭酸物質(CO₂ および H₂CO₃)および解離した炭酸物質(HCO₃⁻およ び CO₃²⁻)として培養液中に存在し,次式の化学平 衡が成立する (Bown, 1985).

 $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^- \rightleftharpoons 2H^+ + CO_3^{2-} (2)$

根の CO₂放出速度を算出するために, 根部環境の 全炭酸のモル濃度から溶存 CO₂濃度([ΣCO₂])を次 式で求めた.

 $[\Sigma CO_2] = [CO_2] + [H_2CO_3] + [HCO_3^{-}] + [CO_3^{2-}] \quad (3)$

分子状炭酸物質の濃度([CO₂]+[H₂CO₃])につい ては、ポテンショメトリCO₂センサ(CGP-1、東亜 電波工業)を用いてオンラインで計測した. Fig.5 に、そのセンサの写真(a) および模式図(b) を示 す.ポテンショメトリCO₂センサは隔膜、内部液 (NaHCO₃)、pHセンサおよび温度センサで構成され ている. 隔膜は前述のO₂センサの場合と同様の撥



b, schematic diagram of the potentiometric CO₂ sensor.

水性テフロンの多孔質膜であり、空気が保持され た孔隙をとおして CO2ガス分子は透過するが,水 および電解質は透過しない.根部環境に溶解,水 和している分子状炭酸物質 (CO₂およびH₂CO₃)はガ ス化して (CO2として) 膜の孔隙を拡散し, 再び内 部液に溶解してpHを変化させる.この内部液のpH から分子状炭酸物質の濃度が, その飽和濃度(Cs; mM)に対する百分率 (Pc; %)として得られる. すな わち、内部液のpHを検出し、さらに温度の影響 を温度センサからの出力信号により補正して、Pc (0~20.0%)に比例した電圧信号(0~20 mV)が出力さ れる. Pcの測定範囲 0~20.0%における測定精度は ±0.1%であり、遅れ時間は約2分である.このPc の測定値およびCsから次式で [CO2]+[H2CO3]が算 出できる.

$$[CO_2] + [H_2CO_3] = C_s \cdot \frac{P_c}{100}$$
(4)

一方, 解離した炭酸物質のモル濃度 ([HCO3⁻]

+[CO₃²⁻])については根部環境の[CO₂]+[H₂CO₃]およびpHを用いて次のHenderson-Hasselbach式により算出される (Bown, 1985).

 $\log[HCO_{3}^{-}] = \log([CO_{2}] + [H_{2}CO_{3}]) + pH + \log K_{1}$ (5)

$$\log[CO_3^{2^-}] = \log[HCO_3^-] + pH + \log K_2$$
(6)

ここで, pH は根部環境のpH, K₁およびK₂はそれ ぞれHCO₃⁻およびCO₃²⁻の解離定数で温度に依存す る (Helder, 1988).

本計測システムにおいては, ポテンショメトリ CO₂センサおよび pHセンサ (HM-7E, 東亜電波工業) の出力信号をオンラインでコンピュータへ入力し, 式 (3,4,5,6)を用いて [ΣCO₂]を求めた. 根部環境 温度 25℃, pH 6.0の場合, 9.7 mMまでの [ΣCO₂]を 計測することができた. その経時的な変化量を基 に, 根の単位乾物重あたりの CO₂放出速度 (*R*_c)を 次式で算出した.

$$R_{c} = \frac{\left[\Sigma CO_{2}\right]_{t+\Delta t} - \left[\Sigma CO_{2}\right]_{t}}{\Delta t} \frac{1}{W}$$
(7)

ここで, [ΣCO₂] tおよび [ΣCO₂] t + Δt は時間 tおよび t + Δt (Δt = 30分)における溶存 CO₂濃度, ドはポット 内の培養液の体積 (ℓ), W は根の乾物重 (g)である.

Fig.6 に R_c の計測例を示す. 十分に通気した培養液を用いてキュウリ植物(3葉期)を植栽した場合, [ΣCO_2]は根の呼吸によって3日間で0.02 mM から3.4 mM に増加し, その後一定となった(Fig. 6a). R_c は計測開始後18時間までほぼ一定値(0.07 μ mol g⁻¹s⁻¹)に維持され, その後0.25 μ mol g⁻¹ s⁻¹まで増加し,約60時間後に急減した(Fig.6b). このように,根の乾物重あたりのCO₂放出速度から根の呼吸の評価が可能となった.

2-4 電気水位計-ポトメータによる根の吸水の計測

根の吸水速度の自動計測のために電気水位計-



Figure 6. Time course patterns of dissolved CO_2 concentration (a) in airtight hydroponics and CO_2 release rate (b) per root dry weight in the intact root of a plant under the environmental condition of a *PPFD* of 200 µmol m⁻² s⁻¹, an air temperature of 25°C, a relative humidity of 40%RH and a root temperature of 25°C.

ポトメータを開発した. Fig.7 に電気水位計-ポ トメータの模式図を示す. 電気水位計はポテンシ ョメータを組み込んだ滑車と、それに連結された ポトメータ水面上の浮子から構成されており、ポ トメータ内水位 (0~20 cm)をポテンショメータの 電圧信号 (0.4~10.4 V)として出力する. この出力 信号をオンラインでコンピュータへ入力し、水位 変 化 速 度 か ら 吸 水 速 度 を 算 出 す る 方 式 を と っ て い る. Fig.8 に示すように、本計測システムの精度 を求めるためにペリスタポンプを用いて培養液を 吸引し、吸水量の経時変化から得た吸水速度の真 値 (FA)とポテンショメータの出力信号から算出し た吸水速度(測定値 F)とを比較した. Fig.9 に, 吸水速度を0 mg s⁻¹よりステップ状に0.74 mg s⁻¹に増加させ、1時間後に再び0 mg s⁻¹に減少 させた場合の動特性を示す、このステップ応答に おいて, FAの増加および減少に対してFは11分で F_Aの ±5%内 に 整 定 し, そ の 時 の 遅 れ 時 間 は 約 6 分 であった、さらに、吸水速度を種々の値に設定し た場合の、FAとF(整定後1時間の平均値)とを





Figure 8. Schematic diagram of calibration system of water uptake rate measured by the on-line potometer. The actual water uptake rate was controlled by a peristaltic pump and monitored by a weighing method.



Figure 9. Step response of measured water uptake rate to actual water uptake rate.

比較した. この場合, F_Aの設定範囲は本研究に供 したキュウリ植物(3葉期)の吸水速度の範囲(0 ~3 mg s⁻¹)とした. Fig.10に, F_AとFとの関係を 示す. F_AとFとの相関関係は次で示される(単位 mg s⁻¹).

 $F = 1.000 F_{A} - 0.001 \quad (r = 0.999^{**}) \quad (8)$

この関係はほぼ1:1に対応することから, キャ リプレーションなしに吸水速度の計測が可能とな った. Fの 95% 信頼限界から得た測定精度は ±0.15 mg s⁻¹であった.

以上のことから、この計測システムは吸水速度 の動態の解析に十分な精度と応答性を有すること が明らかとなった.本研究では、計測終了後に根 を採取して根の乾物重を計測し、単位乾物重あた りの吸水速度を算出した.また、ポトメータ内の 水位変化 (20cm 以下)による根部環境の圧力変化 は 2 kPa以下と著しく小であり、根の吸水に対す る影響については無視することができた.





第3章 水耕における根の形態

根の形態に対する根部環境の影響については多 くの報告がある. 土壌水分が低い条件では,根の 伸長が抑制され,根の分岐は促進されることが明 らかにされている(Fitter,1986).水耕におい ては,培養液の養分濃度が低い場合には根の伸長 および分岐が抑制されることが認められている (Drew et al.,1973; Tennant,1976). とくに, 培養液の溶存 02濃度が根系の発達に影響すること が注目される.本章では,根系の形態的特徴を画 像解析により抽出し,水耕における根の形態に対 する溶存 02濃度の作用について解析をおこなった (Yoshida and Eguchi,1987).

3-1 植物材料および生育条件

植物材料としてキュウリ(Cucumis sativus L.) 品種長日落合2号を用い,人工照明グロースキャ・ ビネット内で生育させた.キャビネット内の気温 を 23°C, 相対 湿度 を 70%RHに 制御し, 光源 として メタルハライドランプ (DR400, 東芝ライテック) を用いて PPFD 250 μ mol m⁻²s⁻¹および 12時間日長 で光照射した.キュウリ種子をバーミキュライト に播種し,子葉展開後 (播種後7日)に培養液を 満たした水耕ポット (13 &) に移植した.培養液 温度はキャビネット内の気温と平衡し,常に 23±1 °C であった.培養液の組成は Mg²⁺ 0.9 mM, Ca²⁺ 2.1 mM, K⁺ 3.8 mM, H₂PO₄⁻ 0.8 mM, NO₈⁻ 8.2 mMおよび NH₄⁺ 0.8 mMとし, さらにキレート鉄お よび微量要素 (Mn, B, Mo, Zn) を添加した.

培養液を高溶存 02濃度に設定するためには,生 育期間中連続的に,エアポンプを用いて培養液に 通気した(流量,約200 m& s⁻¹).一方,低溶存 02濃度に設定するためには,N2ガスでバプリング して溶存 02濃度を 0.03 mMとした培養液に植物を 移植し,生育中は通気を行なわなかった.さらに, 培養液面をポリエチレンフィルムで被覆して液面 を通した培養液への 02の拡散を抑制した.Fig.11 に,生育中の溶存 02濃度の変化を示す.高溶存 02

-29-





濃度の場合には,培養液温度23℃における空気飽 和に近い溶存02濃度(0.24 mM)が維持された. 低溶存02濃度の場合には,溶存02濃度は初期値 0.03 mMから一時的に0.13 mMに増加した.その原 因としては,液面を被覆したにもかかわらず,02 が空気から培養液へ拡散したものと考えられる. その後(移植後6日目以降)は,根系の発達にと もなう根の呼吸の増加により溶存02濃度は減少し, 18日目には0.04 mMとなった.以上のように,高 溶存02濃度および低溶存02濃度においてキュウリ 植物を4葉期まで(18日間)生育させた.4葉期 までの生育期間では,低溶存02濃度においても地 上部の健全な生育が認められた.

3-2 根の形態の評価法

Fig.12に, 高溶存 0₂濃度(a) および低溶存 0₂濃 度(b) における 4 葉期 キュウリ植物の根系全体の 写真を示す. ここで, 主根を 1 次根, これから分 岐した根を 2 次根とし, さらにその分岐根を分岐



4th order root; r_a , adventitious root; h, hypocotyl.

の次数にしたがってn次根とした場合、4葉期植 物の根系では4次根までの分岐が認められた.高 溶存 02濃度および低溶存 02濃度において、ともに 約 20本 の 2 次 根 が 発 達 し て 根 系 が 形 成 さ れ て い る が、高溶存02濃度と比較すると、低溶存02濃度で は1次根および2次根の伸長の抑制と、3次根お よび4次根の著しい分岐がみられた.このような 根系の形態を定量的に比較するために、2次根の なかで最も長い根を分岐根とともに採取して画像 解析をおこなった. すなわち, Fig.13に示すよう に根をガラス板上に広げ、乾式複写機を用いて等 倍の二次元画像を得た、デジタイザ(KD4030A, グラフテック)により、各分岐根の画像上の点の 座標を基部から根端まで任意の間隔(2~20 mm) で読み取り、コンピュータに入力した. さらに、 X Y プロッタ (FD5311, グラフテック)を用いて, 入力された点を順に直線で結ぶことにより各分岐 根の線画像を得た. Fig.14に, XYプロッタによ り出力された線画像を示す、入力された座標点間 の距離を根の基部から根端まで加算して、各分岐



dissolved O₂ concentrations.



Figure 14. Displays of computed images of the longest 2nd order root with branching roots grown at higher (a) and lower (b) dissolved O_2 concentrations.

根の根長を求めた.

また, 3 次根および 4 次根の分布を評価するた めに, 2 次根の基部を 0 , 根端を 1 としたときの 3 次根の分岐部位を求めた. すなわち, 2 次根の 長さを Lr 2, 基部から分岐部位までの距離を dとし て,分岐部位を d/Lr 2 で示した. つぎに,基部か ら根端までの部位を 20等分し,各部位における 3 次根の根長の和を求めた. 4 次根についても,同 様に部位別に根長の和を求めた.

3-3 根の形態に対する溶存 02 濃度の作用

Fig.15に, 2 次根の根長 (Lr₂) と, 3 次根お よび 4 次根のそれぞれの根長の和 (ΣLr₃および ΣLr₄)を示す. Lr₂は高溶存 0₂濃度に比べ, 低溶 存 0₂濃度で小となり, その差は 5%レベルで有意で あった. 一方, ΣLr₃については, 高溶存 0₂濃度と 低溶存 0₂濃度との間に有意差 (5%レベル) は認め られなかったが, ΣLr₄は高溶存 0₂濃度に比べ, 低 溶存 0₂濃度において著しく大となり, その差は 1%



Figure 15. Length of the longest 2nd order root (r_2) , total length of the 3rd order roots (r_3) and total length of the 4th order roots (r_4) grown at higher (H) and lower (L) dissolved O_2 concentrations. Lr_2 , length of r_2 ; ΣLr_3 , total length of r_3 ; ΣLr_4 , total length of r_4 . The means of measured values in 7 plants are plotted with 95% confidence limits.

レベルで有意であった.このように、高溶存02濃 度と低溶存02濃度との間で根系の形態に顕著な差 異がみられ、低溶存02濃度では2次根の伸長は抑 制されるが、4次根が著しく発達することが明ら かとなった. Fig.16に, 2次根, 3次根および4 次根の根長の総和, すなわちLr₂+SLr₃+SLr₄(a) およびLr2, ELr3および ELr4のそれぞれの割合(b) を示す. Lr₂+SLr₃+SLr₄は, 高溶存O₂濃度に比べ, 低溶存02濃度で大となり、その差は1%レベルで有 意であった (Fig.16a). ΣLr₄の占める割合は高溶 存02濃度と比較すると低溶存02濃度で大となった (Fig.16b). Erickson (1946), Geisler (1965), Trought and Drew (1980), Armstrong and Webb (1985), Wiedenroth and Erdmann (1985), Erdmann and Wiedenroth (1986) および Barrett-Lennard et al. (1988)は, 培養液の低溶存 02濃 度条件下において根の伸長は抑制されるが、分岐 根数は増加する傾向を認めている。このような根 の 形 態 に 対 す る 溶 存 02濃 度 の 作 用 に つ い て は 数 値 的評価が困難であったが、本実験では根系の画像



Figure 16. Total root length (a) and percentage (b) of the respective lengths of the longest 2nd order root (r_2) , the 3rd order root (r_3) and the 4th order root (r_4) grown at higher (H) and lower (L) dissolved O_2 concentrations. $Lr_2+\Sigma Lr_3+\Sigma Lr_4$, total root length of r_2 , r_3 and r_4 . The means of measured total root length in 7 plants are plotted with 95% confidence limits.

解析により分岐根の長さおよび分岐部位を数値化 して根の形態に対する溶存02濃度の作用特性を明 らかにした.すなわち,低溶存02濃度条件下にお いて2次根の伸長が抑制されるにもかかわらず, 4次根の発達により根長の総和が増加することを 明示し得た.

Fig.17に, 高溶存 0₂濃度(a) および低溶存 0₂濃 度(b) 条件下の2次根の基部から根端までの部位 における3次根長の分布を示す. 高溶存 0₂濃度で は, 2次根の根端に近い部位ほど3次根長が小と なった(Fig.17a). 一方,低溶存 0₂濃度では, 2 次根の中間部位(d/Lr₂=0.25~0.50)において 3 次根長が大となった(Fig.17b).以上のように, 3次根長の総和には高溶存 0₂濃度と低溶存 0₂濃度 との間で明瞭な差はみられなかったが(Fig.15), その分布については顕著な差異が認められた. Fig.18に,高溶存 0₂濃度(a)および低溶存 0₂濃度 (b)における4次根長の分布を示す.高溶存 0₂濃度 度では,2次根の基部付近,すなわち d/Lr₂=0~ 0.4の部位にのみ4次根が分岐した(Fig.18a).



Figure 17. Distributions of lengths of the 3rd order roots (r_3) on the longest 2nd order root (r_2) grown at higher (a) and lower (b) dissolved O₂ concentrations. The means of total length of r_3 measured in 7 plants on respective 20 division of r_2 are plotted with 95% confidence limits. *d*, distance from the base of r_2 to branching position of r_3 ; Lr_2 , length of r_2 .



Figure 18. Distributions of lengths of the 4th order roots (r_4) on the longest 2nd order root (r_2) grown at higher (a) and lower (b) dissolved O₂ concentrations. The means of total length of r_4 measured in 7 plants on respective 20 division of r_2 are plotted with 95% confidence limits. *d*, distance from the base of r_2 to branching position of r_4 ; Lr_2 , length of r_2 . 一方,低溶存02濃度では,基部から根端付近までの部位(d/Lr2=0~0.85)に4次根が分岐し,2次根の中間部位において4次根長が最大となった

(Fig.18b). このように, 高溶存 02濃度では 2 次 根の基部付近において分岐根が発達したのに対し, 低溶存 02濃度では 2 次根の基部から根端付近まで ほぼ全体的な部位において分岐根が発達した.

水耕における根の表皮の形態について、走査電 子顕微鏡 (JSM-T100,日本電子)を用いて観察し た.Fig.19に、高溶存 02濃度 (a)および低溶存 02 濃度 (b)における 2 次根の根端から 15~30 cmの部 位の表皮の走査電子顕微鏡写真を示す.高溶存 02 濃度では 2 次根における根毛の発生はほとんど認 められなかったが (Fig.19a),低溶存 02濃度では 根端から約 15 cmの部位に根毛が高密度で発生し、 表皮には縦方向の亀裂が認められた (Fig.19b).

以上のように,水耕においては,4葉期キュウ リ植物の根の形態が溶存02濃度に著しく影響され た. Drew and Saker (1975) は分岐根の発達によ り根の養分吸収が増加することを明らかにしてい

-43-



Figure 19. Scanning electron micrographs of epidermal structure of the roots grown at higher (a) and lower (b) dissolved O_2 concentrations, where the samples were prepared from the zone 15-30 cm from the root tip in the 2nd order root.

る. また, Drew and Nye (1969) は根毛の発生に より養分吸収が増加することから, 根の形態が根 の生理的機能と密接に関連することを明らかにし ている. このように, 低溶存 02濃度条件下におい て分岐根の発達により根長の総和が増加すること は, 根の表面積を増大させ, 根の十分な生理的機 能を維持するために順応した結果と考えられる. 第4章 根の呼吸および吸水に対する根温の作用

植物に対する根温の作用としては、根温の低下 による吸水の減少によって地上部に水欠乏状態が 生じ、葉の萎凋、水ボテンシャルの低下、気孔抵 抗の増加、および光合成速度の減少が起こること が報告されている(Kramer、1942; Tew et al.、 1963; Babalola et al.、1968; Running and Reid、1980; Syvertsen、1981; McWilliam et al.、1982; Markhart、1984; Fennell et al.、 1990). このような根の生理的活性に対する根温 の作用をさらに明らかにするために、本章では、 根の基本的な機能である呼吸、吸水および通水抵 抗に対する根温の作用を解析した(Yoshida and Eguchi、1989、1990、1991).

4-1 根の呼吸の温度依存性

ここでは、植物個体における根の呼吸に対する根温の作用を解析した.植物材料には、気温23℃

および相対湿度70%RHの人工照明グロースキャビ ネット (メタルハライドランプ, PPFD 250 µmol m⁻²s⁻¹, 12時間日長)内で水耕により生育させた 3葉期キュウリ植物を用いた.根の呼吸の評価に あたり、前述(第2章)のように、気密水耕装置 においてポーラログラフ方式 02センサおよびポテ ンショメトリCO2センサを用いて, 根乾物 1 gあた りのO2吸収速度およびCO2放出速度を同時に計測 した. 根温を 8, 12, 16, 20, 24, 28および 32℃ に制御し、地上部環境については気温25℃、相対 湿度 40% RH, 連続照明(白色蛍光灯, PPFD 200 µmol m⁻²s⁻¹) とした. このような環境条件に18 時間馴化させた植物を用いて4日間連続して計測 をおこなった. Fig.20に, 根温 8, 12, 16, 20, 24, 28および32℃における根部環境の溶存02濃度 の経時的変化を示す. 溶存 0₂濃度は, 根温 16℃以 上では1日以内に0.02 mMまで減少したが, 12℃ 以下における溶存02濃度の減少は著しく抑制され た. 溶存 02濃度の変化における立上がり時間(初 期値から最終値までの10~90%の濃度変化に要する

-47-



Figure 20. Time course patterns of dissolved O_2 concentration in airtight hydroponics at respective root temperatures of 8, 12, 16, 20, 24, 28 and 32°C, where the plant was lighted with a *PPFD* of 200 µmol m⁻² s⁻¹ at an air temperature of 25°C and a relative humidity of 40%RH. The means of measured values in 4 plants are plotted.

時間)は16℃以上では15時間以下であったが、8 ℃および12℃ではそれぞれ30時間および75時間で あった. Fig.21に、各根温における根の02吸収速 度を示す. 根の02吸収速度は根温16~32℃におい て0.05~0.09 μ mol g⁻¹s⁻¹であったのに対し、12 ℃以下では0.01~0.02 μ mol g⁻¹s⁻¹と著しく小と なり、12℃と16℃との差は5%レベルで有意であっ た. このように、根の呼吸による02吸収に明瞭な 温度依存性が認められた.

Fig.22に,根温8,12,16,20,24,28および 32℃における根部環境の溶存CO₂濃度の経時的変 化を示す.溶存CO₂濃度は4日間増加し続け,根 温 32℃においては4.1 mMに達したが,低い根温で は溶存CO₂濃度の増加は著しく抑制された.Fig. 23に,各根温における根のCO₂放出速度の4日間 の平均値を示す.根のCO₂放出速度は根温20~32℃ において0.09~0.12 μ molg⁻¹s⁻¹であったのに対 し,16℃では約1/2となり,16℃と20℃との間の 差は5%レベルで有意であった.さらに,12℃以下 では0.01~0.02 μ molg⁻¹s⁻¹と著しく小となり,







Figure 22. Time course patterns of dissolved CO_2 concentration in airtight hydroponics at respective root temperatures of 8, 12, 16, 20, 24, 28 and 32°C, where the plant was lighted with a *PPFD* of 200 µmol m⁻² s⁻¹ at an air temperature of 25°C and a relative humidity of 40%RH. The means of measured values in 4 plants are plotted.





12℃と16℃との間の差は5%レベルで有意であった. このように,根の呼吸によるCO2放出にも明瞭な 温度依存性が認められ,CO2放出速度は12℃以下 の根温において著しく抑制されることが明らかと なった.

以上のように、キュウリ植物における根の02吸 収速度およびCO2放出速度のオンライン、非破壊 計測により、根の呼吸が根温12℃以下では著しく 抑制されることを明らかにした.

4-2 根の吸水の温度依存性

ここでは、植物個体における根の吸水速度を異 なる根温条件下で計測した. 植物材料には、前述 (第4章, 1節)の呼吸の温度依存性の解析と同 様に、気温23℃および相対湿度70%RHの人工照明 グロースキャビネット(メタルハライドランプ、 PPFD 250 µmol m⁻²s⁻¹, 12時間日長)内で水耕に より生育させた3葉期キュウリ植物(品種長日落 合2号)を用いた. この植物を前述(第2章)の 気 密水耕装置に移植し,根温を 8,12,16,20, 24,28および32℃に制御した.地上部環境は,葉 の蒸散を促進させるために気温25℃,相対湿度40 %RH(飽差 13.8 g m⁻³),連続照明(白色蛍光灯, *PPFD* 200 µmol m⁻² s⁻¹)とした.これらの環境条 件に植物を18時間馴化させた後,電気水位計-ポ トメータを用いて個体あたりの吸水速度を4日間 連続して計測した.計測終了後,根の乾物重を測 定して根乾物1g あたりの吸水速度を求めた.

Fig.24に,根温 8,12,16,20,24,28および 32℃における根の吸水速度の4日間の平均値を示 す.根温16~32℃における根の吸水速度は4.0~5.5 mg g⁻¹s⁻¹であったのに対し,12℃以下では約1/2 と著しく小となった.12℃以下と16℃との差は1% レベルで有意であった. Eguchi and Koutaki (1986)は、キュウリ植物の葉の蒸散速度は根温 10℃以下で著しく低下することを明らかにしてお り、このことは根の受動的吸水の制限によるもの と考えられる.このように、本実験における根の 吸水速度のオンライン、非破壊計測により、根温

-54-





12℃以下では根の呼吸と同様に根の吸水も著しく 抑制されることが明らかとなった.すなわち,根 の呼吸および吸水には平行的な温度依存性が認め られた.

4-3 根の通水抵抗に対する根温の作用

植物個体における根の吸水に対する根温の作用 には根の通水抵抗が密接に関与しているものと考 えられる.そこで,根の通水抵抗に対する根温の 作用を解析した.植物材料としては、キュウリ品 種長日落合2号とともに、接木キュウリの台木と して用いられるクロダネカボチャ(Cucurbita ficifolia B.)を気温23℃および相対湿度70%RH のファイトトロンガラス室内で水耕により生育さ せ、3葉期植物を用いた.

全根系の通水抵抗(R) は根系の表面と基部との 間に一定の水ポテンシャル差を与え, 植物個体の 根系における吸水速度(F)の定常値を用いて次式 で評価される (Parsons and Kramer, 1974; 長 野 · 石田, 1984; Koide, 1985).

$$R = \frac{\Psi_1 - \Psi_2}{F} \tag{9}$$

ここで、 Ψ1は根系の表面における水ポテンシャル、 Ψ2は根系基部における水ポテンシャルを示す.こ の式(9)に基づいてRを求める方法としては、地上 部を切除した根系(単離根系)を用いて、圧チャ ンバ内で根系の表面に200~500 kPaの静水圧を与 えて根系をとおして水を押し上げる方法 (Fiscus, 1975, 1977; Markhart and Smit, 1990) および 根系基部の切断面に50~80 kPaのサクションを与 えて根系をとおして水を吸引する方法(Andersen et al., 1984; Everard and Drew, 1987, 1989) がある.前者の方法では、根が高い圧力に暴露さ れることにより根の吸水特性が変化することが指 摘されている (Salim and Pitman, 1984ab; Nobel et al., 1990). したがって本実験では, 後者の 単離根系の基部にサクションを与える方法により

-57-

Rを求めた. Fig.25に, このときの水ポテンシャ ル場の模式図を示す. Ψ1は根系表面における圧ポ テンシャル (Ψp1) および培養液の浸透ポテンシ ャル (Ψπ1) で構成されており, また, Ψ2は根系 基部における圧ポテンシャル (Ψp2) および木部 溢泌液の浸透ポテンシャル (Ψπ2) から構成され ている. したがって, Rは次式で求められる.

$$R = \frac{(\Psi_{P1} + \Psi_{\pi1}) - (\Psi_{P2} + \Psi_{\pi2})}{F} = \frac{\Delta \Psi_{P} + \Delta \Psi_{\pi}}{F}$$
(10)

ここで、 $\Delta \Psi_{p}$ は根系の表面と基部との間の圧ポテ ンシャル差、 $\Delta \Psi_{m}$ は浸透ポテンシャル差である. Ψ_{m1} および Ψ_{m2} については、培養液および木部溢泌 液を採取し、サイクロメータ(HR-33T、Wescor Inc.)を用いて実測した(Campbell *et al.*、 1973). キュウリ根系およびクロダネカボチャ根 系とも、 Ψ_{m1} および Ψ_{m2} はそれぞれ-80 kPaおよび -100 kPaであり、 $\Delta \Psi_{m}$ は20 kPaであった.

Fig.26に、単離根系に一定のサクション($\Delta \Psi_{\mu}$)

-58-



Figure 25. Schematic diagram of water potential field in a detached root system. Ψ_{P_1} , pressure potential at root surface; Ψ_{P_2} , pressure potential at root proximal end; Ψ_{π_1} , osmotic potential of nutrient solution; Ψ_{π_2} , osmotic potential of xylem sap.



Figure 26. Schematic diagram of system for measurements of root hydraulic resistance, water uptake rate in a detached root system, hydrostatic pressure at the proximal end of the root system, dissolved O_2 concentration and dissolved CO_2 concentration in nutrient solution at controlled root temperatures in airtight hydroponics.

を与え、このときの根系の吸水速度(F)を実測す るためのシステムの模式図を示す.気密水耕装置 において、単離根系の基部をガラス管に接続して 水耕ポットに固定し、根温を8、12、16、20、24、 28および32℃に制御した.このガラス管を水トラ ップおよび緩衝用容器をとおして圧力制御器(VC -20S、岡野製作所)および真空ポンプに連結し、 減圧することにより根系基部にΔΨ_P=80 kPaを与え た.この方法により、単離根系の表面と基部との 間の水ポテンシャル差 (ΔΨ_P+ΔΨ_π)を100 kPaとし て、根系の吸水速度を電気水位計-ポトメータに より計測した.

Fig.27に, キュウリ植物の単離根系を用いて根 温を24℃とした場合の溶存02濃度,溶存CO2濃度 (a),根系の吸水速度および根系基部に与えた気 圧(b)の経時的変化(120分間)の計測の一例を 示す.溶存02濃度の減少および溶存CO2濃度の増 加がみられ(Fig.27a),単離根系においても呼吸 活性が維持されることが認められた.根系基部を 減圧してサクションを与えることにより吸水速度

-61-



Figure 27. Environmental conditions and physiological aspect during the time of measurement of root hydraulic resistance in a detached root system. a, dissolved O_2 and CO_2 concentrations; b, water uptake rate per root system and hydrostatic pressure at the proximal end of the detached root system at a root temperature of 24°C. がただちに増加して15分以内に一定値に達し、その後はほぼ定常状態を維持した(Fig.27b).そこで、減圧開始後30分から90分までの1時間における吸水速度の平均値を式(10)におけるFとしてRを求めた.

Fig. 28に,根温8,12,16,20,24,28および 32℃におけるキュウリおよびクロダネカボチャの 全根系の通水抵抗(R)を示す.キュウリ根系お よびクロダネカボチャ根系における全根系の通水 抵抗はそれぞれ0.1~0.9 MPa s m⁻³および0.2~0.6 MPa s m⁻³の範囲であり,根温の低下にともなっ て全根系の通水抵抗が大となった.Boyer (1971) は、ダイズ (Glycine max L.)およびヒマワリ (Helianthus annuus L.)において植物個体全体 の通水抵抗の 50%以上を全根系の通水抵抗が占め ることを明らかにしている.したがって、キュウ リ植物個体における根の吸水速度の温度依存性 (Fig.24)は、根温が全根系の通水抵抗に作用す ることに起因すると考えられる.

根の通水抵抗は根表面から中心柱の導管までの

-63-





経路における吸収抵抗および導管内における通導 抵抗から構成される (Landsberg and Fowkes, 1978). 長野・石田 (1984) および長野ら (1993) は、全根系の通水抵抗に占める吸収抵抗の割合は、 ダイズ (Glycine max L.) およびヒマワリ (Helianthus annuus L.)の根系において80~85%であり, トウモロコシ (Zea mays L.) の根系では99%に達 することを明らかにしている. また, 吸収抵抗は 根表面と導管との間のシンプラストおよびアポプ ラストをとおした水輸送に対する抵抗であり、と くにシンプラスト輸送には膜透過性をはじめとす る種々の生理的過程が直接的に関与する(Steudle and Jeschke, 1983; Hanson et al., 1985). L たがって、全根系の通水抵抗に対する根温の作用 は、根温が膜透過性に作用していることを示唆し ている.

また, 12℃以上の根温での全根系の通水抵抗に ついてキュウリとクロダネカボチャとの間に有意 な差異はみられなかったが, 根温 8℃では, キュ ウリの全根系の通水抵抗がクロダネカボチャ根系

-65-

に比して大となり、その差は5%レベルで有意であ った (Fig.28). このように、キュウリ根系とク ロダネカボチャ根系との間に種特異的な差異が認 められた. Tachibana (1982)は、キュウリ植物の 地上部の生育は14℃以下の根温において著しく抑 制されるが、クロダネカボチャに接木することに より低温耐性が高められることを明らかにしてい る. また, Eguchi and Koutaki (1986) は, 根温 10℃以下における蒸散速度が、キュウリ植物に比 ベてクロダネカボチャ植物およびクロダネカボチ ャを台木とした接木キュウリ植物で大となること を明らかにしている、したがって、キュウリに比 してクロダネカボチャにおける全根系の通水抵抗 が低い根温においても小さいことは、クロダネカ ボチャ植物の低温耐性に関連していると考えられ 3.