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：

根の呼吸および吸水に関する環境生理学的研究

吉　田　敬

1994

①

根の呼吸および吸水に関する環境生理学的研究

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　ポーラログラフ方式O_2センサによる根のO_2吸収の計測　10
２－３　ポテンショメトリCO_2センサによる根のCO_2放出の計測　14
２－４　電気水位計－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

３－１　植物材料および生育条件　28
３－２　根の形態の評価法　31
３－３　根の形態に対する溶存O_2濃度の作用　36

第４章　根の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　根の呼吸への基質の転流およびO_2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　O_2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　$^{18}O_2$トレーシングによる地上部O_2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　綜合考察　96

摘要　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;

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，CO_2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，ワールブ

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O_2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O_2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O_2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.

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

同位体（$^{13}CO_2$ および $^{18}O_2$）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 O_2 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（O_2吸収およびCO_2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O_2およびCO_2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，O_2吸収速度，CO_2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

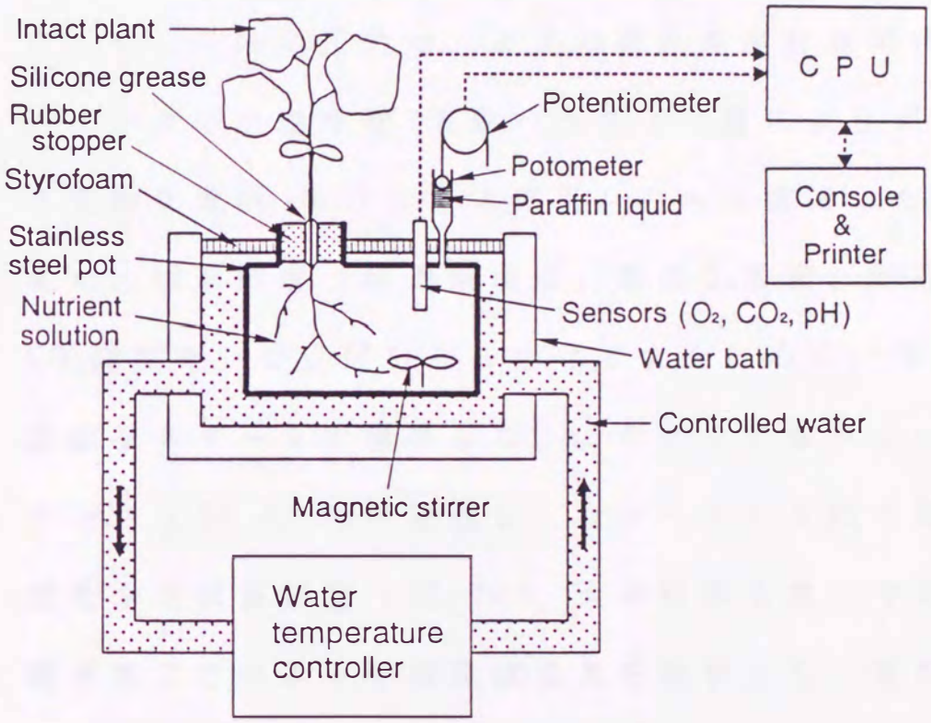


Figure 1. Schematic diagram of instrumentation and environment control system in airtight hydroponics for analyses of respiration and water uptake in the intact root of a plant.

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(1ℓ)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O_2濃度，溶存CO_2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 μmol $m^{-2}s^{-1}$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O_2センサによる根のO_2吸収の計測

根の呼吸に伴うO_2吸収速度を，気密にした培養液の溶存O_2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O_2センサ(UD-1，セントラル科学)を用い，溶存O_2濃度([O_2])をオンラインで計測した．Fig.3に，センサの写真(a)および

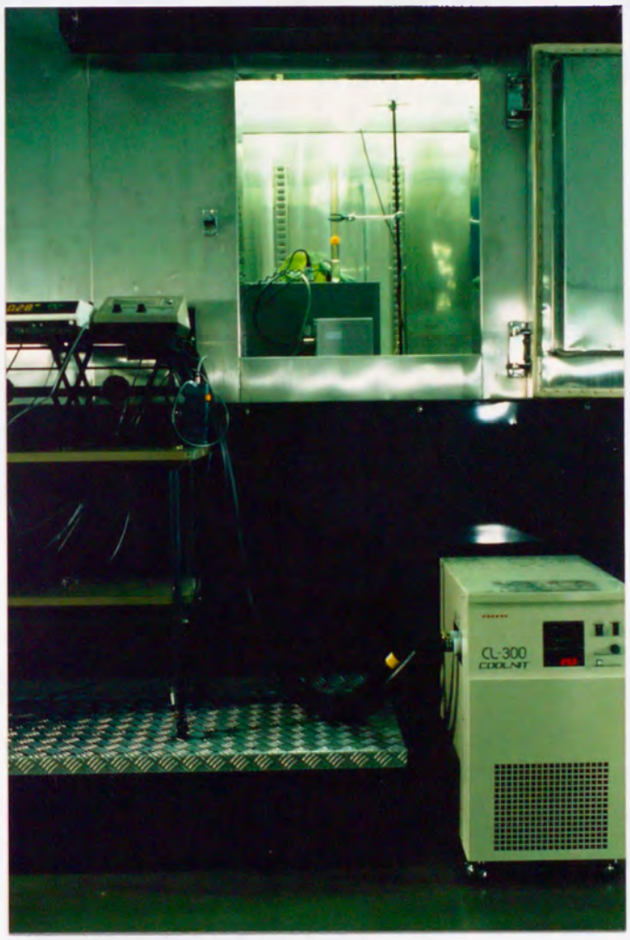


Figure 2. Photograph of the airtight hydroponics installed in a growth cabinet.

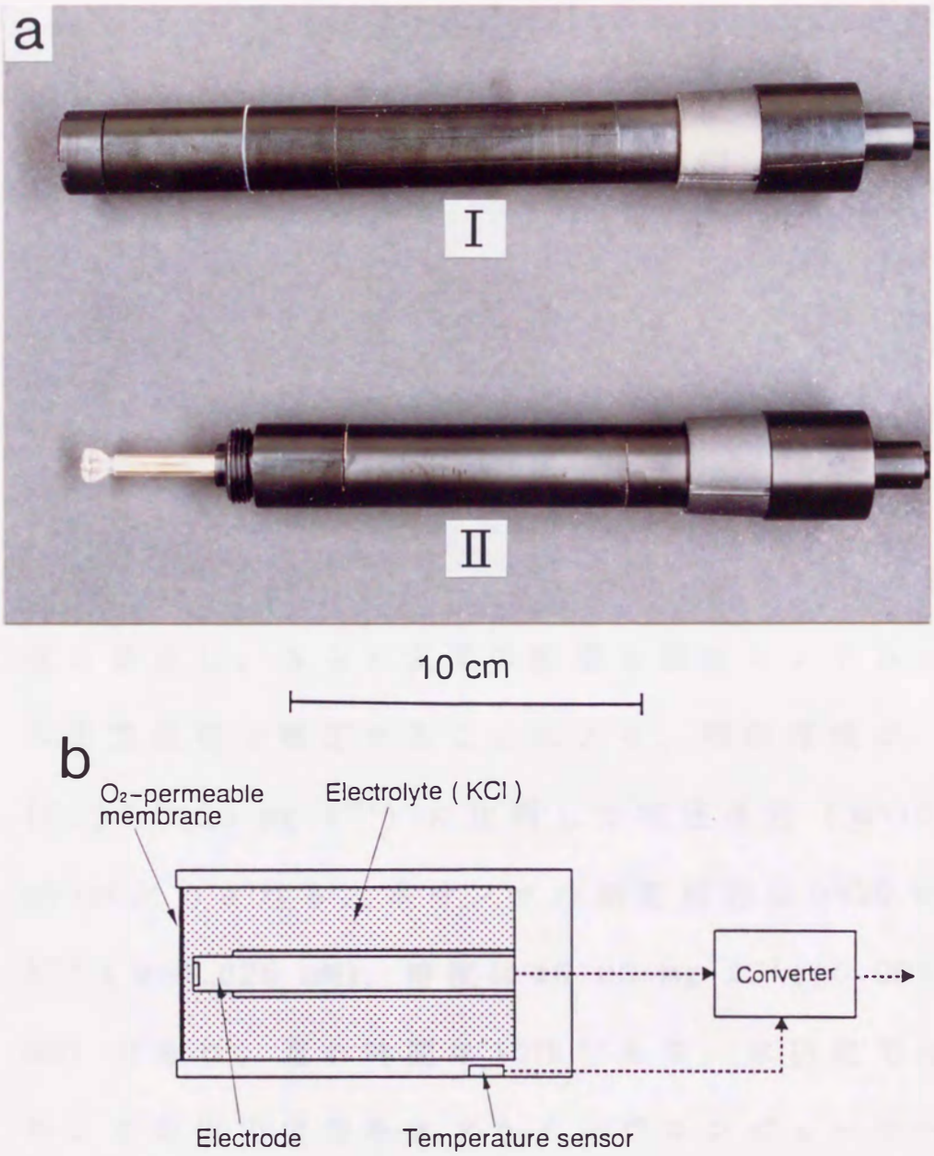


Figure 3. Polarographic O_2 sensor. a, photograph of the probe equipped with the O_2-permeable membrane (Ⅰ) and the electrode in the probe (Ⅱ); b, schematic diagram of the polarographic O_2 sensor.

模式図(b)を示す．ポーラログラフ方式O_2センサは隔膜，電解液(KCl)，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O_2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O_2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$[O_2]$(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，$[O_2]$の経時的な変化量を基に，根の単位乾物重あたりのO_2吸収速度(R_O)を次式で算出した．

$$R_O = \frac{[O_2]_t - [O_2]_{t+\Delta t}}{\Delta t} \cdot V \cdot \frac{1}{W} \qquad (1)$$

ここで，$[O_2]_t$および$[O_2]_{t+\Delta t}$は時間tおよび$t+\Delta t$（Δt=30 分）における溶存O_2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，$[O_2]$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 μmol $g^{-1}s^{-1}$)に達し，その後減少して18時間後にほぼ0 μmol $g^{-1}s^{-1}$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O_2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CO_2センサによる根のCO_2放出の計測

根の呼吸に伴うCO_2放出速度を，気密にした根部環境の溶存CO_2濃度の変化から求めた．根の呼

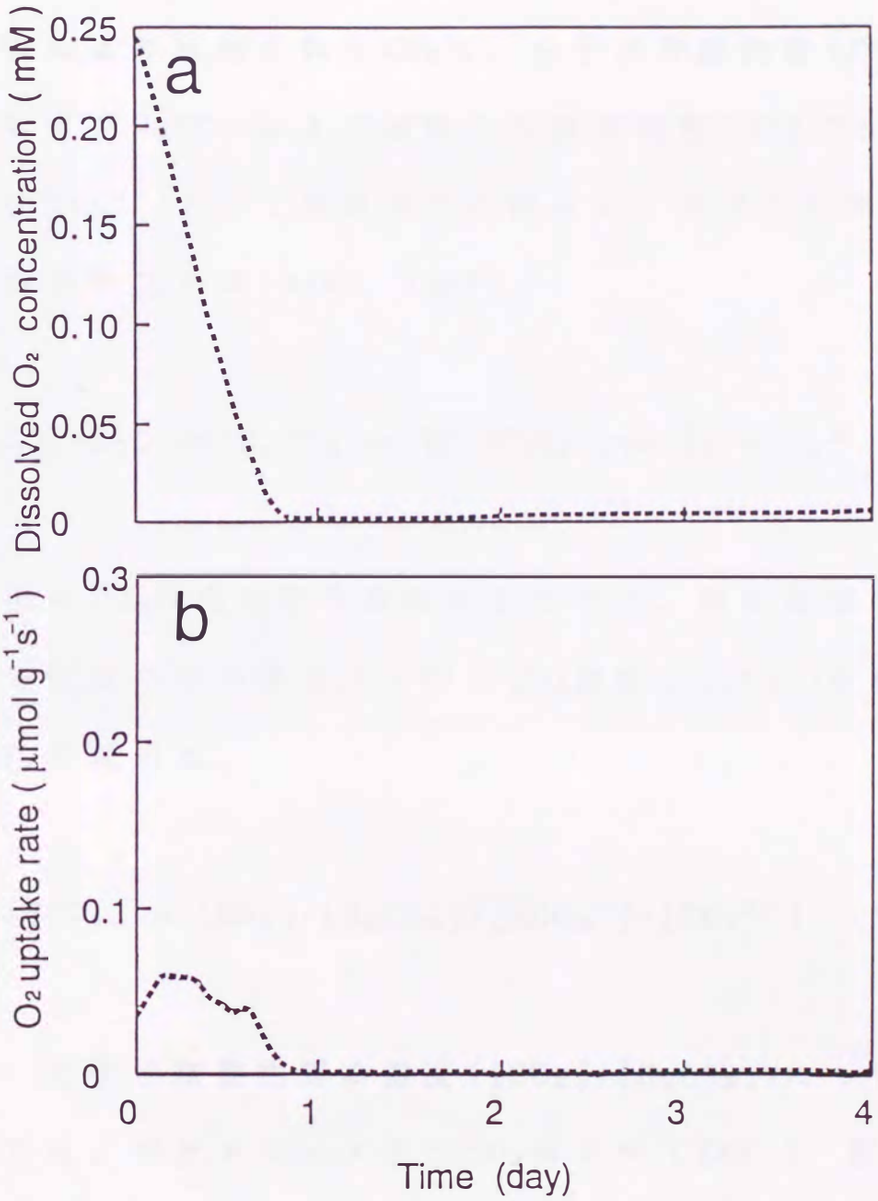


Figure 4. Time course patterns of dissolved O_2 concentration (a) in airtight hydroponics and O_2 uptake rate (b) per root dry weight in the intact root of a plant under the environmental condition of a *PPFD* of 200 μmol m^{-2} s^{-1}, an air temperature of 25℃, a relative humidity of 40%RH and a root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

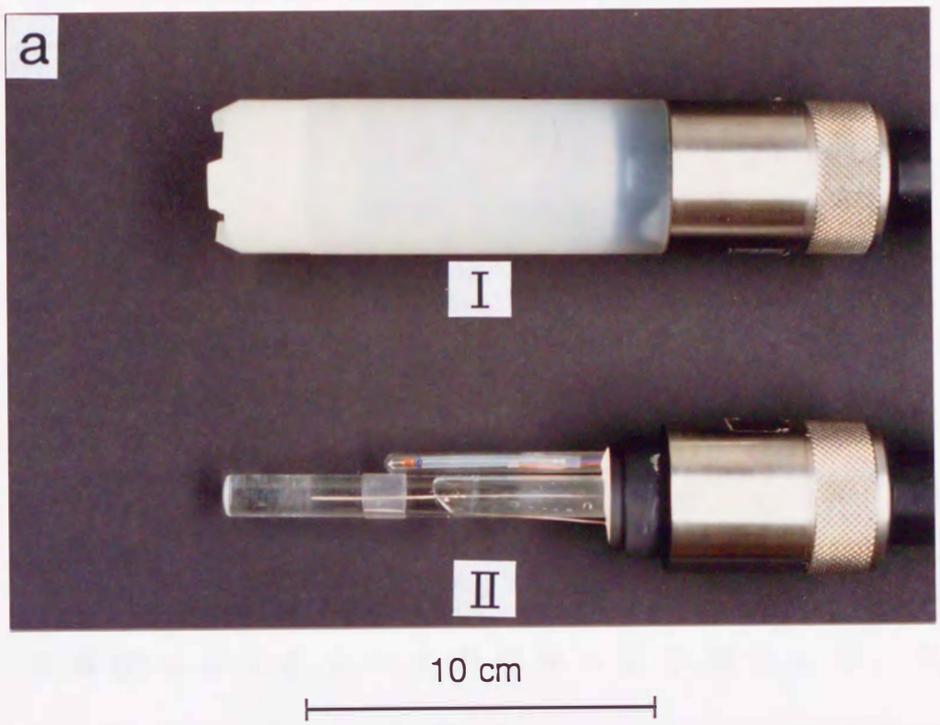
吸により放出されたCO_2は，分子状炭酸物質(CO_2およびH_2CO_3)および解離した炭酸物質(HCO_3^-およびCO_3^{2-})として培養液中に存在し，次式の化学平衡が成立する(Bown, 1985).

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

根のCO_2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CO_2濃度([ΣCO_2])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([CO_2]+[H_2CO_3])については，ポテンショメトリCO_2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CO_2センサは隔膜，内部液($NaHCO_3$), 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O_2センサの場合と同様の撥



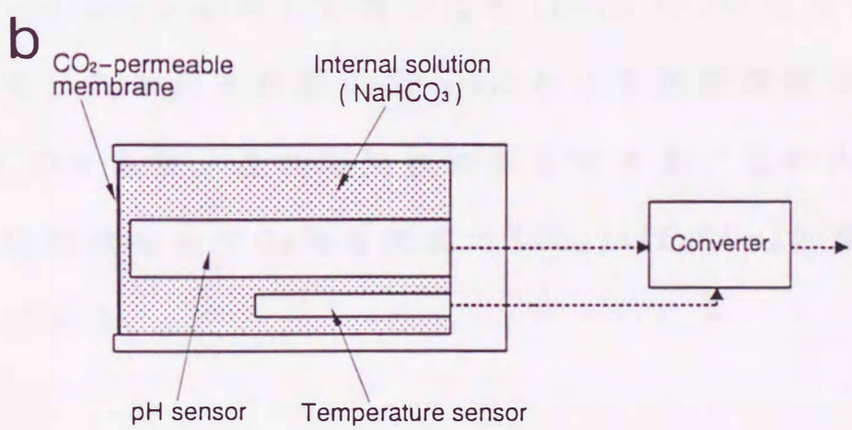


Figure 5. Potentiometric CO_2 sensor. a, photograph of the probe equipped with the CO_2-permeable membrane (I), and the pH sensor and the temperature sensor in the probe (II); b, schematic diagram of the potentiometric CO_2 sensor.

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CO_2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(CO_2およびH_2CO_3)はガス化して(CO_2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(C_s; mM)に対する百分率(P_c; %)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，P_c(0~20.0%)に比例した電圧信号(0~20 mV)が出力される．P_c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P_cの測定値およびC_sから次式で$[CO_2]+[H_2CO_3]$が算出できる．

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

一方，解離した炭酸物質のモル濃度 ($[HCO_3^-]$

+[CO_3^{2-}])については根部環境の[CO_2]+[H_2CO_3]およびpHを用いて次のHenderson-Hasselbach式により算出される(Bown, 1985).

$$\log[HCO_3^-] = \log([CO_2]+[H_2CO_3])+pH+\log K_1 \quad (5)$$

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

ここで, pHは根部環境のpH, K_1およびK_2はそれぞれHCO_3^-およびCO_3^{2-}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CO_2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[ΣCO_2]を求めた. 根部環境温度25℃, pH 6.0の場合, 9.7 mMまでの[ΣCO_2]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CO_2放出速度(R_C)を次式で算出した.

$$R_C = \frac{[\Sigma CO_2]_{t+\Delta t} - [\Sigma CO_2]_t}{\Delta t} \cdot V \cdot \frac{1}{W} \qquad (7)$$

ここで，$[\Sigma CO_2]_t$および$[\Sigma CO_2]_{t+\Delta t}$は時間$t$および$t+\Delta t$（$\Delta t$=30分）における溶存$CO_2$濃度，$V$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.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，$[\Sigma CO_2]$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 μmol $g^{-1}s^{-1}$）に維持され，その後0.25 μmol $g^{-1}s^{-1}$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CO_2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-

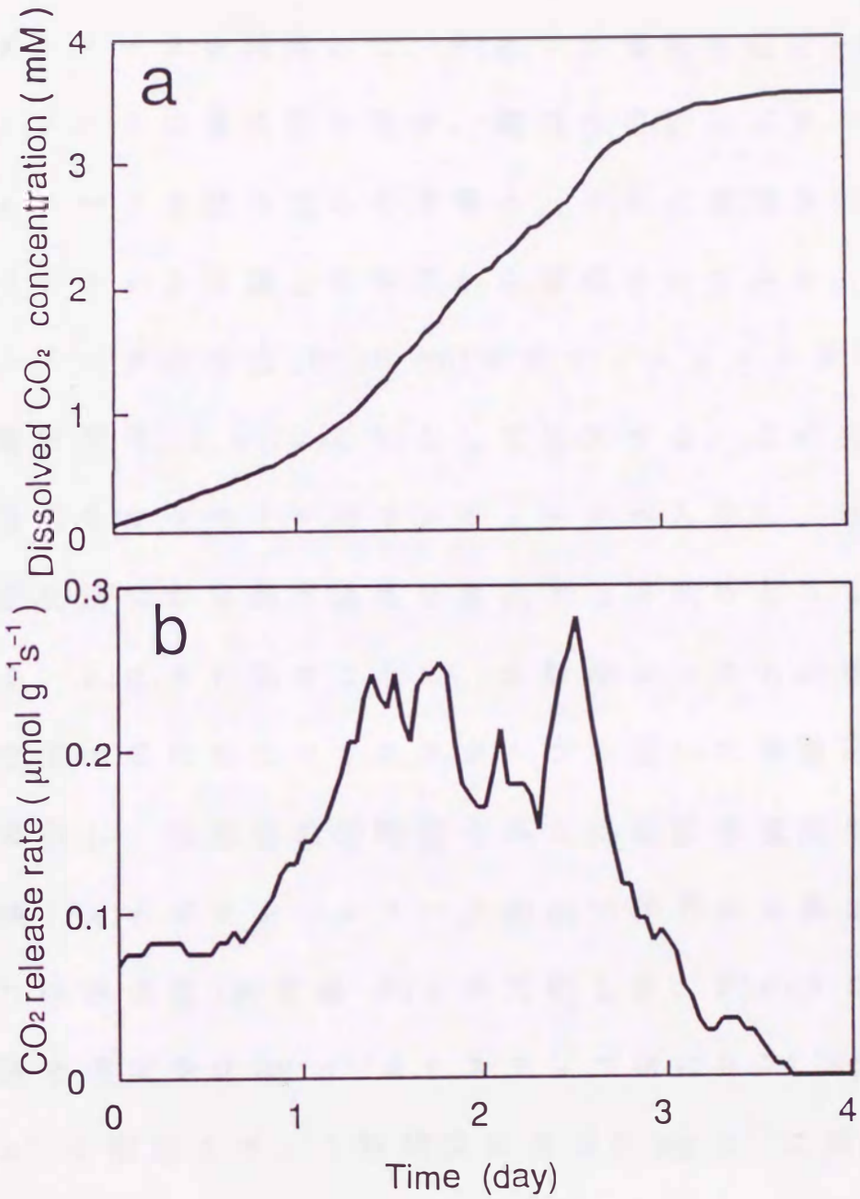


Figure 6. Time course patterns of dissolved CO_2 concentration (a) in airtight hydroponics and CO_2 release rate (b) per root dry weight in the intact root of a plant under the environmental condition of a *PPFD* of 200 μmol m^{-2} s^{-1}, an air temperature of 25℃, a relative humidity of 40%RH and a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

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(F_A)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，F_A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，F_AとF（整定後1時間の平均値）とを

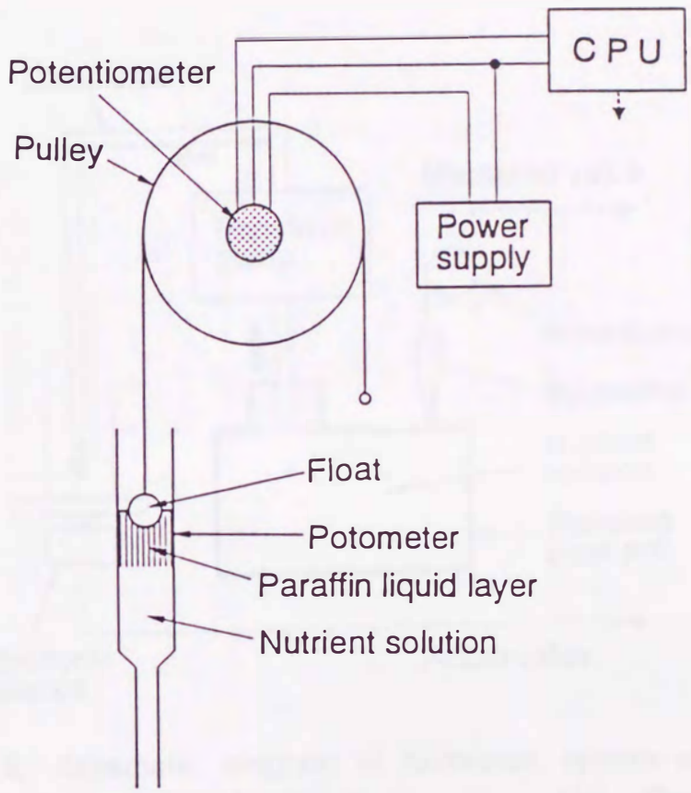


Figure 7. Schematic diagram of a potometer for on-line measurement of water uptake rate.

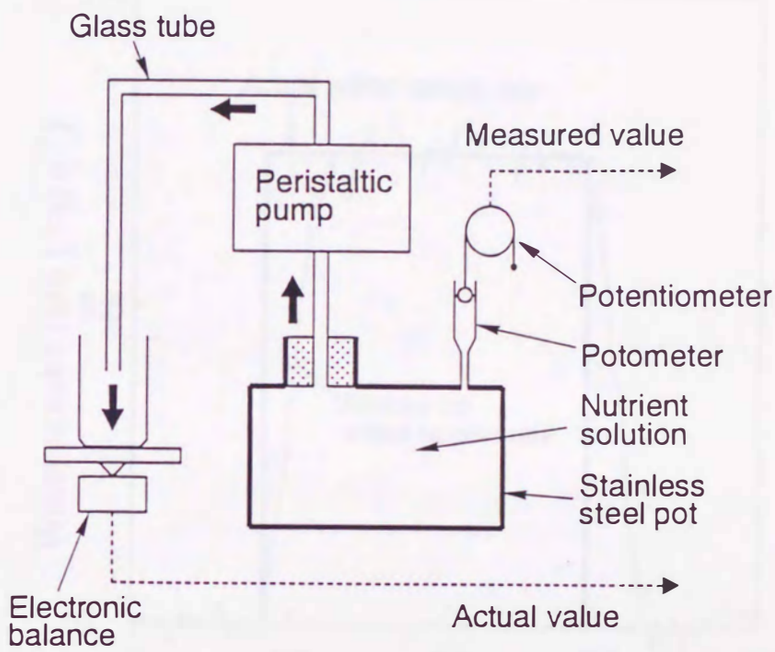


Figure 8. Schematic diagram of calibration system of water uptake rate measured by the on-line potometer. The actual water uptake rate was controlled by a peristaltic pump and monitored by a weighing method.

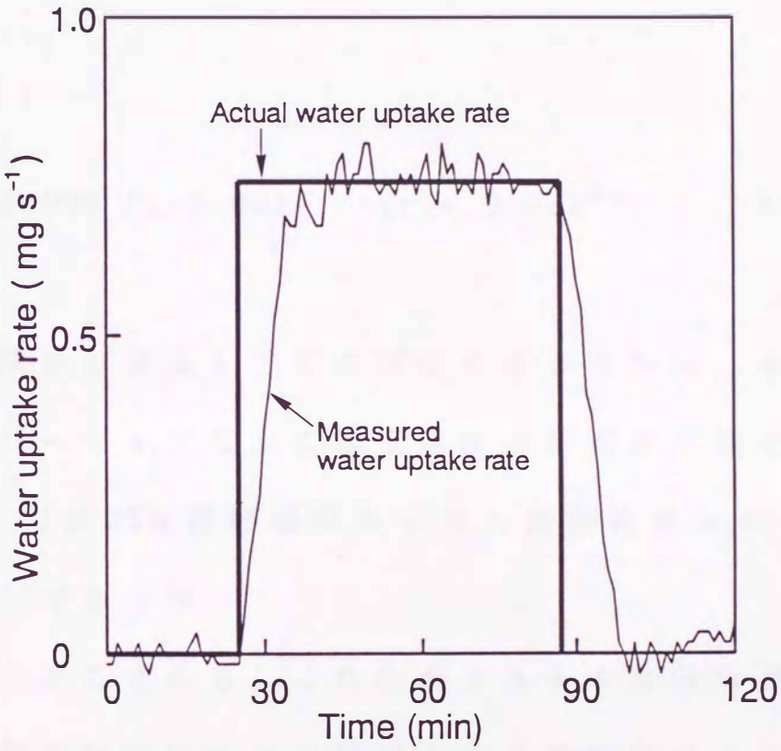


Figure 9. Step response of measured water uptake rate to actual water uptake rate.

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}).

$$F = 1.000\ F_A - 0.001 \qquad (r = 0.999^{**}) \qquad (8)$$

この関係はほぼ1：1に対応することから，キャリブ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．

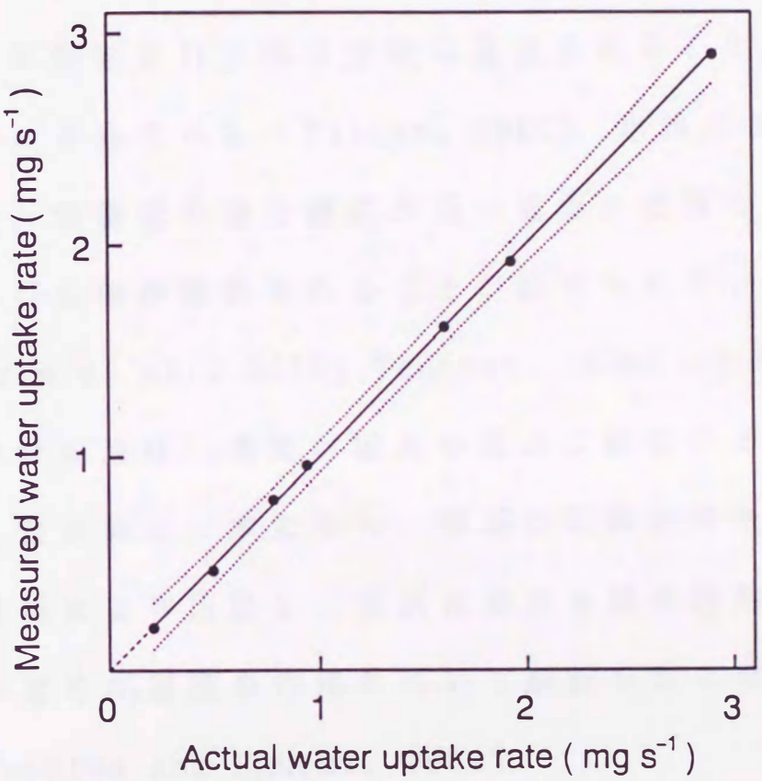


Figure 10. Relationship between actual water uptake rate and measured water uptake rate. The regression line (——) is shown with 95% confidence limits (·····).

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O_2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O_2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℃，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 μmol $m^{-2}s^{-1}$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 ℓ）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℃であった．培養液の組成は Mg^{2+} 0.9 mM，Ca^{2+} 2.1 mM，K^{+} 3.8 mM，$H_2PO_4^{-}$ 0.8 mM，NO_3^{-} 8.2 mMおよびNH_4^{+} 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O_2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 mℓ s^{-1}）．一方，低溶存O_2濃度に設定するためには，N_2ガスでバブリングして溶存O_2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O_2の拡散を抑制した．Fig.11に，生育中の溶存O_2濃度の変化を示す．高溶存O_2

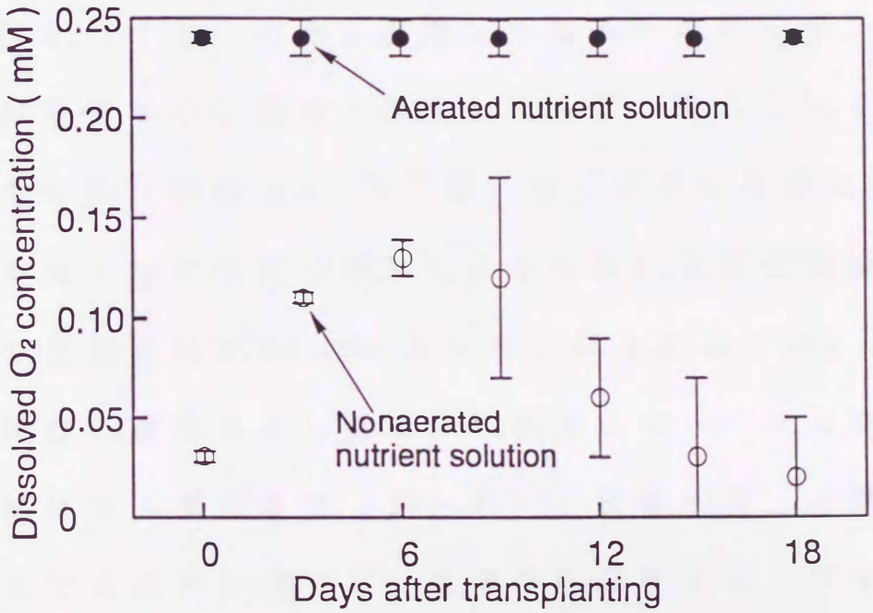


Figure 11. Dissolved O_2 concentrations in aerated and non-aerated nutrient solutions at an air temperature of 23℃ and a relative humidity of 70%RH. The means of measured values in 3 plants are plotted with 95% confidence limits.

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O_2濃度（0.24 mM）が維持された．低溶存O_2濃度の場合には，溶存O_2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，O_2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O_2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O_2濃度および低溶存O_2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O_2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O_2濃度(a)および低溶存O_2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

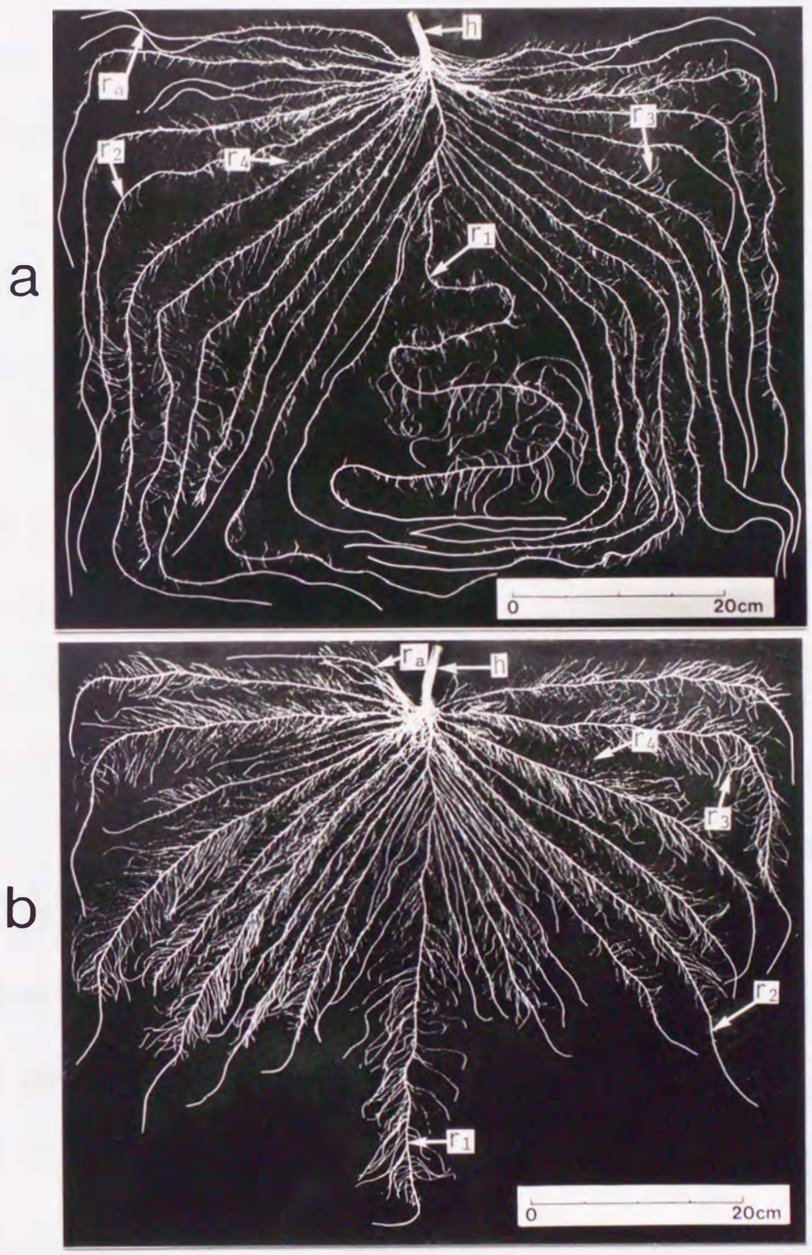


Figure 12. Photographs of root systems grown in higher (a) and lower (b) dissolved O_2 concentrations. r_1, the 1st order root; r_2, the 2nd order root; r_3, the 3rd order root; r_4, the 4th order root; r_a, adventitious root; h, hypocotyl.

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O_2濃度および低溶存O_2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O_2濃度と比較すると，低溶存O_2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，XY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

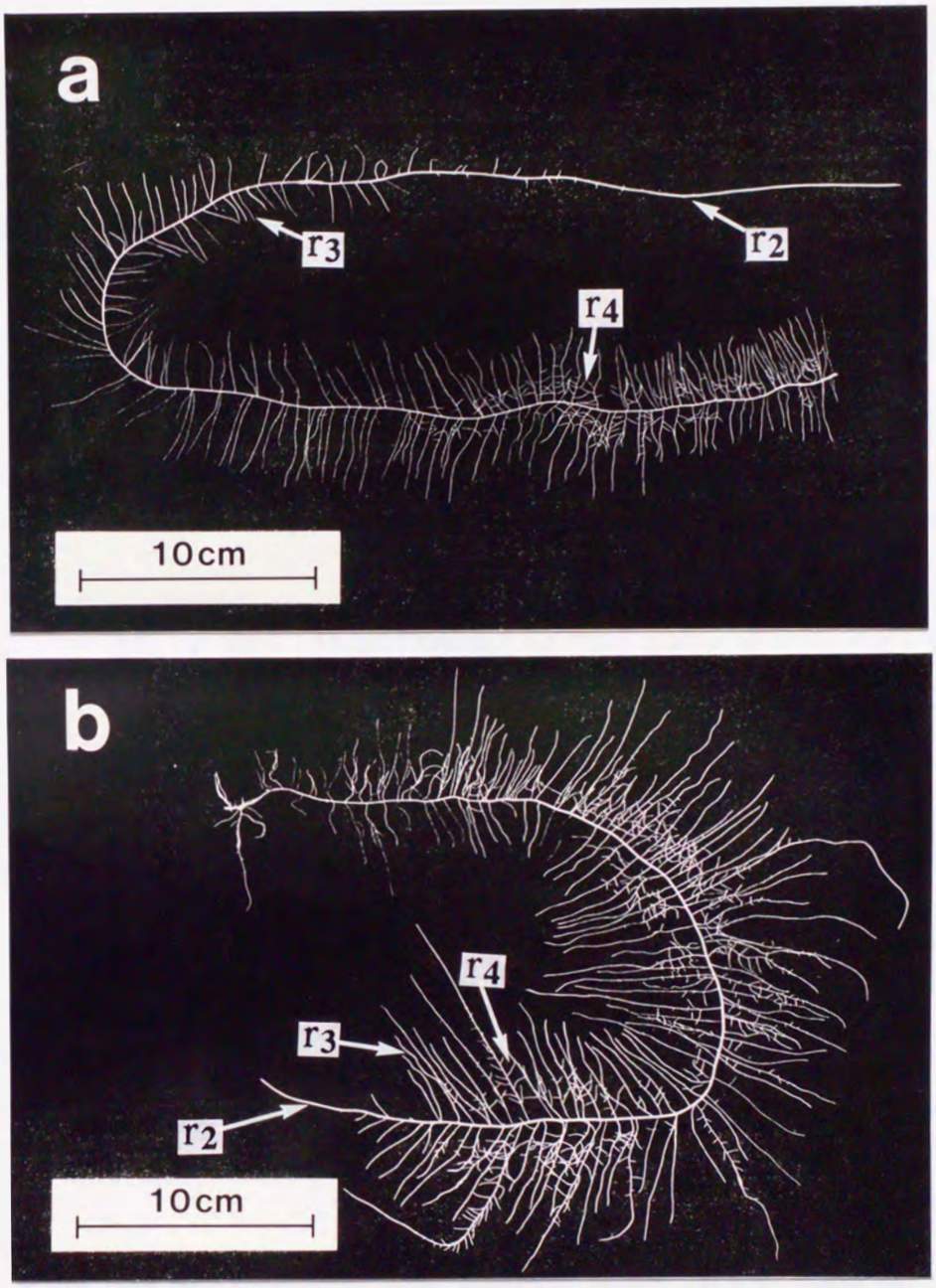


Figure 13. Photographs of the longest 2nd order root (r_2) with branching roots (r_3 and r_4) grown at higher (a) and lower (b) dissolved O_2 concentrations.

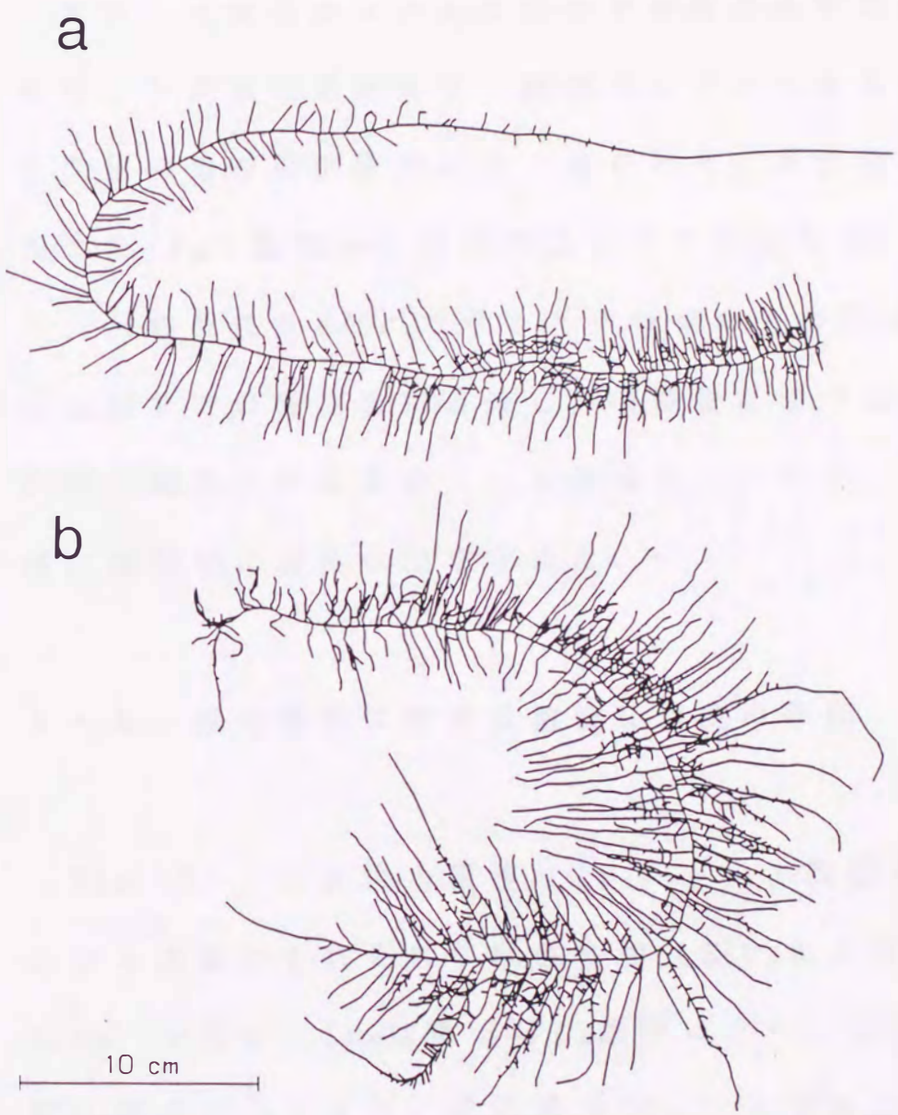


Figure 14. Displays of computed images of the longest 2nd order root with branching roots grown at higher (a) and lower (b) dissolved O_2 concentrations.

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O_2濃度の作用

Fig.15に，2次根の根長（Lr_2）と，3次根および4次根のそれぞれの根長の和（ΣLr_3およびΣLr_4）を示す．Lr_2は高溶存O_2濃度に比べ，低溶存O_2濃度で小となり，その差は5%レベルで有意であった．一方，ΣLr_3については，高溶存O_2濃度と低溶存O_2濃度との間に有意差（5%レベル）は認められなかったが，ΣLr_4は高溶存O_2濃度に比べ，低溶存O_2濃度において著しく大となり，その差は1%

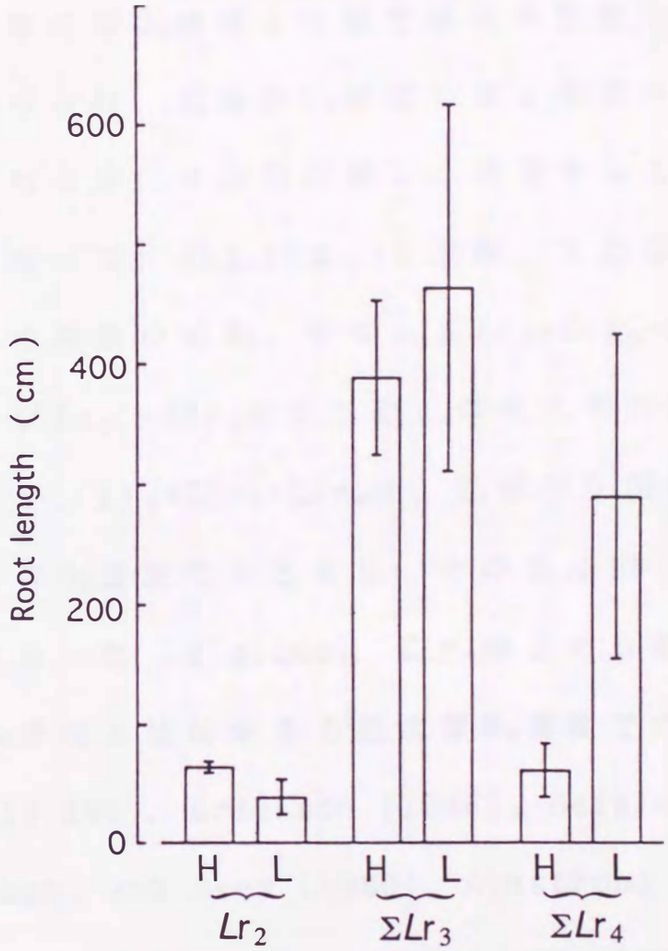


Figure 15. Length of the longest 2nd order root (r_2), total length of the 3rd order roots (r_3) and total length of the 4th order roots (r_4) grown at higher (H) and lower (L) dissolved O_2 concentrations. Lr_2, length of r_2; ΣLr_3, total length of r_3; ΣLr_4, total length of r_4. The means of measured 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O_2濃度と低溶存O_2濃度との間で根系の形態に顕著な差異がみられ，低溶存O_2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$Lr_2+\Sigma Lr_3+\Sigma Lr_4$ (a)およびLr_2，ΣLr_3およびΣLr_4のそれぞれの割合(b)を示す．$Lr_2+\Sigma Lr_3+\Sigma Lr_4$は，高溶存$O_2$濃度に比べ，低溶存$O_2$濃度で大となり，その差は1%レベルで有意であった（Fig.16a)．ΣLr_4の占める割合は高溶存O_2濃度と比較すると低溶存O_2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O_2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O_2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

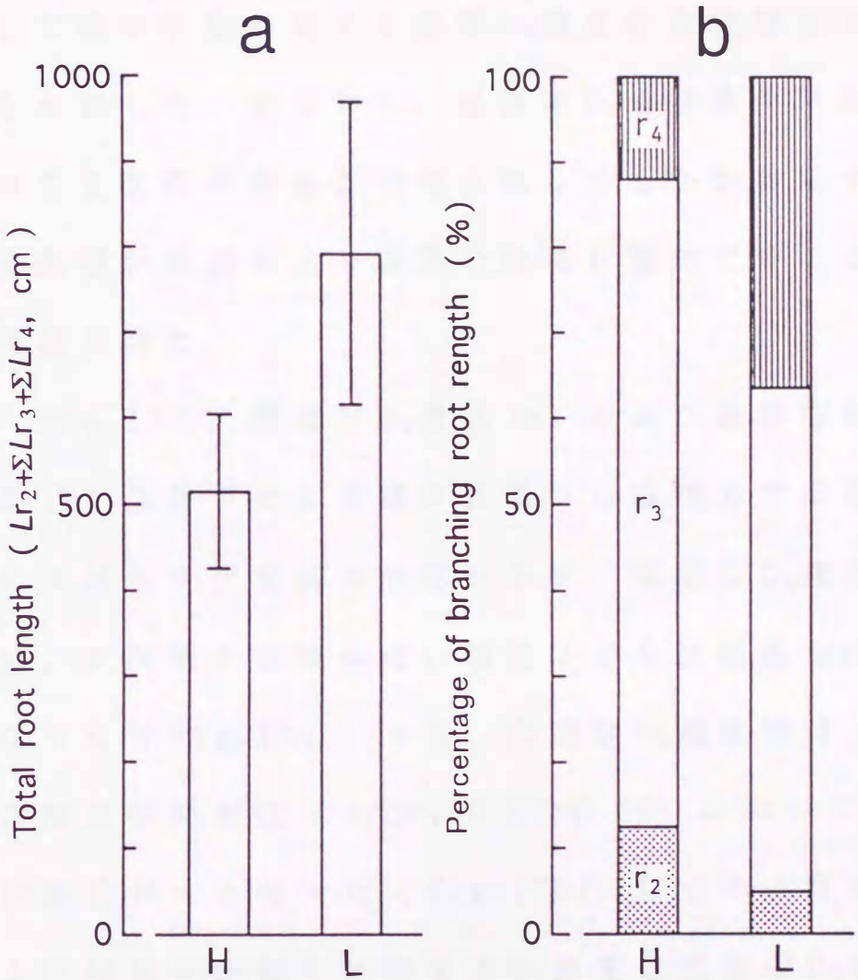


Figure 16. Total root length (a) and percentage (b) of the respective lengths of the longest 2nd order root (r_2), the 3rd order root (r_3) and the 4th order root (r_4) grown at higher (H) and lower (L) dissolved O_2 concentrations. $Lr_2+\Sigma Lr_3+\Sigma Lr_4$, total root length of r_2, r_3 and r_4. 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O_2濃度の作用特性を明らかにした．すなわち，低溶存O_2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O_2濃度(a)および低溶存O_2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O_2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O_2濃度では，2次根の中間部位（d/Lr_2=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O_2濃度と低溶存O_2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O_2濃度(a)および低溶存O_2濃度(b)における4次根長の分布を示す．高溶存O_2濃度では，2次根の基部付近，すなわち d/Lr_2=0~0.4の部位にのみ4次根が分岐した（Fig.18a）．

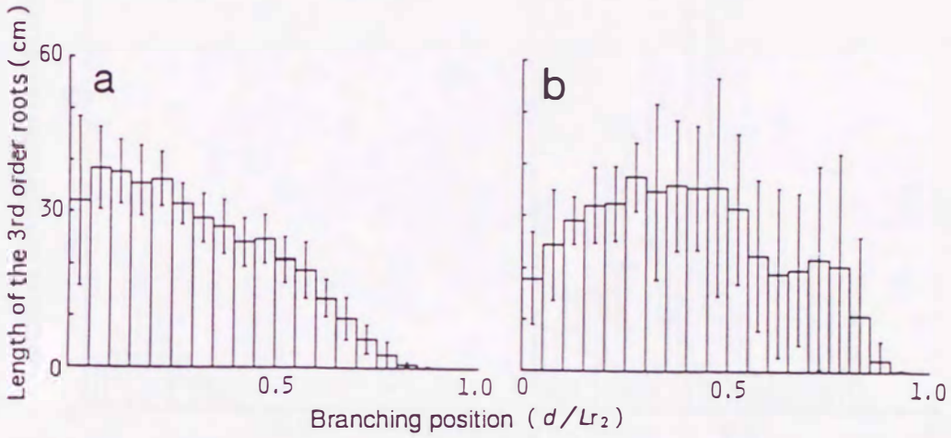


Figure 17. Distributions of lengths of the 3rd order roots (r_3) on the longest 2nd order root (r_2) grown at higher (a) and lower (b) dissolved O_2 concentrations. The means of total length of r_3 measured in 7 plants on respective 20 division of r_2 are plotted with 95% confidence limits. d, distance from the base of r_2 to branching position of r_3; Lr_2, length of r_2.

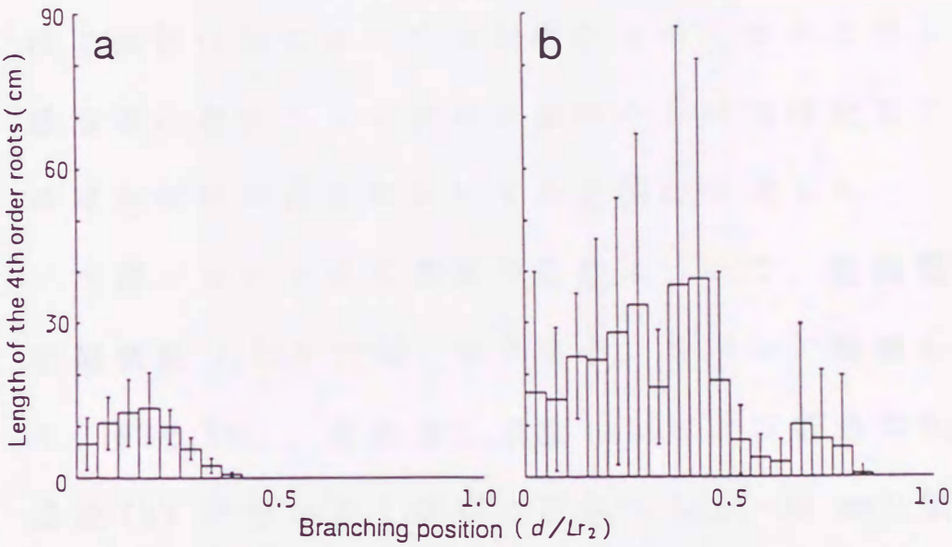


Figure 18. Distributions of lengths of the 4th order roots (r_4) on the longest 2nd order root (r_2) grown at higher (a) and lower (b) dissolved O_2 concentrations. The means of total length of r_4 measured in 7 plants on respective 20 division of r_2 are plotted with 95% confidence limits. d, distance from the base of r_2 to branching position of r_4; Lr_2, length of r_2.

一方，低溶存O_2濃度では，基部から根端付近までの部位（d/Lr_2=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O_2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O_2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O_2濃度(a)および低溶存O_2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O_2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O_2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O_2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

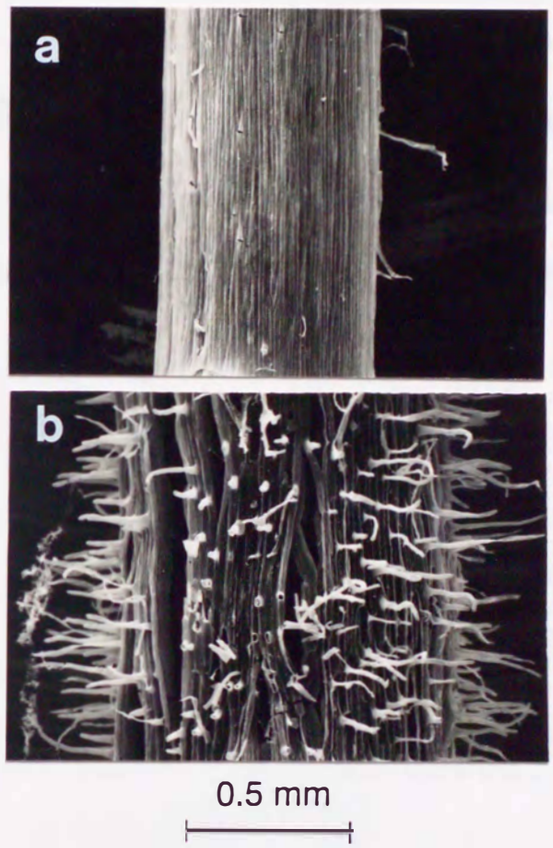


Figure 19. Scanning electron micrographs of epidermal structure of the roots grown at higher (a) and lower (b) dissolved O_2 concentrations, where the samples were prepared from the zone 15-30 cm from the root tip in the 2nd order root.

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O_2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，水ポテンシャルの低下，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 $m^{-2}s^{-1}$，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O_2センサおよびポテンショメトリCO_2センサを用いて，根乾物1gあたりのO_2吸収速度およびCO_2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 $m^{-2}s^{-1}$）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O_2濃度の経時的変化を示す．溶存O_2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O_2濃度の減少は著しく抑制された．溶存O_2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

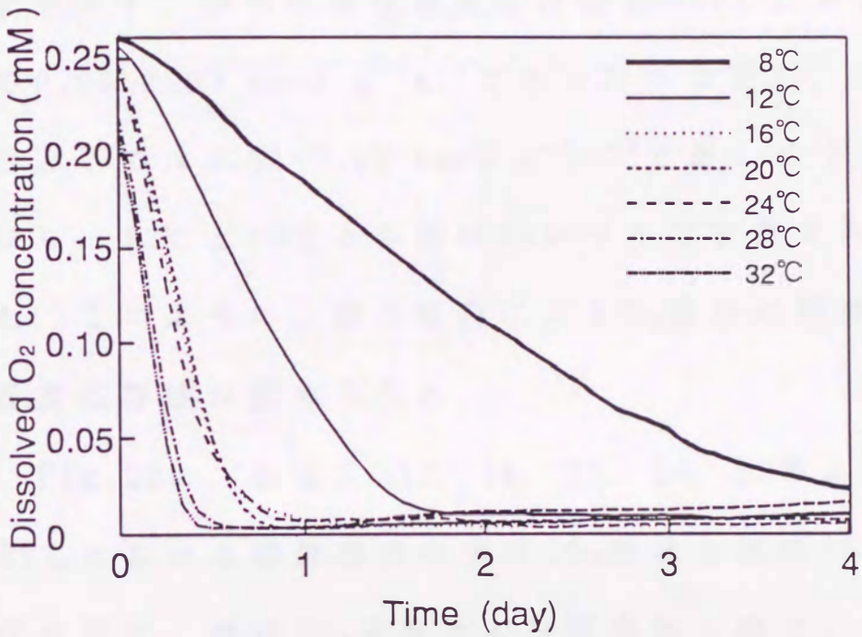


Figure 20. Time course patterns of dissolved O_2 concentration in airtight hydroponics at respective root temperatures of 8, 12, 16, 20, 24, 28 and 32℃, where the plant was lighted with a *PPFD* of 200 μmol m^{-2} s^{-1} at an air temperature of 25℃ and a relative humidity of 40%RH. The means of measured 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O_2吸収速度を示す．根のO_2吸収速度は根温16~32℃において0.05~0.09 μmol $g^{-1}s^{-1}$であったのに対し，12℃以下では0.01~0.02 μmol $g^{-1}s^{-1}$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O_2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CO_2濃度の経時的変化を示す．溶存CO_2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CO_2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CO_2放出速度の4日間の平均値を示す．根のCO_2放出速度は根温20~32℃において0.09~0.12 μmol $g^{-1}s^{-1}$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 μmol $g^{-1}s^{-1}$と著しく小となり，

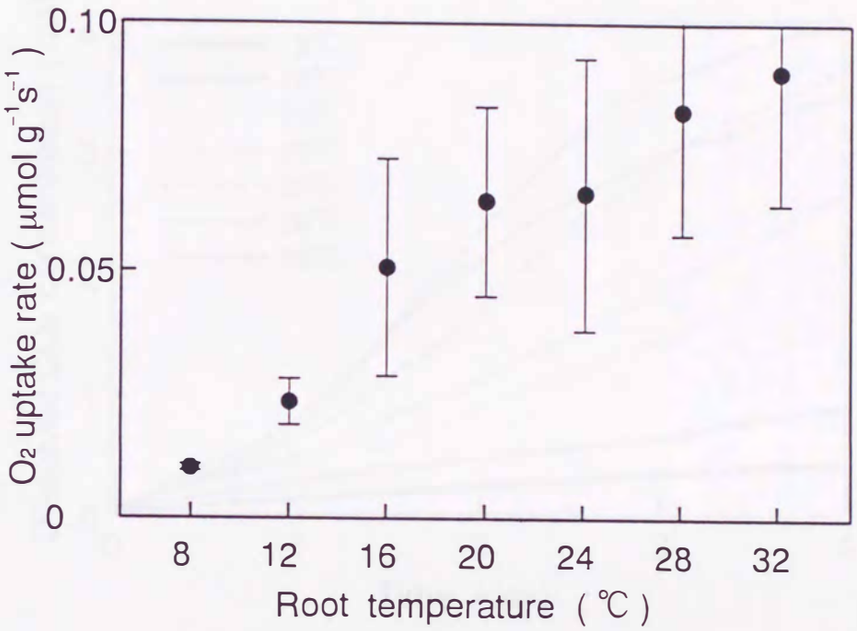


Figure 21. Distribution of O_2 uptake rates per root dry weight on root temperature in the intact root of a plant lighted with a *PPFD* of 200 μmol m^{-2} s^{-1} at an air temperature of 25℃ and a relative humidity of 40%RH. The means of measured values in 4 plants are plotted with 95% confidence limits.

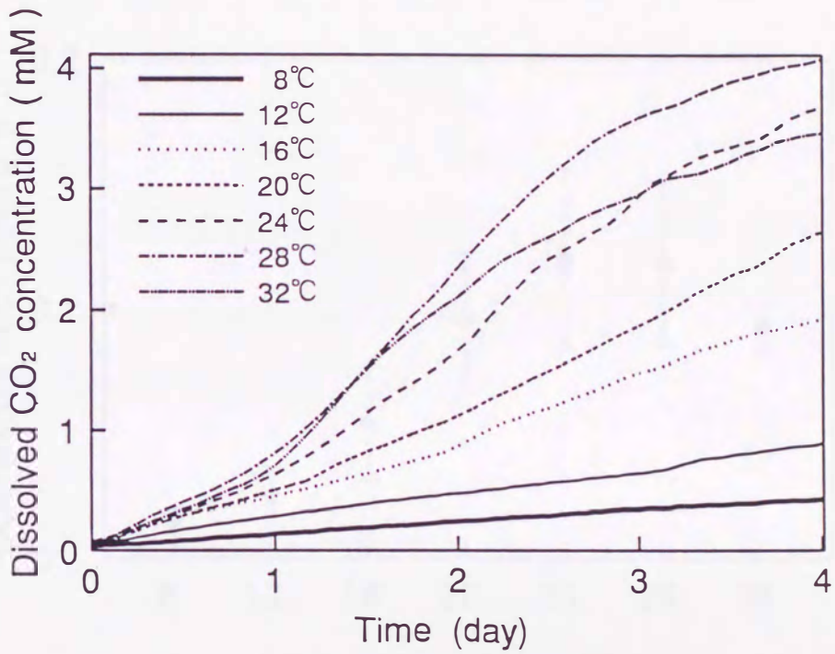


Figure 22. Time course patterns of dissolved CO_2 concentration in airtight hydroponics at respective root temperatures of 8, 12, 16, 20, 24, 28 and 32℃, where the plant was lighted with a *PPFD* of 200 μmol m^{-2} s^{-1} at an air temperature of 25℃ and a relative humidity of 40%RH. The means of measured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

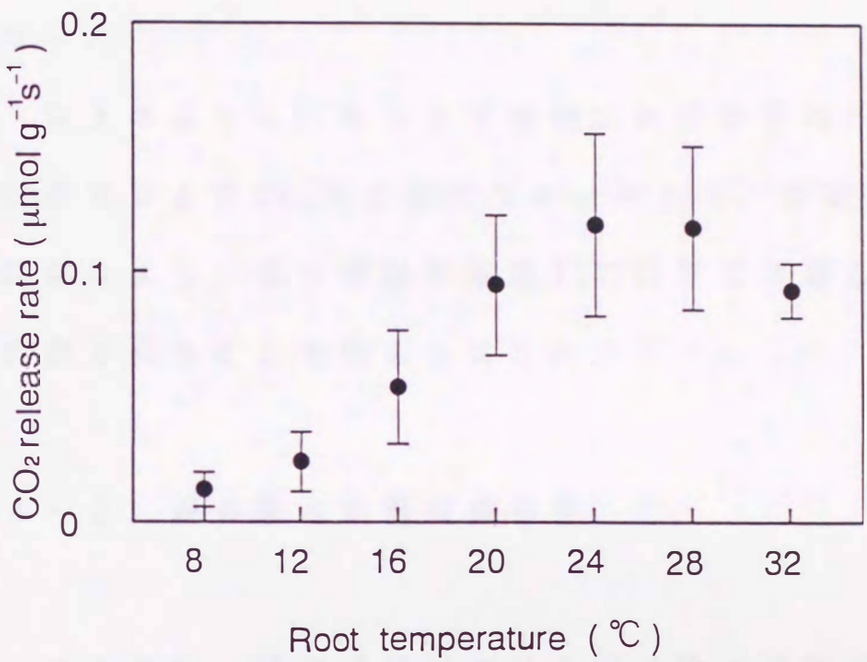


Figure 23. Distribution of CO_2 release rates per root dry weight on root temperature in the intact root of a plant lighted with a *PPFD* of 200 μmol m^{-2} s^{-1} at an air temperature of 25℃ and a relative humidity of 40%RH. The means of measured values in 4 plants are plotted with 95% confidence limits.

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CO_2放出にも明瞭な温度依存性が認められ，CO_2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O_2吸収速度およびCO_2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 $m^{-2}s^{-1}$，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 $g^{-1}s^{-1}$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

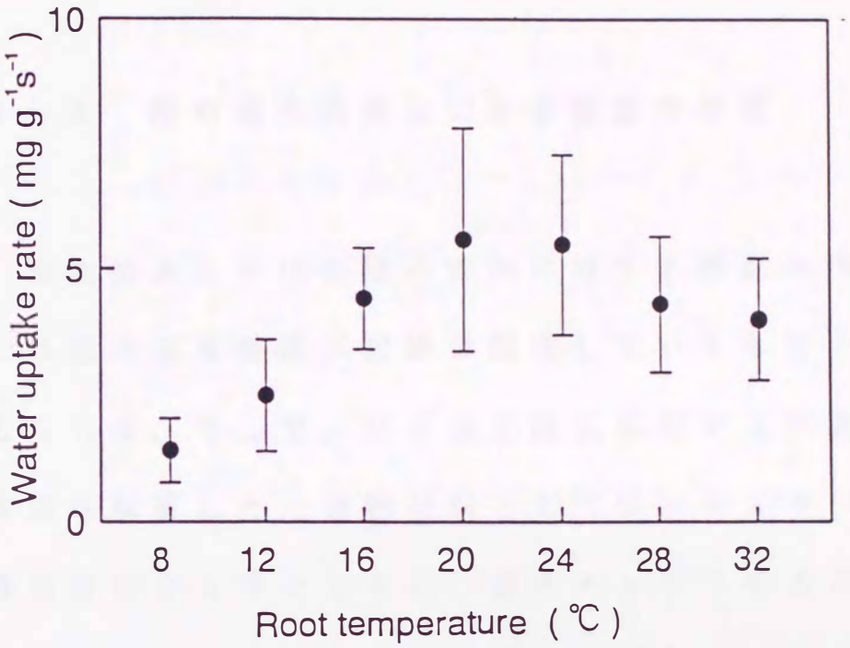


Figure 24. Distribution of water uptake rates per root dry weight on root temperature in the intact root of a plant lighted with a *PPFD* of 200 μmol m^{-2} s^{-1} at an air temperature of 25℃ and a relative humidity of 40%RH. The means of measured values in 4 plants are plotted with 95% confidence limits.

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).

$$R = \frac{\Psi_1 - \Psi_2}{F} \qquad (9)$$

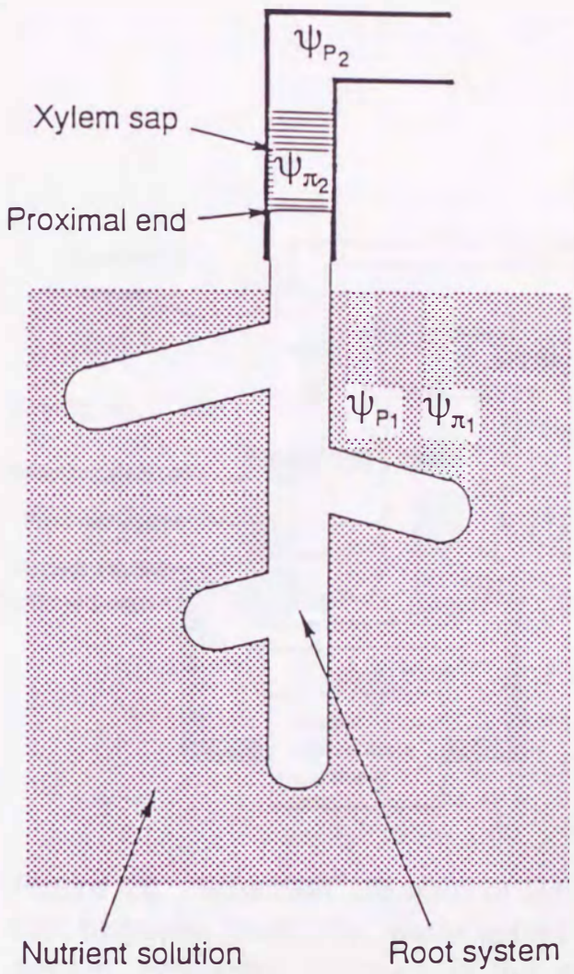
ここで，Ψ_1は根系の表面における水ポテンシャル，Ψ_2は根系基部における水ポテンシャルを示す．この式(9)に基づいてRを求める方法としては，地上部を切除した根系（単離根系）を用いて，圧チャンバ内で根系の表面に200~500 kPaの静水圧を与えて根系をとおして水を押し上げる方法(Fiscus, 1975, 1977; Markhart and Smit, 1990) および根系基部の切断面に50~80 kPaのサクションを与えて根系をとおして水を吸引する方法（Andersen *et al.*, 1984; Everard and Drew, 1987, 1989) がある．前者の方法では，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

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．Ψ_1は根系表面における圧ポテンシャル（Ψ_{p1}）および培養液の浸透ポテンシャル（$\Psi_{\pi 1}$）で構成されており，また，Ψ_2は根系基部における圧ポテンシャル（Ψ_{p2}）および木部溢泌液の浸透ポテンシャル（$\Psi_{\pi 2}$）から構成されている．したがって，Rは次式で求められる．

$$R = \frac{(\Psi_{p1}+\Psi_{\pi 1})-(\Psi_{p2}+\Psi_{\pi 2})}{F} = \frac{\Delta\Psi_p+\Delta\Psi_\pi}{F} \qquad (10)$$

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，$\Delta\Psi_\pi$は浸透ポテンシャル差である．$\Psi_{\pi 1}$および$\Psi_{\pi 2}$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，$\Psi_{\pi 1}$および$\Psi_{\pi 2}$はそれぞれ-80 kPaおよび-100 kPaであり，$\Delta\Psi_\pi$は20 kPaであった．

Fig.26に，単離根系に一定のサクション（$\Delta\Psi_p$）



$$\psi_2 = \psi_{P_2} + \psi_{\pi_2}$$

$$\psi_1 = \psi_{P_1} + \psi_{\pi_1}$$

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.

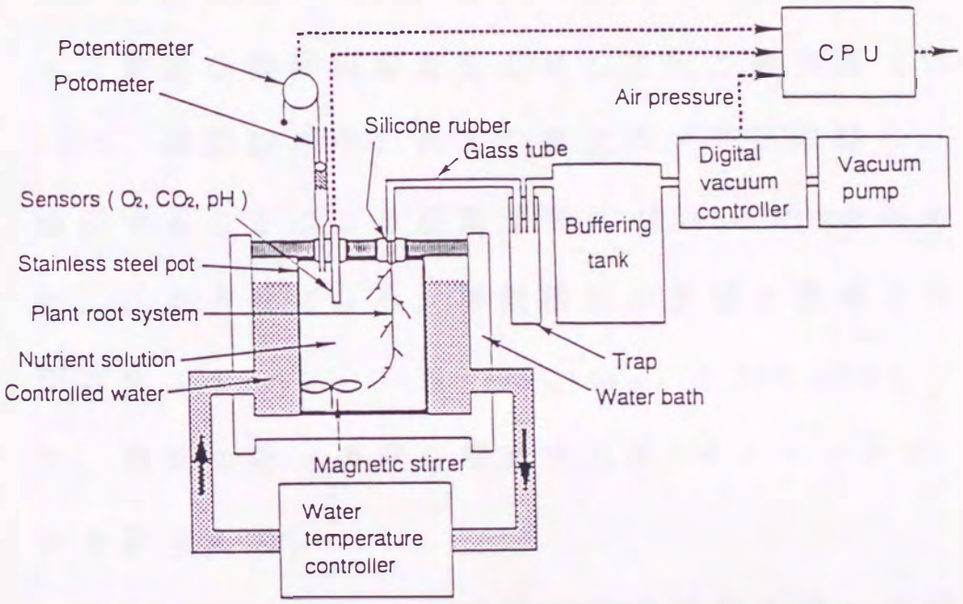


Figure 26. Schematic diagram of system for measurements of root hydraulic resistance, water uptake rate in a detached root system, hydrostatic pressure at the proximal end of the root system, dissolved O_2 concentration and dissolved CO_2 concentration in nutrient solution at controlled root temperatures 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$\Delta\Psi_p$=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（$\Delta\Psi_p+\Delta\Psi_\pi$）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O_2濃度，溶存CO_2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O_2濃度の減少および溶存CO_2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

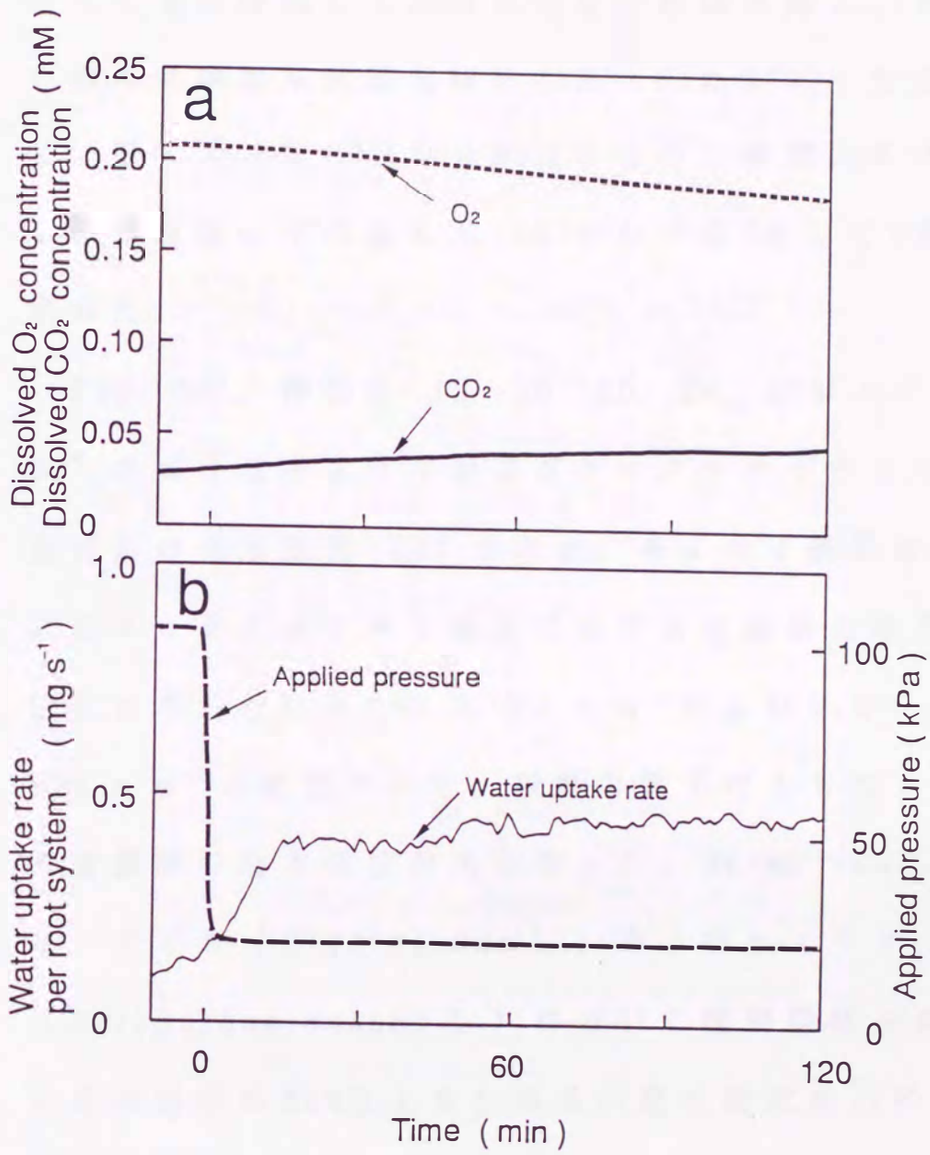


Figure 27. Environmental conditions and physiological aspect during the time of measurement of root hydraulic resistance in a detached root system. a, dissolved O_2 and CO_2 concentrations; b, water uptake rate per root system and hydrostatic pressure at the proximal end of the detached root system at a root temperature of 24℃.

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

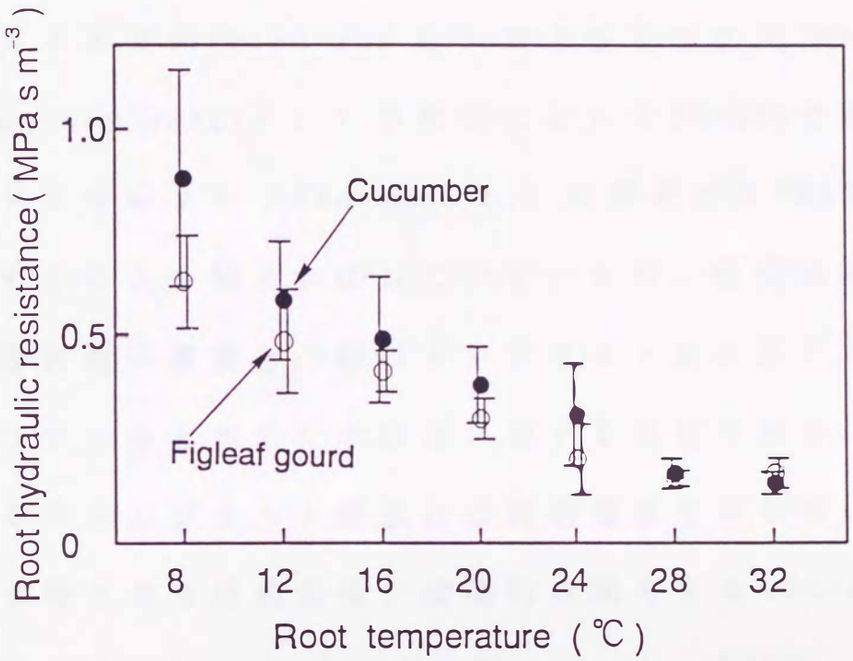


Figure 28. Distributions of root hydraulic resistances on root temperature in cucumber and figleaf gourd root systems at the water potential difference of 100 kPa. The means of measured values in 6 plants of respective species are plotted with 95% confidence limits.

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). したがって，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

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，キュウリ植物に比べ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る．