

連載ミニレビュー

作物生理研究法

作物体内における水の通導抵抗の測定 —作物の器官、組織、細胞の水輸送能の量的解析

平沢正

(東京農工大学大学院農学府)

水ストレスは茎葉や根、ひいては果実などいろいろな器官の成長、光合成や窒素の吸収・同化など植物の重要な生理のプロセスに大きな影響を及ぼす。水ストレスは、吸水速度が蒸散速度（気孔開度が水ストレスの影響を受けていない時の）に追いつかない場合に発生する。良く知られている条件が土壤水分の低下である。しかし、水ストレスは、このような時だけでなく、気孔の閉鎖機能が低下した時や吸水過程や体内における水輸送に対する抵抗が大きい時にもおこる。水の通導抵抗の大きさと抵抗が大きくなっている部位の所在を明らかにすることが、水ストレスの発生機構の解明とともに水ストレス耐性作物の育成戦略を考える上で重要となる。対象とする問題、対象とする植物の部位によって測定に用いる方法も異なる。本稿は水の通導抵抗の測定法を筆者の視点からまとめたものである。

1. 根から葉までの水の通導抵抗（全抵抗）

定常状態では、次式のようにオームの法則になぞらえて、根から葉までの植物の水の通導抵抗（全抵抗）を求めることができる。

$$F = (\Psi_{\text{soil}} - \Psi_{\text{leaf}}) / R_{\text{plant}} \quad (1)$$

ここで、 F は水の流れ、 Ψ_{soil} は根と接する土壤の水ポテンシャル、 Ψ_{leaf} は葉の水ポテンシャル、 R_{plant} は吸水を含む根から葉までの水の通導抵抗である。

土壤水分が低下したときは根の周りの土壤の水ポテンシャルを求めることは簡単でない。しかし、湛水状態で生育している水稻のように、土壤水分が十分にあるときは、土壤の水ポテンシャルはゼロとみなすことができる。そこで、土壤水分が十分ある条件について考えると、定常状態での葉の水ポテンシャルとともに吸水速度 A 、あるいは蒸散速度 T を求めれば（定常状態では吸水速度と蒸散速度は等しい）、(1) 式は

$$A \text{ (あるいは } T) = -\Psi_{\text{leaf}} / R_{\text{plant}} \quad (2)$$

となり、吸水を含む根から葉までの水の通導抵抗を求めることができる。筆者の経験では、晴天日の日中であれば、植物体内における水の流れはほぼ定常状態にあると見なし、差し支えなく、(2) 式で水の通導抵抗を求めることは野外に生育する作物でも可能である。なお、吸水（蒸散）速度が小さいときには、根の水の通導抵抗は吸水（蒸散）速度とともに変化する。水の通導抵抗の比較は吸水（蒸散）速度の影響を受けない吸水（蒸散）速度の大きい条件で行うことが必要となる（Hirasawa and Ishihara 1991）。

2. 根、茎、葉の水の通導抵抗の推定

根、茎、葉の水の通導抵抗は直列で配置しているので、次式が成立する。

$$R_{\text{plant}} = R_{\text{root}} + R_{\text{stem}} + R_{\text{leaf}}$$

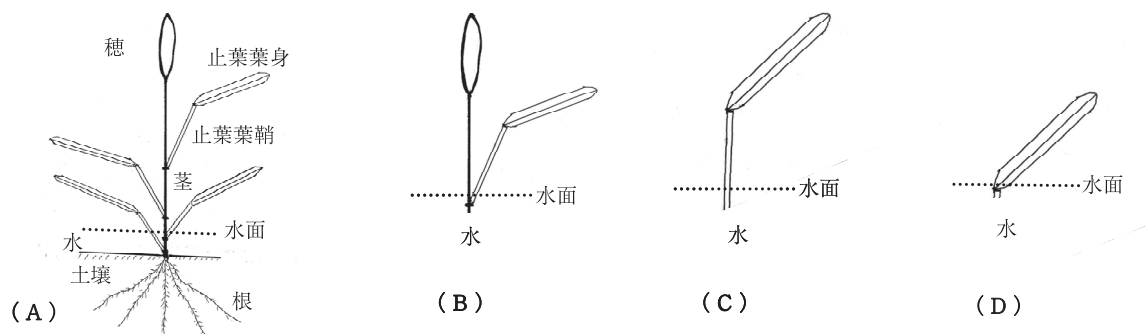
ここで、 R_{root} 、 R_{stem} 、 R_{leaf} はそれぞれ根、茎、葉の水の通導抵抗である。全抵抗を測定した後、(1) 水中で茎基部を切断し、切断面から水を直接吸収させて茎基部から葉までの水の通導抵抗を、さらに、(2) 葉の基部を水中で切断し、切断面から水を直接吸収させて葉基部から葉身までの水の通導抵抗を測定すれば、根（茎基部の抵抗を含む）の水の通導抵抗、茎基部から葉基部までの水の通導抵抗を算出できる。この方法は圃場に生育する作物など、根群を取り出すことが困難な場合などに適用できる。このような方法によって、萎凋性水稻突然変異株において水の通導抵抗の高まっている部位の解析が行われている（第1図；Koizumi ら 2007）。切断に際しては導管内に気泡が生じないように配慮が必要である。筆者らは切断前に植物体全体を黒色ポリエチレン袋で覆って蒸散を抑制し、木部の圧ポテンシャルが可能な限り高くなるようにしてから、水中で切断している。切断後、弱光下において気孔が開くのをまって、測定を開始する。水稻では1、2時間は安定した蒸散速度が得られる（Hirasawa and Ishihara 1991）。

3. 根、茎、葉の水の通導抵抗の直接測定

(1) 根の水の通導抵抗

1) プレッシャーチャンバー（pressure chamber）を用いる方法

水耕液に生育している植物の根系を、水耕液ごとチャン



第1図 水稻の根から止葉葉身まで (A)、止葉節直下から止葉葉身まで (B)、止葉葉鞘基部から止葉葉身まで (C)、止葉葉鞘上部から止葉葉身まで (D) の水の通導抵抗の測定を示した模式図。

止葉の蒸散速度 (T) を測定した後に葉身の水ポテンシャル (Ψ_{leaf}) を測定すれば、各部位の水の通導抵抗は、 $-\Psi_{\text{leaf}} / T$ により求めることができる。

バーの中に閉じ込め、茎基部の切り口を外に出して密閉し、チャンバー内に所定の水圧をかけると茎の切り口から液が出てくる。定常状態に達した後の茎基部からの出液速度を測定する。かける圧力を変えて圧力と出液速度との関係を求めると、圧力の増加とともに、出液速度は、はじめはゆるやかに曲線的に、圧力が高くなると直線的に増加する (第2図)。この直線部分の傾きが、根系の水伝導度 (conductance, 水の通導抵抗の逆数) となる (Fiscus 1975, Miyamoto ら 2001)。測定に供する植物の大きさが異なると個体当たりの出液速度も異なるので、根の表面積当たりの出液速度を用いて、水伝導度 (conductivity) を求めれば、植物間の比較が可能となる。なお、両者の関係が曲線となる要因として、木部液の溶質濃度が出液速度の増加とともに希釈されることなどが考えられている (Fiscus 1975, 平沢 1995)。

2) ルートプレッシャープローブ (root pressure probe) を用いる方法

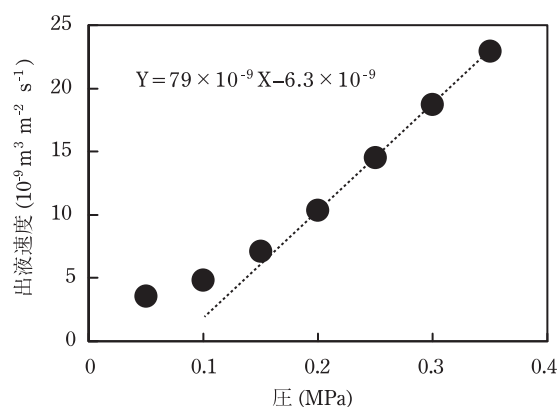
ルートプレッシャープローブを切断根あるいは鉢植え植物の茎基部に取り付けて、根圧を連続測定することによって切断根あるいは根系の水伝導度を求める方法がある。すなわち、木部圧を人為的に瞬時に変化させた後の根への水の流入あるいは流出によっておこる根圧の変化、あるいは、水耕液の溶質濃度を瞬時に変えた後の根圧の変化から、水伝導度を求めるものである (Steudle 1993)。この方法の詳細については他の総説 (宮本 2003a, b) を参照されたい。

3) 出液速度から求める方法

根の浸透的吸水速度 ($J_{v,os}$) は (1) 式のように表わせる。

$$J_{v,os} = \{\Psi_{\text{soil } m} + \sigma (\Psi_{\text{soil } os} - \Psi_{\text{xylem sap}})\} / R_{\text{root } os} \quad (1)$$

ここで、 $R_{\text{root } os}$ は浸透的吸水・水輸送に対する根の水の通導抵抗、 $\Psi_{\text{soil } m}$ は土壌のマトリックポテンシャル、 σ は根の溶質に対する反射係数、 $\Psi_{\text{soil } os}$ は根の周りの土壌溶液の浸透ポテンシャル、 $\Psi_{\text{xylem sap}}$ は木部液の浸透ポテンシャルである。(1) 式は根の浸透的吸水のおこっている部位で成り立つ。これが根系全体で成り立つと仮定すると、根あるいは茎基部の切断部からの出液は浸透的吸水の結果生じ、湛水条件に生育する水稻では、 $\Psi_{\text{soil } m} = 0$ とみなせるので、



第2図 水耕液にかけた圧と茎基部から出てくる液量との関係 (Miyamoto ら 2001 を改)。

水耕液に生育しているイネの根系を、水耕液ごとチャンバーの中に閉じ込め、茎基部の切り口を外に出して密閉し、チャンバー内に所定の水圧をかける。定常状態に達した後の茎基部からの出液速度を測定する。かける圧力を変えて圧力と出液速度との関係の直線部分 (図の点線の直線) の傾きが、根系の水伝導度となる。

茎基部からの出液速度 (E) をベースにした根の水の通導抵抗 ($R_{\text{root } os}$) は (2) 式より算出できる。

$$R_{\text{root } os} = \sigma (\Psi_{\text{soil } os} - \Psi_{\text{xylem sap}}) / E \quad (2)$$

出液速度の測定は比較的容易である。木部液は凍結して保存すれば、後で浸透ポテンシャルを氷点降下浸透圧計などで測定することができる。根の反射係数や根の周りの土壌溶液の浸透ポテンシャルの推定のむずかしさなどの問題はあがあるが、量的形質遺伝子座 (QTL) 解析などのように、一度に多くの植物の水の通導抵抗を比較する必要がある時などには、この方法は有効と筆者は考え適用の可能性を検討している。水稻の根の水耕液に対する反射係数 0.4 (Miyamoto ら 2001) を用いて、上述の蒸散速度と葉の水ポテンシャルから求めた水の通導抵抗の大きい水稻は本方法で求めた水の通導抵抗も大きいという関係が見出されている (浅沼ら 2007)。出液速度は時刻によって変化し (平沢ら 1983, 森田・阿部 2002)、また地温によっても影響を受

けるので、測定時刻をそろえる、地温の影響を見込んで結果を判断するなどの配慮が必要となる。また、水稻の茎では同じ個体の他の茎の蒸散速度の影響も受けるので、この点の配慮も必要となる。

茎基部の切り口から水压を加えて根から培地へと水が出て行く速度を短時間に求め、かけた圧と水が根の外に出て行く速度（通常の水の移動方向とは逆になる）から根系の水の通導抵抗を測定する方法（high-pressure flowmeter）も考案されている。この方法では水分欠乏土壤に生育する作物でも測定が可能となる。詳細は Tyree ら（1994, 1995）を参照されたい。

（2）茎の水の通導抵抗

対象とする茎の部分の切り出し、一方の切り口に水压をかけ、水が茎を通して他方の切断面から出てくる速度（E）を求め、これとかけた水压（P）から、切り出した茎の抵抗（ R_{pstem} ）は（3）式から求めることができる。

$$R_{pstem} = P / E \quad (3)$$

茎の切断面を水中につけ、他方の切り口を一定の圧力で吸引することも行われている。切り口にかかる圧は多くの場合数 kPa から数十 kPa でよい（Sperry ら 1991, 平沢 1996, Hirasawa ら 2006）。平行脈の走っているイネ科植物では葉でもこのような方法で測定できる（Stiller ら 2003）。きわめて簡単な測定法であるが、定常状態で測定することが重要である。長時間に渡る測定では、導管閉塞によって出液速度が低下する場合がある。あらかじめ安定した出液速度が得られる時間をチェックしておく必要がある。

木部の水の通導抵抗は通常は小さいが、キャビテーションがおこると著しく大きくなる。キャビテーションによっておこる水の通導抵抗の増加程度は、上述のようにして水の通導抵抗を測定した後に、百から数百 kPa の水压をかけて、導管内の気泡を取り除いた後（flushing）に、再び上述の方法で水の通導抵抗を測定して知ることができる。flushing の前と後の水の通導抵抗の差がキャビテーションによる導管閉塞によっておこる水の通導抵抗の増加分となる。

4. 組織内の水移動や細胞の水透過性の測定

茎葉や根などの成長組織における水移動や根の放射方向における水移動など細胞間、組織内の水移動の解析は、採取した組織や器官の水ポテンシャルの平均値が測定されるサイクロメーターやプレッシャーチェンバーでは困難である。この場合には、セルプレッシャープローブ（cell pressure probe）が有効な方法となる。セルプレッシャープローブは圧力センサとガラス毛细管から構成されている。まず、ガラス毛细管を細胞内に挿入して細胞の膨圧を測定した後、同じ細胞から細胞液を抜き取り、顕微鏡のもとで細胞液の浸透ポテンシャルを氷点降下法で測定する。細胞の水ポテンシャルは浸透ポテンシャルと膨圧の差として求めることができる。セルプレッシャープローブを用いての

細胞の膨圧と浸透ポテンシャルの測定の詳細は他書（Steudle 1993, 野並 2001）を参照されたい。

水は水ポテンシャルの高い組織や細胞から水ポテンシャルの低い組織や細胞に向かって移動する。細胞の水ポテンシャルの分布を測定することによって、水移動の方向を知ることができる。さらに水の単位時間当たりの移動量を求めれば、水ポテンシャル勾配から、水の通導抵抗を比較できる。たとえば、水蒸気で飽和した空気中で成長を続けているトウモロコシの根の先端にソルビトールを加えて水ポテンシャルを -1.6 MPa に低下させた寒天小片をつけると、ソルビトールを含まない水ポテンシャルの高い寒天小片をつけた場合に比較して、根の伸長速度が大きく低下する（Shimazaki ら 2005）。この時、伸長する細胞への水輸送の推進力（driving force）を示す伸長細胞とこれより基部の成熟細胞の水ポテンシャル差は、根端に -1.6 MPa の寒天小片をつけた伸長速度の低下した、言い換えると、水輸送速度の低下した根でも変化しなかった。このことは、根端に -1.6 MPa の寒天小片をつけることによって、成熟細胞と伸長細胞の間で水の通導抵抗の増加が起こったことを示している。セルプレッシャープローブを用いて、細胞の体積弾性率、液胞から液を抜き取って膨圧を瞬時に低下させた後の膨圧の回復速度を測定し、これらと細胞の浸透ポテンシャル、細胞の体積、表面積から、細胞の水伝導度を求めることができる（Steudle 1993）。これを成長細胞に適応し、根の水分屈性では、伸長細胞の水伝導度の変化も偏差成長を引き起こす要因であることが明らかにされた（Miyamoto ら 2002）。

細胞の水伝導度はアクアポリンの発現量やリン酸化などの状態によって変化すると考えられている（Katsuhara 2007）。問題となる細胞が特定できれば、細胞の膜の水透過性に大きく関与すると考えられるアクアポリンに研究の視点を移すことも可能となり、より本質的な水輸送の制御の実態の解明が可能になるものと考ええる（Miyamoto ら 2005）。

引用文献

- 浅沼俊輔・大川泰一郎・平沢正 2007. 浸透的吸水・水輸送過程における水稻の水の通導抵抗の測定－根の水の通導抵抗の簡易測定法の検討－. 日作紀 76 (別 1): 246–247.
- Fiscus, E.L. 1975. The interaction between osmotic- and pressure-induced water flow in plant roots. *Plant Physiol.* 55: 917–922.
- Hirasawa, T. and K. Ishihara 1991. On resistance to water transport in crop plants for estimating water uptake ability under intense transpiration. *Jpn. J. Crop Sci.* 60: 174–183.
- 平沢正・荒木俊光・松田永一・石原邦 1983. 水稻葉身基部の出液速度について. 日作紀 52: 574–581.
- 平沢正 1995. 植物の根に関する諸問題 [19]－根の吸水と吸水能力の推定－. 農と園 70: 317–323.
- 平沢正 1996. 湿潤土壌条件下における作物の急性萎凋枯死. IGE シリーズ 21 臨界環境下における植物の生活. 東北大学遺伝生態研究

- センター, 113–122.
- Hirasawa, T., M. Suzuki, N. Tenmyo, I. Goto, T. Ookawa and K. Ishihara 2006. The severe panicle dehydration of paddy rice at heading under the conditions of high temperature, low humidity and high wind velocity is caused by cavitation. Meeting of “The Biology of Transpiration : From Guard Cells to Globe” at UT, USA.
- Katsuhara, M. 2007. Molecular mechanisms of water uptake and transport in plant roots : research progress with water channel aquaporins. *Plant Root* 1 : 22–26.
- Koizumi, K., T. Ookawa, H. Satoh and T. Hirasawa 2007. A wilted mutant of rice has impaired hydraulic conductance. *Plant Cell Physiol.* 48 : 1219–1228.
- Miyamoto, N., E. Steudle, T. Hirasawa and R. Lafitte 2001. Hydraulic conductivity of rice roots. *J. Exp. Bot.* 52 : 1835–1846.
- Miyamoto, N., T. Ookawa, H. Takahashi and T. Hirasawa 2002. Water uptake and hydraulic properties of elongating cells in hydrotropically bending roots of *Pisum sativum* L. *Plant Cell Physiol.* 43 : 393–401.
- 宮本直子 2003a. 根の水と溶質の透過性－ルートプレッシャープローブを用いた測定－. *根の研究* 12 : 57–61.
- 宮本直子 2003b. 植物の根に関する諸問題〔120〕－根の水の透過性－. *農及園* 78 : 814–819.
- Miyamoto, N., M. Katsuhara, T. Ookawa, K. Kasamo and T. Hirasawa 2005. Hydraulic conductivity and aquaporins of cortical cells in gravitropically bending roots of *Pisum sativum* L. *Plant Prod. Sci.* 8 : 515–524.
- 森田茂紀・阿部淳 2002. 水田で栽培した水稻の出液速度の日変化および生育に伴う推移. *日作紀* 71 : 383–388.
- 野並浩 2001. 作物の水分生理に関する土, 根, 葉, 茎における計測. *日作紀* 70 : 151–163.
- Shimazaki, Y., T. Ookawa and T. Hirasawa 2005. The root tip and accelerating region suppress elongation of the decelerating region without any effects on cell turgor in primary roots of maize under water stress. *Plant Physiol.* 139 : 458–465.
- Sperry, J.S., A.H. Perry and J.E. M. Sullivan 1991. Pit membrane degradation and air-embolism formation in ageing xylem vessels of *Populus tremuloides* Michx. *J. Exp. Bot.* 42 : 1399–1406.
- Steudle, E. 1993. Pressure probe technique : basic principles and application to studies of water and solute relations at the cell, tissue and organ level. In Smith, L.A.C. and H. Griffiths eds., *Water Deficits. Plant Responses from Cell to Community*. Bios Scientific Publishers, Oxford. 5–36.
- Stiller, V., H.R. Lafitte and J.S. Sperry 2003. Hydraulic properties of rice and the response of gas exchange to water stress. *Plant Physiol.* 132 : 1698–1706.
- Tyree, M.T., S. Yang, P. Cruziat and B. Sinclair 1994. Novel methods of measuring hydraulic conductivity of tree root systems and interpretation using AMAIZED : A maize-root dynamic model for water and solute transport. *Plant Physiol.* 104 : 189–199.
- Tyree, M.T., S. Patino, J. Bennink and J. Alexander 1995. Dynamic measurements of root hydraulic conductance using a high-pressure flowmeter in the laboratory and field. *J. Exp. Bot.* 46 : 83–94.