

**研究**

## 水の安定同位体比による植物の水利用の研究

高橋和志

トヨタ自動車(株) F P 部

## 1. 安定同位体比とは何か

地球上に存在する多くの元素には、放射性同位体や安定同位体といった同位体が存在する。自然界の同位体の存在比は、時空間的に、ごくわずかながら変動し、その変動を解釈することは、自然界で起こった現象を読みとるを意味する。 $^{14}\text{C}$ や $^{32}\text{P}$ などの放射性同位体は、生理学の分野や考古学の年代測定などの解析ツールとして、よく知られているが、 $^{13}\text{C}$ や $^{15}\text{N}$ などの安定同位体は、放射性同位体にくらべ、華々しい活躍は見られない。しかし、今後期待できる解析ツールとなる可能性を秘めている。安定同位体の中でも、 $^{13}\text{C}$ や $^{15}\text{N}$ は、生態学や農学の分野では、比較的良好に利用されており、これについては、いくつかの総説がある(たとえば、米山、笹川,1994)。しかし、今回、紹介する $^{18}\text{O}$ や $\text{D}$ は、生物分野では、あまり利用が進んでいない。これは、分析手法の複雑で、生物学者の手に負えないことが原因の一つと考えられる。しかし、近年、分析手法の大幅な簡易化が進んでおり、同位体分析の扱いが不慣れた研究者でも利用が可能になりつつある。さて、今回紹介する水の同位体比は、液体-気体、液体-固体などの相変化するときに変化するため、地表面からの蒸発、雲の形成、雨の形成などの場合で大きく変化する(White,1988)。また、異なった同位体比を持つ水の混合によっても当然同位体比の変化が見られる。植物は、地球上にある、このような多様な同位体比を持った水を利用していることになる。本稿は、水の同位体比の変動の解析が、「植物と水の関り」にどのような視点を与えられるかを紹介する。

## 2. 植物体の水同位体比が語るもの

植物に含まれる水の同位体比は、その植物の水の供給源についての情報を与える。ただし、植物にとつて、いくつかある水供給源の水同位体比が異なっていることが条件となる。水には、酸素が2つ、水素が2つあるため、水同位体比といった場合、 $\text{H}_2^{18}\text{O}$ 、 $\text{H}_2^{16}\text{O}$ の2つの酸素同位体、と $\text{DHO}$ と $\text{H}_2\text{O}$ の2つの水素同位体を用いる(DDOや $\text{DH}^{18}\text{O}$ などは、量比的に非常に少ないのを省略)。同位体比の表現方法は、これらの同位体の存在比と標準物質の同位体存在比との差を用いる。水同位体比の場合、標準物質は、海水である。具体的には、対象とする試料の $\text{H}_2^{18}\text{O}/\text{H}_2^{16}\text{O}$ 比(R試料)が海水の $\text{H}_2^{18}\text{O}/\text{H}_2^{16}\text{O}$ 比(R標準)に対して、どのくらい増加もしくは減少しているかを以下のような千分率(プロミル)で表現する。

$$\delta^{18}\text{O}(\text{‰}) = (\text{R試料} / \text{R標準} - 1) \times 1000$$

水素同位体比( $\delta\text{D}$ )も酸素同位体比と同じ式を用い、Rを $\text{DHO}/\text{H}_2\text{O}$ に置きかえればよい。

さて、水が植物の根から吸収され、茎を通過し葉で蒸散する過程で同位体比がどのように変化するか実験例を報告する。Dawson & Ehleringer(1993)は、*Acer*と*Quercus* spp.において、コルク化した幹内に含まれる水同位体比を調べた結果、ポット中の水の同位体比と等しいことを報告している。また、Thorburn & Mensforth(1993)はアルファファに水耕栽培で7日吸水させ、植物体内の水の同位体比を計測した結果、根と根に近い茎部に含まれる水は、ポットの水とほぼ同じであったと報告している(酸素同位体比で0.3‰、水素同位体比で1‰以下の違い)。Thorburn et al.(1993)は、樹木(数種のユーカリ)においても同様の結果を得ている。また、野外条件において根に含まれる水の同位体比は、その周りの土壌水の同位体比に近い値をとることも報告されている(Thorburn et al.,1993)。

一方、葉に含まれる水の同位体比は根や茎に比べて、大きな値をとる。これは、葉の裏面の気孔において、葉中の水が大気中へ放出される、いわゆる蒸散過程で同位体の分別が生じるためである(詳しくは、液体の水が水蒸気になる過程において、軽い同位体を含む水がより速く気化するため、気体になり損ねた葉中の水は当然同位体比が高くなるためである)。以上のように、水が根から吸収されて、幹へ移動していく過程においては、同位体分別が起らないと考えられる。このことは、植物の水の同位体比を解析する上で、非常に重要な意味をもつ。植物が利用する水の起源について、水の酸素および酸素同位体比は、有用な情報を与えてくれる。たとえば、植物が利用できると考えられる水ソースがS1およびS2の2つあるとする(土壌水と地下水、もしくは、土壌水と降水など)。各々の水同位体比を $\delta s_1$ および $\delta s_2$ の中、S1を利用した比率をf、S2を利用した比率を(1-f)とすると、植物体内の同位体比( $\delta\text{Plants}$ )は、以下で示される。

$$\delta\text{Plants} = f \times \delta s_1 + (1-f) \times \delta s_2$$

これから、s1の利用率(f)は、以下の式で表現できる。

$$f = (\delta \text{ Plants} - \delta s_2) / (\delta s_1 - \delta s_2)$$

### <植物の水供給源の推定>

Dawson & Ehleringer(1991)は、河川付近の樹木の水の水素同位体比を用いて解析した。河川付近で小さな樹木(胸高直径20cm以下)は、幹中の水の水素同位体比が約-120~-130‰で河川の水(-125‰)を利用していたが、それよりも大きな樹木は、河川の下地下水脈の水を吸収していた。これらの研究は、2つの予想される水の供給源と植物に含まれる水の水素同位体比の差から供給源の比率を推定したものである。

### <水を吸収する土壌層の推定>

土壌中に保持された水分は、表層から蒸発で消失する。この蒸発の過程で同位体分別が起こるので、表層の水分の酸素や水素の同位体比は下層土壌の水分に対して高い値をとる(Barnes & Allison, 1983,1984; Thorburn & Ehleringer (1995)。したがって、植物の幹に含まれる水の水素同位体比と土壌水の水素同位体比の鉛直分布から、吸水層の特定を調べることができる(Walker & Richardson, 1991; Yakir & Yechieli 1995; Brunel et al., 1997)。たとえば、Jackson et al.(1995)は、幹の水同位体比を用いて熱帯林において、常緑樹木は、落葉樹木に比べて、より深層から水を吸収していたと推測している(図1)。

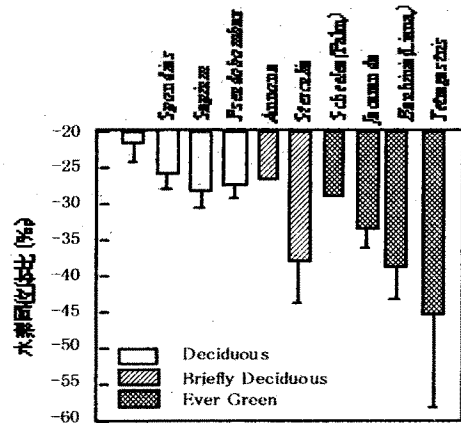


図1 熱帯樹種の水利用様式

土壌水の水素同位体比は、土壌表層から40cm層では、0~-30‰、40cm層から100cm層では、-30~-40‰。(Jackson et al. 1995より改変)

植物の根の水吸収は、細根量と土壌中の水ポテンシャルから推測することが行なわれている(Gardner, 1991)。しかしながら、細根の活性は、土壌環境や加齢などの影響で必ずしも一定ではなく、また、十分に機能していない可能性もある。Thorburn & Ehleringer (1995)は、根に含まれる水とその周辺土壌中の水の水素同位体比が一致しないことをみつけ、その理由の一つとして、表層土壌の温度上昇による根活性の低下を推測している。また、表層土壌の塩濃度上昇によって、細根が多くある表層の土壌水が植物にとって利用が困難であることを同位体から解析した報告もある(Bleby et al., 1997)。このように、水の水素同位体比を用いて、土壌→根→地上部の水の流れをより直接的に解析することができる(Dawson & Ehleringer, 1991; Flanagan & Ehleringer, 1991; Walker & Richardson, 1991; Brunel et al, 1991; Mensforth et al., 1994; Takahashi 1998)。

### 3. 分析方法

同位体比の分析手順について、基本的な考え方のみまとめる。

#### (1) 水の抽出

土壌から水を抽出する方法は、吸引法、遠心法、真空抽出法、溶媒抽出法などがある。吸引法および遠心法は、土壌溶液を採取する方法と同じで、土壌水分が大きいときに用いられる(佐久間など 1989)。植物体の場合、真空抽出法および溶媒抽出法による(図2)。真空抽出法は、試料をガラス管に入れ、真空トラップに接続する。ガラス管は保温し、真空トラップは、液体窒素などで冷却し、ポンプで系内を真空にすることで抽出効率を上げる。溶媒抽出法(Revesz & Wood, 1990)は、試料とトルエンなどの溶媒と混合し、熱を与え、蒸留する方法である。試料に含まれる水とトルエンは混合され、それぞれの沸点より低い温度で沸騰する(共沸)、共沸した水-トルエンの混合物は、冷却管で液化し、トラップされる。冷却される

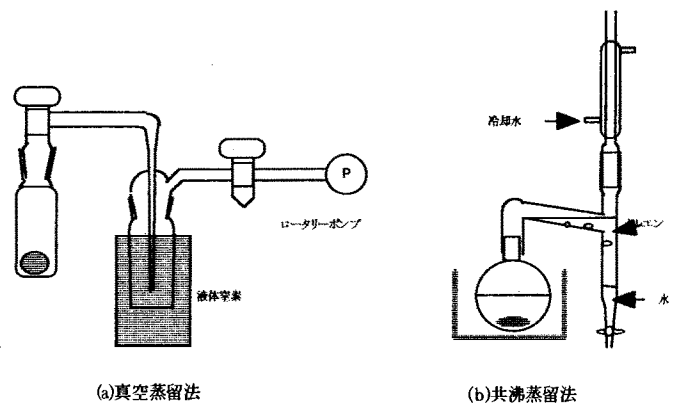


図2 土壌・植物体からの水の抽出法の概念図

- (a) 真空蒸留法  
土壌・植物体を耐圧ビンに入れ、真空ポンプで引圧にする。ビンとポンプの間に冷却した真空トラップを取り付け、気化した水分を捕集する。2時間程度で蒸留が完了する。
- (b) 共沸蒸留法  
フラスコに土壌・植物体とトルエンをいれ、加熱する。試料中の水分とトルエンが混合し、共沸する。共沸物はフラスコから冷却管へ移動する間に、水とトルエンに分離する。水は水滴となり捕集管の下部に溜まり、トルエンはオーバーフローし、フラスコ内へ戻る。90分から2時間で蒸留が完了する。

と、水とトルエンは上下に分離するので、水のみを単離することができる。

## (2) 同位体比の分析

水の同位体比の分析方法は、いくつか教科書がある（たとえば、Ehleringer & Osmond 1989）。水の酸素同位体比については、密封された容器に、水と二酸化炭素を共存し、水の酸素分子と二酸化炭素の酸素分子を平衡化する。同位体比分析は平衡化された二酸化炭素を同位体分析計に導入し、分子量46の二酸化炭素分子( $C^{18}O^{16}O$ )と分子量44の二酸化炭素分子( $C^{16}O^{16}O$ )の比率から計算する(吉田&水谷,1987)。水の水素同位体比は、水を亜鉛を触媒(420℃)して、水素に変換し、同位体質量分析計に導入する。

## 4. 今後の可能性

今回は、水同位体比の天然同位体比について、研究例を紹介したが、同位体を人為的に富化して、トレーサー試験をすることも、可能である。この場合、水を土壤に均一に添加するノウハウが必要のなると考えられる。今までの同位体比分析は、職人的な分析技術と修練を必要とし、一部の研究者のものであったが、最近の質量分析計のハード面での進歩により、土壤や植物体から水を抽出さえすれば、簡易に分析できるようになりつつある。したがって、今後は、このツールをどのように利用していくかというアイデアが重要となってくる。

## 引用文献

- Barnes C.J. & Allison G.B. (1983) The distribution of deuterium and  $^{18}O$  in dry soils 1. Theory. *Journal of Hydrology* 60: 141-156.
- Barnes C.J. & Allison G.B. (1984) The distribution of deuterium and  $^{18}O$  in dry soils 3. Theory for non-isothermal water movement. *Journal of Hydrology* 74: 119-135.
- Brunel J.P. et al(1997) Use of stable isotopes of water to determine the origin of water used by the vegetation and to partition evapotranspiration. A case study from HAPEX-Sahel. *Journal of Hydrology* 188-189:466-481.
- Bleby T.M. et al(1997) Seasonal water use characteristics of tall wheatgrass [*Agropyron elongatum*(host) Beauv.] in a saline environment. *Plant and Cell Environment* 20:1361-1371.
- Dawson T.E. & Ehleringer J.R.(1991) Streamside trees that do not use stream water: evidence from hydrogen isotope ratios. *Nature* 350:335-337
- Dawson T.E. & Ehleringer J.R.(1993) Isotopic enrichment of water in the "woody" tissues of plants: Implications for plant water sources, water uptake, and other studies which use stable isotopic composition of cellulose. *Geochimica Cosmochimica Acta* 57: 3487-3492.
- Ehleringer J.R. & Osmond (1989) Stable Isotopes In Plant Physiological Ecology Field Methods and Instrumentation (eds. Pearcy, Ehleringer, Mooney, Rundel ) pp281-300.
- Flanagan.L.B.& Ehleringer J.R.(1991) Stable isotope composition of stem and leaf water: applications to the study of plant water use. *Functional Ecology* 5:270-277.
- Gardner W.R. (1991) Modeling water uptake by roots. *Irrigation Science* 12:109-114.
- Jackson P.C. et al(1995) Partitioning of water resources among plants of a lowland tropical forest. *Oecologia* 101:197-203.
- Mensforth L.J. et al(1994) Source of water used by *Eucalyptus camaldulensis* overlying saline groundwater on the River Murray floodplain, Australia. *Oecologia* 100:21-28.
- Revesz K. & Wood P.H (1990) A method to extract soil water for stable isotope analysis. *J. hydrol.* 115:397-406
- 佐久間敏雄、倉持寛太、斉藤英樹、増谷雪雄、望月美智代、森下諦三 (1989) 土壤中における重水の挙動追跡法 分析精度と試料調整法 *日土肥誌* 60. 197-202.

- Takahashi K. (1998) Oxygen isotope ratios between soil water and stem water of trees in pot experiments. *Ecological Research* 13:1-5.
- Thorburn P.J. et al (1993) Extraction of water from *Eucalyptus* trees for analysis of deuterium and oxygen-18: laboratory and field techniques. *Plant Cell and Environment* 16:269-277.
- Thorburn P.J. & Walker G.R. (1994) Variations in stream water uptake by *Eucalyptus camaldulensis* with differing access to stream water. *Oecologia* 100:293-301.
- Thorburn P.J. & Ehleringer J.R. (1995) Root water uptake of field-growing plants indicated by measurements of natural-abundance deuterium. *Plant and Soil* 177:225-233.
- Yakir D & Yechieli Y. (1995) Plant invasion of newly exposed hypersaline Dead Sea shores. *Nature* 374: 803-805.
- 吉田尚弘、水谷義彦 (1987) 水試料の酸素同位体比測定の簡略化. *地球化学*. 21:83-90
- 米山忠克、笹川英夫 (1994) 土壌-植物系における炭素、窒素、酸素、水素、イオウの安定同位体自然存在比: 1997年以降の研究の進歩 *日土肥誌* 65 585 - 598
- Walker C.D. & Richardson S.B. (1991) The use of stable isotope in characterising the source of water in vegetation. *Chemical Geology* 94:145-158.
- White J.W.C (1988) Stable hydrogen isotope ratios in plants: A review of current theory and some potential applications. In *Stable isotopes in ecological research* (eds. Rundel et al) pp142-165

The use of stable isotope ratios as indicators of water resources for plant growth

Kazushi TAKAHASHI