

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 —

宮本直子

東京大学アジア生物資源環境研究センター

要 旨 : 水はアポプラスト経路と細胞横断経路を通して移動すると考えられているが, 根の表皮から木部導管まで移動する間にはさまざまな抵抗部位が存在する. ルートプレッシャープローブを用いた測定から, アポプラスト経路の水移動の調節は外皮や内皮のように疎水性のカスパー線やスベリン層が発達した部位で行われていることが示唆された. しかしこれらの部位で全ての水がシンプラストへ移動するわけではなく, ある程度は水がアポプラストを通ると考えられる. イネの根をトウモロコシと比較すると, アポプラスト経路の水透過性が小さいことが明らかとなり, イネの根系の水輸送能力の低い要因のひとつはアポプラスト経路の抵抗が比較的大きいことであると考えられた. イネの根には派生通気組織が発達して多くの皮層細胞を失うが, 細胞横断経路の水輸送に大きな影響を及ぼしていないことが示唆された. ルートプレッシャープローブを用いると溶質の透過性と反射係数も測定できる. イネの根はトウモロコシに比較して溶質の透過性も小さく, 同時に反射係数も小さいことが明らかとなった. このことはイネの根は溶質を水と見分ける程度が低く, 同時に水と溶質の輸送自体は制限されていることを示している.

キーワード : アポプラスト, イネ, 根圧, 水透過性, ルートプレッシャープローブ

Hydraulic conductivity and solute permeability of roots: by using root pressure probe : Naoko MIYAMOTO (Asian Natural Environmental Science Center, The University of Tokyo, Tokyo 113-8657, Japan)

Abstract : There are many resistances to radial water flow in plant root. Water may move from root surface to xylem vessels via apoplastic pathway and cell-to-cell pathway. By using root pressure probe, some measurements suggest that water flow via apoplastic pathway is restricted at hydrophobic tissues (endodermis and exodermis) where Casparian bands and suberin lamellae are developed. However, the water flow might not be completely blocked at these tissues. The hydraulic conductivity in apoplastic pathway of rice root is lower than that of corn root. This may be one reason for lower water uptake rate by rice root system. Although rice root lacks many cortical cells because of development of aerenchyma, the influence of aerenchyma on water flow via cell-to-cell pathway might be very small. Solute permeabilities and reflection coefficients also can be measured by using root pressure probe. Rice root has lower solute permeabilities and reflection coefficients than corn root. This suggests that rice root may not discriminate solute from water strictly but permeabilities of water and solute are restricted simultaneously.

Keywords : Apoplast, Hydraulic conductivity, *Oryza sativa* L., Root pressure, Root pressure probe

はじめに

乾燥した土壌に生育する植物だけでなく, 水が充分にある条件下の植物でさえも蒸散が盛んなときには地上部が水分欠乏状態になることがある (Hirasawa et al. 1992). 根に入った水は植物体内を様々な抵抗を受けながら移動し, 最終的に葉に至る. 植物体全体の水の流れに対する抵抗のうち主要な部分は根系の内部にあることが観察された (Hirasawa and Ishihara 1991). 根系は様々な齢の根と分枝根からなるので, それぞれの水移動に対する抵抗 (本稿ではその逆数である水透過性として示す) を理解することが重要である.

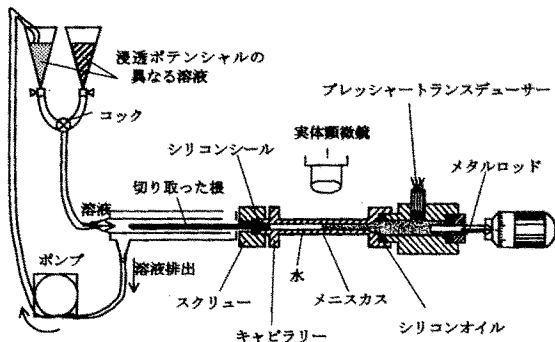
本稿ではルートプレッシャープローブを用い

て測定した根の水や溶質の透過性から考えられた様々な植物種の根の水輸送経路について紹介したい. なお, ルートプレッシャープローブの原理と仕組みについては概説するにとどめる. 詳細は宮本(2003)をご参照いただきたい.

ルートプレッシャープローブを用いた測定

ルートプレッシャープローブは切り取った根の根圧を測定して水や溶質の輸送に関連するパラメータを測定する装置である (第1図). シリコンシールを用いて切り取った根をルートプレッシャープローブに接続し, スクリューを適度に閉めて固定する. 根をルートプレッシャープローブに固定すると積極的吸水によりキャピ

ラリー内に水が入り、数時間後に見かけ上、水の出入りが無い平衡状態に達する。このときのプレッシャープローブ内部の圧力として根圧を測定できる。水耕栽培した幼植物の場合、トウモロコシの1次根では根を固定してから2時間ほどで0.2 MPa程度の根圧を得るが、イネでは同程度の安定した根圧を得るのに5~12時間、マングローブ植物の一種であるヤエヤマヒルギでは1日ほどかかる。このことは詳細な測定を待たずともイネやヤエヤマヒルギの根は相対的に吸水能力が低いことを暗示している。



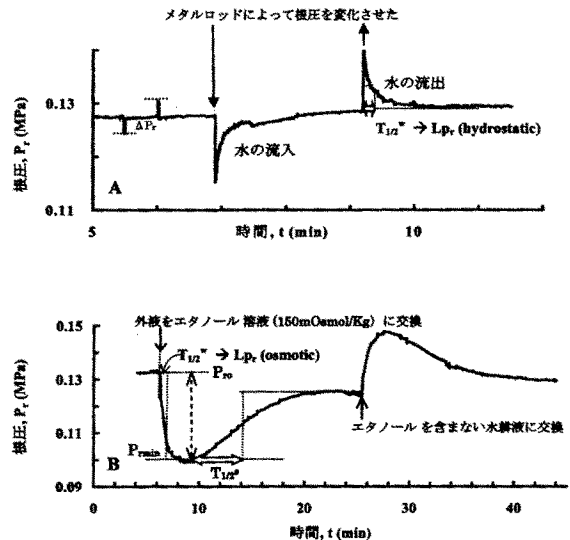
第1図 ルートプレッシャープローブの模式図 (Miyamoto et al. (2001) を改変)。

ルートプレッシャープローブの測定で注意すべき点は第1にシリコンシールの締め付けすぎによる木部導管内の水の流れに対する抵抗の増加である。接続部の抵抗が大きくなると、根の水透過性を過小評価することとなる。シリコンシールによって木部導管の抵抗が大きくなっていないことを測定の最後に確認する。また、根圧の変化にも注意が必要である。根圧自体の日変化もあるが、根の周囲の温度や酸素濃度によっても大きく変化してしまう。測定はふつう数時間かかるので、基準となる根圧が大きく変化しない環境を調える配慮が必要となる。

キャピラリー内部は水とシリコンオイルで満たし、水とオイルとの境界線(メニスカス)を接眼目盛を備えた実体顕微鏡で追跡しながら以下の測定を行う。根の水の流出量はメニスカスの移動距離とキャピラリーの内径から知ることができる。たとえば、メタルロッドを瞬時に第1図の右方向へ動かすと根圧を瞬間的に低下させることができる(第2図A)。その後メニスカスが一定の位置になるようにメタルロッドを操作すると、水が流入して根圧が回復する。この回復曲線からハーフタイム $T_{1/2}^w$ (s) を求め、次式(1)で根の水の透過性 L_p ($m^3 m^{-2} MPa^{-1} s^{-1}$) を計算する:

$$\ln(2)/T_{1/2}^w = A_r \Delta P_r / \Delta V_s L_p \quad (1)$$

A_r (m^2)は根を円柱形として計算した根の表面積、 $\Delta P_r / \Delta V_s$ は系の体積弾性率(根圧の変化量 ΔP_r (MPa)と体積の変化量 ΔV_s (m^3))である。ここで得られた L_p は蒸散流によって引き起こされるような静水圧(hydrostatic pressure)の違いによる水移動であり、本稿では以降 $L_p(hy)$ と表記する。



第2図 ルートプレッシャープローブを用いた測定例 A: 水移動の推進力が静水圧差のとき, B: 水移動の推進力が浸透ポテンシャル差のとき。(Miyamoto et al. (2001) を改変)。

第2図Bは根の周囲の溶液の浸透ポテンシャルを変化させたときに得られる根圧の変化である。浸透ポテンシャルの低い溶液に変えてメニスカスの位置を維持するようにメタルロッドを操作すると、はじめは急激な水の流出による根圧の低下が見られる。この過程の $T_{1/2}^w$ から、水移動の推進力が浸透ポテンシャル(osmotic potential)の差のときの L_p を式(1)に基づいて計算する。これを本稿では $L_p(os)$ とする。メニスカスの位置を維持し続けると次第に根圧が回復する。これは溶質が根の中へ拡散するのに伴って水が流入する過程である。この曲線のハーフタイム($T_{1/2}^s$)から溶質の透過係数 P_{sr} を計算する:

$$\ln(2)/T_{1/2}^s = A_r P_{sr} / V_x \quad (2)$$

V_x (m^3)は成熟木部導管の体積である。

第2図Bの始めの根圧 P_{ro} と根圧の最小値 P_{min} との差および溶液の浸透ポテンシャルの変化量 $\Delta\pi$ 、 P_{min} になるまでの時間 t_{min} からから式(3)によって溶質の反射係数 σ_{sr} を求める。

$$\sigma_{sr} = (P_{ro} - P_{min}) / \Delta\pi \exp(\ln(2) t_{min} / T_{1/2}^s) \quad (3)$$

σ_{sr} は $0 \leq \sigma_{sr} \leq 1$ の間の数値となり、根が水と溶質をどれだけ見分けるかという指標である。根が溶質を水と同様に透過する場合は $\sigma_{sr} = 0$ 、溶質を全く透過せず完全な半透性を示すときは $\sigma_{sr} = 1$ である。

根の放射方向の水移動経路

表皮から木部導管までの水の水移動経路はアポプラスト経路と細胞横断経路(シンプラストまたは細胞を出たり入ったりしながら移動する経路)のふたつが並列に配置している。アポプラスト中には浸透ポテンシャルの勾配が形成されないと考えられる。 $L_p(os)$ は根の内外の浸透ポテンシャルの相違によって生じた水ポテンシャル差に従って水が流れたときの水透過性であるので、この値は主に細胞横断経路を通る水の流れを表していることになる。ここで $L_p(hy)$ と $L_p(os)$ を比較してみるとトウモロコシやタマネギの根では $L_p(hy)$ が $L_p(os)$ よりも数倍大きい。このことは水移動の推進力が静水圧差のとき、水は抵抗の小さいアポプラスト経路を優先的に通ることを示唆する。外皮の発達したトウモロコシの種子根のようにアポプラスト経路の抵抗が大きくなると、 $L_p(os)$ には変化がないが $L_p(hy)$ は小さくなる(Zimmermann and Steudle 1998, Zimmermann et al. 2000)。アポプラストにカスパー線やスペリン層が発達すると疎水性の物質が蓄積するので、アポプラスト経路の水移動が制限されると考えられる。一方、細胞横断経路を流れる水の流れの調節には細胞膜や液胞膜に存在する水チャンネルが大きな役割を果たすと考えられている。たとえばアクアポリン mRNA の発現量の日変化は根の水透過性の日変化と対応し(Henzler et al. 1999)、水チャンネル阻害剤である水銀イオンを根に処理すると水透過性は大きく低下する(Maggio and Joly 1995, Tazawa et al. 1997, Barrowclough et al. 2000)。

イネの根の特徴

種々の根の水透過性を比較してみると(第1表)、イネの根は $L_p(hy)$ がトウモロコシよりも小さく、 $L_p(os)$ とほぼ等しい。イネではトウモロコシに比較してアポプラスト経路の水の移動が大きく妨げられていることが示唆される。このことによってイネの根は充分な量の水を供給できず、地上部が水分欠乏状態になると考えられる。 $L_p(os)$ はイネとトウモロコシとの間に大きな違いはないので、派生通気組織が発達して多くの皮層細胞を失っているにもかかわらず細胞横断経路の水輸送に与える影響は小さいと考えられる(Miyamoto et al. 2001)。また、横断切片の観察からイネの $L_p(hy)$ が小さいのは表皮の内側に明瞭な外皮と厚壁組織が発達するためであると考えられたが、表皮から厚壁組織までの水透過性は根全体の水透過性の30倍も大きく、これらの組織の水の流れに対する抵抗は小さいことが明らかとなり、イネの根においても内皮や中心柱が主要な抵抗部位である可能性が示された(Ranathunge et al. 2003)。オオムギやベニバナインゲンもイネと同様に $L_p(hy)$ が比較的小さく、 $L_p(os)$ とほぼ等しい。これらの根の $L_p(hy)$ はどちらかという樹木の根の値に近い。樹木の根もアポプラスト経路の水移動が制限されていると考えられるが、 $L_p(os)$ は $L_p(hy)$ より2桁も小さい値であり、アポプラスト経路だけでなく細胞横断経路の抵抗が非常に大きいことがわかる。

次に溶質の移動について比較すると、イネやベニバナインゲン、樹木の根はトウモロコシに比べて P_{sr} が小さい(第2表)。このことは水だけでなく溶質の透過性も制限されていることを表している。一方で σ_{sr} はトウモロコシに比較するとイネや樹木の方が小さく、後者の根では溶質は水と区別されずに移動することが示唆される。これは一見矛盾するようであるが、根の表面積に対するアポプラスト経路と細胞横断経

第1表 種々の植物の根の水透過性 (L_p) の比較 (Miyamoto et al. 2001 を改変)

植物種	$L_p(hy)$ ($10^{-8} \text{ m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	$L_p(os)$ ($10^{-8} \text{ m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	$L_p(hy)/L_p(os)$	出典
イネ	2.3~5.0	2.0~10.3	0.7~2.8	Miyamoto et al. (2001)
	3.8~4.0	1.1	3.5~3.6	Ranathunge et al. (2003)
トウモロコシ	10	1.3	7.7	Stedle et al. (1987)
	16	2.3	7	Stedle and Frensch (1989)
	11~18	0.9~1.1	10~20	Zimmermann et al. (2000)
オオムギ	0.3~4.3	0.3~4.3	1	Stedle and Jeschke (1983)
ベニバナインゲン	4.5	5.6	0.8	Stedle and Brinckmann (1993)
タマネギ	14	2	7	Melchior and Stedle (1993)
トウヒ	4.9~7.8	0.02	245~390	Rüdingen et al. (1994)
コナラ属	2.2	0.03	157	Stedle and Meshcheryakov (1996)

路の断面積と水透過性を考慮して次のように考えることができる (Rüdinger et al. 1994). 根の σ_{sr} はアポプラスト経路の反射係数 (0に近い) と細胞横断経路の反射係数 (1に近い) の加重平均となる. アポプラスト経路の断面積は細胞横断経路の断面積よりもはるかに小さいと予想できるが, 樹木のようにアポプラスト経路の水透過性が細胞横断経路の200倍もあるときは根の σ_{sr} に寄与するアポプラストの割合が非常に大きくなり, 値が小さくなる. イネの場合はアポプラスト経路の水透過性は細胞横断経路と同程度に制限されているにもかかわらず σ_{sr} が小さいのはそれぞれの経路の反射係数が小さいのかもしれない. このようにして水と溶質の透過性が小さいと同時に根の反射係数は小さいという状況が起こり得る. 以上のように, イネの根はトウモロコシよりも水や溶質の輸送のアポプラスト経路が制限されており, 根の溶質に対する反射係数は樹木のように小さい. イネの特徴はトウモロコシと樹木の間にあると言えるかもしれない.

イネの根をトウモロコシと比較したとき, もうひとつ特徴的なことがある. それは根端において木部導管の成熟が遅いことである. 水耕栽培したトウモロコシとイネの根ではそれぞれ根端から 20 mm, 40 mm までの部位の木部導管の軸方向の抵抗が非常に大きく, これより基部側に最も吸水の盛んな部位があることが明らかとなっている (Steudle and Frensch 1989, Miyamoto et al. 2001). 導管の成熟を始め形態学的な発達は根の伸長速度と大きな関連があるので単純に比較することには限界があるが, より基部側まで根端に抵抗の大きい部位があることがイネの根系全体の水透過性を低下させている要因のひとつであるかもしれない.

根系の水透過性

以上のようにルートプレッシャープローブを用いた測定は根系を構成する個根の水と溶質の透過性や溶質の選択性についての情報を提供する. 個体の水吸収を理解するためには分枝根の寄与, 根の一生の間の変化, 地上部からの需要・生育環境に応じた水輸送の調節のしくみ (水チャンネルの関与や形態学的な変化) を総合的にとらえる必要がある. セルプレッシャープローブ (Hüsken et al. 1978) を組み合わせればインタクトな細胞の水透過性を直接測定できるので, 根の水チャンネルが個体の水分状態の調節にどのように寄与しているのか知ることができるかもしれない.

謝 辞

本稿をまとめるにあたり東京農工大学農学部教授平沢正先生に有益な助言を頂いた. 記して感謝の意を表します.

引用文献

- Barrowclough, D.E., Peterson, C.A., Steudle, E. 2000. Radial hydraulic conductivity along developing onion roots. *J. Exp. Bot.* 51: 547-557.
- Henzler, T., Waterhouse, R.N., Smith, W.J., Carvajal, M., Cooke, D. T., Schäffner, A. R., Steudle, E., Clarkson, D.T. 1999. Diurnal variations in hydraulic conductivity and root pressure can be correlated with the expression of putative aquaporins in the roots of *Lotus japonicus*. *Planta* 210: 50-60.
- Hirasawa, T., Ishihara, K. 1991. On resistance to water transport in crop plants for estimating water uptake ability under intense transpiration. *Jpn. J. Crop Sci.* 60: 174-183.
- Hirasawa, T., Tsuchida, M., Ishihara, K. 1992. Relationship between resistance to water transport and

第2表 溶質の透過性 P_{sr} と反射係数 σ_{sr} の比較 (Miyamoto et al. 2001 を改変)

植物種	P_{sr} (10^{-8} m MPa $^{-1}$)			σ_{sr}			出典
	NaCl	エタノール	その他	NaCl	エタノール	その他	
イネ	0.3~1.7	0.5~1.8		0.3~0.4	0.06~0.13		Miyamoto et al. (2001)
	ND	ND		0.2	0.04~0.08		Ranathunge et al. (2003)
トウモロコシ	5.7	4.7	1.2 ^a	0.6	0.3	0.5 ^a , 0.7 ^b	Steudle et al. (1987)
	1.1	1.1		0.5	0.3		Steudle and Frensch (1989)
ベニバナインゲン	0.02	0.6		0.59	0.3		Steudle and Brinckmann (1993)
トウヒ	ND	ND		ND	ND	0.2~0.3 ^c	Rüdinger et al. (1994)
コナラ属	ND	ND		0.2~0.3	ND	0.3~0.5 ^b	Steudle and Meshcheryakov (1996)
ヤエヤマヒルギ	0.16	ND		0.1	ND	0.2~0.4 ^d	Maruno et al. (2001)

NDは測定していないことを示す.

^a スクロース, ^b マンニトール, ^c K₂SO₄ など, ^d KCl をそれぞれ溶質として用いた.

- exudation rate and the effect of the resistance on the midday depression of stomatal aperture in rice plants. *Jpn. J. Crop Sci.* 61: 145-152.
- Hüsken, D., Steudle, E., Zimmermann, U. 1978. Pressure probe technique for measuring water relations of cells in higher plants. *Plant Physiol.* 61: 158-163.
- Maggio, A., Joly, R.J. 1995. Effects of mercuric chloride on the hydraulic conductivity of tomato root systems. *Plant Physiol.* 109: 331-335.
- Maruno, Y., Miyamoto, N., Mitsuhashi, Y., Ookawa, T., Hirasawa, T. 2001. Properties of excised roots of the mangrove *Rhizophora stylosa* Griff. in NaCl transport. Proceedings of the 6th symposium of the international society of root research. 268-269.
- Melchior, W., Steudle, E. 1993. Water transport in onion (*Allium cepa* L.) roots. Changes of axial and radial hydraulic conductivities during root development. *Plant Physiol.* 101: 1305-1315.
- Miyamoto, N., Steudle, E., Hirasawa, T., Lafitte, R. 2001. Hydraulic conductivity of rice roots. *J. Exp. Bot.* 52: 1835-1846.
- 宮本直子 2003. 植物の根に関する諸問題 [120] 根の水の透過性. 農業および園芸 (印刷中)
- Ranathunge, K., Steudle, E and Lafitte, L. 2003. Control of water uptake by rice (*Oryza sativa* L.): role of the outer part of the root. *Planta* (in press).
- Rüdinger, M., Hallgren, S.W., Steudle, E., Schulze, E-D. 1994. Hydraulic and osmotic properties of spruce roots. *J. Exp. Bot.* 45: 1413-1425.
- Steudle, E., Brinckmann, E. 1989. The osmometer model of the root: water and solute relations of roots of *Phaseolus coccineus*. *Bot. Acta* 102: 85-95.
- Steudle, E., Frensch, J. 1989. Osmotic responses of maize roots. *Planta* 177: 281-295.
- Steudle, E., Jeschke, W.D. 1983. Water transport in barley roots. Measurements of root pressure and hydraulic conductivity of roots in parallel with turgor and hydraulic conductivity of root cells. *Planta* 158: 237-248.
- Steudle, E., Meshcheryakov, A.B. 1996. Hydraulic and osmotic properties of oak roots. *J. Exp. Bot.* 47: 387-401.
- Steudle, E., Oren, R., Schulze, E-D. 1987. Water transport in maize roots. Measurement of hydraulic conductivity, solute permeability, and of reflection coefficients of excised roots using the root pressure probe. *Plant Physiol.* 84: 1220-1232.
- Tazawa, M., Ohkuma, E., Shibasaki, M., Nakashima, S. 1997. Mercurial-sensitive water transport in barley roots. *J. Plant Res.* 110: 435-442.
- Zimmermann, H.M., Steudle, E. 1998. Apoplastic transport across young maize roots: effect of the exodermis.
- Zimmermann, H.M., Hartmann, K., Schreiber, L., Steudle E. 2000. Chemical composition of apoplastic transport barriers in relation to radial hydraulic conductivity of corn roots (*Zea mays* L.). *Planta* 210: 302-311.