トマトの根におけるカルシウムイオン吸収の水吸収 および呼吸への依存性

荒木 卓哉^{1) 2)}・吉田 敏¹⁾・北野 雅治¹⁾

1) 九州大学生物環境調節センター 2) 日本学術振興会特別研究員

要 旨：トマトの茎の基部における木部滲泌液の出液速度と Ca^{2+} 濃度から根の Ca^{2+} 吸収速度を評価し、 Ca^{2+} 吸収の水吸収および根の呼吸への依存性について検討した。明期における出液速度は、基部切断前の地上部蒸散速度の約3分の1で、暗期に比べ2～5倍高かった。また、滲泌液の Ca^{2+} 濃度は培養液中の Ca^{2+} 濃度よりも3～4.5倍高く、暗期の約1.5倍であった。これらのことから、明期の Ca^{2+} 吸収速度は、暗期よりも3～5.5倍大となった。明期において、蒸散流を抑制した個体においては切断後の出液速度が低下し、根の呼吸を抑制した個体においては出液速度および Ca^{2+} 濃度が低下した。その結果、 Ca^{2+} 吸収速度は低下した。暗期における低い Ca^{2+} 吸収速度は、暗期の根の呼吸を高めても促進されなかった。以上のことから、明期における Ca^{2+} 吸収は、根の水吸収および呼吸によって律速される一方、暗期においては根の呼吸が Ca^{2+} 吸収の律速要因とはならなかった。このように、カルシウム吸収が根の水吸収および呼吸に依存することについて、 Ca^{2+} チャンネルおよび Ca^{2+} ポンプを有する内皮の機能に関連させて考察した。

キーワード：トマト、 Ca^{2+} 吸収、木部滲泌液、水吸収、呼吸

緒 言

カルシウムは、細胞壁および原形質膜を安定させ、膜透過性を維持するのに必要であり (Ho, 1990; Ho et al., 1993), 果実の末端における局所的なカルシウム欠乏は尻腐れの原因となっている。カルシウムは師管において難移動性で、植物個体内における分配は木部の蒸散流によっておこなわれる。したがって、根の木部連絡を経由したカルシウム輸送分配は、果実へのカルシウム集積を制御する重要なプロセスである (Ehret and Ho, 1986; Adams, 1988; Ho, 1988, 1990; Ho et al., 1993; Tachibana, 1993; Ho and Hand, 1996)。

根における Ca^{2+} 吸収について、カスパー線が存在する内皮の重要な役割を示したモデルが Clarkson によって提唱されている (1984, 1991)。このモデルでは、内皮細胞における Ca^{2+} 輸送がカスパー線より皮層側の膜 (外膜) の Ca^{2+} チャンネルと中心柱側の膜 (内膜) の Ca^{2+} ポンプの調節によって特徴化されている。蒸散流によって輸送される Ca^{2+} は皮層のアポプラストを経由し、内皮外膜の Ca^{2+} チャンネルを通過して内皮細胞の細胞質に入る (Sanders, 1986)。その後、 Ca^{2+} は内皮内膜の Ca^{2+} ポンプによって中心柱のアポプラストへと

くみ出される (Ginnini et al., 1987)。その結果、内皮細胞内の Ca^{2+} の流入と流出の均衡を保つことで、内皮の細胞質内の Ca^{2+} 濃度は低い濃度に維持されている。内皮から中心柱のアポプラストへとくみ出された Ca^{2+} は蒸散流によって木部へと輸送される。これらの過程は根におけるカルシウムの吸収を制御していると考えられる (Clarkson, 1984, 1991)。

根における水やイオンの吸収と輸送に関する機能を調べるにあたって、地上部を切除して基部切断面からの木部滲泌液を解析する方法は、出液速度が個体間でばらつきやすいことが指摘されているものの、有効で簡便な手法のひとつとして見直されている (山口ら, 1995)。 Ca^{2+} 吸収に関しても、根の出液が適した指標になり得ることが報告されている (Ehret and Ho, 1986; Ho et al., 1993)。そこで、本研究では明期あるいは暗期において、茎の基部を切断した時の根の木部滲泌液の出液速度と Ca^{2+} 濃度を計測することにより、根の水吸収および呼吸に対するカルシウム吸収能力の依存性を調べ、内皮の役割に関連させて考察した (Kitano et al., 1999)。

材料および方法

実験材料

材料植物として、トマト (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 品種「ハウス桃太郎」を用い、ファイトトロンガラス室 (気温23/18℃, 相対湿度70%) において水耕ポット (13L) で栽培した。また、第二果房開花直前に、第一果房の上位2葉を残して摘心した。培養液としては、大塚ハウス肥料1号および2号を2:1の割合で混合した A 処方液を標準濃度の1/2単位で用いた (NO_3^- , 7.6; NH_4^+ , 0.8; H_2PO_4^- , 0.8; K^+ , 3.7, Ca^{2+} , 1.8; Mg^{2+} , 0.9 mmol L⁻¹)。

根部溢泌液の解析

開花後21日から30日経過した植物体を人工照明グロースキャビネット (PPFD 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12時間日長 (6:00-18:00), 気温20℃, 相対湿度70%) に搬入した。培養液は生育時と同様の上記の濃度条件とした。

地上部の切除と溢泌液の測定は明期12:00および暗期0:00に開始した。まず、子葉の2cm下で茎の基部を切断し、基部側の切り口にゴム管を装着した。切断直後、ただちに出液が認められたが、液中に破壊細胞からの細胞質が溢泌液に混入することを避けるために、切断直後から5分間の溢泌液を取り除いた。その後、出液速度の計測と溢泌液の採取を明期では5~7分間隔で、暗期では10~13分間隔でおこなった。溢泌速度 (J_w ; $\mu\text{L s}^{-1}$) は、ゴム管内の溢泌液の水位を計測し、ゴム管内の溢泌液の採取には、マイクロシリンジを用いた。

溢泌液の Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]$; $\mu\text{mol L}^{-1}$) は、簡易反射光度計 (RQ flex plus, Merck, Germany) および分析用試験紙 (Refrectoquant Calcium-Test, Merck, Germany) を用いて測定し、出液速度と Ca^{2+} 濃度の積で根部の Ca^{2+} 吸収速度 (J_{Ca} ; nmol L⁻¹) を評価した。

根における水吸収と呼吸の処理

ここでは、根部の Ca^{2+} 吸収に対する水吸収と根の呼吸の影響を調べた。まず、明期において活発に蒸散している植物体と比較するために、明期における根部の水吸収を抑制した。また、根の呼吸については明期における抑制および暗期における促進をおこなった。

まず、明期における根の水吸収を抑えるために、実験開始6時間前に地上部全体を透明なポリエチレンフィルムで覆い、蒸散を抑制した。

明期における測定中の根の呼吸を抑制するために、水耕ポットをプラスチックフィルム

で覆って密閉し、培養液中に窒素ガスを注入することで、培養液中の溶存酸素濃度を9.4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 以下の低溶存酸素条件とした。

逆に暗期中の測定中の根の呼吸を促進させる際は、測定開始2時間前に培養液中にスクロースを添加して、培養液のスクロース濃度を1%とした。この時の呼吸速度 (J_{O_2} ; $\mu\text{mol O}_2 \text{ plant s}^{-1}$) は、培養液を測定開始前まで十分に通気した後に水耕ポットを密閉し、培養液の溶存酸素濃度の減少速度から評価された。

結果と考察

図1に明期および暗期における J_w , $[\text{Ca}^{2+}]$ および J_{Ca} の切断直後からの経時変化を示す。明期の J_w は切断後60分以内に切断直後の約半分まで低下した。また、切断60分後の J_w は蒸散速度の1/3程度となった。一方、暗期の J_w は切断直後から約1.4 $\mu\text{L s}^{-1}$ で安定しており、明期の J_w の20~50%であった。 $[\text{Ca}^{2+}]$ は、切断直後において明期および暗期との間に有意な差は認められなかった。また、溢泌液中の $[\text{Ca}^{2+}]$ は、培養液中の $[\text{Ca}^{2+}]$ (1.8 mmol L⁻¹) より3~4.5倍高かった。しかし、明期中の $[\text{Ca}^{2+}]$ は、切断後60分以内に切断直後の約1.5倍まで上昇し、切断直後の濃度を維持した暗期中の $[\text{Ca}^{2+}]$ の約1.5倍となった。明期における切断後の $[\text{Ca}^{2+}]$ の上昇は、切断後の根部の水吸収の減少にともなう希釈効果によるも

第1図 明期および暗期における出液速度 (J_w), Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]$) および Ca^{2+} フラックス (J_{Ca}) の経時変化。
(Kitano et al., 1999)

第2図 明期における出液速度 (J_w), Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]$) および Ca^{2+} フラックス (J_{Ca}) に対する地上部蒸散抑制処理 (被覆) の影響.
(Kitano et al., 1999)

のと思われる。したがって、 J_w と $[\text{Ca}^{2+}]$ の積で評価される J_{Ca} は、明期において暗期よりも3～5.5倍大となった。これらのことは、根部の Ca^{2+} 吸収速度が明期において暗期よりも著しく速いことを示唆している。

根部の水吸収に対する明期中の高い Ca^{2+} 吸収速度の依存性について、地上部をポリエチレンフィルムで覆い、蒸散を抑制することで調べた。図2に蒸散を抑制した場合と抑制しない場合の J_w , $[\text{Ca}^{2+}]$ および J_{Ca} の切断直後からの経時変化を示す。蒸散を抑制した場合の J_w は、蒸散を抑制しない場合の J_w よりも低かった。

$[\text{Ca}^{2+}]$ については蒸散の抑制の効果は認められなかった。蒸散を抑制した個体の $[\text{Ca}^{2+}]$ は約 5.0 mmol L^{-1} と低く、これは暗期の $[\text{Ca}^{2+}]$ とほぼ同程度となったものの (図1), 培養液中の $[\text{Ca}^{2+}]$ より約3倍高かった。したがって、 J_{Ca} は蒸散を抑制することで著しく抑制された。この結果は、明期においては根の表面から木部までの蒸散流の強さが、木部への Ca^{2+} の流入を制御する要因の一つであることを示唆している (Ehret and Ho, 1986; Ho, 1988; Adams and Ho, 1993; Ho et al., 1993)。

木部溢泌液の Ca^{2+} は濃縮され、培養液中の濃度より約3倍高かった (図1, 2)。このことは、 J_{Ca} は溢泌速度 (J_w) だけでなく、木部液の濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]$) にも依存し、 Ca^{2+} を根部の表皮か

第3図 明期における出液速度 (J_w), Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]$) および Ca^{2+} フラックス (J_{Ca}) に対する根の呼吸抑制処理 (酸素欠乏) の影響.
(Kitano et al., 1999)

ら木部までの汁液流へ送り出す能動的な生理学的過程があることを示唆している。そこで、明期における根部の Ca^{2+} 吸収に対する根の呼吸の影響を低溶存酸素条件下において調べた。図3に低溶存酸素条件下における J_w , $[\text{Ca}^{2+}]$ および J_{Ca} の切断直後からの経時変化を示す。明期中の J_w および $[\text{Ca}^{2+}]$ は、根部の呼吸の抑制によって有意な低下を示した。とくに、根の呼吸を抑制した時には、木部液中の Ca^{2+} は有意に濃縮され、切断後40分間の木部液中の $[\text{Ca}^{2+}]$ は、培養液中の $[\text{Ca}^{2+}]$ と同程度であった。これに対して、十分に根部の呼吸がおこなわれている時の木部液中の $[\text{Ca}^{2+}]$ は、培養液中の $[\text{Ca}^{2+}]$ よりもつねに約3倍高かった。根の呼吸が抑制された個体の J_{Ca} は、 J_w および $[\text{Ca}^{2+}]$ の低下によって著しく低くなった。このことは、根部の Ca^{2+} 吸収が根部の木部液中の Ca^{2+} 濃度に寄与する呼吸に依存した輸送過程に依存していることを示唆している。したがって、明期における根部の高い Ca^{2+} 吸収速度は、蒸散流だけでなく根部における汁液流の呼吸に依存した Ca^{2+} の送り出しを要求するものであることを示唆している。

暗期にみられた Ca^{2+} 吸収の律速要因を確かめるために、暗期において培養液にスクロースを添加し、根の呼吸を促進した時の Ca^{2+} 吸収への影響を調べた。図4に、暗期における J_{O_2} に

第4図 明期および暗期における根の呼吸速度 (J_{O_2}) と暗期の根の呼吸速度へのスクロース添加処理の影響。(Kitano et al., 1999)

対するスクロースの添加の影響を示す。スクロースを添加しなかった培養液においては、暗期の J_{O_2} は明期より有意に低かった。しかし、スクロースの添加によって暗期の J_{O_2} は促進された。図5に1%スクロースを添加した時としなかった時の J_w , $[Ca^{2+}]$ および J_{Ca} の切断直後からの経時変化を示す。いずれにおいてもスクロース処理の影響は見られなかった。このことから、溶存酸素が十分に供給されている状態での暗期の根の呼吸は Ca^{2+} 吸収の律速要因になっていないことが示唆された。

根の Ca^{2+} 吸収速度は明期において暗期より高かった。これは根部の水吸収と汁液中の Ca^{2+} 濃度が高いことによるものである (Ho et al., 1993)。根表面から中心柱までの水と溶質の移動経路において、内皮細胞を横切る移動は皮層から木部までの水および溶質の輸送に重要な役割を果たしている。なぜなら、内皮細胞には水と溶質を透過させないカスパー線があるからである。皮層から中心柱までの内皮を横切る Ca^{2+} 輸送を説明する Clarkson (1984, 1991) のモデルによると、アポプラストにおける蒸散流は、内皮の皮層側の細胞膜にある Ca^{2+} チャンネルを通した内皮細胞質へのカルシウムの流入と中心柱のアポプラストから道管への Ca^{2+} の流入に寄与する。また、内皮の中心柱側の細胞膜にあるエネルギーに依存した Ca^{2+} ポンプは、木部液のカルシウム濃度を外液 (培養液) や細胞質内よりも高めることに寄与している。この内皮細胞内の Ca^{2+} 濃度を低い適値に保つためには、蒸散流にともなう Ca^{2+} チャンネルを通した Ca^{2+} の流入と Ca^{2+} ポンプによる中心柱へ

のくみ出しが平衡される必要がある。したがって、明期にみられた高い Ca^{2+} 吸収速度を保つためには、内皮細胞を横切る Ca^{2+} の高い交換速度が要求される。これは根の活発な水吸収と十分な呼吸によって維持される。一方、暗期においては水吸収が不活発であるために、内皮へのカルシウムの供給が低下したものと考えられる。以上のように、木部溢泌液の出液速度と Ca^{2+} 濃度の解析結果および根の内皮細胞における Ca^{2+} 輸送機能のモデルに基づいて、トマト根の Ca^{2+} 吸収が根の水吸収と呼吸に依存することが実証された。

第5図 暗期における出液速度 (J_w)、 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]$) および Ca^{2+} フラックス (J_{Ca}) に対する根の呼吸促進処理 (スクロース添加) の影響。(Kitano et al., 1999)

引用文献

- Adams, P. 1988. Some effects of root temperature on the growth and calcium status of tomatoes. *Acta Hort.* 222: 167-172.
- Adams, P., Ho, L.C. 1993. Effects of environment on the uptake and distribution of calcium in tomato and the incidence of blossom-end rot. *Plant Soil* 154: 127-132.
- Clarkson, D.T. 1984. Calcium transport between tissues and its distribution in the plant. *Plant Cell Environ.* 7: 449-456.
- Clarkson, D.T. 1991. Root structure and sites of ion uptake. Y. Waisel, A. F., Kafkafi, U. eds., *Plant Roots*. pp 417-453.

- Ehret, D.L., Ho, L.C. 1986. Translocation of calcium in relation to tomato fruit growth. *Ann. Bot.* 58: 679-688.
- Ginnini, J.L., Ruiz-Cristin, J., Briskin, D.P. 1987. Calcium transport in sealed vesicles from red beet (*Beta vulgaris* L.) Storage tissue. *Plant Physiol.* 85: 1137-1142.
- Ho, L.C. 1988. The physiological basis for improving dry matter content and calcium status in tomato fruit. *J. Appl. Agr. Res.* 3: 275-281.
- Ho, L.C. 1990. Mechanism of calcium transport in tomato. *J. Sci. Food Agr.* 50: 431-432.
- Ho, L.C., Belda, R., Brown, M., Andrews, J., Adams, P. 1993. Uptake and transport of calcium and the possible causes of blossom-end rot in tomato. *J. Exp. Bot.* 44: 509-518.
- Ho, L.C., Adams, P., Li, X.Z., Shen, H., Andrews, J., Xu, Z.H. 1995. Responses of Ca-efficient and Ca-inefficient tomato cultivars to salinity in plant growth, calcium accumulation and blossom-end rot. *J. Hort. Sci.* 70: 909-918.
- Ho, L.C., Hand, D.J. 1996. Cultivar and cultural aspects of the prevention of blossom-end rot in tomato and pepper. In *Proceeding of 9th International Congress of Soilless Culture*, Jersey. pp.197-205
- Kitano, M., Araki, T., Yoshida, S., Eguchi, H. 1999. Dependence of calcium uptake on water absorption and respiration in roots of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Biotronics* 28: 121-130.
- Sanders, M.J. 1986. Calcium mediation of cytokinin-induced cell division. Trewavas, A.J. ed., *Molecular and Cellular Aspects of Calcium in Plant Development*. pp.185-192.
- Tachibana, S. 1988. The influence of withholding oxygen supply to roots by day and night on the blossom-end rot of tomatoes in water culture. *Soilless Cult.* 4: 41-50.
- 山口武視, 津野幸人, 中野淳一, 真野玲子 1995. 水稻の茎基部からの出液速度の関与する要因の解析. *日作紀* 64: 703-708.

Title: Dependence of calcium uptake on water absorption and respiration in roots of tomato plants.

Authors: Takuya ARAKI¹⁾²⁾, Satoshi YOSHIDA¹⁾ and Masaharu KITANO¹⁾

1) Biotron Institute, Kyushu University

2) Research fellow of the Japan society for the promotion of science