

葉の水分特性の測定

P - V曲線法

誌名	日本林學會誌 = Journal of the Japanese Forestry Society
ISSN	0021485X
著者名	丸山,温 森川,靖
発行元	日本林學會
巻/号	65巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 23-28
発行年月	1983年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



短 報

葉の水分特性の測定

— P - V 曲線法*—

丸山 温**・森川 靖**

I. はじめに

古くから植物細胞の水分状態を表現するのに使われてきた浸透圧 (osmotic pressure, OP), 拡散圧不足 (diffusion pressure deficit, DPD), 膨圧 (turgor pressure, TP) の概念(5)は熱力学的に不十分であり, SLATYER & TAYLOR(14)は, 水の化学ポテンシャルから導いた水ポテンシャルの概念を提唱した。以後, 浸透圧は浸透ポテンシャル (osmotic potential, ψ_s), 拡散圧不足は水ポテンシャル (water potential, ψ_w), 膨圧は圧ポテンシャル (pressure potential, ψ_p) に用語が変更された。これらを表わす記号はほかにもいくつかの種類があるが(13), ここでは ψ_s , ψ_w , ψ_p を用いた。

これらの関係を式で表わすと,

$$DPD = OP - TP \quad (1)$$

$$\psi_w = \psi_s + \psi_p \quad (2)$$

となる。 ψ_s と OP, ψ_w と DPD は符号が逆だが絶対値は等しい (図-1 (a), (b))。現在, この水ポテンシャルの概念は, 生理生態分野で広く定着している。

SCHOLANDER ら(11, 12)は, プレッシャーチェンバーを用いた葉条枝の樹液圧 (xylem sap pressure, P) の測定から, 植物細胞の相対含水率(18) (relative water content, RWC) と樹液圧の間に特徴ある関係を見いだした。この樹液圧 (P) と相対含水率 (RWC) の関係について, 一方の値を逆数にして図示したものが P - V 曲線 (pressure-volume curve) である。

P - V 曲線から, ψ_w , ψ_s , ψ_p , RWC などの相互関係や, 細胞が膨圧を失って初発原形質分離をおこすときの水ポテンシャル (ψ_w^{tlp} , tlp: turgor loss point), 浸透ポテンシャル (ψ_s^{tlp}) および相対含水率 (RWC^{tlp}), 十分吸水したときの浸透ポテンシャル (ψ_s^{sat} , sat: saturated) など, 植物細胞の水分特性を知るうえで重要な諸数値が比較的容易にえられる。

ここでは, P - V 曲線によってえられる植物細胞の水分特性と P - V 曲線の作り方について, いくつかの実測例とあわせて紹介する。

II. P - V 曲線

SCHOLANDER ら(11, 12)は, 十分吸水させた葉条枝を切り口を外に出してプレッシャーチェンバーに入れ, 徐々に圧を加えて, 切り口から出てくる樹液量 (V_o) と樹液圧 (P) を測定した。その結果, V_o と $1/P$ の間に図-2 にみられるような曲-直線の関係を与えて, 図-2 の直線部分の樹液圧 (P) が, 圧ポテンシャル (ψ_p) がゼロのときの浸透ポテンシャル (ψ_s) に等しいことを明らかにした。

植物細胞の ψ_s は, van't HOFF の浸透圧の法則から

$$\psi_s = -\frac{RTN}{V} \quad (3)$$

N : 細胞内液の溶質モル数

V : 細胞内液の体積

R : ガス定数

T : 絶対温度

の式で表わされる。TYREE & HAMMEL (15)は, (3) 式に ψ_p の項を加え, それを多くの細胞からなる組織にあてはめて, 図-2 の P が,

$$|P| = -\frac{RTN_s}{V} - \frac{F(V)}{V} \quad (4)$$

$$|1/P| = \frac{V}{RTN_s - F(V)} = \frac{V_o - V_e}{RTN_s - F(V)} \quad (5)$$

V_o : 十分吸水したときの全細胞内液量

V_e : V_o から失われる水の量

V : $V_o - V_e$

N_s : V_o 中の全溶質モル数

$F(V)$: $\psi_p \times V = \psi_p \times (V_o - V_e)$

の式で表わされることを証明した。(4) 式は,

$$\left. \begin{aligned} P &= -\frac{RTN_s}{V} + \frac{F(V)}{V} \\ &= \psi_s + \psi_p \\ &= \psi_w \end{aligned} \right\} \quad (6)$$

となり, (2) 式と一致する。すなわち, 図-2 の曲線部分の P は

$$P = \psi_w = \psi_s + \psi_p \quad (7)$$

直線部分とその延長の P は,

* Yutaka MARUYAMA & Yasushi MORIKAWA: Measurement of leaf water relations using the pressure-volume technique

** 林業試験場 For. & For. Prod. Res. Inst., P.O.Box 16, Tsukuba Nōrinkenkyū-danchi, Ibaraki 305

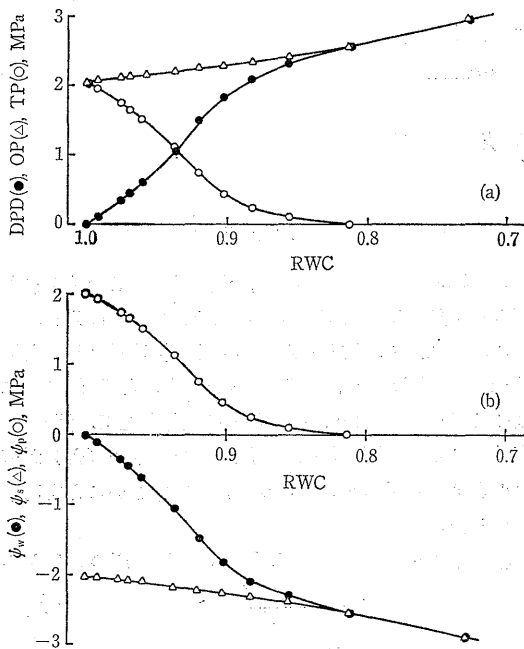


図-1. ミズナラ (林試樹木園 7月28日) の (a) DPD, OP, TP と RWC との関係, (b) ψ_w , ψ_s , ψ_p と RWC との関係

$$P = \psi_s \quad (8)$$

となる。

P - V 曲線を作成するとき、横軸に V_o , V_e , V_t (図-2 参照) などの絶対量をとると、試料の大きさや種による変動が大きい。そこで、横軸には相対含水率 (RWC) または相対自由水量 (3) (free water content, FWC) をとる。RWC, FWC (図-2 中の F) は、

$$RWC = (V_t - V_e) / V_t \quad (9)$$

$$FWC = (V_o - V_e) / V_o \quad (10)$$

として求める。

P - V 曲線の描き方には 2 通りの方法があり、たて軸に ψ_w , 横軸に $1/RWC$ をとれば、もう一つの P - V 曲線がえられる (図-3)。いずれも、直線部分の延長とたて軸との切片 A から ψ_s^{sat} , 曲線と直線の境界点 B から $\psi_w^{t1p} (= \psi_s^{t1p})$, RWC^{t1p} の値がえられる (図-2, 3)。 P - V 曲線から ψ_s , ψ_p を読みとり、 ψ_w とあわせてたて軸にポテンシャル, 横軸に RWC をとってこれらの関係を図示すれば、図-1 (b) がえられる。

図-3 の P - V 曲線は、たて軸にポテンシャルの値をそのままとっているので、図-2 にくらべて ψ_w , ψ_s , ψ_p などが読みとりやすい。しかし、 $V_o \neq V_t$ のとき、図-2 の直線 AD は、

$$1/\psi_s = a \cdot RWC + b \quad (11)$$

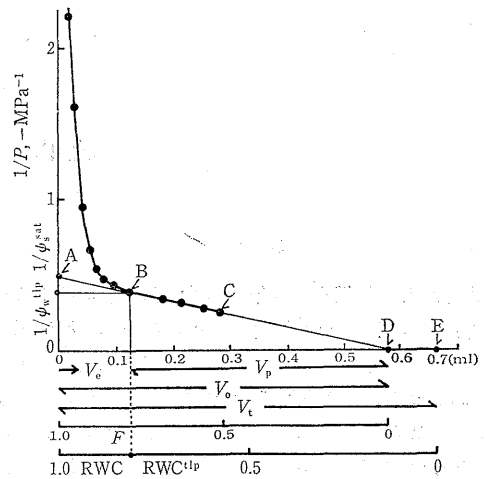


図-2. ミズナラ (林試樹木園 7月28日) の P - V 曲線

E : (十分吸水したときの葉の重量) - (葉の絶乾重) = V_t , V_e : 葉から失われる水の量, V_o : 十分吸水したときの全細胞内液量, V_t : 十分吸水したときの全水分量, V_p : 初発原形質分離をおこすときの全細胞内液量, F : 相対自由水量 (free water content), RWC: 相対含水率 (relative water content)

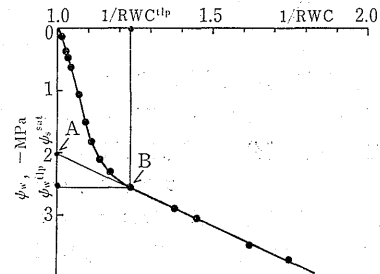


図-3. ミズナラ (林試樹木園 7月28日) の P - V 曲線

a, b : 定数

とおけるが, (11) 式は,

$$\psi_s = (1/RWC) / (a + b \cdot 1/RWC) \quad (12)$$

となり、 ψ_s と $1/RWC$ とは、厳密には双曲線の関係になる。そのため、 ψ_s , ψ_p , ψ_s^{sat} などの値が図-2 の P - V 曲線からえられる値と異なる (8, 16)。 V_o と V_t のちがいが大きくなるほどこれらの値のちがいが大きくなるので、この点については注意を要する。図-4 にその顕著な例を示した。図4 (a) の直線 AB は、図-4 (b) 上で曲線 $A'B'$ となる。なお、図-3 の P - V 曲線で、横軸に $1/FWC$ をとれば、図-2 の直線 AD は

$$1/\psi_s = a' \cdot FWC \quad (13)$$

a' : 定数

すなわち、

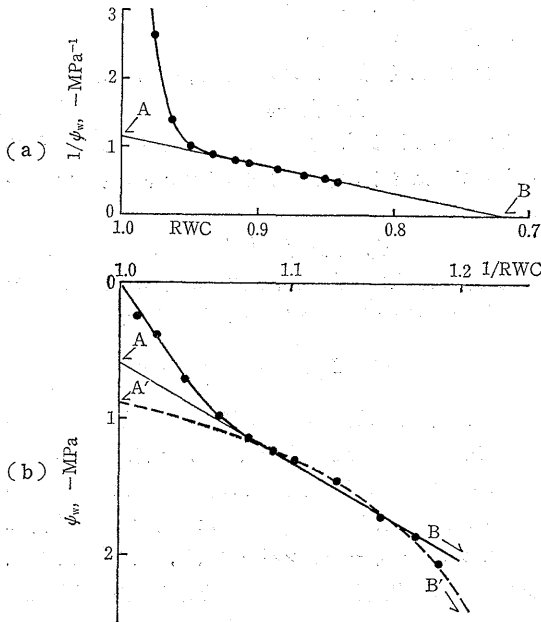


図-4. ミズキ(栃木県民の森 6月3日)の
P-V 曲線

図(a)の直線 AB を図(b)上にとれば、曲線 A'B' となる。

$$\psi_s = 1/a' \cdot 1/FWC \quad (14)$$

となり、 ψ_s と $1/FWC$ は直線関係になるので、 ψ_s 、 ψ_p 、 ψ_s^{sat} などの値のズレはおこらない。

1. 細胞の体積弾性率 ϵ (bulk modulus of elasticity)

体積弾性率 ϵ が小、すなわち柔軟で弾性に富んだ細胞壁をもつ細胞では、水分の低下に対して細胞壁が急速に収縮するため、膨圧の低下の割合は小さい。逆に ϵ が大、すなわち強く弾性に乏しい細胞壁をもつ細胞では、水分の低下に対する細胞の収縮が小さく、急激に膨圧が低下する。その結果、前者は後者にくらべ、水分の低下に対する水ポテンシャルの低下の割合も小さい(図-5)。

この体積弾性率 ϵ は、膨圧変化と体積変化の関係から求められる。

TYREE & HAMMEL(15) は、

$$\psi_p = \epsilon \left(\frac{V_o - V_e - V_p}{V_p} \right)^n \quad (15)$$

すなわち

$$\ln \psi_p = \ln \epsilon + n \cdot \ln \left(\frac{V_o - V_e - V_p}{V_p} \right) \quad (16)$$

として ϵ を求めた。WARREN-WILSON(17) は、 ψ_p と RWC の関係の傾き α から

$$\epsilon = RWC^{1/p} \cdot \tan \alpha \quad (17)$$

とした。ほかに

$$\psi_p = \psi_p^{max} \cdot \exp(-\alpha \cdot V_e/V_o) \quad (18)$$

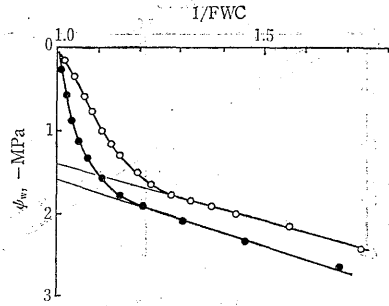


図-5. イタヤカエデ(○栃木県民の森 6月3日)とマテバジイ(●林試 構内 6月17日)の
P-V 曲線
 ϵ (イタヤカエデ) < ϵ (マテバジイ)

表-1. 四つの異なった方法により求めたマテバジイ(林試 構内 6月17日)とイタヤカエデ(栃木県民の森 6月3日)の細胞の体積弾性率 ϵ (MPa)

Eq. no.	(15, 16)	(17)	(18, 19)	(20)
マテバジイ	44.7	28.0	16.0	37.2
イタヤカエデ	14.1	8.8	6.1	8.6

$$\epsilon = \alpha \cdot \psi_p \quad (19)$$

として求める方法(3)や、膨潤状態に近い細胞の ψ_p から

$$\epsilon_{max} = d\psi_p/d \left(\frac{V_o - V_e - V_p}{V_p} \right) \quad (20)$$

として求める方法(2)などがある。

図-5 のマテバジイとイタヤカエデについて、以上の方法から求めた ϵ の値を表-1 に示した。

植物細胞では、膨圧変化と体積変化の比が一定でないため、求める方法によって ϵ の値は異なってくる。しかし、いずれの方法でも、 ϵ (マテバジイ) > ϵ (イタヤカエデ) の傾向はかわらない。

2. アポプラスト水 (apoplastic water) または結合水 (bound water)

$1/\psi_s \rightarrow 0$ すなわち $\psi_s \rightarrow -\infty$ のとき、細胞内の浸透ポテンシャルに関与している水はゼロになるが、葉内にはまだ $(V_t - V_o)$ に相当する水が残されている(図-2)。また、超低温で凍結死させた葉の浸透ポテンシャル(ψ_s^{killed} 、さく汁液を米国ウェスカー社製浸透圧計にて測定)は、生葉のそれとくらべて高い値を示し(図-6)、 ψ_s^{killed} を ψ_s と等しくするには、図中の矢印に相当するだけの水を葉から除かなければならない(8)。

ここで、(3) 式から仮に

$$\psi_s^{killed} = -\frac{RTN'}{V'} \quad (21)$$

$$\psi_s = -\frac{RTN''}{V''} \quad (22)$$

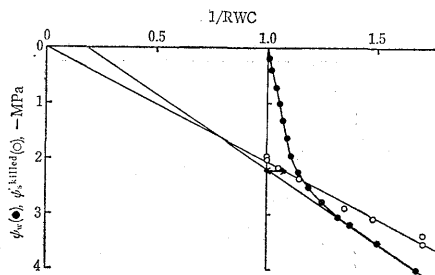


図-6. スギ(林試苗畑 11月17日)の P - V 曲線 (●)と、凍結死させた場合の浸透ポテンシャルと含水率の関係 (○)

図中の矢印は、結合水量またはアポプラスト水量を示す。

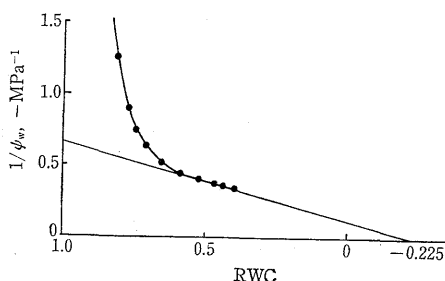


図-7. ヒノキ(林試苗畑 6月17日)の P - V 曲線

とおく。殺すことで全細胞内液中に含まれる溶質モル数に変化がないとすれば、

$$N' = N'' \quad (23)$$

となる。また、図-6 から

$$\psi_s^{\text{killed}} > \psi_s \quad (24)$$

なので、(21)~(24) 式から

$$V' > V'' \quad (25)$$

すなわち、葉の細胞を殺すことで $(V' - V'')$ に相当する水が、浸透ポテンシャルに関与している細胞内液に新たに加わることになる。

以上のことから、生きた葉の組織には、浸透ポテンシャルに関与している細胞内液以外にも水が存在していることになる。この水は、“シンプラズム水 (symplastic water)” に対して “アポプラスト水 (apoplastic water)”, “自由水 (free water)” に対して “結合水 (bound water)” とよばれている。ただし、“結合水” という用語は、化学結合している水という誤解をまねくおそれもあり、アポプラスト水とよぶほうが妥当と思われる。

アポプラスト水の量は、 $V_t - V_o$ (図-2) または ψ_s^{killed} と ψ_s (図-6) から求められる。しかし、前者の場合、矛盾する実測例もある (図-7)。また、後者の場合も、アポプラスト水中に含まれる溶質量や、組織を殺すこと

によって細胞内外に生じる変化をすべて無視しているなどの問題点が残されている。

なお、膨圧 (= 圧ポテンシャル ψ_p) は、(2) 式から

$$\psi_p = \psi_w - \psi_s \quad (26)$$

として求められるが、葉の水ポテンシャル ψ_w と、それを殺してえたさく汁液の浸透ポテンシャル ψ_s^{killed} から、

$$\psi_p = \psi_w - \psi_s^{\text{killed}} \quad (27)$$

として膨圧を求める方法は、すでに述べたように ψ_s へ ψ_s^{killed} (図-6) であることから、誤りと考えられる。

III. P - V 曲線の作成方法

試料は枝ごと水切りをして実験室にもち帰り、袋をかぶせて一晚吸水させる。十分吸水した試料から、葉の大きさ、形態に応じて単葉もしくは軸を含めた複数葉を切りとり、測定に用いる。切りとった試料を切り口を外に出してプレッシャーチェンバーに入れ、徐々に圧を加えて切り口に樹液がにじみ出るときの圧力 (平衡圧, balancing pressure) を測定したのち、緩やかに圧を下げて試料をとり出し、ただちに試料の重量 (fresh weight, FW) を測定する。平衡圧にマイナス符号をつけた値、すなわち木部圧ポテンシャル (xylem pressure potential) をそのまま水ポテンシャル ψ_w として用いる。

次に、プレッシャーチェンバーで平衡圧より 0.3 MPa 前後高い圧を試料にかけて、切り口から樹液を追いつけ出す。出てきた樹液はろ紙などで吸いとり、減圧するとき試料内に戻らないようにする。加圧状態で 15~30 分放置し、切り口から樹液がほぼ出なくなれば、樹液の浸出がとまって切り口が乾いた状態になるまで緩やかに圧を下げたのち、再び徐々に圧を上げて次の平衡圧を測定する。その後、徐々に圧を下げて試料をとり出し、ただちに FW を測定する。このとき、加圧、減圧を急激に行うと、試料の組織が破壊されるので注意する。

この作業をくり返して、 ψ_w とそれに対応する FW を順次測定し、えられた値を横軸に FW、たて軸に $1/\psi_w$ をとってプロットする。試料からある量以上の樹液が失われると、FW の減少に対し、 $1/\psi_w$ は直線的に低下し始める。FW と $1/\psi_w$ の間にこの直線関係がえられれば、測定を終了し、試料を乾燥器で乾燥させ、絶乾重 (dry weight, DW) を求める。水飽和状態の試料の重量 (saturated weight, SW) は、およそ -1 MPa 以上の ψ_w と FW の関係から求める (4) (図-8)。

これらの値から

$$RWC = (FW - DW) / (SW - DW) \quad (28)$$

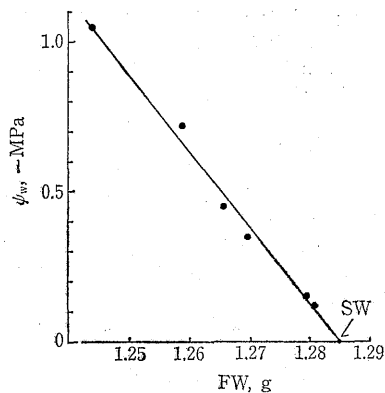


図-8. SW の求め方

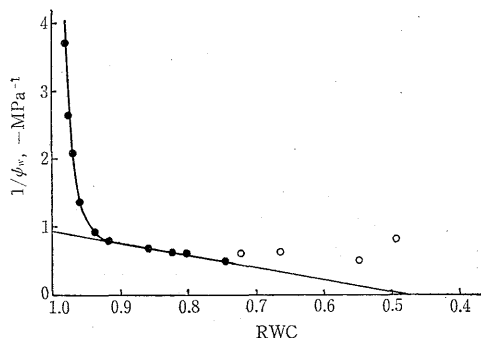


図-9. シラカシ若齢葉(林試樹木園 6月9日)の P-V 曲線

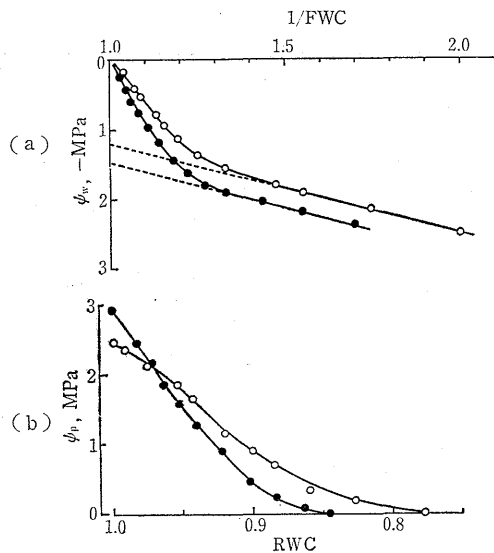
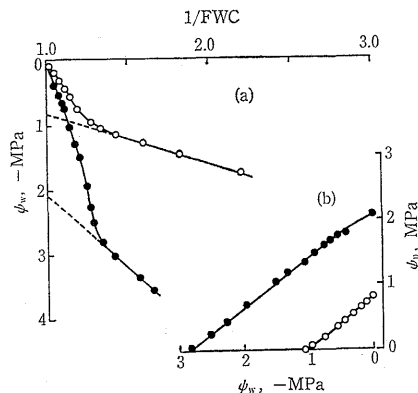
○は、原形質膜が破壊されたものと思われる。

の式を用いて RWC を求め、 $1/\psi_w$ と RWC、 ψ_w と $1/\text{RWC}$ から P-V 曲線を作成する。

なお、試料の含水率を求めるには、上記の方法のほか、1) 加圧時に試料の切り口から出てくる樹液を採集し、その量 (V_0 : 図-2) を直接計量する方法(1, 18), 2) 試料を室温、常圧下に放置し、蒸散により水分含量を低下させて ψ_w , FW を順次測定する方法(7)がある。

1) の方法は、樹液量そのものを測定するため、FW の測定のつど試料をプレッシャーチェンバーからとり出すという手間ははぶける。しかし、試料の切り口にあった樹液採集用チューブをとりつけ、出てくる樹液を正確に採集、計量する必要がある。また、加圧時に、樹液採集用チューブの周辺やプレッシャーチェンバー内の試料の表面からの蒸発散による水分の損失を極力抑える、など、測定精度を高めるための工夫が必要になる。これとくらべて、本報告で用いた方法では、FW の低下から水分含量の低下を求めるため、容易に試料の含水率がえられる特徴がある。

2) の方法は、蒸散量が多い樹種の場合には有効であり、1 台のプレッシャーチェンバーで多くの試料が測定

図-10. ミズナラ(栃木県民の森 6月3日)の陰葉(○)と陽葉(●)の、P-V 曲線 (a) と、RWC と ψ_p の関係 (b)図-11. クロマツ当年葉(●林試苗畑 8月14日)とフサザクラ(○栃木県民の森 6月3日)の P-V 曲線 (a) と、 ψ_p と ψ_w の関係 (b)

できる利点がある。しかし、針葉樹や常緑広葉樹では、FW、 ψ_w の低下に長時間を要する場合が多く、これらの樹種には本報告で用いた方法が有効であろう。

なお、いずれの方法でも、試料の細胞が生きた状態で測定することが重要で、組織が破壊されて細胞の原形質膜が破れると、同じ平衡圧に対して含水率が急激に低下するので、P-V 曲線の直線部分をえるにあたっては、この点に注意を要する(図-9)。

IV. P-V 曲線による葉の水分特性の実測例

陰葉は陽葉とくらべ、細胞の体積弾性率 ϵ が低く、水分含量の低下に対する水ポテンシャルの低下の割合は小

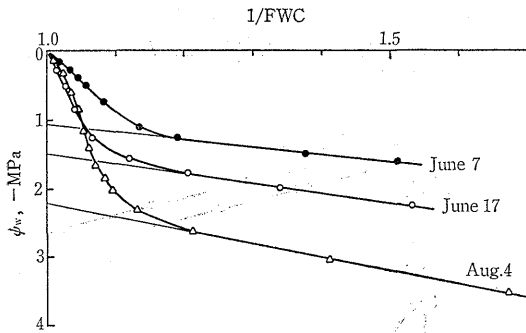


図-12. シラカシ当年葉（林試構内）の $P-V$ 曲線

さい（図-10）。その結果、前者は後者にくらべ、水分含量の低下に対する圧ポテンシャルの低下の割合も小さくなる（図-10）。

耐乾性の高い樹種では、水分含量の低下に対し、急速に水ポテンシャルが低下して吸水能が高まるとともに、かなり低い水ポテンシャルの値まで圧ポテンシャルを維持する（図-11）。これに対し、耐乾性の低い樹種では、水分含量の低下に対する水ポテンシャルの低下は緩やかで吸水能は低く、また比較的高い水ポテンシャルの値で圧ポテンシャルがゼロになる（図-11）。これは、前者が後者にくらべ、浸透ポテンシャルが低いことによると思われる。

ψ_s^{sat} , ψ_s^{tld} などの浸透ポテンシャルの値は、葉の成熟過程によっても変化する（図-12）。そのため、プレッシャーチェンバーからえられる ψ_w の値のみから水ストレスを論議すること（9, 10）にも問題がありそうだ。

引用文献

- (1) CHEUNG, Y.N.S., TYREE, M.T. & DAINTY, J.: Water relations parameters on single leaves obtained in a pressure bomb and some ecological interpretations. *Can. J. Bot.* 53: 1342~1346, 1975
- (2) ———, ——— & ———: Some possible sources of error in determining bulk elastic moduli and other parameters from pressure-volume curves of shoots and leaves. *Can. J. Bot.* 54: 758~765, 1976
- (3) HELLKVIST, J., RICHARDS, G.P. & JARVIS, P.G.: Vertical gradients of water potential and tissue water relations in Sitka spruce trees measured with the pressure chamber. *J. Appl. Ecol.* 11: 637~667, 1974
- (4) LADIGES, P.Y.: Some aspects of tissue water relations in three populations of *Eucalyptus viminalis* LABILL. *New Phytol.* 75: 53~62, 1975
- (5) MEYER, B.S.: A critical evaluation of the terminology of diffusion phenomena. *Plant Physiol.* 20: 142~164, 1945
- (6) PARCER, W.C.: Seasonal changes in several water relations parameters of white oak, northern red oak and mockernut hickory. Unpubl. M.S. Thesis, Univ. of Missouri-Columbia, 1980
- (7) RICHTER, H.: Water relations of single drying leaves—Evaluation with a dewpoint hygrometer. *J. Exp. Bot.* 29: 277~280, 1978
- (8) ———, DUHME, F., GLATZEL, G., HINCKLEY, T.M. & KARLIC, H.: Some limitations and applications of the pressure-volume curve technique in ecophysiological research. In *Plants and their atmospheric environment* (GRACE, J., FORD, E.D. & JARVIS, P.G., ed.). 263~272, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1980
- (9) 佐藤 明: スギ幼齢木の木部圧ポテンシャルの日経過と季節変化. *日林誌* 59: 293~297, 1977
- (10) ———・森川 靖: ふたつの斜面に生育するスギ林分における木部圧ポテンシャルの日経過. *日林誌* 58: 321~327, 1976
- (11) SCHOLANDER, P.F., HAMMEL, H.T., BRADSTREET, E.D. & HEMMINGSEN, E.A.: Sap pressure in vascular plants. *Science, N.Y.* 148: 339~346, 1965
- (12) ———, ———, HEMMINGSEN, E.A. & BRADSTREET, E.D.: Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 52: 119~125, 1964
- (13) SLAVIK, B.: Methods of studying plant water relations. In *Ecological studies (IX)*. 3~5, Springer-Verlag, Berlin, 1974
- (14) SLATYER, R.O. & TAYLOR, S.A.: Terminology in plant- and soil-water relations. *Nature* 187: 922~924, 1960
- (15) TYREE, M.T. & HAMMEL, H.T.: The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *J. Exp. Bot.* 23: 267~282, 1972
- (16) ——— & RICHTER, H.: Alternative method of analysing water potential isotherms—Some cautions and clarifications. *J. Exp. Bot.* 32: 643~653, 1981
- (17) WARREN-WILSON, J.: The components of leaf water potential (II) Pressure potential and water potential. *Aust. J. Biol. Sci.* 20: 349~357, 1967
- (18) WEATHERLEY, P.E.: Studies in the water relations of the cotton plant (I) The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytol.* 49: 81~97, 1950
- (19) 矢幡 久: スギ在来品種の水分特性 (I) プレッシャーチェンバーによる葉の水分特性の測定法の検討. *日林九支研論集* 31: 115~116, 1978

(1982年4月9日受理)