

根の呼吸速度測定法と問題点 —酸素電極法およびO₂アップテスター法—

本間知夫

(農林水産省 野菜・茶業試験場 茶栽培部)

1. はじめに

筆者らは電気生理学的手法を利用した、茶樹生体情報の非破壊的かつ簡便な計測・評価方法の開発について研究を進めている。すなわち、我々人間が心電図や脳波を測るように、茶樹生体電位を測定している。電位は茎部より注射針を刺入し液絡系で測定しているが、根の障害処理等により変化することから、見えない根の状態を茎部から測定している電位でモニターできることが示唆された¹⁾。さらに根の状態と電位の関係を検討するため、根の状態を反映する簡便な指標として「呼吸活性」に着目した。

呼吸は、消費される酸素量あるいは生成される二酸化炭素量を測定することで求めることができる。筆者は「酸素電極法」および「O₂アップテスター法」で酸素消費量を測定したが、いろいろと問題点や注意点がわかってきた。そこで本稿では、両方法について測定法と技術的な問題点・注意点について紹介する。本稿がこれら方法を利用しようとする人達の一助になれば幸いである。

2. 「酸素電極法」による根の呼吸速度測定と問題点

筆者は、もともと葉片の光合成活性（酸素発生速度）・呼吸活性（酸素消費速度）を測定するための装置（写真1、ランクブラザーズ社²⁾）を用いて、根の呼吸速度を測定している。最近では旭光通商（株）が英国 HANSATECH 社製の同タイプの酸素電極・反応ベッセルを取り扱っている。

反応ベッセルの上部内部には水（緩衝液等）と根を入れ、周りを恒温水が流れ、内部の温度が一定に保たれるようになっている。これは液中の溶存酸素量が液温により変化するためである。内部底部にセットされている酸素電極により、内部液中の酸素濃度がモニターされる。根の呼吸により溶存酸素が減少し始めるので、一定時間測定後根を取り出し、乾燥重量を求め、単位乾燥重量・単位時間当たりの酸素消費速度を算出する ($\mu\text{mol O}_2/\text{gDW}/\text{hr}$)。

この方法の利点は、酸素電極により感度良く液中の酸素濃度がモニターできること、僅かな根量でも測定できることである（反応ベッセル内部に入れられる水量は多くても4~5 ml であるため、必然的に入れられる根の量は少ない）。しかし逆に、1回に僅かな量の根の呼吸速度しか測れない（新鮮重でもせいぜい0.4~0.5g 程度）ため、それだけで根全体の状態を表しうるものかということが当然問

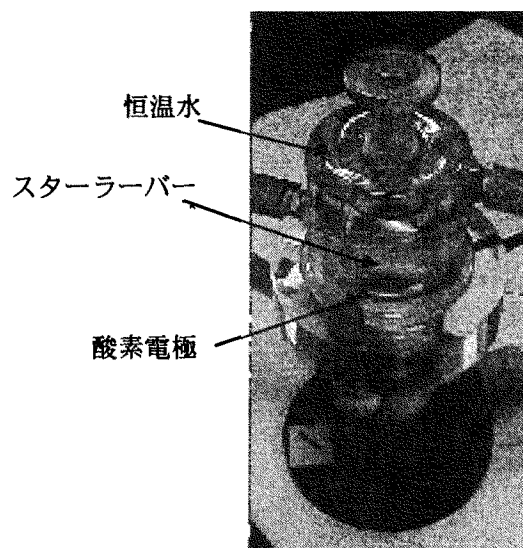


写真1 反応ベッセル

題となる。測定上の問題点としては、入れる根の量を多くすると、根へ常に十分な酸素供給をするためのスターラーの回転が、根にぶつかって止まってしまう。すると急激な液中の酸素濃度の低下が起こり、正確な呼吸速度の測定が困難になる。根を小さく切り刻んで入れて測ることもできるが、切断の影響がいろいろと出てくるのが予想される。また筆者が材料として使っているチャの場合、木化根が多かったり、褐変した根が白色根に混ざって存在していることが多く、根のどの部分を取るか、白色根と褐変根をどのような割合でサンプリングしたらいいか悩むところである。出来るだけ無作為にサンプリングして測定したつもりでも、根の状態が均一でない場合、そのサンプリングが適切かどうか非常に不安である。

3. 「O₂アップテスター」による根の呼吸速度測定と問題点

酸素電極法による根の呼吸速度測定で挙げた問題点をクリアするためには、一度に根全体の呼吸速度を測定することができればよい。生物呼吸活性測定装置 O₂アップテスター（写真2、タイテック：5B）の反応容器には、著者らが利用することが多い鉢植え幼茶樹（1年生あるいは2年生）の根を全て入れることができ、根全体の呼吸速度が測定できる（写真3）。

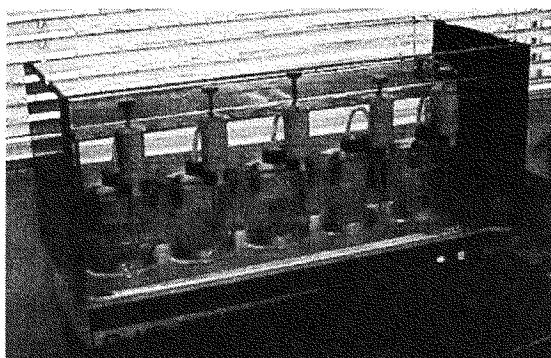


写真2 O₂アップテスター（測定部）

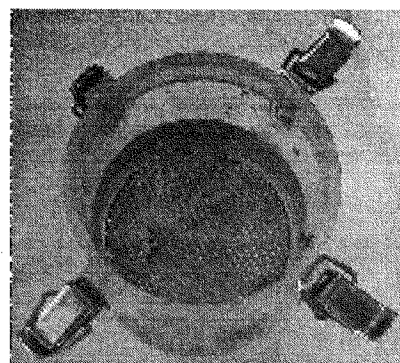
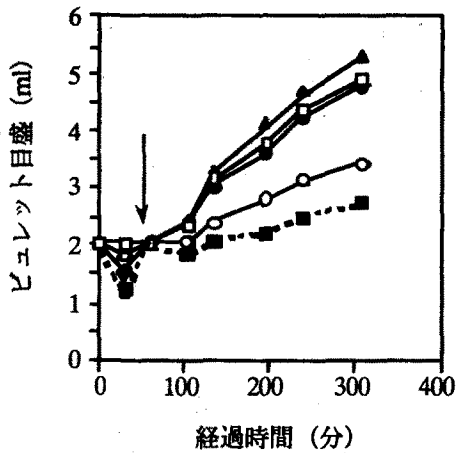


写真3 反応容器に根を投入

3-1 測定原理及び測定方法

呼吸速度は、写真2、3からもわかるように、反応容器に水と根を入れ、ビュレットの付いたふたで密閉し、恒温水槽（25℃一定）に反応容器を水没させて測定する。反応容器の液相中に入れた根の呼吸により溶存酸素が消費される。減少した溶存酸素は反応容器内の気相より補充され、その分気相中の酸素分圧が低下する。一方呼吸により放出された二酸化炭素は容器内にセットしたアルカリ溶液（20% NaOH, 1 ml）に吸収され、分圧への影響は無視できる。容器は密閉されているため、容器内の気相部の相対圧を一定に保とうと、減少した酸素分圧に相当する量の水がビュレット下端より吸入される。0℃、1気圧の時の酸素1モルの体積は22.4lであるので、吸入水量（体積変化）から消費された酸素量を計算することができる。このような原理で消費酸素量を測定するため、反応容器の気密度、水温・大気圧を一定に保つことが測定上大事であるが、それでも測定中に温度や圧力の変化は起こる。写真2では反応容器が5連式だが（10連式のタイプもある）、このうち一つには試料を入れない水みのブランクとして、それらの温度・圧力変化の影響を差し引くための温圧計とする必要がある。チャの場合、6時間前後までビュレットの目盛の推移を調べた一例を図1に示すが、ブランクも変化していることがおわかりかと思う。各々のサンプルの変化分からブランクの変化分を差し引いたも

のを根による消費酸素量 (ml) とし、さらに測定終了後に根の乾燥重量を求め、単位乾燥重量・単位時間当たりの酸素消費速度を算出する ($\mu\text{molO}_2/\text{gDW}/\text{hr}$)。



5連式の反応容器のうち、一つには試料を入れず水のみ入れたブランクとした。試料としては1年生の‘やぶきた’水耕苗の根を使用。反応容器にはイオン交換水350mlを入れた。図中の↓でビュレットの目盛をそれぞれ2.0mlに再調整した。

図1 ビュレットの目盛変化の推移

3-2 測定に当たっての問題点・注意点

O_2 アップテスターの測定マニュアルは簡潔すぎて、初めて本装置を手にして測定を行おうという人には、逆に戸惑うことが多いと思う。筆者はチャの根の呼吸速度を本装置で測定したが、本装置を利用した報告は少なく、使用者がある程度の試行錯誤を繰り返し、自分の材料にあった測定条件を決めていかねばならない。しかし試料を余計な前処理等する必要もなく、反応容器に試料である根が入りさえすれば、極めて簡便に根全体の呼吸速度を求めることができるのはやはり魅力的である。筆者が主に用いたチャの1年生苗の根においては、反応容器の大きさ(500 ml 容)が手頃で、そのまま根を全て入れて測定できた。しかし図2に示すように、得られる呼吸速度の値が根量(乾燥重量)に影響を受け、根量が多くなると呼吸速度が小さくなる傾向があることが明らかとなった。

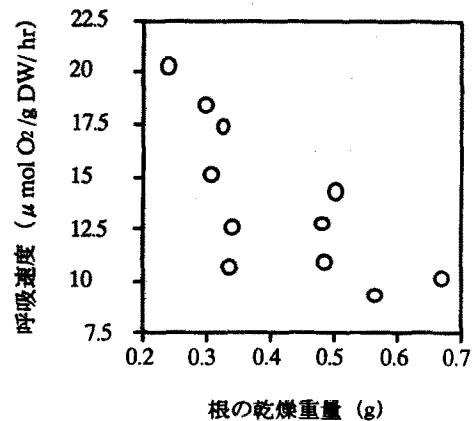


図2 根の呼吸速度と乾燥重量の関係

根量が多くなると呼吸速度が小さくなる傾向があることが明らかとなった。反応容器の大きさ、入れる水量は一定であり、反応容器内の水は常に攪拌しているので、溶存酸素は飽和状態になっている。根量が多い方が消費される酸素量が多く、呼吸速度も大きくなるように思われるが、逆に小さくなる原因は何であろうか？まだ原因は分からないが、水の攪拌による根への酸素供給が充分ではないことが考えられる。坂本らはトマトの根の呼吸速度を O_2 アップテスターを利用して測定しており、その際に培養液の攪拌に用いるスターラーの回転速度を変えたところ、回転速度が速いほど根の呼吸速度は大きくなり、培養液の流速が大きいほど根表面への酸素の拡散が促進され、呼吸速度が高まったのではないかと考察している³⁾。攪拌速度が一定の場合、根量が少ない方が根表面への酸素供給はスムーズであると思われる、それが呼吸速度に影響しているものと思われる。この結果は、反応容器に入れる根量は出来るだけ揃えた方がいいということを示している。

ある程度根の状態が揃ったもの場合は、サンプルとして入れる根量を揃えられるかもしれないが、筆者がチャで測定をした場合、根量自体のばらつきに加え、白色根と褐色根の存在比のばらつきも大きく、量的・質的に均一なサンプルを得ることは非常に難しかった。

4. おわりに

本稿では根の呼吸速度を測る方法として、「酸素電極法」と「O₂ アップテスター法」について、測定方法と技術的な問題点・注意点を簡単に紹介した。それぞれに一長一短あるわけだが、簡便に「根系全体の生理状態」を計測・評価する方法が未だないのが現状である。そのため更なる新たな方法の開発も必要であるが、本稿で紹介した方法、特に「生物呼吸測定装置」の名で既に世に出ている「O₂ アップテスター」については、ある程度の利用制限等はあるものの、根全体の呼吸速度を測定できる点で有効な方法と思われる。しかし、ここで指摘した問題点や注意点に加えて、未検討な点も多々あると思われる、更に使いやすい有効な方法とするための努力が必要である。本来なら製作・販売しているメーカーにそのノウハウがあれば我々ユーザーも利用しやすいのだが、残念ながらメーカーからの対応は十分でなく、筆者も含めて根の活性を調べたいと思う研究者のこれからの期待するしかないと思われる。

5. 謝辞

本研究の遂行にあたり、「酸素電極法」については野菜・茶業試験場農業技術研修生伊東和喜氏、「O₂ アップテスター法」については同研修生畑康久氏に協力頂いた。ここに深く感謝の意を表する。

6. 引用文献

- 1) 本間知夫・渡辺利通・松尾喜義・阿南豊正 (1998) 茎部導管電位計測による茶樹根系への障害処理の影響の検出. 日作東海支部報 126: 3-4.
- 2) 青木智 (1981) 酸素電極による茶葉小片の光合成酸素発生速度の測定法. 茶研報 61: 1-5.
- 3) 坂本有加・渡邊慎一・岡野邦夫 (1998) 培養液の攪拌速度がトマト根の呼吸及びイオン吸収速度に与える影響. 根の研究 7: 123.

Title: Methods of Respiration Rate of Roots and Their Problems: Oxygen electrode and O₂ uptester

Author: Tomoo HOMMA (NIVOT)