

水耕における根系の酸素吸収速度の計測

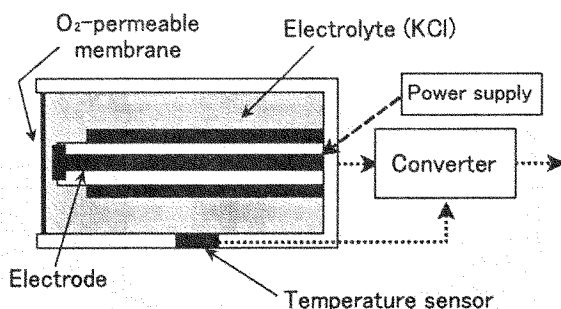
吉田 敏

九州大学 生物環境調節センター

植物の根を対象とした研究において、その生理的活性の指標となる種々の生体情報を得るための計測技術の開発と応用に対する期待は大きい。坂本(1998)により指摘されているように、根の生理的活性の主な指標として養水分吸収とならんで根の呼吸活性が重要視されている。これについては大型科学機器や同位体トレーサを用いた様々な評価方法が確立され、呼吸の生理学的役割と作物生産における意義について次々に重要な知見が得られている(山岸, 1992; 1998)。一方、ワールブルグ検圧計の利用に代表されるような簡便な方法が製品化されて実際の試験・研究によく用いられており、本誌でも既に本間(1999)により詳細に解説されている。

ところで、水産業や生活環境調査の場面において河川・湖沼の溶存酸素濃度を計測するために、電気化学的原理に基づく溶存酸素(DO = dissolved oxygen)センサが開発されて改良が加えられている。この種のDOセンサは比較的小型・軽量で、試料液の化学的影響を受け難く応用範囲が広い。なかでもポーラログラフ式と呼ばれるDOセンサは、保守・校正などの取り扱いが簡便で長期間にわたる連続計測が可能であるとされている。ここでは、このDOセンサを用いて水耕における培養液の溶存酸素濃度を計測することにより、根の呼吸活性を評価する方法について紹介する。

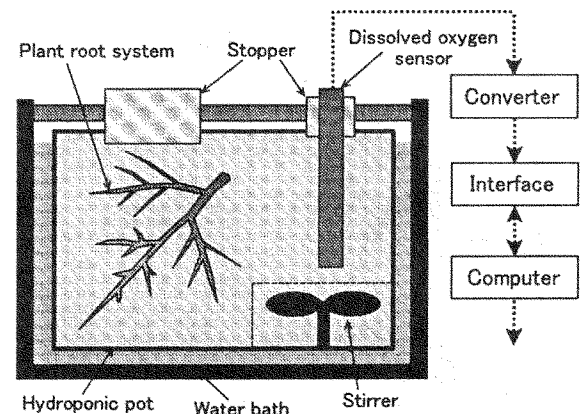
ポーラログラフ式DOセンサ(第1図)は、酸素ガス透過性隔膜、電極(白金および銀)、電解液(KCl溶液)および温度センサから成る。隔膜は撥水性テフロン樹脂の多孔質膜で、その孔隙に空気が保持されることにより隔膜外の試



第1図 DOセンサの模式図。

料液と隔膜内の電解液が接していない。したがって、孔隙を通して酸素ガス分子は拡散により隔膜を透過するが、水および電解質は透過しない。センサ内部の電解液に拡散した酸素分子が一定の電圧を与えられた電極表面において電解される時、試料液の酸素分圧に比例した電解電流が発生する。そこで、本センサではこの電流を検出して温度センサからの出力信号で補正を加え、試料液の溶存酸素濃度を算出している。

次に、実際に根の呼吸活性を評価する方法について述べる。ここでは、水耕で生育させたキュウリ幼植物の地上部を切り落とし、その根系を丸ごと材料に供した。これは、根系の中に根端分裂組織や若い組織と成熟して木化あるいは崩壊しつつある組織が混在しており、この一部を採取して呼吸活性を調べる方法では正確な評価が期待できないためである。また、根や試料液に混入してポット内で増殖する微生物の呼吸については考慮しなかった。第2図に計測装置の模式図を示す。DOセンサとしてセントラル科学製UC-12型を用いたが、同タイプのDOセンサならばどの機種でも利用できるであろう。まず、十分にエアレーションした試料液(培養液など)を容積1Lのスチレンスロットに満たした。このポットの開口部から根系を投入してゴム栓で閉じ、シリコングリースかワセリンのペーストを塗布して試料液と外気とのガス交換を遮断した。DOセンサもゴム栓で固定し、マグネチックスターラーで試料液を攪拌し続けた。



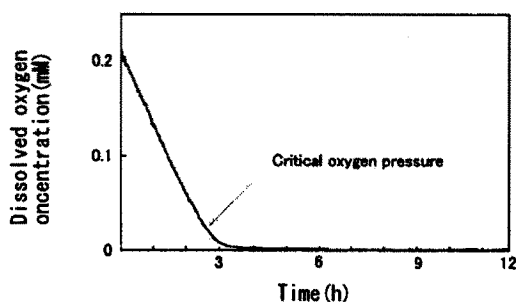
第2図 酸素吸収速度を計測する装置の模式図。

そして、D0 センサからの出力信号をオンライン・コンピュータに入力することによって溶存酸素濃度の連続計測を行った。なお、根の呼吸活性が温度の影響を受けることを考慮してポットをウォータバスに入れ、試料液の温度を一定に保った。

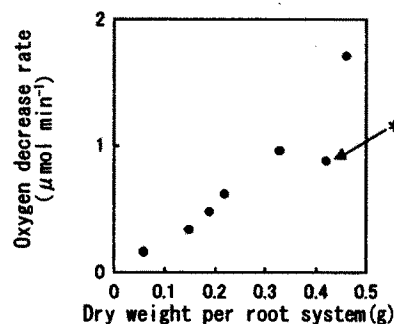
第3図に溶存酸素濃度の経時変化について計測結果の例を示す。本装置において乾物重で0.1~0.2gほどの大きさの根系を用いた場合、液温25℃において数時間でポット内の溶存酸素は消費し尽くされた。このとき、いわゆる限界酸素分圧までは溶存酸素濃度が直線的に低下し、その後は徐々に緩やかに低下した。そこで、第4図に示すようにこの濃度が直線的に低下している時間帯における単位時間あたりの溶存酸素量(モル数)の減少速度によって根系の呼吸による酸素吸収の活性を評価した。

こうして得られた酸素吸収速度と計測終了後に調べた根系の乾物重との関係をプロットしたのが第5図である。1個体を除き、根系の乾物重量の増加にともなって酸素吸収速度が大きくなる傾向を明瞭に示している。このことは生体の呼吸速度を単位乾物重あたりに換算して表わすという、一般によく見受けられる考え方を支持している。*印で示したプロットの根系は比較的大きく、生育にともなって根が絡み合っ塊状となったものをそのままポットに封入し

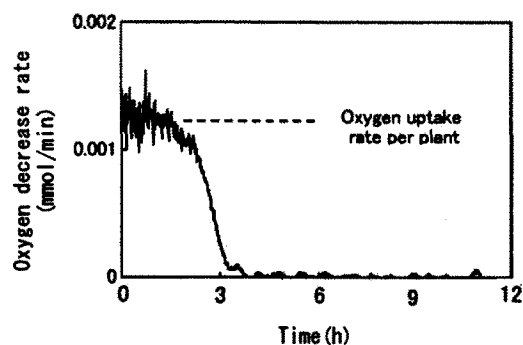
て計測を行ったところ酸素吸収速度が低く評価されたものである。すなわち、ここで最も重要なのは試料液の攪拌である。水中では酸素分子の拡散速度が空気中に比べて著しく小さいので、ポット内に溶存酸素濃度の分布が生じて計測の妨げになり易い。すなわち、盛んに呼吸している根の表面において試料液の流動が十分でない場合、根近傍の溶存酸素濃度がその周囲よりも低くなり易く、これが限界酸素分圧以下になるとその部分の根の呼吸が抑えられて根系全体の呼吸活性を過小評価する危険性がある。特に、材料植物の根系が大きく生育したものであるほど根がお互いに絡み付いて塊になり、その内部の試料液が停滞して正確な評価は望めない。容器内の試料液が均質に攪拌されて根系の大部分に溶存酸素が均一に供給されるためには根系が容器内に空間的余裕をもって封入されていることが望ましく、根系が塊状になっている場合には組織に機械的刺激を与えることになるとしても根を切り刻んで容器に入れることもやむを得ないであろう。また、前述のようにここで用いたD0 センサは電極表面において酸素分子を電解して溶存酸素を消費する。その量は根の酸素吸収速度の計測においては無視できる程度のごくわずかなものであるが、センサ検出部付近の試料液を十分に流動させないと隔膜近傍の溶存酸素濃度が低下してポット内全体の溶存酸素濃



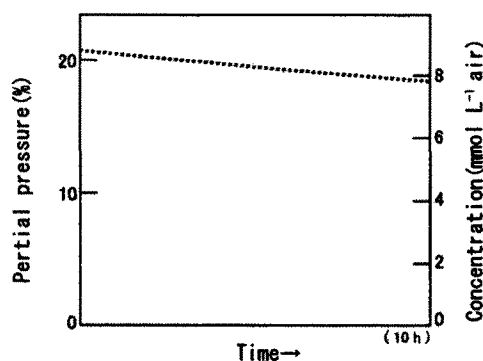
第3図 ポット内の溶存酸素濃度の経時変化。



第5図 根系の乾物重と酸素吸収速度との関係。



第4図 ポット内の溶存酸素の減少速度。



第6図 ポット内の酸素ガス濃度の推移(試算)。

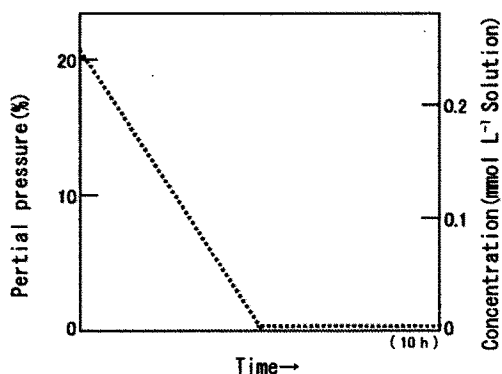
度を低く見積もってしまう危険性がある。

それではなぜそうまでして根の酸素吸収を水中で調べるのか、ということになる。なぜならこのセンサは空気中の酸素ガス濃度を計測することができるからである。しかし、仮に上記ポットに空気を満たすと(第6図)ポット内には常温・1気圧で8mmol以上の酸素分子が存在しており、乾物0.1~0.2gの根系の酸素吸収(速度:0.05 mmol h⁻¹以下)によるわずかな変動を酸素分圧として本センサで捉えることは難しい。これに対して空気飽和状態の試料液をポットに満たすと(第7図)同じ酸素分圧(20.9%v/v)でも溶存酸素分子はポット内に0.2 mmolほどしか含まれないので根の呼吸による酸素分圧変動を十分な精度で検出することができる。

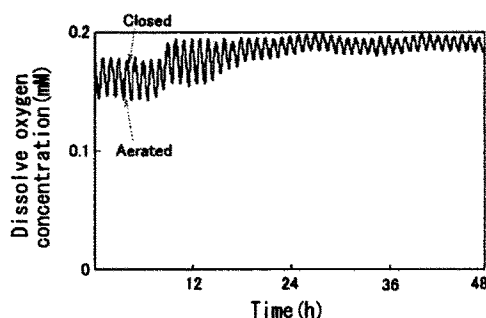
ところで、水耕で生育させた植物材料に限らず、培土・砂などの根部支持体を利用して生育させた根系についても、これを丁寧に掘り出して水洗などの操作で粒子を取り除き、ポットに封入して計測に供することは不可能ではない。しかし、掘り出しや水洗が根の呼吸活性に与える影響については未知数であり、測定にあたり根に強い機械的的刺激を与えることは望ましくない。

さて、言うまでもなく whole plant では地上部から光合成産物が転流により根に輸送されて呼吸基質として用いられている。さらに、この他にも地上部からの物質輸送やシグナル伝達などを通して根の呼吸は直接的または間接的に地上部の影響下にあると考えられる。したがって、できれば地上部を切除しないインタクトの根系を用いて呼吸活性の指標となる生体情報を抽出することが望ましい。そこで地上部を付けたまま根の部分だけをポットに封入し、ポット内の溶存酸素濃度の低下速度からインタクト根系の根の呼吸活性を調べることも試みた(第8図)。この場合、蒸散によりポット内の試料液がわずかに失われるので、密閉性をできるだけ保ちながらポット内の圧力を大気圧レベルに維持する工夫が必要であるが、この他には前述の計測と何ら変わるところはない。地上部の環境条件を一定に保つためには装置全体をグローブチャンバ内に導入して環境制御を行えばよい。

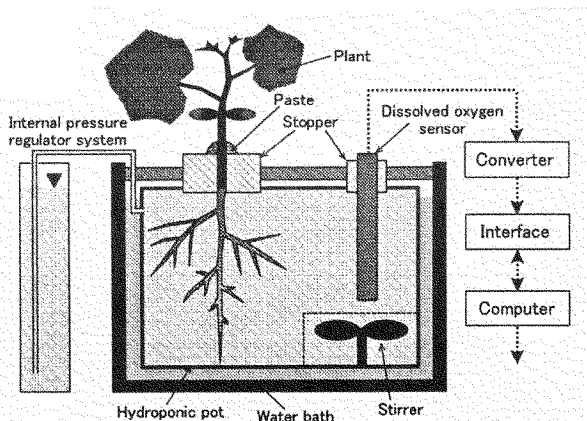
もちろん、ポット内の根系は茎を通して外部と連絡しており、厳密には閉じた系とは言えない。キュウリ植物において根が酸素欠乏条件下にある場合に地上部空気の酸素が植物体を通して根に輸送され、この酸素がわずかながら根の呼吸を維持して酸素欠乏根の機能の改善に貢



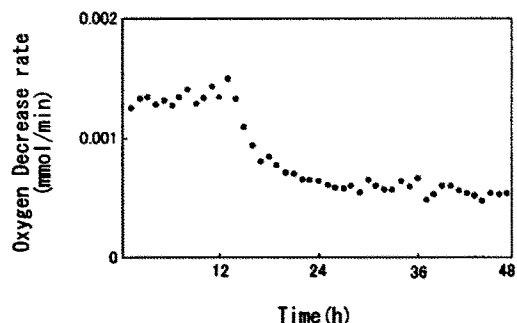
第7図 ポット内の溶存酸素濃度の推移(試算)。



第9図 間欠的エアレーション下の溶存酸素濃度。



第8図 キュウリ植物固体を対象とした計測装置。



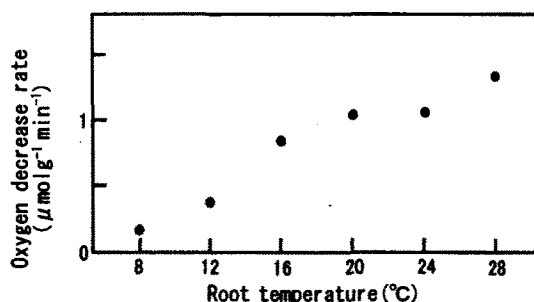
第10図 暗黒下のキュウリ植物における根の酸素吸収速度の推移。

献することが明らかにされており (Yoshida and Eguchi, 1994), イネやある種の湿地性植物ではこの酸素輸送能力はさらに大きいと考えられる。この場合, 検出された溶存酸素減少量をそのまま根系の呼吸の総量とみなすことは難しい。しかし, ここで得られる酸素吸収速度は「whole plant において根呼吸が根の周囲の酸素にどれだけ依存しているか」を調べる指標として有用な生体情報であり, 根の呼吸活性の一端を示すものとして扱うことができると考えられる。

以下に, この装置を用いて計測した例を紹介する。地上部を切り離れた根系に比べてインタクト根系は傷みにくく, 長時間の計測に耐える。そこで, 溶存酸素濃度が限界酸素分圧を下回らないよう間欠的にエアレーションしながら酸素吸収速度を2日間にわたって計測し続けた(第9および10図)。ここで, 地上部は常に暗黒とした。根の呼吸は計測開始後12時間にわたりほぼ一定の活性を維持したが, その後は呼吸基質が枯渇するなどの原因で酸素吸収速度は低くなった。この他, 第11図に根の温度(試料液の温度)を異なる条件に設定して呼吸活性を調べることにより, 根呼吸の温度依存性を明らかにした例を示す (Yoshida and Eguchi, 1989)。

以上のように, DO センサを用いることによって水耕で生育させた根の呼吸活性を簡便に評価することが可能である。ここで紹介した方法は前述のようにいくつかの問題点を持つものの, 既存の他の呼吸評価法と同様に有用な技術として評価されると考えている。

ところで, 根の呼吸活性を調べる研究においては酸素の吸収とともに, あるいは酸素の吸収なしに起こる二酸化炭素の放出についても把握することが必要不可欠である。そして, これについても現在まで様々な研究がなされて多くの知見が得られているがここでは触れない。本稿で紹介したのは植物の根の呼吸についてのご



第11図 キュウリ根における呼吸の温度依存性。
(Yoshida and Eguchi, 1989より改変)

くわずかな情報のみである。今後, 実績のある先生方による根の呼吸に関する論文および総説が本誌に数多く掲載されることを期待したい。

引用文献

- 本間知夫 1999. 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. 根の研究 8: 96-99.
- 坂本有加 1998. 養液栽培における根の研究の意味. 根の研究 7: 113-116.
- 山岸順子 1992. 根の呼吸の生理的役割と測定. 根の研究 1: 11-13.
- 山岸順子 1998. 根の呼吸の測定. 根の事典編集委員会 編). 根の辞典. 朝倉書店, 東京. pp. 411-413.
- Yoshida, S. and Eguchi, H. 1989. Effect of root temperature on gas exchange and water uptake in intact roots of cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) in hydroponics. Biotronics 18: 15-21.
- Yoshida, S. and Eguchi, H. 1994. Environmental analysis of aerial O₂ transport through leaves for root respiration in relation to water uptake in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) in O₂-deficient nutrient solution. J. Exp. Bot. 45: 187-192.

Estimation of respiratory oxygen uptake rate of plant root system by measuring dissolved oxygen concentration in hydroponics.

Satoshi YOSHIDA (Kyushu University)