

作物根系の調査法に関する研究(4)

誌名	佐賀大学農学部彙報
ISSN	05812801
著者	原田, 二郎 有馬, 進
巻/号	81号
掲載ページ	p. 7-10
発行年月	1996年12月

作物根系の調査法に関する研究
第4報 根群における高生理活性部位の量的測定法

原田 二郎・有馬 進・薛 春民
(作物学研究室)

平成8年9月6日 受理

Methods for Studying Root Systems
IV. A Method for Measuring the Amount of
Physiologically Active Parts in Roots

Jiro HARADA, Susumu ARIMA and Chunmin XUE
(Laboratory of Crop Science)
Received September 6th, 1996.

Summary

To measure the length of the physiologically active parts in a root system, the method using a combination of TTC (Triphenyl Tetrazolium Chloride) staining and root length measurement by image processing (Root analyzer, DIPTEROS® system) was examined. The difference between the lengths of a root system measured before and after the staining was considered to be, in this method, the length of the active parts, and this length was compared with the total length of the root system. Results of tests on several plant species, most of which were legumes and cereals, indicated that the desirable characteristics of roots which make this method applicable were as follows: i.e. the original color of the root should be nearly white; there should be a clear difference in color between stained and unstained parts; and there should be no necessary stainable parts, such as root nodules and secondary thickening tissues. In the tests using corn roots, the value fluctuated according to the sensitivity level of the image scanner. A positive correlation, however, the coefficient of which was 0.82, was observed between the lengths of TTC stained parts measured by this method and those by the scale under a dissecting microscope. Consequently, it is assumed that the method could be effective even if the level is selected by eye-inspection, which is the ordinary method for the equipment used.

Key words: Image processing, Physiological activity, Root length, Root system, TTC staining.

養水分の吸収に関わる根系の機能は、根群の量や分布と個々の根がどの程度活性を持っているかの二つの側面によって変化する²⁾。個々の根の活性は先端の若い部分で高いことが知られているが^{1,2)}、根系の構造や根の分布と関連した根系全体における活性の高い部分の量を把握することは非常に困難である。

本研究では、カラーイメージスキャナーによる画像解析法(ルートアナライザー)³⁾と根の活性部を発色させるTTC (Triphenyl Tetrazolium Chloride) 染色法^{1,3,4)}を組合せて、根群の生

理活性の高い部分の簡便な量的測定方法の検討を行った。

材料および方法

供試材料には、イネ科作物（コムギ；農林61号，トウモロコシ；ハニーバンタム）およびマメ科作物（ダイズ；フクユタカ，アズキ；大納言，インゲン；プロバイダー）の土耕ならびに水耕栽培して得られた根系を用いた。土耕栽培は佐賀大学農学部圃場の畑土（埴壤土）を充填した1/5000aポットで行い，水耕栽培では，木村氏A液1/5倍液を水温約28°Cに保ち，常時通気を施した。各作物は9月から12月に亘って随時栽培し，播種後4週間までに適宜根を採取して調査に供試した。

1) 根系における高活性部分の測定は，第1図に示した手順で行った。すなわち，根系を

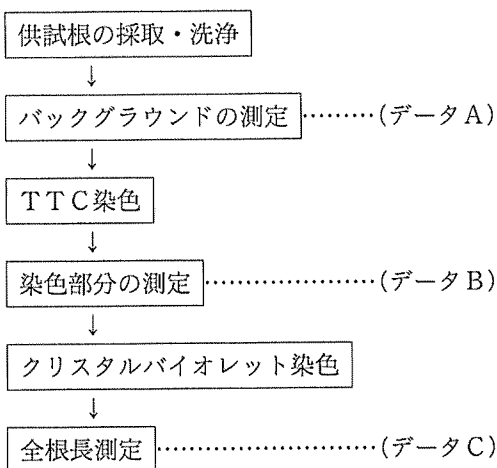
水道水で洗浄した後，そのまま根の有色部の長さを測定し，その値をバックグラウンドと呼んでデータAとした。続いて，0.1% TTC染色液（0.1% TTC液，0.1Mリン酸塩緩衝液，および0.4Mコハク酸ソーダ液を1:4:5の割合で混合）に同根系を浸漬し，37°Cの暗所に2.5時間静置して活性部を赤色に発色させ，その染色部分の根長（データB）を測定した。さらに，同じ根を0.2%クリスタルバイオレット水溶液に常温で30分間浸漬して黒紫色に染色し，全根長を測定してデータCとした。なお，真のTTC染色根長（データD）は，最初に測定した有色部分がTTCによる染色活性をもたないものと仮定してデータB値からデータA値を差し引いて求めた。以上の各根長（データA, B, C）は，DIPTEROSシステム（Digital Image Processing System for Root Scanning）大洋計器社製ルートアナライザー，入力感度（しきい値；72）で測定した。

2) 水耕栽培したトウモロコシ根系を用いて5段階（64, 68, 72, 76, 80；1段階は4刻み）のしきい値で染色根長（データB）を測定した後，実体顕微鏡を用いて同一根系の全染色部長の実測値を測定し，両者の結果により最適しきい値について検討した。

結果と考察

1. 本測定法の適用可能な作物根系の条件

本法で測定する根系の具備すべき条件を検討した結果，マメ科作物の根系は本法による測定に適切ではないことが明らかとなった（データ省略）。すなわち，本研究に用いたマメ科作物には土耕栽培では根粒が形成され，TTC染色を行った場合に根の活性部とともに根粒も染色された。水耕栽培では，根粒の形成はほとんど認められないものの根系が全体的に褐色を帯び，ルートアナライザーによるTTC染色部の識別が困難であった。また，生育が進み二次肥大した根では，二次肥大部もTTCにより発色し，根端の染色部のみを識別することが難しかった。一方，イネ科作物では根面が白く，根基部には明白な発色部が認められなかったためTTCに



第1図 TTC染色部の根長および活性の割合の測定法
 真のTTC染色根長 = (データB) - (データA) = (データD)
 (データD) / (データC) = 全根長に占める活性部根長割合

よる根端の染色部が肉眼的にも明白であった。これらのことから、本研究の目的を実現し易い根系は、根色が白くTTC染色部と非染色部の区別が明瞭で根粒・二次肥大根などの目的外の染色部を有しないという条件を備えている必要があると考えられた。

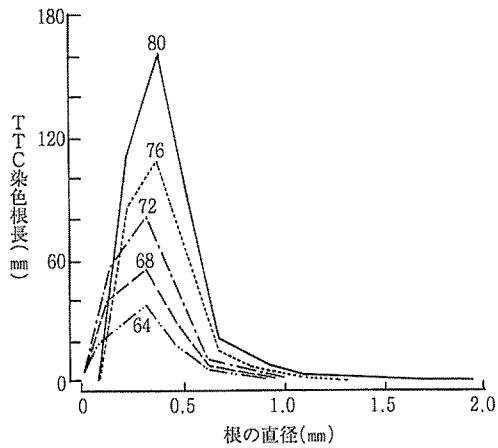
2. トウモロコシ根群による活性根の定量法の検討

1) 活性部根長の割合

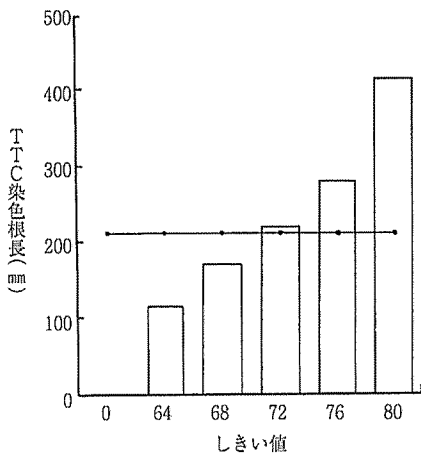
上記の条件に適合する水耕栽培したトウモロコシの根系について、葉齢の異なる36個体から採取した36本の根を用いて測定をおこなった。染色部は、直径階級0.17mmから0.34mmの細根に多く、それ以上の直径の太い根では減少し、直径階級が0.68mm以上の根ではほとんど認められなかった(第2図)。真のTTC染色根長を全根長で除した全根長に占める活性根長の割合は、最高約17%、最低約1%、平均5.9%であり、根系の採取時期により変動を示した(データ略)。

2) ルートアナライザー測定値と実測値との関係

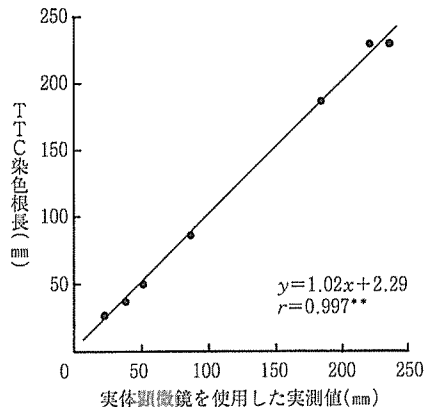
根の先端部TTC染色程度は基部に向かって次第に弱まる。したがって、TTC染色根長(データB)はルートアナライザーのしきい値に伴って変化するために、測定に際しては各供試根系に最適のしきい値を設定する必要がある。そこで、異なるしきい値における染色根長測定値と実測値との関係を調べた(第3図)。測定値は入力レベルにより大きく変化し、本実験の場合には、しきい値72が最も実測値に近く、最適レベルと判断された。そこで、同一条件で採取した8根系の最適感度における測定値と実測値との関係をみた結果、両者間には、回帰式 $y=1.021x+2.294$,



第2図 異なるしきい値で測定した直径別TTC染色根長
図中の数字はしきい値を示す



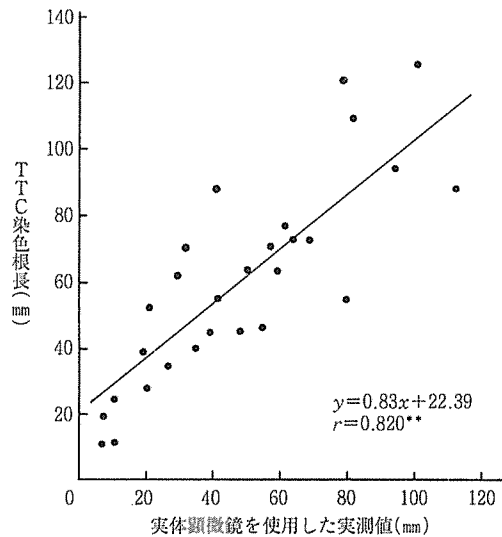
第3図 最適しきい値検索結果の一例
図中の横線は実態顕微鏡実測値



第4図 最適しきい値におけるルートアナライザー測定値と実測値との関係

相関係数0.997で示される正の相関関係が認められた(第4図)。すなわち、あらかじめしきい値の設定を適切に行えば、高い精度で染色根長の測定が可能であることが明らかとなった。続いて、生育ステージの異なる36根系について個々に最適しきい値を肉眼検索してルートアナライザー測定値と実測値との関係を調べた。その結果、両者の間には回帰式 $y=0.832x+22.391$ 、相関係数0.820で示される正の相関関係が認められた(第5図)。この場合、相関係数こそ低まったが、生育程度が揃った根系ならより有意な結果が得られると推察される。しかし本方法の活用には、予め設定したしきい値で多数のサンプルについてその活性程度を相対的に比較することが想定されるため、活性部の染色程度に応じてしきい値を適宜調整すれば、測定精度は本実験で示された範囲内で十分に使用できると判断される。

以上のことから、本方法は根系の活性を定量解析する場合に簡便で有効な測定方法の一つとなると考えられた。



第5図 肉眼によりしきい値を設定した場合のルートアナライザー測定値と実測値との関係

摘 要

根系の全長に占める生理活性の高い部分の合計長を測定するために、TTC (Triphenyl Tetrazolium Chloride) 染色と画像解析を組み合わせた測定法の検討を行った。この方法は、ルートアナライザー (DIPTEROS システム®) で測定したTTC染色前および染色後の根長の差を生理活性の高い部分とみなし、全根長と比較した。マメ科とイネ科の数種の作物で検討した結果、この方法が利用可能な根は固有の根色が白に近く、TTC染色部と非染色部の区別が明瞭で、根粒や2次肥大部分など目的外の染色部を有しない根であった。トウモロコシの根を材料として検討した結果、画像入力部の感度により測定値が変動したが、この方法による測定値と実体顕微鏡による実測値の間には相関係数0.82の正の相関関係が認められ、用いた装置の通常の手段である肉眼判定による測定感度の検索および設定によってもTTC染色部長の測定が可能であると推定された。

引用文献

1. 相見靈三・藤巻和子 (1960). TTCによる根の活力診断法 農業及園芸 35:1345-1347.
2. 河野恭広 他 (1987). 根の活力と根圏環境, 農業技術大系 土壤肥料編 1, 農山漁村文化協会, 東京. 1-186, 3-32.
3. 吉田武彦 (1966). 根の活性測定法, 土壤肥料学会誌 37:63-68.
4. 二見敬三 (1994) 根の活力測定 根ハンドブック, 根研究会, 東京 215-218.
5. 米川智司・中元朋実・松崎昭夫 (1988). 画像処理を用いた根の形態情報計測システムの開発 日本作物学会紀事 57 (別2):87-88.