

## 酸素同位体分別を利用したイネ葉身におけるシアン耐性呼吸の測定

平井 儀彦・正木 孝幸・三好 真・山田 稔  
齋藤 武範・中井 清裕・津田 誠

(応用植物機能学講座)

## Measurement of Cyanide-Resistant Respiration in Leaf Blade of Rice by Use of Oxygen Isotope Discrimination

Yoshihiko Hirai, Takayuki Masaki, Makoto Miyoshi  
Toshi Yamada, Takenori Saitou, Kiyohiro Nakai  
and Makoto Tsuda

(Department of Applied Plant Science)

A reduction in the dark respiration of rice may improve dry-matter production and yield. To explore the possibility of controlling cyanide-resistant alternative respiration, of which energy production efficiency is low, we constructed a measuring system for cyanide-resistant respiration in leaf blades of rice with the use of oxygen isotope discrimination. Dark respiration was lowest at 10 mM KCN, the inhibitor of cytochrome pathway, and it was lowest at 30 mM salicylhydroxamic acid (SHAM), the inhibitor of the alternative pathway. Oxygen isotope discrimination was highest when leaf blade had HCN applied for 1 hour after being soaked in 10 mM KCN for 3 minutes, and it was lowest when leaf blade was soaked in 30 mM SHAM regardless of the soaking method. The discrimination factors of the alternative oxidase and the cytochrome oxidase of leaf blade were estimated as 20.3‰ and 13.9‰, respectively, and the ratio of cyanide-resistant respiration to dark respiration of leaf blade was 38%.

**Key words :** Cyanide-resistant respiration, Dark respiration, Inhibitor, Oxygen isotope, Rice

## 緒 言

イネにおいては葉面積の拡大や受光態勢等の改良により光合成速度を増加させることで収量の増大が図られてきた。一方、光合成によって固定された炭水化物は暗呼吸によって消費され、総光合成量に対する暗呼吸量の割合は栄養成長期では30～40%であるが、登熟期には50～70%にまで増大する<sup>9,22,23,24,26,29</sup>。このため、暗呼吸の増大は乾物生産を低下させ、収量の低下を導くと考えられており<sup>29</sup>、暗呼吸の抑制はイネの成長効率を高める上で重要な課題である。

植物の暗呼吸の電子伝達経路にはシトクロム経路とシアン耐性呼吸経路の存在が知られている。電子がシトクロム経路を通る場合、1 mol のグルコースから ATP が約29 mol が生産されるが、シアン耐性呼吸経路を通る場合、ATP は11 mol しか生産されない<sup>1,25</sup>。このためシアン耐性呼吸経路よりもシトクロム経路を電子が通る方がエネルギー生産効率は高い。この非効率な経路の役割については、熱生産に関わるとした説や<sup>11,14</sup>、細胞内に電子が滞留したときにエネルギーの散逸系として働くとした

説<sup>10,28</sup>が提出されているが、まだ十分にわかっていない。シアン耐性呼吸の働く割合は植物種、生育環境により0～100%まで差があることが報告されている<sup>8,19,20</sup>。このため、様々な環境下におけるこの呼吸経路の割合を知ることとはシアン耐性呼吸の役割を知るうえで、また作物の成長効率の向上を図る上で有効と考えられる。

これまで、シアン耐性呼吸速度の測定には、シトクロム経路とシアン耐性呼吸経路のそれぞれの阻害剤であるシアンとサリチルヒドロキサム酸 (SHAM) を組み合わせて推定する方法が多く用いられてきた<sup>3,27</sup>。この方法では阻害剤が一方の経路だけを阻害すると仮定されているが、実際には両方の経路を阻害する場合がある<sup>4</sup>。また、SHAM 処理により暗呼吸速度が促進されたり<sup>7,15</sup>、十分に阻害されないことが多く報告され<sup>11,13</sup>、この方法によって両経路が働く速度を推定するのは困難とされている<sup>16</sup>。このため現在、シアン耐性呼吸速度を正確に測定する方法は、シトクロム経路とシアン耐性呼吸経路の末端酸化酵素であるシトクロム酸化酵素およびオルターナティブ酸

Received October 1, 2002

化酵素の酸素同位体分別が、前者で低く後者で高いことを利用するしかない<sup>9)</sup>。酸素同位体分別によるシアン耐性呼吸速度の方法については、植物を液相で測定する場合と<sup>8)</sup>、気相で測定する場合<sup>19,20)</sup>があるが、現在これらの方法による報告は少なく、イネではほとんど測定例はない。

そこで、本研究では試料を生育状態に近い気相での測定とし、数サンプルを同時に測定できる装置を製作するとともに、イネ葉身を用いて呼吸阻害剤の処理法を検討した。

### 材料と方法

#### 供試材料および栽培方法

実験にはイネ品種日本晴を供試した。栽培は岡山大学農学部研究圃場において行った。2000年～2002年の4月上旬から5月下旬にかけて、1週間毎に吸水させた催芽種子を水田土壌を充填した育苗ポット（みのる産業製、みのるポット）に播種した。5葉期まで生育させた後、粒状化成肥料（N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O=14:14:14）をポット当たり5g混和した水田土壌を充填した1/5000aワグネルポットに1ポット当り1個体ずつ移植し、湛水条件で栽培した。測定には10～14葉期の最上位完全展開葉を用いた。

#### 暗呼吸速度の測定

葉身を葉脈と垂直に1mmの間隔でカミソリで切り、先端をシリコンで栓をしたガラス製注射器（10ml）内に入れ、暗条件の温度25℃のチャンバーに置いた。一定時間毎にガスタイトシリンジ（Hamilton製、1005）で容器内の気体を抜き取り、ガスクロマトグラフ（島津製、GC-8A）に注入して酸素濃度を測ることにより暗呼吸速度を

測定した。なお、注射器内の圧力を一定に保つために気体を1ml取り出すごとに注射器の体積を1mlずつ減らした。

#### 酸素同位体比の測定方法

酸素同位体比の測定装置はGuyら<sup>8)</sup>とRobinsonら<sup>19,20)</sup>の装置を参照して製作した（Fig. 1）。Guyら<sup>8)</sup>とRobinsonら<sup>19,20)</sup>の装置は、気体採取から安定同位体比測定用質量分析装置に導入するまで連続的に測定できるように作られ（オンラインシステム）、測定誤差を低く抑えている。しかし、自然環境下のシアン耐性呼吸の変化の比較をする上では、植物の酸素同位体分別の測定を同時に多数行う必要がある。そこで本実験では、注射器を改良した密閉容器内に植物を入れ、ガスタイトシリンジで気体採取し、その針の先端にシリコン栓を刺して、サンプルを一時的に保存し、その後、順次測定した（オフラインシステム）。なお、ガスタイトシリンジは20ストロークくらいからガス漏れを生じるため、プランジャーにシリコングリスを塗って使用した。

葉身を入れた密閉容器（10ml）内の気体をガスタイトシリンジで1mlを採取し、ガスクロマトグラフに注入した（Fig. 1, 1）。ガスクロマトグラフの排出口は真空ラインにつなぎ、酸素とアルゴンの分離ピークが終わった時点で3方コックを切り替え（Fig. 1, 3）、酸素、アルゴンおよびキャリアガスのヘリウムは真空ラインに送り、その他の気体は排出口（Fig. 1, 4）から排出させた。真空ラインに送られた酸素は、液体窒素で-196℃に冷やしたモレキュラーシープ5Aに吸着させた（Fig. 1, 6）。真空ポンプ（日立製、E2M2）によりヘリウムを排出し、ピラニー真空計（ULVAC製、WP05）で高真

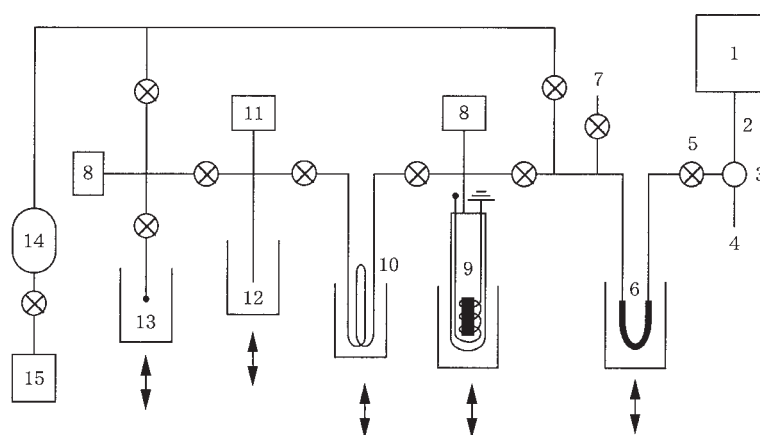


Fig. 1 Schematic diagram of the vacuum-preparation line. Labeled parts and symbols are as follows; 1: gas chromatograph (GC8A, Shimadzu Co.), 2: stainless steel tube, 3: three port valve (Nipro Co.), 4: vent, 5: glass cock (Koshin Rikagaku Seisakusho Co.), 6: Molecular Sieve 5A for collecting O<sub>2</sub>, 7: vent, 8: Pirani gauge (WP05, Ulvac Japan Ltd), 9: conversion furnace, 10: H<sub>2</sub>O-trapping tube by using dry ice-acetone, 11: pressure transducer (PA830, Copal Electronics Co.), 12: CO<sub>2</sub>-holding tube for yield measurements, 13: port with attached sample tube (torched off for transfer of CO<sub>2</sub> to mass spectrometer), 14: oil diffusion pump (KYM-AN100A, Kinoshita Rika Co.), 15: vacuum pump (E2M2, Hitachi Ltd).

空であることを確認した後、モレキュラーシーブ 5 A を室温にまで温め、酸素は燃焼管内に送った (Fig. 1, 9). 約 950°C のグラファイトと酸素を反応させ、CO<sub>2</sub>に変換した。燃焼管内の余分な気体を排除した後、水分をドライアイス-アセトンにより取り除いた (Fig. 1, 10). 圧力トランジューサ (コバル電子製, PA-830) で CO<sub>2</sub>の量を測定した後 (Fig. 1, 12), サンプル管に CO<sub>2</sub>を移し、密封した (Fig. 1, 13). 安定同位体比測定用質量分析装置 (Micromass 製, PRISM) を用いてサンプルの  $\delta_{\text{SMOW}}^{18}\text{O}$  を測定し、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  比を算出した。なお、 $\delta_{\text{SMOW}}^{18}\text{O}$  は海水の酸素同位体比の平均値に対する値を示す。

#### 酸素同位体動的分別係数の算出

酸素同位体動的分別係数 (以降、分別係数と略す) は Guy ら<sup>8)</sup>の方法で求めた。

$$D = -\ln(f)/\ln(R/R_0) \times 1,000$$

$f$  は初期の酸素濃度に対する試料の酸素濃度の割合、 $R$  は試料の酸素同位体比、 $R_0$  は初期の酸素同位体比を示す。分別係数 ( $D$ ) は  $-\ln(f)$  に対して  $\ln(R/R_0)$  をプロットしたときの回帰直線の傾きで表される。

#### シアン耐性呼吸経路の電子分配の計算方法

シアン耐性呼吸経路の電子分配割合 ( $A$ ) は Guy ら<sup>8)</sup>の方法で求めた。

$$A = (D_n - D_c) / (D_a - D_c)$$

$D_n$  は対照の分別係数、 $D_a$  はオルターナティブ酸化酵素の分別係数、 $D_c$  はシトクロム酸化酵素の分別係数を示す。

#### CO<sub>2</sub>濃度が暗呼吸速度に及ぼす影響

密閉した注射器内では葉身の暗呼吸により酸素濃度が低下し、CO<sub>2</sub>濃度が増加する。CO<sub>2</sub>濃度が暗呼吸速度に影響することが予想されたため、CO<sub>2</sub>の吸着剤であるソーダライムを注射器に入れた場合と入れない場合の葉身の暗呼吸速度を比較した。ソーダライムは約 2.5 g 入れ、葉身切除後 270 分間の暗呼吸速度を調べた。また、終了時には携帯用光合成測定装置 (島津製, LCA 3) を用いて CO<sub>2</sub>濃度を測定した。測定は 4 反復とした。

#### 阻害剤処理方法の検討

予備実験よりイネ葉身は阻害剤に浸けただけでは暗呼吸が阻害されなかったことから、阻害剤の処理方法の検討を行った。シアン耐性呼吸経路の阻害剤は 5 ~ 30 mM の SHAM 濃度で数種植物の葉や根で用いられていることから<sup>8,12,17)</sup>, 20 mM と 30 mM の SHAM 濃度を設定した。また、シトクロム経路の阻害には 0.1 ~ 5 mM KCN が用いられており<sup>8,12,17)</sup>, KCN 濃度は 1, 5, 10 mM を設定した。

葉身を葉脈と垂直方向にカミソリで幅約 1 mm に切った後、50 mM の 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl] ethanesulfonic acid (HEPES) 緩衝液 (pH 7.2)

に、両阻害剤を溶かした。その溶液に植物試料を入れて 1 時間浸漬した場合、10 分間の減圧下におき大気圧に戻した後 1 時間浸漬した場合を全ての処理濃度について行った。また、10 mM の KCN 処理では、3 分間の浸漬後、80 ml の密閉容器に入れ、1 ml の 50 mM KCN に HCl を加えて HCN を発生させ、1 時間おいた場合についても調べた。同様に、30 mM の SHAM 処理でも、3 分間浸漬後、密閉容器で 1 時間置いた処理区を作った。いずれの処理も 25°C の条件下で行った。その後、各処理の植物試料を取り出し、生体重が阻害剤への浸漬前と同程度になるまでふき取り、10 ml の密閉容器に入れ、暗呼吸速度の測定を行った。また、10 mM KCN と 30 mM SHAM の全処理法については、酸素同位体分別の測定も行った。

## 結 果

葉身の暗呼吸速度の経時変化を Fig. 2 に示した。暗呼吸速度は容器にソーダライムを入れた場合と入れない場合で差はなく、10 ~ 12 nmol g<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> の間で推移した。両容器内の酸素濃度は測定開始 270 分後には 5 ~ 12% であり、また、CO<sub>2</sub>濃度はソーダライムを入れた場合、150 ~ 200 ppm であったが、ソーダライムを入れない場合には 3000 ppm 以上で、使用した装置では測定不能であった。呼吸商は通常 1 前後であることからソーダライムを入れない場合の濃度は 9 ~ 16% と見積もられた。

暗呼吸速度は KCN の処理濃度 1 mM ではほとんど低下しなかったが、10 mM では対照の 36 ~ 40% にまで低下した (Table 1)。同一濃度では、浸漬時間や脱気処理および HCN 処理の影響はみられなかった。SHAM 処理では暗呼吸速度は 20 mM ですでに対照区の 77% に、30 mM でさらに対照の約 64% にまで低下した。なお、同一濃度では処理方法による暗呼吸速度の違いはみられなかった。

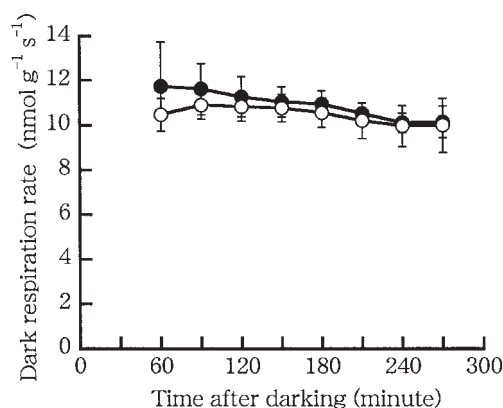


Fig. 2 Change in dark respiration rate of leaf blade of rice as affected by soda line. Dark respiration was measured as decrease of O<sub>2</sub> concentration in the chamber which included leaf blade with soda lime (○) or without soda lime (●).

Table 1 Effect of various treatments of KCN or SHAM on respiration rate in leaf of rice. Respiration rate is shown as relative value to control. Data are means  $\pm$  s.e. (n).

| Treatment                                     | Inhibitor | Concentration | Respiration rate<br>(% of control) |
|-----------------------------------------------|-----------|---------------|------------------------------------|
| Soaked for 1h                                 | KCN       | 1mM           | 95.0 $\pm$ 3.6 (4)                 |
| Soaked for 1h after vacuum for 10min.         | KCN       | 1mM           | 88.5 $\pm$ 6.4 (2)                 |
| Soaked for 1h                                 | KCN       | 5mM           | 65.2 $\pm$ 11.8 (3)                |
| Soaked for 1h after vacuum for 10min.         | KCN       | 5mM           | 71.6 $\pm$ 8.1 (4)                 |
| Soaked for 1h                                 | KCN       | 10mM          | 39.4 $\pm$ 4.7 (3)                 |
| Soaked for 1h after vacuum for 10min.         | KCN       | 10mM          | 38.8 $\pm$ 5.3 (4)                 |
| Exposed to HCN for 1h after soaking for 3min. | KCN       | 10mM          | 36.7 $\pm$ 1.0 (3)                 |
| Soaked for 1h                                 | SHAM      | 20mM          | 74.5 $\pm$ 5.8 (3)                 |
| Soaked for 1h after vacuum for 10min.         | SHAM      | 20mM          | 79.2 $\pm$ 3.0 (4)                 |
| Soaked for 1h                                 | SHAM      | 30mM          | 56.0 $\pm$ 1.6 (3)                 |
| Soaked for 1h after vacuum for 10min.         | SHAM      | 30mM          | 61.5 $\pm$ 1.5 (3)                 |
| Exposed to air for 1h after soaking for 3min. | SHAM      | 30mM          | 67.6 $\pm$ 0.9 (3)                 |

KCN と SHAM 処理による酸素同位体分別の例を Fig. 3 に示した。いずれの処理でも高い回帰係数が得られ、オフラインシステムによっても極めて高い精度の測定が可能であった。

KCN 処理による分別係数は処理法により差が認められ、3 分間の浸漬後 HCN にさらした処理で 20.3% と最も高く、次に 10 分間の脱気処理をした処理の 18.6%、浸漬処理では 17.1% と最も低かった。また、SHAM 処理による分別係数には処理法による差は認められず、いずれも 13.8~14.1% の間にあり、その平均値は 13.9% であった。阻害剤を与えない場合の分別係数は 16.4% であり、同位体分別から求めたシトクロム経路とシアン耐性呼吸経路の働く割合はそれぞれ 62% と 38% であった。

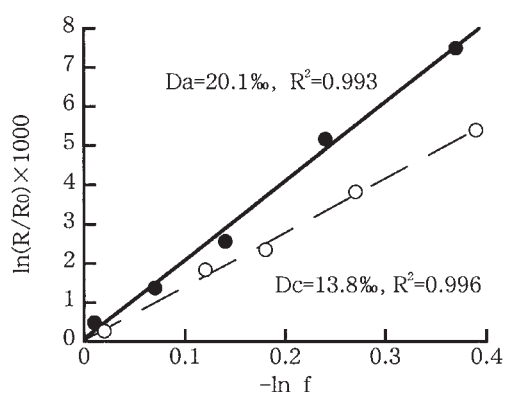


Fig. 3 Example of relationship between  $\ln(R/R_0) \times 1000$  and  $-\ln f$ . These data were obtained with the leaf blade of rice plant. Dc and Da denote the discrimination factors in the presence of 30mM SHAM and 10mM KCN, respectively.  $R_0$  and R are the isotope ratios of the reference sample and a subsequent sample, respectively, and f is the fraction of  $O_2$  remaining in the chamber.

## 考 察

密閉容器内のソーダライムの有無により、 $CO_2$ 濃度が暗呼吸速度に及ぼす影響を調べたところ、イネ葉身の暗呼吸速度は  $CO_2$ 濃度の影響を受けなかった (Fig. 2)。このことから、暗呼吸速度および酸素同位体比の測定においてソーダライムを添加する必要は無いと考えられた。なお、暗呼吸速度が  $CO_2$ 濃度に影響されるかどうかは植物種によって異なることが知られている<sup>2,5,18,21)</sup>、イネは影響されない種であると考えられた。

次に、各経路の阻害剤の処理方法について検討した。シトクロム経路を阻害するために用いられる KCN の処理濃度は、多くの場合 0.1~5 mM である<sup>8,12,17)</sup>。本研究では、いずれの処理法によっても 10mM で最も暗呼吸速度が抑制されたことから (Table 1)、イネでは 10mM の濃度が適当と考えられた。一方、KCN 処理時の分別係数は、処理法により異なり、3 分間の浸漬後 HCN にさらした処理で最も高くなり、シアン耐性呼吸経路の末端酸化酵素の分別係数は 20.3% と考えられた (Table 2)。他の 2 方法では、暗呼吸速度は低下したものの分別係数は低く、これは長時間阻害剤に浸したため、阻害剤から取り出した後に細胞間隙の水分が十分に取り除くことができず、水による酸素の同位体効果が起こり、分別係数が低下したものと考えられた。

シアン耐性呼吸経路の阻害に用いられる SHAM の処理濃度は、多くの場合 10~30mM である<sup>8,12,17)</sup>。本研究ではいずれの処理法によっても 30mM で暗呼吸が最も抑制されたことから (Table 1)、30mM の濃度が適当と考えられた。SHAM 処理時の分別係数は、いずれの処理でも 13.8~14.1% で処理法による違いは認められず、シトクロム経路の末端酸化酵素の分別係数は、3 方法の平均値である 13.9% とみなされた。このため、30mM の濃度であればいずれの処理法でも良いものと考えられた。



Table 2 Effect of various treatments of 10mM KCN or 30mM SHAM on discrimination factors (D) in leaf of rice. Data are means $\pm$ s.e. (n).

| Treatment                                     | Inhibitor | D (%)              |
|-----------------------------------------------|-----------|--------------------|
| Soaked for 1h                                 | KCN       | 17.1 $\pm$ 1.8 (4) |
| Soaked for 1h after vacuum for 10min.         | KCN       | 18.6 $\pm$ 1.1 (7) |
| Exposed to HCN for 1h after soaking for 3min. | KCN       | 20.3 $\pm$ 0.5 (7) |
| Soaked for 1h                                 | SHAM      | 13.9 $\pm$ 0.5 (3) |
| Soaked for 1h after vacuum for 10min.         | SHAM      | 14.1 $\pm$ 0.5 (5) |
| Exposed to air for 1h after soaking for 3min. | SHAM      | 13.8 $\pm$ 0.1 (6) |
| Soaked for 1h                                 | None      | 16.4 $\pm$ 0.2 (3) |

これまで報告された高等植物のシトクロム酸化酵素とオルターナティブ酸化酵素の分別係数は、それぞれ17~20%と23~31%<sup>17,20)</sup>であり、種間差が認められている。本研究で得られたイネの両酸化酵素の分別係数はともに低かったが、これまで報告された植物種は少なく、種間差はさらに大きいのかも知れない。また、同位体分別から得られたイネ葉身のシトクロム経路とシアン耐性呼吸経路の働く割合はそれぞれ62%と38%であった。これまで報告された高等植物の葉におけるシアン耐性呼吸の割合は、ホウレンソウで0~41%<sup>17)</sup>、インゲンマメで0~40%<sup>17)</sup>、クワズイモ0~9%<sup>17)</sup>、ベンケイソウで12~63%<sup>19)</sup>であり、これらに比べるとイネ葉身のシアン耐性呼吸の割合は高い方であった。このことはエネルギー生産効率の低いシアン耐性呼吸を抑制することにより暗呼吸の効率を向上させ、イネの乾物生産や収量を高める可能性を示唆する。そのためには、今後、圃場条件下において様々な環境および品種のシアン耐性呼吸速度を測定することにより、成長効率の高まる条件および品種特性を検討しなければならない。本研究で見いだされたイネにおけるシアン耐性呼吸の測定法は今後の研究の発展に大きく貢献するであろう。

### 要 約

イネの暗呼吸の抑制は乾物生産や収量の増大に貢献すると考えられている。エネルギー生産効率の低いシアン耐性呼吸の抑制の可能性を検討するため、酸素同位体分別を利用したシアン耐性呼吸の測定装置を製作し、イネ葉身の測定法を検討した。その結果、葉身の暗呼吸速度はシトクロム経路の阻害剤である KCN 溶液の濃度が10 mM のときに、また、シアン耐性呼吸経路の阻害剤である SHAM 溶液の濃度が30mM のときに低下が最大であった。分別係数は3分間10mM KCN 溶液に浸漬後 HCN に1時間さらした場合に最も高い20.3%が得られた。いっぽう、SHAM 処理では30mM の溶液であれば浸漬法にかかわらず、13.9%であった。これらから、イネ葉身のオルターナティブ酸化酵素とシトクロム酸化酵素の分別係数はそれぞれ20.3%と13.9%であると推定され、このときのシアン耐性呼吸の割合は38%であった。

### 謝 辞

本研究は岡山大学固体地球研究センターとの共同研究により行われ、酸素安定同位体比は同センターの安定同位体比測定用質量分析装置で測定された。酸素安定同位体比測定用の真空ラインの設計および作成は岡山大学固体地球研究センター教授の日下部実博士に多大な協力をいただいた。ここに感謝の意を表します。

なお、本研究の一部は科学研究費(13760013)により行われた。

### 引用文献

- 1) Amthor J. S.: The McCree-de Wit-Penning de Vries-Thornley respiration paradigms: 30 years later. *Ann. Bot.*, **86**, 1-20 (2000)
- 2) Amthor J. S., G. W. Kock and A. J. Bloom: CO<sub>2</sub> inhibits respiration in leaves of *Rumex crispus* L., *Plant Physiol.*, **98**, 757-760 (1992)
- 3) Bahr, J. T. and W. T. Bonner: Cyanide-insensitive respiration. I. The steady states of skunk cabbage spadix and bean hypocotyl mitochondria. *J. Biol. Chem.*, **248**, 3441-3445 (1973)
- 4) Bingham, I. J. and J. F. Farrar: Respiration of barley roots: assessment of activity of the alternative path using SHAM. *Physiol. Plant.*, **70**, 491-498 (1987)
- 5) Bunce A. J.: Short-and long-term inhibition of respiratory carbon dioxide efflux by elevated carbon dioxide. *Ann. Bot.*, **65**, 637-642 (1990)
- 6) Day D. A., K. Krab, H. Lambers, A. L. Moore, J. N. Siedow, A. M. Wagner and J. T. Wiskich: The cyanide-resistant oxidase: to inhibit or not to inhibit, that is the question. *Plant Physiol.*, **110**, 1-2 (1996)
- 7) de Visser, R. and T. Blacquiere: Inhibition and stimulation of root respiration in *Pisum* and *Plantago* by hydroxamate. *Plant Physiol.*, **75**, 813-817 (1984)
- 8) Guy R. D., J. A. Berry, M. L. Fogel and T. C. Hoering: Differential fractionation of oxygen isotopes by cyanide-resistant and cyanide-sensitive respiration in plants. *Planta*, **177**, 483-491 (1989)
- 9) 広田 修・武田友四郎: 数種作物の太陽光利用率に関する研究. 第3報 水稻及び大豆個体群における光合成有効放射転換効率と構成呼吸及び維持呼吸の関係. *日作紀*, **47**, 336-343 (1978)
- 10) Lambers H.: Cyanide-resistant respiration: a non-phosphorylating electron transport pathway acting as an energy overflow. *Physiol. Plant.*, **55**, 478-485 (1982)

- 11) Lambers H. : Respiration in intact plants and tissues: its regulation and dependence on environmental factors, metabolism and invaded organisms. *In* Higher plant cell respiration (Douce R. and D. A. Day eds.), Encyclopedia of plant physiology 18, pp 418-473 Springer-Verlag, Berlin, (1985).
- 12) Lambers H., A. D. Day, J. Azcon-Bieto : Cyanide-resistant respiration in roots and leaves. Measurements with intact tissues and isolated mitochondria. *Physiol. Plant.* **58**, 148-154 (1983)
- 13) Laties C. G. : The cyanide-resistant, alternative path in higher plant respiration. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **33**, 519-555 (1982)
- 14) Meeuse B. J. D. : Thermogenic respiration in Aroids. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **26**, 117-126 (1975)
- 15) Møller I. M. and A. Berczi : Salicylhydroxamic acid-stimulated NADH oxidation by purified plasmalemma vesicles from wheat roots. *Physiol. Plant.*, **68**, 67-74 (1986)
- 16) Møller I. M., A. Berczi, L. H. W. van der Plas and H. Lambers : Measurement of the activity and capacity of the alternative pathway in intact plant tissues : identification of problems and possible solutions. *Physiol. Plant.*, **72**, 642-649 (1988)
- 17) Noguchi K., C.-S. Go, I. Terashima, S. Ueda and T. Yoshinari : Activities of the cyanide-resistant respiratory pathway in leaves of sun and shade species. *Aust. J. Plant Physiol.*, **28**, 27-35 (2001)
- 18) Reuveni J. and J. Gale : The effect of high levels of carbon dioxide on dark respiration and growth of plants. *Plant Cell Environ.*, **8**, 623-628 (1985)
- 19) Robinson S. A., D. Yakir, M. Ribas-Carbo, L. Giles, C. B. Osmond, J. N. Siedow and J. A. Berry : Measurements of the engagement of cyanide-resistant respiration in Crasulacean acid metabolism plant *Kalanchoe daigremontiana* with the use of on-line oxygen isotope discrimination. *Plant Physiol.*, **100**, 1087-1091 (1992)
- 20) Robinson S. A., M. Ribas-Carbo, D. Yakir, L. Giles, Y. Reuveni and J. A. Berry : Beyond SHAM and cyanide: opportunities for studying the alternative oxidase in plant respiration using oxygen isotope discrimination. *Aust. J. Plant Physiol.*, **22**, 487-496 (1995)
- 21) Ryle G. J. A., C. E. Powell and V. Tewson : Effect of elevated CO<sub>2</sub> on the photosynthesis, respiration and growth of perennial ryegrass. *J. Exp. Bot.*, **35**, 1156-1165 (1992)
- 22) Saitoh, K., T. Doi, and T. Kuroda : Effects of nitrogen application on dark respiration in different parts of rice seedlings. *Plant Prod. Sci.*, **3**, 243-245 (2000)
- 23) 齊藤邦行・村木智裕・土井寿幸・黒田俊郎 : 水稻品種の乾物生産に及ぼす暗呼吸の影響. 日本晴とタカナリの生長効率の比較. 日作紀, **69**, 194-200 (2000)
- 24) 齊藤邦行・大中隆史・黒田俊郎 : 水稻品種の乾物生産に及ぼす暗呼吸の影響. 早晩性の異なる品種の生長効率. 日作紀, **69**, 385-390 (2000)
- 25) Stryer L. : Biochemistry. 4 th edn., W. H. Freeman and Company, New York (1995)
- 26) Tanaka, A. and J. Yamaguchi : The growth efficiency in relation to the growth of rice plant. *Soil Sci. Plant Nut.*, **14**, 110-116 (1968)
- 27) Theologis A. and G. C. Laties : Relative contribution of cytochrome-mediated and cyanide-resistant electron transport in fresh and aged potato slices. *Plant Physiol.*, **62**, 232-237 (1978)
- 28) Wagner A. M. and K. Krab : The alternative respiration pathway in plants: Role and regulation. *Physiol. Plant.*, **95**, 318-325 (1995)
- 29) Yamaguchi, J. : Respiration and the growth efficiency in relation to crop productivity. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.*, **59**, 59-129 (1978)