培養器の換気回数と光合成有効光量子束の大小が培養器内二酸化炭素濃度とイチゴ培養小植物体の生長に及ぼす影響[†]

古 在 豊 樹*・ 関 本 克 宏**

*千葉大学園芸学部園芸環境工学研究室

**株式会社荏原製作所プラント事業部

Effects of the Number of Air Changes per Hour of the Closed Vessel and the Photosynthetic Photon Flux on the Carbon Dioxide Concentration Inside the Vessel and the Growth of Strawberry Plantlets *in vitro*

Toyoki KOZAI* and Katsuhiro SEKIMOTO**

*Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo 271, Japan

**EBARA Corporation, Plant Engineering Division,
1-6-27 Kohnan, Minato-ku, Tokyo 108, Japan

Effects of the number of air changes per hour of the closed vessel (1.5 and 2.7 h⁻¹) and the photosynthetic photon flux (PPF, 34.3 and 133 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) on the CO₂ concentration inside the vessel (C_{in}) and the growth of strawberry plantlets *in vitro* were investigated.

C_{in} during the photoperiod was lower than CO₂ outside the vessel (C_{out} , inside the culture room) on 5 days after the start of experiments in all treatments. On 20 days after the start of experiments, C_{in} was lower than C_{out} (350–400 ppm) by 100–300 ppm. The difference in CO₂ concentration between inside and outside was relatively larger in the higher PPF treatment and in the larger number of air changes per hour treatment.

On 20 days after the start of experiments, the dry weight of the plantlet was larger in the higher PPF treatment than in the lower PPF treatment. However, the difference in the dry weight was not so large among the treatments, comparing with the large differences in C_{in} among the treatments.

Relative growth rate, chlorophyll content, net photosynthetic rate, dark respiration rate etc. were estimated to explain the relatively small difference in the dry weight among the treatments. Furthermore, suggestions were made to improve the environment in the vessel further for promoting the plantlet growth.

(Received December 14, 1987)

1987 年 12 月 14 日受付

緒 言

茎葉が分化した培養小植物体（以下、単に小植物体と呼ぶ）を含む閉栓培養器（以下、単に培養器と呼ぶ）内の二酸化炭素濃度は、明期と暗期で異なり、培養器の換気回数が小さい場合、明期において、しばしば、大気中の平均濃度（約 350 ppm）よりも 200～250 ppm 以上低

[†] 組織培養苗の大量生産のための環境調節（2）

くなり、培養器内小植物体の光合成を抑制している¹⁾。

培養器内の二酸化炭素濃度が低い場合には、照射光強度を増大しても小植物体の光合成はそれほど促進されない。そこで、従来、組織培養における照射光強度は 2～3 klx 程度が適当であるとされていた。

しかし、明期における培養器内の二酸化炭素濃度と照射光強度を人為的に高めれば、培養小植物体の純光合成速度を増大し¹⁾、小植物体 (plantlet) の生長を促進することが可能である²⁾。さらに、光合成のみ（光独立栄養）

によって小植物体を生長させる, いわゆる, 無糖・無菌培養も実験的に検討されている²⁾。

明期において, 光合成をしている小植物体を含む培養器内の二酸化炭素濃度を大気(培養器外空気)のそれに近づけるための簡易な方法としては, 1) 通常の培養器を用いるが, 培養器外(培養室内)の二酸化炭素濃度を高める, いわば, 能動的二酸化炭素施用, および 2) 培養器外の二酸化炭素濃度は高めないで, 培養器の換気回数を高める, いわば, 受動的二酸化炭素施用, の2つがある。

小植物体の光合成促進を目的とした能動的二酸化炭素施用が, 培養中のスターチス²⁾, カーネーション³⁾, ラン^{4,5)}などの小植物体の生長を促進することはすでに実験的に確かめられている。

しかし, 目的を上記と同じくする受動的二酸化炭素施用が培養小植物体の生長促進に効果があるかどうかを実験的に確かめた報告はまだみあたらない。

もし, 培養器の換気回数(通気性)を増大するだけの受動的二酸化炭素施用が小植物体の生長促進に効果的であれば, その培養苗大量生産への実用性は大きい。なぜなら, それは, 従来の培養方法・設備をそれほど変更せずに, 栓の通気性を高めるだけで達成されることから, 苗生産コストの低下に寄与するところが大きいからである²⁾。

そこで, 本実験では, 換気回数が異なる2種の培養器を用いて, イチゴの小植物体の培養を行い, 培養期間中における培養器内外の二酸化炭素濃度の日変化, 経日変化, および培養小植物体の生体重, 乾物重の経日変化などを, 異なる照射光強度下で測定した。さらに, 二酸化炭素濃度測定値から小植物体の純光合成速度などを算定した。そして, 受動的二酸化炭素施用の問題点を検討した。

材料および方法

1. 供試植物, 培養条件および試験区

供試植物としてイチゴ(strawberry, *Fragaria* × *ananas* Duch., 品種名: アイベリー)を用いた。増殖培養ステージ後期のイチゴ小植物体を2~3枚の小葉を含むように株分けし, 根を取り除いたうえ, 1外植体(または外食片, explant)当りの生体重がおよそ25 mgになるように切りそろえて, 試験開始時に, 供試培養器1個当り1外植体を移植した。この移植日を試験開始0日目とした。

培養器としては, ガラス製平底試験管(外径25 mm, 内容積46 ml)に以下の2種の栓のいずれかをしたもの

を用いた。

1つは, 半透明白濁色の成形プラスチックキャップであり, 以下この栓を用いた試験区を Low Vent. 区(Low Ventilation 区)と呼ぶ。

他の1つは, 透明なTPXフィルム(ポリメチルペンテンフィルム, 三井石油化学(株)製)を1辺7 cmの正方形に切り, その中央に直径4 mmの穴を開け, その穴の部分をジュラガード(マイクロポラスポリプロピレンフィルム・グレード4410, ポリプラスチック(株)のガス透過性・雑菌不透過性の白色フィルターで塞いだもので, 以下はこの栓を用いた試験区を High Vent. 区(High Ventilation 区)と呼ぶ。

培養器の換気回数(1時間当りの換気量を容器容積で除した値)は, Low Vent. 区では 1.5 h^{-1} , High Vent. 区では 2.7 h^{-1} であった。培養器の換気回数は古在ら⁶⁾の方法で測定した。

蛍光灯下における, 素材そのものの光量子透過率(波長400~700 nm)は, プラスチックキャップで85%, TPXフィルムで約90%, ジュラガード・フィルターで約50%であった。

光照射用光源としては白色蛍光灯を用いた。培養器を置いていない棚面上における光合成有効光量子束(photosynthetic photon flux, 波長400~700 nm, 以下PPFと略す)としては, $34.3 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (照度: 2.70 klx)のLow PPF区および $133 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (照度: 10.5 klx)のHigh PPF区の2試験区を設定した。

小植物体を含まない培養器内の培地面におけるPPFは, 実験条件下において, Low PPF・Low Vent. 区では $15.7 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (1.24 klx), High PPF・Low Vent. 区で $74.7 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (5.88 klx), また Low PPF・High Vent. 区で $14.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (1.17 klx), High PPF・High Vent. 区で $70.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (5.58 klx)であった。すなわち, High PPF区とLow PPF区のそれぞれにおいて, Low Vent. 区の培養器内培地面におけるPPFは, High Vent. 区のそれよりやや高い。

以上のように, 試験区としては, (1) Low PPF・Low Vent. 区, (2) Low PPF・High Vent. 区, (3) High PPF・Low Vent. 区, (4) High PPF・High Vent. 区の計4試験区を設定した。各試験区の供試外植体(培養器)数は40本である。

明暗周期は24 h, 明期は16 h/dとした。培地には, MS寒天培地(ショ糖濃度2%, 寒天濃度0.8%, ホルモン無添加)を用い, その培地を各試験管に約9 mlずつ分注した。試験期間中, 小植物体が植えられている培養器は, 約25°Cに保たれた培養室の中に置かれた。試

験期間は 20 日間であった。

2. 培養器内外二酸化炭素濃度の日変化測定

試験開始 5 日目から 20 日目まで 5 日ごとに、培養器外（培養室内）および各試験区の特定の 1 つの培養器内の二酸化炭素濃度を約 2 時間ごとに測定した。二酸化炭素濃度の測定には、ガスクロマトグラフ（株式会社島津製作所製、モデル GC12A）を用いた。カラム、検出器およびサンプルガス採取方法は富士原¹⁾の方法と同様である。

3. 生体重および乾物重の経日変化測定

試験開始時に、4 試験区のそれぞれについて、培地に植え付ける直前の、切りそろえた外植体の生体重を、30 個体について測定した。さらに、それら（計 120 本）とは別に 10 本の外植体の生体重と乾物重を試験開始時に測定した。

試験開始 10 日目と 20 日目に、各試験区から小植物体 15 本ずつを任意に選んで、その生体重を茎葉部と根部に分けて、精度 1 mg で測定し、後にそれぞれの乾物重も測定した。全生体重に対する全乾物重の比率として乾物率を算定した。試験開始時における供試外植体の平均乾物率は 9.1% であった。試験開始 10、20 日目については、茎葉部生体重と根部生体重の比（Top-Root Ratio, 以下 T/R 比と略す）も算定した。

4. 小植物体クロロフィル含量の測定

重量測定用の外植体（計 130 本）とは別に、上述と同様の外植体を各試験区当たり 10 本ずつ（計 40 本）、同様の条件で培養した。試験開始 20 日目に、各試験区の 10 本の小植物体茎葉部のクロロフィル含量と生体重を測定した。

クロロフィルの抽出には 80% アセトンを用い、その含量は、分光光度計を用いて測定した。波長 654 nm および 663 nm の吸光度の値を、Arnon の式に代入して求めた⁷⁾。

5. 明期の定常状態における純光合成速度

明期において、培養器内外二酸化炭素濃度が定常とみなせる（時間変動が少ない）時間帯の、培養器内小植物体当りの純光合成速度 P_n は次式で近似される。

$$P_n = k \cdot V \cdot E (C_{out} - C_{in}) \quad (1)$$

ここで、 k は変換係数 ($1 \text{ cm}^3 \text{ CO}_2 = 1.96 \times 10^{-3} \mu\text{g CO}_2$)、 V は培養器内容積、 E は換気回数である。小植物体茎葉部乾物重当りの純光合成速度 P_{Dw} は、(1) 式を小植物体茎葉部乾物重で除して求められる。以下では、(1) 式に基づいて P_n 、 P_{Dw} を求めた。

なお、(1) 式は、暗期の定常状態における培養器内小植物体当り暗呼吸速度 R を算定するのにも用いられた。

6. 1 日当り、培養器内小植物体当りの純二酸化炭素交換速度 P_{day}

上記 P_{day} は次式で近似的に求められる¹⁾。

$$P_{day} = k \cdot V \cdot E \int_{t_1}^{t_1+24} (C_{out}(t) - C_{in}(t)) dt + k \cdot V (C_{out}(t_1) - C_{in}(t_1+24)) \quad (2)$$

ここで、 C_{out} 、 C_{in} は時刻の関数であるとし、 t_1 は積分を開始する時刻で、本実験では 14:00 とした。 P_{day} は、 $(C_{out}(t) - C_{in}(t))$ がプラスのときだけの積分値 P_{day+} 、およびそれがマイナスのときだけの積分値 P_{day-} の和、すなわち、

$$P_{day} = P_{day+} + P_{day-} \quad (3)$$

としても、概略、表現できる。以下では、 P_{day} などの積分値は、2 時間ごとの C_{out} 、 C_{in} の測定値に基づき、(2) 式に基づいて数値積分により近似的に求められた。

結果および考察

1. 培養器内外二酸化炭素濃度の日変化および経日変化

培養器外（培養室）および各試験区の培養器内の二酸化炭素濃度の日変化および経日変化を測定日ごとに Fig. 1 に示す。

(a) 培養器外二酸化炭素濃度 (C_{out})

培養器外の二酸化炭素濃度 (Fig. 1 中の実線、以下 C_{out} と略す) は、試験開始 5 日目には 352~398 ppm, 10 日目には 322~364 ppm, 15 日目には 376~460 ppm, 20 日目には 376~450 ppm の間で時間変動した。

C_{out} の日変化、経日変化は、主として、培養室（容積約 7 m³）が設置されている実験室（容積約 100 m³）内で作業中の人間の呼気量の大小に依存している。 C_{out} のこの程度の時間変動は培養室内に人間がいなくても、実験室内に 0~2 人の人間がいる場合は、一般的であろう。

(b) 明期の培養器内二酸化炭素濃度 (C_{in})

試験開始 5 日目、10 日目においては、Low PPF 区の C_{in} は C_{out} (約 350~400 ppm) と大差なかった。他方、High PPF 区の C_{in} は C_{out} よりも 100~150 ppm 低く、5 日目では 170~240 ppm, 10 日目には 100~200 ppm 低くなった。

High PPF 区と Low PPF 区の両区において、Low Vent. 区の C_{in} が High Vent. 区の C_{in} より常にやや低かった。

試験開始 15 日目と 20 日目における C_{in} は、Low PPF 区においては、5 日目、10 日目の C_{in} より 50~100 ppm 低く、15 日目では 250~350 ppm, 20 日目には 200~300 ppm 低くなった。他方、High PPF 区においては C_{in}

Fig. 1 Diurnal changes in carbon dioxide concentration inside (C_{in}) and outside (C_{out}) the tissue culture vessels containing strawberry plantlets at the multiplication stage.

Low vent. : Number of air changes per hour of the vessel = 1.5 h^{-1}
 High vent. : Number of air changes per hour of the vessel = 2.7 h^{-1}
 Low PPF : Photosynthetic photon flux = $34.3 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
 High PPF : Photosynthetic photon flux =

24 (24)

の経日変化が比較的少なかった。

(1) 式によれば、定常状態においては、 P_n は C_{out} と C_{in} の差に正比例する。そして、Fig. 1 から、実験開始 5 日目には、小植物体の P_n が正の値であり、とくに High PPF 区では P_n の値が大きいことがわかる。なお、予備的測定によれば、High PPF 区においては、試験開始 0 日目において、すでに、 P_n の値は正であった。

Low PPF 区においては、 P_n が日を追うごとに増大している。しかし、High PPF 区では、 P_n の日ごとの増大が顕著でなかった。これは、 P_n の増大が C_{in} の低下を招き、その C_{in} の低下が P_n の増大を抑制してしまうからである。この培養器内の低二酸化炭素濃度による P_n の抑制は、一般に、PPF が大であるほど、また培養器の換気回数 E が小さいほど、早期に顕著になりはじめるといえる。

さらに、本実験のような温度条件下では、PPF が $100 \sim 200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、 C_{in} が $100 \sim 500 \text{ ppm}$ の範囲では、 P_n は C_{in} におよそ比例して増大すると考えられるから⁹⁾、High PPF 区における、 $100 \sim 200 \text{ ppm}$ にも達する C_{in} の低下は、小植物体の光合成による生長を抑制していると考察される。

本実験のような受動的二酸化炭素施用において、 P_n の増大に伴う C_{in} の低下を少なくするには、 E をさらに増大させることが考えられる。しかし、本実験における High Vent. 区の培養器の E (2.7 h^{-1}) をさらに大きくすると、通常の培養室においては、寒天培地からの水分蒸発過多あるいは培養器内湿度の過度の低下を招くと考えられる。

そこで、 E を増大させて C_{in} の低下を抑制するには、現実には、培養室内 (培養器外) 湿度を高く維持する、あるいは培地上に蒸発抑制剤溶液を散布するなど、蒸発・蒸散の抑制あるいは培養器内湿度低下の抑制を考慮する必要がある。実際、Low Vent. 区の E でさえ、アルミフェイル栓などの E より数倍以上大であり⁶⁾、数ヵ月以上にわたる培養では培地水分不足となる可能性が認められた。

$133 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

The values of PPF shown above were measured on the shelf without the vessels. PPF on the medium inside the vessel containing no plantlets was roughly 45–55% of the PPF outside. The vessel was stoppered with a formed plastic cap for the Low Vent. treatment and with a gas permeable filter for the High Vent. treatment. Photoperiod: 8–24 h, Darkperiod: 0–8 h.

生物環境調節 (Environ. Control in Biol.)

3. 暗期の培養器内二酸化炭素濃度 (C_{in})

試験開始 10, 15, 20 日目における暗期の C_{in} は、概略、Low PPF・Low Vent. 区では、520, 615, 670 ppm であった。Low PPF・High Vent. 区では、470, 550, 590 ppm であった。High PPF・Low Vent. 区では、720, 815, 920 ppm, また High PPF・High Vent. 区では、660, 730, 790 ppm であった。

いずれの試験区においても小植物体の生長とともに暗期の C_{in} が増大した。暗期の C_{in} の最大値が 1000 ppm 以下であったのは、主として、 E が比較的大であったからであり、 E の値が 0.1 h^{-1} 以下の場合には、 C_{in} は 5000 ppm 以上にもなりうる¹⁾。

R は、 C_{in} と C_{out} の差にほぼ正比例する。本試験条件では昼夜とも気温を 25°C 一定に維持したので、 R は、第一に生体重に比例し、第二に生長速度の大小におよそ依存していると考えられる。また、イチゴの R が C_{in} の増大に伴い増大するという報告もある⁹⁾。 R と生体重の関係および R と P_n の関係については後述する。

4. 生体重および乾物重の経日変化

Table 1 に、試験開始 0 日目、10 日目および 20 日目における試験区別の生体重、乾物重、乾物率および生体重に関する T/R 比を示す。生体重については茎葉部と根部に分けて示した。

試験開始 20 日目においては、High PPF 区における茎葉部、根部の生体重および乾物重は、それぞれ、Low

PPF 区のそれらより大であった。

試験開始 20 日目における Low PPF 区、High PPF 区それぞれの乾物重、生体重、乾物率は、Low Vent. 区より High Vent. 区のほうがやや大であったが、その差は明確ではなかった。

生体重あるいは乾物重の、High Vent. 区と Low Vent. 区における差が、明期の純光合成速度の差(後述、Table 3 参照)ほどには、High PPF 区と Low PPF 区のそれぞれにおいて、大きくないのは、注目に値する。この原因は、各試験区における小植物体の R 、および培地ショ糖濃度(あるいは従属栄養的生長)をも考慮にいれて考察しなければならない²⁾。

試験開始 20 日目の T/R 比は、High PPF 区で Low PPF 区より小さく、また、両区において、High Vent. 区のほうが Low Vent. 区より小さい。これは、純光合成速度が大であることが根部の生長を促進したと解釈される。一般に培養第 3 ステージにおける小植物体の発根は比較的困難であるので、発根促進の目的で各種の生長調整物質が外生ホルモンとして利用されることが多い。しかし、光合成を促進すれば、生合成された内生ホルモンにより、外生ホルモンを用いなくて、発根を促進することができることも推測される。これについてはさらに詳細な研究が必要である。

High Vent. 区の乾物率が Low Vent. 区のそれに比較して大であるのは、 C_{in} の差にも起因することは否定

Table 1 Fresh and dry weight, dry/fresh weight ratio, and top/root fresh weight ratio of the strawberry plantlets *in vitro* on 0, 10 and 20 days after treatments.

Treatment	Days after treatment (day)	Fresh weight (mg·plantlet ⁻¹)			Dry weight (mg·plantlet ⁻¹) Total	Dry/fresh weight ratio	Top/root F.W. ratio
		Top	Root	Total			
Low PPF low vent.	0	24	0	24	2.2	0.09	—
	10	69	12	81	7.9	0.10	5.8
	20	123	24	147	15	0.10	5.1
Low PPF high vent.	0	24	0	24	2.1	0.09	—
	10	56	11	69	7.7	0.11	5.2
	20	111	38	149	16	0.11	2.9
High PPF low vent.	0	25	0	25	2.3	0.09	—
	10	71	16	87	10	0.12	4.4
	20	151	67	218	24	0.11	2.6
High PPF high vent.	0	24	0	24	2.3	0.09	—
	10	67	17	84	11	0.12	4.0
	20	149	75	224	28	0.12	2.0

For the meanings of the symbols for the treatments, see Fig. 1.

Table 2 Relative growth rate (*RGR*) of the strawberry plantlet *in vitro* on fresh and dry weight basis, for the time periods of 0 to 10 days and 10 to 20 days after treatments.

Treatment	Time period (Days after treatments) (day)	Fresh weight basis (d^{-1})		Dry weight basis (d^{-1})
		Aerial*	Whole**	Whole**
Low PPF	0-10	0.19	0.24	0.26
low vent.	10-20	0.08	0.08	0.09
Low PPF	0-10	0.14	0.19	0.27
high vent.	10-20	0.09	0.12	0.11
High PPF	0-10	0.19	0.25	0.35
low vent.	10-20	0.11	0.15	0.13
High PPF	0-10	0.18	0.24	0.38
high vent.	10-20	0.12	0.17	0.15

For the meanings of the symbols for the treatments, see, Fig. 1.

* Aerial: Aerial part (top) of the plantlet.

** Whole: A whole (aerial and root) plantlet.

*** $RGR = (W(t_2) - W(t_1)) / (t_2 - t_1) / W(t_1)$, where $W(t_1)$ and $W(t_2)$ denote the fresh or dry weight at day t_1 and day t_2 , respectively.

できない。しかし、それは High Vent. 区の培養器内の相対湿度が Low Vent. 区のそれより低いことの影響が大きいと考えられる。培養器内水分環境と小植物体の生長の関係、とくに、乾物率、節間長、葉の表皮構造、莖径などとの関係は今後の研究課題として残される。

Table 2 に、次式で表される小植物体の相対生長速度 *RGR* の計算結果を生体重ベース、および乾物重ベースで示した。

$$RGR = (W_2 - W_1) / (T_2 - T_1) / W_1 \quad (4)$$

ここで、 W_1 , W_2 は、それぞれ、測定日 T_1 , T_2 における重量である。Table 2 から、すべての試験区において、0~10 日目の *RGR* より 10~20 日目の *RGR* のほうが小さいことがわかる。Low PPF 区では High PPF 区より、10~20 日目の *RGR* の低下が大である。これは、10 日目以降ではすでに生長、とくに、光合成による独立栄養的生長が PPF の低いことにより抑制されているためと思われる。

High PPF 区においては、Low Vent. 区の *RGR* が、10~20 日目において、High Vent. 区のそれより小さい。その原因の 1 つとしては、Low Vent. 区の C_{in} の低いことが考えられる。すなわち、通常の培養条件下においてはもちろんのこと本実験条件下でも、PPF および C_{in} がともに低いことが、生長の律速因子となっていると考えられる。

以上の原因をより明確に究明するための研究が、小植物体の生長促進方法を明らかにするために、今後必要で

あろう。

乾物重ベースの *RGR* が、生体重ベースの *RGR* より大であるのは、乾物率が試験後半に高くなっていることに対応し、また、茎葉部生体重に関する *RGR* が全生体重に関する *RGR* より小さいのは、 T/R 比が試験後半に小さくなっていることに対応している。

5. 茎葉部のクロロフィル含量

Table 3 に、試験開始 20 日目の各試験区の小植物体茎葉部に関して、単位生体重当りクロロフィル含量 (C_{FW})、クロロフィル a/b 比、および単位乾物重当りクロロフィル含量 (C_{DW}) を示した。また、小植物体当りのクロロフィル含量も示した。

すべての試験区において、 C_{FW} は露地またはハウス栽培されているそれと同等の値を示している⁸⁾。クロロフィル a/b 比が 2.2~2.5 の範囲にあることから葉色はやや濃い緑色であることがわかる⁸⁾。

High Vent. 区の C_{FW} 、クロロフィル a/b 比、および C_{DW} の値が Low Vent. 区のそれらに比較してやや大であるが、その差は明確ではない。High Vent.・Low PPF 区における C_{DW} が他の試験区に比較してやや小さい原因は不明である。小植物体当りのクロロフィル含量は、PPF が大であるほど、また C_{in} が高いほど、大となっている。

6. 純光合成速度 P_n および暗呼吸速度 R

Table 4 に、明期の定常状態における純光合成速度 P_n および暗期の定常状態における暗呼吸速度 R の値お

Table 3 Chlorophyll content on fresh (C_{FW}) and dry (C_{DW}) weight basis, chlorophyll a/b ratio and chlorophyll content per plantlet (C_p) of the aerial part of strawberry plantlets *in vitro* on 20 days after treatments.

Treatments	Chlorophyll content		Chlorophyll a/b ratio	Chlorophyll content per plantlet, C_p (g·plantlet ⁻¹)
	F.W. basis (C_{FW}) (mg·g F.W. ⁻¹)	D.W. basis (C_{DW}) (mg·g D.W. ⁻¹)		
Low PPF low vent.	1.21	13.8	2.35	0.16
Low PPF high vent.	1.49	15.7	2.20	0.19
High PPF low vent.	1.24	10.4	2.40	0.20
High PPF high vent.	1.79	14.0	2.45	0.30

For the meanings of the symbols for the treatments, see, Fig. 1.

Table 4 Net photosynthetic (P_n) and dark respiration (R) rates per plantlet for strawberry *in vitro* under steady conditions on 5, 10, 15 and 20 days after treatments, together with net photosynthetic rate per dry weight (P_{DW}) and dark respiration rate per dry weight (R_{DW}) on 20 days after treatments.

Treatments	Days after treatments	P_n ($\mu\text{g CO}_2\cdot\text{plantlet}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	R ($\mu\text{g CO}_2\cdot\text{plantlet}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	R/P_n	P_{DW} ($\mu\text{g CO}_2\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	R_{DW} ($\mu\text{g CO}_2\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
Low PPF low vent.	5	2.1	18.8	9.0	1.6	2.5
	10	6.1	23.5	3.9		
	15	18.1	30.9	1.7		
	20	21.7	37.6	1.7		
Low PPF high vent.	5	3.8	21.1	5.6	1.9	3.0
	10	9.0	30.9	3.4		
	15	17.3	41.2	2.4		
	20	26.5	48.2	1.8		
High PPF low vent.	5	26.1	32.3	1.2	1.9	3.0
	10	30.0	51.3	1.7		
	15	40.5	58.8	1.5		
	20	39.1	72.3	1.8		
High PPF high vent.	5	35.8	46.8	1.3	2.5	3.5
	10	42.1	77.3	1.8		
	15	58.4	84.6	1.4		
	20	58.2	97.5	1.7		

For the meanings of the symbols for the treatments, see Fig. 1.

よび両者の比 (R/P_n) を、試験区別、測定日別に示した。同表には、試験開始 20 日目の測定に用いた小植物体に関して、単位茎葉部乾物重当りの純光合成速度 P_{DW} と単位小植物体乾物重当り暗呼吸速度 R_{DW} も併記した。

(a) 純光合成速度 P_n

Low PPF 区における P_n の値は、High PPF 区のそれに比較して、Low Vent. 区と High Vent. 区の両区において、また、とくに試験開始 5 日目、10 日目にお

いて、小さい。これは、小植物体の光合成能力が低いからではない。これは、Low PPF 区において、第一に PPF が低いからであり、第二に小植物体の乾物重が小さいからであるといえる。

なぜならば、Low PPF 区の PPF は High PPF 区の PPF の約 1/5 であるのに、たとえば、試験開始 20 日目における Low PPF 区の P_{DW} は、High PPF 区のその約 3/4 以上もあるからである。

試験開始 20 日目において、Low PPF 区と High PPF 区の P_{DW} にそれほど大きな差がないのは、Low PPF 区の C_{in} に比較して High PPF 区の C_{in} が低いからであるといえる。

なお、Low PPF 区と High PPF 区の両区における P_n が、Low Vent. 区より High Vent. 区において高いのは、High Vent. 区の培養器内 PPF が Low Vent. 区のそれよりやや低いにもかかわらず、High Vent. 区の C_{in} が Low Vent. 区の C_{in} より高いからであると考えられる。

(b) 暗呼吸速度 R および R/P_n 比

各試験区における R の値を対応する試験区の P_n との関連でみると次のことがいえる。

1) 一般に、 R および R_{DW} の値が P_n および P_{DW} に比較して高かった。 R/P_n 比の値が 2 以下になるのは、Low PPF 区では、Low Vent. 区の 15, 20 日目、および High Vent. 区の 20 日目だけであった。本実験においては、明期 16 時間、暗期 8 時間の明暗周期 24 時間としたので、 R/P_n の値がおおよそ 2 以上であると、 P_{day} の値が負になる。 P_{day} が負でも乾物重の増加がみ

られる場合 (Low PPF 区の 5, 10 日目) は、その小植物体は従属栄養的側面が強い混合栄養生長をしていることになる。

2) Low PPF 区では、 R/P_n の値が日の経過とともに低下傾向を示した。しかし、High PPF 区では、上記の傾向がみられなかった。これは、Low PPF 区では、日の経過とともに、独立栄養的側面の強い混合栄養生長を示したことを意味する。High PPF 区では、試験開始直後より独立栄養的側面がある程度強かったものと考えられる。

3) R および P_n の値は、High PPF 区について、Low Vent. 区よりも High Vent. 区の方が高い。これは、 C_{in} が高いほど R が高くなるという、織田⁹⁾の報告と傾向が一致する。その詳細については、今後、さらに究明が必要である。

4) 本実験におけるように、小植物体が混合栄養生長する場合、明期および暗期の呼吸速度が P_n に比較して大きいことは、必ずしも生長を抑制することを意味しない。しかし、今後、明期および暗期の呼吸速度に大きく影響する温度条件を種々変更して、本実験と同様の試験

Table 5 Daily positive (P_{day+}), negative (P_{day-}) and net (P_{day}) carbon dioxide exchange rate per plantlet of the strawberry *in vitro* on 5, 10, 15 and 20 days after treatments, and daily net carbon dioxide uptake per unit dry weight.

Treatments	Days after treatments	Daily CO ₂ exchange rate			Daily net CO ₂ uptake ($\mu\text{g CO}_2\text{mgDW}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)
		P_{day+}	P_{day-} ($\mu\text{g CO}_2\cdot\text{plantlet}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	P_{day}	
Low PPF low vent.	5	34	-110	-76	2.8
	10	80	-130	-50	
	15	226	-153	73	
	20	280	-196	84	
Low PPF high vent.	5	60	-126	-66	3.1
	10	120	-170	-51	
	15	203	-201	2	
	20	339	-248	91	
High PPF low vent.	5	351	-176	175	3.4
	10	396	-275	122	
	15	521	-300	222	
	20	509	-382	127	
High PPF high vent.	5	484	-257	227	5.1
	10	555	-415	139	
	15	748	-428	320	
	20	757	-510	246	

For the meanings of the symbols for the treatments, see Fig. 1.

For the definitions of P_{day} , P_{day+} and P_{day-} , see Eq. (2) and (3) in the text.

を行い、混合栄養生長における従属栄養的生長から独立栄養生長への転換に関する問題をより詳細に究明する必要がある。

P_n に対する R の比が 1 以上であることは、明期における真の光合成速度は純光合成速度 P_n の 2 倍以上であることを意味する。一般に、 C_3 植物では明期における呼吸速度は暗呼吸速度より大きいからである。このことは、小植物体の生育促進のための好適温度は、明期と暗期では異なることを示唆する。混合栄養生長している小植物体に関する昼夜変温に関する研究はあまりなされていないので、この点に関する研究も今後必要となろう。

なぜならば、夜間気温を昼間気温より低くする、あるいは昼夜の気温を、本試験条件の 25°C よりも 5°C 前後低くすることによって、 P_{day} あるいは小植物体の乾物重が増大する可能性があるからである。

7. 1 日当り、培養器内小植物体当りの純二酸化炭素交換速度 P_{day}

Table 5 に、 P_{day} 、 $P_{\text{day}+}$ および $P_{\text{day}-}$ の値を、試験区別、測定日別に示した。同表には、試験開始 20 日目の小植物体に関して、1 日当り、単位莖葉部乾物重当りの二酸化炭素交換速度も併記した。

P_{day} の値がプラスとなったのは、Low PPF・Low Vent. 区と Low PPF・High Vent. 区では 15 日目以降、High PPF 区では 5 日目以前である。

試験区による P_{day} の差ほどには、試験区による小植物体乾物重の差が大きくないのは (Table 1)、前述のごとく、乾物増加が P_{day} だけでなく、培地からの培地成分とくに糖類の吸収などにも依存しているからである。

しかし、 C_{in} を高めれば、 P_{day} の値は数倍程度になることも予想される。また、 P_{day} が Low PPF 区よりも High PPF 区において、また、Low Vent. 区より High Vent. 区において高いのは、その順序で独立栄養的生長の側面が強い混合栄養生長していることを示唆している。

以上の各問題点をより明確にするためには、本実験と同様の実験を、培地の CO_2 濃度を 2% だけではなく、

0, 1, 3% などで行い、さらに C_{in} , PPF など数段階変えて行わなければならない。これらについては、今後の詳細な実験が待たれる。

なお、本研究は昭和 62 年度文部省科学研究試験研究 (1)「植物組織培養による種苗急速大量生産システムの開発」の一部として行われた。関係者各位に深謝する。

文 献

- 1) 富士原和宏・古在豊樹・渡部一郎. 1987. 植物組織培養器内環境の基礎的研究 (3). 農業気象 **43**: 21-30.
- 2) 古在豊樹・岩波好恵・富士原和宏. 1987. 炭酸ガス施用が増殖培養時におけるスターチス (*Limonium Hybrid*) の小植物体の生長におよぼす影響. 植物組織培養 **4**: 22-26.
- 3) KOZAI, T., Y. IWANAMI, and K. FUJIWARA. 1987. Effects of CO_2 enrichment and sucrose concentration under high photon fluxes on plantlet growth of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) in tissue culture during the multiplication stage. 1988. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. **57** (in press).
- 4) 土井元章・野口宝司・浅平 端. 1986. *Phalaenopsis* の *in vitro* 培養における CO_2 施肥の影響. 日本生物環境調節学会大会講演要旨, 64-65.
- 5) KOZAI, T., H. OKI, and K. FUJIWARA. 1988. Effects of CO_2 enrichment and sucrose concentration under high photosynthetic photon fluxes on growth of tissue-cultured *Cymbidium* plantlets during the preparation stage. 1988. Proc. of Plant Micropropagation in Horticultural Industries (Belgium), 135-141.
- 6) 古在豊樹・富士原和宏・渡部一郎. 1986. 植物組織培養器内環境の基礎的環境 (2). 農業気象 **42**: 119-127.
- 7) 清水 碩. 1983. クロロフィル. 「実験生物学」植物生理学 (3). (加藤 栄・吉田精一編) 33-45, 丸善, 東京.
- 8) 織田弥三郎・坂本千明. 1975. イチゴの光合成, 蒸散に関する研究 (第 3 報). 園学要旨, 昭 50 春 200-201.
- 9) 織田弥三郎. 1987. イチゴの光合成, 蒸散に関する研究 (第 14 報). 園学要旨, 昭 62 秋 292-293.