連載ミニレビュー

個葉ガス交換測定とその応用

田中佑

(京都大学大学院農学研究科)

個葉における光合成は物質生産の根幹をなす過程である。個葉光合成のみで作物の生産性を語ることはできないが、個葉光合成が物質生産の非常に重要な要因であることは間違いない。個葉光合成過程、とくにガス交換測定を通して、作物群落の乾物生産速度やストレス状態について、様々な情報を得ることができるため、作物学においても古くから数多くの光合成研究が行われてきた。

個葉のガス交換測定は、近年の技術的進歩により、以前と比べ格段に容易となった。例えば CO_2 交換速度の測定に最も広く用いられる LI-6400 (LI-COR 社) は、個人で持ち運びが可能なサイズであり、測定葉をセットするだけで光合成速度を測定し、記録することができる。しかし、単に測定値を得ることと、装置を理解しながら正しい測定と解釈を行うことは別である。また測定にはトラブルが付き物であり、その際にどのような原理で測定が行われているのかの基礎的な知識があると大変役に立つ。

ガス交換測定装置には上述の LI-6400 だけでなく様々な機種が市販されているが、一定の体積をもつ空間 (チャンバー) に測定葉を密閉し、ガスの濃度もしくはその変化を様々なパラメータとともに測定することで葉のガス交換速度を見積もるという原理は共通している。これらの装置はさらに、水蒸気の蒸散測定のみを目的としたもの、および CO_2 交換速度を含めた光合成系全体の把握を目的としたものに大別できる。本稿ではこれら 2 群の測定装置それぞれについて、広く普及している代表的機種を例にとりながら測定原理と特色および留意点に触れる。さらに今後の個葉ガス交換測定の展望、および作物学研究における意義についても述べる。なお本稿では測定原理の概略の把握に重点を置いており、装置の具体的な操作方法については、それぞれのマニュアルを参照されたい。

本稿が、今後個葉光合成研究に踏み出そうとしている研究者・学生の参考と後押しになればと思う。また普段、光合成生理に親しみのない方々にも、多少なりともこの分野の魅力と重要性を伝えることが出来れば幸いである。

1. ガス交換理論の基本

はじめに、ガス交換測定の理解に必要な基礎知識についてごく簡単に述べることにする。ここで紹介する内容は、主に Farquhar (1980) および Farquhar and Sharkey (1982) によって確立された個葉ガス交換モデルである。このモデルでは個葉光合成を、(1) 気孔を介したガスの拡散過程と (2) 葉内における CO_2 の固定、の 2 プロセスに大別し、その後の光合成研究の方向を決定付けた極めて重要なものである。本章では気孔を介したガス拡散過程に関する理論を述べ、次章では葉内の CO_2 固定に関する内容に触れる。さらなる詳細については、原著を参照されたい。

個葉のガス交換は主に気孔を介して行われ、 CO_2 の吸収と水の蒸散が同時に起こっている。光合成系が定常状態にあるとき、拡散過程に関する Fick の第一法則から、以下の式が得られる。

$$E = g'_w (W_i - W_a) \quad (1)$$

$$A = g'_c (C_a - C_i) \quad (2)$$

ここで E : 蒸散速度, g'_w : 水蒸気に対する葉面の全コンダクタンス (抵抗の逆数), W_i : 葉内水蒸気濃度, W_a :

大気水蒸気濃度, A : 光合成速度, g'_c : CO_2 に対する葉面の全コンダクタンス, C_a : 大気 CO_2 濃度, C_i : 葉内細胞間隙 CO_2 濃度である。コンダクタンスが水蒸気と二酸化炭素の双方に対し定義されているのは、それぞれの気体の分子量の違いによって拡散性が異なるからである。式 (1) および (2) の意味するところは、水蒸気および CO_2 のフラックス (流束) は、葉内外のガス濃度差と、葉面におけるガスのコンダクタンスの積であらわされるということである。電気回路におけるオームの法則との類似性で捉えると理解しやすい。このうちガス交換測定で直接測定が可能なのは E , A , W_a , C_a であり、その他の生理的パラメータは後述のように間接的に求めることになる。

葉面におけるガス交換は主に葉面境界層と気孔という 2 つの障壁を通して行われる (第 1 図)。厳密には、これら以外にクチクラ層を介した水の蒸散が存在するが、多くの場合その影響は無視することが出来る。この点については後述する。葉面境界層とは、葉面直上に存在し空気粘性の影響を強く受けた層のことである。水蒸気に対する葉面の全コンダクタンス (g'_w) は、気孔コンダクタ

第1図 葉面における水蒸気拡散の模式図。

ンス (g_{sw}) と境界層コンダクタンス (g_{bw}) を用いて式 (3) で表される。この式は、コンダクタンスと抵抗が逆数の関係にあることに留意し、境界層と気孔が葉面において「直列回路」となっていると考えると、容易に導出できる。

$$g'_{w} = \frac{1}{\frac{1}{g_{sw}} + \frac{1}{g_{bw}}} \quad (3)$$

風速が大きければ大きいほど境界層は薄くなり、 g_{bw} は大きく、すなわちガスの拡散が速やかに行われる (矢吹, 1990)。また g_{bw} は葉の形や大きさや表面構造によっても影響を受ける。実際の光合成測定においては、 g_{bw} が g_{sw} よりかなり大きくなるようにチャンパー内の風速を設定し、かつ同化箱に入れる葉の形と面積を等しくすることで、 g_{bw} は g_{sw} より著しく大きな定数とみなすことができる。したがって、水蒸気に対する葉面の全コンダクタンスは気孔コンダクタンス g_{sw} により大きく左右される。なお水蒸気と二酸化炭素に対する二種の g_s の間には、

$$g_{sw} = 1.6 g_{sc} \quad (4)$$

という関係が成り立つ。以上より、 CO_2 交換速度においても同様に g_{sc} が非常に重要な役割を担っていることが分かる。なお、ガス交換測定から得られる気孔コンダクタンスは g_{sw} であるが、光合成速度そのものと関連づけて考察する際には、(4) 式により g_{sc} への換算が必要となる場合がある。単純に気孔コンダクタンスと呼称する場合、それがどちらのガスに対してのコンダクタンスなのかに注意する必要がある。

イネやダイズにおいて g_s に大きな品種間差がみられることが報告されており、それが実際に光合成速度と強い相関を示すことも知られている (Ohsumi ら 2007, Tanaka ら 2010)。さらに g_s は気孔の密度や開度などの形態的要因によってある程度説明されることが、理論的 (Parlange and Waggoner 1970, Franks ら 2009)、および実験的 (Tanaka ら 2013) にも示されている。このように、ガス交換測定においては気孔が非常に重要な役割を果たすため、光合成測定において気孔の状態に影響を及ぼす攪乱要因は極力排除すべきである。例えば植物の最大光合成能力を知りたい場合、水ストレス等がかからない状態であるのはもちろん、よく晴れた日の午前 10 時頃から正午頃まで

に測定を終えることが理想的である。これは、午後には飽差の増大による気孔の閉鎖が起こりやすいとされているためである。

なお、水蒸気はクチクラを介してわずかに蒸散することが知られている。植物体が活発に蒸散をしている条件では、クチクラ蒸散は気孔を介した蒸散より 1 桁以上小さいため、無視することが出来る。しかし、そもそもの g_s が低い種、あるいは光条件やストレス等により気孔が閉鎖している条件では、クチクラ蒸散の影響は相対的に大きくなる (Boyer ら 1997)。クチクラは CO_2 を透過させないため、このような場合には式 (3)、式 (4) の関係性が崩れ、ガス交換パラメータの推定に誤差が生じることがあるので注意が必要である。対策例としては、暗黒条件での対象葉の蒸散速度を測定することにより、 g_c を実測することなどが考えられる。

2. 葉内の炭酸固定に関する理論

以後の理解に必要な範囲で葉内における CO_2 固定に関する理論についても簡単に述べておきたい。 CO_2 の固定は基本的には Rubisco を触媒とした酵素反応であり、基質となる CO_2 濃度が高くなるほど光合成速度も上昇する。Farquhar (1980) は、光合成における基質濃度は大気 CO_2 濃度 (C_a) ではなく、葉内 CO_2 濃度 (C_i) であると考え、C3 型光合成における葉内 CO_2 固定を下記のように定式化した。

$$A = \frac{V_{Cmax}(C_i - \Gamma^*)}{C_i + K_c \left(1 + \frac{O}{K_o}\right)} - R_m \quad (5)$$

$$A = \frac{J_{max}(C_i - \Gamma^*)}{4C_i + 8\Gamma^*} - R_m \quad (6)$$

ここで V_{Cmax} : 最大カルボキシレーション速度、 Γ^* : CO_2 補償点、 K_c : Rubisco のカルボキシレーションに関するミカエリス-メンテン係数、 O : 酸素濃度、 K_o : Rubisco のオキシジェネーションに関するミカエリス-メンテン係数、 R_m : 暗呼吸速度、 J_{max} : 最大電子伝達速度である。

式 (5) は酵素反応に関するミカエリス-メンテン式が基本となっているが、Rubisco は CO_2 だけではなく酸素とも結合する性質を持っているため、やや複雑な式となっている。一方で式 (6) は、Rubisco 触媒反応のもう一方の基質である RuBP がカルビン回路において再生される速度を記述したものである。実際の個葉においては、式 (5) と式 (6) で記述される光合成速度のうち、より低いほうによって実際の光合成速度が実現していると考えられる。低 CO_2 条件では、 CO_2 濃度そのものが律速となるため式 (5) が成立し、高 CO_2 条件では逆に RuBP が不足するため式 (6) が成立すると予測される。これは CO_2 濃度を様々に変化させることで得た現実の光合成速度の挙動を精度良く説明する (第2図)。A および C_i の実測値を式 (5)

第2図 ダイズ品種タチナガハにおいて得られたA-Ci曲線の例。

にあてはめることで、最大カルボキシレーション速度 $V_{C_{max}}$ を算出することができる。 $V_{C_{max}}$ は気孔の影響を除いたうえでの、測定葉における Rubisco の最大能力を示していると考えられ、生理学的に非常に重要なパラメータである。このように光合成速度 A の C_i に対する応答から様々な情報が得られることから、一連の解析は広く A-Ci 曲線解析と呼ばれている。

3. 蒸散測定

本章からは、実際のガス交換測定装置について概説していく。

蒸散速度 (E) を測定することで、気孔の開閉状態を知り葉のガス交換活性を見積もることが出来るだけでなく、植物の水分状態を知ることが可能となる。蒸散測定装置は一般にポロメータと呼ばれ、以前は LI-1600 (LI-COR 社)、現在は AP-4 (ΔT 社) がその典型である。これらの装置はいずれも、装置内で乾燥空気を生成することで、蒸散速度を推定することができる。AP-4 の測定原理を第

3 図に示した。まず測定葉をクリップ状のチャンバーに固定すると、蒸散によって内部の水蒸気濃度が上昇する。ここに乾燥空気を送り込むことで、チャンバー内の水蒸気濃度を一定に保つフィードバック制御が行われる。その際に消費された乾燥空気の量から、個葉の蒸散速度 (E) を推定している。

AP-4 のチャンバー部分には熱電対があり、葉温を測定することができる。葉内は水蒸気が飽和していると仮定できるので、式 (1) の W_i は葉温における飽和水蒸気圧に等しいと考えられる。一方、圃場条件では気温や湿度が刻々と変化する。これは式 (1) における W_a の変化を意味するため、 E から g'_w 、 g_{sw} を求めることはできない。この点に関して、AP-4 には校正板が付属している (第3図右下)。校正板は樹脂に様々な大きさの穴が開いた単純な構造をしており、濡れたろ紙をその裏にセットすることで、簡単に6種類の既知のコンダクタンスを得ることができる。従って、測定開始直前に校正板を用いてキャリブレーションを行うことで、任意の環境における E と g'_w 、 g_{sw} の関係性を得ることができ (第3図右上)、式 (1) から W_a を逆算することができる。次いでこの W_a を用いてサンプル葉の蒸散測定を行うことで、任意の環境下で安定して気孔コンダクタンスを算出することが可能となる。測定が長時間にわたった場合は、その間に外部環境すなわち W_a も変化するため、適宜校正作業を行うことが望ましい。筆者の経験から、校正頻度の目安は1時間に1回程度である。

以上のように、AP-4 では単一の湿度センサー、熱伝対とシンプルな構造を持ちながら、幅広い環境下での蒸散測定に適用可能な装置である。仮に湿度センサーそのものに多少のドリフトが生じた場合でも、校正板によって常に一定の g_s に対してキャリブレーションが行われるため測定精度が維持されることも、大きな利点といえよう。チャンバー部には葉に自然光を当てるための窓も用意されており、かつ光量子センサーによる環境光の記録にも対応している。装置も比較的小型軽量であり、容易に運搬可能である。大きな欠点はないが、敢えて挙げるとす

第3図 AP-4 (ΔT 社) による蒸散測定の原理。

4. CO₂ 交換速度測定 (LI-6400/6400XT)

CO₂ 交換速度を含めた光合成蒸散の総合的な測定には LI-6400 (LI-COR 社) が最も広く用いられている。LI-6400 の測定原理を第 5 図に示した。前章で紹介した装置と異なり、LI-6400 の心臓部は赤外線ガス分析計 (Infrared Gas Analyzer; IRGA) である。IRGA は、CO₂ や水蒸気が特定波長の赤外線を吸収することに基づき、ガスによる赤外線の吸光度を測定することでガス中の CO₂ および水蒸気濃度を算出する分析計である。LI-6400 ではまず、外気から取り込んだガスを必要に応じて吸湿剤および CO₂ 吸収剤を介して濃度制御する。その後ガスを分流させ、一方はそのまま Reference ガス (R ガス) として IRGA に送り、他方は葉を挟んだチャンバーを経て、Sample ガス (S ガス) としてもう一台の IRGA に送る。S ガスは個葉ガス交換の影響を受けるため、R ガスと S ガスの間では、水蒸気濃度差および CO₂ 濃度差が生じる。すなわち光合成が活発に行われていると S ガスの CO₂ 濃度は R ガスより低くなり、逆に水蒸気濃度は高くなる。このデータと系全体の空気流量から、蒸散速度 E および光合成速度 A が計算される。葉温は熱電対により測定され、そこから W_i が求められる。同時に R ガスの水蒸気濃度から W_a が得られることから、式 (1) および式 (3) から高精度に E および g'_w , g_{sw} を求めることができる。その際、 g_{sw} についてはチャンバー内葉面積と空気流量から算出しているようである。さらに式 (2) および (4) から、葉内 CO₂ 濃度 (C_i) が計算される。以上から分かるとおり、 C_i の推定には A , g_s , それらの基礎となるガス濃度、葉温、空気流量の測定が全て正確に行われていることが前提となる。

C_i は、気孔の影響を除いた上で葉内の CO₂ 固定活性を評価するための A- C_i 曲線測定の基礎となるだけでなく、葉の水利用効率に直接関係する (Farquhar ら 1989) など、 g_s と並んで最も重要な光合成パラメータである。たとえ全ての測定が正常に行われていたとしても、条件によっては C_i の推定に誤差が生じる可能性があることに注意が必要である。蒸散速度が極めて大きい場合、逆に小さい場合には、LI-6400 に限らず一般に g_s の算出に誤差が生じる危険がある。まず、式 (1) において W_i は葉温における飽和蒸気圧に等しいとしているが、例えば湿度が非常に低い場合や g_s が極めて大きい場合に、実際に葉内において水蒸気が完全に飽和しているのかは定かではない。また光合成が常に面的に均一に行われているとは限らないことも、多くの研究例で明らかとなっている。特に水ストレス条件下、あるいは高 CO₂ 濃度条件下においては、気孔が面的に不均一な閉鎖を起こす (patchy stomatal closure) が明らかとなっている。そして LI-6400 においては、このような g_s の測定誤差は式 (1)~(4) に基づく C_i の推定精度低下につながるものが理論的に示され

ている (Laik 1983, Cheeseman ら 1991)。加えて、気孔が閉鎖しやすい条件では第 2 章で述べたようにクチクラコンダクタンスに起因する誤差が無視できない。実験者はまず、 C_i の推定が非常に繊細なものであり、上記のような問題が常に起こりえることを予め想定しながら実験系を組み、データを解釈することが求められる。

上記のシステムを実現するため、LI-6400 には空気循環のためのポンプ、攪拌と熱源冷却のためのファン、複数の電磁弁、2 台の IRGA が必要となる。そのため、本稿で紹介する装置の中では最も大型かつ高価である。LI-6400 では IRGA の特性上、最低 30 分程度の暖機運転に加え、付属の吸湿剤および CO₂ 吸収剤を用いたゼロ校正が必須である。測定日ごとに必ずゼロ校正を行うことを強く勧める。さらに内蔵される 2 台の IRGA の間で絶対値にわずかな違いが生じることが多く、これは E および A の誤差に直結するため、測定前、および測定中に時々 2 台の IRGA 間で値を補正する作業が必要となる。

LI-6400 には、葉の形態や測定の目的により、様々なチャンバーヘッドが用意されており、ユーザー自身によって簡単に交換可能である。いずれもチャンバー内の温度、CO₂ 濃度を制御可能であり、タイプによっては光強度および光質 (光組成) の設定が可能となっているなど、いわば超小型の人工気象器ともいえる機能を備えている。そのため、均一な条件での光合成能の比較だけでなく、様々な環境条件に対する光合成系の応答を計測することができる。

近年、LI-6400 のチャンバーのうち LI-6400-40 と呼ばれるクロロフィル蛍光ユニット付きチャンバーが普及しつつある。クロロフィル蛍光の詳細については園池 (2009) を参照されたいが、その重要な応用として葉のストレス程度の評価と、葉内コンダクタンス (g_m) の推定がある。Farquhar (1980) による当初の光合成モデルでは、葉内細胞間隙 CO₂ 濃度 (C_i) を基質濃度と考えていた。しかし実際に CO₂ が固定されるのは葉緑体であり、CO₂ が細胞間隙から葉緑体に拡散するまでには様々な障壁がある。ここに、気孔コンダクタンス g_s と同様の概念として葉肉コンダクタンス g_m が提唱され、同時に葉緑体内 CO₂ 濃度 (C_c) が定義された (式 7)。

$$A = g_m (C_i - C_c) \quad (7)$$

現在、 g_m を推定する方法としてはクロロフィル蛍光を用いるか (Haley et al. 1992)、ガス交換と炭素同位体分別の同時測定を行うか (Evans et al. 1986) の 2 つの手法がある (半場, 2009)。LI-6400-40 チャンバーを用いれば、クロロフィル蛍光に基づいた g_m の測定が可能である。しかし g_m の推定には複数の仮定を必要とし、必ずしもその精度および誤差の発生要因が十分に明らかになっていない (Pons ら 2009)。また式 (7) から明らかのように、 g_m の推定はそもそも C_i が非常に高い精度で測定できていることが前提となる。そのため、 g_m の推定には十分な熟練

第1表 代表的な光合成・蒸散測定装置およびその特色.

機種名	製造	測定項目	光制御	温度制御	CO ₂ 制御	携帯性	測定時間
LI-1600*	Li-COR	E, g' _s	△**	×	×	○	1分程度
AP-4	ΔT	E, g' _s	△**	×	×	○	1分程度
SC-1	DECAGON	E, g' _s	×	×	×	◎	30秒***
LI-6400	LI-COR	A, E, g' _s , C _i	○	○	○	△	2分

* 製造中止

** 自然光を用いた測定が可能

***Auto Mode の場合

と精密な測定作業が要求される. 光合成生理における g_m および C_c の持つ意味は大きく, 例えば厳密には Farquhar のモデルは C_i ではなく C_c に基づいて適用されるべきであると考えられる. しかし, g_m や C_c の測定がより一般的になるには, 上記のような問題が解決され, 測定精度と簡便性が向上するのを待たねばならないのではないかと考えられる. LI-6400-40 を用いた g_m 測定の例として Adachi ら (2013) が挙げられる.

LI-6400 本体には Auto Program と呼ばれる自動制御プログラム群が予めインストールされている. これらを利用することで, 特別な知識なしに光-光合成曲線, A-C_i 曲線測定あるいはインターバル測定などを自動化することができる. 例えば A-C_i 曲線測定の場合, 設定したい CO₂ 濃度と, 各濃度における光合成の安定時間や安定条件などを入力するだけで, 自動的に CO₂ 濃度制御とデータの記録が行われる. このように Auto Program は多数のサンプルに対する複雑な測定を自動化する際に非常に有用ではあるが, トラブルなく正しい測定値が得られているかを常に注意しておく必要がある. さらに熟練したユーザーは, LPL と呼ばれる独自のスクリプト言語を用いて, 自作の自動制御プログラムを作成することも可能である.

このように LI-6400 は非常に多機能であり, 発売以来 20 年以上を経過してなお最新の機能を取り込みつつ改良されている. 近年導入された LI-6400XT と呼ばれる新型機では Auto Program の拡充, クロロフィル蛍光測定の精度向上, CPU の高速化と無線 LAN 制御対応など, 多くの機能が強化された. 本装置のみで個葉ガス交換関連性質の大部分をカバーしていると言えるであろう. その一方で, 上述のように大型かつ高価であり, 装置の構造が複雑であるため操作に慣れが必要となる. 代表的なトラブルとしては, 空気の流路のどこかでリークが発生すること, 温度制御が適切でなかったために結露が発生すること, およびセンサー類の不調などがある. さらに装置の構造上, S ガスが安定に達するまでに時間がかかり, 一旦安定したように見えてもそれが真の定常状態であるのか判断が難しい場合がある. 圃場環境においては, 高温多湿のための結露発生に特に注意が必要である. これらの点は, LI-6400 が高機能であり精密な測定が可能であることの裏返しであるとも言える. 実際に何が原因で不調

となったかを見極めるには, 第5図および装置マニュアルにある測定原理をよく理解したうえで, 光合成速度の値だけでなく各種センサーの出力値を見ながらの判断が必要となる.

5. 個葉ガス交換測定の今後および作物学における応用と意義

非常に限定的ではあるが, 個葉ガス交換測定についての主な装置の概要を述べてきた. 個葉ガス交換測定を計画する場合, 当然ではあるが目的を明確にし, 用途に合った装置を導入することが重要である. 光合成測定装置については, 「大は小を兼ねない」場面がある. 特に作物学においては, 多様なフィールド環境での測定が主になると考えられることから, 装置の単純さおよび携帯性が, 機能の多さよりも優先される場面が多くなると予想される. これらに留意しながら, 本稿で紹介した光合成装置を第1表にまとめた.

表から明らかなように, 一般に光合成測定には時間を要する. 最も簡便と思われる SC-1 でさえ最低 30 秒必要であり, LI-6400 の場合は値が安定するまで 2~3 分, 条件によっては 10 分以上待つ必要がある. 同時に, 屋外での光合成測定に適した天候および時刻は限られている. 従って, 個葉ガス交換測定のスループットは非常に低く, 測定作業そのものが実験のボトルネックとなるケースがみられる. 筆者は過去に, ダイズ系統群を対象に LI-6400 を用いたガス交換測定を試みたが, 圃場において 1 日に測定可能な系統数は 20 程度にとどまった (Tanaka ら 2008). スループットの問題については, 実験設計上の工夫と同時に, 測定装置そのものの進歩も求められているのではないかと考えられる. 例えば近年, イネの組換え自殖系統群や染色体断片置換系統群を対象とし, 光合成速度を支配する遺伝的要因の解明を目指した研究が活発に行われている (Adachi ら 2010, 2011, Takai ら 2013). こうした場面において, できるだけ短時間に多数の系統を対象として光合成速度を測定していくという使用法は, おそらく LI-6400 が設計された当時にはあまり想定されていなかったのではないかと考えられる. SC-1 のような, 測定効率に重きを置いた簡易測定装置が近年生まれたのも, 時代とともにユーザーの需要が変わりつつあることを反映して

いると考えられる。今後、高い精度と測定効率を両立したガス交換測定装置の実用化が強く期待されるところである。

最後に、作物学と個葉光合成研究との関係について少し触れておきたい。作物の個葉光合成を研究する主要な目的は、それによって物質生産の過程をより深く理解すること、および個葉光合成の改良を通して作物の生産性向上に貢献することであろう。しかし、作物において個葉光合成速度と生産性、収量との間には正の相関がみられるという報告 (Barbour ら 2000, Morrison ら 1999) と、無相関、あるいは負の相関がみられるという報告 (Evans 1993) が混在している。後者については “photosynthetic paradox” と呼ばれることもある。このように両者の関係は複雑かつ混乱していると解釈されることが多い。しかし既存のガス交換測定装置により得られる光合成速度は、ある条件における代表値と考えるべきである。圃場における作物は、常に変化する日射、温度、土壌、水分条件のもとで生育しており、その最終的な結果として得られる物質生産と、代表値としての個葉光合成速度の間に大きな隔たりがあるのは当然のことである。この点に対しては、測定効率の大幅な向上を前提とし光合成速度の時間的・空間的動態を網羅的に把握することや、圃場での変動環境を実験的に、あるいはシミュレーションモデルにより再現することなどが重要になってくるであろう。例えば筆者らは、圃場条件を模し光強度の急激な変化をダイズの個葉に与えたところ、光合成速度の応答性に非常に大きな品種間差を見出した (田中・本間, 2015, Soleh ら 2016)。このように、圃場環境における作物の光合成機能は、特定の条件における光合成速度のみで代表されるものではなく、その実態については未だに不明な点が多く残されている。作物学における光合成研究に求められるのは、個葉ガス交換の重要性と、生産性との隔たりをともに認識しながら、その隔たりを生んでいる要因を着実に埋めていこうとする姿勢ではないかと考えられる。

著者追記：本稿執筆直後、米国 LiCOR 社および国内代理店より、LI-6400/6400XT の後継機種となる新型装置 LI-6800 が発表された。LI-6800 では、測定原理はそのままに IRGA の精度および安定性、流量制御の高度化および湿度制御機能の新規搭載など、基本性能が大幅に強化されているようである。今後、光合成測定の主流は徐々に当該機種へと移る可能性が高い。光合成測定手法の進歩に引き続き注目していきたい。

引用文献

- Adachi S., Tsuru Y., Kondo M., Yamamoto T., Sanoh Y.A., Ando T., Oikawa T., Yano M. and Hirasawa T. 2010. Characterization of a rice variety with high hydraulic conductance and identification of the chromosome region responsible using chromosome segment substitution lines. *Ann. Bot.* 106: 803-811.
- Adachi S., Tsuru Y., Nito N., Murata K., Yamamoto T., Ebitani T., Ookawa T. and Hirasawa T. 2011. Identification and characterization of genomic regions on chromosomes 4 and 8 that control the rate of photosynthesis in rice leaves. *J. Exp. Bot.* 62: 1927-1938.
- Arachi S., Nakae T., Uchida M., Soda K., Takai T., Oi T., Yamamoto T., Ookawa T., Miyane H., Yano M. and Hirasawa T. 2011. The mesophyll anatomy enhancing CO₂ diffusion is a key trait for improving rice photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 64: 1061-1072.
- Barbour M.M., Fischer A.R., Sayre K.D. and Farquhar G.D. 2000. Oxygen isotope ratio of leaf and grain material correlates with stomatal conductance and grain yield in irrigated wheat. *Funct. Plant Biol.* 27: 625-637.
- Boyer J.S., Won S.C. and Farquhar G.D. 1997. CO₂ and water vapor exchange across leaf cuticle (epidermis) at various water potentials. *Plant Physiol.* 114: 185-191.
- Cheeseman J.M. 1991. PATCHY: simulating and visualizing the effects of stomatal patchiness on photosynthetic CO₂ exchange studies. *Plant, Cell and Environ.* 14: 593-599.
- Evans J.R., Sharkey T.D., Berry J.A. and Farquhar G.D. 1986. Carbon isotope discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO₂ diffusion in leaves of higher plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 281-293.
- Evans L.T. 1993. *Crop evolution, adaptation and yield*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Farquhar G.D., von Caemmerer S. and Berry J.A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149: 78-90.
- Farquhar G.D. and Sharkey T.D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33: 317-345.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. and Hubik K.T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Mol. Biol.* 40: 503-537.
- Franks P.J., Drake P.J. and Beerling D.J. 2009. Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globulus*. *Plant Cell and Environ.* 32: 1737-1748.
- 半場祐子 2009. 炭素安定同位体を用いた葉内 CO₂ 輸送の分析法. *日作紀* 78: 408-412.
- Harley P.C., Loreto F., Di Marco G. and Sharkey T.D. 1992. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. *Plant Physiol.* 98: 1429-1436.
- Laik A. 1983. Calculation of photosynthetic parameters considering the statistical distribution of stomatal apertures. *J. Exp. Bot.* 34: 1627-1635.
- Morrison M.J., Voldeng H.D. and Cober E.R. 1999. Physiological changes from 58 years of genetic improvement of short-season soybean cultivars in Canada. *Agron. J.* 91: 685-689.
- Ohsumi A., Kanemura T., Homma K., Horie T., and Shiraiwa T. 2007. Genotypic variation of stomatal conductance in relation to stomatal density and length in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* 10: 322-328.
- Adachi S., Tsuru Y., Kondo M., Yamamoto T., Sanoh Y.A., Ando T., Oikawa T., Yano M. and Hirasawa T. 2010. Characterization of a rice variety with high hydraulic conductance and identification of the

- Parlange J.Y. and Waggoner P.E. 1970. Stomatal dimensions and resistance to diffusion. *Plant Physiol.* 46: 337-342.
- Pons T.L., Flexas J., von Caemmerer S., Evans J.R., Genty B., Ribas-Carbo M. and Brugnoli E. 2009. Estimating mesophyll conductance to CO₂: methodology, potential errors and recommendation. *J. Exp. Bot.* 60: 2217-2234.
- Rajen B., Kawasaki Y., Akamatsu Y., Tanaka Y., Kawamura H., Katsura K. and Shiraiwa, T. 2015. Biomass production and yield of soybean grown under converted paddy fields with excess water during the early growth stage. *Field Crops Res.* 180: 221-227.
- Soleh M.A., Tanaka Y., Nomoto Y., Iwahashi Y., Nakashima K., Fukuda Y., Long S.P. and Shiraiwa T. 2016. Factors underlying genotypic differences in the induction of photosynthesis in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Plant Cell and Environ.* 39: 685-693.
- 園池公毅 2009. パルス変調蛍光 a. クロロフィル蛍光と吸収による光合成測定. *低温科学* 69: 507-524.
- Takai T., Adachi S., Shiobara F.T., Sanoh Y.A., Iwasawa N., Yoshinaga S., Hirose S., Taniguchi Y., Yamanouchi U., Wu J., Matsumoto T., Sugimoto K., Kondo K., Ikka T., Ando T., Kono I., Ito S., Shomura A., Ookawa T., Hirasawa T., Yano M., Kondo M. and Yamamoto T. 2013. A natural variant of NAL1, selected in high-yield rice breeding programs, pleiotropically increases photosynthesis rate. *Sci. Rep.* 3: 2149.
- Tanaka Y., Shiraiwa T., Nakajima A., Sato J. and Nakazaki T. 2008. Leaf gas exchange activity in soybean as related to leaf traits and stem growth habit. *Crop Sci.* 48: 1925-1932.
- Tanaka Y. and Shiraiwa T. 2009. Stem growth habit affects leaf morphology and gas exchange traits in soybean. *Ann. Bot.* 104: 1293-1299.
- Tanaka Y., Fujii K. and Shiraiwa T. 2010. Variability of leaf morphology and stomatal conductance in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars. *Crop Sci.* 50: 2525-2532.
- Tanaka Y., Sugano S.S., Shimada T. and Nisimura I.H. 2013. Enhancement of leaf photosynthetic capacity through increased stomatal density in Arabidopsis. *New Phytol.* 198: 757-764.
- 田中佑, 本間香貴 2015. 個葉の光合成誘導反応が圃場条件での積算光合成量に及ぼす影響についての一考察. *日作紀* 85 (別 1): 84.
- Tsujimoto Y., Pedro J.A., Boina G., Murracama M.V., Ito O., Tobita S., Oya T., Cuambe C.E. and Martinho C. 2015. Performance of maize-soybean intercropping under various N application rates and soil moisture conditions in Northern Mozambique. *Plant Prod. Sci.* 18: 365-376.
- 矢吹万寿 1990. 風と光合成 - 葉面境界層と植物の環境適応. 農山漁村文化協会.

Measurements and its Applications of Leaf Gas Exchange : YU TANAKA (*Graduate School of Agriculture, Kyoto University*)