

植物の光合成速度の評価

担当：緑地環境科学科 渋谷俊夫

場所：B11-2 棟 緑地環境科学科実験室

1. 目的

植物の生産性は、遺伝子型と環境によって決定され、同じ遺伝子型においても生産性は環境条件によって異なる。多くの場合、植物は最適な環境条件で生育しておらず、乾燥や低温、低光量などの不利な環境によって物質生産が制限されている。このような環境条件と物質生産の関係を評価することは、環境調節によって植物の可能性をより発揮させ、高い生産性を得るために不可欠である。

植物は周辺と物質・エネルギーのやりとりを常に行っており（図1）、それらのやりとりは周辺環境の影響を受けている。物質生産は、光エネルギーを使ってCO₂を炭水化物に固定することによって行われる。植物と周辺とのガスのやりとりはガス交換と呼ばれ、CO₂は主に葉の気孔を介して交換される。植物葉のCO₂交換は、葉内外のCO₂濃度勾配を駆動力として拡散によって物理的に行われる。このように植物と周辺との物質・エネルギーのやりとりは物理的な現象を含んでおり、それを定量化するために工学的な手法が用いられている。本実験では、植物のCO₂交換速度を工学的な手法を用いて計測し、環境要素が光合成に及ぼす影響を調べることを目的とする。

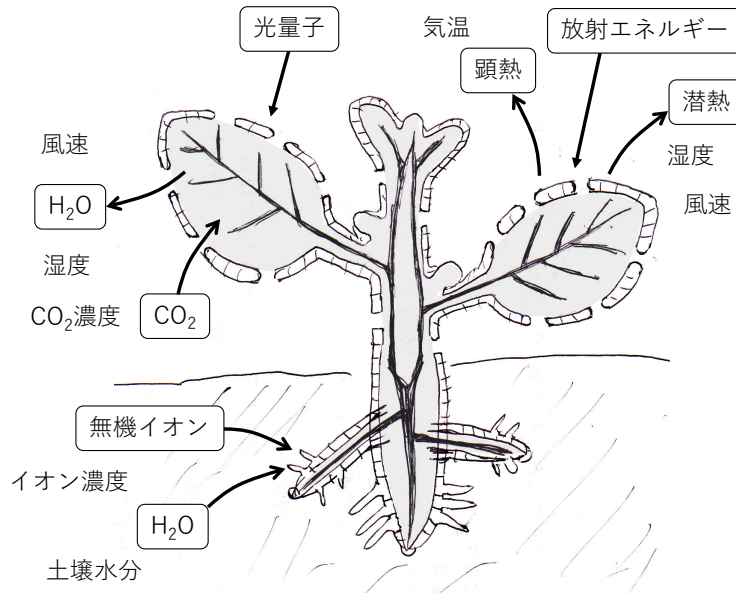
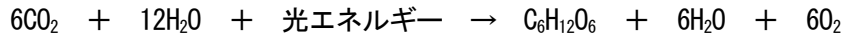


図1 植物と周辺との物質・エネルギーのやりとり

2. 光合成反応の概要

植物は光エネルギーを使って CO_2 を炭水化物として固定する。この反応過程は光合成と呼ばれ、その反応速度は光合成速度と呼ばれる。光合成の反応式は次のように表される。



光合成は大きく分けて2つの反応段階によって行われる。ひとつはチラコイドと呼ばれる葉緑体の膜状構造で行われる反応、もうひとつはストロマと呼ばれる葉緑体の液状部分で行われる反応である。図2にその概要を示す。チラコイドでの反応は、光エネルギーを利用して水を分解し、化学エネルギーを得る段階である。ここでの反応速度は光エネルギーに律速され、 CO_2 濃度の影響を受けない。次のストロマでの反応は、チラコイドでの反応によって得られた化学エネルギーを使って、 CO_2 を固定し、炭水化物を生成する段階である。ここでの反応速度は CO_2 に律速され、光の影響を受けない。

光合成反応が円滑に行われるには、これら2つの反応段階が共に円滑に行われる必要があり、どちらか一方が滞ると、それに律速されて全体の反応速度が低下してしまう。このとき、反応を律速する要因を限定要因と呼ぶ。例えば、光強度が小さくチラコイドでの反応が滞ることで光合成が律速されれば限定要因は光であり、 CO_2 濃度が低下してストロマでの反応が滞ることで光合成が律速されれば限定要因は CO_2 濃度である。本実験では、光強度と CO_2 濃度を組み合わせた条件で植物の CO_2 吸収速度を調べ、それらの環境要素が光合成速度をどのように律速するのかを調べる。

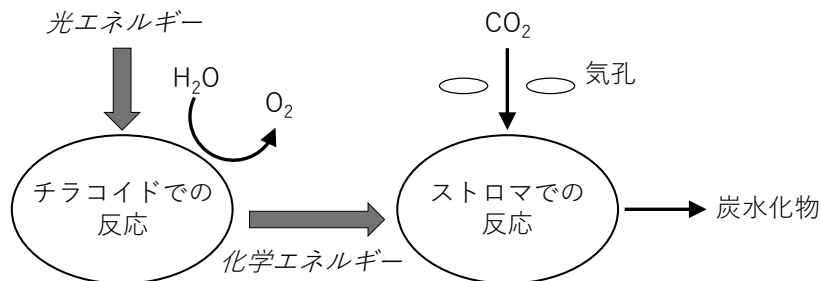


図2 光合成反応の概要

3. 植物のCO₂交換

光合成速度を求める方法には、CO₂の消費速度から求める方法、炭水化物の生成速度から求める方法、O₂の生成速度から求める方法がある。この実験では、植物のCO₂の消費速度から光合成速度を求める。

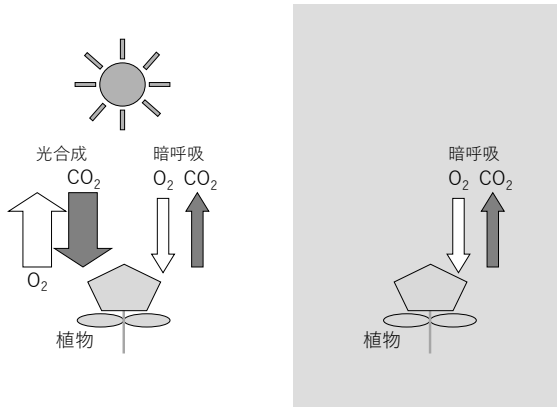


図3 植物と大気とのCO₂・O₂交換
 日中は光合成によるCO₂吸収と暗呼吸によるCO₂放出を相殺したCO₂量が交換されている。

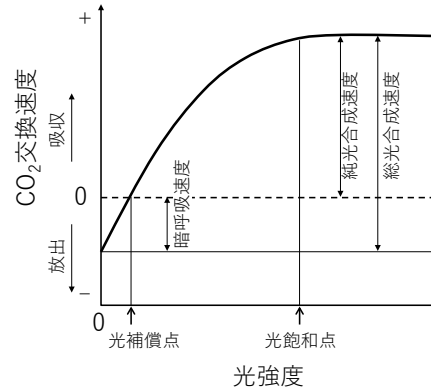


図4 光強度とCO₂交換速度の関係
 このグラフでは、CO₂交換速度はCO₂吸収側を正としている。

植物は日中、光合成によってCO₂吸収を行っているが、同時に植物体内では呼吸によるCO₂放出も行っている(図3)。このときの正味のCO₂交換速度は純光合成速度と呼ばれる(図4)。夜間には植物は呼吸によってCO₂を放出しており、このときのCO₂放出速度は暗呼吸速度と呼ばれる。暗呼吸とは光条件に影響されない呼吸を意味する。暗黒条件ではCO₂交換速度=暗呼吸速度となり、CO₂交換速度はマイナスになる。光強度を高めていくと暗呼吸速度と総光合成速度が等しくなり、みかけ上CO₂交換はゼロになる。このときの光強度は光補償点と呼ばれる。さらに光強度を高めると、CO₂交換速度、すなわち純光合成速度は増大するが、ある光強度以上では純光合成速度はほぼ一定になる。このときの光強度は光飽和点と呼ばれる。暗呼吸速度が光強度によって変化しないと仮定すれば、純光合成速度と暗呼吸速度の和は、光合成反応のみによるCO₂交換速度(総光合成速度)となる。

4. CO₂交換を数値で表すには

CO₂交換速度を定量的に表すには単位が必要である。CO₂交換速度は単位時間あたりに交換されたCO₂量であり、その単位はCO₂量と時間を組み合わせたものになる。CO₂量「mol」と時間「s」で除すると、単位は「mol s⁻¹」となる。これは「1秒間あたり何モルのCO₂が交換されたか」を意味する。これが植物個体あたりなら、単位は「mol s⁻¹/plant」となり、葉面積あたりなら「mol m⁻²s⁻¹」となる。「植物個体あたり」だと、CO₂交換速度の値が植物の大きさに大きく依存するため、一般には「葉面積あたり」で示すことが多い。植物群落単位で評価する場合には、CO₂交換速度の単位を「群落面積あたり」で示すことがあるが、その場合も単位は“mol m⁻²s⁻¹”となる。したがって、群落スケールでのCO₂交換速度を示す場合は“m²”が葉面積あたりか、群落面積あたりかを明記する必要がある。

この“mol m⁻²s⁻¹”という単位は、単位時間あたり単位面積を通過する分子のモル数を示し、一般には「流束（フラックス, flux）」と呼ばれる。「mol」の部分はエネルギーや質量などの単位になることもある。例えば、日射量の単位は「W m⁻²」で、これは「J m⁻²s⁻¹」と表すことができ、単位時間あたり単位面積に照射された日射エネルギー量を意味する。光合成有効光量子束密度 (Photosynthetic photon flux density, PPF/D と略す) の単位は「mol m⁻²s⁻¹」で、これは、光合成に有効な波長域 (400~700 nm) の光量子が単位時間あたり単位面積を何モル照射されたかを意味する。植物と周辺との物質・エネルギー交換を面的に求める場合は、このようなフラックスの単位が用いられる。

5. CO₂交換をどのように捉えるか？

植物のCO₂交換速度を求める方法はおよそ下の2つに分けられる (図5)。

- ① 植物の質量変化から求める方法
- ② 大気のCO₂濃度の変化から求める方法

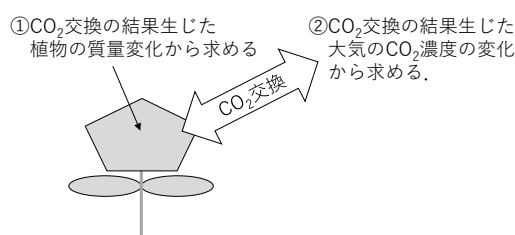


図5 CO₂交換速度を求める方法

植物の質量変化から求める方法は簡便であり、高価な機器を用いなくてもCO₂交換速度の推定が可能である。大気中のCO₂は光合成によって炭水化物として固定され、その結果として植物の乾燥質量は増加する。したがって、植物の乾燥質量の変化から植物のCO₂吸収速度を算定できる。具体的な方法については、参考図書 (彦坂, 2016) を参照されたい。乾燥重量の増加から、ある期間を積算したCO₂吸収量を推定することはできるが、この方法は破壊計測をとまなうことから、環境変化に応じた光合成の変化を短い時間単位で調べるには不向きである。

大気 CO₂ 濃度の変化から求める方法は、非破壊であり比較的短期間で行うことができる。大気 CO₂ 濃度の変化を定量的に求めるには、CO₂ 交換が制限された系をつくる必要がある。具体的には、植物を容器で覆うことで、CO₂ 交換を制限した系をつくれば、系内の CO₂ の収支から CO₂ 交換速度を求めることができる。この方法はチャンバー法（もしくは同化箱法）と呼ばれる。次項ではチャンバー法の種類と特徴を述べる。

6. チャンバー法の種類と特徴

チャンバー法とは、チャンバー（小さな部屋）に植物を入れて、チャンバー内の CO₂ の収支から植物の CO₂ 交換速度を求める方法である。植物が開放された系に置かれている場合、植物が CO₂ を吸収しても周辺大気から常に CO₂ が供給されるので、CO₂ 濃度の変化から CO₂ 交換速度を求めることは難しい（図6①）。そこで、完全密閉した系で覆うと、単位時間当たりのチャンバー内の CO₂ 量の変化から植物の CO₂ 交換速度を求めることができる（図6②）。この方法は、閉鎖式チャンバー法と呼ばれる。チャンバーに通気を行っている場合でも、チャンバーの CO₂ の流入出を把握できていれば、植物の CO₂ 交換速度を求めることができる（図6③）。一定流量で通気しているチャンバーにおいて植物が CO₂ を吸収しているとき、チャンバーからの CO₂ 流出量は CO₂ 流入量よりも小さくなる。定常状態を仮定すれば、このとき、CO₂ 流出速度と流入速度との差を植物の CO₂ 交換速度と考えることができる。この方法は開放式チャンバー法と呼ばれる。

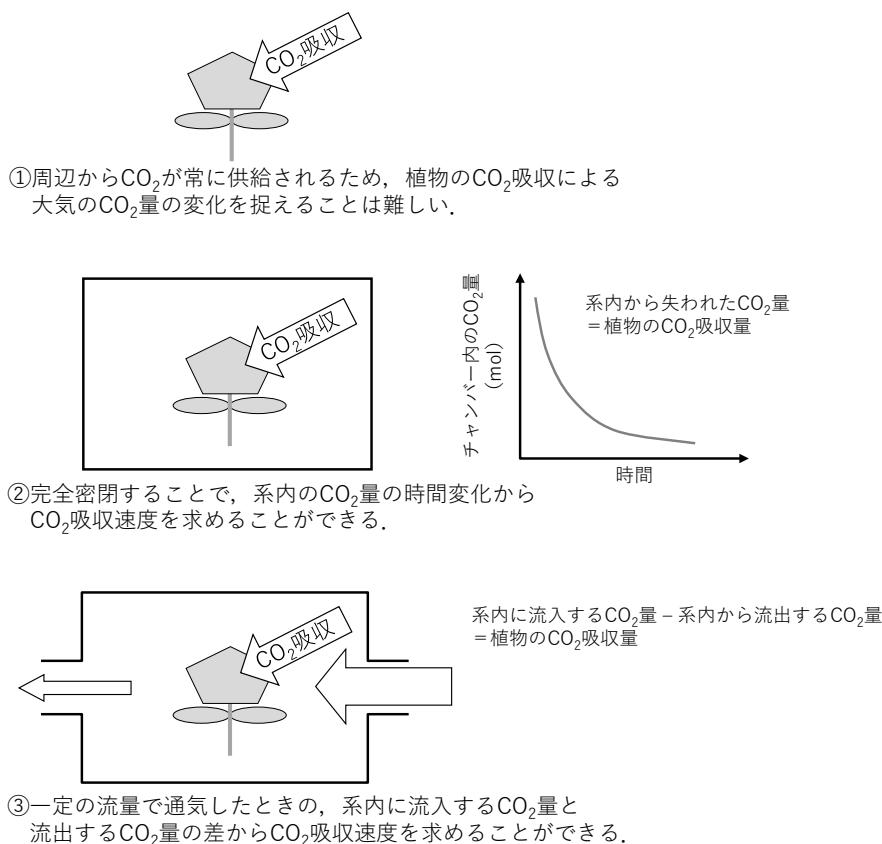


図6 チャンバー法の概要

閉鎖式チャンバー法は比較的大きな CO₂ 濃度の変化が生じるので、CO₂ 分析計の分解能がそれほど高くなくても計測できるのが利点である。しかし、チャンバー内の環境が非定常であることが前提であるため、一定の環境条件で計測できないことが欠点である。さらに、計測にかかる時間や計測精度が CO₂ 交換速度に依存する (CO₂ 濃度変化が CO₂ 交換速度に依存するため) ので注意が必要である。

開放式チャンバー法は、定常であることが前提となっており、一定の環境条件で計測することができる。研究機器として用いられている光合成測定装置の多くはこの方法を採用している。しかし、流入出口の微細な濃度差を計測する必要があるから、比較的高価な測器を必要とする。

7. 閉鎖式チャンバー法による CO₂ 交換速度の計測原理

本実験では閉鎖式チャンバー法を用いる。植物が CO₂ を吸収することで、チャンバー内の CO₂ 量は時間とともに減少する。光合成速度は CO₂ 濃度が低下すると小さくなることから、チャンバー内の CO₂ 量の減少速度は、CO₂ 濃度の低下とともに小さくなる。チャンバー内外では CO₂ 交換は行われていないので、チャンバー内における CO₂ 量の変化速度は植物の CO₂ 交換速度と等しいと考えることができる。このとき、CO₂ 交換速度は次式のように表すことができる。

$$\text{CO}_2 \text{ 交換速度} = \frac{\text{チャンバー内における CO}_2 \text{ 量の変化速度}}{(\mu\text{mol s}^{-1})}$$

チャンバー内における CO₂ 量 (μmol) は、チャンバー内の CO₂ 密度 (μmol m⁻³) とチャンバーの空気容積 (m³) との積から求めることができる。そこで、チャンバー内における植物の CO₂ 交換速度は次式から求めることができる。なお、この式で求めることのできるのは時刻 t₁ から t₂ にかけての平均の CO₂ 交換速度である。ある時点での CO₂ 交換速度を求めたい場合には、CO₂ 濃度の時間変化を指数関数 (y = a · e^{-bx} + c が比較的合う) で近似して、その微分係数を求めるとよい。

$$\text{CER} = \frac{V \cdot C_1 - V \cdot C_2}{t_2 - t_1} \cdot \frac{1}{A} = V \cdot \frac{C_1 - C_2}{t_2 - t_1} \cdot \frac{1}{A}$$

CER : 葉面積あたりの CO₂ 交換速度 (μmol m⁻² s⁻¹)

C₁, C₂ : 時刻 t₁, t₂ におけるチャンバー内の CO₂ 密度 (μmol m⁻³)

t₁, t₂ (t₁ < t₂) : 時刻 (s)

V : チャンバーの空気容積 (m³)

A : チャンバー内の総葉面積 (m²)

市販の CO₂ 分析計の多くは CO₂ 濃度 (μmol mol⁻¹ = ppm) の値を出力するので、次式によって CO₂ 濃度から CO₂ 密度へ換算する必要がある。次に換算式を示す。

$$\text{CO}_2 \text{ 密度 } (\mu\text{mol m}^{-3}) = \frac{\text{CO}_2 \text{ 濃度 } (\mu\text{mol mol}^{-1})}{\left(0.0224 \cdot \frac{273+T}{273}\right) (\text{m}^3 \text{ mol}^{-1})}$$

T : 気体の温度(°C)

8. 赤外線式ガス分析計について

今回、CO₂濃度の計測には赤外線式ガス分析計を用いる。N₂、H₂、O₂などの2原子分子の元素ガスやヘリウムなどの希ガスを除いて、ほとんどのガス成分は赤外線に対して特有の吸収波長域を持っている。赤外放射式ガス分析計は、測定ガス成分の赤外線吸収率がガス層の厚さおよびガス濃度によって決定されることを利用してガス濃度を検出する測器である。赤外線式ガス分析計には、赤外線の光源と赤外線を検出するセンサが内蔵されており、センサの出力からサンプルガスの赤外線吸収率が求まり、それによってガス成分の濃度を推定できる。

9. 光強度の計測について

光の発生源は光源と呼ばれる。屋外での主な光源は太陽である。地上で受ける太陽からの放射は、日射、短波放射または太陽放射と呼ばれる。日射の波長範囲は図7に示すように、約300~2500 nmである。光合成に有効な波長域である400~700 nmの放射は、光合成有効放射と呼ばれる。波長別の光エネルギー強度の分布を示したものは、分光スペクトル分布と呼ばれる。

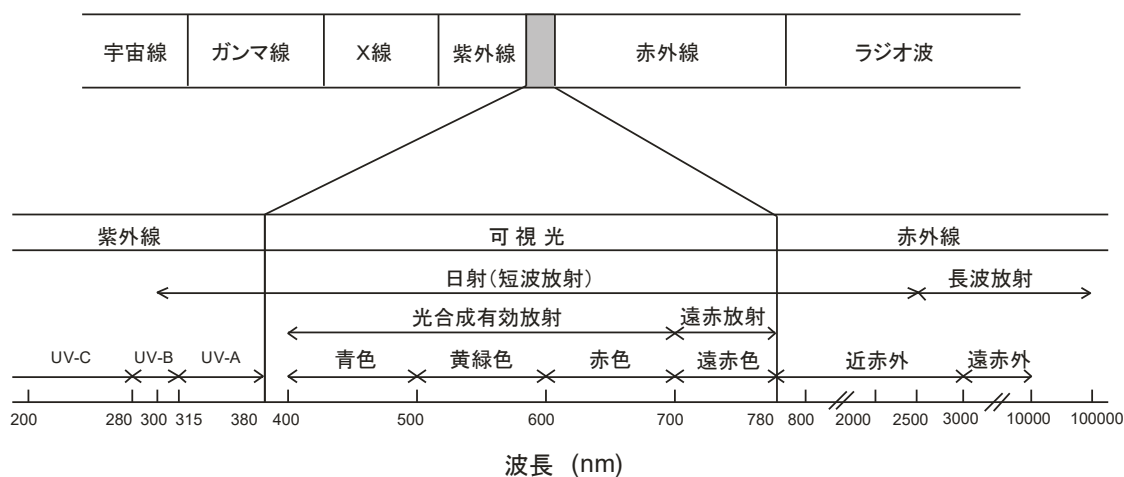


図7 放射の波長域と名称

光の強さの表し方には、日射量、光量子束密度、照度などがある。日射量は、太陽放射のエネルギー量を評価したいときに用いられ、単位時間、単位面積が受ける放射エネルギー量、すなわち放射フラックスとして表される。単位には W m^{-2} が用いられる。植物の光合成には400~700 nmの波長域の光量子が作用することから、光合成に関しては、単位時間、単位面積が受ける波長域400~700 nmの

光量子量，すなわち光合成有効光量子束密度（photosynthetic photon flux density, PPFD）を評価することが多い．単位には $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ が用いられる．照度の単位として用いられる lx（ルクス）は，人間の目が感じる明るさを示す尺度である．

10. 実験方法

計測装置

計測装置の模式図を図8に示す．アクリル製容器をチャンバーとして用いる．チャンバー内に植物を設置し，赤外線式 CO_2 分析計をチャンバー内に設置する．ファンを用いてチャンバー内の空気を攪拌する．これはこの計測法が，チャンバー内の CO_2 濃度が均一であることを前提としているためである．温湿度センサをチャンバー内に設置する．容器と容器の蓋との隙間やセンサやファンのケーブルを入れる穴はパテを用いて密閉する．容器内の相対湿度が過度に高くないように，水分吸着剤（シリカゲル）を容器底面に入れる．チャンバーの上に照明ランプを設置する．

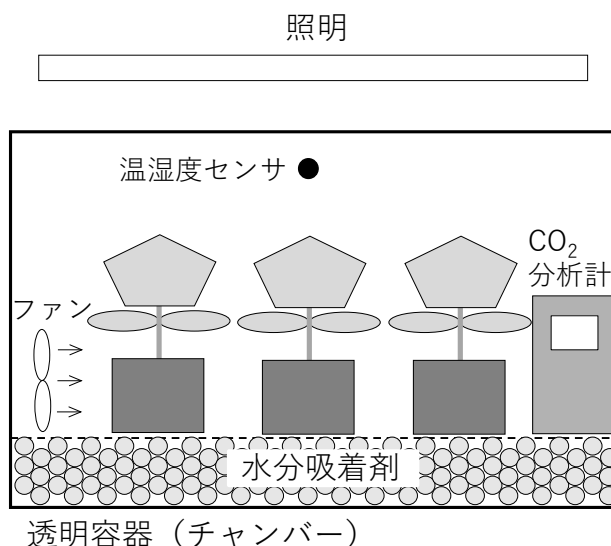


図8 閉鎖式チャンバー法による CO_2 交換速度の計測装置

計測項目

次の計測項目から CO_2 交換速度を算定する．

- ・ チャンバー内の CO_2 濃度 ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
- ・ チャンバー内の気温 ($^{\circ}\text{C}$) と相対湿度 (%) (各条件での計測開始時と終了時だけでよい)
- ・ 植物の葉面積 (m^2)
- ・ チャンバーの空気容積 (m^3)

計測手順

- ・ 光強度を設定する．
- ・ 呼気によってチャンバー内 CO_2 濃度を $900 \mu\text{mol mol}^{-1}$ 程度まで高める．

- ・ チャンバー内の気温 (°C) と相対湿度 (%) を記録する。
- ・ チャンバー内 CO₂ 濃度の時間変化を 10 秒間隔で記録する。
- ・ CO₂ 濃度がほとんど変化しなくなったら、チャンバー内の気温 (°C) と相対湿度 (%) を記録して、次の光強度の条件での計測に移る。
- ・

計測条件

- ・ 光強度を 3 条件 (暗黒を含む) に設定する。光強度は、ランプとチャンバーとの距離や遮光カーテンによって調節する。各条件での光合成有効光量子束密度 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を測定する。
- ・ 各光強度で、CO₂ 濃度 750~650 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 、400~300 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ における CO₂ 交換速度を計測する (図 1 1)。CO₂ 濃度がほとんど変化しなくなったら、その濃度を記録する。
- ・ 暗黒条件のときは、CO₂ 濃度の増加速度から暗呼吸速度を求める。

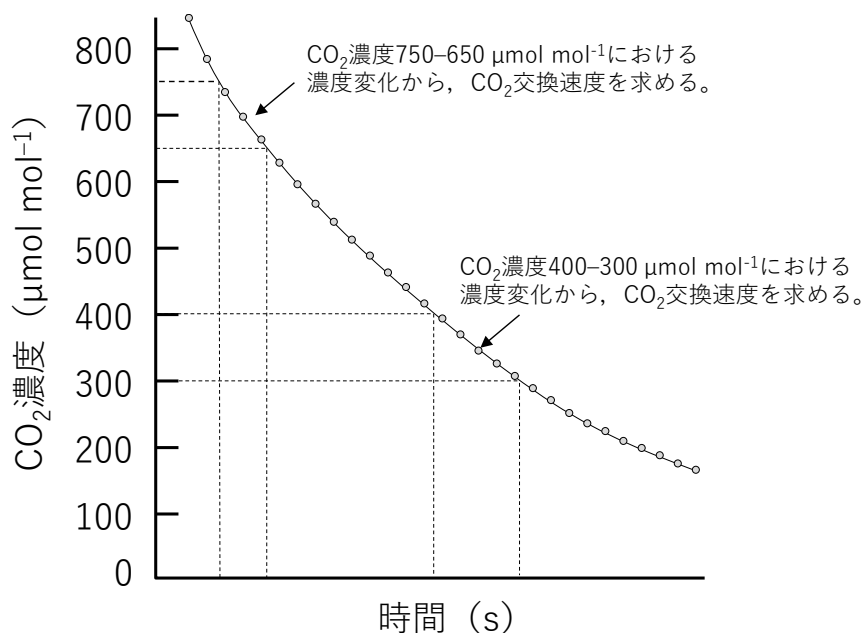


図 1 1 CO₂ 濃度の変化から CO₂ 交換速度を求める方法

算定項目

- ・ 各光強度で、CO₂ 濃度 750~650 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 、400~300 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ における葉面積あたりの CO₂ 交換速度 ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を算定する。光強度 3 条件と CO₂ 濃度 2 条件を掛け合わせた計 6 条件における CO₂ 交換速度が求まることになる。

11. レポート

計測原理・計測方法を分かりやすく正確に記述すること。材料や測器なども詳細に記載すること。本テキストに書いてある文章をそのまま使わないようにすること。結果はグラフにまとめ、計測値の傾向について文章で具体的に説明すること。図は何を伝えたいのかをよく考えて作成すること。単位は正確に表記すること。下記の内容について考察すること。

光強度と CO₂ 濃度の複合影響

光-光合成曲線を2段階の CO₂ 濃度について図示し、光強度と CO₂ 濃度が植物の CO₂ 交換速度に及ぼす複合的な影響について説明すること。それぞれの単独の影響を説明するだけでは不十分である。

人間の呼吸とのバランスについて

閉鎖空間内で人間1人が生活するためには、最低どれくらいの植物が必要になるか。ガス交換から試算せよ。人間は1人1日あたり約480 g の O₂ を必要とすると考える。どのような仮定にもとづいて試算したかも記述せよ。

レポートの書式

- ・ A4用紙2枚以内。1頁あたりの文字数:45字×45行程度。図表は全体の半分に抑えること。
- ・ 表紙は必要ない。
- ・ PDFファイルに変換して授業支援システム(Moodle)を使って提出すること。
- ・ 締め切りなどの詳細は授業支援システムに掲示する。

12. 参考図書

1. 「植物の光合成・物質生産の測定とモデリング」, 彦坂幸毅著, 共立出版, 2016年
2. 「新訂農業気象の測器と測定法」, 日本農業気象学会編, 農業技術協会, 1997年
3. 「農業環境実験法」, 渡部一郎編, サイエンスハウス, 1987年
4. 「植物の生産過程測定法」, 牛島忠広・古川昭雄・米山忠克 共立出版, 1981年
5. 「植物生理学・発生学」, L. テイツ・E. ザイガー編, 講談社, 2017年
6. 「絵とき 植物生理学入門」, 山本良一編, オーム社, 2016年
7. 「光と水と植物のかたち」, 種生物学会編, 文一総合出版, 2003年