

## 培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度が一定である場合の 培養小植物体の CO<sub>2</sub> 交換速度の算定法

富士原 和宏\*

近年、培養小植物体（茎葉が分化し小植物体の形状を呈している培養中の植物体をさす）が光合成能力を有していること<sup>1-4)</sup> や、培養器内において実際に光合成を行っていること<sup>5-9)</sup> が報告されている。また最近、筆者らは、培養器内における培養小植物体の光合成速度および暗呼吸速度を算定し、それについて報告した<sup>9)</sup>。

培養器内における培養小植物体の CO<sub>2</sub> 交換速度の算定は、培養器内環境が培養小植物体の生長に及ぼす影響等を調べる上で必要不可欠となる。

そこで、本稿と次稿にわたり、ガスクロマトグラフを用いて培養器内外 CO<sub>2</sub> 濃度を測定し、培養器内における培養小植物体の CO<sub>2</sub> 交換速度を算定する方法について解説したい。

本稿では、培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度が一定である、すなわち培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度の変化速度が0である時間帯における培養小植物体の CO<sub>2</sub> 交換速度の算定法について述べる。

### 1. 培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度の経時変化のおもなパターン

培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度の経時変化のパターンは、暗期を0~8時、明期を8~24時と仮定すると、第1図のA, B, CおよびDに示したような4つの種類に大きく分けられる。Aは培養小植物体の CO<sub>2</sub> 交換速度が大きく培養器の CO<sub>2</sub> 換気回数が多い場合、Bは CO<sub>2</sub> 交換速度が大きく CO<sub>2</sub> 換気回数が少ない場合、Cは CO<sub>2</sub> 交換速度が小さく CO<sub>2</sub> 換気回数が多い場合、Dは CO<sub>2</sub> 交換速度が小さく CO<sub>2</sub> 換気回数が少ない場合である。

CO<sub>2</sub> 換気回数とは、CO<sub>2</sub> をトレーサーガスとして測定した換気回数である<sup>10)</sup>。また、換気回数とは、単位時

間、構造物内空気容積当りの、構造物外から構造物内へのガス流入量であり、構造物の通気性を評価するのに有効な値である。その算定式等については後述する。

本稿で扱うのは、Aの  $t_1 \sim t_2$ ,  $t_3 \sim t_4$ , Bの  $t_1 \sim t_2$ , Cの  $t_1 \sim t_2$ ,  $t_3 \sim t_4$  のような時間帯における CO<sub>2</sub> 交換速度の算定法についてである。任意の時間帯における算定法については次稿で扱う。

### 2. 培養小植物体の CO<sub>2</sub> 交換速度の算定式

培養器内外の CO<sub>2</sub> が十分に拡散されている状態では、その培養器内の CO<sub>2</sub> 濃度の変化に関して次式が成り立つ。

$$V d K_c = M d t + E_c \cdot V \cdot (K_{c_{ou}} - K_c) d t \quad (1)$$

ここで、 $V$ : 培養器内空気容積 [ $\text{cm}^3$ ],  $K_c$ : 培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度 [ $\mu\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$ ],  $M$ : 培養小植物体の CO<sub>2</sub> 交換速度 [ $\mu\text{cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ ],  $t$ : 時刻 [hr],  $E_c$ : 培養器の CO<sub>2</sub> 換気回数 [ $\text{hr}^{-1}$ ],  $K_{c_{ou}}$ : 培養器外 CO<sub>2</sub> 濃度 [ $\mu\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$ ] である。なお、培地の CO<sub>2</sub> 交換速度は十分に小さいので無視できる。

この(1)式の両辺を  $V d t$  で除すと、

$$\frac{d K_c}{d t} = \frac{M}{V} + E_c \cdot (K_{c_{ou}} - K_c) \quad (2)$$

となる。このとき、 $d K_c / d t = 0$  であるならば、すなわち培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度の変化速度が0であるならば、(2)式は次のようになる。

$$M = -E_c \cdot V \cdot (K_{c_{ou}} - K_c) \quad (3)$$

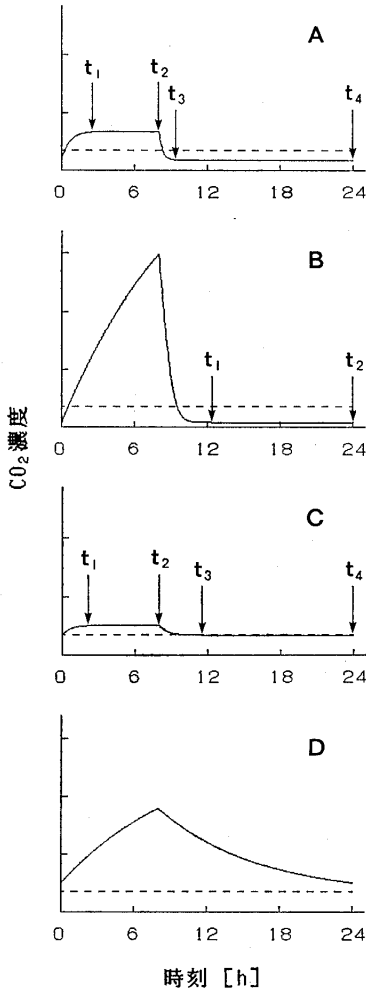
したがって、培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度がある時間帯に一定であるならば、その時間帯の培養器内における CO<sub>2</sub> 交換速度は、(3)式から求めることができる。 $M > 0$  となったならば、培養小植物体は培養器内に CO<sub>2</sub> を放出していることになり、 $M < 0$  となったならば培養器内より CO<sub>2</sub> を吸収していることになる。

培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度が一定となっているか否かは、ある時間間隔 (0.5~2 hr 程度) で培養器内 CO<sub>2</sub> 濃度を実際に数回測定して調べる必要がある。変動係数 (標準偏差を平均値で除したもの) が10% 以内であれば一定

\* Kazuhiro FUJIWARA: A Method for Estimating CO<sub>2</sub> Exchange Rates of Tissue-cultured Plantlets in vitro for a Constant CO<sub>2</sub> Concentration in Culture Vessels with Time

千葉大学園芸学部園芸環境工学研究室 (〒271 松戸市松戸 648)

Laboratory of Horticultural Engineering, Faculty of Horticulture, Chiba University (648 Matsudo, Matsudo, Chiba 271)



第1図 培養器内  $\text{CO}_2$  濃度の経時変化のおもなパターン (実線: 培養器内  $\text{CO}_2$  濃度, 点線: 培養器外  $\text{CO}_2$  濃度, 暗期: 0~8 hr, 明期: 8~24 hr)

A: 培養小植物体の  $\text{CO}_2$  交換速度大・培養器の  $\text{CO}_2$  換気回数多, B: 培養小植物体の  $\text{CO}_2$  交換速度大・培養器の  $\text{CO}_2$  換気回数少, C: 培養小植物体の  $\text{CO}_2$  交換速度小・培養器の  $\text{CO}_2$  換気回数多, D: 培養小植物体の  $\text{CO}_2$  交換速度小・培養器の  $\text{CO}_2$  換気回数少

であるとみなして差し支えないであろう。

なお,  $\text{CO}_2$  は  $1,000 \mu\text{cm}^3 \approx 1.8 \mu\text{g}$  であるので,  $[\mu\text{cm}^3 \cdot \text{hr}^{-1}]$  は,  $[\mu\text{g} \cdot \text{hr}^{-1}]$  に変換することができる。また,  $\text{CO}_2$  交換速度測定後, 培養小植物体の葉面積の測定が可能であれば,  $\text{CO}_2$  交換速度は,  $[\mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{hr}^{-1}]$  または  $[\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{hr}^{-1}]$  等で示す方がよい。

ちなみに, 径 25 mm, 長さ 120 mm のガラス製平底試験管にプラスチックキャップで閉栓した培養器 ( $E_c \approx 1.3 \text{ hr}^{-1}$ ) 内で培養中の, 苗化培養ステージにあるイチゴ培養小植物体の純光合成速度 (負の  $\text{CO}_2$  交換速度) は, 1 本当たり約  $10 \sim 25 \mu\text{g} \cdot \text{hr}^{-1}$  であった<sup>11,12)</sup>。

### 3. 培養器内外の $\text{CO}_2$ 濃度および培養器内空気容積の測定

培養器内外の  $\text{CO}_2$  濃度は, ガスクロマトグラフにより測定する。このとき,  $\text{CO}_2$  交換速度算定の対象となる時間帯の培養器外  $\text{CO}_2$  濃度を変動させないように注意しなければならない。ガスの採取量は,  $0.25 \sim 0.5 \text{ cm}^3$  が適当であろう。

培養器内のガスを採取するには, 通常, ガスタイトシリンジの針を栓から差入れ採取することになる。また, 栓の材質によっては, あらかじめ測定開始前に栓にガス採取用の小穴 (径 1 mm 程度) を開けて, その後ビニルテープ等で塞いでおき, ガス採取時にそのテープ等を剥して採取できるように準備をしておく必要がある。アルミニウム фольドキャップのように, 一度針を差し込むと穴が開いたままになるような栓に対しては, ガス採取後, その穴をテープ等で塞ぐ必要がある。

また, ガスタイトシリンジには滅菌処理を行わなくとも, 針の外面をきれいに拭き取れば, コンタミネーションが発生することはほとんどない。

培養器内空気容積は, 培地および培養小植物体を含んだままの培養器内に水を培養器の口まで入れた後, その水をメスシリンダに移して測定すればよい。

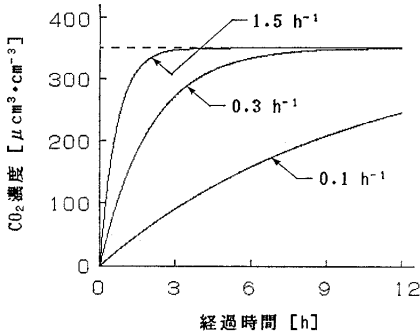
### 4. $\text{CO}_2$ 換気回数の算定法

$\text{CO}_2$  換気回数は, 培養器内の空気を高  $\text{CO}_2$  濃度の空気で置換した後, 異なる時刻に培養器内  $\text{CO}_2$  濃度を 2 回測定すれば求めることができる。 $\text{CO}_2$  換気回数の算定式は, 次式で与えられる。

$$E_c = \frac{1}{\Delta t} \cdot \ln \frac{K_{c1} - K_{c0}}{K_{c2} - K_{c0}} \quad (4)$$

ここで,  $K_{c1}$ : 時刻  $t_1$  における培養器内  $\text{CO}_2$  濃度  $[\mu\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}]$ ,  $K_{c2}$ : 時刻  $t_2$  における培養器内  $\text{CO}_2$  濃度  $[\mu\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}]$ ,  $\Delta t$ : 時刻  $t_1$  から時刻  $t_2$  までの時間 [hr] である。

$\text{CO}_2$  換気回数を測定する際には, 測定誤差を小さく抑えるために,  $K_{c2}$  は  $K_{c0}$  (培養器外  $\text{CO}_2$  濃度) より少なくとも  $1,000 \mu\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$  は高くなるようにし,  $\Delta t$  は 0.5 hr 以上長くするようにするのが望ましい。そしてここでも, 培養器外  $\text{CO}_2$  濃度を変動させないように注意する。また, このときの空の培養器の設置環境 (培養器外の気温, 空気流動状態等) は, 培養小植物体の  $\text{CO}_2$



第2図 CO<sub>2</sub>換気回数が空の培養器内のCO<sub>2</sub>濃度の経時変化に及ぼす影響(初期の培養器内CO<sub>2</sub>濃度:  $0 \mu\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$ . 培養器外CO<sub>2</sub>濃度(点線):  $350 \mu\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$ )

交換速度測定時の環境と異ならなければならない。

(3)式で用いるための、培地および培養小植物体を含んだままの培養器のCO<sub>2</sub>換気回数の値は、培地および培養小植物体を取り出し洗浄した後の空の培養器を用いて求めたCO<sub>2</sub>換気回数の値から算出することができる。それには、空の培養器内空気容積を、培地および培養小植物体を含んだままの培養器内の空気容積で除した値に、空の培養器を用いて求めたCO<sub>2</sub>換気回数に乗じればよい。なぜなら、同一の栓および容器を用いれば、培養器内空気容積とその培養器の換気回数の積は、培養器内空気容積によらず一定となるからである。

テープ等を用いて気密性を高めたような培養器でない限り、CO<sub>2</sub>換気回数の値は  $0.1 \sim 1.5 \text{ hr}^{-1}$  程度である。CO<sub>2</sub>換気回数が培養器内CO<sub>2</sub>濃度の経時変化に及ぼす影響の大きさを直感的に理解できるように、CO<sub>2</sub>換気回数が異なる空の培養器内のCO<sub>2</sub>濃度の経時変化の様子

を第2図に示しておく。CO<sub>2</sub>換気回数の値が大きいほど、培養器内CO<sub>2</sub>濃度が培養器外CO<sub>2</sub>濃度に近づく速度が大きくなる。

なお、(1)~(4)式は、CO<sub>2</sub>だけでなく、あらゆる種類のガスについて適用できる式であることを付記しておく。たとえば、O<sub>2</sub>を対象ガスとすれば、(3)式は培養小植物体のO<sub>2</sub>交換速度を与える式となり、(4)式はO<sub>2</sub>換気回数を与える式となる。

(1987年10月21日受理)

## 文 献

- 1) Grout, B. W. W., M. J. Aston, 1978. Hort. Res., **17**: 65-71.
- 2) Evers, P. W., 1982. Plant Tissue Culture 1982, Proc. 5th Int. Cong. Plant Tissue and Cell Culture, p. 263-264.
- 3) Donnelly, D. J., W. E. Vidaver, 1984. J. Am. Soc. Hort. Sci., **109**: 177-181.
- 4) Lee, N., H. Y. Wetzstein, H. E. Sommer, 1985. Plant Physiol., **78**: 637-641.
- 5) 安藤敏夫, 1978. 園学要旨, 昭53秋, p. 368-369.
- 6) 土井元章, 野口宝司, 浅平 端, 1986. 日本生物環境調節学会第24回大会要旨, p. 64-65.
- 7) 古在豊樹, 岩浪好恵, 富士原和宏, 1987. 植物組織培養, **4**: 22-26.
- 8) 富士原和宏, 古在豊樹, 渡部一郎, 1987. 農業気象, **43**: 21-30.
- 9) 土井元章, 小田 尚, 浅平 端, 1987. 園学要旨, 昭62秋, p. 524-525.
- 10) 古在豊樹, 富士原和宏, 渡部一郎, 1986. 農業気象, **42**: 119-127.
- 11) 富士原和宏, 古在豊樹, 渡部一郎, 1987. 昭和62年度日本農業気象学会全国大会講演要旨, p. 202-203.
- 12) 富士原和宏, 古在豊樹, 渡部一郎, 1987. 園学要旨, 昭62秋, p. 268-269.