

## キク組織培養小植物体の光呼吸に及ぼす $O_2$ 濃度の影響

田中布佐子・渡邊幸雄・嶋田典司

千葉大学園芸学部  
(〒271 松戸市松戸 648)

(1989年12月5日受付)  
(1990年2月6日受理)

$C_3$  植物のキク (*Chrysanthemum morifolium* cv. Shuhō-no-chikara),  $C_4$  植物のアマランサス (*Amaranthus mangostanus* cv. Baiam) 小植物体を短期間 1, 10, 21%  $O_2$  下で培養したところ、キク小植物体では  $O_2$  濃度が高くなるにつれて光呼吸が強まったが、アマランサス小植物体では光呼吸が認められなかつた。次にキク小植物体を 6 日間上記各  $O_2$  下で培養したところ、見かけの光合成速度およびリプロース-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ (以下, RuBPCase) 活性は、低  $O_2$  になるほど高く、逆に光呼吸は 21%  $O_2$  区で高く、光呼吸の基質であるグリコール酸含量も同じ傾向を示した。生育では、乾物重の増加に大きな差はなかったが、乾物率は低  $O_2$  区で高かった。また培地ショ糖濃度 1.5% で培養した小植物体は 3% で培養したものより、見かけの光合成速度、クロロフィル含量、グリコール酸含量および RuBPCase 活性が高くなる傾向がみられた。組織培養植物の光呼吸を抑制して光合効率を高めるには、培地ショ糖濃度を低くして培養した方がより効果的であると思われた。

### 1. 緒 言

近年、組織培養を利用した種苗生産の進展には目ざましいものがある。しかし、組織培養による苗は、培養期間中、培地にショ糖が加えられて生育しているため、培養小植物体の光合成能力の低下、バクテリアやカビなどによる枯死率の高さ、さらには順化時における苗の生存率の低下など、問題点も少なくない。これらの点を解決する方法の一つとして、現在、組織培養中の小植物体の光合成能力を高めることが重要であると考えられている。すでに、培養中、光量を高め、 $CO_2$  施用を行うことにより、小植物体の光合成速度や生育を促進させることができると報告されている<sup>1-3)</sup>。しかし、 $O_2$  濃度と小植物体の光合成との関連においては、ほとんど検討されていない。

一般的に、自然条件下で生育している  $C_3$  植物は通常の大気下 (21%  $O_2$  濃度) において、光合成で固定した  $CO_2$  の 40~50% を光呼吸により放出してしまうため、光合効率を高めるという面からはマイナスの要因となっている。一方、 $O_2$  濃度の低下は光呼吸を抑制し、見かけの光合成速度や生育を高めることができと知られている<sup>4-5)</sup>。

$C_3$ ,  $C_4$  植物の培養小植物体に光呼吸による差がある

のか否かについては、カルスで検討した数例<sup>6-9)</sup> を除いて、今のところ不明である。もし、組織培養小植物体でも光呼吸が認められるならば、自然条件下ではなかなか調節できない  $C_3$  植物の光呼吸も、培養器内で  $O_2$  濃度を減じるなどして光呼吸を抑制し、小植物体の光合効率を高められるのではないかと思われる。また、低  $O_2$  による培養は微生物の繁殖を防ぐ効果も期待できる。

本研究では、まず  $C_3$  植物 (キク) および  $C_4$  植物 (アマランサス) の小植物体の光呼吸の存在について、3 種の異なる  $O_2$  濃度 (1, 10, 21%) によるガス交換法から検討した。次にキク小植物体を 6 日間、上記の各  $O_2$  環境下で培養した時の光呼吸について、見かけの光合成速度、生育、クロロフィル含量、グリコール酸含量および RuBPCase 活性などの面から基礎的な解明を試みたものである。

### 2. 材料および方法

#### (1) 供試材料、培地および培養方法

実験 1:  $C_3$  植物、 $C_4$  植物の組織培養小植物体を短期間 1, 10, 21%  $O_2$  環境下で培養した場合

実験 2:  $C_3$  植物の組織培養小植物体を長期 (6 日間) 1, 10, 21%  $O_2$  環境下で培養した場合

実験 1, 2 における供試材料は、 $C_3$  植物としてキク

(*Chrysanthemum morifolium* cv. Shuhō-no-chikara) を、また C<sub>4</sub> 植物としてアマランサス (*Amaranthus mangostanus* cv. Baiam) の挿し芽をそれぞれ 4 週間ごとに継代培養したものを用いた。培地は 3% (w/v) ショ糖、0.8% (w/v) の寒天を含む 1/2 MS 培地（無機塩濃度を半分に希釈した Murashige-Skoog 培地<sup>10)</sup>）を用いた。実験 1, 2 ともに、測定開始の 20 日前に本葉 3 ~ 4 枚の外植体を 3 本ずつ、125 ml の 1/2 MS 培地を含む内容積 800 ml のプラスチック容器に移植し、そこで 20 日間培養したものを小植物体として実験用に供試した。その際、実験 2においてはショ糖濃度を 1.5% (w/v) にした区を加えた。培養条件は実験 1, 2 ともに次のとおりである。培養棚面における光合成有効光量子束密度は 110  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ 、また光の明暗周期は初期 14 h、暗期 10 h であった。培養室内的温度は初期 25°C、暗期 20°C に保たれた。

### (2) 試験区の設定および測定装置

光呼吸は O<sub>2</sub> 濃度に依存して増加し、CO<sub>2</sub> 濃度に依存して減少するので、O<sub>2</sub> 濃度を 1~2% にすると光呼吸はほとんど見られなくなる。そこで、3種の異なった O<sub>2</sub> 濃度、1%, 10% および 21% (CO<sub>2</sub> 濃度はすべて 0.0366% と一定) における見かけの光合成速度を測定するための試験区をそれぞれ培養室内、グロースチャンバ内に設置した。試験区の環境条件は培養条件と同じである。小植物体の入っているプラスチック容器を内容積 1600 ml の特注のガラス製ジャーにそれぞれ移した。初期中、小植物体に流す各混合ガスの流量は実験 1 では 1, 2, 3, 4 ml sec<sup>-1</sup> の 4 段階、実験 2 では 2 ml sec<sup>-1</sup> とした。暗期ではガスを止めた。

### (3) 見かけの光合成速度と光呼吸速度の算定方法

CO<sub>2</sub> 濃度の測定には開放系測定法を用いた<sup>11)</sup>。CO<sub>2</sub> 濃度の測定には、ガスクロマトグラフにガス燃焼用小型反応炉およびデータ処理装置を接続したものを用いた。実験 1 において、CO<sub>2</sub> の測定は各ジャーの O<sub>2</sub> 濃度を 30 分ごとに変えて、それぞれ 7 回繰り返して行った。これはジャー内の O<sub>2</sub> 濃度を変えて、ジャー出口の CO<sub>2</sub> 濃度が 30 分以内に安定したことを確かめ、行ったものである。さらに、この操作を流量 1, 2, 3, 4 ml sec<sup>-1</sup> においてそれぞれ行った。実験 2 では流量 2 ml sec<sup>-1</sup> で 6 日間流し続けた後、各 O<sub>2</sub> 区同時に測定した。小植物体の葉を CO<sub>2</sub> 測定後直ちに 80°C で 3 日間処理し、乾物重を測り、小植物体の葉の乾物重当たりの見かけの光合成速度を算出した。光呼吸速度は 1% O<sub>2</sub> における光合成速度 ( $P_1$ ) と、10% O<sub>2</sub> および 21% O<sub>2</sub> におけるそれぞれの見かけの光合成速度 ( $P_{10}$ )、( $P_{21}$ ) との

差 ( $P_1 - P_{10}$ )、( $P_1 - P_{21}$ ) を 10%, 21% O<sub>2</sub> 濃度における光呼吸速度として求めた。

### (4) 小植物体の生育

培養小植物体の 1 本当たりの葉部、茎部、根部について新鮮重、乾物重を測定し、さらに乾物率を求めた。

### (5) クロロフィル含量、グリコール酸含量および RuBPCase 活性の測定

クロロフィル含量、グリコール酸含量、RuBPCase 活性の測定には、実験終了後、各試験区の小植物体の葉部（約 0.5~0.7 g）をそれぞれ用いた。クロロフィル含量の測定は Arnon<sup>12)</sup> らの方法により、グリコール酸の抽出、定量量は Zelitch<sup>13)</sup>、Calkins<sup>14)</sup> の方法に準じて行った。また RuBPCase 活性の測定のための粗酵素液の抽出は Makino<sup>15)</sup> らの方法に拠りを行い、活性の測定は Racker<sup>16)</sup> の方法に準じて行った。なお、活性はクロロフィル 1 mg、単位時間 (hr) 当たりに固定される CO<sub>2</sub> の  $\mu\text{mol}$  で表した。

### 3. 結果と考察

(1) 実験 1：短期間 1, 10, 21% O<sub>2</sub> 環境下で培養した C<sub>3</sub> 植物（キク）、C<sub>4</sub> 植物（アマランサス）小植物体における見かけの光合成速度および光呼吸速度

CO<sub>2</sub> 測定後におけるキク、アマランサス小植物体 1 本あたりの新鮮重はそれぞれ 1.12 g, 0.33 g、また、乾物重はそれぞれ 0.11 g, 0.03 g であった。キク小植物体の見かけの光合成速度は 1~4 ml sec<sup>-1</sup> のどの流量においても、 $P_1$  で最も高く、 $P_{10}$ ,  $P_{21}$  の順に低くなった (Fig. 1)。これは、プリムラ (C<sub>3</sub> 植物) 小植物体で O<sub>2</sub> 濃度が

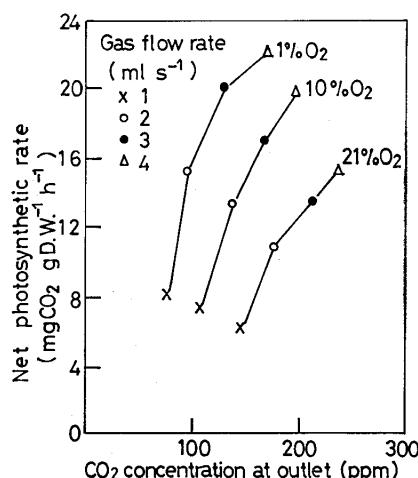


Fig. 1. Net photosynthetic rate of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* during the photoperiod at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration.

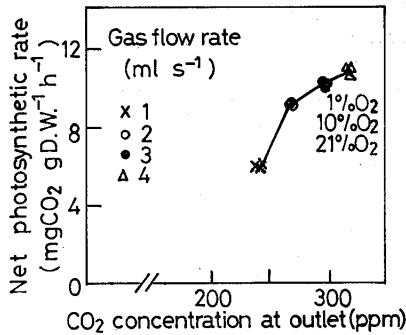


Fig. 2. Net photosynthetic rate of *Amaranthus* plantlet *in vitro* during the photoperiod at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration.

低くなるほど見かけの光合成速度が増大したという報告<sup>17)</sup>と同様の傾向を示した。一方、アマランサス小植物体ではどの流量においても、見かけの光合成速度は O<sub>2</sub> 濃度の低下によつた影響を受けなかった (Fig. 2)。ところで、各 O<sub>2</sub> 濃度において、流量を増大させると見かけの光合成速度が増大する現象をみせたのは、Nevins *et al.* (1970) の報告<sup>18)</sup>にもみられるように、ジャー内の CO<sub>2</sub> 濃度と葉面における CO<sub>2</sub> 交換係数が、流量の増大に伴つて増加し、その結果、見かけの光合成速度が高くなつたものと思われる。しかし、組織培養小植物体において、見かけの光合成速度が、C<sub>3</sub> 植物では O<sub>2</sub> 濃度を減少させ CO<sub>2</sub> 濃度を増加させると高くなり、C<sub>4</sub> 植物では O<sub>2</sub> 濃度に無関係に CO<sub>2</sub> 濃度を増加させると高くなるという、自然条件下の C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> 植物と同じ光合成特性を持っていることが考えられる。

次に、流量 2 ml sec<sup>-1</sup> の 10%, 21% O<sub>2</sub> 区におけるキク小植物体の光呼吸速度 ( $P_{1-P10}$ ,  $(P_1-P_{21})$ ) をみると、21% O<sub>2</sub> 区は 10% O<sub>2</sub> 区のほぼ 2 倍あり、光合成に対する光呼吸の割合は 10% O<sub>2</sub> 区において約 14%, 21% O<sub>2</sub> 区において約 29% であった (Table 1)。タバコやミカン科のカルスで光呼吸活性があるという報告<sup>6-8)</sup>と同じように、キク小植物体でも光呼吸が認められた。

Table 1. Photorespirative rate of *Chrysanthemum* (C<sub>3</sub>) and *Amaranthus* (C<sub>4</sub>) plantlets *in vitro* at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration.

	$P_{1-P10}$ mgCO <sub>2</sub> gD.W. <sup>-1</sup> hr <sup>-1</sup>	$P_{1-P21}$ mgCO <sub>2</sub> gD.W. <sup>-1</sup> hr <sup>-1</sup>	$(P_{1-P10})/P_1$ %	$(P_{1-P21})/P_1$ %
<i>Chrysanthemum</i>	2.15	4.44	13.83	28.55
<i>Amaranthus</i>	0	0.01	—	—

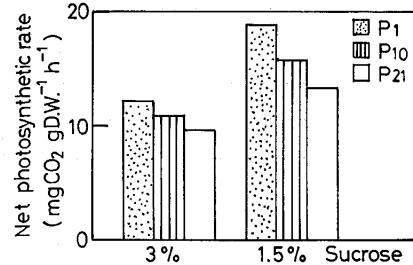


Fig. 3. Net photosynthetic rate of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 3 and 1.5% sucrose, respectively, during the photoperiod at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration for 6 days.  
P<sub>1</sub>, P<sub>10</sub>, P<sub>21</sub>: net photosynthetic rate of plantlet at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration.

しかし、アマランサス小植物体では光呼吸はみられなかつた (Table 1)。C<sub>4</sub> 植物のカルスに C<sub>3</sub> カルスの 1/2 から 1/3 に相当する光呼吸が認められたという報告<sup>9)</sup>があるが、アマランサス小植物体ではカルスと異なり、すでに茎葉の分化した小植物体であったため、光呼吸が認められなかつたものと考えられる。

(2) 実験 2 : C<sub>3</sub> 植物であるキク小植物体を 1, 10, 21% O<sub>2</sub> 下で 6 日間培養した時の見かけの光合成速度、光呼吸速度、生育、クロロフィル含量、グリコール酸含量および RuBPCase 活性に及ぼす培地ショ糖濃度の影響

### 1) 見かけの光合成速度と光呼吸速度

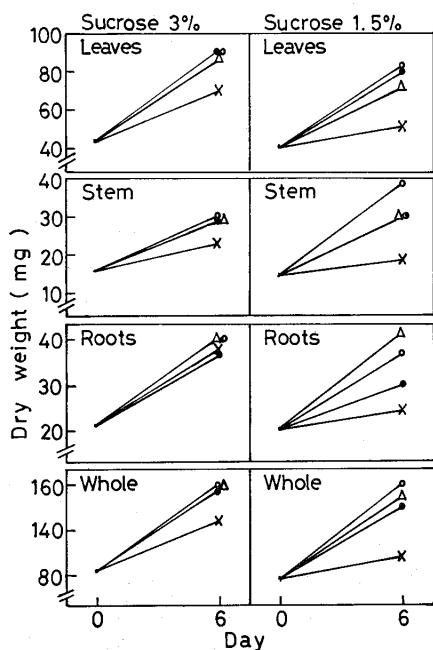
培地ショ糖濃度 3% と 1.5% で培養したキク小植物体の各 O<sub>2</sub> 区における 6 日目のそれぞれの見かけの光合成速度は、培地ショ糖濃度 3% において P<sub>1</sub> が 12.72, P<sub>10</sub> が 11.01, P<sub>21</sub> が 9.18 mg CO<sub>2</sub> gD.W.<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>, また培地ショ糖濃度 1.5% において P<sub>1</sub> が 18.98, P<sub>10</sub> が 15.42, P<sub>21</sub> が 13.26 mg CO<sub>2</sub> gD.W.<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup> であった (Fig. 3)。両ショ糖濃度の培地において、どちらも 1% O<sub>2</sub> 区で最も高く、10% O<sub>2</sub> 区、21% O<sub>2</sub> 区の順に低くなつた。また培地ショ糖濃度 1.5% で培養したほうが

$P_{1-P10}$ ,  $P_{1-P21}$ : photorespirative rate under 10, 21% O<sub>2</sub> concentration, respectively.  $(P_{1-P10})/P_1$ ,  $(P_{1-P21})/P_1$ : photorespiration/photosynthesis ratio under 10, 21% O<sub>2</sub> concentration, respectively.

**Table 2.** Photorespiratory rate of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 3 and 1.5% sucrose at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration for 6 days.

Sucrose	$P_{1-P_{10}}$	$P_{1-P_{21}}$	$(P_{1-P_{10}})/P_1$	$(P_{1-P_{21}})/P_1$
%	mgCO <sub>2</sub> gD.W <sup>-1</sup> .hr <sup>-1</sup>		%	
3	1.71	3.54	13.44	27.83
1.5	3.56	5.72	18.76	30.14

$P_{1-P_{10}}, P_{1-P_{21}}$ : photorespiratory rate under 10, 21% O<sub>2</sub> concentration, respectively.  $P_{1-P_{10}}/P_1, P_{1-P_{21}}/P_1$ : photorespiration/photosynthesis ratio under 10, 21% O<sub>2</sub> concentration, respectively.



**Fig. 4.** Dry weight components of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 3 and 1.5% sucrose growing in 1(●), 10(○) and 21(△)% O<sub>2</sub> concentration for 6 days. Means of 6 plantlets. Cont. (×) : plantlet *in vitro*.

3% のものより、見かけの光合成速度が高い傾向が認められ、培地のショ糖濃度が低いほど組織培養植物の光合成速度が高いという報告<sup>1,3)</sup>と一致した。6日目の10%, 21% O<sub>2</sub>の光呼吸速度( $P_{1-P_{10}}$ ,  $P_{1-P_{21}}$ )、また光合成に対する光呼吸の割合は培地ショ糖濃度どちらにおいても21% O<sub>2</sub>区で高く、しかも培地ショ糖濃度を1.5%にしたほうが3%よりも高い傾向にあった(Table 2)。従来、組織培養植物は培養中、光照射下、培地は炭素源として糖が入れられ從属栄養的側面の強い混合栄養生長を行っているが、Table 2にみられるように、光呼吸速

度が培地ショ糖濃度の低いほうで高い傾向にあったことは、培地のショ糖濃度を下げるかあるいはゼロにして小植物体を培養したほうが、独立栄養的側面が強まるのではないかと考えられる。なお、ここでは初期中の光呼吸の現象を調べることを目的としたため、暗呼吸の影響について検討を行わなかったが、培地ショ糖濃度の違いにより暗呼吸に差があることも予想されるため、光呼吸との関係においてさらに検討が必要かと思われる。

## 2) 生育

小植物体の生育に関して、自然条件下のC<sub>3</sub>植物において低O<sub>2</sub>による光呼吸の抑制が植物の乾物重を増大させる<sup>19)</sup>といわれており、本実験ではおもに乾物生産について検討した。また、培養室内で各O<sub>2</sub>試験区と同じ光、温度条件下で培養したプラスチック容器内小植物体をコントロール区として、各O<sub>2</sub>区の植物体と比較検討した。培地ショ糖濃度3%で培養した小植物体の乾物重では、葉部、茎部、根部および全体重において各O<sub>2</sub>区による大きな差は見られなかった。培地ショ糖濃度1.5%で培養した小植物体では、茎葉部において10% O<sub>2</sub>区が高く、根部においては21%区がわずかに高い傾向にあった。コントロール区では両ショ糖濃度の培地において、総じて各O<sub>2</sub>区より顕著に低下した(Fig. 4)。培地ショ糖濃度1.5%で3%よりも、O<sub>2</sub>濃度による各部位別の乾物重の増加にある程度差が生じたのは、低O<sub>2</sub>区、培地ショ糖濃度1.5%で見かけの光合成速度がより促進されたことと関係があるのではないかと思われる。つまり、ショ糖濃度1.5%の場合、培地中に糖が少ないため、培地中の糖への依存度が低く、その結果、茎葉部のガス交換が促進され、低O<sub>2</sub>区で乾物重が茎葉部で高く根部で低い傾向にあったのではないかと推定される。しかし、培養期間が6日間であったので、その差が顕著に表れなかつたものと考えられる。乾物率は培地ショ糖濃度にかかわらず茎葉根部すべてにおいて、低O<sub>2</sub>区になるほど高く、コントロール区で最も低かった(Table 3)。コントロール区の乾物重、乾物率が両ショ

**Table 3.** Dry/fresh weight ratio of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 1.5 and 3% sucrose at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration for 6 days.

Sucrose (%)	Treatment O <sub>2</sub> (%)	Dry/fresh weight ratio (%)			
		Leaf	Stem	Root	Whole
3	1	14.80	11.61	13.39	13.75
	10	13.23	10.56	10.84	11.97
	21	11.37	9.97	10.92	10.97
	cont.	9.50	8.30	9.68	9.31
1.5	1	13.90	9.38	10.87	12.00
	10	10.47	9.20	9.22	9.84
	21	8.91	8.78	8.60	8.79
	cont.	7.49	6.67	7.15	7.23

cont.: plantlet *in vitro*.

糖濃度の培地とともに各 O<sub>2</sub> 区と比べ一番低かったのは、通常の培養環境の湿度がかなり高いため、蒸散が抑えられ水分含有率が高くなつたことに起因しているものと思われる。また、培地ショ糖濃度 1.5% の小植物体において 3% のものより乾物率が全体的に減少したのは、新鮮重の増加（データなし）が培地ショ糖濃度 1.5% よりも 3% において多かったせいではないかと思われる。

### 3) クロロフィル含量

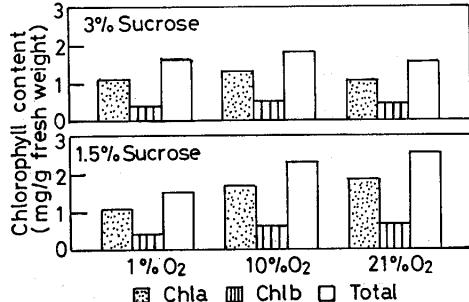
光合成化学反応に重要な色素であるクロロフィル含量について検討した。クロロフィル含量は培地ショ糖濃度 3% において 10% O<sub>2</sub> 区が 1% O<sub>2</sub> 区、21% O<sub>2</sub> 区よりわずかに高く、培地ショ糖濃度 1.5% では 21% O<sub>2</sub> 区が一番高かったが、クロロフィル a/b 比ではともに 10% O<sub>2</sub> 区が高かった。1% O<sub>2</sub> 区の小植物体は見た目にも緑色度が薄かった。また、培地ショ糖濃度 1.5% のほうが 3% よりも総体的にクロロフィル含量が多く、クロロフィル a/b 比も培地ショ糖濃度 1.5% で 2.68～

2.80, 3% で 2.42～2.50 と培地ショ糖濃度 1.5% のほうが高かった (Fig. 5)。

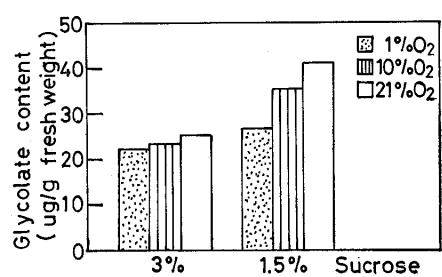
組織培養植物の光呼吸とクロロフィル含量に関する報告はあまり見当たらないが、自然条件下の植物において、坂<sup>20,21)</sup>らがイネ突然変異株を用いて調べたところ、クロロフィル含量は光合成および光呼吸の活性と相関関係がみられなかったと報告している。本実験結果からも光呼吸との関連において一定の傾向は認められなかった。しかし、培地ショ糖濃度 1.5% の小植物体のほうが 3% のものよりもクロロフィル含量およびクロロフィル a/b 比が総体的に高くなっていることは、低ショ糖濃度の培地で見かけの光合成速度が高くなつたことと同じ動向を示した。これは赤色光と青紫光をよく吸収するクロロフィル a の活性化が、低ショ糖濃度で培養した小植物体で促進されているのではないかと考えられる。

### 4) グリコール酸含量

光呼吸の主要基質であるグリコール酸含量は、培地ショ糖濃度 3% において 21% O<sub>2</sub> 区でわずかに高いものの、各 O<sub>2</sub> 区における大きな差はみられなかった。し



**Fig. 5.** Chlorophyll content of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 3 and 1.5% sucrose at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration for 6 days.



**Fig. 6.** Glycolate content of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 3 and 1.5% sucrose at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration for 6 days.

かし、培地ショ糖濃度 1.5% では 1% O<sub>2</sub> 区が 27.10, 10% O<sub>2</sub> 区で 35.40, 21% O<sub>2</sub> 区で 41.22  $\mu\text{g gfw}^{-1}$  と、21% O<sub>2</sub> 区でもっとも多く、各 O<sub>2</sub> 区における差は顕著に表れ、光呼吸の結果と一定の関係がみられた (Fig. 6)。また、培地ショ糖濃度 1.5% の小植物体のほうが 3% のものより全体的にグリコール酸含量が増大していたことは、光呼吸が 3% ショ糖濃度の培地でよりも 1.5% のほうが高かったという結果 (Table 2) を裏づけるものであった。これはタバコのカルスにおいて、ショ糖無添加の培地で培養したカルスのほうが、ショ糖を含む培地で培養したカルスよりも 2~3 倍の割合でグリコール酸含量が高かったという報告<sup>6)</sup>とも一致した。3% ショ糖濃度の培地で培養した小植物体のグリコール酸含量に差がほとんど見られなかったのは、組織培養植物の体内生理機構の影響が考えられる。3% ショ糖濃度の培地で培養されている小植物体は從属栄養的側面が強く、低 O<sub>2</sub> により光呼吸の抑制が行われたとしても、乾物重の増加が見られなかったことからも明らかなように、葉のカルビン回路およびグリコール酸回路など、光合成に関する代謝系が自然条件下の独立栄養植物と同じように働いていないと推定できる。その結果、葉の CO<sub>2</sub> 固定が低 O<sub>2</sub> で促進されたとしても、その後の光合成代謝系がよく働くことで、葉内 CO<sub>2</sub> 濃度<sup>22)</sup>が低 O<sub>2</sub> 区で高まった結果、グリコール酸の代謝が抑制され、グリコール酸の蓄積が行われたのではないかと思われる。

### 5) RuBPCase 活性

光呼吸が抑制され、光合成速度が促進されるならば、炭酸固定の Key 酵素である RuBPCase 活性も高まることが予測される。本実験では培地ショ糖濃度 3%, 1.5% のいずれにおいても低 O<sub>2</sub> 区で高い傾向がみられた。また、培地ショ糖濃度 1.5% で培養した小植物体のほうが、3% のものより低 O<sub>2</sub> 区で活性が著しく高く、ショ糖濃度 1.5% の 1% O<sub>2</sub> 区では 21% O<sub>2</sub> 区の

**Table 4.** RuBPCase activity of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 3 and 1.5% sucrose at 1, 10 and 21% O<sub>2</sub> concentration for 6 days.

Sucrose (%)	Treatment O <sub>2</sub> (%)	Activity $\mu\text{mol CO}_2/\text{hr/mg Chl}$
3	1	132.79
	10	125.90
	21	119.92
1.5	1	356.80
	10	210.58
	21	173.30

約 2 倍、また、ショ糖濃度 3% の 1% O<sub>2</sub> 区の約 2.7 倍であった (Table 4)。光呼吸が抑制された低 O<sub>2</sub> 区ほど RuBPCase 活性が高く、また、1.5% ショ糖濃度の培地で培養された小植物体のほうが、3% のものよりかなり高くなかったことは、本実験の見かけの光合成速度が低 O<sub>2</sub> 区、低ショ糖濃度の培地で高くなつたことと似た傾向を示した。さらに低ショ糖濃度の培地で活性が高かつたことは、通気しない組織培養カーネーションで培地ショ糖濃度 3% より 1.5% で活性が高かつた報告<sup>23)</sup>とも同じ傾向を示した。しかし、RuBPCase 活性と見かけの光合成速度の関係において、RuBPCase 活性と同様に、見かけの光合成速度をクロロフィル当たりで換算すると、培地ショ糖濃度 1.5% の場合の 10%, 21% O<sub>2</sub> 区の見かけの光合成速度は 3% ショ糖のものより低くなり、乾物重当たりの見かけの光合成速度と逆になるが、これは、1.5% ショ糖のほうが 3% より葉部乾物重が少なく、逆に、クロロフィル含量が多かったことに起因していると考えられる。

以上より、培養器内の O<sub>2</sub> 濃度を低下させることにより、C<sub>3</sub> 植物の培養小植物体の光呼吸を抑制して光合成を促進させることは可能であり、その際、小植物体の培地ショ糖濃度を下げて培養したほうがさらに効果が高まるといえよう。しかし、組織培養小植物体の培地に糖が入っていることは、小植物体の生育および生理機能に大きな影響を与えていることは明らかである。また、本実験では、暗呼吸について検討しなかったので、今後は、さらに長期間、低 O<sub>2</sub> 環境下で培養した場合、培地ショ糖濃度が生育にどのような影響をもたらすのか、暗呼吸の関係も含めて検討する必要があると思われる。

本研究を行うに当たり、千葉大学園芸学部の古在豊樹助教授、三位正洋助教授に材料の提供ならびにご助言頂き、心より感謝致します。

## 文 献

- Evers, P. W., 1982. Plant Tissue Culture, Proc. 5th Int. Cong. Plant Tissue and Cell Culture, p. 263-264.
- 古在豊樹, 岩波好恵, 富士原和宏, 1987. 植物組織培養, 4: 22-26.
- Lee, N., H. V. Wetzstein, H. E. Sommer, 1985. Plant Physiol., 78: 637-641.
- Dowens, R. W., J. D. Hesketh, 1968. Planta, 78: 79.
- Zelitch, I., 1978. Plant Physiol., 61: 236.
- Berynl, M. B., I. Zelitch, P. D. Beaudette, 1978. ibid., 61: 606-610.
- Neil, A. McHale, I. Zelitch, B. P. Richard,

1987. *ibid.*, **84**: 1055-1058.
- 8) Kennedy, R. A., 1976. *ibid.*, **58**: 573-575.
- 9) Corduan, G., 1970. *Planta (Berl.)*, **91**: 291-301.
- 10) Murashige, T., F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497.
- 11) 加藤 栄, 宮地重遠, 村田吉男(編), 1981. 光合成研究法 p. 13-27, 共立出版, 東京.
- 12) Arnon, D. I., 1949. *Plant Physiol.*, **24**: 1-15.
- 13) Zelitch, I., 1958. *J. Biol. Chem.*, **233**: 1299.
- 14) Calkins, V. P., 1948. *Anal. Chem.*, **15**: 762.
- 15) Makino, A., T. Mae, K. Ohira, 1983. *Plant Cell Physiol.*, **23**: 1169-1173.
- 16) Racker, E., 1962. *Method in Enzymology*, Vol. 5, p. 266-270. Academic Press, New York.
- 17) Shimada, N., F. Tanaka, T., Kozai, 1988. *Acta Hortic.*, **230**: 171-175.
- 18) Nevins, D. J. et al, 1970. *Crop Sci.*, **10**: 3.
- 19) Björkman, O. et al, 1969. *Carnegie Inst. Year Book.*, **67**: 477-496.
- 20) 坂 齊, 松中昭一, 1975. *日作紀*, **44**: 54-60.
- 21) 坂 齊, 1976. *日作紀*, **45** (別号2): 179-180.
- 22) Hogetsu, T., S. Miyachi, 1979. *ibid.*, **20**: 747-756.
- 23) 渡邊浩一郎, 渡邊幸雄, 嶋田典司, 1989. *植物組織培養*, **6**: 73-79.

### Summary

#### Effect of O<sub>2</sub> Concentrations on Photorespiration in *Chrysanthemum morifolium* Plantlets in Plant Tissue Culture

Fusako TANAKA, Yukio WATANABE and Noritsugu SHIMADA

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

*Chrysanthemum morifolium* plantlets (C<sub>3</sub>) and *Amaranthus mangostanus* plantlets (C<sub>4</sub>) in plant tissue culture were respectively exposed in the short-term to the moistened gas with 0.0366% CO<sub>2</sub> and either 1, 10 or 21% O<sub>2</sub> (the rest being N<sub>2</sub>). Net photosynthetic rate (NPR) increased as the decrease of O<sub>2</sub> concentrations in *Chrysanthemum* plantlets and not in *Amaranthus* plantlets. Photorespiration was found in *Chrysanthemum* plantlets. A longer exposure (6 days) to the same gas was tested in *Chrysanthemum* plantlets. Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase (RuBPCCase) activity of the plantlets increased in response to the enhancement of NPR in low O<sub>2</sub> concentration. The glycolate content of the plantlets increased with high rate of photorespiration in 21% O<sub>2</sub>. Low O<sub>2</sub> concentration did not affect dry weight of the plantlets, but raised dry/fresh weight ratio. NPR, RuBPCCase activity, chlorophyll and glycolate content were significantly higher in plantlets grown on medium with 1.5% sucrose than 3%. The repression of photorespiration by low O<sub>2</sub> concentration seems to be effective in C<sub>3</sub> plantlets on medium with low sucrose content.