

## 一般報文

# 光独立栄養培養および混合栄養培養したキク小植物体の見かけの光合成, 光呼吸および暗呼吸に及ぼす $O_2$ 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)

(1990 年 12 月 14 日受付)

(1991 年 1 月 21 日受理)

$C_3$  植物のキク (*Chrysanthemum morifolium* cv. Tenju) 小植物体を培地シヨ糖濃度 3% と 0% で, 30 日間, 5, 10, 15, 21%  $O_2$  下でそれぞれ培養した. 小植物体の見かけの光合成速度は, 低  $O_2$  ほど高く, 培地シヨ糖濃度 0% で 3% より高かったが, 光呼吸速度および暗呼吸速度は, 培地シヨ糖濃度 3% において高く, 光呼吸速度は 21%  $O_2$  区で最も高かった. 生育はシヨ糖濃度 0% の 10%  $O_2$  区において良好だった. クロロフィル含量, リブロース 1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ (以下, RuBPCase) 活性および量, 可溶性タンパク質量は, 培地シヨ糖濃度 0 および 3% で,  $O_2$  濃度の低下にともなって増加した. RuBPCase 活性および量は, 培地シヨ糖濃度 0% のほうで顕著に高く, 見かけの光合成速度の増加と同じ傾向を示した. 以上より, 培地にシヨ糖を含む混合栄養培養では, 光呼吸および暗呼吸が見かけの光合成速度の低下に大きく影響を与えており, 従って,  $O_2$  濃度の低下による小植物体の光呼吸の抑制は, 混合栄養培養より, シヨ糖を加えない光独立栄養培養のほうで効果が促進されたと思われる.

## 1. 緒 言

植物組織培養において, 培養容器内の小植物体は光合成能力を持たないか, あるいは低いと考えられてきた. 最近の研究で, 培養小植物体の低い光合成能力は, 培養容器内の  $CO_2$  濃度が光照射下, 大気中の  $CO_2$  濃度の 30~40% しかないことから生じることが明らかになった<sup>1)2)</sup>. そのため, 培養容器内の  $CO_2$  濃度や培養中の光強度を高めることにより, 小植物体の光合成を促進させることが可能となってきた<sup>3)4)</sup>. また, 培地にシヨ糖を加えないで培養したほうが, 光合成速度がさらに高まることが報告されている<sup>5)6)</sup>. ところで, 培養容器内の  $O_2$  濃度は, 大気とほぼ同じ 21% に保たれており,  $C_3$  植物の培養においては光呼吸による光合成速度の低下の可能性も無視できない. 組織培養植物の光呼吸と見かけの光合成に及ぼす  $O_2$  濃度の影響については今のところほとんど報告されていない. 前報<sup>7)</sup>において, キク小植物体を 6 日間, 1, 10, 21%  $O_2$  下で培養した時の小植物体

の光呼吸および見かけの光合成速度に及ぼす  $O_2$  濃度の影響について調べた. その結果, 培養小植物体は光呼吸を有することが認められ, 培地シヨ糖濃度 1.5% の小植物体で 3% のものより, 低  $O_2$  濃度において見かけの光合成速度が高くなったことが示唆された. そこで, 本研究では, キク (天寿) を用いて, 培養期間を 30 日間と前報よりも長くした時の小植物体の光呼吸について, 見かけの光合成速度, 暗呼吸速度, 生育, クロロフィル含量, RuBPCase 活性および量, そして可溶性タンパク質量などに対する  $O_2$  濃度の影響について, 培地にシヨ糖を含まない無糖培養, すなわち光独立栄養培養と, シヨ糖を 3% 含む混合栄養培養についてそれぞれ比較検討した. 前回では,  $O_2$  濃度, 1, 10, 21% について調べたが, 30 日間の培養では 1%  $O_2$  は小植物体に障害をもたらすことが考えられたため, 今回は,  $O_2$  濃度を 5, 10, 15, 21% の 4 段階にして検討を行なった.

## 2. 材料および方法

### (1) 供試材料, 培地および培養方法

供試小植物体としてキク (*Chrysanthemum morifolium* cv. Tenju) の培養小植物体の挿し芽を4週間毎に継代培養したものをを用いた。小植物体は、1本あたりの新鮮重が約90~110 mg、本葉4~5枚、莖長約15~20 mmの新芽を含む外植体で、ほぼ同じ生体重のものを実験用を供試した。

培地は増殖培地として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>8)</sup>)を用いた。培地のpHは5.7に調整した。増殖培養は10 mlの培地を含むガラス製平底試験管(直径25 mm×高さ120 mm)とプラスチックキャップを用いて行なった。実験に用いた培地は、培地ショ糖濃度0%および3% (w/v)の2区を設けた以外は、増殖培地と同じであった。実験開始時、外植体を1つの実験区に6本ずつ、125 mlの培地を含むプラスチック容器に移植した後直ちに、内容積1600 mlの特注ガラス製ジャー(池田理化学(株)製)に移し、それを実験に供した。培養条件は増殖用および実験用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 $60 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ とし、明期14時間、暗期10時間とした。また、培養室内の温度は明期約25°C、暗期約20°Cであった。

### (2) 実験区の設定

4種類の異なった $\text{O}_2$ 濃度、5%, 10%, 15%および21% ( $\text{CO}_2$ 濃度はすべて0.04%と一定にし、残りは $\text{N}_2$ )における見かけの光合成速度を測定するための実験区をそれぞれ培養室内に設置した。各実験区の $\text{O}_2$ 濃度は、空気、 $\text{N}_2$ および $\text{CO}_2$ の3本のガスボンベより混合ガス装置(GM-3A (株) 小島製作所)を用いてそれぞれ3種のガスを混合し、調整した。ジャー内に入るガスはすべて脱イオン水を通じて湿潤にし、メンブランフィルター(マイレクスGS0.22  $\mu\text{m}$ : (株) 日本ミリポア工業製)を通して除菌した。ガスの流量はマスフローメーターで調整し、それぞれ2  $\text{ml s}^{-1}$ であった。なお、暗期には各 $\text{O}_2$ 区すべて通常の空気を流した。

### (3) 見かけの光合成, 光呼吸および暗呼吸の測定

$\text{CO}_2$ の測定は開放系測定法に準じて行なった<sup>9)</sup>。各実験区のジャーの入口と出口の $\text{CO}_2$ 濃度を測定し、その $\text{CO}_2$ 濃度差とガスの流量から光合成速度を算出した。各ジャーの入口および出口の $\text{CO}_2$ ガスの採取は、ガスタイトシリンジ(伊藤製作所株式会社製MS-GAN 50)で行なった。 $\text{CO}_2$ 濃度の測定にはガスクロマトグ

ラフ(263-50型: (株) 日立製作所製)にクロマトデータ処理装置(D-2500型: (株) 日立製作所製)を接続して行なった。光呼吸速度は1%  $\text{O}_2$ 濃度における光合成速度( $p_i$ )と、5%, 10%, 15%および21%  $\text{O}_2$ 濃度におけるそれぞれの見かけの光合成速度( $p_s$ ), ( $p_{10}$ ), ( $p_{15}$ )および( $p_{21}$ )との差を、各 $\text{O}_2$ 濃度における光呼吸速度( $p_i - p_s$ ), ( $p_i - p_{10}$ ), ( $p_i - p_{15}$ ), ( $p_i - p_{21}$ )としてそれぞれ求めた。また、暗呼吸の測定は暗条件下に各ジャーを、それぞれの $\text{O}_2$ 濃度下に2時間置き、安定したことを確かめてから行なった。

### (4) 生育の測定

30日間培養した小植物体の地上部の新鮮重を測定し、1本当りの増重で表示した。

### (5) クロロフィル含量, RuBPCase 活性, RuBP-Case 量および可溶性タンパク質量の測定

実験終了後、各 $\text{O}_2$ 区の小植物体の葉部(約0.4~0.6 g)をそれぞれの測定に供した。クロロフィル含量はArnon<sup>10)</sup>の方法に、RuBPCase活性の測定はRacker<sup>11)</sup>の方法に準じて行なった。酵素活性は、クロロフィル1 mg、単位時間(hr)あたりに固定される $\text{CO}_2$ の $\mu\text{mol}$ で表した。また、RuBPCase量の定量は、活性を測定した粗酵素液について、Makino<sup>12)</sup>らの方法に準じてSDSポリアクリルアミド電気泳動を行ない、コマシーブリリアントブルーR-250による染色バンドの吸光度をデンスitomーター(デンスitomaster ケミックス-H: (株) アタゴ製)で測定した。標準タンパク質としては、牛血清アルブミンを用いた。可溶性タンパク質量の測定は、粗酵素液とCBB溶液の反応液の吸光度を測定することにより行なった。

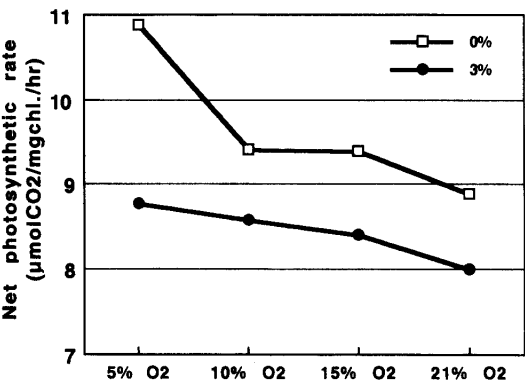
## 3. 結 果

培地ショ糖濃度0%および3%で30日間、5, 10, 15, 21%  $\text{O}_2$ 下で培養した小植物体のそれぞれの見かけの光合成速度は、培地ショ糖濃度0%において、5%  $\text{O}_2$ で高く、21%  $\text{O}_2$ で低かったが、培地ショ糖濃度3%では、 $\text{O}_2$ 濃度による顕著な差はみられなかった。また、培地ショ糖濃度0%で培養したほうが3%のものより、全 $\text{O}_2$ 区で高く、特に、5%  $\text{O}_2$ 区において差が大きかった(Fig. 1)。光呼吸速度および光合成に対する光呼吸の割合は、両ショ糖濃度の培地の小植物体において、ともに21%  $\text{O}_2$ 区で最も大きく、15%, 10%, 5%  $\text{O}_2$ の順に小さくなり、5%  $\text{O}_2$ 区は21%  $\text{O}_2$ 区の約1/3、10%  $\text{O}_2$ 区は21%  $\text{O}_2$ 区の約1/2であった(Table 1)。暗呼吸速度(マイナスで表示)は、培地ショ糖濃度のどちらにおいても $\text{O}_2$ 濃度による大きな差はみられなかったが、

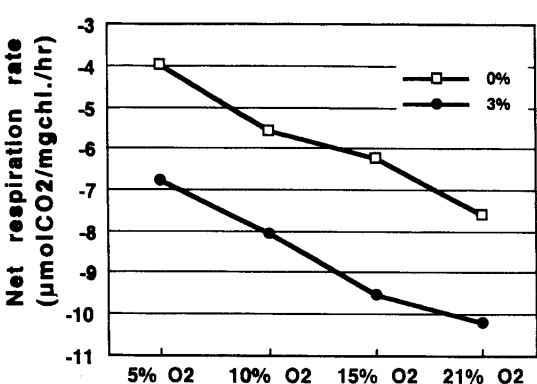
**Table 1.** Photorespiration rate of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0 and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days.

| Sucrose | P <sub>1</sub> -P <sub>5</sub> | P <sub>1</sub> -P <sub>10</sub> | P <sub>1</sub> -P <sub>15</sub> | P <sub>1</sub> -P <sub>21</sub> | (P <sub>1</sub> -P <sub>5</sub> )/P <sub>1</sub> | (P <sub>1</sub> -P <sub>10</sub> )/P <sub>1</sub> | (P <sub>1</sub> -P <sub>15</sub> )/P <sub>1</sub> | (P <sub>1</sub> -P <sub>21</sub> )/P <sub>1</sub> |
|---------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| %       | μmolCO <sub>2</sub> /mgChl./hr |                                 |                                 |                                 | %                                                |                                                   |                                                   |                                                   |
| 0       | 1.37                           | 2.07                            | 2.57                            | 4.47                            | 11.18                                            | 18.02                                             | 21.45                                             | 33.46                                             |
| 3       | 1.39                           | 2.38                            | 3.18                            | 5.00                            | 13.68                                            | 21.72                                             | 27.41                                             | 38.46                                             |

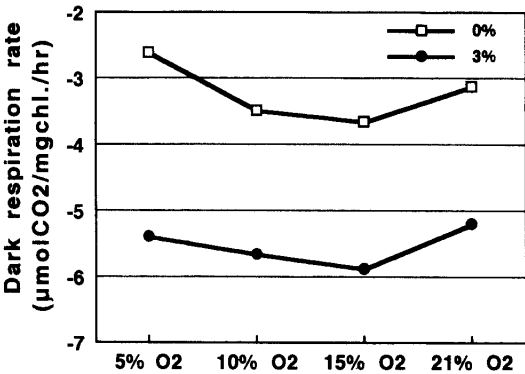
P<sub>1</sub>-P<sub>5</sub>, P<sub>1</sub>-P<sub>10</sub>, P<sub>1</sub>-P<sub>15</sub>, P<sub>1</sub>-P<sub>21</sub> : photorespiration rate at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations, respectively.  
(P<sub>1</sub>-P<sub>5</sub>)/P<sub>1</sub>, (P<sub>1</sub>-P<sub>10</sub>)/P<sub>1</sub>, (P<sub>1</sub>-P<sub>15</sub>)/P<sub>1</sub>, (P<sub>1</sub>-P<sub>21</sub>)/P<sub>1</sub> : photorespiration/photosynthesis ratio at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations, respectively.



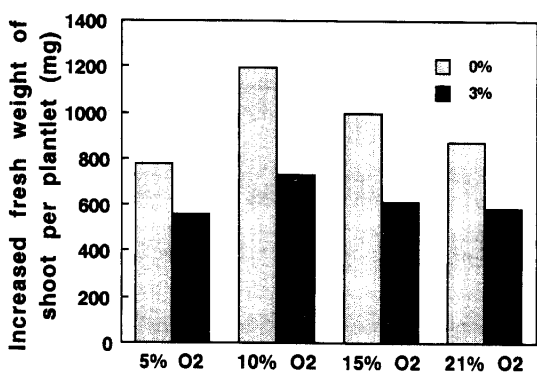
**Fig. 1** Net photosynthetic rate of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0% and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days.



**Fig. 3** Net respiration rate (photorespiration+ dark respiration) of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0% and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days.



**Fig. 2** Dark respiration rate of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0% and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days.



**Fig. 4** Increased fresh weight of shoot of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0% and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days. Means of 6 plantlets.

培地シヨ糖濃度3%の小植物体のほうが0%のものよりかなり大きく、各O<sub>2</sub>区で平均して約1.6~2.2倍大きかった (Fig. 2)。そこで、明期における呼吸をみるため、それぞれのO<sub>2</sub>濃度下で培養した小植物体の光呼吸速度と暗呼吸速度を足した値、見かけの呼吸速度（マイナスで表示）を Fig. 3 に示した。明期中に行なわれて

いる呼吸は、O<sub>2</sub>濃度が高くなるにつれ上昇し、それも培地シヨ糖濃度3%で0%より高くなることがわかった。

小植物体の1本当りの増重を Fig. 4 に示した。培地シヨ糖濃度0%および3%のいずれの小植物体におい

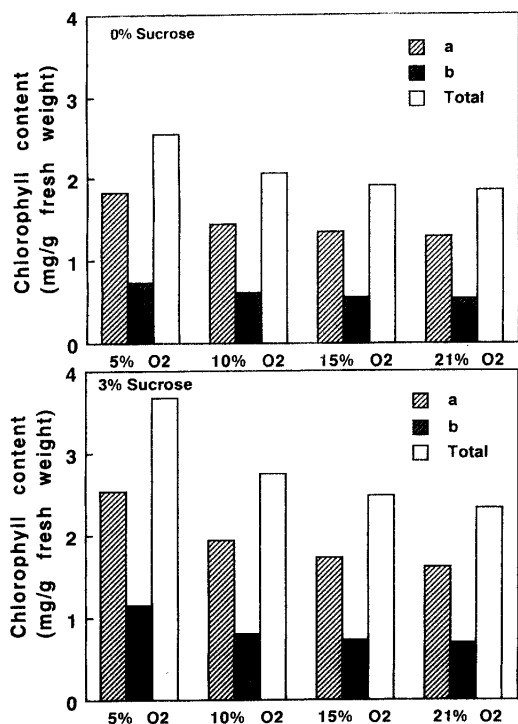


Fig. 5 Chlorophyll content of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0% and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days.

でも 10% O<sub>2</sub> 区で最も高く、15%、21%、5% O<sub>2</sub> 区の順に低くなる傾向を示し、特に、培地シヨ糖濃度 0% でその差は顕著であった。また、培地シヨ糖濃度 0% において 3% より、いずれの O<sub>2</sub> 区においても増重が大きく、シヨ糖濃度 0% の 10% O<sub>2</sub> 区では、3% の約 1.6 倍高かった。

クロロフィル含量は、培地シヨ糖濃度 0% および 3% のいずれにおいても、O<sub>2</sub> 濃度の低下に伴い、高くなる傾向を示したが、5% O<sub>2</sub> 区において顕著に高かった。また、培地シヨ糖濃度 3% で培養した小植物体のほうが 0% のものより、クロロフィル含量がすべての O<sub>2</sub> 区で高く、培地シヨ糖濃度 0% の小植物体に対して、5% O<sub>2</sub> 区では 1.44 倍、10% O<sub>2</sub> 区では 1.37 倍、15% O<sub>2</sub> 区では 1.31 倍、21% O<sub>2</sub> 区では 1.11 倍と、その割合は低 O<sub>2</sub> になるほど大きくなる傾向を示した (Fig. 5)。クロロフィル a/b 比では 5% O<sub>2</sub> 区において、培地シヨ糖濃度 0% で 2.51、3% で 2.20 とシヨ糖濃度 0% で高かったが、他の O<sub>2</sub> 区では 2.30~2.40 でほとんど差はみられなかった。

小植物体の RuBPCase 活性は、培地シヨ糖濃度 0%、3% のいずれにおいても、O<sub>2</sub> 濃度が低下するにしたが

い高くなり、また、培地シヨ糖濃度 0% で培養した小植物体のほうが 3% のものより 2 倍近く高かった (Fig. 6)。RuBPCase 量は、活性と同様に、両シヨ糖濃度の培地で、O<sub>2</sub> 濃度の低下につれ多くなる傾向がみられ、さらに、培地シヨ糖濃度 0% のほうで 3% よりも、5% O<sub>2</sub> 区以外の O<sub>2</sub> 区で約 2 倍以上多かった (Fig. 7)。可溶性タンパク質量は、培地シヨ糖濃度 0% および 3% のいずれにおいても、O<sub>2</sub> 濃度の低下に伴って高くなる傾向を示した。また、培地シヨ糖濃度 3% の小植物体で、0% より多くなり、その差は 5%、10% O<sub>2</sub> 区で大きくなり、15%、21% O<sub>2</sub> 区ではほとんど変わらなかった (Fig. 8)。

#### 4. 考 察

見かけの光合成速度は、培地に糖を加えないで光独立栄養培養させた小植物体で、糖を加えた混合栄養培養の小植物体より、5、10、15、21% O<sub>2</sub> 濃度下のいずれの区においても高く、さらに、O<sub>2</sub> 濃度が低くなるほど高くなった。培養小植物体の見かけの光合成速度と培地シヨ糖濃度の関係については、Evers らは、ダグラスモミの培養において<sup>13)</sup>、見かけの光合成速度はシヨ糖濃度が低いほど高かったことを、また古在らはジャガイモ<sup>5)</sup>や園試処方<sup>6)</sup>の培地を用いたカーネーション<sup>5)</sup>の培養において、シヨ糖濃度 2% よりも 0% で高かったことをそれぞれ報告している。本研究でも、これらと一致した結果が得られた。しかし、従来、行なわれている培養は、ほぼ 21% O<sub>2</sub> 濃度下で得られた結果であり、本実験のキク培養小植物体において、光呼吸が 21% O<sub>2</sub> 区で約 30~40% 近くあったことを考えると、低 O<sub>2</sub> にすれば、さらに、見かけの光合成速度が高まることは明らかである。また、培地シヨ糖濃度 0% の小植物体よりも 3% のほうで、光呼吸が高くなったことは、暗呼吸が培地シヨ糖濃度 3% で 0% より高くなったことと同じ傾向を示した。従って、明期における見かけの呼吸速度 (暗呼吸速度と光呼吸速度の和) は、シヨ糖濃度 3% においてさらに高くなった。見かけの光合成速度に対する見かけの呼吸速度の割合は、培地シヨ糖濃度 3% の 21% O<sub>2</sub> 区において約 1.3 倍、5% O<sub>2</sub> 区で約 0.8 倍、また、培地シヨ糖濃度 0% の 21% O<sub>2</sub> 区において約 0.8 倍、5% O<sub>2</sub> 区では、約 0.4 倍である。つまり、培地シヨ糖 3% の小植物体では、見かけの光合成で示された CO<sub>2</sub> の固定とほぼ同じぐらいの CO<sub>2</sub> を吐きだしており、21% O<sub>2</sub> 区ではそれ以上である。見かけの光合成速度と明期の見かけの呼吸速度の和、つまり真の光合成速度は、5%~21% O<sub>2</sub> 区の 3% シヨ糖濃度の培地の小植物体におい

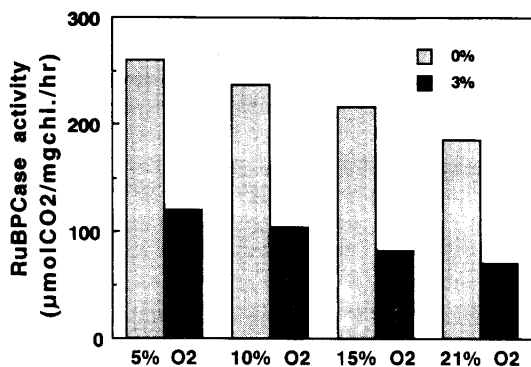


Fig. 6 RuBPCase activity of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0% and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days.

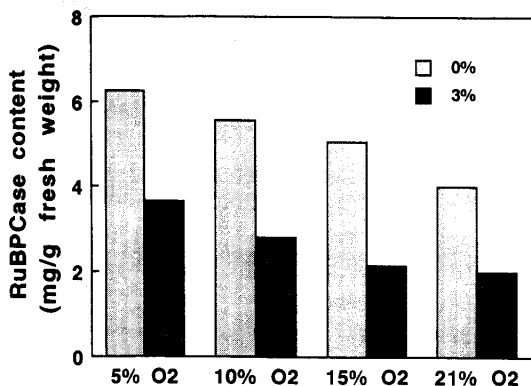


Fig. 7 RuBPCase content of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0% and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days.

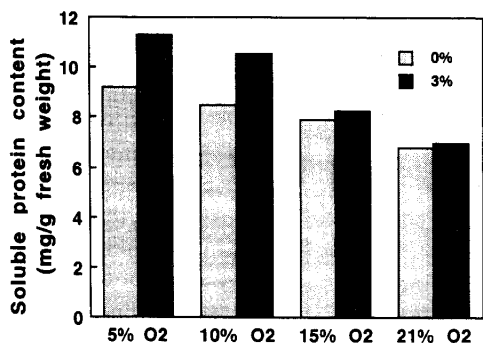


Fig. 8 Soluble protein content of *Chrysanthemum* plantlet *in vitro* on medium with 0% and 3% sucrose at 5, 10, 15 and 21% O<sub>2</sub> concentrations for 30 days.

て、約 16~18  $\mu\text{molCO}_2/\text{mgChl.}/\text{hr}$ , 0% ショ糖濃度の培地のもので約 15~16  $\mu\text{molCO}_2/\text{mgChl.}/\text{hr}$  と、3% ショ糖濃度の培地で培養した小植物体において高く、真の光合成に対する呼吸の消費率( % : 見かけの呼吸速度/ 真の光合成速度) をみると、5, 10, 15, 21 % O<sub>2</sub> 区において、培地ショ糖濃度 0% では、順に、約 27, 34, 40, 46%, また、3% では 44, 48, 53, 56% と 3% で大きく、さらに 21% O<sub>2</sub> 区で最も高く、低 O<sub>2</sub> で低くなる傾向を示した。つまり、培地中に糖が入っていると、光呼吸、および明期の呼吸(暗黒下での呼吸)の増加が促進され、固定した CO<sub>2</sub> の半分近くを吐きだしてしまい、見かけの光合成速度が 3% で 0% より低くなってしまうものと推察される。

また、小植物体の生育は、いずれの O<sub>2</sub> 区においても、培地ショ糖濃度 0% で 3% より、優っていた。これは、見かけの光合成速度が 0% で 3% より高くなったことと同じ傾向を示した。しかし、小植物体の生育に対する O<sub>2</sub> 濃度の影響に関しては、培地ショ糖濃度 0 および 3% のいずれの場合も、10%, 15%, 21% O<sub>2</sub> 区において見かけの光合成速度と同じ動向を示したにもかかわらず、5% O<sub>2</sub> 区で生育が劣っていた。5% O<sub>2</sub> 区で光呼吸が抑制されている割に生育量の増加が伴わなかったことは、光呼吸とは別に、低過ぎる O<sub>2</sub> 濃度が生育の低下に影響をもたらしていることが考えられ、乾物生産との関係を含め、さらに検討を要すると思われる。

クロロフィル含量については、前報<sup>7)</sup>において、培養 6 日目の小植物体の培地ショ糖濃度 3% と 1.5% において、1.5% で 3% よりも高く、また O<sub>2</sub> 濃度の影響について一定の傾向がみられなかったことを報告した。本研究では、培地ショ糖濃度 3% のほうが 0% よりもすべての O<sub>2</sub> 区において高く、さらに、低 O<sub>2</sub> になるほど高くなった。見かけの光合成速度が低かった培地ショ糖濃度 3% でクロロフィル含量が多くなったことは、培地ショ糖濃度 1~4% で培養したバラの小植物体において、光合成速度は 1% で最も高かったが、クロロフィル含量は 2% で高かったという報告<sup>14)</sup>と同様に、見かけの光合成速度とクロロフィル含量および培地ショ糖濃度との関係においては、明らかな傾向はみられなかった。しかし、O<sub>2</sub> 濃度の影響において、低 O<sub>2</sub> になるほどクロロフィル含量が高くなったことは、光呼吸の抑制が促進された低 O<sub>2</sub> で見かけの光合成速度が高くなったことと一致した。光合成細菌の非イオウ細菌で、環境の O<sub>2</sub> 濃度が 3~5% に低下すると、活発なバクテリオクロフィルの生成が起こる<sup>15)16)</sup>ということが報告されているが、培養小植物体でも同じ傾向が示されており、興味深

いことである。

次に、 $O_2$  濃度による光呼吸の抑制と RuBPCase タンパク質量および可溶性タンパク質量の関係について検討を行なった。栽培植物のイネ<sup>17)18)</sup>や小麦<sup>19)</sup>などで、見かけの光合成速度と RuBPCase 活性およびその量との間に正の相関関係があると報告されている。本研究の RuBPCase 活性および量は、培地ショ糖濃度 0 および 3% の両方において、 $O_2$  濃度の低下に従い高くなり、また、培地にショ糖を加えないで培養した小植物体で高くなった。これは、見かけの光合成速度が、培地ショ糖 0% のほうで低  $O_2$  になるほど高くなった結果と一致した。前報<sup>7)</sup>で、培地ショ糖濃度 1.5% で 3% より、さらに、低  $O_2$  において活性が高かったことを報告した。また、30 日間通気したスパティフィラム培養小植物体で、培地ショ糖濃度 0% において 3% よりも活性および量が高かったという報告<sup>20)</sup>があるが、それらの結果と同じであった。さて、本研究において、低  $O_2$  で RuBPCase 活性および量が高くなったが、これは、イネで光呼吸が光合成速度と同様に、普通大気下、RuBPCase 量により支配されることが示唆されていることから<sup>18)</sup>、光呼吸の抑制により、RuBPCase の炭酸固定能力が増加し、その結果、RuBPCase の再生産能力が高まったことが考えられる。可溶性タンパク質量は、RuBPCase 量との関係において、培地ショ糖濃度 3% のほうで 0% より高くなり、RuBPCase 量と同じ動向を示さなかった。栽培植物のイネで、RuBPCase 量が可溶性タンパク質量の約半分近くを占めると報告<sup>21)</sup>されている。本研究において、培地ショ糖濃度 0% の小植物体では、5%~21%  $O_2$  間で RuBPCase 量は可溶性タンパク質量の約 50~65% を占めたが、ショ糖濃度 3% ではかなり低く、約 30~40% であった。培地ショ糖 3% の小植物体では、光呼吸が高く、見かけの光合成速度が低く、RuBPCase 活性および量も減少し、その結果においては一定の傾向がみられるが、逆に、可溶性タンパク質量が高かった割に、RuBPCase 量が低すぎることは、何が原因として作用しているのか、いわゆる自然条件下で栽培されている植物と培養植物の違いによるものなのか、種間差によるものなのか、あるいは、培地中に含まれているショ糖によるものなのかは明らかではない。しかし、RuBPCase 量以外の可溶性タンパク質がかなり存在していることが考えられ、クロロフィル含量が培地ショ糖

濃度 3% の小植物体で高かったことを考え合わせると、クロロフィルタンパクとの関連の可能性もあり、さらに検討を要するであろう。

以上より、組織培養小植物体において、混合栄養培養より、培地にショ糖を加えない無糖培養、すなわち光独立栄養培養のほうが、 $O_2$  濃度による光呼吸の抑制を高め、さらに暗呼吸を含めた全呼吸の低下を促進させるものと考えられる。

## 文 献

- 1) Kozai, T., H. Oki., K. Fujiwara, 1990. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **22**: 205-211.
- 2) Solarova, J, 1989. *Photosynthetica.*, **23**: 100-107.
- 3) 古在豊樹, 岩波好恵, 富士原和宏, 1987. 植物組織培養, **4**: 22-26.
- 4) Lee, N., H. V. Wetzstein, H. E. Sommer, 1985. *Plant Physiol.*, **78**: 637-641.
- 5) 古在豊樹, 久保田智恵利, 渡部一郎, 1990. 生物環境調節, **28**(1): 21-27.
- 6) Kozai T, Y. Koyama, I. Watanabe, 1988. *Acta Hort.*, **230**: 121-127.
- 7) 田中布佐子, 渡邊幸雄, 嶋田典司, 1990. 植物組織培養, **7**(2): 85-91.
- 8) Murashige, T., F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497.
- 9) 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.
- 10) Arnon, D. I., 1949. *Plant Physiol.*, **24**: 1-15.
- 11) Racker, E., 1962. *Method in Enzymology*, Vol. 5, p. 266-270. Academic Press, New York.
- 12) Makino, A., T. Mae, K. Ohira, 1986. *Agric. Biol. Chem.*, **50**: 1911-1912.
- 13) Evers, P. W., 1982. *Plant Tissue Culture*, 1982. *Proceeding 5th International Congress Plant Tissue and Cell Culture*, p. 263-264.
- 14) Langford, P. J, Wainwright, 1987. *Ann. Bot.*, **60**: 633-640.
- 15) Higuchi, M., K. Goto, M. Fujimoto, O. Namiki, G. Kikuchi, 1965. *Biochim. Biophys. Acta.*, **95**: 94-110.
- 16) Cohen, G., W. Sistrom, R. Stainer, 1957. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **49**: 25.
- 17) Makino, A., T. Mae, K. Ohira, 1985. *Planta*, **66**: 414-420.
- 18) Makino, A., T. Mae, K. Ohira, 1984. *Plant, Cell, Physiol.*, **25**: 511-521.
- 19) Evans, J. R., 1986. *Planta*, **167**: 351-358.
- 20) 渡邊浩一郎, 渡邊幸雄, 嶋田典司, 1990. 植物組織培養, **7**(2): 74-79.
- 21) Makino, A., T. Mae, K. Ohira, 1984. *Plant, Cell, Physiol.*, **25**: 429-437.

## Summary

### Effect of O<sub>2</sub> Concentrations on Photorespiration in *Chrysanthemum morifolium* Plantlets *in vitro* Cultured Photoautotrophically and Photomixotrophically

Fusako TANAKA, Yukio WATANABE and Noritsugu SHIMADA

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

*Chrysanthemum morifolium* plantlets (C<sub>3</sub>) were cultured on 1/2 MS with 3% sucrose and without sucrose in vessels under moistened gas with 0.04% CO<sub>2</sub> and either 5, 10, 15 or 21% O<sub>2</sub> (the rest being N<sub>2</sub>) for 30 days. The net photosynthetic rate (NPR) increased and the photorespiration rate decreased with the decrease of O<sub>2</sub> concentrations, especially, on the medium without sucrose. Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase (RuBPCase) activity and content, chlorophyll content and soluble protein content of the plantlets increased in response to the enhancement of NPR in low O<sub>2</sub> concentrations. RuBPCase activity and content and NPR were significantly higher in plantlets grown on the medium without sucrose than on the 3% medium, but chlorophyll and soluble protein content were not higher. Photorespiration and dark respiration increased in plantlets on the medium with 3% sucrose. The results indicate that the repression of photorespiration at low O<sub>2</sub> concentrations would promote photosynthesis in C<sub>3</sub> plantlets *in vitro* cultured photoautotrophically.