

保全生態学実験 光合成の測定

赤外線CO₂分析計を用いて、切り枝/切り葉の光合成を測定し、光-光合成曲線を完成させる。測定原理・機器の操作などを理解することも目的。確実に測定すべき値は、暗呼吸速度、補償点、飽和光合成速度、光飽和点である。この実験では、温度や湿度の制御を省略するが、これらが極端に変動しないように注意して実験を行う。

●測定の基本原理

葉を閉じこめたチャンバに一定流量の空気を流し、流入する空気のCO₂濃度とチャンバを通過して出てきた空気のCO₂濃度の差を測定して単位葉面積あたりの光合成速度を算出する。以下に考え方を示す（この部分を理解すること。測定されたCO₂濃度差から逆にたどって光合成速度を算出せよ）。

葉面積 S (m²)

単位面積あたりのCO₂放出速度 P (μmol/m²/s)

(光合成速度として一般的に使われる単位)

単位時間当たりのCO₂放出速度は

$S \times P$ (μmol/s)

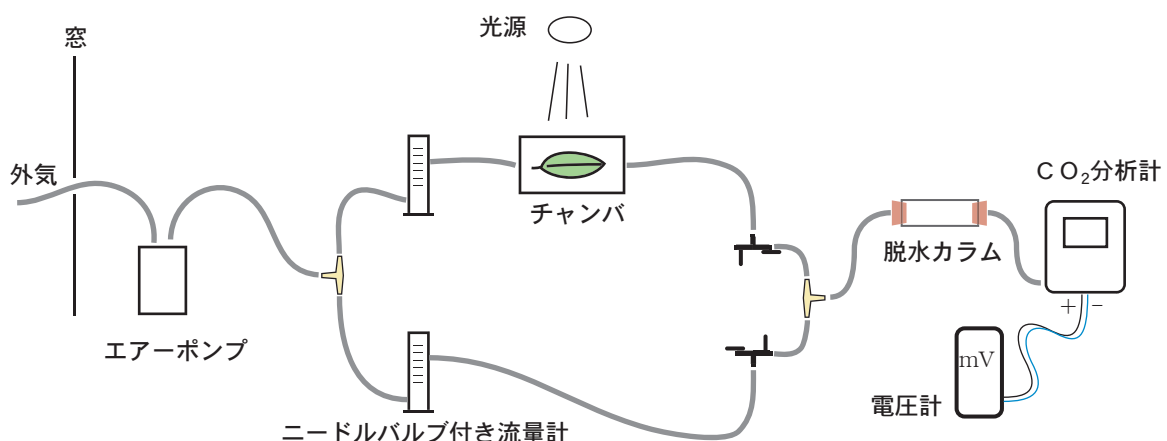
標準状態での気体の体積は1モル22.4lなので、単位時間に放出されるCO₂の体積は

$S \times P$ (μmol/s) × 22.4 (l/mol) = $S \times P \times 10^{-6} \times 22.4$ (l/s)

流量 L (l/s) (流量計の表示はl/minなので換算すること) とすると、流入する空気中に放出(追加)されたCO₂の濃度は

$S \times P \times 10^{-6} \times 22.4$ (l/s) / L (l/s) = $S \times P \times 22.4 / L$ (ppmV)

で、これが検出される流入側と流出側との濃度差 (ppmV) となる。



☆チャンバの設定

チャンバとは、光合成を測定する時に葉を閉じこめる透明容器で、さまざまな形態のものが存在するが、今回はごく簡便なチャンバとしてビニール袋を用いる。

チャンバ内に閉じこめる葉は、この実験では切り枝（小さい葉の場合）ないしは一枚の葉（大きい葉の場合）とし、水揚げができるようにマイクロチューブに穴を空けて水を満たした中に枝／葉柄を差し込んでからチャンバに入れる。

チャンバには流入、流出の2本のストローを入れて、空気の漏れの無いようにふさぎ、流入気が十分に葉面を流れるように調整する。また、チャンバは完全に密閉せず、若干の空気の漏れがあるようにする（測定時に袋がふくらんだ状態を維持する）。これは、流入側の圧を若干高めにしてチャンバ内を常に正圧に保つことで、呼気によってCO₂濃度が高い室内の空気が混入するのを防ぐためである。

☆チャンバ内に入れる葉の大きさと空気の流量はどうすればよいのか？

葉が小さくて空気の流量が大きいと、流入側と流出側のCO₂濃度変化が小さくて分析計での検出が困難になる。逆に、葉が大きくて流量が小さいと濃度変化は大きくて検出しやすいが、チャンバ内のCO₂濃度が下がり過ぎて、CO₂濃度が光合成の律速になってしまう（チャンバ内の空気が分析計に到達するまでの時間も余分にかかる）。このため、適切な葉の大きさと流量を決める必要がある。一般的に最大光合成速度（CO₂放出）は草本では20～30 μmol・m⁻²・s⁻¹、木本では10 μmol・m⁻²・s⁻¹程度であることが知られている。10 μmol・m⁻²・s⁻¹とすると、10cm²の葉を入れて0.5 l/minの流量で測定すると、20ppm相当の濃度になるため、分析計の精度を考えるとこの程度が適当である（実際に測定しながら適切な条件を決める）。

☆チャンバに導入する空気

ちゃんとした測定をする場合には、CO₂濃度と湿度、温度を制御した空気を使うが、今回は外気（室内の空気に汚染されないように注意）をそのまま用いる。簡便に安定した空気を供給する方法として、大型のバルーンにためた空気を用いる方法もあるが、バルーン内の空気が少なくなるとCO₂濃度が上昇する傾向があるので、やめた。外気のCO₂濃度の変動はこまめに外気CO₂を測定することで乗り切る。

☆葉面積の測定

光合成速度は通常面積当たりの値として算出するため、葉面積の測定が必要である。光合成測定を終えてチャンバから出した葉は丸まらないようにノートなどにはさんでおき、後でまとめてスキャナで画像として取り込み、画像計測のできるソフトで計測。

☆光強度の調整

光強度は、光源とチャンバとの距離を変えることにより調整する。光強度はPPFDセンサの出力（電圧）を測定し、後でPPFDに換算する。

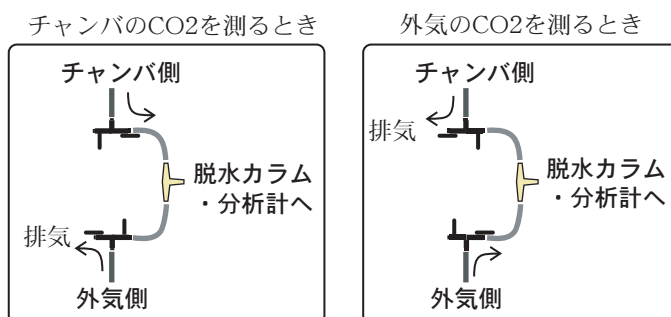
☆CO₂濃度、光強度の換算

CO₂濃度：キャリブレーションの図を用いる（最終ページ）

光強度： 0～3000 μmol m⁻² s⁻¹ が 0～10mV の出力に対応（直線関係）

●計測の準備

- ・あらかじめ外気を取り込んだチューブを脱水カラムを介してCO₂分析計につないで分析計を数時間稼働させておく。通常分析機器は安定するまでに時間がかかるため。
- ・1ページ目の図のようにビニールチューブで機器を接続する。その際に高濃度のCO₂を含む室内の空気をできるだけ分析計に入れないように注意する。
-
- ・2つの三叉コックはチャンバを通らない側（外気側）の空気が脱水カラムに通るように設定しておく。チャンバ側は排気するようにセットする。



・葉を取りに行く。この間に外気の測定値が安定する。使用する葉は一枚の葉または複数の葉のついた茎が18cm×12cmのチャンバにちょうど収まる程度のものがよい。但し、小さく採るとしおれやすいので採取するときは茎ごと大きめに取ってくる。植物の種類は何でも良い。木本と草本、陰葉と陽葉、葉齢の異なる葉（常緑樹の場合）等、いろいろ比較してみましょう（各班で2種以上やること）。

・採ってきた葉を葉柄の部分で切って、水揚げができるように水を満たしたマイクロチューブにさし、チャンバに入れる。しわが寄ったり重なったりしないように注意する。チャンバのチャックは確実に閉じること。この状態でしばらくおくと、室内の空気を混入したチャンバの空気が排出される。また、ここでチャンバ（ビニール袋）がふくらむことを確認する。

・チャンバと光源との距離を変えられるようにして台にセットする。最初は暗呼吸を測るので、光を当てないようにしておく。

・流量計でチャンバに流入する流量が0.5l/minになるように調整する。外気側の流量計は大体0.5程度ならばok。

●計測

- ・ CO2 濃度は分析計からの電圧出力 (mV) として計測する。
- ・ 秒まで読みとりやすい時計を使って、30 秒おきに電圧を記録用紙に記録する。
- ・ 記録用紙には光の強さ (今回は光源との距離を記録しておく) と、チャンバ側か外気側かがわかるように記入する。

・ まず外気から記録し始める 安定すれば ok

・ 次にコックをチャンバ側に切り替えて暗呼吸速度を測定

☆チャンバ、外気側とも分析計へ導入しない側も空気の流れを止めずに排気しておくこと!

・ この時点で光源はスイッチを入れて光らせておく (光量が安定するまで時間がかかるため)。但し、チャンバに光を当てないこと

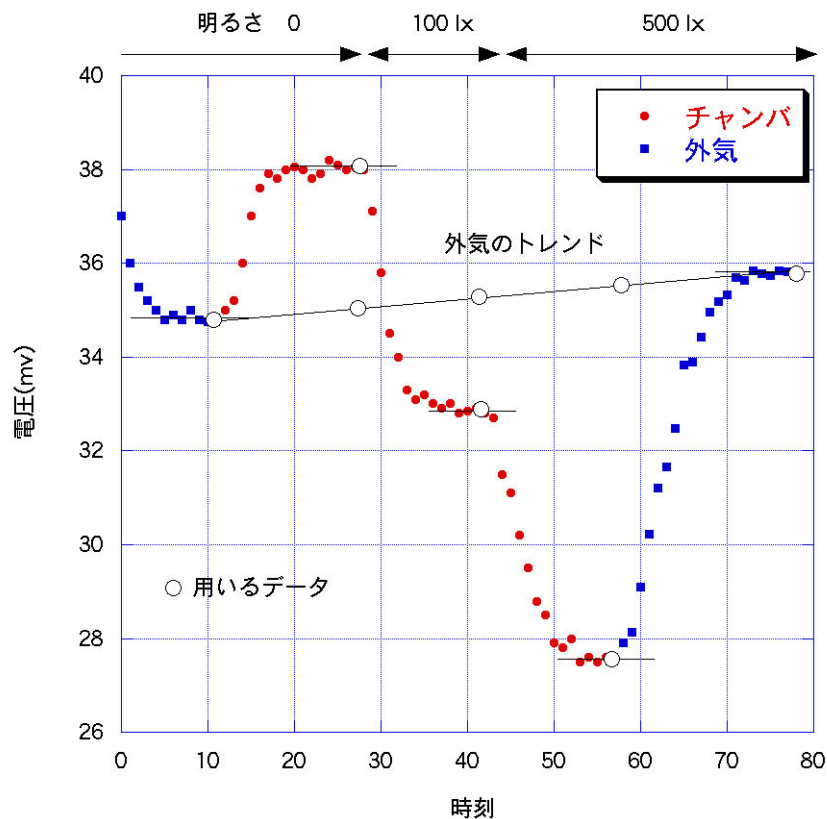
・ 暗呼吸が安定したら光を当てる。初めは弱い光から (光源との距離 2 m 程度)

・ この作業を繰り返しながら、光を強くしていく

・ 光強度を変える作業数回おきに外気の測定を挟む

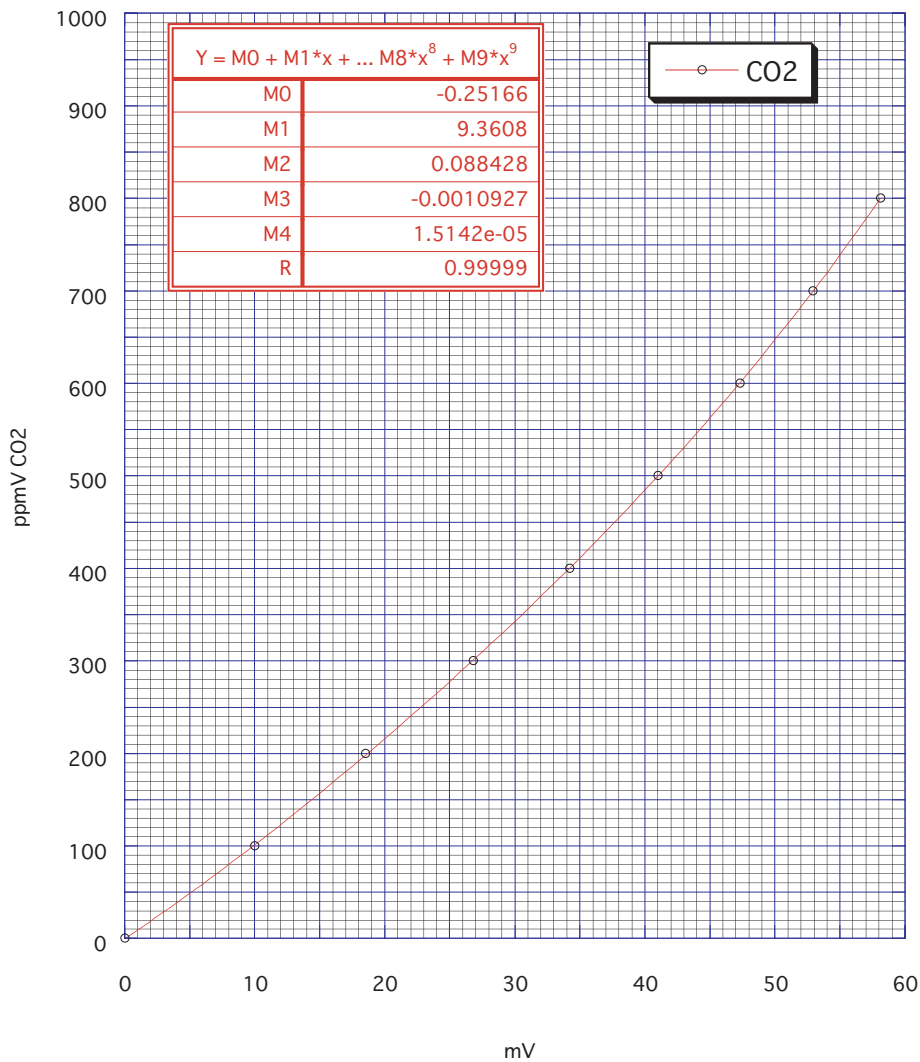
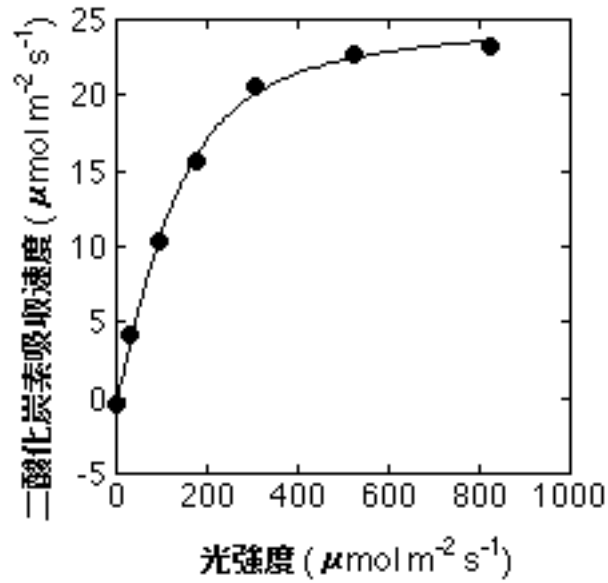
・ 時系列に沿った計測データを下図のように図示し、図の中にコメントを記入する。

この図をもとに、各光条件下での標準 CO2 濃度 (に対応する出力電圧) を決める。



● CO2 吸収（放出）速度の決定

上記の標準 CO2 濃度と前後の外気 CO2 濃度の差から、各光条件下での吸収速度を求めて、下図のような光 - 光合成曲線を完成させる。



分析計の出力電圧 - CO2 濃度 関係