

低酸素環境下における葉菜類の生育および  
光合成特性に関する研究

**Study on growth and photosynthetic characteristic of leaf  
vegetables under hypoxia conditions**

学位論文  
Doctoral Thesis

河崎 俊一郎  
**Shun-Ichiro Kawasaki**

鹿児島大学大学院連合農学研究科  
**The United Graduate School of Agricultural Science**  
**Kagoshima University**

March 2016

# 目次

第1章 緒言	3
第2章 酸素濃度・二酸化炭素濃度同時制御チャンバーの開発およびその性能評価	
2.1. はじめに	8
2.2. チャンバーの構造	8
2.3. 各種環境制御の性能評価	14
第3章 栽培環境における酸素濃度が葉菜類の生育および光合成特性に与える影響	
第1節 低酸素かつ高二酸化炭素濃度がハウレンソウ，レッドリーフレタスの生育および光合成特性に与える影響	
3.1.1. はじめに	21
3.1.2. 材料および方法	21
3.1.3. 結果	25
3.1.4. 考察	35
第2節 明期の異なる酸素濃度がレッドリーフレタスの生育，光合成特性および成分含有量に与える影響	
3.2.1. はじめに	40
3.2.2. 材料および方法	40
3.2.3. 結果	44
3.2.4. 考察	56
第3節 レッドリーフレタスの生育およびポリフェノール類蓄積に与える低酸素処理期間の影響	



3.3.1. はじめに	61
3.3.2. 材料および方法	61
3.3.3. 結果	64
3.3.4. 考察	69
第4章 栽培環境における酸素濃度と光環境が葉菜類の生育および光合成特性に与える影響	
第1節 異なる酸素濃度および光強度がレッドリーフレタスの生育, 光合成特性, ポリフェノール類蓄積に与える影響	
4.1.1. はじめに	71
4.1.2. 材料および方法	71
4.1.3. 結果	75
4.1.4. 考察	86
第2節 異なる酸素濃度および光質がレッドリーフレタスの生育, 光合成特性およびポリフェノール類蓄積に与える影響	
4.2.1. はじめに	90
4.2.2. 材料および方法	90
4.2.3. 結果	94
4.2.4. 考察	102
第5章 総合考察	106
引用文献	118
謝辞	123
摘要	124
Summary	126
図表リスト	128

## 第 1 章 緒 言

酸素（以下、 $O_2$ ）は二酸化炭素（以下、 $CO_2$ ）と同様に植物の行う光合成，光呼吸，呼吸と密接に関わる環境要素である．光呼吸とは，光合成反応の一過程であり，リブローズ-1,5-二リン酸 カルボキシラーゼ／オキシゲナーゼ（以下，Rubisco）のオキシゲネーション（ $O_2$  添加）反応を起点とする代謝系である．1920 年代から気相の  $O_2$  濃度を上げると，呼吸は変化しないが光合成が阻害される現象（Warburg 効果）が観察されていた．1950 年代になると，タバコを用いた詳細な実験により，呼吸とは異なる光照射中の  $CO_2$  放出が行われていることが示された（Decker, 1955, 1957, 1959; Decker and Wien, 1958）．この反応は，呼吸（Respiration）とは異なる光照射時の特異的な  $CO_2$  放出であることから，光呼吸（Photorespiration）と呼ばれているが，呼吸とは全く異なる反応であるため，光呼吸ではなく「酸化的  $C_2$  サイクル」と呼ぶべきであるとの意見もある（Tolbert, 1997）．しかし，本論文では光呼吸という名前に統一する．

一般的に光合成と言われる  $CO_2$  を吸収し炭水化物を生産する反応は，Rubisco のカルボキシレーション反応による過程を指す（図 1-1）．この過程では，リブローズ-1,5-二リン酸を基質に  $CO_2$  が固定され，カルビン回路の初期産物である 3-ホスホグリセリン酸を生産し，さらに炭素還元反応により炭水化物を生産する．しかし同時に，Rubisco はオキシゲネーション反応（光呼吸反応）を行っており，特に被子植物ではカルボキシレーション反応とオキシゲネーション反応の反応速度比は 3 : 1 程度と，比較的高い割合でオキシゲネーション反応が行われていることが知られている（Taiz and Zeiger, 2004）．

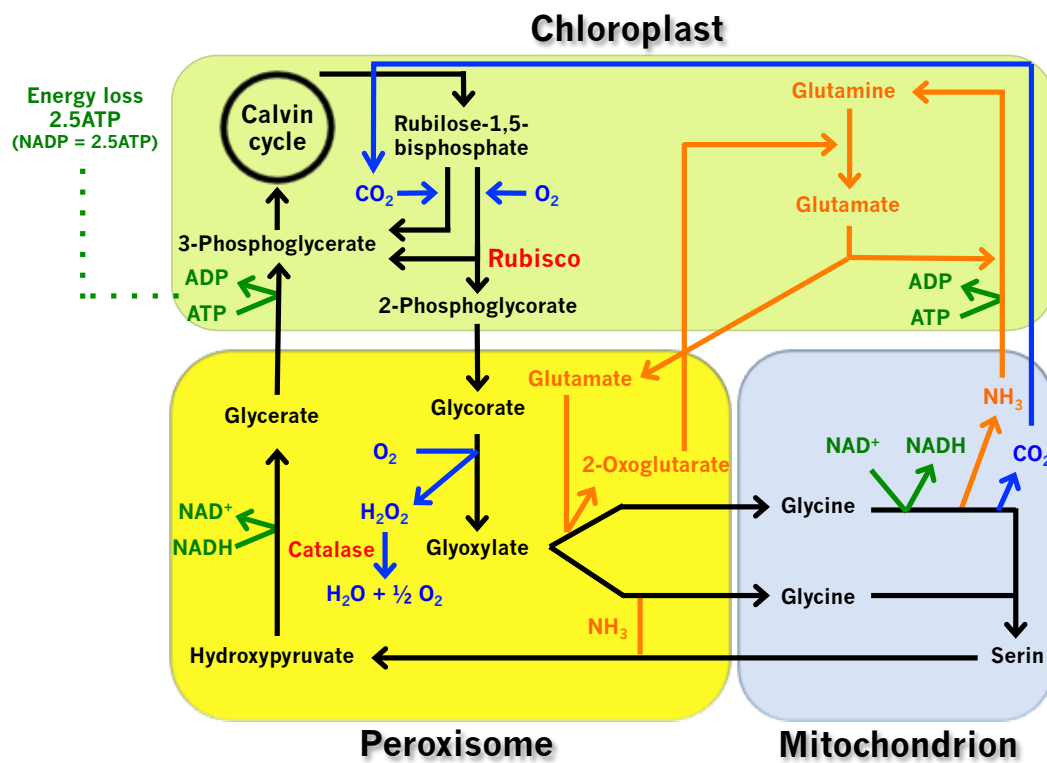


図 1-1. 光呼吸回路の主要反応.

光呼吸の過程では、Rubisco のオキシゲネーション反応によりリブローズ-1,5-二リン酸を基質に  $O_2$  が固定され、2-ホスホグリコール酸の生産、最終的にはホスホグリセリン酸が生産される。しかしながら、この過程で光合成により固定された炭素を  $CO_2$  として放出するとともに、ATP や NADH といったエネルギーを消費することから、光合成の効率を低下させる一因となっている。そのため、光呼吸を抑制するような環境、例えば低  $O_2$  や高  $CO_2$  環境下での光合成研究が古くから行われてきた。Forrester et al. (1966) は短期的な低  $O_2$  処理実験により 1% $O_2$  環境下では光呼吸が抑制され、光合成速度が高まることを明らかにしている。また、Quebedeaux and Hardy (1975) は長期間 5% $O_2$  環境下で栽培を行うと、 $C_3$  植物では乾物重が増加することを示した。また近年の研究では、低  $O_2$  分圧化ではレッドリーフレタスのアントシアニンの増加が報告されており (Rajapakse et al., 2009)、 $O_2$  濃度制御により機能性成分を増加させられる可能性が示唆された。

このように、低  $O_2$  処理によるポジティブな効果が示されている一方で、ネガティブな効果も報告されている。例えば、Quebedeaux and Hardy (1975) は同じ長期間 5% $O_2$  環境下での栽培実験により、ダイズでは子実収量が減少する結果を示している。また、複数の研究者が長期間低  $O_2$  環境下で栽培を行うと、葉面積展開が抑制されることを指摘している (福山ら, 1974ab, 1975; 武田ら, 1978; Iwabuchi et al., 1996)。さらに、低  $O_2$  環境は当然呼吸に影響を与えることから、暗期の呼吸には影響を与えない明期のみの低  $O_2$  処理実験が行われたが、やはり葉面積展開が低下することが報告されている (武田ら, 1978)。また秋田 (1980) はイネ科を中心とした複数の作物に対する短期的～長期的な  $O_2$  濃度処理が作物

の光合成、光呼吸、呼吸、気孔開度、生育・収量に与える影響を詳細に研究し、無  $O_2$  環境下では気孔が開かず光合成速度が低下することなどを明らかにした。

以上のように、短期間～長期間にわたる低  $O_2$  処理の結果が報告されているが、短期的な処理実験に比べ、長期的な処理実験の報告は十分ではない現状にある。その要因として、光呼吸の抑制であれば高  $CO_2$  処理の方がより簡便で安全に行える点や、農学分野においては低  $O_2$  処理技術の生産現場での応用が現実的でない点などが挙げられるであろう。しかし、近年では地球外施設（例えば、スペースステーション）での植物栽培も現実味を帯びてきており、その研究が活発に行われている（Corey et al., 1996 ; Iwabuchi et al., 1996 ; He et al., 2007 ; Rajapakse et al., 2009）。地球外の環境においては、 $O_2$  濃度が地球上に比べ低いため、その制御が必須であり  $O_2$  濃度に対する植物の反応を詳細に知る必要がある。

さらに、日本を初めとした韓国、台湾、中国などのアジア諸国を中心に、施設内で環境を制御し、安定的かつ高収量の野菜生産が可能な植物工場に注目が集まっている。植物工場とは「植物の生育環境を制御して栽培を行う園芸施設のうち、環境および生育のモニタリングを基礎として、高度な環境制御と生育予測を行うことにより、野菜等の植物の周年・計画生産が可能な栽培施設」を言う（農商工連携研究会, 2009）。要するに、栽培環境を野菜の生育に最適な環境に制御することにより、年間を通じて安定的な生産を行うことのできる栽培施設のことであり、施設外の環境に依存することなく栽培が行えるため、厳しい気候環境の地域においても野菜の栽培が可能となる。

完全閉鎖型と呼ばれる植物工場においては、一般的に光強度や光質、大気や養液の温度、湿度や  $CO_2$  濃度がコンピュータ制御により自動で調節可能となっ

ている．現在，完全閉鎖型植物工場では高  $\text{CO}_2$  環境（約  $1,000 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ）での栽培が多くなされており，これは光合成速度を高め生育期間短縮および収量増加を目的としたものである（古在，2012）． $\text{CO}_2$  濃度に限らず，環境を対照植物に合わせて変えることにより，収量の増加や栽培期間の短縮化，または機能性成分の付加などが見込めることから，環境要因と野菜の生育との関係を詳細に理解する必要がある．また，完全閉鎖型の施設であれば，安全を確保した上での  $\text{O}_2$  濃度の制御も可能である．このことから，これまで着目されてこなかった閉鎖環境下での  $\text{O}_2$  濃度と野菜の生育，光合成特性等の関係性を理解することが重要であると考えている．

以上のように，光呼吸や  $\text{O}_2$  濃度制御の実験は多く行われてきたが，未だに光呼吸の役割については明らかでなく，さらに葉菜類を用いた  $\text{O}_2$  濃度制御の知見は少ない現状にある．また，植物工場や地球外施設での研究の発展に伴い，これまで以上に各種の環境要因と植物の反応について理解する必要がある．そこで本研究では，完全閉鎖型の植物工場をモデルとした特殊なグロースチャンバーを開発し，長期的な（日～週単位）低  $\text{O}_2$  処理が植物工場で一般的に栽培されている葉菜類の生育，光合成特性および機能性成分蓄積に与える影響を明らかにすることを目的とした．さらに， $\text{O}_2$  濃度と他の環境要因（ $\text{CO}_2$  と光環境）の及ぼす影響についても考察を行った．

## 第2章 酸素濃度・二酸化炭素濃度同時制御チャンバーの開発およびその性能

### 2.1. はじめに

本研究で長期の低  $O_2$  処理を安定的かつ安全に行うためには、特殊なグロースチャンバーが不可欠である。そこで、完全閉鎖型植物工場をモデルとした  $O_2$  濃度と  $CO_2$  濃度を同時に制御可能なグロースチャンバー(以下, 低  $O_2$  チャンバー)を開発し、その環境制御性能の評価を行った。

### 2.2. チャンバーの構造

図 2-1 に  $O_2$  濃度および  $CO_2$  濃度制御による長期間の栽培実験を行うために開発した低  $O_2$  チャンバー (Espec Mic) と、下記で説明する窒素 ( $N_2$ ) ガス発生装置の外観写真を示す。また、図 2-2 に低  $O_2$  チャンバーのシステム図を示す。低  $O_2$  チャンバーには  $O_2$  濃度を自由に変えることのできる“低  $O_2$  室”と、標準大気の  $O_2$  濃度 (約 21%) で栽培を行う“標準室”の 2 室を設けた。1 室のサイズは幅 1,800 × 奥行 1,000 × 高さ 1,800 mm であり、建材には断熱性に優れた厚さ 42 mm の断熱パネルを使用し、芯材には硬質ウレタンフォームが用いられている。栽培は循環式の水耕栽培で行われ、光源には赤青 LED (赤:青=3:1, Civilight) を用いた。FieldSpec Pro (FSP350-2500P, ASD Inc.) で測定した赤青 LED のスペクトル分布を図 2-3 に示す。LED は最大ピーク波長の $\pm 30$  nm の幅に光エネルギーが集中している凝集的な単色光である (古在, 2012)。そのため、赤青 LED では赤色波長の 665 nm と、青色波長の 450 nm に限定的なピークを有していた。

温度は室内型エアコン（CS-F222CZ-W, Panasonic）で制御し、CO<sub>2</sub> 濃度は CO<sub>2</sub> 制御装置（COC-1, Espec Mic）にて CO<sub>2</sub> ボンベを使用して制御した。

低 O<sub>2</sub> チャンバーの特徴は、N<sub>2</sub> ガスボンベを使用せずに O<sub>2</sub> 濃度を長期間制御できる点にある。通常、長期間の O<sub>2</sub> 濃度制御栽培実験を行う際には多量の N<sub>2</sub> ガスボンベを使用する。本チャンバーでは、空気から N<sub>2</sub> ガスと O<sub>2</sub> ガスを分離することのできる膜分離フィルター（NM-410A, Ube Ind）を備え、分離した N<sub>2</sub> ガスを低 O<sub>2</sub> 室内に導入することにより低 O<sub>2</sub> 環境を作り出した。本チャンバーは開放型のグロースチャンバーであり、低 O<sub>2</sub> 室の上部から N<sub>2</sub> ガスが導入され、低 O<sub>2</sub> 室の下部から排出される仕組みとなっている。N<sub>2</sub> ガスは空気よりも比重が小さいことから、下部から空気を排出することにより低 O<sub>2</sub> 室内全体を均一な O<sub>2</sub> 濃度にすることが可能である。N<sub>2</sub> ガス発生装置はタイマーにて ON/OFF 制御が可能である。農業分野では野菜や果実を低 O<sub>2</sub> 下で保存するためにこの N<sub>2</sub> ガス発生装置を用いた研究報告はいくつかある（川越ら, 1991; 壇ら, 1994; Chapon et al., 2004）。しかし、本研究のように栽培環境下での O<sub>2</sub> 濃度を制御するための設備として利用している報告はない。

低 O<sub>2</sub> 室内に導入される N<sub>2</sub> ガスは、コンプレッサーおよび N<sub>2</sub> ガス発生装置内のフィルターで水分が除かれているため乾燥空気となる。そのため、低 O<sub>2</sub> 化を行うと低 O<sub>2</sub> 室内の相対湿度は速やかに低下し（図 2-4 A）、この状態では低 O<sub>2</sub> 室内で栽培した野菜への乾燥ストレスが懸念された。しかしながら、栽培棚に養液を循環させると室内の相対湿度は高まり、両室とも 55～80%で推移し（図 2-4 B）、栽培が可能なレベルとなった。湿度の変動はエアコンの除湿機能によるものである。さらに、標準室では標準大気での栽培を行うため、低 O<sub>2</sub> 室の N<sub>2</sub>



ガスと同様の流量でコンプレッサーから空気が導入された.

各室には CO<sub>2</sub> 濃度 (TR 9294, Air Test), 室温 (T 型熱電対), 相対湿度 (HMP45D, Vaisala) センサーが備えられており, 低 O<sub>2</sub> 室には O<sub>2</sub> センサー (FCX-MVL-F, Fujikura) も備えられている. これらの環境データはデータロガー (DA-100, Yokogawa) に 10 秒間毎に集積され, コンピュータにてモニタリングした. なお, 低 O<sub>2</sub> は人体にも影響を与えるため, 安全を考慮し, 低 O<sub>2</sub> 室のドアは O<sub>2</sub> 濃度 18% 以下では自動ロックが掛かるように設計されている.



図 2-1.  $O_2$  濃度・ $CO_2$  濃度同時制御チャンバー（左図）と  $N_2$  ガス発生装置（右図）の外観写真.

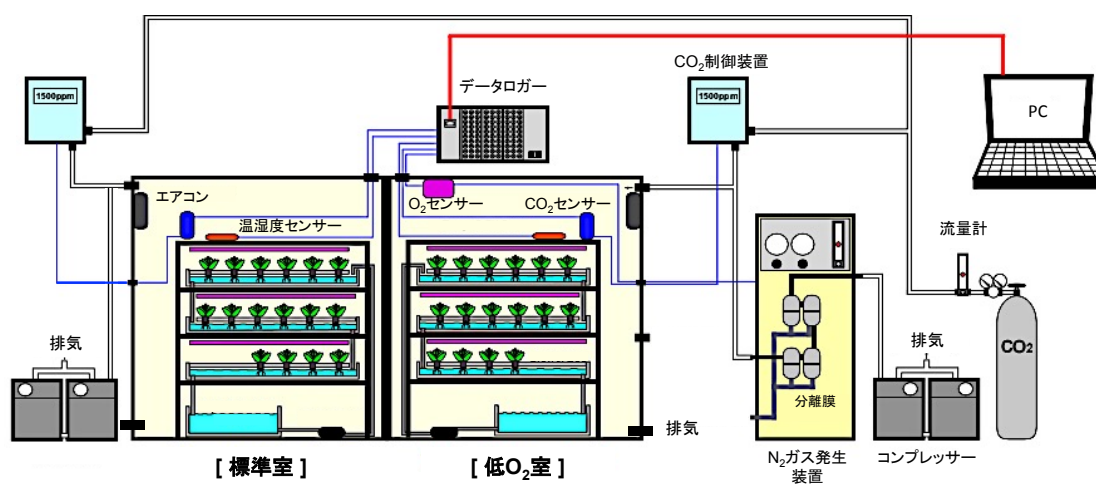


図 2-2.  $O_2$  濃度・ $CO_2$  濃度同時制御チャンバーの構造図. 注：二重線はガス流路，赤線は LAN ケーブル，青線は各センサーラインをそれぞれ示す.

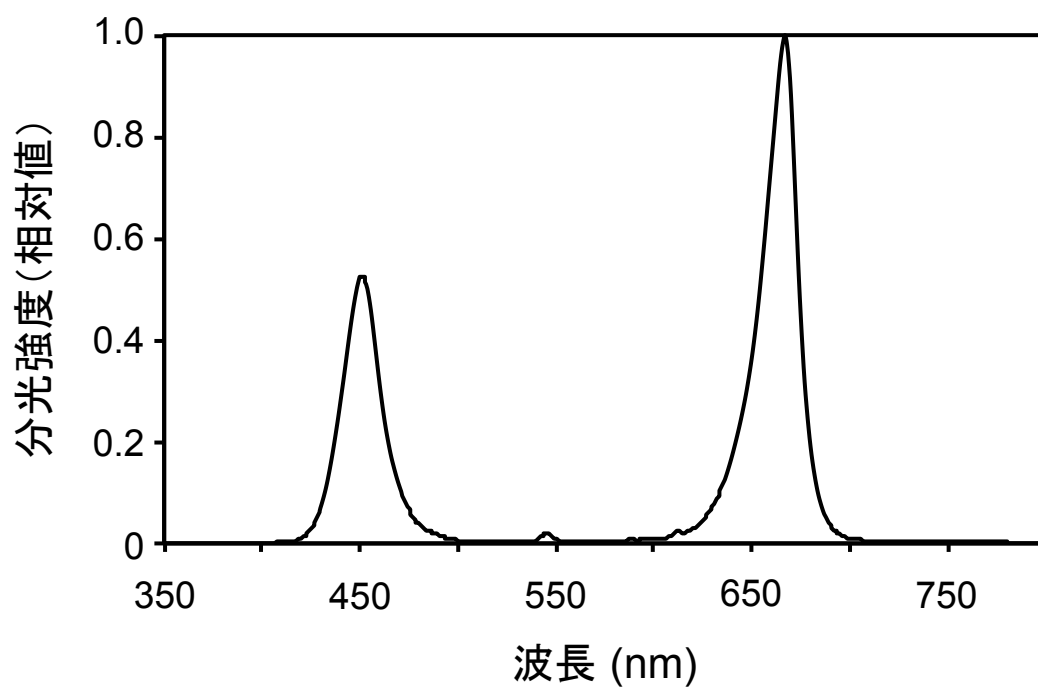


図 2-3. 赤青 LED のスペクトル分布.

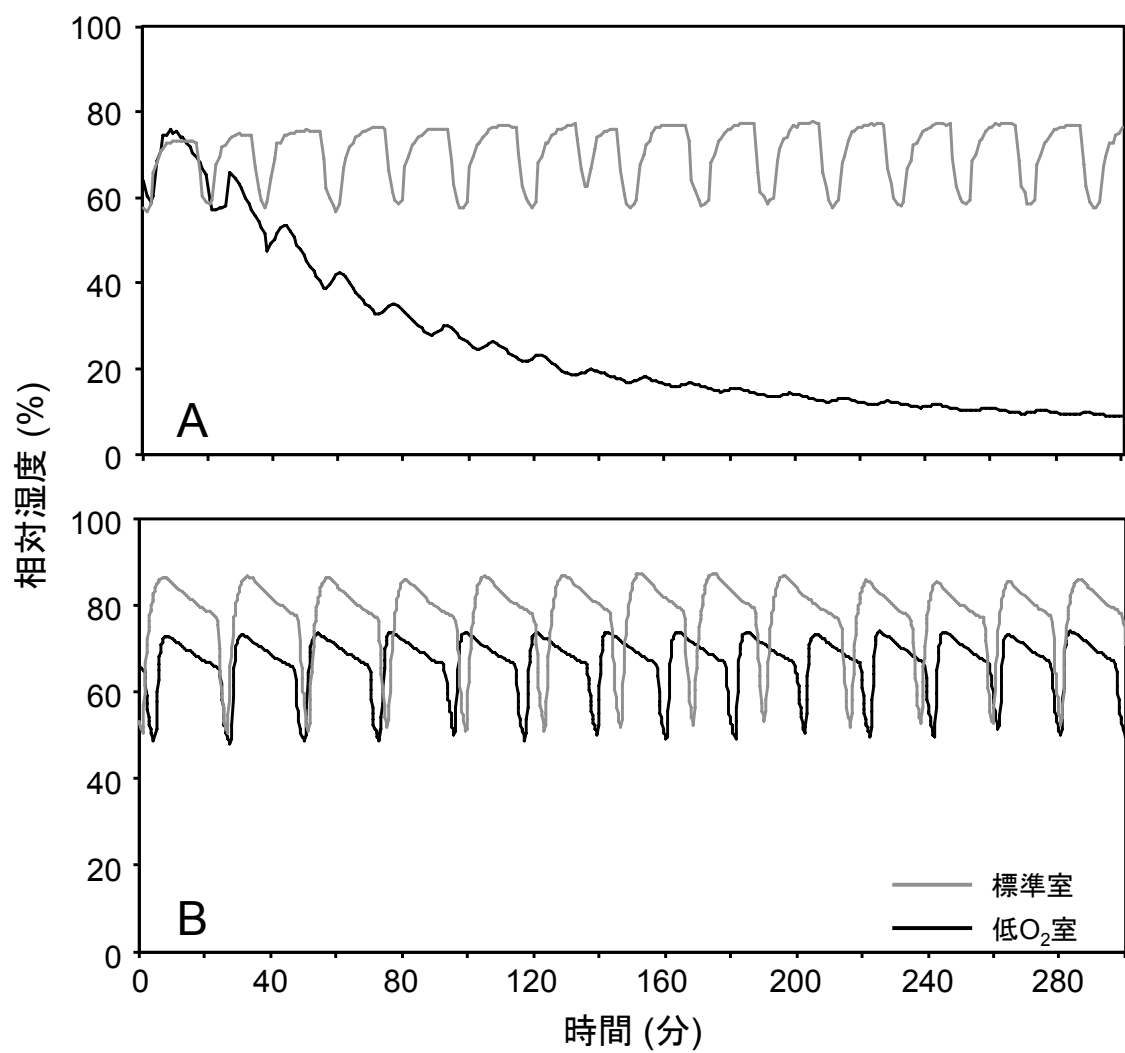


図 2-4. 低 O<sub>2</sub> 化実施時における低 O<sub>2</sub> 室，標準室の相対湿度の経時変化.

A) 栽培棚への養液循環前，B) 栽培棚への養液循環後.

## 2.3. 各種環境制御の性能評価

### 1) O<sub>2</sub> 濃度制御の性能評価

低 O<sub>2</sub> チャンバー内の O<sub>2</sub> 濃度制御の性能評価を行った。まず低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度を、短期的な低 O<sub>2</sub> 処理実験で一般的に行われる 2%に設定し、1,200 分連続で稼働させた。CO<sub>2</sub> 濃度は 1,500  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 、温度は 21°C に設定した。また、植物の栽培は行わなかった。

その結果、O<sub>2</sub> 濃度は約 240 分で設定値の 2%に達し、その後は安定的に 2%の O<sub>2</sub> 濃度を維持した (図 2-5)。次に、N<sub>2</sub> ガス発生装置の ON/OFF 制御の性能を調査するため、チャンバー内の O<sub>2</sub> 濃度を 2%に下げた後に、N<sub>2</sub> ガス発生装置を 120 分おきに ON/OFF 制御を行った (図 2-6)。その結果、N<sub>2</sub> ガス発生装置停止後、低 O<sub>2</sub> 室内の O<sub>2</sub> 濃度は 120 分で約 3%上昇した。これは、本チャンバーが開放型であるため、N<sub>2</sub> ガス発生装置停止後、チャンバー下部の排気口から O<sub>2</sub> が流入したためと考えられる。以上の結果から、N<sub>2</sub> ガス発生装置を用いることにより、チャンバー内の低 O<sub>2</sub> 環境を安定的に維持することができることが明らかとなった。さらに、N<sub>2</sub> ガス発生装置の ON/OFF 制御を使用する際には、OFF 間の O<sub>2</sub> 濃度の上昇を考慮する必要があることも明らかとなった。

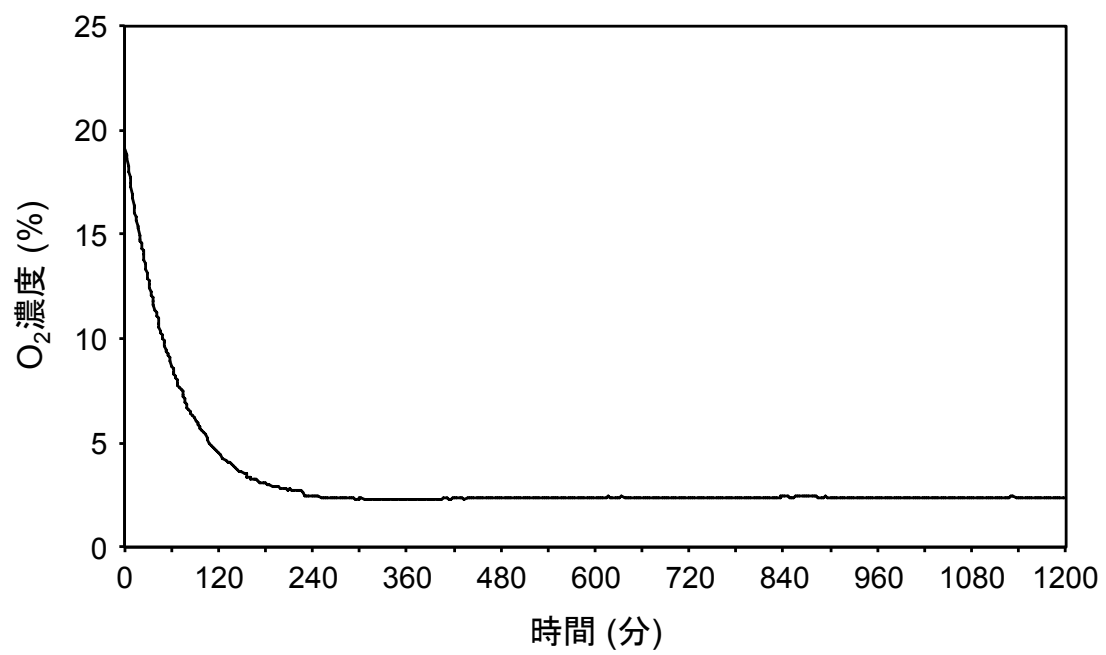


図 2-5. 低 O<sub>2</sub> 化（2%）実施時における低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度の経時変化.

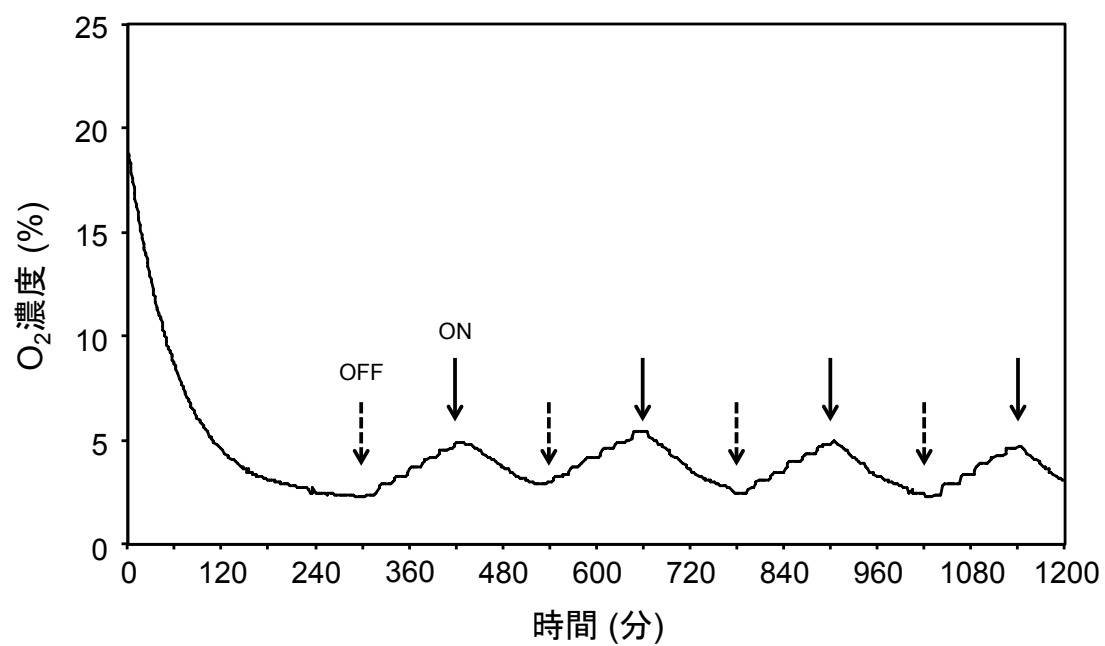


図 2-6. N<sub>2</sub> ガス発生装置の ON/OFF 制御実施時における低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度の経時変化.

## 2) CO<sub>2</sub>濃度制御の性能評価

低 O<sub>2</sub> チャンバー内の CO<sub>2</sub> 濃度制御の性能評価を行った．低 O<sub>2</sub> 室，標準室の CO<sub>2</sub> 濃度制御は 500, 1,000, 1,500, 2,000  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  の 4 濃度で 300 分調査した．CO<sub>2</sub> 濃度制御装置の設定上限値は 2,000  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  である．低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度は 2%，室温は 21°C に設定した．また，植物の栽培は行わなかった．

その結果，500, 1,000  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  の CO<sub>2</sub> 濃度では，低 O<sub>2</sub> 室，標準室ともに設定した値通りほぼ一定の値で制御されていた（図 2-7）．CO<sub>2</sub> 濃度の高い 1,500, 2,000  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  では，おおよそ設定値通りに制御は行われているものの，低 O<sub>2</sub> 室の値の変動が標準室に比べ激しかった．N<sub>2</sub> ガス発生装置では空気中の N<sub>2</sub> と O<sub>2</sub> を分離する際に，O<sub>2</sub> と同時に CO<sub>2</sub> も分離されているため，N<sub>2</sub> ガス中の CO<sub>2</sub> 濃度は非常に低くなっている．そのため，低 O<sub>2</sub> 室では N<sub>2</sub> ガスの導入により頻繁に CO<sub>2</sub> 濃度の制御を行う必要があり，室内の CO<sub>2</sub> 濃度の変動が激しくなった．制御頻度の差はあるが，低 O<sub>2</sub> 室，標準室ともに設定濃度で安定的に制御が行われており，O<sub>2</sub> 濃度の制御と同時に CO<sub>2</sub> 濃度の制御も可能であることが明らかとなった．



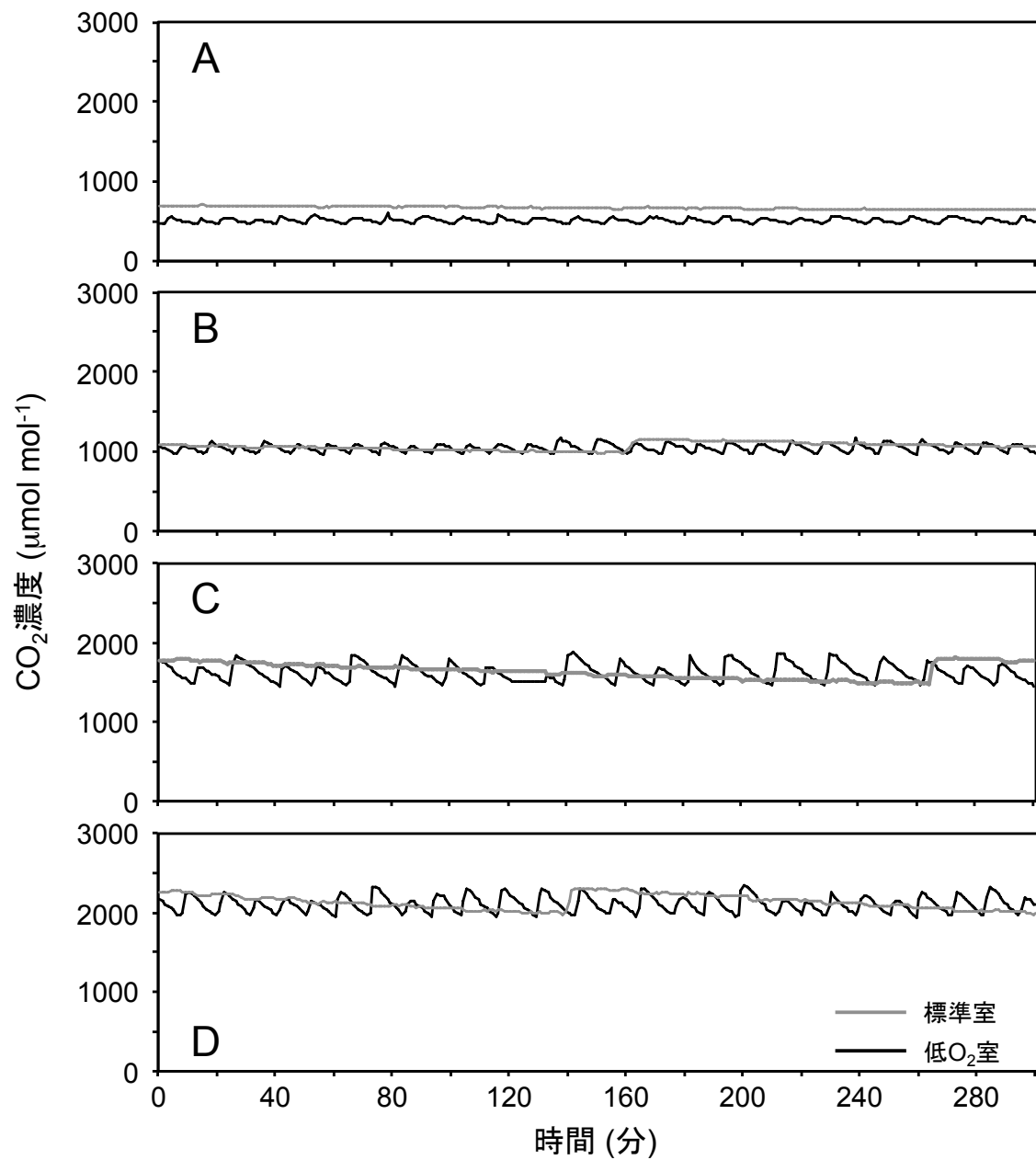


図 2-7. 低 O<sub>2</sub> 化 (2%) 実施時における低 O<sub>2</sub> 室, 標準室の CO<sub>2</sub> 濃度の経時変化. 設定 CO<sub>2</sub> 濃度 A) 500, B) 1,000, C) 1,500, D) 2,000  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ .

### 3) 室温制御の性能評価

低 O<sub>2</sub> チャンバー内の室温制御の性能評価を行った．低 O<sub>2</sub> 室，標準室の室温制御はエアコンの冷房設定温度で 16, 20, 25 °C の 3 段階で 300 分調査した．冷房の設定下限値は 16 °C である．低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度は 2%, CO<sub>2</sub> 濃度は 1,500 μmol mol<sup>-1</sup> に設定した．また，植物の栽培は行わなかった．その結果，いずれの温度においても低 O<sub>2</sub> 室，標準室の室温の変動は同じように推移していた（図 2-8）．室温の制御はエアコンの ON/OFF 制御で行っているため，温度の変動幅は±3～5°C で，特に，設定温度が上がるに従い変動幅は大きくなることが明らかとなった．

以上の結果から，低 O<sub>2</sub> チャンバーでは閉鎖型植物工場と同様の温度・湿度，CO<sub>2</sub> 濃度，光環境を作り出すことが可能であることが明らかとなった．加えて，低 O<sub>2</sub> 環境を安定的かつ安全に実施することが可能であることから，長期間の低 O<sub>2</sub> 処理実験に使用できると判断し，次章以降の実験に低 O<sub>2</sub> チャンバーを用いた．

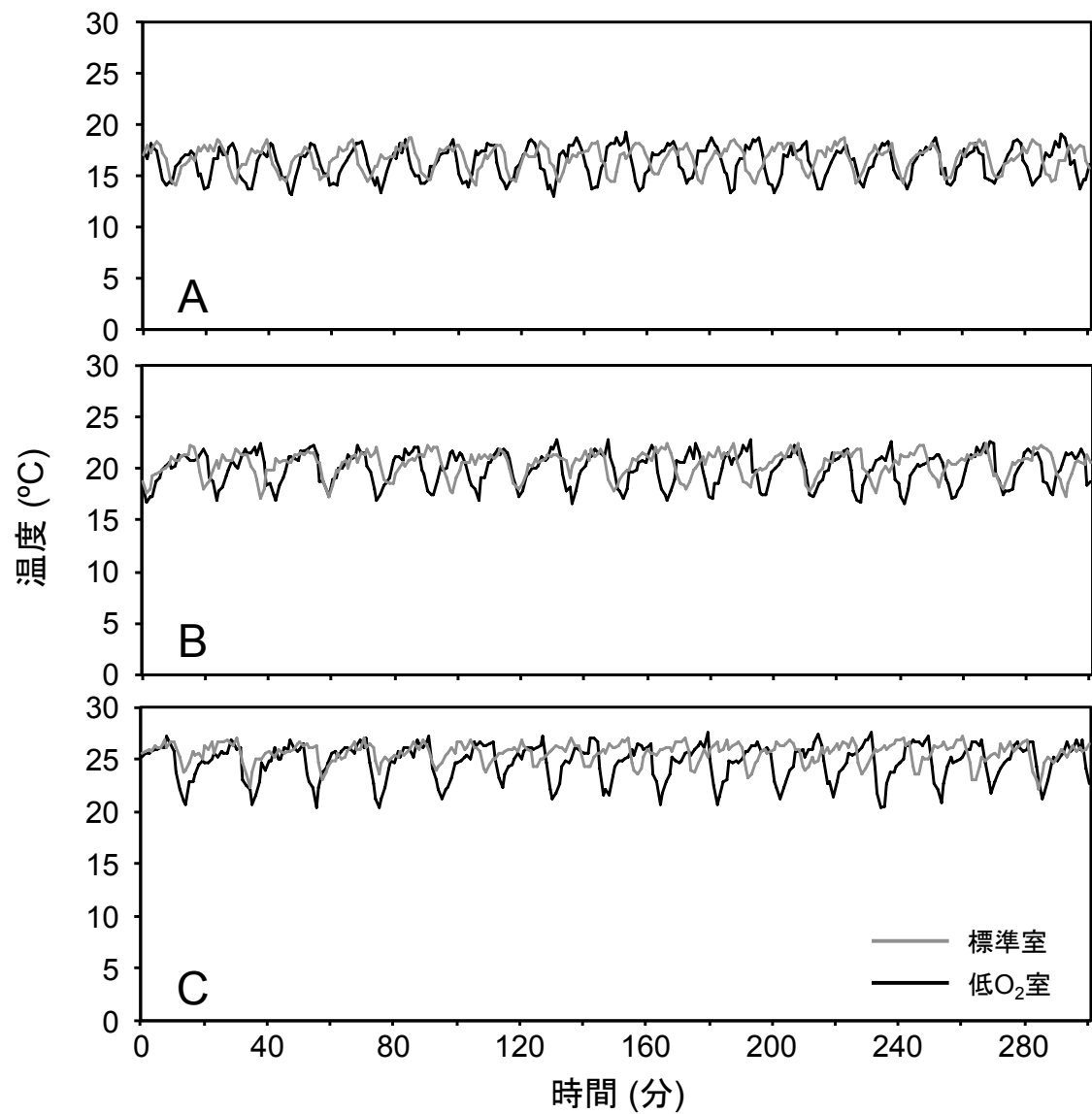


図 2-8. 低 O<sub>2</sub> 化 (2%) 実施時における低 O<sub>2</sub> 室, 標準室の室温の経時変化.

設定温度 A) 16, B) 20, C) 25 °C.

### 第3章 栽培環境における酸素濃度が葉菜類の生育および 光合成特性に与える影響

#### 第1節 低酸素かつ高二酸化炭素濃度がホウレンソウ，レッド リーフレタスの生育および光合成特性に与える影響

##### 3.1.1. はじめに

本実験ではまず，これまで報告されている短期の低  $O_2$  処理による光合成反応を確認することを目的とし，ホウレンソウを用いて短期的（分単位）な  $O_2$  処理実験による光合成速度の測定を行った．次に，長期の  $O_2$  および  $CO_2$  制御実験を行うために開発した特殊なグロースチャンバーを用い，長期の低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  処理が，ホウレンソウとレッドリーフレタスの光合成特性および生育に与える影響を明らかにすることを目的とし，14 日間の栽培実験を行った．

##### 3.1.2. 材料および方法

###### 1) 低 $O_2$ 濃度の短期処理におけるホウレンソウのガス交換速度測定

光合成速度の測定にはホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) ‘リピート’（中原採種場）を供試した．種子を水で湿らせたキムタオル上に播種し，暗所の人工気象器（LH-200, NK System）内で2日間発芽させた．発芽した種子をウレタンキューブ（ $2.0 \times 2.0 \times 2.5$  cm）に移植し，水で5日間，液肥（Hyponica, KYOWA）でさらに7日間育苗した．育苗中の人工気象器内の温度は  $21^\circ\text{C}$ ，光量子束密度（PFD: Photon Flux Density）は白色蛍光灯を用い  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  とし，明暗期は

それぞれ 12 時間に設定した。育苗後、正常に生育した苗を栽培棚に移植し、同様の液肥 (pH 6.3, EC 1.30 mS cm<sup>-1</sup>) で 21 日間栽培した。液肥の組成は 450 mg L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N, 10.1 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>-N, 40.9 mg L<sup>-1</sup> P, 169.4 mg L<sup>-1</sup> K, 68.3 mg L<sup>-1</sup> Ca, 18.6 mg L<sup>-1</sup> Mg, 0.52 mg L<sup>-1</sup> Mn, 0.41 mg L<sup>-1</sup> B, 1.54 mg L<sup>-1</sup> Fe であった。栽培棚の光源には赤青 LED (赤 : 青 = 3 : 1, Civilight) を用い、PFD は 250 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> とした。室温は 21°C であった。21 日後に正常に生育した個体をガス交換速度の測定に用いた。

ガス交換速度の測定は開放型ガス交換速度測定装置を用いて行った。装置の詳細は Fukuzawa et al. (2012) に記載されている通りである。光合成速度の測定後、測定部位を切除し葉面積の測定 (LI-3100, Li-Cor) を行い、光合成速度の結果を補正した。

“Light curve” の測定を 2% および 21% O<sub>2</sub> で行った。正常に生育した異なる 4 個体を各 O<sub>2</sub> 濃度での測定に用いた。O<sub>2</sub> 濃度は空気に 99% N<sub>2</sub> ガスを混和させることで制御し、赤外線式ガス濃度測定装置 (CGT-7000, Shimadzu) を用いてモニタリングを行った。測定は PFD 98.5 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> から 6 段階に分けて上昇させ、最終 PFD 1,738.4 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> とした。測定中の同化箱内の温度は 25 ± 0.5 °C, CO<sub>2</sub> 濃度は 400 ± 20 μmol mol<sup>-1</sup> に制御した。

## 2) 育苗方法および栽培環境

栽培実験にはハウレンソウ ‘リピート’ とレッドリーフレタス (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*) ‘サンブライト’ (中原採種場) の 2 種を用いた。ハウレンソウの育苗は上記のガス交換速度の測定と同様に行った。播種から 14 日後、苗を育苗

用の栽培棚に移植し、栽培実験まで 7 日間液肥を用いて育苗した。育苗棚の温度は 21 °C, PFD は赤青 LED を用いて  $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  とした。レッドリーフレタスは、ウレタンキューブに播種し、人工気象器内で水で 7 日間、続いて液肥で 7 日間栽培した。人工気象器内の栽培環境はハウレンソウと同様であった。播種から 14 日後、苗を育苗用の栽培棚に移植し、栽培実験まで 14 日間液肥を用いて育苗した。育苗棚の温度は 21 °C, PFD は蛍光灯を用いて  $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  とした。

## 2) 低 O<sub>2</sub> 処理方法

低 O<sub>2</sub> かつ高 CO<sub>2</sub> 環境下での 14 日間の栽培実験を行った。上記の方法で栽培したハウレンソウとレッドリーフレタスを、各処理区 24, 40 個体ずつ移植し栽培を開始した。低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度は 3%(3%O<sub>2</sub>), 標準室の O<sub>2</sub> 濃度は 21%(21%O<sub>2</sub>) とした。両室とも CO<sub>2</sub> 濃度は  $1,500 \mu\text{mol mol}^{-1}$ , 室温は 21 °C, PFD は赤青 LED を用い  $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  とした。明暗期はそれぞれ 12 時間（明期 6:00~18:00）で行った。低 O<sub>2</sub> 処理は明期のみ行い、暗期開始の 18:00 には N<sub>2</sub> ガス発生装置は停止させた。しかしながら、O<sub>2</sub> 濃度を 3%まで再度低下させるのに約 3 時間かかることから、N<sub>2</sub> ガス発生装置の始動時間は明期開始 3 時間前（3:00）とした。CO<sub>2</sub> 制御装置、液肥循環ポンプ、液肥へのエアレーションも明期の間のみ稼働させた。

栽培実験 14 日目にハウレンソウとレッドリーフレタスの各処理区から 6 個体と 8 個体をそれぞれ収穫し生育調査に用いた。各個体を地上部と地下部に分け、葉数、葉面積、葉新鮮重の測定を行った。地上部と地下部は 80 °C の乾燥機内で

3 日間乾燥させた後、乾物重の測定を行った。また、下記の式から比葉面積 (Specific leaf area; SLA) を算出した。

$$\text{SLA (cm}^2 \text{ mg}^{-1}) = \text{葉面積 (cm}^2) / \text{葉乾物重 (mg)}$$

乾物重の測定後、サンプルを粉砕し、粉末サンプル 25 mg を NC アナライザー (NC-90A, Shimadzu) を用いて全窒素・炭素含有量の測定に供試した。

### 3) ガス交換速度測定

ガス交換速度およびクロロフィル蛍光の測定は各処理区から平均的な 1 個体を選び、携帯型光合成測定装置 (LI-6400-40LCF, Li-Cor) を用いて行った。測定に使用する葉面積は 2 cm<sup>2</sup> であった。Light curve の測定を栽培環境と同じ O<sub>2</sub> 濃度、CO<sub>2</sub> 濃度 (1,500 μmol mol<sup>-1</sup>) で行った。温度は 21 °C、湿度は露点発生装置 (LI-610, Li-Cor) を用いて 60-70% で制御した。21% の O<sub>2</sub> 濃度測定には外気を用い、3% の O<sub>2</sub> 濃度は N<sub>2</sub> ガス発生装置を用いて制御し、流速は 300 μmol s<sup>-1</sup> に制御した。全体に占める青色光 (470 nm) の割合は 10% とした。次に、Light curve の測定とは別の 1 個体を用いて A-Ci curve の測定を行った。Light curve の結果から光飽和点である 1,200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> PFD の条件で行った。すべての測定は 10:00 ~ 17:00 の時間帯に行った。光合成速度の値は von Caemmerer and Farquhar (1981) の式により、クロロフィル蛍光パラメータは Genty et al. (1989) の式により算出された。

#### 4) 統計処理

低 O<sub>2</sub> 濃度の短期処理実験におけるガス交換速度の測定では、4 個体を統計処理に用いた。低 O<sub>2</sub> かつ高 CO<sub>2</sub> 濃度の長期処理実験の生育調査および全窒素・炭素含有量の測定では、ハウレンソウ、レッドリーフレタスそれぞれ各処理区 6, 8 個体を統計処理に用いた。結果は、Mann-Whitney U test により 5%水準で有意差検定を行った。

#### 3.1.3. 結果

##### 1) 低 O<sub>2</sub> 濃度の短期処理におけるハウレンソウのガス交換速度

2%O<sub>2</sub> で測定したハウレンソウの光合成速度 (*A*) は 21%O<sub>2</sub> で測定した値に比べ有意に高まっていた (図 3-1-1)。2%および 21%O<sub>2</sub> の光飽和点はともに 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  よりも高い値であったが、本実験における *A* の最大速度は 2%O<sub>2</sub> が 27.0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、21%O<sub>2</sub> が 19.8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  と 2%O<sub>2</sub> が高かった。



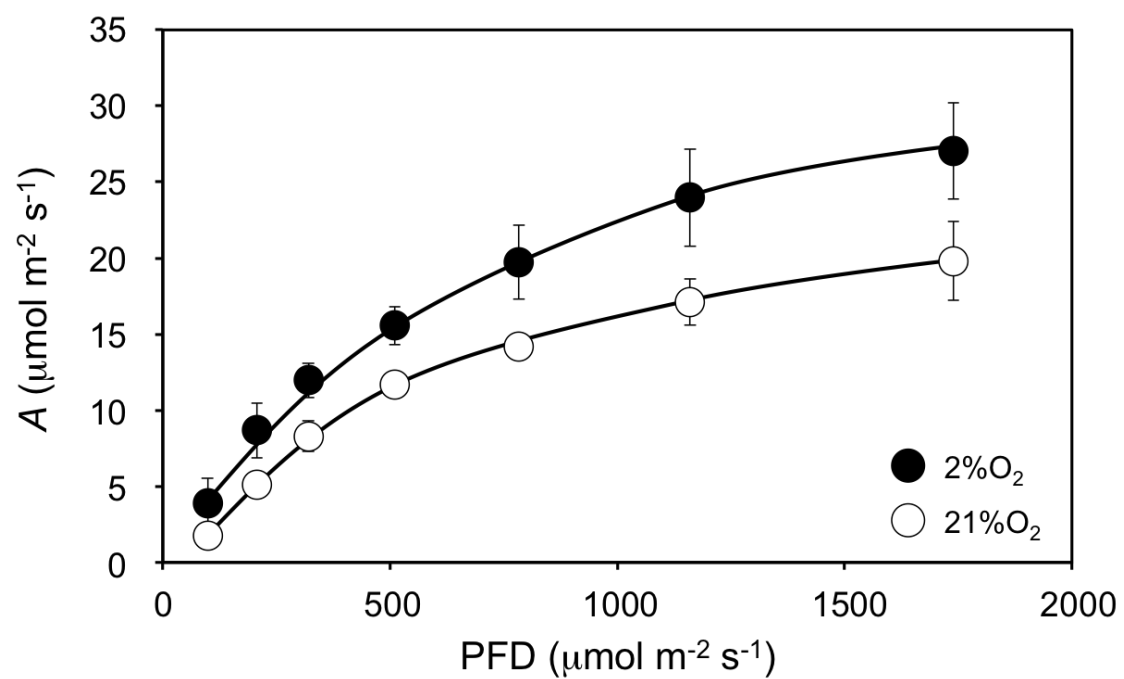


図 3-1-1. 低  $\text{O}_2$  濃度の短期処理におけるハウレンソウの光合成速度 ( $A$ ).

図中のバーは標準偏差を示す.

## 2) 低 $O_2$ かつ高 $CO_2$ 環境下で長期間栽培した葉菜類の生育および炭素・窒素含有量

3% $O_2$  のハウレンソウ, レッドリーフレタスともに 21% $O_2$  に比べ個体が小さく, ハウレンソウでは葉色が薄くなり, レッドリーフレタスでは葉色が赤みを帯びていた (図 3-1-2). ハウレンソウ, レッドリーフレタスともに低  $O_2$  環境下で栽培した植物体の葉面積は 21% $O_2$  の葉面積に比べ有意に低下していた (表 3-1-1). また, ハウレンソウでは 3% $O_2$  の新鮮重も 21% $O_2$  に比べ有意に低下しており, 生育が抑制されていた. 一方, レッドリーフレタスの葉数は 3% $O_2$  が 21% $O_2$  に比べ有意に多かった. これは, 3% $O_2$  では未発達葉が多く存在しており, 本実験では未発達葉も葉数にカウントしていたためである. 葉および根乾物重は両植物とも処理区間に差は認められなかった.

次に, 単位乾物重あたりの窒素含有量はハウレンソウ, レッドリーフレタスともに 3% $O_2$  が有意に低い値を示しており, 窒素吸収の阻害が示唆された (図 3-1-3). 一方, 炭素含有率は 3% $O_2$  が有意に高い値を示していた (図 3-1-3).

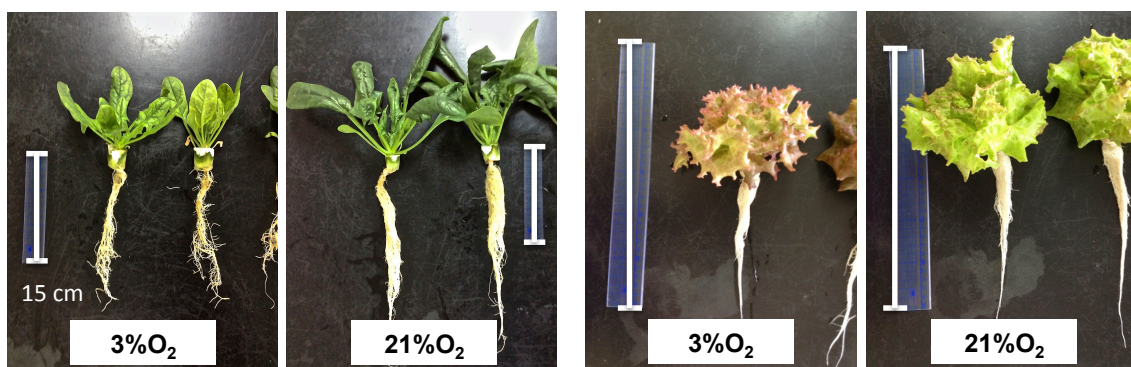


図 3-1-2. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培された収穫時のホウレンソウ(左図)とレッドリーフレタス (右図).

表 3-1-1. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境がホウレンソウとレッドリーフレタスの生育に与える影響.

	$O_2$ 濃度 (%)	葉数 (枚 plant <sup>-1</sup> )	葉面積 (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )	葉新鮮重 (g plant <sup>-1</sup> )	葉乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )	根乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )	SLA (cm <sup>2</sup> mg <sup>-1</sup> )
ホウレンソウ	3	16.3	155.7	11.3	1.62	0.27	0.10
	21	17.8	390.8 **	31.3 **	2.05	0.50	0.20 **
レッド リーフ レタス	3	17.4 **	395.8	20.0	0.98	0.21	0.43
	21	13.3	476.5 *	23.3	0.84	0.20	0.57 *

注：\*\*, \*はそれぞれ Mann-Whitney U test により 1, 5%水準で有意差を示す.

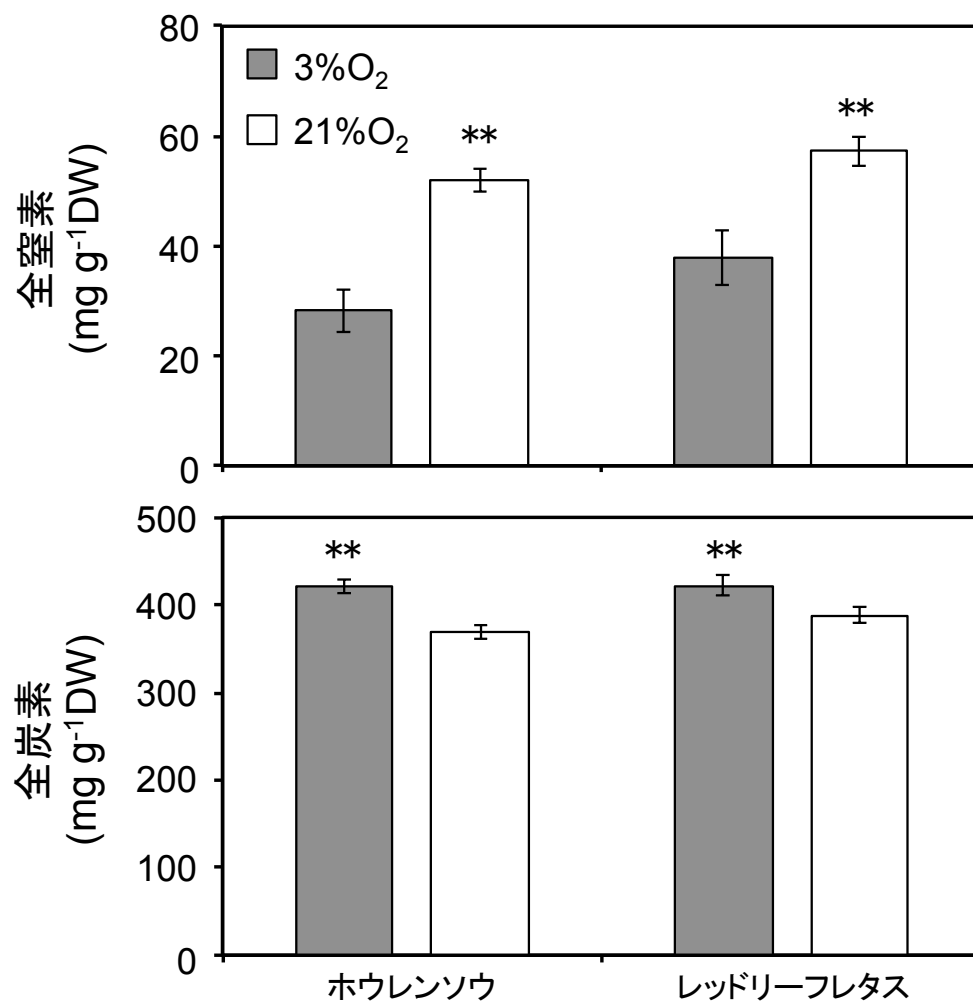


図 3-1-3. 低 O<sub>2</sub> かつ高 CO<sub>2</sub> 環境で栽培されたハウレンソウとレッドリーフレタスの全窒素含有量と全炭素含有量. 図中のバーは標準偏差を示す. 注: \*\*は Mann-Whitney U test により 1%水準で有意差を示す.

### 3) 低 $O_2$ かつ高 $CO_2$ 環境下で長期間栽培した葉菜類の光合成特性

14 日間低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境下で光呼吸を抑制した 3% $O_2$  の  $A$ -Ci curve の初期勾配を見ると、ハウレンソウ、レッドリーフレタスともに  $O_2$  濃度 3%で測定した  $A$  が 21%で測定した値よりも高くなっていた (図 3-1-4). この結果は, 21% $O_2$  でも同様であった.

次に Light curve の結果, ハウレンソウおよびレッドリーフレタスともに  $A$  は  $O_2$  濃度に関わらず 3% $O_2$  も 21% $O_2$  と同程度の値を示し, 短期的な低  $O_2$  濃度の実験とは異なる結果となった (図 3-1-5). 電子伝達速度 (ETR) はハウレンソウおよびレッドリーフレタスともに 3% $O_2$  が 21% $O_2$  に比べ低くなる傾向を示した (図 3-1-6). 光化学系 II の量子収率 ( $\Phi_{PSII}$ ) も同様に, 3% $O_2$  が 21% $O_2$  に比べやや低くなる傾向を示した (図 3-1-7).

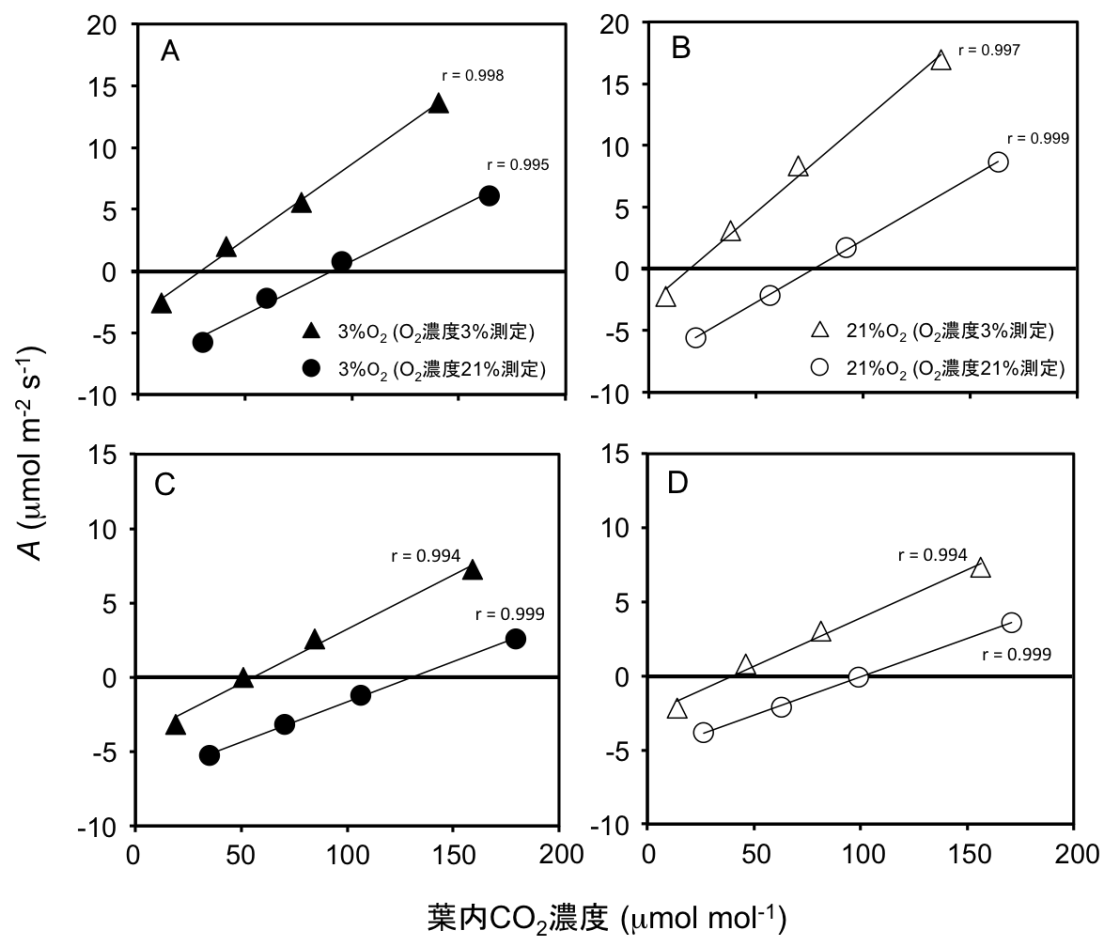


図 3-1-4. 低  $\text{O}_2$  かつ高  $\text{CO}_2$  環境で栽培されたハウレンソウとレッドリーフレタスの  $\text{CO}_2$  濃度変化に対する光合成速度 ( $A$ ) 反応の初期勾配. AB) ハウレンソウ, CD) レッドリーフレタス. 測定時の PFD は  $1,200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  である.

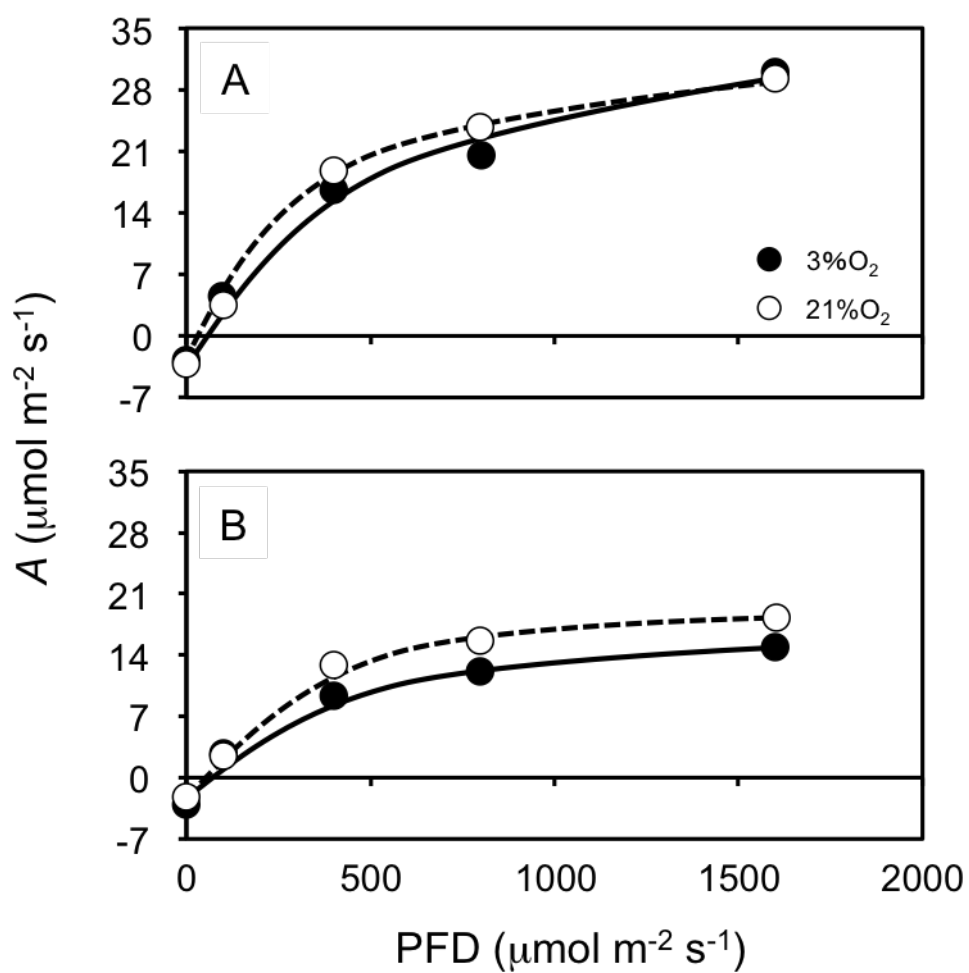


図 3-1-5. 低  $\text{O}_2$  かつ高  $\text{CO}_2$  環境で栽培されたホウレンソウとレッドリーフレタスの光強度変化に対する光合成速度 ( $A$ ) 反応 (Light curve). A) ホウレンソウ, B) レッドリーフレタス. 測定時の  $\text{CO}_2$  濃度は  $1,500 \mu\text{mol mol}^{-1}$  である.

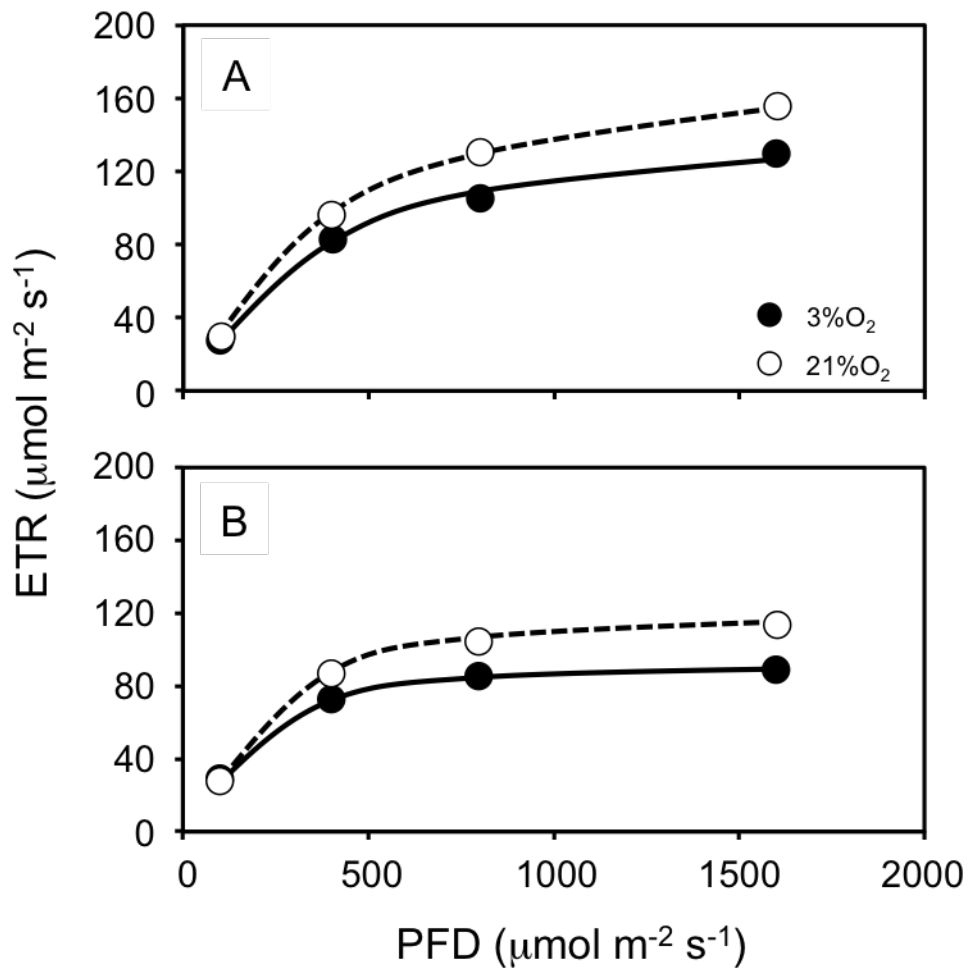


図 3-1-6. 低  $\text{O}_2$  かつ高  $\text{CO}_2$  環境で栽培されたハウレンソウとレッドリーフレタスの光強度変化に対する電子伝達速度 (ETR) 反応. A) ハウレンソウ, B) レッドリーフレタス. 測定時の  $\text{CO}_2$  濃度は  $1,500 \mu\text{mol mol}^{-1}$  である.



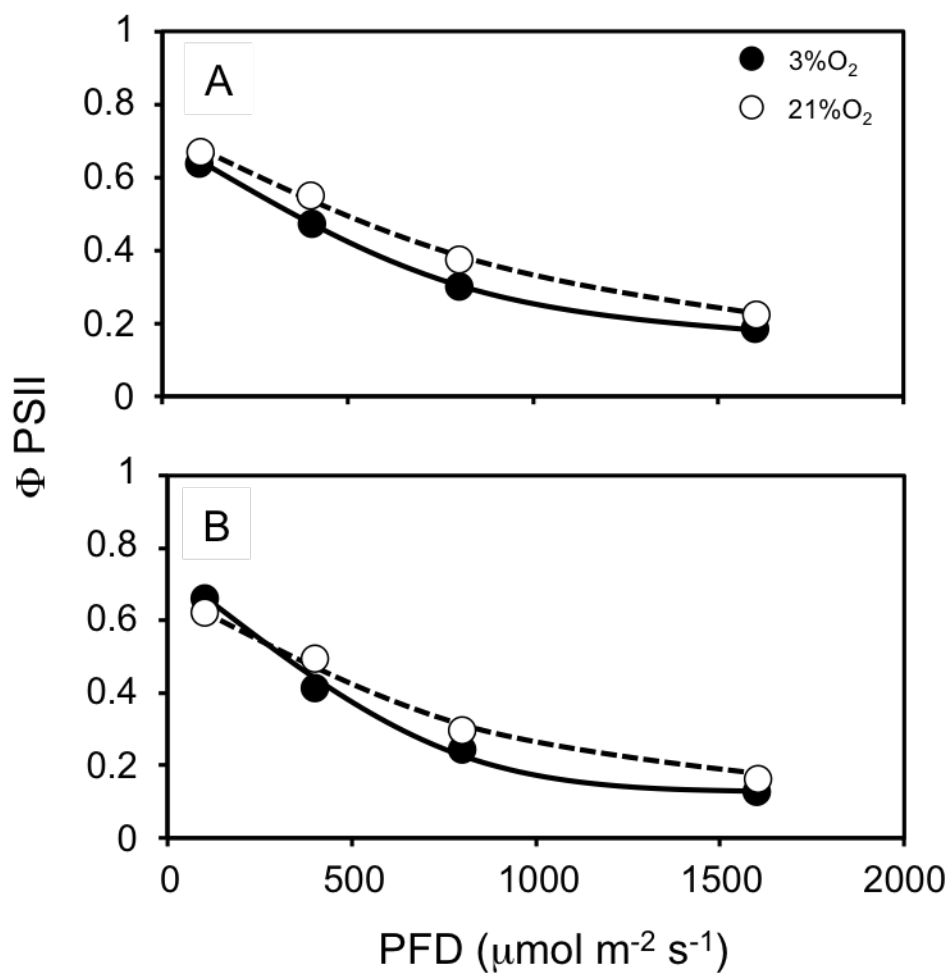


図 3-1-7. 低  $\text{O}_2$  かつ高  $\text{CO}_2$  環境で栽培されたホウレンソウとレッドリーフレタスの光強度変化に対する光化学系 II の量子収率 ( $\Phi_{PSII}$ ) 反応.  
A) ホウレンソウ, B) レッドリーフレタス. 測定時の  $\text{CO}_2$  濃度は  $1,500 \mu\text{mol mol}^{-1}$  である.

#### 3.1.4. 考察

##### 1) 低 O<sub>2</sub> 濃度の短期・長期処理におけるホウレンソウおよびレッドリーフレタスの光合成特性

低 O<sub>2</sub> 条件下で C<sub>3</sub> 植物の *A* が高まることはすでに知られている (Forrester *et al.*, 1966). これは, Rubisco のオキシゲネーション反応を起点とする光呼吸系が抑制されることで, 光呼吸系での炭素の放出およびエネルギーの消費が抑えられたことにより, 炭素固定効率が高まるためである. 本研究においても, 低 O<sub>2</sub> 条件下でホウレンソウの *A* が高まったことから (図 3-1-1), 既報の結果と一致する. 一方, 長期的な低 O<sub>2</sub> 処理では短期処理で認められたような 3% 区での光合成の増加は認められなかった (図 3-1-5). Rubisco の二つの反応 (カルボキシレーション反応とオキシゲネーション反応) は, 酵素の同じ触媒部位で生じていることから, 互いの濃度に依存して拮抗することが知られている (Taiz and Zeiger, 2004). そのため, 1,500  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub> 濃度条件下では低 O<sub>2</sub> 濃度の影響が顕在化しなかったと推察される.

さらに, 本実験では呼吸が低下していたと考えられる. 実験では, 呼吸を抑制させないよう暗期には N<sub>2</sub> ガス発生装置を停止していた. しかし, 低 O<sub>2</sub> 室内の O<sub>2</sub> 濃度は暗期には増加するものの最大で 10% 程度にとどまっており, 暗期の呼吸は影響を受けていたであろう. さらに, この呼吸の低下が窒素吸収の低下などネガティブな影響を引き起こし, 結果として *A* 低下として表れたと推察される. 一方, ETR や  $\Phi$  PSII は 3%O<sub>2</sub> が 21%O<sub>2</sub> に比べやや低くなる傾向を示した (図 3-1-6, 7). この結果から, 3%O<sub>2</sub> では電子伝達に影響を受けていたことが示唆された. Clarke and Johnson (2001) は低 O<sub>2</sub> 条件下での  $\Phi$  PSII の低下を報告

している。Φ PSII は下記の式により求められる。

$$\Phi \text{ PSII} = qP \times Fv'/Fm'$$

qP (Photochemical quenching) は光化学系 II から光合成および光呼吸へ流れた電子の割合、Fv'/Fm'は測定光照射時における光化学系 II の量子収率を示している。この式から、Φ PSII の低下の要因は qP の低下つまり光化学系 II 以降の抑制によるか、Fv'/Fm'の低下つまり光化学系 II 自体の抑制によるものかを推測することができる (園池, 2005)。その結果、qP, Fv'/Fm'ともに 3%区が 21%区に比べ低くなる傾向が認められたが、その差はわずかであった (図 3-1-8, 9)。

光呼吸系の役割や存在意義については研究が進められているところではあるが、役割の一つとして強光環境下のような過剰なエネルギーが発生する状況において、そのエネルギーを消費し光傷害を緩和する役割が指摘されている (Powles and Osmond, 1979)。低 O<sub>2</sub> 濃度かつ高 CO<sub>2</sub> 濃度環境下で光呼吸を抑制した植物は、光環境による影響を強く受けていた可能性が示唆された。

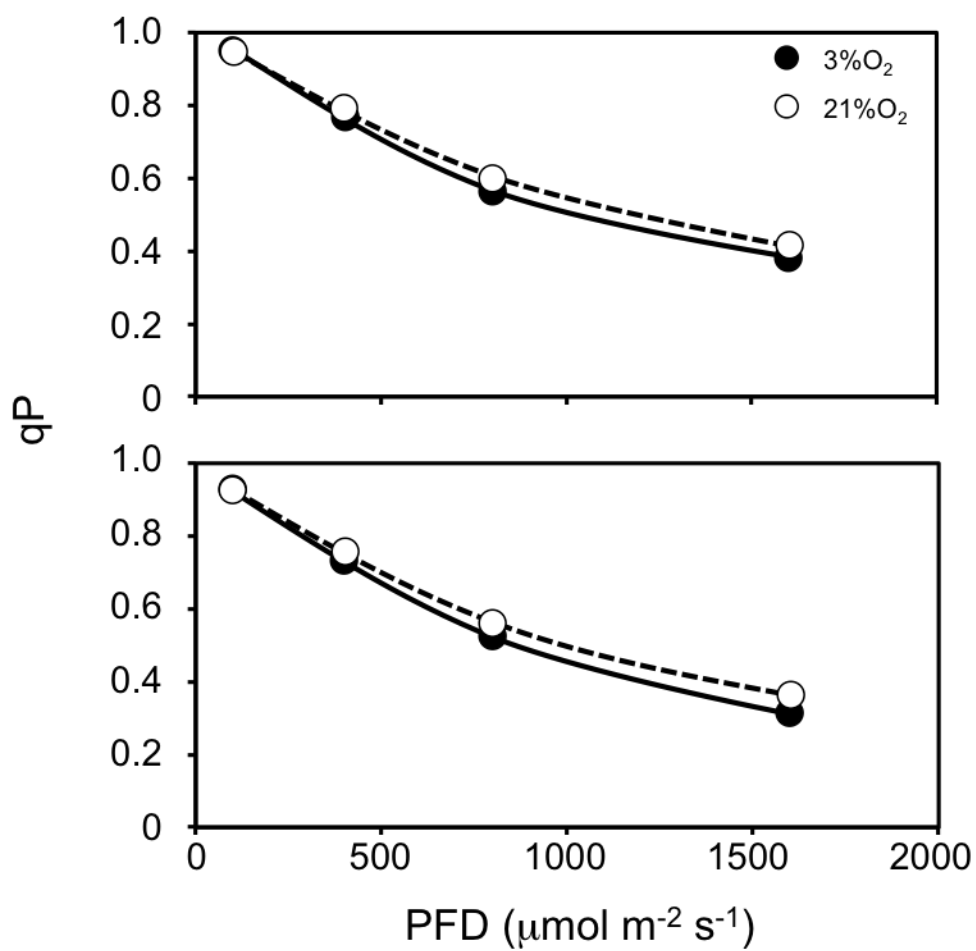


図 3-1-8. 低  $\text{O}_2$  かつ高  $\text{CO}_2$  環境で栽培されたホウレンソウの光強度変化に対する  $qP$  の反応. 測定時の  $\text{CO}_2$  濃度は  $1,500 \mu\text{mol mol}^{-1}$  である.

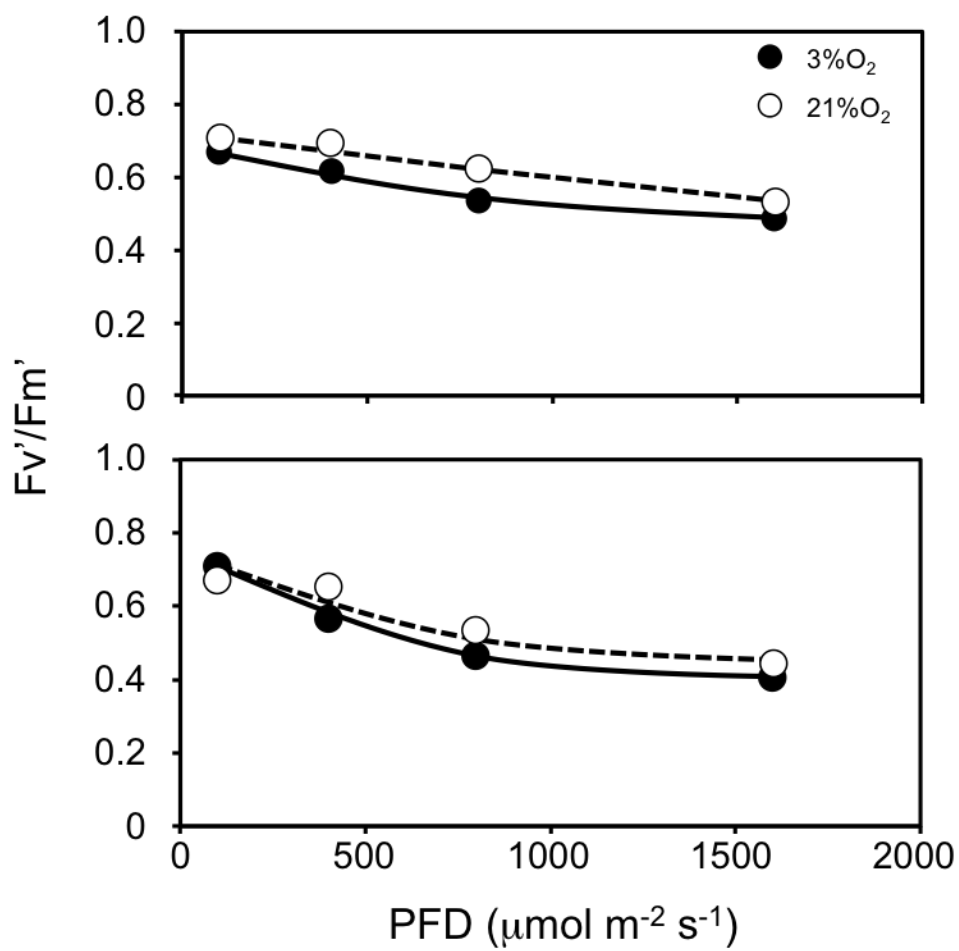


図 3-1-9. 低  $\text{O}_2$  かつ高  $\text{CO}_2$  環境で栽培されたホウレンソウの光強度変化に対する  $F_v'/F_m'$  の反応. 測定時の  $\text{CO}_2$  濃度は  $1,500 \mu\text{mol mol}^{-1}$  である.

## 2) 低 $O_2$ かつ高 $CO_2$ 環境下で長期間栽培した葉菜類の生育および炭素・窒素含有量

葉面積に差がある一方、葉乾物重に差がなかった結果から（表 3-1-1）、SLA は 3% $O_2$  が 21% $O_2$  に比べ有意に低くなった。SLA は単位乾物重あたりの葉面積を示しており（Evans and Poorter, 2001）、葉が厚くなると値が小さくなる。このことから、3% $O_2$  では葉が厚くなっていることが示唆された。低  $O_2$  環境下で栽培した植物における葉面積展開の低下は、複数の研究者が  $C_3$  植物を用いた実験により指摘している（福山ら, 1974ab, 1975; 武田ら, 1978; Iwabuchi et al., 1996）。また、武田ら（1978）は  $C_4$  植物を用いた実験においても、 $C_3$  植物と同様に葉面積展開の低下が認められることを示した。 $C_4$  植物は  $C_3$  植物とは異なり、 $C_4$  回路により維管束鞘細胞内の  $CO_2$  の濃縮を行うことにより光呼吸を抑制することから、武田ら（1978）は葉面積展開の低下は光呼吸に関係なく生じると結論付けている。

Priestly et al.（1988）は低  $O_2$  による葉面積の低下と同時に、低  $O_2$  が可溶性糖の多糖類への変換比率を低下させている点を指摘している。このことから、低  $O_2$  葉内には糖が蓄積している可能性が考えられる。また、窒素吸収が阻害されると葉が厚くなることが知られている（Larcher, 2003）。窒素吸収には他の養分吸収と同様にエネルギーが必要であり、そのエネルギーは呼吸に依存している。このことから、低  $O_2$  による呼吸の低下によって窒素吸収が阻害されたことが SLA が低下した要因であると推察される。

## 第 2 節 明期の異なる酸素濃度がレッドリーフレタスの生育， 光合成特性および成分含有量に与える影響

### 3.2.1. はじめに

本実験では，長期の低 O<sub>2</sub> 濃度環境がレッドリーフレタスの生育，光合成特性および全窒素・炭素，クロロフィル，アントシアニン含有量に与える影響を明らかにすることを目的とし，異なる 3 段階の O<sub>2</sub> 濃度（3，10，21%）環境下での 20 日間の栽培実験を行った．

前節の実験では CO<sub>2</sub> 濃度を 1,500  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  と高く制御したことにより，低 O<sub>2</sub> 濃度処理による影響が顕在化しなかったと予想した．そこで，本実験では CO<sub>2</sub> 濃度を 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  に制御し，低 O<sub>2</sub> 処理の影響のみに着目した．また，前節では暗期も継続して低 O<sub>2</sub> 環境になっていたことで呼吸が阻害されたと考えられたことから，本実験では暗期に O<sub>2</sub> 濃度を強制的に高めることで，明期のみの低 O<sub>2</sub> 処理を行った．なお，本実験では前節の低 O<sub>2</sub> 処理よりも長い期間の処理を行い低 O<sub>2</sub> 処理の影響を調査するため，育苗期間を 3 週間に短縮し，低 O<sub>2</sub> 処理期間を 20 日間に延長した．

### 3.2.2. 材料および方法

#### 1) 育苗方法および栽培環境

供試材料にレッドリーフレタス (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*) ‘サンブライト’を用いた．播種方法，人工気象器内での育苗環境，育苗期間および液肥組成は第 3 章 第 1 節に準じて行った．播種から 14 日後，苗を育苗用の栽培棚に移植

し、栽培実験まで 7 日間液肥を用いて育苗した。育苗棚の栽培環境も第 3 章第 1 節に準じた。

## 2) 低 O<sub>2</sub> 処理方法

### 実験 1 : 3% O<sub>2</sub> 処理

3% O<sub>2</sub> 濃度環境下での 20 日間の栽培実験を行った。前節でレッドリーフレタスを 40 個体移植した際に、やや過密な傾向が見られたことから本実験では各処理区 24 個体ずつ移植した。低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度は 3% (3% O<sub>2</sub>)、標準室は対照区として大気 O<sub>2</sub> 濃度 (21% O<sub>2</sub>) で処理を行った。第 3 章第 1 節では CO<sub>2</sub> 濃度は 1,500  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  としたが、前述したように高 CO<sub>2</sub> 濃度環境下では Rubisco のカルボキシレーション反応の割合が増加するため、オキシゲネーション反応の割合が低下し光呼吸が抑制される。本実験では O<sub>2</sub> 濃度の影響を調査するために両室とも CO<sub>2</sub> 濃度は 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  に制御することで CO<sub>2</sub> 濃度による光呼吸の抑制が生じないように考慮した。室温は 21 °C、PFD は赤青 LED を用い 250  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  とした。明暗期はそれぞれ 12 時間（明期 6:00~18:00）で行った。第 3 章第 1 節では N<sub>2</sub> ガス発生装置は明期の間のみ稼働させたものの、暗期のグロースチャンバー内の O<sub>2</sub> 濃度は 10% 以下に保たれていたことから呼吸が抑制されていたと考えられた。そこで、本実験では暗期開始の 30 分前に強制的に低 O<sub>2</sub> 室内に空気を流入させることで、暗期の O<sub>2</sub> 濃度を 17% 以上に高めて制御した。室内の O<sub>2</sub> 濃度を 3% まで再度低下させるのに約 3 時間かかることから、N<sub>2</sub> ガス発生装置の始動時間は明期開始 3 時間前 (3:00) とした。低 O<sub>2</sub> 処理中に低 O<sub>2</sub> 室に導入される N<sub>2</sub> ガスおよび標準室に導入される空気の流量は 20-30 L min<sup>-1</sup> であり、低 O<sub>2</sub> 室の



大気圧 (RS-12P, Espec Mic) は 95.5 kPa, 標準室の大気圧は 95.3 kPa と同程度であった。湿度は明期  $80\pm 5\%$ , 暗期  $95\pm 5\%$  であった。液肥濃度は第 3 章第 1 節と同様である。低  $O_2$  処理後に  $O_2$  計 (Fibox 3, PreSens) を用いて液肥の溶存酸素濃度の測定をした結果, 両室とも約 19.3% であったことから, 溶存酸素の影響はないものと判断した。CO<sub>2</sub> 制御装置, 養液循環ポンプ, 養液エアレーションも明期の間のみ稼働させた。

栽培実験 20 日目にレッドリーフレタスを各処理区から 6 個体収穫し, 第 3 章第 1 節と同様の方法で生育調査を行った。また, 葉面積と地上部乾物重の値から SLA を算出した (第 3 章第 1 節参照)。乾物重の測定後, サンプルを粉碎し, 粉末サンプル 25 mg を NC アナライザーによる全窒素・炭素含有量の測定に供試した。

## 実験 2 : 10% $O_2$ 処理

10%  $O_2$  濃度環境下での 20 日間の栽培実験を行った。低  $O_2$  室の  $O_2$  濃度は明期の間は 10% (10% $O_2$ ) に維持し, 標準室は対照区として大気  $O_2$  濃度 (21%  $O_2$ ) で処理を行った。その他の環境条件および生育調査方法は実験 1 と同様で行った。

### 3) ガス交換速度測定

栽培実験 20 日目に各処理区から平均的な 1 個体を選び, 携帯型光合成測定装置を用いて Light curve の測定を栽培環境と同じ  $O_2$  濃度および CO<sub>2</sub> 濃度 (400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) で行った。測定に使用する葉面積は 2  $\text{cm}^2$  であった。酸素濃度の制

御方法，温度，相対湿度，流速，青色光の割合および測定時間帯は第3章 第1節に準じて行った．また，クロロフィル蛍光パラメータの  $qP$  および  $Fv'/Fm'$  の計算も第3章第1節に準じて行った．

#### 4) クロロフィル含有量測定方法

生育調査で収穫したレッドリーフレタスの各個体の最大展開葉から No. 5 のコルクボーラーを用いてリーフディスク 3 枚 ( $2.4\text{ cm}^2$ ) を打ち抜き，2 ml の 99.7% メタノールに浸漬させ，暗所  $12\text{ }^{\circ}\text{C}$  の環境下で一昼夜抽出を行った．抽出液は分光光度計 (UV-1600PC, Shimadzu) を用い 665.2 と 652.0 nm の吸光度を測定した (Porra et al., 1989)．測定値から下記の式でクロロフィル含有量を求めた．

$$\text{Chl a (nmol ml}^{-1}\text{)} = 18.22 \times A^{665.2} - 9.55 \times A^{652.0}$$

$$\text{Chl b (nmol ml}^{-1}\text{)} = 33.78 \times A^{652.0} - 14.96 \times A^{665.2}$$

$$\text{Chl a + b (nmol ml}^{-1}\text{)} = 24.23 \times A^{652.0} + 3.26 \times A^{665.2}$$

$A^{652.0}$  と  $A^{665.2}$  はそれぞれ 665.2 と 652.0 nm の吸光度を示す．

#### 5) アントシアニン含有量測定方法

アントシアニン含有量の測定のために，生育調査個体とは別に 5 個体を収穫し，直ちに  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  で 72 時間凍結乾燥 (FDU-2000, EYELA) した．サンプルは乾燥後，粉碎し，粉末サンプル 100 mg を 10 ml の塩酸メタノール溶液 (99.7 % メタノール : 1.5 N 塩酸 = 85 : 15 (v/v)) に浸漬させ，暗所  $12\text{ }^{\circ}\text{C}$  の環境下で

一昼夜抽出を行った。抽出後、1,000 rpm で 10 分間遠心分離し、分光光度計を用い上澄み液の 533.0 nm の吸光度を測定した。総アントシアニン含有量はシアニン-3-グルコシド（分子量 499）当量で算出した（岩井ら，2009）。

## 6) 統計処理

生育調査および全窒素・炭素含有量，クロロフィル含有量の測定では各処理区 6 個体，アントシアニン含有量の測定では各処理区 5 個体を統計処理に用いた。結果は，Mann-Whitney U test により 5%水準で有意差検定を行った。

### 3.2.3. 結果

#### 1) 低 O<sub>2</sub> 環境がレッドリーフレタスの生育に与える影響

3%区で栽培されたレッドリーフレタスは、21%O<sub>2</sub> に比べ葉色に赤みを帯びており、見た目の大きさも 21%O<sub>2</sub> に比べ小さくなっていた（図 3-2-1）。10%O<sub>2</sub> で栽培されたレッドリーフレタスの葉色は 3%O<sub>2</sub> ほど顕著な変化は認められなかったが、21%O<sub>2</sub> と比べ赤みを帯びている箇所が多かった。また、見た目の大きさは 21%O<sub>2</sub> と同程度であった（図 3-2-1）。

葉数、葉新鮮重、葉乾物重、根乾物重には 3%O<sub>2</sub> と 21%O<sub>2</sub>、また 10%O<sub>2</sub> と 21%O<sub>2</sub> の間で有意差は認められなかった（表 3-2-1）。一方、葉面積は 3%O<sub>2</sub> と 10%O<sub>2</sub> が 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に低い値を示した。また、3%O<sub>2</sub> では SLA も 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に低い値を示した。

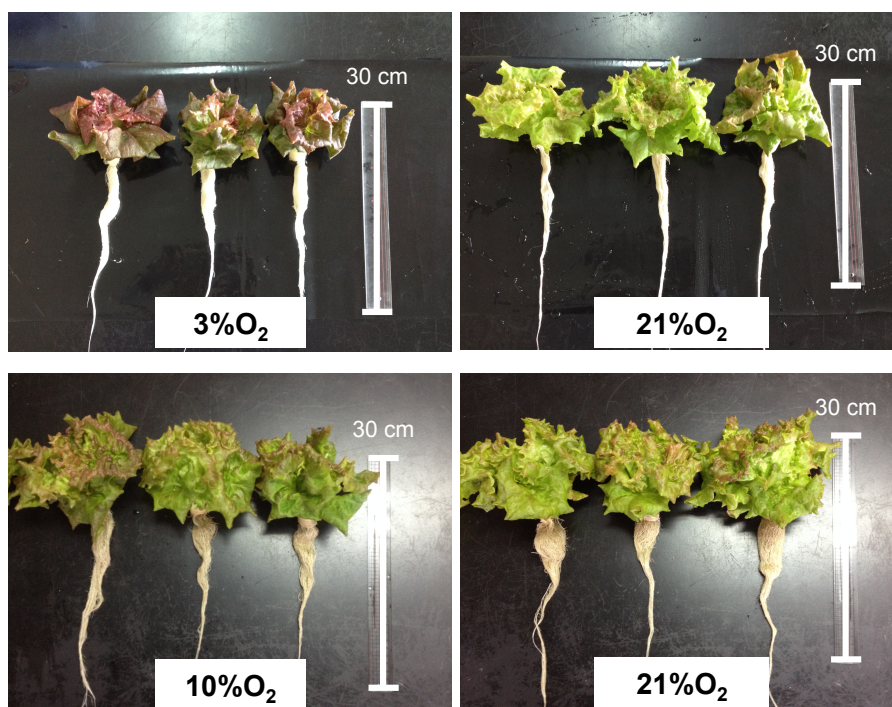


図 3-2-1. 異なる  $O_2$  濃度で栽培された収穫時のレッドリーフレタス.

表 3-2-1. 異なる  $O_2$  濃度がレッドリーフレタスの生育に与える影響.

$O_2$ 濃度 (%)	葉数 (枚 plant <sup>-1</sup> )	葉面積 (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )	葉新鮮重 (g plant <sup>-1</sup> )	葉乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )	根乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )	SLA (cm <sup>2</sup> mg <sup>-1</sup> )
3	13.5	503.3	27.8	1.44	0.23	0.35
21	14.7	700.8 *	31.3	1.34	0.24	0.53 *
10	13.8	767.5	33.0	1.72	0.23	0.45
21	14.5	963.9 *	38.5	2.00	0.27	0.49

注：\*は Mann-Whitney U test により 5%水準で有意差を示す.

## 2) 低 O<sub>2</sub> 環境がレッドリーフレタスの光合成特性に与える影響

A は 3%O<sub>2</sub>, 10%O<sub>2</sub> とともに 21%O<sub>2</sub> と同程度の値で推移していた (図 3-2-2). ETR は 21%O<sub>2</sub> が 3%O<sub>2</sub>, 10%O<sub>2</sub> に比べ高くなる傾向を示した (図 3-2-3). また, ΦPSII も 21%O<sub>2</sub> がわずかに高い値で推移していた (図 3-2-4). さらに, 2 つのクロロフィル蛍光パラメータ qP と Fv'/Fm'を見ると, qP は ΦPSII と同様に 21%O<sub>2</sub> が高い値で推移していたのに対し, Fv'/Fm'は各処理区とも同程度の値で推移していた (図 3-2-5, 3-2-6).

## 3) 低 O<sub>2</sub> 環境がレッドリーフレタスの成分含有量に与える影響

葉の窒素含有量は 3%O<sub>2</sub> に比べ 21%O<sub>2</sub> が有意に高い値を示した (図 3-2-7). しかしながら, その差は前節での 3%O<sub>2</sub> 区と 21%O<sub>2</sub> 区の差に比べわずかであった. 一方, 10%O<sub>2</sub> は 21%O<sub>2</sub> との間に有意差は認められなかった. 葉の炭素含有量は 3%O<sub>2</sub>, 10%O<sub>2</sub> とともに 21%O<sub>2</sub> との間に有意差は認められなかった (図 3-2-7). クロロフィル b 含有量は 3%O<sub>2</sub> が 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に高くなっていた (図 3-2-8). 一方, 10%O<sub>2</sub> と 21%O<sub>2</sub> の間には差は認められなかった. アントシアニン含有量は 3%O<sub>2</sub>, 10%O<sub>2</sub> とともに 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に高くなっていた (図 3-2-9). ミネラル含有量では, 3%O<sub>2</sub> のリンが 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に高く, 逆にカリウムおよび硫黄が有意に低くなっていた. 10%O<sub>2</sub> と 21%O<sub>2</sub> との間に有意差は認められなかった.

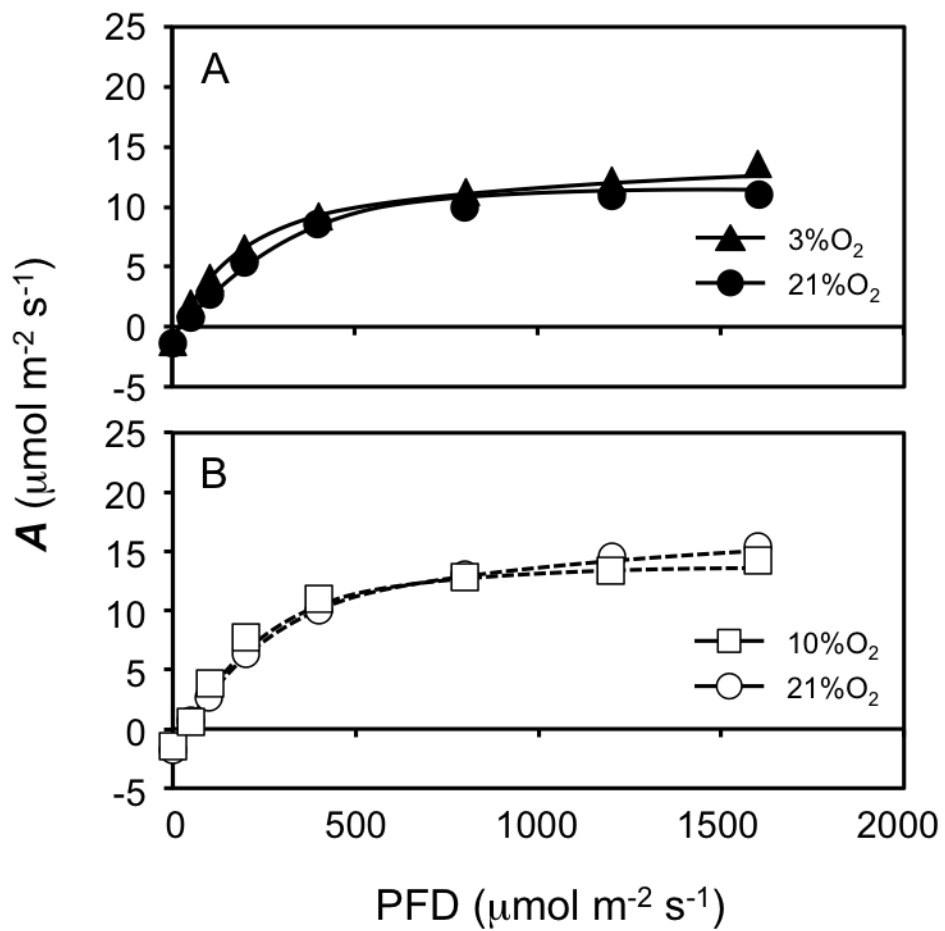


図 3-2-2. 異なる  $\text{O}_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対する光合成速度 (A) 反応 (Light curve). A) 3% $\text{O}_2$  - 21% $\text{O}_2$  比較, B) 10% $\text{O}_2$  - 21% $\text{O}_2$  比較.

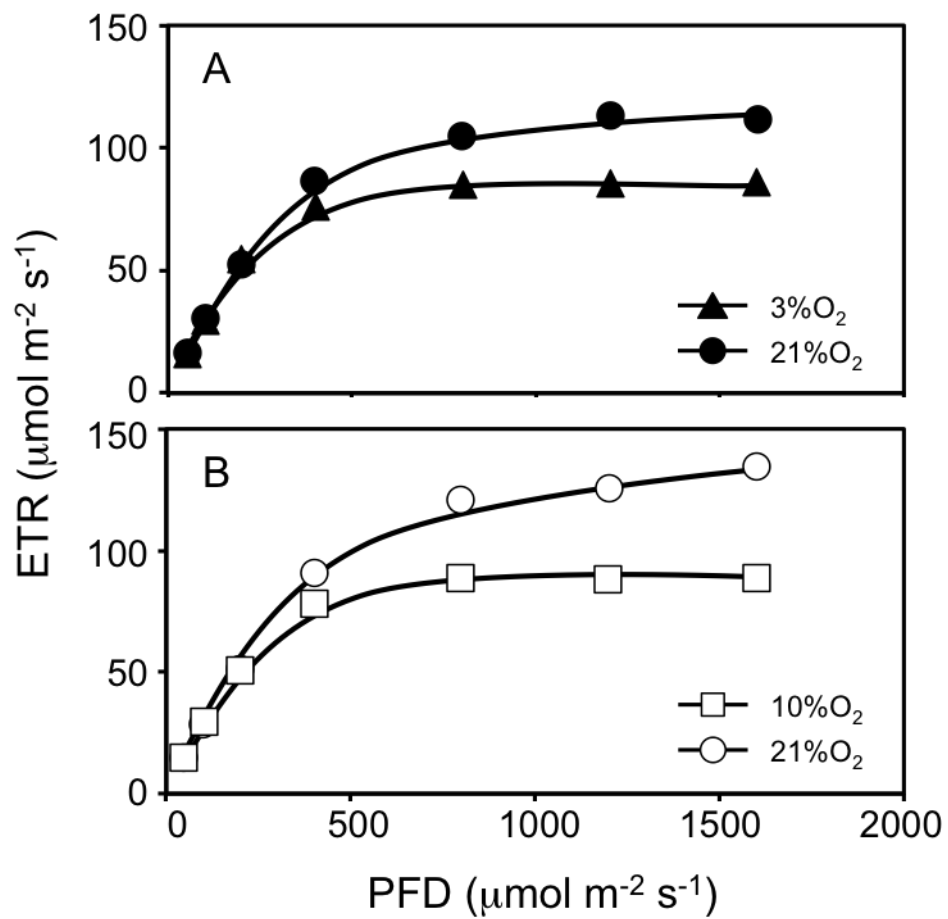


図 3-2-3. 異なる  $\text{O}_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対する電子伝達速度 (ETR) 反応. A) 3% $\text{O}_2$  - 21% $\text{O}_2$  比較, B) 10% $\text{O}_2$  - 21% $\text{O}_2$  比較.

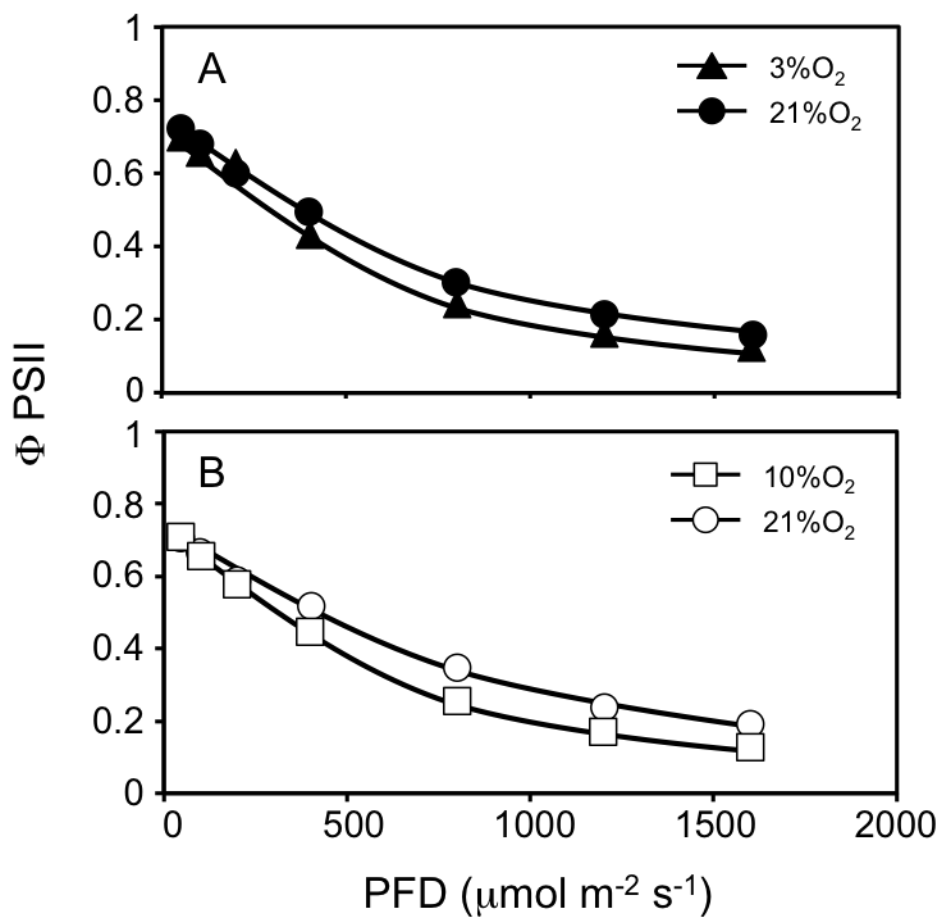


図 3-2-4. 異なる  $\text{O}_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対する光化学系 II の量子収率 ( $\Phi_{PSII}$ ) 反応. A) 3% $\text{O}_2$  - 21% $\text{O}_2$  比較, B) 10% $\text{O}_2$  - 21% $\text{O}_2$  比較.



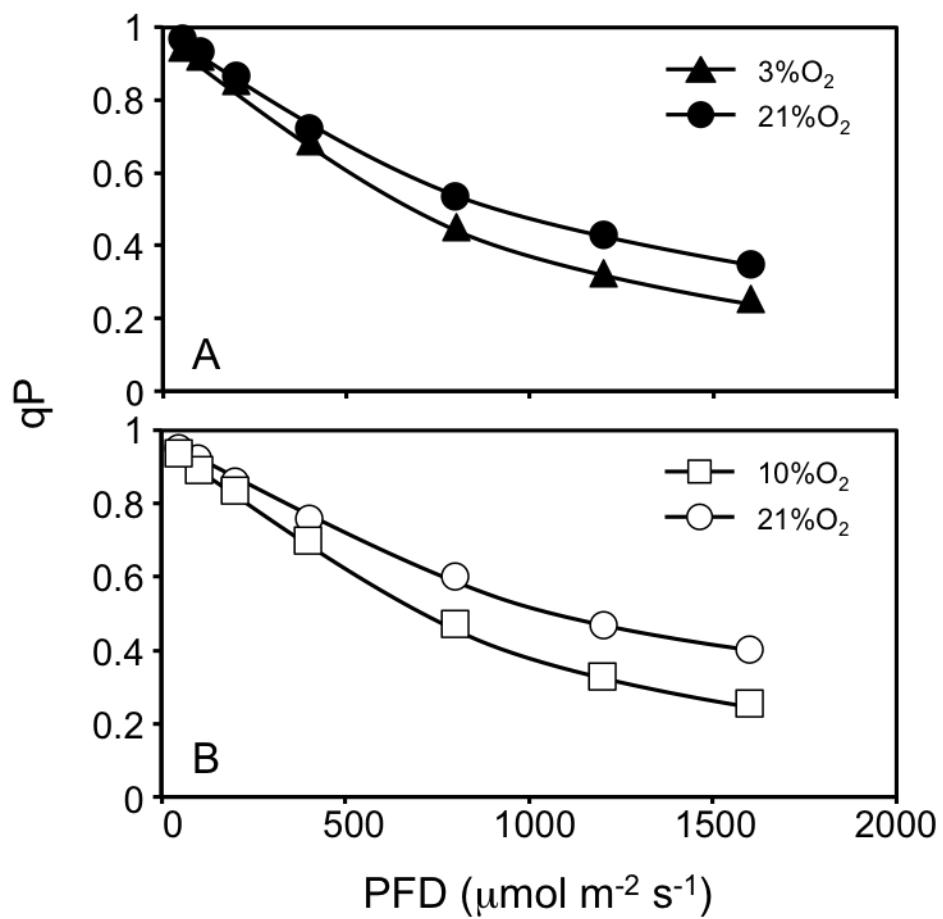


図 3-2-5. 異なる  $\text{O}_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対するクロロフィル蛍光パラメータ ( $qP$ ) 反応. A)  $3\% \text{O}_2$  -  $21\% \text{O}_2$  比較, B)  $10\% \text{O}_2$  -  $21\% \text{O}_2$  比較.

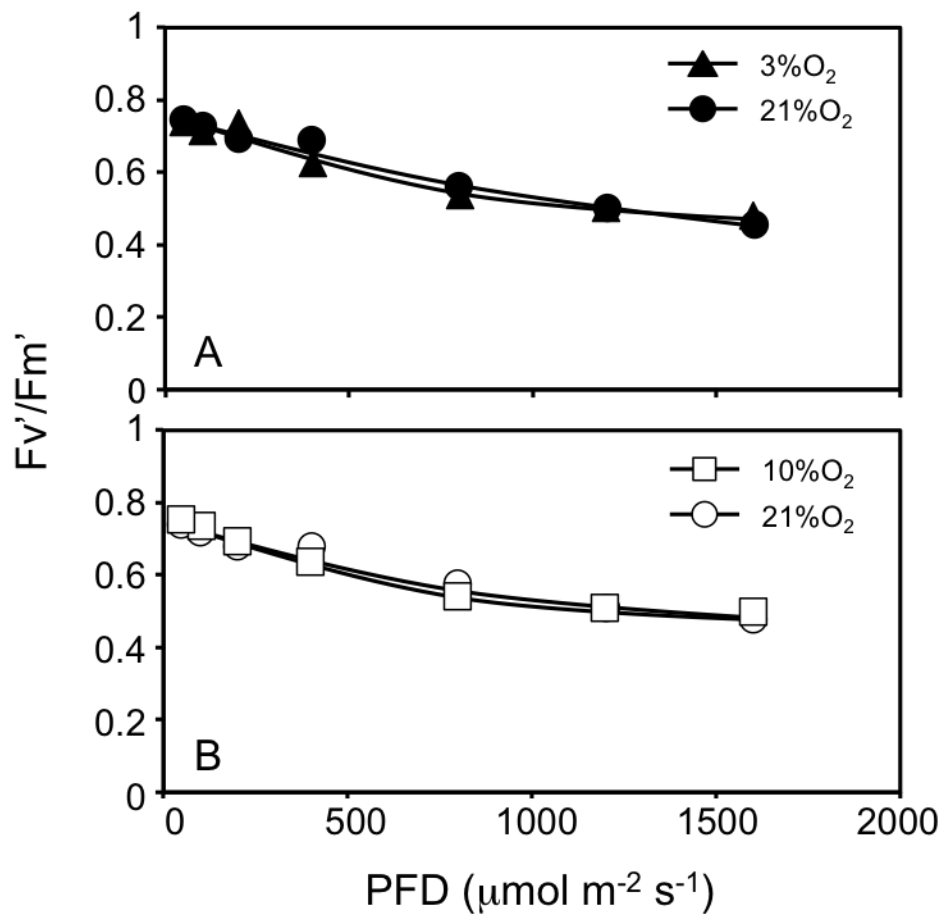


図 3-2-6. 異なる  $\text{O}_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対するクロロフィル蛍光パラメータ ( $F_v'/F_m'$ ) 反応. A) 3% $\text{O}_2$  - 21% $\text{O}_2$  比較, B) 10% $\text{O}_2$  - 21% $\text{O}_2$  比較.

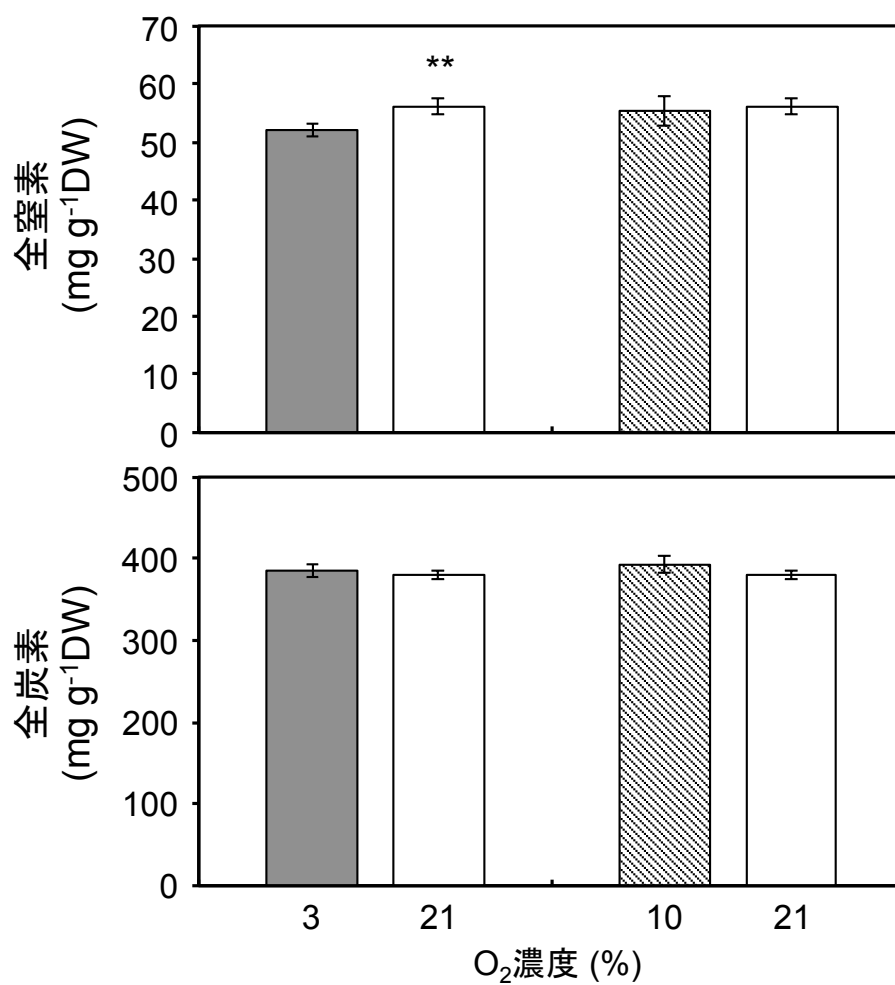


図 3-2-7. 異なる O<sub>2</sub> 濃度で栽培されたレッドリーフレタスの全窒素含有量と全炭素含有量. 注: \*\*は Mann-Whitney U test により 1%水準で有意差を示す.

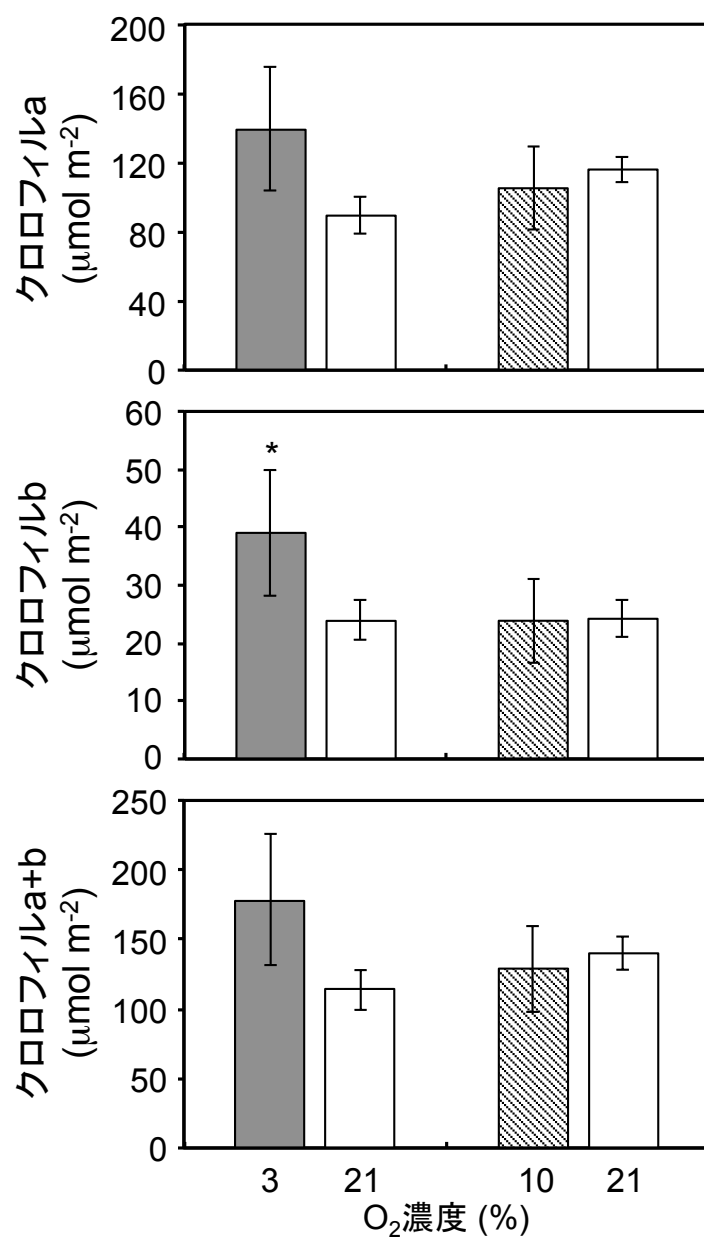


図 3-2-8. 異なる O<sub>2</sub> 濃度で栽培されたレッドリーフレタスのクロロフィル含有量. 注: \*は Mann-Whitney U test により 5%水準で有意差を示す.

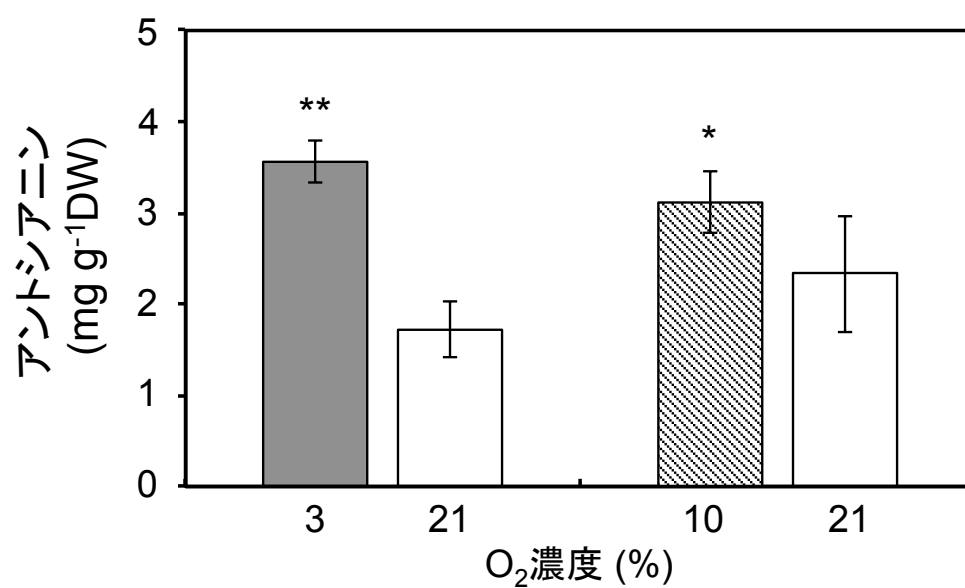


図 3-2-9. 異なる O<sub>2</sub> 濃度で栽培されたレッドリーフレタスのアントシアニン含有量. 注: \*\*, \*は Mann-Whitney U test により 1, 5%水準で有意差を示す.

表 3-2-2. 異なる O<sub>2</sub> 濃度で栽培されたレッドリーフレタスのミネラル含有量.

O <sub>2</sub> 濃度 (%)	P	K	S	Ca	Mg
	(mg g <sup>-1</sup> DW)				
3	9.71 **	77.4	2.18	7.72	2.97
21	8.04	79.9 **	2.45 **	7.58	3.14
10	7.71	82.5	2.81	6.86	2.94
21	7.79	87.9	2.72	6.97	3.05

注：\*\*は Mann-Whitney U test によりそれぞれ 1%水準で有意差を示す.

### 3.2.4. 考察

#### 1) 異なる O<sub>2</sub> 濃度が生育とミネラル含有量に与える影響

前節の結果と同様に、低 O<sub>2</sub> 濃度区の葉面積は 21%O<sub>2</sub> 濃度下で栽培されたものに比べ有意に低下していた（表 3-2-1）。しかしながら、10%O<sub>2</sub> の葉面積は 3%O<sub>2</sub> との比較時の 21%O<sub>2</sub> と有意差はなかったことから、10%O<sub>2</sub> で常に 21%O<sub>2</sub> に比べ葉面積が低下するとは言い難い。さらに、福山ら（1974）も 2.5%, 5%, 10%, 21%O<sub>2</sub> 濃度で栽培したイネ科植物の比較実験により、10%O<sub>2</sub> と 21%O<sub>2</sub> の葉面積に差が認められないことを述べている。これらのことから、葉面積の展開抑制は 10%付近の O<sub>2</sub> 濃度を上限とし、それ以下の濃度で生じるものと考えられる。

次に、3%区の SLA は前節同様に有意に低下しており、葉が厚くなっていることが示唆された。Iwabuchi et al.（1996）と Rajapakse et al.（2009）も、低 O<sub>2</sub> 分圧下（10 kPa と 6 kPa）で栽培されたリーフレタスの葉が厚くなることを報告している。前節において、葉が厚くなるのには窒素吸収の阻害が関係していると考察した。本実験の結果を見ると、やはり 3%O<sub>2</sub> においては 21%O<sub>2</sub> に比べ地上部の全窒素含有量が有意に低下しているのに対し、SLA に差がなかった 10%O<sub>2</sub> と 21%O<sub>2</sub> の間に有意差は認められなかった（図 3-2-7）。このことから、窒素吸収の低下によりセルロースなどの炭水化物やリグニンなどの二次代謝産物の蓄積が生じたことにより葉が厚くなったと推察される。

窒素吸収は他の養分吸収と同様に呼吸により生産されたエネルギーに依存している（Taiz and Zeiger, 2004）。さらに、呼吸速度は大気中の O<sub>2</sub> 濃度が 5%以下になると減少することが知られている（Taiz and Zeiger, 2004）。つまり言い換えると、10%の O<sub>2</sub> 濃度下では呼吸は O<sub>2</sub> 濃度の影響をほとんど受けないと考えられ

る。本実験において、10%O<sub>2</sub>ではいずれの元素含有量でも21%O<sub>2</sub>との間に有意差は認められなかったのに対し、3%O<sub>2</sub>では21%O<sub>2</sub>に比べ必須元素であるカリウムや硫黄の含有量が低下していることが明らかとなった（表 3-2-2）。Rajapakse et al. (2009) も同様に、低 O<sub>2</sub> 分圧下におけるカリウムと硫黄の低下を報告している。このことから、3%O<sub>2</sub> では養分吸収が阻害されており、低 O<sub>2</sub> 環境により呼吸が影響を受けていたと推察される。

一方、リン含有量は3%区で有意に増加していた。リンは光合成、呼吸、エネルギー代謝に関わる重要な成分である（渡邊ら, 1999）。Rajapakse et al. (2009) の実験では、低 O<sub>2</sub> 分圧区と標準区の間にリン含有量で差は認められなかった。彼らの実験では、低 O<sub>2</sub> 分圧区の O<sub>2</sub> 濃度は 6 kPa と本実験に比べ高く、かつ明暗期を通じた処理が行われていた。この O<sub>2</sub> 濃度や処理期間の違いがリン含有量に影響を与えた可能性が考えられる。

## 2) 異なる O<sub>2</sub> 濃度がアントシアニン含有量に与える影響

前節でも認められたレッドリーフレタス葉の暗赤色化がアントシアニンの蓄積であると予想し本実験で分析したところ、3, 10%O<sub>2</sub> とともに 21%O<sub>2</sub> に比べ有意にアントシアニン含有量が増加していた（図 3-2-9）。アントシアニンは光や温度、乾燥などの環境ストレスにより蓄積することが知られている（Chalker-Scott, 1999）。さらに、アントシアニンを含む二次代謝産物であるフェノール性化合物は窒素欠乏やリン欠乏によって生じることが知られている（堀口, 1989 ; 三村, 1999）。Rajapakse et al. (2009) の実験においても、アントシアニン含有量が高まった 6 kPaO<sub>2</sub> 分圧区では、窒素含有量が低下していた。彼らはアントシアニン



含有量の増加は、低  $O_2$  環境下で発生したエチレンの作用によるものであると考察したが、おそらくは連続的な低  $O_2$  処理による呼吸の低下、それに伴う窒素吸収の低下によるものであると推察される。

本実験においても、前述したように 3% $O_2$  の全窒素含有量は 21% $O_2$  に比べ有意に低下しており、その要因は低  $O_2$  環境による呼吸の抑制であると考えられた。しかしながら、アントシアニン含有量は全窒素含有量に差がなかった 10% $O_2$  においても有意に増加していたことや、本実験では呼吸を抑制しないように暗期の  $O_2$  濃度を高めていたことを考えると、アントシアニン含有量には窒素欠乏やリン欠乏以外の要因も関わっており、それが、前節でも考察したように低  $O_2$  環境により光呼吸系が抑制されたことによる、光ストレスの影響であると推察された。

そこで、クロロフィル蛍光の測定結果を見ると、低  $O_2$  区の ETR および  $\Phi PSII$  が 21%区に比べ低くなる傾向を示し、クロロフィル蛍光パラメータの  $qP$  も低下傾向を示した (図 3-2-3, 3-2-4, 3-2-5)。一方、もう一つのクロロフィル蛍光パラメータである  $Fv'/Fm'$  には低下傾向は認められなかった (図 3-2-6)。前節で述べたように、 $qP$  と  $Fv'/Fm'$  はそれぞれ「光化学系 II から光合成および光呼吸へ流れた電子の割合」と「測定光照射時における光化学系 II の量子収率」を示している。つまり、 $qP$  の低下は光化学系 II 以降の過程での電子の滞りを、 $Fv'/Fm'$  は光化学系 II 自体の障害を示している (園池, 2003)。本実験においては  $qP$  が低下していたことから、光化学系 II 以降の過程で何らかの障害が生じており、このことが光ストレスとしてアントシアニンの蓄積に関係していると推察されたが、本実験ではどの過程に障害が生じていたかについては明らかでない。

## 2) 異なる O<sub>2</sub> 濃度が光合成特性および葉の窒素含有量に与える影響

前節では、3%O<sub>2</sub> 区、21%O<sub>2</sub> 区ともに *A* の値は同程度であった (図 3-1-5). この要因として、測定時の 1,500  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  という高い CO<sub>2</sub> 濃度により差が顕在化しなかった可能性と、明暗期を通じて O<sub>2</sub> 濃度が 10%以下に維持されたことにより呼吸が低下した可能性の 2 点が考えられた. 本実験では、これらの点を考慮し、CO<sub>2</sub> 濃度を 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  に変更し、暗期開始時には O<sub>2</sub> 濃度を 17%以上に制御して栽培を行った. このことから、本実験で栽培した低 O<sub>2</sub> 区のレッドリーフレタスは高 CO<sub>2</sub> 濃度による光呼吸の抑制や、低 O<sub>2</sub> 濃度による呼吸の抑制はわずかであったと考えられる. しかしながら、*A* の測定結果を見ると 3%O<sub>2</sub>、10%O<sub>2</sub> ともに 21%O<sub>2</sub> と同様の値を示し、低 O<sub>2</sub> 処理による *A* の増加は認められなかった (図 3-2-2).

この結果から 2 つの仮説が立てられる. 1 つは、長期の低 O<sub>2</sub> 環境にレッドリーフレタスが馴化したという仮説である. 実際、短期的な高 CO<sub>2</sub> 処理では *A* が高まるが、長期的な高 CO<sub>2</sub> 処理では初期に見られた *A* の増加が認められなくなる” ダウンレギュレーション (または馴化)” が生じることが知られている (牧野, 2013). Nakano et al. (1997) は異なる窒素栄養条件下で、大気 CO<sub>2</sub> 濃度と高 CO<sub>2</sub> 濃度環境で栽培したイネの葉の窒素含有量を調査した. その結果、高 CO<sub>2</sub> 環境下では Rubisco の絶対量は減少していたが、葉の全窒素含有量に占める Rubisco 量の割合は生育時の CO<sub>2</sub> 濃度に関係なく一定であることを明らかにした. このことから、彼らは長期の高 CO<sub>2</sub> 環境下における光合成の馴化は、特定の酵素やタンパク質の減少や活性抑制によるものではなく、単純に葉への窒素供給量の減少によるものであると述べている. 前節および本実験においても、3%O<sub>2</sub>

では葉の窒素含有量が有意に低下していた (図 3-1-3, 3-2-7). このことから, 3%の  $O_2$  濃度環境下で  $A$  が増加しなかった要因として, 高  $CO_2$  濃度の実験と同様に葉への窒素供給量の減少が考えられる.

もう一つの可能性として,  $A$  を増加させる  $O_2$  濃度は 3%と 10%の間にあるという仮説である. 前述したように, 3%の  $O_2$  濃度下では呼吸速度が低下するのに対し, 10%の  $O_2$  濃度では呼吸は影響を受けていないと推察される. Rubisco での  $CO_2$  と  $O_2$  の取り込み反応は, 酵素の同じ触媒部位で生じる反応であるため, 互いの濃度に依存することが知られている (Taiz and Zeiger, 2004). そのため,  $O_2$  濃度が高まる (または  $CO_2$  濃度が低下する) と Rubisco のカルボキシレーション反応は減少し光合成が低下する. 逆に,  $CO_2$  が高まる (または  $O_2$  濃度が低下する) とオキシゲネーション反応が減少し光合成が増加する. しかしながら, 低すぎる  $O_2$  濃度は呼吸を抑制するため, 前述したような窒素吸収の低下などを引き起こし, 結果的に光合成の低下要因となる.

前節や本実験で処理した 3%の  $O_2$  濃度では, 光呼吸は抑えられ, 短期的には光合成速度が増加するが, 長期的には呼吸が抑制されるため光合成速度は増加しなかったと推察される. 逆に, 10%の  $O_2$  濃度では光呼吸の抑制割合も低く, さらに呼吸も行われているため光合成速度は増加しなかったと推察される. 以上の考察から, 光呼吸を抑制しつつ, 呼吸や暗呼吸を過剰に抑制せず光合成速度を高められる  $O_2$  濃度が 3%と 10%の間に存在すると考えられる.

### 第3節 レッドリーフレタスの生育およびポリフェノール類蓄積に与える低酸素処理期間の影響

#### 3.3.1. はじめに

本実験では、低 O<sub>2</sub> 処理期間がレッドリーフレタスの生育、機能性成分含有量（ポリフェノールおよびアントシアニン含有量）に与える影響を明らかにすることを目的とした。前節までに行ってきた 14 や 20 日間という長期の低 O<sub>2</sub> 処理では、個体サイズが小さくなり、葉が厚くなるなど生食用の野菜としては不向きな生育を示した。しかし、アントシアニンのような機能性成分の含有量が高い野菜の生産は、野菜に付加価値を付ける点で重要となる。そこで本実験では、低 O<sub>2</sub> 処理の栽培現場での応用を視野に入れ、個体サイズに影響を与えず、総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量を高めることができるかに着目した。

#### 3.3.2. 材料および方法

##### 1) 育苗方法および栽培環境

供試材料にレッドリーフレタス (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*) ‘サンブライト’を用いた。播種方法、人工気象器内での育苗環境、育苗期間および液肥組成は第3章第1節に準じた。播種から 14 日後、苗を育苗用の栽培棚に移植し、栽培実験まで 25 日間液肥を用いて育苗した。育苗棚の栽培環境も第3章第1節に準じた。

## 2) 低 O<sub>2</sub> 処理方法

低 O<sub>2</sub> 濃度環境下での収穫直前 3 日間の栽培実験を行った．上記の方法で栽培したレッドリーフレタスを各処理区 10 個体ずつ移植した．低 O<sub>2</sub> 処理前に，同様に育苗をした 5 個体をサンプリングし，第 3 章第 1 節と同様の方法で生育調査を行った．低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度は 2%，標準室は対照区として大気 O<sub>2</sub> 濃度 (21%) で処理を行った．CO<sub>2</sub> 濃度は 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ，室温は 21 °C，PFD は赤青 LED を用い 180, 350  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の 2 条件とし，明暗期はそれぞれ 12 時間（明期 6:00~18:00）で行った．本研究では，低 O<sub>2</sub> 濃度処理は明暗期を通じて行った．その他の環境条件，液肥組成および CO<sub>2</sub> 制御装置，養液循環ポンプ，養液エアレーションの稼働時間は第 3 章第 2 節に準じて行った．

栽培実験 3 日目にレッドリーフレタスを各処理区から 4 個体収穫し，第 3 章第 1 節と同様の方法で生育調査を行った．また，葉面積と地上部乾物重の値から SLA を算出した（第 3 章第 1 節参照）．乾物重の測定後，サンプルを粉砕し，粉末サンプル 25 mg を NC アナライザーによる全窒素・炭素含有量の測定に供試した．

## 3) クロロフィル含有量測定方法

生育調査で収穫したレッドリーフレタスの各個体の最大展開葉から No. 5 のコルクボーラーを用いてリーフディスク 5 枚 (2.4 cm<sup>2</sup>) を打ち抜き，第 3 章第 2 節と同様の方法で抽出，測定を行った．

#### 4) 総ポリフェノール含有量測定方法

総ポリフェノール含有量の測定のために、生育調査個体とは別に 4 個体を収穫し、直ちに $-80^{\circ}\text{C}$  で 72 時間凍結乾燥した。粉末サンプル 100 mg を少量の海砂とともに乳鉢にいれ、99.7%メタノール 5 ml を加え磨砕した。サンプルを試験管に移し、乳鉢を 99.7%メタノール 5 ml で洗い、洗液を試験管に合わせた。 $12^{\circ}\text{C}$  の冷蔵庫内で 2 時間静置後、3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄み 0.5 ml を試験管に移した。上澄み液にフォーリン・チオカルト試薬 0.2 ml，飽和炭酸ナトリウム溶液 0.5ml，超純水 4.3 ml を順番に素早く加え，室温で 1 時間静置し発色させた。分光光度計を用いサンプル液の 725 nm の吸光度を測定し，没食子酸で作成した検量線を用いて，総ポリフェノール含有量を算出した（金谷，2006）。

#### 5) アントシアニン含有量測定方法

アントシアニン含有量の測定は総ポリフェノール含有量測定と同じサンプルを用いた。サンプルは乾燥および粉碎後，第 3 章第 2 節に準じて抽出，測定を行った。

#### 6) 統計処理

結果は，Mann-Whitney U test により 5%水準で有意差検定を行った。

### 3.3.3. 結果

#### 1) 3 日間の低 O<sub>2</sub> 処理がレッドリーフレタスの生育に与える影響

見た目の大きさでは、2%の O<sub>2</sub> 濃度環境下で栽培された個体も 21%の O<sub>2</sub> 濃度環境下で栽培された個体と同程度であった。葉色は 2%-350PFD の赤みが濃く、次いで 2%-180PFD と 21%-350PFD が同程度の赤みであった（図 3-3-1）。葉数、葉面積、葉新鮮重、根乾物重では 180PFD、350PFD とともに処理区間で有意差は認められなかった（表 3-3-1）。一方、葉乾物重は 180PFD、350PFD とともに 2% O<sub>2</sub> が有意に高い値を示し、SLA は有意に低い値を示した。

#### 2) 3 日間の低 O<sub>2</sub> 処理がレッドリーフレタスのポリフェノール類蓄積に与える影響

全窒素含有量は 180PFD、350PFD とともに 21%O<sub>2</sub> が有意に高い値を示した（図 3-3-2）。全炭素含有量は 180PFD、350PFD とともに処理区間で有意差は認められなかった（図 3-3-2）。クロロフィル含有量には処理区間で有意差は認められなかった（図 3-3-3）。一方、ポリフェノール含有量は 180PFD において 2%O<sub>2</sub> が有意に高い値を示した（図 3-3-4）。アントシアニン含有量は 350PFD において 2%O<sub>2</sub> が有意に高い値を示していた（図 3-3-4）。

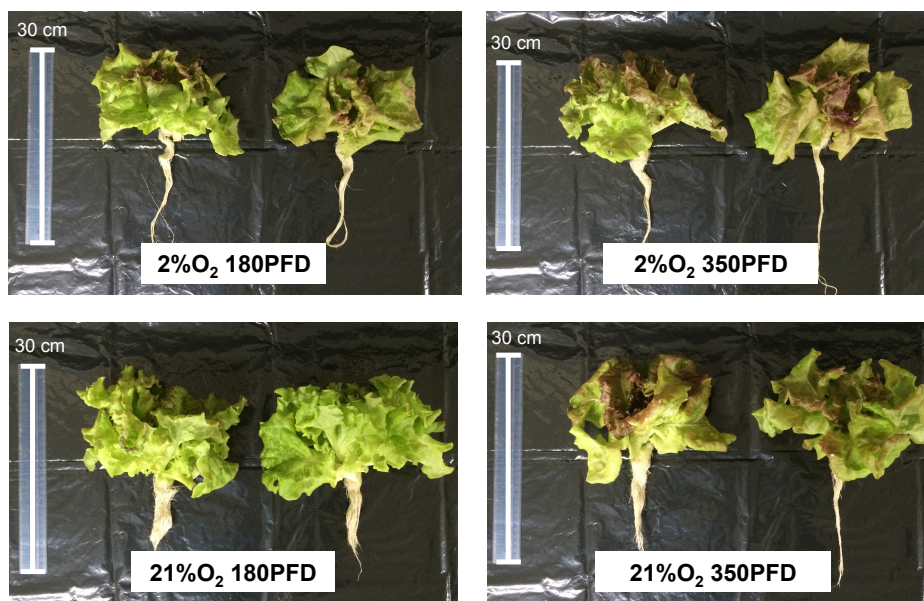


図 3-3-1. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件で 3 日間栽培された収穫時のレッドリーフレタス.

表 3-3-1. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件で 3 日間栽培されたレッドリーフレタスの生育に与える影響.

PFD	$O_2$ 濃度	葉数 (枚 plant <sup>-1</sup> )	葉面積 (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )	葉新鮮重 (g plant <sup>-1</sup> )	葉乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )	根乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )	SLA (cm <sup>2</sup> mg <sup>-1</sup> )
180	2	12.3	1062.8	39.2	2.68 *	0.56	0.41
	21	14.8	1220.4	42.2	2.20	0.59	0.60 *
350	2	13.5	1158.7	40.6	3.59 *	0.58	0.32
	21	12.8	960.6	33.5	2.21	0.62	0.50 *

注：\*は Mann-Whitney U test により 5%水準で有意差を示す.



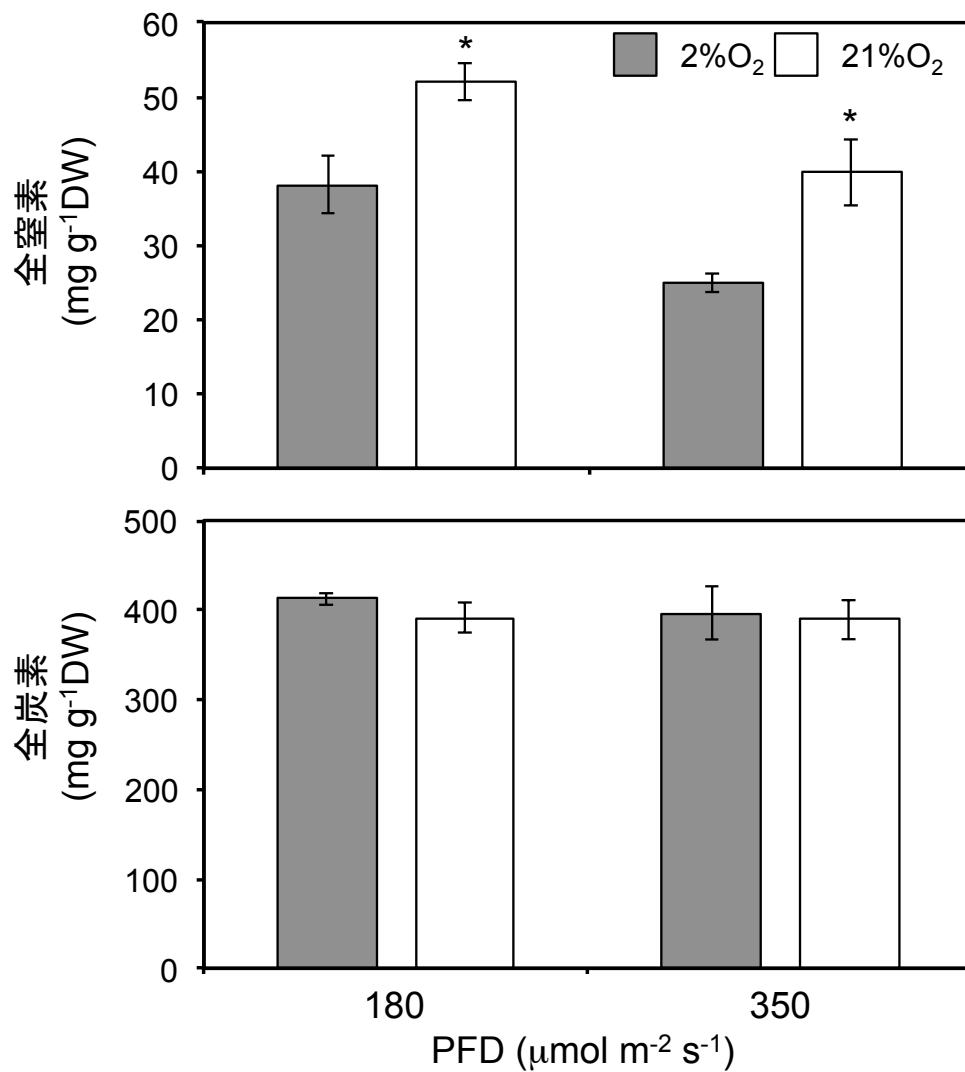


図 3-3-2. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件で 3 日間栽培されたレッドリーフレタスの全窒素含有量と全炭素含有量. 注: \*は Mann-Whitney U test により 5%水準で有意差を示す.

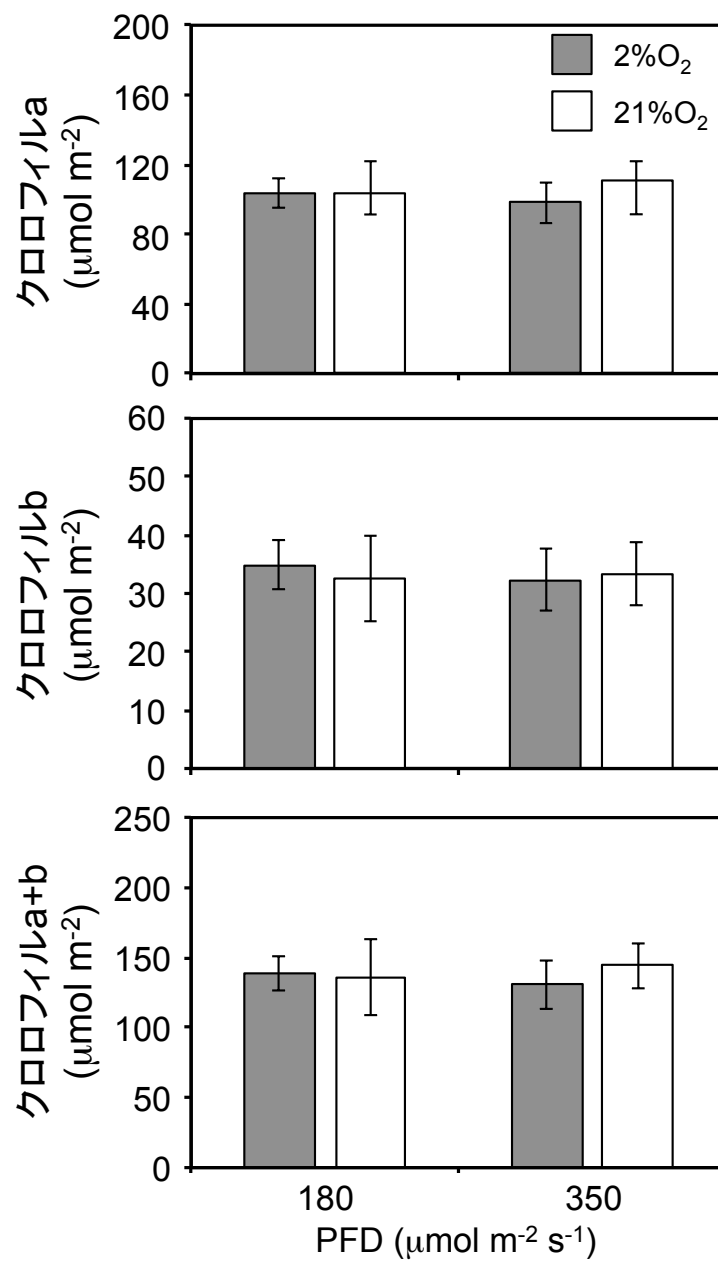


図 3-3-3. 異なる  $\text{O}_2$  濃度および PFD 条件で 3 日間栽培されたレッドリーフレタスのクロロフィル含有量.

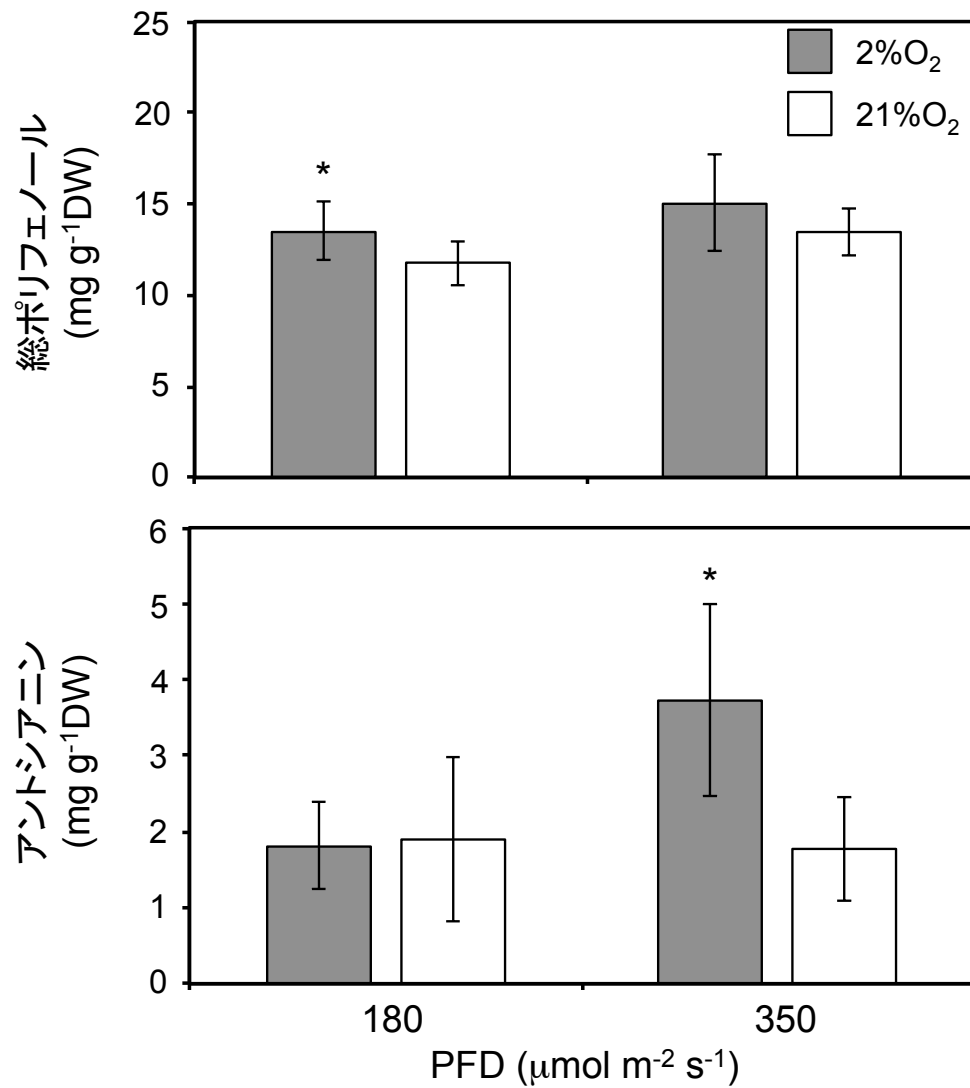


図 3-3-4. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件で 3 日間栽培されたレッドリーフレタスの総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量. 注: \*は Mann-Whitney U test により 5%水準で有意差を示す.

### 3.3.4. 考察

#### 1) 3 日間の低 O<sub>2</sub> 処理がレッドリーフレタスの生育に与える影響

3 日間の低 O<sub>2</sub> 処理では前節までに行った 14 日や 20 日の処理とは異なり，葉数や葉新鮮重は低下しないことが明らかとなった（表 3-3-1）．逆に，葉乾物重は 3 日間の処理でも低 O<sub>2</sub> 区が有意に増加し，この結果は PFD を変えても同様の結果となることも明らかとなった．

秋田（1980）は水稻を用いた詳細な低 O<sub>2</sub> 処理実験により，乾物生産におよぼす低 O<sub>2</sub> 濃度の影響を調査した．その結果，3%の O<sub>2</sub> 濃度処理を明期のみ 20 日間行なった結果，乾物生産が増加することを明らかにした．秋田は実験の結果から，低 O<sub>2</sub> は光呼吸抑制を通して乾物生産を高める効果があると同時に，暗呼吸抑制による乾物生産の低下をもたらす，乾物生産の増減は光呼吸抑制によるプラスと暗呼吸抑制によるマイナスのバランスにより決定されていると考察している．本実験では，明暗期を通じて処理を行っているため，窒素含有量の低下からも分かるように，暗呼吸だけでなく呼吸抑制によるマイナスも生じていた．それにもかかわらず乾物生産が増加したことから，低 O<sub>2</sub> による光呼吸抑制のプラス効果の方が，暗呼吸や呼吸の抑制によるマイナス効果よりも影響していたためと考えられる．

#### 2) 3 日間の低 O<sub>2</sub> 処理がレッドリーフレタスのポリフェノール類蓄積に与える影響

前節の実験により，低 O<sub>2</sub> 環境で栽培したレッドリーフレタスではアントシアニン含有量が高まることが明らかとなった（図 3-2-9）．近年では，植物工場で

生産する野菜に付加価値をつけることを目的として、ポリフェノール類を増加させる栽培方法の開発が行われている（岩井ら，2009；庄子ら，2010；高田と池田，2015）。仮に 3 日という短期的な低  $O_2$  処理でこれらの機能性成分含有量が高まれば，低  $O_2$  処理による機能性成分の付加技術を生産現場で応用できる可能性があると考えた。

本実験の結果から，3 日間の低  $O_2$  処理でも総ポリフェノールとアントシアニン含有量は増加することが明らかとなった（図 3-3-4）。アントシアニン含有量は 180PFD 環境下では増加しないが，350PFD 環境下では増加することが明らかとなった。アントシアニン蓄積と光環境との関係性については，ポリフェノール類の中でも特に研究が行われており，光質や光強度がアントシアニン蓄積に与える影響が明らかにされている（前川ら，2006；岩井ら，2009；庄子ら，2010）。しかしながら本実験のアントシアニン含有量の結果を見ると，180PFD 環境下では 2% $O_2$  の平均値が 1.808，21%  $O_2$  の平均値が 1.895 と同程度であったの対し，350PFD 環境下では 2% $O_2$  の平均値が 3.729，21%  $O_2$  の平均値が 1.774 と約 2 倍に増加していた。この結果から，低  $O_2$  濃度かつ強 PFD 環境下で栽培することにより，アントシアニン含有量が高まると示唆された。

## 第4章 栽培環境における酸素濃度と光環境が葉菜類の生育 および光合成特性に与える影響

### 第1節 異なる酸素濃度および光強度がレッドリーフレタスの 生育，光合成特性およびポリフェノール類蓄積に与え る影響

#### 4.1.1. はじめに

前章の実験により，低  $O_2$  環境下では葉面積および SLA の低下，窒素含有量の低下，ポリフェノール類の蓄積が生じることが明らかとなり，低  $O_2$  かつ強 PFD 環境下ではポリフェノール類の含有量が高まることが示唆された．また，低  $O_2$  環境には光呼吸抑制と呼吸抑制のバランスから  $A$  を高める最適な濃度があり，3 ～10%  $O_2$  の間に最適濃度が存在すると予想した．

そこで本実験では，低  $O_2$  環境に加え光強度がレッドリーフレタスの生育，光合成特性およびポリフェノール類蓄積に与える影響を明らかにすることを目的とし，異なる5条件の  $O_2$  濃度（0.4，2，7，10，21%）環境下と異なる2条件の PFD（180，350  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）での14日間の栽培実験を行った．

#### 4.1.2. 材料および方法

##### 1) 育苗方法および栽培環境

供試材料にレッドリーフレタス（*Lactuca sativa* L. var. *crispa*）‘サンブライト’を用いた．播種方法，人工気象器内での育苗環境，育苗期間および液肥組成は

第3章第1節に準じた。播種から14日後、苗を育苗用の栽培棚に移植し、栽培実験まで14日間液肥を用いて育苗した。育苗棚の栽培環境も第3章第1節に準じた。

## 2) 低 O<sub>2</sub> 処理方法

低 O<sub>2</sub> 濃度環境下での14日間の栽培実験を行った。上記の方法で栽培したレッドリーフレタスを各処理区12個体ずつ移植した。低 O<sub>2</sub> 処理前に、同様に育苗をした5個体をサンプリングし、第3章第1節と同様の方法で生育調査を行った。O<sub>2</sub> 濃度は0.4, 2, 7, 10, 21%の5条件、PFDは180, 350  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の2条件で行った。CO<sub>2</sub> 濃度は400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 、室温は21 °Cとした。明暗期はそれぞれ12時間（明期6:00~18:00）で行った。本研究では、低 O<sub>2</sub> 濃度処理は明暗期を通じて行った。その他の環境条件、液肥組成およびCO<sub>2</sub> 制御装置、養液循環ポンプ、養液エアレーションの稼働時間は第3章第2節に準じた。

栽培実験14日目にレッドリーフレタスを各処理区から5個体収穫し、第3章第1節と同様の方法で生育調査を行った。また、葉面積と地上部乾物重の値からSLAを(第3章第1節参照)、下記の式から相対成長率(Relative growth rate; RGR)を算出した。

$$\text{RGR} = \{\ln(\text{L.DW}) - \ln(\text{L.DW}_0)\} / 14 \text{ 日間}$$

L.DW および L.DW<sub>0</sub> はそれぞれ低 O<sub>2</sub> 処理後および低 O<sub>2</sub> 処理前の地上部乾物重を示す。乾物重の測定後、サンプルを粉砕し、粉末サンプル 25 mg を NC アナ

ライザーによる全窒素・炭素含有量の測定に供試した.

### 3) ガス交換速度およびクロロフィル蛍光測定方法

栽培実験 14 日目に各処理区から 5 個体を選び, 携帯型光合成測定装置を用いてガス交換速度およびクロロフィル蛍光の測定を行った. 測定に使用する葉面積は  $2\text{ cm}^2$  であった. すべての測定は 10:00~16:00 の時間帯で行った. 測定時の PFD は第 3 章第 1, 2 節の結果から, リーフレタスの光飽和点である  $1,200\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  とし, 全体に占める青色光 (470 nm) の割合は 10%とした.  $\text{CO}_2$  濃度は  $400\text{ }\mu\text{mol mol}^{-1}$ , 流量は  $300\text{ }\mu\text{mol s}^{-1}$  とした.  $\text{O}_2$  濃度は栽培環境と同じ濃度に設定し, 21%  $\text{O}_2$  条件での測定には  $\text{CO}_2$  フリーのガスボンベを使用した. 低  $\text{O}_2$  条件での測定には  $\text{N}_2$  ガス発生装置を用い, 各  $\text{O}_2$  濃度に調節した. 温度は  $21\text{ }^\circ\text{C}$ , 湿度は露点発生装置を用いて 60~70%で制御した.

### 4) クロロフィル含有量測定方法

生育調査で収穫したレッドリーフレタスの各個体の最大展開葉から No. 5 のコルクボーラーを用いてリーフディスク 5 枚 ( $2.4\text{ cm}^2$ ) を打ち抜き, 第 3 章第 2 節と同様の方法で抽出, 測定を行った.

### 5) 総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量測定方法

総ポリフェノール含有量の測定のために, 生育調査個体とは別に 5 個体を収穫し, 直ちに  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  で 72 時間凍結乾燥した. サンプルの抽出および測定は第 3 章第 3 節に準じて行った.



アントシアニン含有量の測定は総ポリフェノール含有量測定と同じサンプルを用いた。サンプルは乾燥および粉碎後、第3章第2節に準じて抽出、測定を行った。

#### 6) ショ糖含有量の測定方法

測定には生育調査で収穫した個体の乾燥粉末サンプルを用いた。乾燥サンプル 50 mg に 80%エタノール 5 ml を加え、30 秒間ボルテックス後、75 °C のウォーターバスに 1 時間放置する。室温で冷却後、1,000 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄み液をロータリーエバポレーターにて濃縮乾燥した。残留物を 10 ml の超純水で再溶解させ、0.45  $\mu\text{m}$  のメンブレンフィルター (Advantec) でろ過し分析液とした。分析は高速液体クロマトグラフィー (LC-20AD, Shimadzu) を用いた。検出器は RID-10A (Shimadzu)、カラム温度は 50 °C、流速は 0.8 ml min<sup>-1</sup>、移動層には超純水を用いた。

#### 7) 統計処理

結果は、2 要因の分散分析により 1, 5%水準で、Tukey's test により 5%水準で有意差検定を行った。

#### 4.1.3. 結果

##### 1) 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの生育に与える影響

葉色は O<sub>2</sub> 濃度に応じて顕著に変化した(図 4-1-1). 0.4%および 2%O<sub>2</sub> では PFD に関わらず葉色は鮮やかな赤色を呈していた. 7%O<sub>2</sub> になると 180PFD, 350PFD とともに 21%O<sub>2</sub> より濃赤色を呈していたが, 350PFD の方が 180PFD よりも葉色は濃くなった. 10%-180PFD 区では, 21%-350PFD 区と同程度の葉色となったが, 10%-350PFD 区では 21%O<sub>2</sub> より濃赤色を呈していた. 見た目の大きさは O<sub>2</sub> 濃度が高くなるに従い大きくなり, 10%O<sub>2</sub> では 21%O<sub>2</sub> と変わらない程度の大きさとなった.

葉数, 葉面積, 葉新鮮重は O<sub>2</sub> 濃度が高くなるに従い有意に増加し, 葉数と葉新鮮重では 180PFD, 350PFD とともに 10%O<sub>2</sub> と 21%O<sub>2</sub> の間に有意差は認められなかった(表 4-1-1). 一方, 葉乾物重は 180PFD では O<sub>2</sub> 濃度間で有意差は認められず, 350PFD ではむしろ 2%O<sub>2</sub> が 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に増加し, 7%および 10%O<sub>2</sub> も増加する傾向を示した. 根乾物重では, 0.4%および 2%O<sub>2</sub> が有意に低い値を示した. 分散分析の結果では, 葉数, 葉面積, 葉新鮮重においては PFD 処理, O<sub>2</sub> 濃度処理と PFD 処理の交互作用(O<sub>2</sub> 濃度×PFD)の効果は認められなかったが, 葉および根乾物重においては 1%水準で有意差が認められ, O<sub>2</sub> 濃度処理は全ての項目において処理効果が認められた. SLA は 180PFD, 350PFD とともに 21%O<sub>2</sub> が低 O<sub>2</sub> 濃度区に比べ有意に高く, RGR は 2% O<sub>2</sub> が 7%, 10%, 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示した(図 4-1-2). 分散分析の結果では, SLA, RGR とともに O<sub>2</sub> 濃度処理, PFD 処理, O<sub>2</sub> 濃度×PFD の効果が有意に認められた.

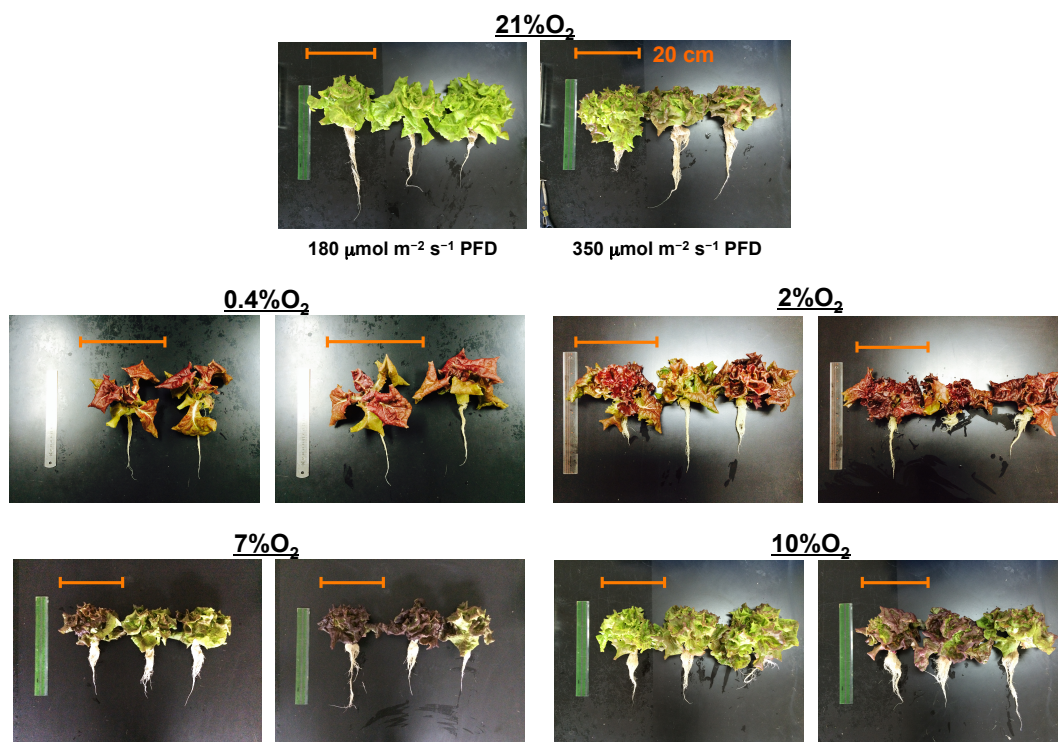


図 4-1-1. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件で栽培された収穫時のレッドリーフレタス.

表 4-1-1. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの生育に与える影響.

PFD ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	O <sub>2</sub> 濃度 (%)	葉数 (plant <sup>-1</sup> )	葉面積 (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )	葉新鮮重 (g plant <sup>-1</sup> )	葉乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )	根乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )
180	0.4	6.4 c	295 d	13.7 c	3.02 a	0.16 b
	2	12.8 b	656 c	30.6 b	3.00 a	0.23 b
	7	14.0 ab	659 c	29.2 b	2.30 a	0.50 a
	10	17.0 a	892 b	47.4 a	2.92 a	0.58 a
	21	16.2 a	1122 a	52.9 a	2.65 a	0.47 a
350	0.4	6.8 d	295 c	13.7 c	2.54 c	0.15 c
	2	12.4 c	653 b	30.9 b	4.12 a	0.33 b
	7	13.4 bc	725 b	34.5 c	3.39 abc	0.74 a
	10	16.4 ab	803 b	50.8 a	4.05 ab	0.86 a
	21	17.4 a	1004 a	55.8 a	3.12 bc	0.82 a
ANOVA	O <sub>2</sub> 濃度	**	**	**	**	**
	PFD	ns	ns	ns	**	**
	O <sub>2</sub> × PFD	ns	ns	ns	**	**

注：異なるアルファベットは Tukey's test により 5%水準で，\*\*は 2 要因の分散分析により 1%水準で有意差を，ns は有意差なしを示す。

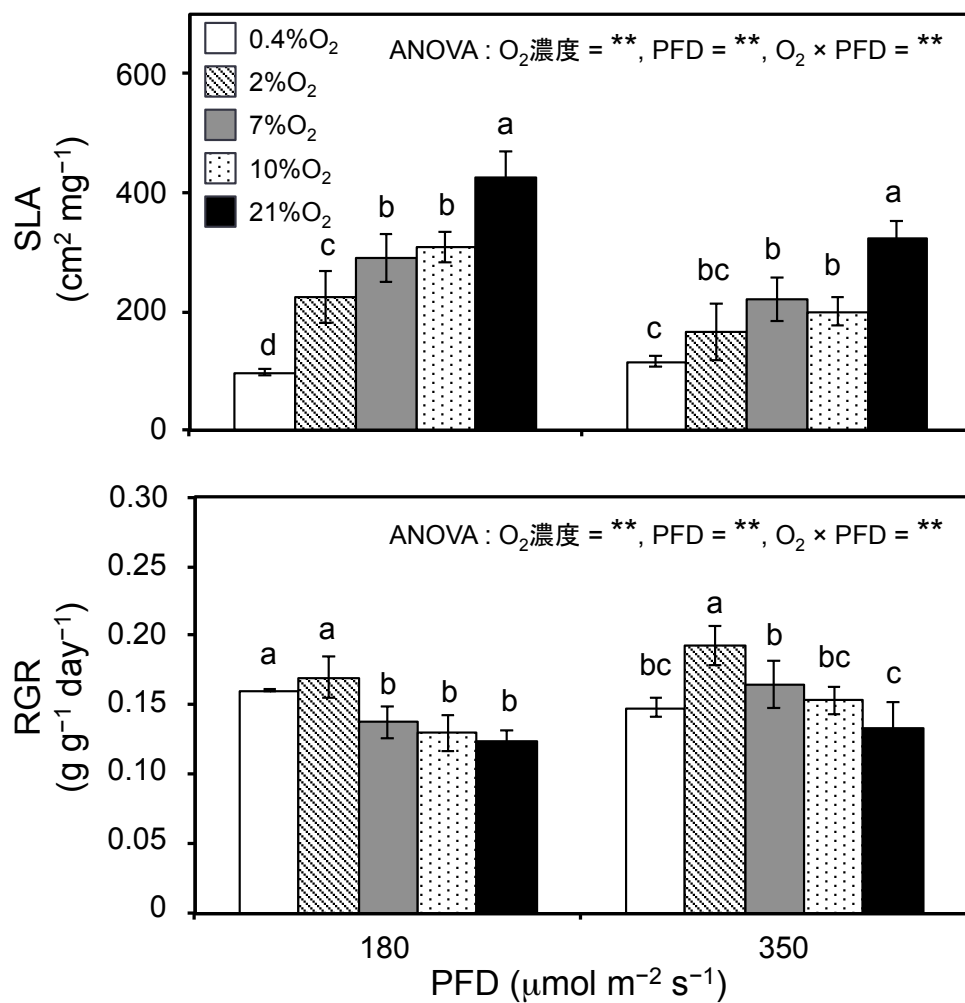


図 4-1-2. 異なる O<sub>2</sub>濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの SLA および RGR に与える影響。バーは標準偏差を示す。異なるアルファベットは Tukey's test により 5%水準で、\*\*は 2 要因の分散分析により 1%水準で有意差を示す。

## 2) 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの光合成特性に与える影響

$A$  は 180PFD, 350PFD とともに 7%O<sub>2</sub> 付近で高まり, 10%O<sub>2</sub> では 21%O<sub>2</sub> と同程度の値を示した (図 4-1-3). 統計的には 7%O<sub>2</sub> は 0.4, 2%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示した. また, 0.4%O<sub>2</sub> の  $A$  は他の O<sub>2</sub> 濃度処理区に比べ有意に低い値を示した. PFD 環境別に見ると, 10%O<sub>2</sub> および 21%O<sub>2</sub> では 350PFD が 180PFD に比べ有意に  $A$  が高い値を示した. 次に,  $\Phi$ PSII も  $A$  同様に 7%O<sub>2</sub> 付近で高い値を示した (図 4-1-3). 統計的には 7%O<sub>2</sub> は 0.4%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示した. PFD 環境別に見ると, 7%O<sub>2</sub> および 10%O<sub>2</sub> では 350PFD が 180PFD に比べ有意に  $\Phi$ PSII が高かった. 分散分析の結果では,  $A$  は O<sub>2</sub> 濃度処理, PFD 処理および O<sub>2</sub> 濃度  $\times$  PFD の効果が認められたが,  $\Phi$ PSII においては O<sub>2</sub> 濃度  $\times$  PFD の効果は認められなかった.

qP も  $A$  や  $\Phi$ PSII と同様の傾向を示し, 7%O<sub>2</sub> 付近で高い値を示した (図 4-1-4). 統計的には 7%O<sub>2</sub> は 0.4%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示した.  $F_v'/F_m'$  も同様に 7%O<sub>2</sub> が 0.4%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示した (図 4-1-4). しかしながら,  $F_v'/F_m'$  の値はいずれの O<sub>2</sub> 濃度においてもほぼ一定の値を示した. 分散分析の結果では, qP においては O<sub>2</sub> 濃度処理および PFD 処理の効果が認められたが,  $F_v'/F_m'$  においては PFD 処理の効果は認められなかった.

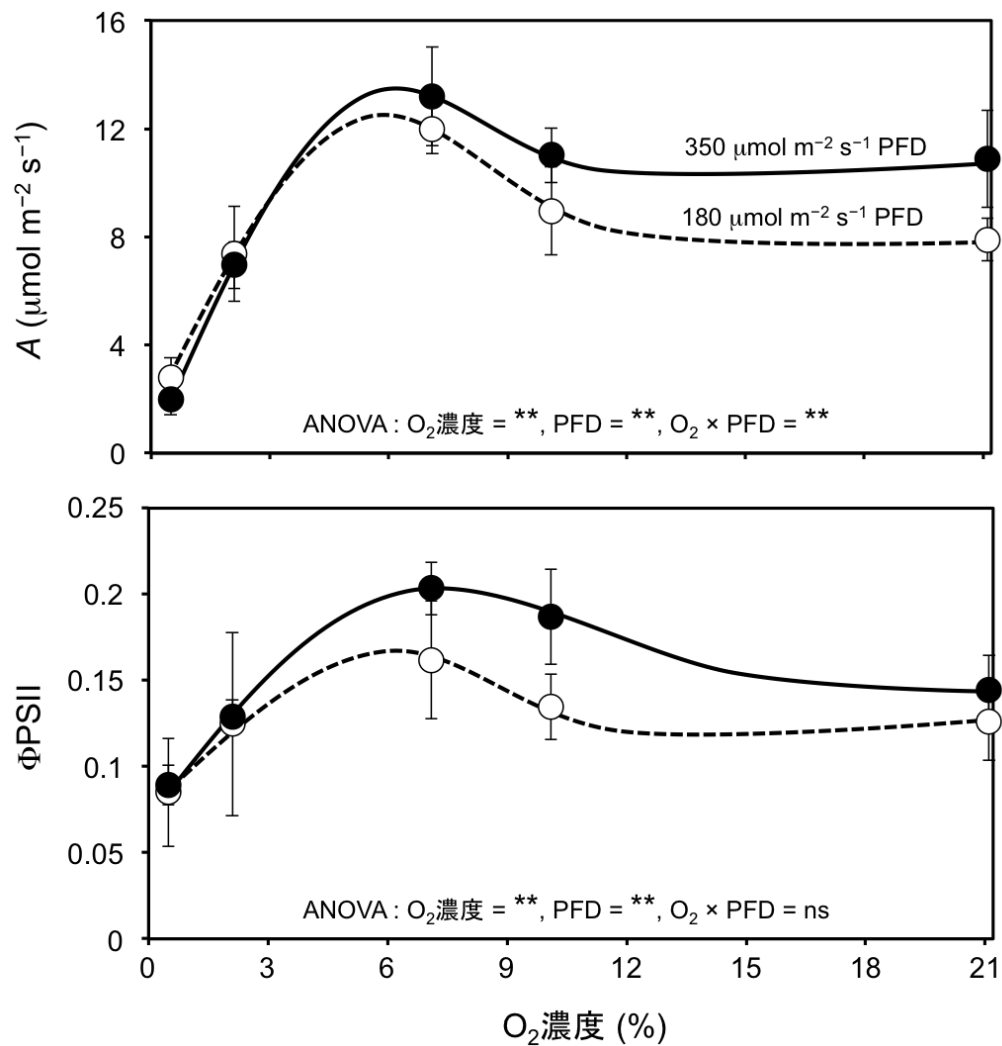


図 4-1-3. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの光合成速度 ( $A$ ) および光化学系 II の量子収率 ( $\Phi_{\text{PSII}}$ ) に与える影響. バーは標準偏差を示す. 注: \*\*は 2 要因の分散分析により 1%水準で有意差を, ns は有意差なしを示す.

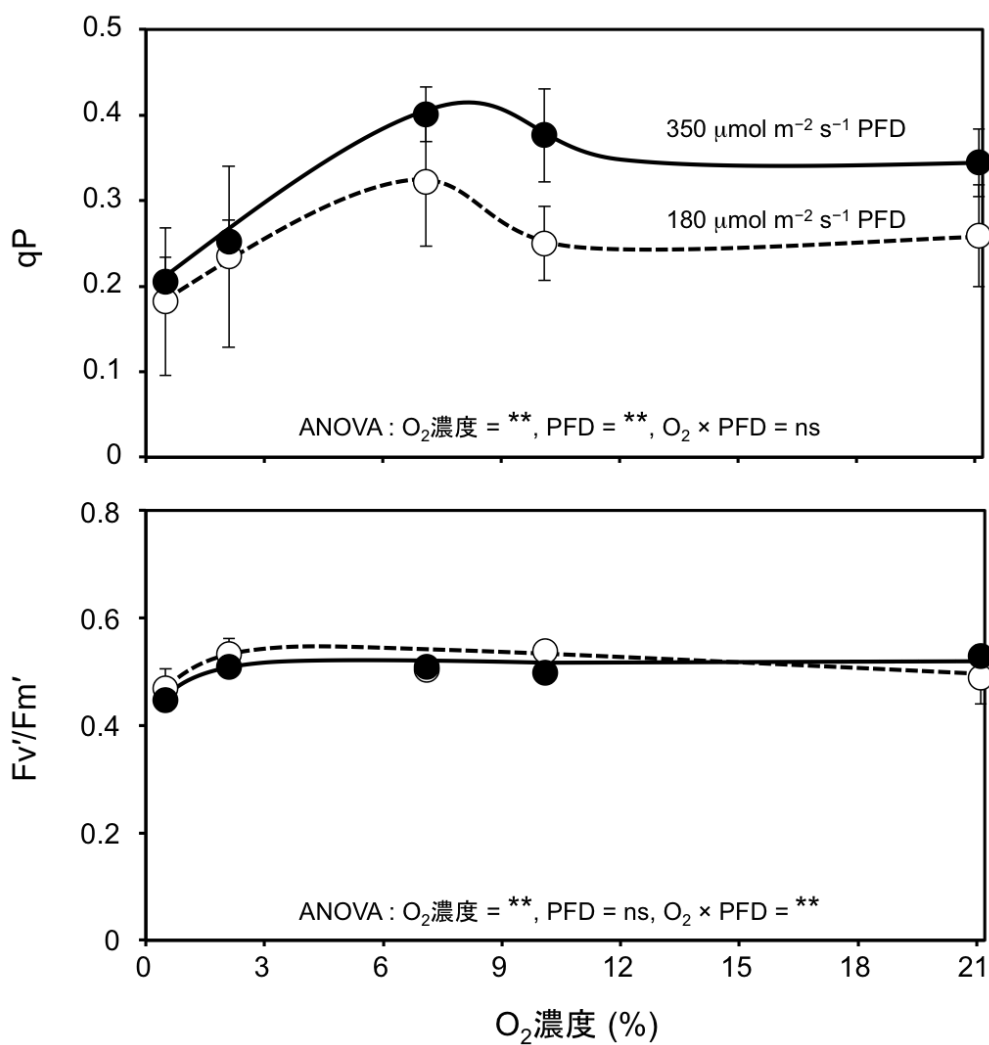


図 4-1-4. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスのクロロフィル傾向パラメーター (qP および Fv'/Fm') に与える影響。バーは標準偏差を示す。注: \*\*は 2 要因の分散分析により 1%水準で有意差を, ns は有意差なしを示す。



### 3)異なる O<sub>2</sub>濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量に与える影響

低 O<sub>2</sub> 処理区の総ポリフェノール含有量は 180PFD 環境下では 10%O<sub>2</sub> よりも 0.4%O<sub>2</sub> が有意に低下していた(図4-1-5). また, 350PFD 環境下においては 0.4%O<sub>2</sub> が他の O<sub>2</sub> 濃度処理区に比べ有意に低下していた. 分散分析の結果では, O<sub>2</sub> 濃度処理および PFD 処理の効果が認められた.

次に, アントシアニン含有量の結果は 180PFD 環境下では 21%O<sub>2</sub> に比べ低 O<sub>2</sub> 処理区が有意に高いか, 高くなる傾向を示した (図 4-1-5). 一方, 350PFD 環境下では 0.4%O<sub>2</sub> が他の低 O<sub>2</sub> 処理区に比べ有意に低く, 21%O<sub>2</sub> と比べても低下する傾向を示した. また, 2, 7, 10, 21%O<sub>2</sub> の間に有意差は認められなかった. 分散分析の結果では, O<sub>2</sub> 濃度処理および O<sub>2</sub> 濃度×PFD の効果が認められた.

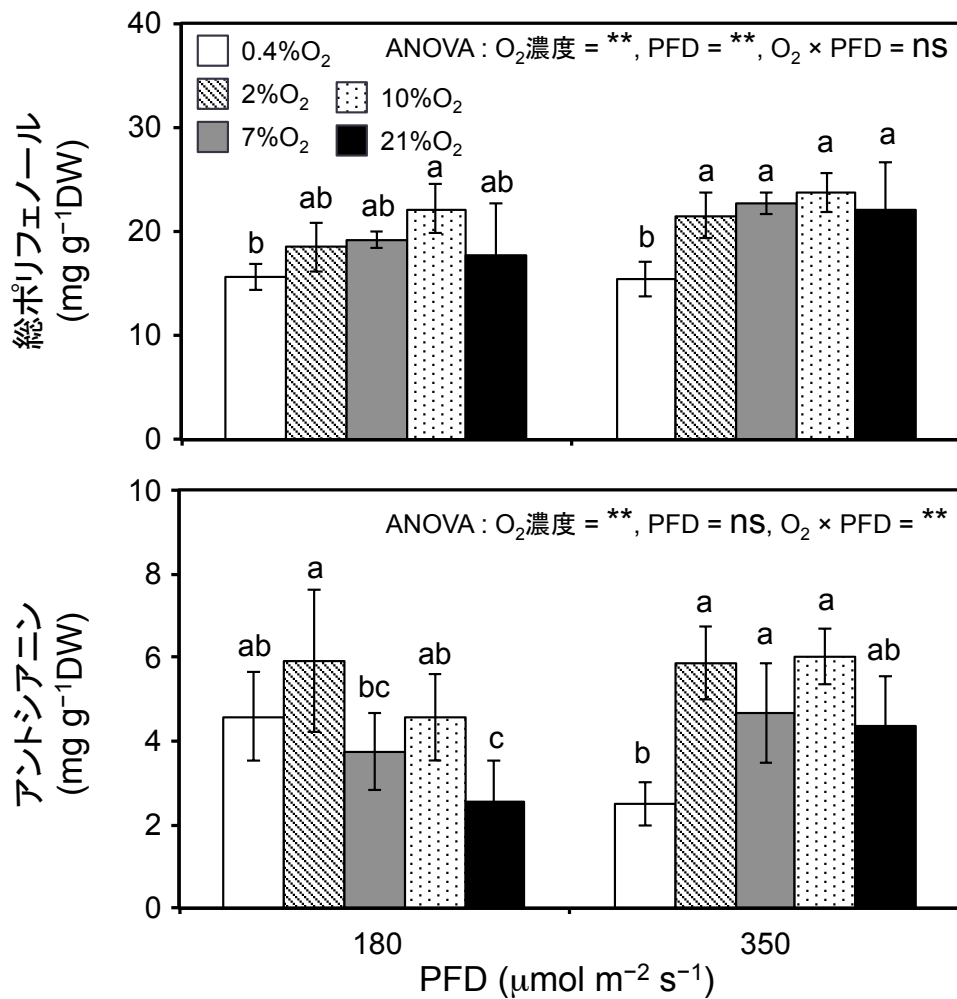


図 4-1-5. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量に与える影響。バーは標準偏差を示す。注：異なるアルファベットは Tukey's test により 5%水準で，\*\*は 2 要因の分散分析により 1%水準で有意差を示す。

#### 4) 異なる O<sub>2</sub> 濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの全窒素, 全炭素, ショ糖およびクロロフィル含有量に与える影響

全窒素, 全炭素, ショ糖含有量も明瞭な O<sub>2</sub> 濃度処理による影響を示した (表 4-1-2). 全窒素含有量は O<sub>2</sub> 濃度が低下するに従い有意に減少するのに対し, 全炭素含有量は O<sub>2</sub> 濃度が低下するに従い有意に増加した. また, C/N とショ糖含有量も全炭素含有量の結果と同様に, O<sub>2</sub> 濃度が低下するに従い有意に増加した. クロロフィル含有量は 0.4%O<sub>2</sub> が 7, 10, 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に減少していた. 分散分析の結果では, 全窒素および全炭素含有量, C/N では O<sub>2</sub> 濃度処理, PFD 処理および O<sub>2</sub> 濃度×PFD の効果が認められたが, ショ糖含有量およびクロロフィル含有量では PFD 処理の効果は認められなかった.

表 4-1-2. 異なる O<sub>2</sub>濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの全窒素,  
全炭素, ショ糖およびクロロフィル含有量に与える影響.

PFD ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	O <sub>2</sub> 濃度 (%)	全窒素 ( $\text{mg g}^{-1}\text{DW}$ )	全炭素 ( $\text{mg g}^{-1}\text{DW}$ )	C / N	ショ糖 ( $\text{mg g}^{-1}\text{DW}$ )	クロロフィルa+b ( $\mu\text{mol m}^{-2}$ )
180	0.4	7.4 e	441 a	59.4 a	135.8 a	74.8 c
	2	20.1 d	446 a	22.4 b	125.3 a	156.7 b
	7	36.3 c	442 b	11.7 c	109.3 a	202.0 a
	10	43.0 b	395 c	9.2 cd	38.0 b	180.6 ab
	21	53.7 a	352 d	6.7 d	16.1 b	158.7 b
350	0.4	8.9 e	434 ab	49.2 a	161.8 a	89.3 b
	2	13.1 d	450 a	34.3 b	102.0 b	113.8 b
	7	27.4 c	433 b	15.9 c	111.1 b	186.7 a
	10	34.6 b	408 c	11.9 d	49.6 c	166.2 a
	21	41.4 a	377 d	9.2 d	31.1 c	170.6 a
ANOVA	O <sub>2</sub> 濃度	**	**	**	**	**
	PFD	**	**	**	ns	ns
	O <sub>2</sub> × PFD	**	**	**	*	*

注：異なるアルファベットは Tukey's test により 5%水準で，\*\*、\*はそれぞれ 2 要因の分散分析により 1, 5%水準で有意差を，ns は有意差なしを示す.

#### 4.1.4. 考察

##### 1) SLA の低下要因

本実験において、葉面積および SLA は低  $O_2$  環境下で栽培すると有意に減少していた（表 4-1-1）。この結果は、前章や既報（Iwabuchi et al., 1996; Rajapakse et al., 2009）と同様であった。また、前章で低  $O_2$  環境下では葉の窒素含有量が減少し、逆に炭素含有量が増加することを明らかにした。本実験においても  $O_2$  濃度の低下に従い窒素含有量は減少し、炭素含有量は増加した（表 4-1-2）。さらに、ショ糖含有量は  $O_2$  濃度の低下に従い増加した。本実験では、明暗期を通じて低  $O_2$  処理を行っていたことから、呼吸が影響を受けていたと考えられる。そのため、これまでも述べたように呼吸が抑制されたことにより窒素吸収が阻害され、呼吸により消費されない炭水化物が蓄積したと推察される。また、窒素吸収の低下は細胞壁の厚化を引き起こすことが一般的に知られていることから（Larcher, 2003）、SLA の低下の主要因は低  $O_2$  処理による呼吸の低下にあると推察される。

また、SLA が  $O_2$  濃度の低下に従い減少した理由として、葉面積が低下したにも関わらず、葉乾物重が  $O_2$  濃度に影響を受けていなかった点が挙げられる。低  $O_2$  環境下で栽培すると乾物重が増加することが報告されている（福山ら, 1974ab, 1975; Quebedeaux and Hardy, 1975; 武田ら, 1978）。福山ら（1974a）は低  $O_2$  処理区における乾物生産の増加についてコムギとイネを用いた実験により、葉面積の増加や草丈の伸びが小さかったことから、同化産物が植物体内に密に詰まっているためであると考察している。本実験で用いたレッドリーフレタスは、既報で用いられているイネ科植物やダイズとは異なり、乾物重の大半が葉の重さ

である．そのため，葉数や葉面積の減少が葉乾物重に大きく影響している．それにも関わらず，低  $O_2$  処理区において 21% $O_2$  に比べ乾物重が変わらないか，むしろ増加傾向にあった要因は，ショ糖などの炭水化物が葉に蓄積したためであると言えるだろう．

## 2) 光合成速度と電子伝達に与える影響

前章第 2 節において， $A$  を高める  $O_2$  濃度は 3%と 10%の間に存在すると予想した．本実験において，7%の  $O_2$  濃度で  $A$  の値が高まる結果が示された(図 4-1-3)．既に述べたように，呼吸速度は大気中の  $O_2$  濃度が 5%以下になると減少することから (Taiz and Zeiger, 2004)，7，10%の  $O_2$  濃度では呼吸はあまり影響を受けていなかったと推察される．しかし，7%や 10%の低  $O_2$  環境下でも光呼吸は抑制されており，呼吸の非抑制による  $A$  のマイナス効果と光呼吸の抑制による  $A$  のプラス効果のバランスにより，7% $O_2$  では  $A$  が高まったと推察される．

さらに前章で低  $O_2$  環境下 (0.4%や 2%) での  $A$  の低下には電子伝達の阻害が影響していると推察した．本実験の結果を見ても， $A$  が低下している 0.4，2% $O_2$  では  $\Phi PSII$  も低下しており，これは前章と同様に  $qP$  の低下によるものであることが明らかとなった (図 4-1-3，4-1-4)．Kozaki and Takeba (1996) は光呼吸が電子伝達を稼働させ光酸化から植物を守っていると述べている．そのため，0.4，2%という低い  $O_2$  濃度環境下では光呼吸が完全に停止し，電子伝達が抑制されたために，光ストレスによる影響を受けやすくなったと推察される．

### 3) 総ポリフェノールとアントシアニン含有量の増加

前章の 3 日間の低  $O_2$  処理実験により，短期的な低  $O_2$  処理でも総ポリフェノールとアントシアニン含有量は増加し，特に 350PFD 環境下でアントシアニン含有量の増加が顕著であった（図 3-3-4）．本実験においては，総ポリフェノール含有量で低  $O_2$  処理区の有意な増加は認められず，逆に 350PFD 環境下での 0.4% $O_2$  は有意に減少した（図 4-1-5）．次に，アントシアニン含有量では低  $O_2$  処理区が 21% $O_2$  に比べ有意に増加するか，増加する傾向を示した．しかし，350PFD 環境下では総ポリフェノール含有量の結果と同様に 0.4% $O_2$  の値が減少した．

ポリフェノールのような二次代謝産物は捕食者や環境ストレスに対する防御反応として生産されることが知られている（Taiz and Zeiger, 2010）．Yaginuma et al. (2002) はベニバナとキュウリを用いた実験により，光・水ストレス環境下ではポリフェノール含有量が増加することを示している．前述したように，低  $O_2$  環境下では光呼吸が完全に停止したことにより光ストレスを受けやすい状態にあったと推察される．そのため，低  $O_2$  環境下では総ポリフェノール含有量が増加すると予想したが，本実験ではそのような結果は示されなかった．一方，アントシアニン含有量では 180PFD 環境下においてアントシアニンの増加が示され，低  $O_2$  処理による影響が示唆された．低  $O_2$  環境下でアントシアニン含有量が増加する要因としては，前述したように窒素供給の低下が影響したと推察される．さらに，低  $O_2$  環境下で光呼吸が抑制されるという特殊な環境が光ストレスを受けやすくさせ，その光ストレスに対する防御反応としてポリフェノール類が増加した可能性が考えられる．

また、近年では光質とポリフェノール類の関係についての研究が多くなされている。例えば、庄子ら（2010）は青色光下でレッドリーフレタスのアントシアニン含有量が増加することを明らかにしている。さらに、Yu and Ong（2003）は赤色光と黄色光下では $\Phi\text{PSII}$  と  $qP$  の値が低下することを指摘し、Wang et al.（2009）も赤色 LED 照射下での $\Phi\text{PSII}$  と  $qP$  の値が低下することを指摘している。本実験では赤青 LED を使用しており、LED という特定の波長領域を持つ特殊な環境も電子伝達や成分蓄積に影響した可能性が考えられた。



## 第 2 節 異なる酸素濃度および光質がレッドリーフレタスの生育，光合成特性およびポリフェノール類蓄積に与える影響

### 4.2.1. はじめに

前節の実験から，光質の違いが光合成特性やポリフェノール類の蓄積に影響を与えている可能性が示唆された．そこで本実験では，低 O<sub>2</sub> 環境に加え光質がレッドリーフレタスの生育，光合成特性およびポリフェノール類蓄積に与える影響を明らかにすることを目的とし，蛍光灯と赤青 LED を用い 2%と 21%の異なる O<sub>2</sub> 濃度環境下での 14 日間の栽培実験を行った．

### 4.2.2. 材料および方法

#### 1) 育苗方法および栽培環境

供試材料にレッドリーフレタス (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*) ‘サンブライト’を用いた．播種方法，人工気象器内での育苗環境，育苗期間および液肥組成は第 3 章第 1 節に準じた．播種から 14 日後，苗を育苗用の栽培棚に移植し，栽培実験まで 14 日間液肥を用いて育苗した．育苗棚の栽培環境も第 3 章第 1 節に準じた．

#### 2) 低 O<sub>2</sub> 処理方法

低 O<sub>2</sub> 濃度環境下での 14 日間の栽培実験を行った．上記の方法で栽培したレッドリーフレタスを各処理区 12 個体ずつ移植した．低 O<sub>2</sub> 処理前に，同様に育

苗をした 5 個体をサンプリングし、第 3 章第 1 節と同様の方法で生育調査を行った。低 O<sub>2</sub> 室の O<sub>2</sub> 濃度は 2%，標準室は対照区として大気 O<sub>2</sub> 濃度（21%）で処理を行った。光源には昼光色蛍光灯（FHF32EX-D-H, MITSUBISHI）と赤青 LED を用い、PFD はそれぞれ 161.3, 185.6  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  であった。FieldSpec Pro（FSP350-2500P, ASD Inc.）で測定した蛍光灯と赤青 LED のスペクトル分布を図 4-2-1 に示す。CO<sub>2</sub> 濃度は 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ，室温は 21 °C とした。明暗期はそれぞれ 12 時間（明期 6:00~18:00）で行った。本研究では、低 O<sub>2</sub> 濃度処理は明暗期を通じて行った。その他の環境条件、液肥組成および CO<sub>2</sub> 制御装置、養液循環ポンプ、養液エアレーションの稼働時間は第 3 章第 2 節に準じた。

栽培実験 14 日目にレッドリーフレタスを各処理区から 5 個体収穫し第 3 章第 1 節と同様の方法で生育調査を行った。また、SLA（第 3 章第 1 節参照）と RGR（第 4 章第 1 節参照）を算出した。乾物重の測定後、サンプルを粉砕し、粉末サンプル 25 mg を NC アナライザーによる全窒素・炭素含有量の測定に供試した。

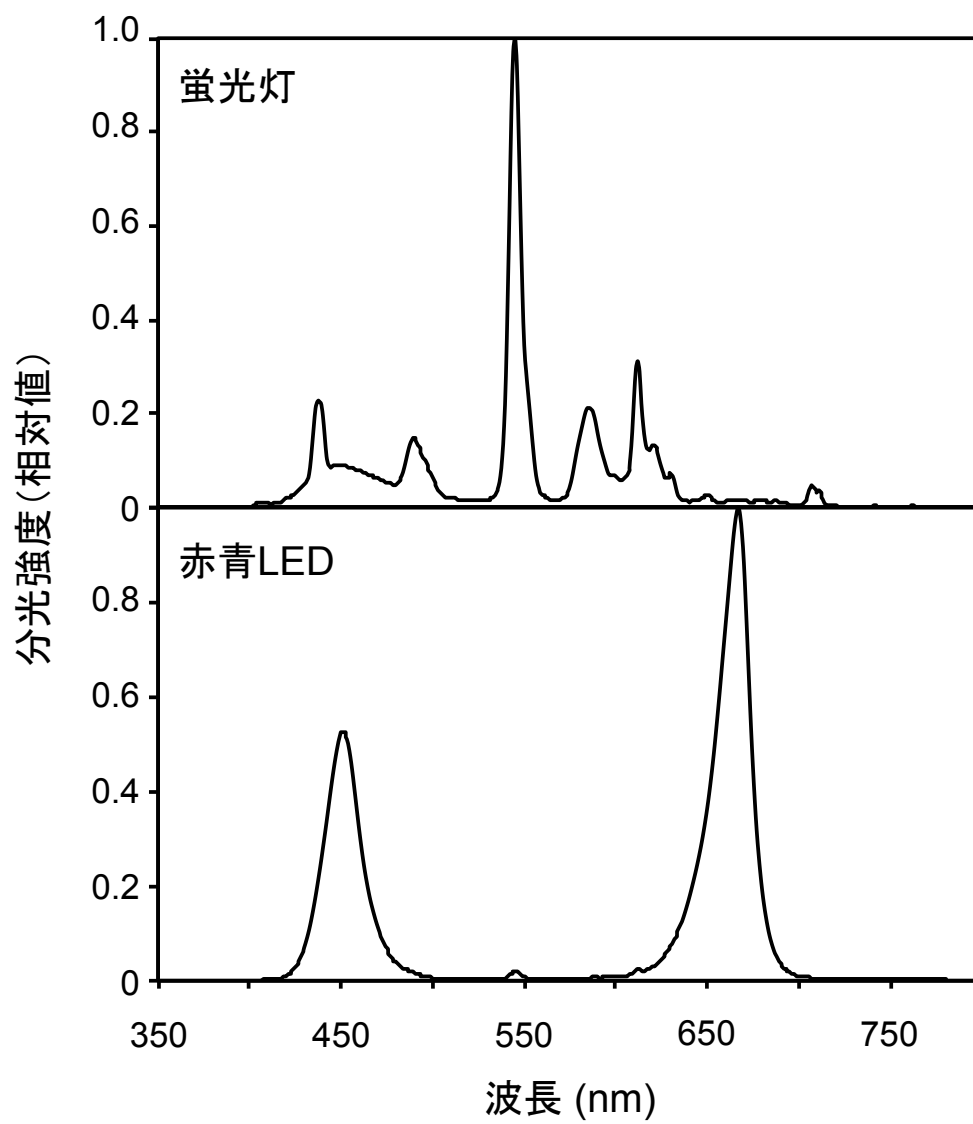


図 4-2-1. 蛍光灯と赤青 LED のスペクトル分布.

### 3) ガス交換速度およびクロロフィル蛍光測定方法

栽培実験 14 日目に各処理区から 5 個体を選び、携帯型光合成測定装置を用いてガス交換速度およびクロロフィル蛍光の測定を行った。測定条件および測定方法は第 4 章第 1 節に準じて行った。

### 4) クロロフィルおよびショ糖含有量測定方法

測定には生育調査で収穫した個体の最大展開葉を用いた。第 3 章第 3 節と同様の方法で抽出、測定を行った。

測定には生育調査で収穫した個体の乾燥粉末サンプルを用いた。サンプルは第 4 章第 1 節に準じて抽出、測定を行った。

### 5) 総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量測定方法

総ポリフェノール含有量の測定のために、生育調査個体とは別に 5 個体を収穫し、直ちに -80 °C で 72 時間凍結乾燥した。サンプルの抽出および測定は第 3 章第 3 節に準じて行った。

アントシアニン含有量の測定は総ポリフェノール含有量測定と同じサンプルを用いた。サンプルは乾燥および粉碎後、第 3 章第 2 節に準じて抽出、測定を行った。

### 6) 統計処理

結果は、2 要因の分散分析により 1, 5%水準で、Tukey's test により 5%水準で有意差検定を行った。

#### 4.2.3. 結果

##### 1) 異なる $O_2$ 濃度および光質がレッドリーフレタスの生育に与える影響

2%で栽培されたレッドリーフレタスは、21% $O_2$  に比べ葉色に赤みが濃かった (図 4-2-2). さらに、2% $O_2$  の中でも蛍光灯区に比べ LED 区は赤みが濃くなっていた. 一方、21% $O_2$  では蛍光灯区と LED 区の間に葉色の違いは認められなかった. 見た目の大きさは 2% $O_2$  に比べ 21% $O_2$  が大きく、蛍光灯と LED の間では差は見られなかった.

葉数、葉面積では光源の種類に関わらず 21% $O_2$  が 2% $O_2$  に比べ有意に高い値を示した (表 4-2-1). 葉新鮮重も 21% $O_2$  が 2% $O_2$  に比べ有意に重かったが、21% $O_2$  では LED 区が蛍光灯区に比べ有意に重かった. 葉乾物重では  $O_2$  濃度に関わらず LED 区が蛍光灯区に比べ有意に重かった. 根乾物重は 21%-LED 区が他の処理区に比べ有意に重かった. SLA は 21% $O_2$  が 2% $O_2$  に比べ有意に高く、さらに蛍光灯区が LED 区に比べ有意に高くなった (図 4-2-3). RGR は  $O_2$  濃度に関わらず、LED 区が蛍光灯区に比べ有意に高くなった.

##### 2) 異なる $O_2$ 濃度および光質がレッドリーフレタスの光合成特性に与える影響

$A$ 、 $\Phi PSII$ 、 $qP$  および  $Fv'/Fm'$  のいずれにおいても、 $O_2$  濃度間および光源間で有意差は認められなかった (図 4-2-4, 4-2-5).  $A$  と  $qP$  の値はいずれの処理区もそれぞれ約 8.0 と 0.5 であり、この値は前節の 180PFD 処理区での値と同程度であった. 一方、 $\Phi PSII$  と  $Fv'/Fm'$  の値は本実験の値が前節よりも高い傾向が認められた.

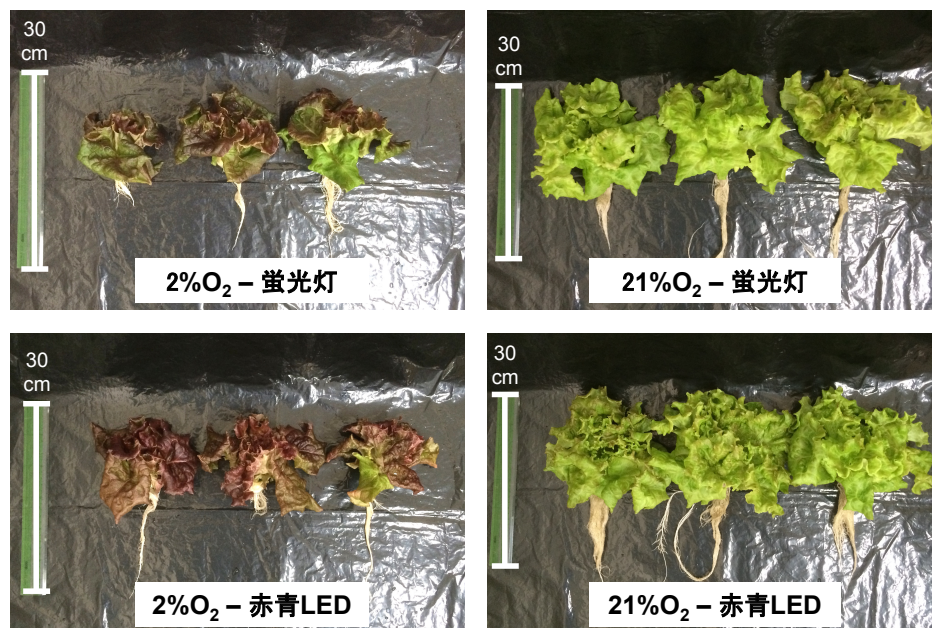


図 4-2-2. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件で栽培された収穫時のレッドリーフレタス.

表 4-2-1. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件がレッドリーフレタスの生育に与える影響.

$O_2$ 濃度 (%)	光源	葉数 (枚 plant <sup>-1</sup> )	葉面積 (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )	葉新鮮重 (g plant <sup>-1</sup> )	葉乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )	根乾物重 (g plant <sup>-1</sup> )
2	蛍光灯	8.6 b	547.8 b	20.7 c	1.75 b	0.22 b
2	赤青LED	9.4 b	628.5 b	24.4 c	3.21 a	0.25 b
21	蛍光灯	13.2 a	1388.2 a	42.6 b	1.93 b	0.30 b
21	赤青LED	13.2 a	1549.0 a	56.2 a	2.74 a	0.51 a

注：異なるアルファベットは Tukey's test により 5%水準で有意差を示す.

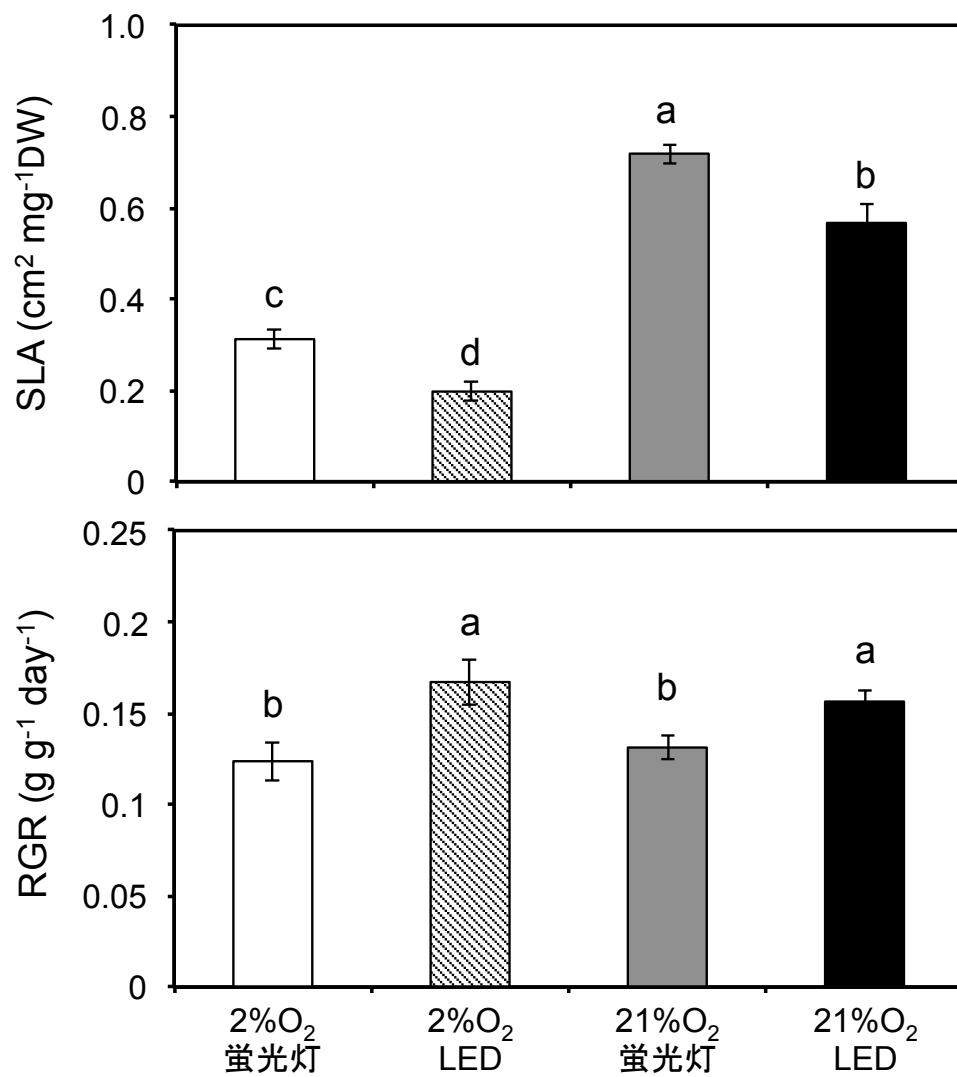


図 4-2-3. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および光質条件がレッドリーフレタスの SLA および RGR に与える影響。バーは標準偏差を示す。注：異なるアルファベットは Tukey's test により 5%水準で有意差を示す。

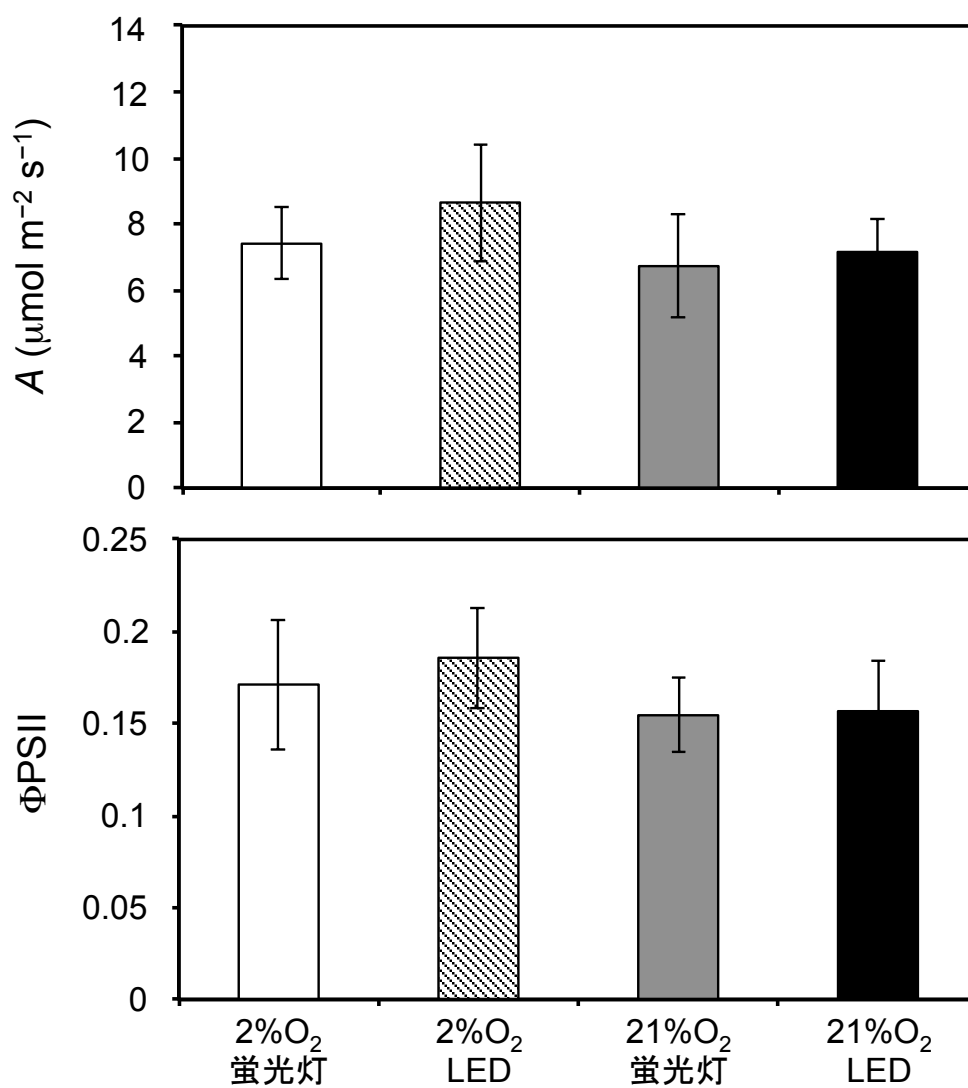


図 4-2-4. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および光質条件がレッドリーフレタスの光合成速度 ( $A$ ) および光化学系 II の量子収率 ( $\Phi_{\text{PSII}}$ ) に与える影響. バーは標準偏差を示す.



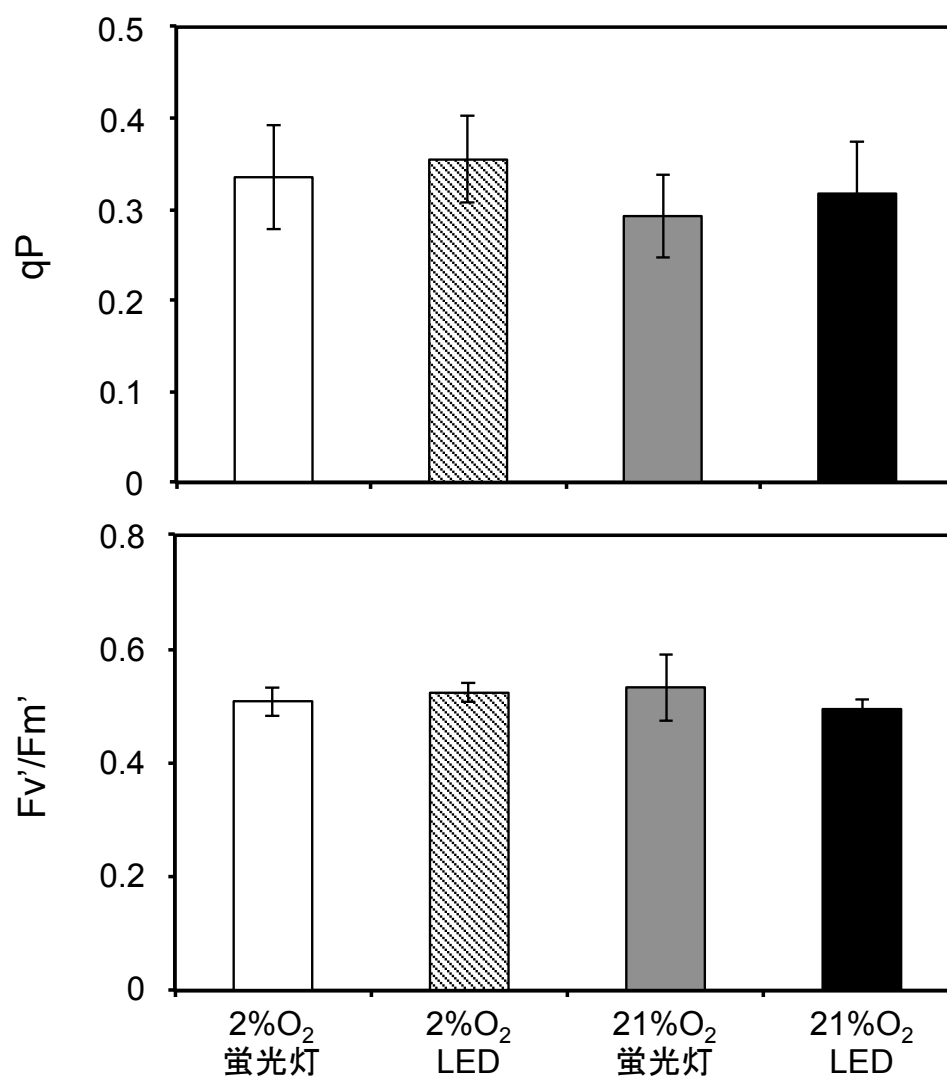


図 4-2-5. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および光質条件がレッドリーフレタスのクロロフィル傾向パラメーター ( $qP$  および  $Fv'/Fm'$ ) に与える影響. バーは標準偏差を示す.

### 3) 異なる O<sub>2</sub> 濃度および光質がレッドリーフレタスの総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量に与える影響

蛍光灯区では総ポリフェノール, アントシアニン含有量ともに 2%O<sub>2</sub> が 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に増加していた (図 4-2-6). 一方, LED 区の 2% O<sub>2</sub> は蛍光灯区の 21% O<sub>2</sub> に比べると総ポリフェノール含有量は有意に増加していたが, LED 区の 21% O<sub>2</sub> との間に有意差は認められなかった. しかし, アントシアニン含有量では LED 区の 2%O<sub>2</sub> も蛍光灯区, LED 区の 21% O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示した.

### 4) 異なる O<sub>2</sub> 濃度および光質がレッドリーフレタスの全窒素, 全炭素, ショ糖およびクロロフィル含有量に与える影響

全窒素, 全炭素, ショ糖含有量も前節の結果と同様に明瞭な O<sub>2</sub> 濃度処理による影響を示した (表 4-1-2). 全窒素含有量は 21%O<sub>2</sub> が 2%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示し, さらに 2%O<sub>2</sub> においては蛍光灯区が LED 区に比べ有意に高い値を示した. 一方, 全炭素含有量は 2%O<sub>2</sub> が 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示した. C/N も同様に 2%O<sub>2</sub> が 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示し, さらに 2%O<sub>2</sub> においては LED 区が蛍光灯区に比べ有意に高い値を示した. ショ糖含有量も全炭素含有量と同様に 2%O<sub>2</sub> が 21%O<sub>2</sub> に比べ有意に高い値を示した. クロロフィル含有量は 2%-蛍光灯区が他の処理区に比べ有意に高くなっていた.

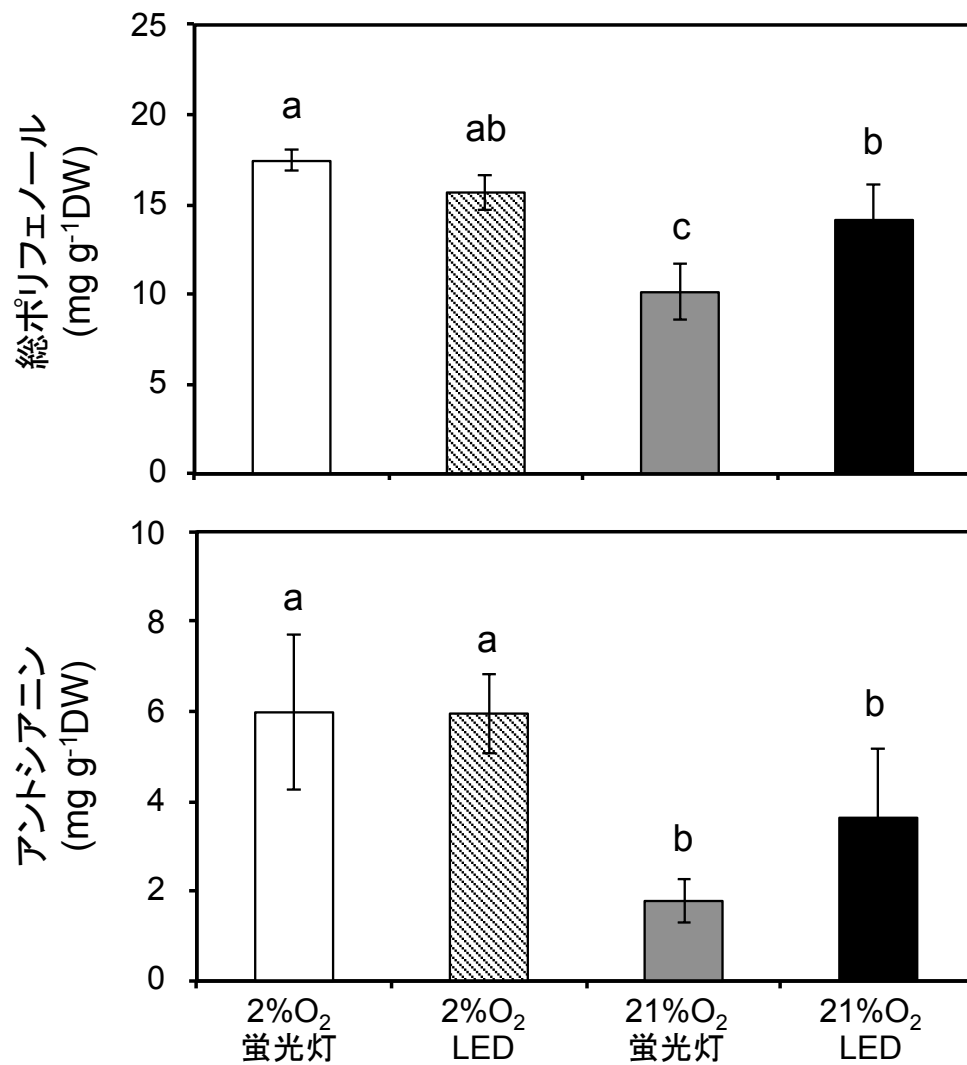


図 4-2-6. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および光質条件がレッドリーフレタスの総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量に与える影響. バーは標準偏差を示す. 注: 異なるアルファベットは Tukey's test により 5%水準で有意差を示す.

表 4-2-2. 異なる O<sub>2</sub> 濃度および光質条件がレッドリーフレタスの全窒素, 全炭素, ショ糖およびクロロフィル含有量に与える影響.

O <sub>2</sub> 濃度 (%)	光源	全窒素 (mg g <sup>-1</sup> DW)	全炭素 (mg g <sup>-1</sup> DW)	C/N	ショ糖 (mg g <sup>-1</sup> DW)	クロロフィルa+b (μmol m <sup>-2</sup> )
2	蛍光灯	26.2 b	422.4 a	16.2 b	125.3 a	249.4 a
2	赤青LED	14.6 c	435.2 a	29.8 c	124.6 a	181.2 b
21	蛍光灯	50.9 a	363.8 b	7.1 a	32.9 b	105.0 c
21	赤青LED	50.2 a	381.9 b	7.6 a	36.4 b	142.4 bc

注:異なるアルファベットは Tukey's test により 5%水準で有意差を示す.

#### 4.2.4. 考察

##### 1) 葉面積の低下と葉乾物重の差

これまでの実験と同様に、低  $O_2$  処理区では葉面積が低下した。また、この結果は光源の種類に関係なく生じたことから、低  $O_2$  処理の影響によるものであると言える。低  $O_2$  処理区で葉面積が低下する要因に関しては、これまでも述べてきたように低  $O_2$  環境下で明暗期を通じて栽培したことによる呼吸の低下によるものであると推察される。

一方、葉乾物重は同じ光源下では  $O_2$  濃度間に有意差は認められなかったが、いずれの  $O_2$  濃度処理区においても LED 区が蛍光灯区よりも有意に重くなる結果を示した。可能性として、まず各光源の PFD の違いが考えられる。本実験では PFD の差をなるべく小さくするように試みたが、結果として栽培時の LED の PFD は蛍光灯に比べ約  $24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  高かった。福田ら (1993) はレタスとホウレンソウを複数の光質を用いて栽培した実験により、いずれの光質においても  $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  で栽培した植物体は  $125 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  で栽培したものに比べ乾物重が増加することを示した。また、前節の実験においても、 $0.4\%O_2$  を除いたいずれの  $O_2$  濃度処理区においても  $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  が  $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  に比べ乾物重が増加していた (表 4-1-1)。このことから、PFD の増加は乾物重を増加させることは明らかである。しかしながら、本実験では前節の実験や福田ら (1993) の実験に比べ PFD の差が小さかったにも関わらず、乾物重の差は  $2\%O_2$ ,  $21\%O_2$  ともに大きかった。このことから、PFD の違い以外の要因があると推察した。

近年、植物栽培の現場において LED の利用が急速に拡大している。それに伴い、LED が植物の生育や光合成特性、成分蓄積等に与える影響についての研究

が行われ始めている．大嶋ら（2015）は赤 LED 単色光下では光強度の増加に対する乾物重の増加割合は，青 LED 単色光下の増加割合よりも大きく，さらに赤青 LED 混合光下では赤色光の強度が増すにつれて乾物重が増加傾向を示すことを示した．また，Yorio et al.（2001）は赤青 LED 混合区での青色光の割合が全 PFD の 10%程度になると，赤 LED 単色光下に比べ乾物重が増加し，蛍光灯と同程度になることを示している．さらに，Kim et al.（2004）は赤青緑 LED 混合光下では緑色光の割合が全 PFD の 24%程度になると蛍光灯よりも乾物重が増加すると述べている．

クロロフィルは赤色光（660 nm 近傍）と青色光（450 nm 近傍）を吸収し光合成に利用している．LED の特徴は，発せられる光が最大ピーク波長の $\pm 30$  nm の幅に光エネルギーが集中しており，疑似的な単光色であるという点にある（古在，2012）．実際，蛍光灯と赤青 LED のスペクトル分布を比較すると，赤青 LED では 450, 660 nm に限定的なピークがあるのに対し，蛍光灯では 550 nm にピークがあり 400～700 nm の間で様々な波長を含んでいることが示された（図 4-2-1）．このことから，赤青 LED では光合成に利用される波長域の光が限定的に照射されているため，光合成への光の利用効率が蛍光灯に比べ高かったと考えられ，このことが乾物生産の増大につながったと推察される．また SLA から赤青 LED 区では蛍光灯区に比べ葉が厚くなっていることが示されたが，これも赤青 LED 下で光合成が高まったことにより乾物重が増大した結果と言える．大嶋ら（2015）も赤色光強度の高い LED 下で葉が厚くなる結果に関して，同様の考察を行っている．一方で  $A$  の値に差が認められなかった要因については，おそらく携帯型光合成測定装置で  $A$  を測定する際に使用している光源が赤青 LED であるため，

いずれの光源処理区においても赤青 LED 点灯時と同程度の  $A$  が測定されたために差が生じなかったと推察される。

## 2) 異なる $O_2$ 濃度および光質が総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量に与える影響

これまでの実験により、低  $O_2$  環境下で栽培したレッドリーフレタスでは、アントシアニン含有量が増加することが明らかとなった。本実験においても、2% $O_2$  では 21% $O_2$  に比べ光源の違いに関わらず、アントシアニン含有量は有意に増加していた。さらに、蛍光灯環境下では総ポリフェノール含有量も 2% $O_2$  で 21% $O_2$  に比べ有意に増加した (図 4-2-6)。

Li and Kubota (2009) は LED を用いた実験により、UV-A と青色 LED はベビーリーフレタスのアントシアニン含有量を増加させることを報告している。また、庄子ら (2010) は青色光の割合が増加するとアントシアニン含有量が増加することを示し、レッドリーフレタスの光質に対するアントシアニンの生合成や蓄積に関する制御機構には、赤色光と青色光の割合が遺伝子レベルで密接に関わっていると述べている。このことから、本実験においても蛍光灯区に比べ LED 区でアントシアニン含有量の値が増加すると予想したが、そのような結果は示されなかった。庄子ら (2010) はレッドリーフレタスにおいて青色光によって発現するアントシアニンの蓄積は一時的なものであり、光照射を 12 日以上継続するとアントシアニンが減少する結果を示している。本実験では、低  $O_2$  および光質処理は 14 日間行っていたことから、青色 LED による効果は最大ではなく減少途中の段階であったと推察される。このことから、蛍光灯区と LED 区

の間に差が生じにくかったと推察される。また、総ポリフェノール含有量において LED 区では 2% $O_2$  と 21%  $O_2$  に差がなかったにもかかわらず、蛍光灯区では 2%  $O_2$  が有意に高くなった結果から、光源の種類によっては低  $O_2$  処理により総ポリフェノール含有量を増加させることができる可能性が示された。 $O_2$  濃度と光質が野菜の生育や成分蓄積に与える影響については、今後、様々な波長や光強度での実験により明らかにする必要がある。



## 第 5 章 総合考察

### 5.1. 低 O<sub>2</sub> チャンバーの可能性と課題

本研究では長期的な低 O<sub>2</sub> 処理を安定的かつ安全に行うため、特殊なチャンバーを開発した。これまで行われてきた長期の O<sub>2</sub> 濃度を制御した栽培実験では、多量の N<sub>2</sub> ガスボンベが必要であり、コストやボンベ交換の細かな管理が必要となっていた。本研究で開発した低 O<sub>2</sub> チャンバーは、膜分離式 N<sub>2</sub> ガス発生装置と組み合わせることにより、N<sub>2</sub> ガスボンベを必要とせず、かつ O<sub>2</sub> 濃度を自在に制御できる点に新規性があり、今後の O<sub>2</sub> 制御実験に応用できると考えている。

また、本研究を通じて幾つかの課題も明らかとなった。まず、N<sub>2</sub> ガス発生装置により分離された N<sub>2</sub> ガスは、装置内で除湿フィルターに通されているため乾燥ガスとなっている。そのため、室内の相対湿度は低 O<sub>2</sub> 処理を行うことにより低下する。本研究では、水耕栽培装置が常に稼働していたことにより低 O<sub>2</sub> 室、標準室ともに栽培に影響のないレベルで相対湿度を保つことができた。しかしながら、水耕栽培ではない栽培方法で実験を行う際には、N<sub>2</sub> ガス発生装置により分離された N<sub>2</sub> ガスをチャンバー内に導入する前に加湿する必要がある。また、本研究では O<sub>2</sub> 濃度を 21% より低い濃度で実験を行ったが、N<sub>2</sub> ガス発生装置により分離された O<sub>2</sub> ガスをチャンバー内に導入することにより、長期の高 O<sub>2</sub> 濃度処理実験も行うことができる。今後、O<sub>2</sub> 濃度と植物の生育や光合成特性を理解する上で、高 O<sub>2</sub> 処理による実験も検討する必要があるだろう。

本チャンバーは植物工場という実際の栽培現場の環境を想定して開発されている。そのため、先行研究で使用されてきた同化箱 (Forrester et al., 1966 ; He et

al., 2007) やグロースチャンバー (福山ら, 1974a ; Iwabuchi et al., 1996) に比べると, 温湿度環境の制御のブレは大きかった. しかし, 実際の栽培に近い環境で複数個体を同時に処理できる点には意義があると考えている. また, 環境制御をより厳密にできるように改良することにより  $O_2$  チャンバーを大きな同化箱と捉え, 群落全体の光合成速度の推定にも応用できる装置である.

## 5.2. 低 $O_2$ 環境と葉面積展開の低下と乾物生産の増加

本研究により, 低  $O_2$  環境下で栽培したレッドリーフレタスは葉面積が低下し, この現象は明期のみの低  $O_2$  処理でも生じることが明らかとなった. 武田ら (1978) も明期のみの  $O_2$  処理や光呼吸を行わない  $C_4$  植物を用いた実験により同様の葉面積低下の結果を示し, 葉面積の低下には光呼吸以外の代謝系が要因になっていると述べている.

この要因として, 低  $O_2$  処理区では葉の全窒素含有量が低下する結果から, 低  $O_2$  環境では呼吸や暗呼吸が抑制されたと考えられる. 明暗期を通じた処理であれば, 当然暗期の呼吸が抑制されたことにより, 窒素等の成長に必要な養分吸収が阻害され, 葉が厚くなると推察される. さらに, 明期においても光合成を行っている組織のミトコンドリアはクエン酸回路を使って呼吸 (暗呼吸) を行っていることが知られている (Taiz and Zeiger, 2004). 光の照射下で光合成と同時にどの程度ミトコンドリアで呼吸が行われているかは, 未だはっきりとしていない. しかしながら, 呼吸に関わる複合体が欠損したミトコンドリア変異株では, 葉の成長や光合成にマイナスの影響が生じることが示されている (Vedel et al., 1999). このことから, 明期のみの長期低  $O_2$  処理においても, 暗期の呼吸は

ほとんど影響されないが、暗呼吸が抑制されたことにより生育にマイナスの影響が生じたと考えられる（図 5-1）。

一方、葉面積の低下は 3 日間の短期的な処理では生じなかった。さらに、下記で述べるが 3 日間の処理でも機能性成分含有量は増加したことから、生産量を低下させることなく、機能性成分含有量を向上させる低  $O_2$  処理を用いた栽培方法の可能性が示唆された。低  $O_2$  処理の栽培現場での応用については今後さらに検討する必要がある。

次に、14 または 20 日間の低  $O_2$  処理では葉面積は低下するが乾物生産は 21% $O_2$  と同程度であった。福山ら（1974ab, 1975）や Quebedeaux and Hardy（1975）はイネ、コムギ、ダイズを用いた実験により、長期の低  $O_2$  処理により乾物生産が増大すること示し、これは光呼吸が抑制されたことによる結果であると述べている。さらに、秋田（1980）は、低  $O_2$  処理により光呼吸抑制のプラスの乾物生産効果があると同時に、呼吸抑制によるマイナスの効果も生じ、このバランスによって乾物生産が決定されるものと述べている。本研究の 3 日間の低  $O_2$  処理実験では、2% $O_2$  の葉乾物重が 21% $O_2$  に比べ有意に増加していた。このことから、3 日間程度の処理であれば、光呼吸抑制によるプラス効果が呼吸抑制によるマイナス効果を上回り、葉菜類においても乾物生産が増大する可能性が示唆された（図 5-1）。しかし、14 または 20 日間と長期の処理になると、処理の明暗期に関わらず低  $O_2$  処理により呼吸もしくは暗呼吸、またはその両方が抑制されるため、乾物生産は 21% $O_2$  と同程度になることが明らかとなった。

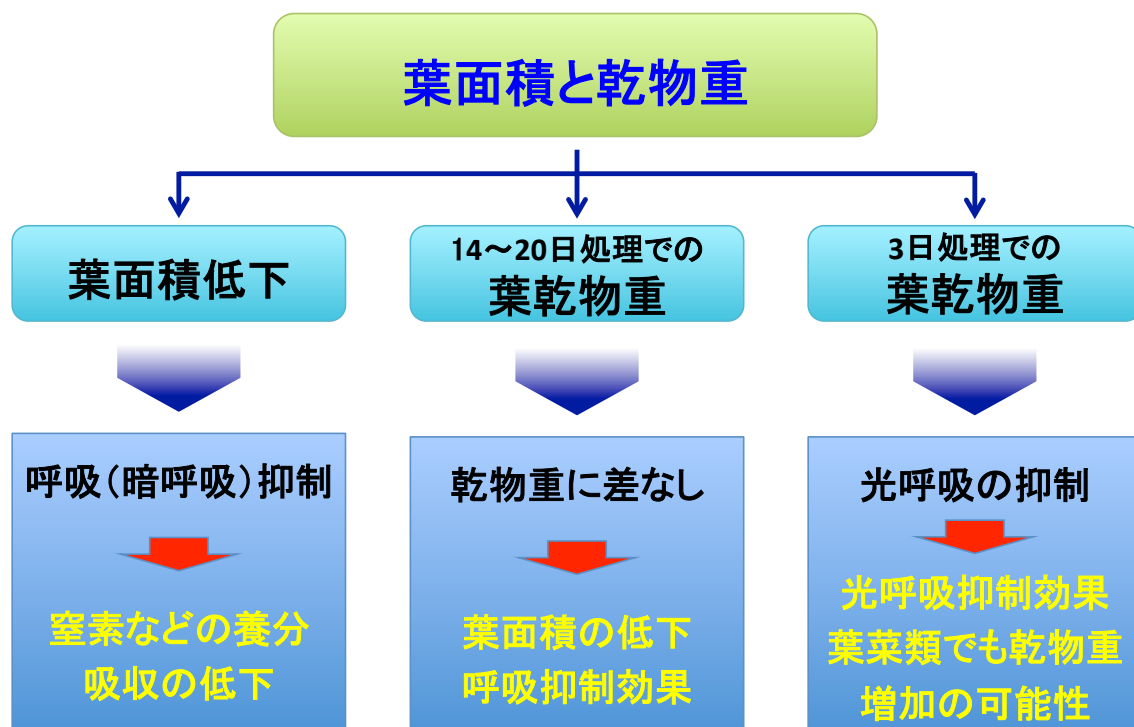


図 5-1. 長期的な低  $O_2$  処理が葉菜類の葉面積と乾物重に与える影響.

### 5.3. 長期低 O<sub>2</sub> 処理と光合成特性

短期的な低 O<sub>2</sub> 処理では光呼吸が阻害されることにより，固定された炭素の消費が抑えられ  $A$  が高まる．しかしながら，長期の低 O<sub>2</sub> 処理では短期的な処理で見られるような  $A$  の増加は認められなかった．Iwabuchi et al. (1996) もハウレンソウを用いた長期の低全圧および O<sub>2</sub> 分圧処理実験により，処理開始後（播種後）25 日目までは低全圧・O<sub>2</sub> 分圧処理区の個体あたりの CO<sub>2</sub> 同化率は増加するが，その後減少し対照区（標準全圧・O<sub>2</sub> 分圧）と同程度になることを報告している．彼らの実験では全圧も変化させていることから，本実験とは異なるが，長期の低 O<sub>2</sub> 環境下が  $A$  を増加させない可能性を示している．

また，Priestly et al. (1988) も若いピーマンを用いた 10 日間の低 O<sub>2</sub> 処理実験により，CO<sub>2</sub> 同化率は処理開始後 5～6 日で増加するが，その後減少することを報告している．彼らは，低 O<sub>2</sub> 環境下で光合成や成長が高まらなかった原因として，新たな成分合成に必要な ATP などの高エネルギー中間体が不足したためであると考察している．また彼らは，水素同位体 (<sup>3</sup>H) を用いた実験の結果から，長期の低 O<sub>2</sub> 環境は転流には影響しないが，同化産物の利用を抑制していると考察している．

本研究においても，低 O<sub>2</sub> 環境下で栽培されたレッドリーフレタスでは葉にシヨ糖が蓄積していた．このことから，上述したように長期の低 O<sub>2</sub> 環境により呼吸が阻害されたことによるエネルギー不足が光合成の低下要因であり，さらにシヨ糖蓄積の要因であると結論付けられる．しかし一方で，第 4 章第 1 節の実験において 7%O<sub>2</sub> 環境下では  $A$  は増加した．これは第 4 章第 1 節ですでに述べたように，光呼吸抑制による光合成速度へのプラス効果と，呼吸や暗呼吸抑制

によるマイナス効果のバランスにより光呼吸の抑制効果が高く出た結果であると考えられる．このことから，植物には光合成速度を高める最適な  $O_2$  濃度があることが示唆された（図 5-2）．

また，第 4 章第 1 節のクロロフィル蛍光の測定結果から， $\Phi PSII$  および  $qP$  も  $A$  と同様の傾向を示した．前述したように  $qP$  は電子伝達系 II の下流での電子の滞りを意味していることから（園池，2005），特に  $0.4\%O_2$  における  $A$  の低下は電子伝達に障害が生じたことが一因であると言える．Kozaki and Takeba（1996）の研究により光呼吸が電子伝達を駆動していることを明らかとなっていることから，低  $O_2$  環境で栽培することにより電子伝達が阻害され， $qP$  に影響を与えた可能性が示唆されたが，どの過程において，どの程度の電子伝達阻害が生じていたかについては本研究からは明らかにできなかった．今後より詳細な研究により明らかにする必要がある．

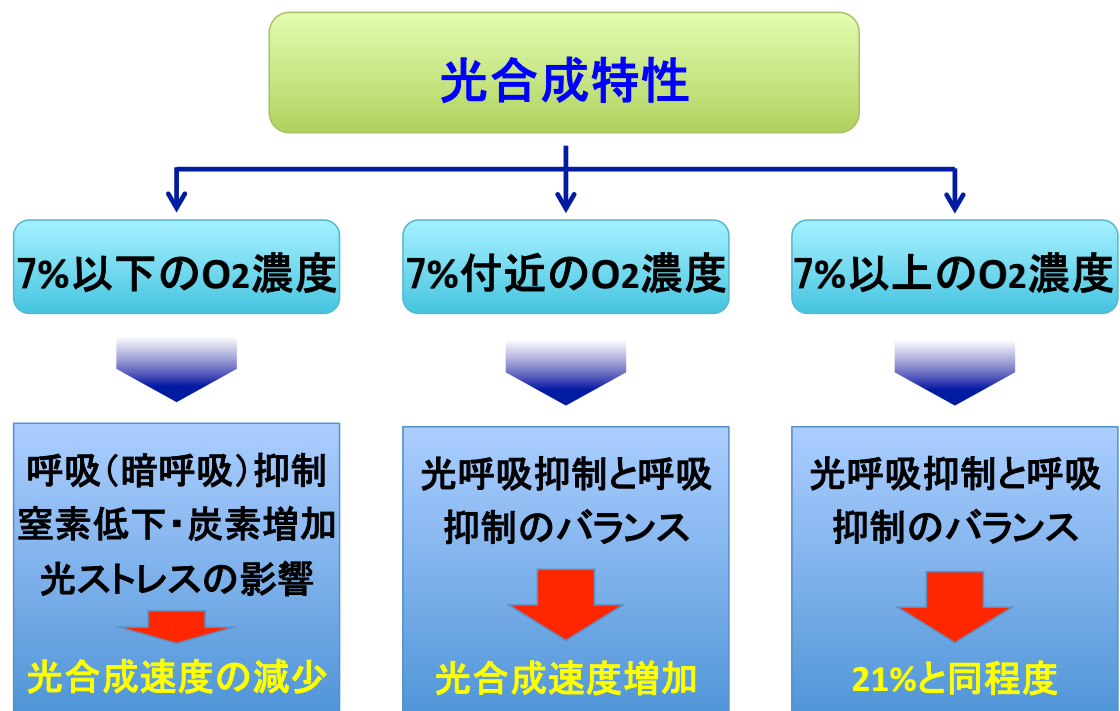


図 5-2. 長期的な低  $O_2$  処理が葉菜類の光合成特性に与える影響.

#### 5.4. 低 O<sub>2</sub> 環境および光強度、光質とポリフェノール類の蓄積

本研究の結果から、低 O<sub>2</sub> 環境下で栽培されたレッドリーフレタスではアントシアニンの含有量が増加することが明らかとなった。Rajapakse et al. (2009) 低 O<sub>2</sub> 分圧下でのリーフレタスの栽培実験において、アントシアニン含有量の増加を報告している。窒素供給が不足する場合においては、通常よりも多くの量の炭水化物が貯蔵物質に変換されたり、リグニン合成等の二次代謝に使われることが知られている (Larcher, 2003)。これまでも述べたように、本研究においては低 O<sub>2</sub> 環境下で栽培されたレッドリーフレタス葉の窒素含有量は低下しており、その要因は呼吸や暗呼吸の低下によるものであると考える。このことから、低 O<sub>2</sub> 環境下におけるアントシアニンの増加も、呼吸や暗呼吸の低下による窒素供給の低下と、それに伴う二次代謝産物の蓄積が原因と言えよう (図 5-3)。

しかし第 3 章第 2 節の実験では 10%O<sub>2</sub> と 21%O<sub>2</sub> の間に窒素含有量に差はないにもかかわらず、アントシアニン含有量は 10%O<sub>2</sub> 環境下で増加していた。そこでアントシアニン含有量が増加した別の可能性として、低 O<sub>2</sub> 環境下において光呼吸が抑制されたことにより、光によるストレスを受けやすくなったと推察した。ポリフェノール類のなかでもアントシアニンは光ストレスに対する防衛反応として合成されることが知られている。上述したように、低 O<sub>2</sub> 環境下で栽培されたレッドリーフレタスは光呼吸が阻害されており、光ストレスを受けやすい状況にあったと推察する。本研究において、同じ O<sub>2</sub> 濃度環境下であっても PFD が高い方がアントシアニン含有量は増加する傾向が示された。また、350PFD 環境下では 3 日間の低 O<sub>2</sub> 処理でもアントシアニン含有量が増加しており、低 O<sub>2</sub> 環境下に加え PFD を高めることによって機能性成分含有量を高められることが



示された。

また、蛍光灯環境下では 2%O<sub>2</sub> で有意に総ポリフェノールやアントシアニン含有量が増加していた。最近の研究では青色 LED がポリフェノール類の機能性成分含有量を増加させることが報告されている (Li and Kubota, 2009 ; 岩井ら, 2009 ; 庄子ら, 2010)。このことから、低 O<sub>2</sub> 処理に LED を組み合わせることでポリフェノール類の含有量が増加すると予想したが、これらの含有量を増加させるためには低 O<sub>2</sub> 処理との蛍光灯の組み合わせが適している可能性が示唆された。

## 5.5. O<sub>2</sub> 濃度制御の利用

最近、スペースステーションで栽培されたレタスを乗組員が試食したニュースが話題となった (宇宙航空研究開発機構, 2015)。スペースステーションのような地球外施設においては、人間の生活空間とは別の空間での野菜の栽培が想定されており、栽培空間における O<sub>2</sub> 分圧は地球上の大気レベルよりも低く制御される (Corey et al., 1996)。そのため、低 O<sub>2</sub> 環境下での野菜の応答について詳細に知る必要がある。このことから、本研究の結果は今後発展すると考えられる地球外での野菜栽培における環境制御の基礎データになり得るものとする。

また、本研究により低 O<sub>2</sub> 環境下で栽培されたレッドリーフレタスはポリフェノール類、特にアントシアニン含有量が増加することが明らかとなったことから、O<sub>2</sub> 濃度の制御技術を応用し野菜に付加価値をつけることも可能であると考ええる。また、第 3 章第 3 節の結果から、収穫直前の 3 日程度の処理でも機能性成分含有量を高め、野菜に付加価値を付与できる可能性があると考ええる。ポリ

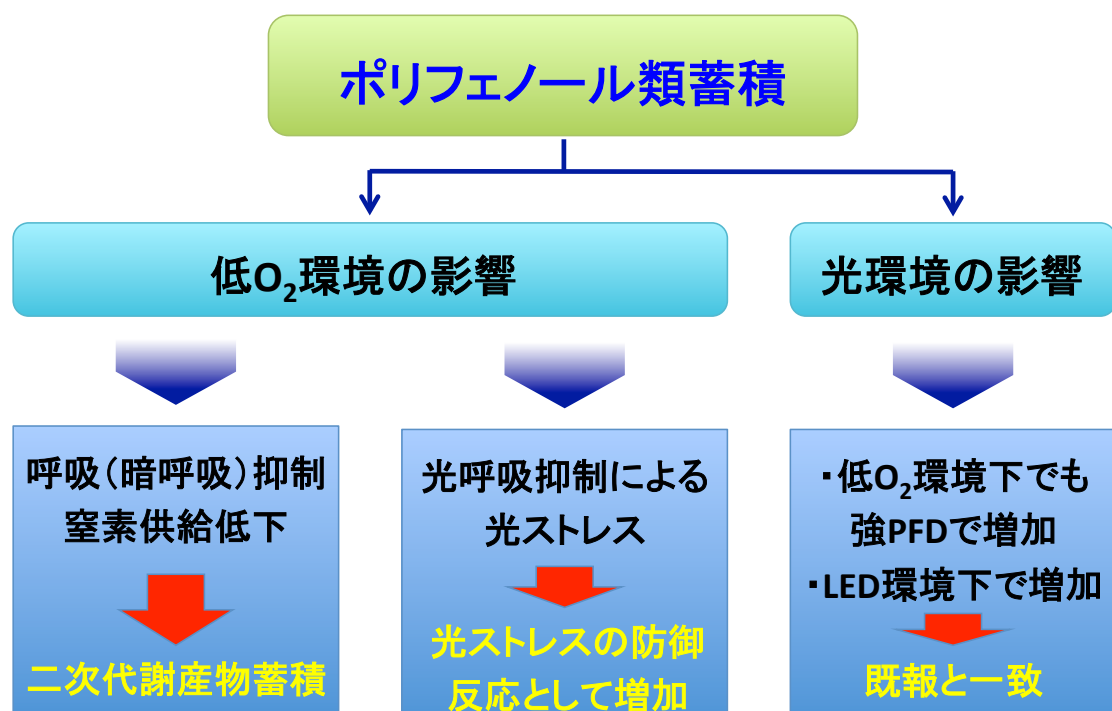


図 5-3. 長期的な低 O<sub>2</sub> 処理が葉菜類のポリフェノール類の蓄積に与える影響.

フェノール類には人間の健康に有用な効果があることが近年の研究で明らかになりつつある。五十嵐（2004）は、アツミカブを中心とした複数種の野菜に含まれるアントシアニンの多様性と機能について研究を行った。その結果、アントシアニンには体内酸化障害の防除のほか、肝障害の防除など有用な効果があることが示された。このように有用な効果が示されることにより、今後、ポリフェノール類などの機能性成分を多く含有した野菜の利用や、それらを高めるための環境調節などの研究が進むと考えられる。本研究から、 $O_2$  濃度制御にも機能性成分含有量を高める効果があることが示されたことにより、今後の産業利用が期待される。

$O_2$  濃度制御の産業利用にあたり、安全性の確保は不可欠な課題となるだろう。低  $O_2$  環境は人体にも悪影響を及ぼすため、人間の作業空間から隔離された空間で処理を行う必要があり、誰もが出入り自由な空間に対する大規模な処理は現実的でない。しかし、近年話題になっているスプラウトのような規模が小さく隔離された空間でも栽培が可能で、かつ機能性成分含有量を高めやすい野菜を利用することにより、安全かつ簡便な  $O_2$  濃度制御が可能であると考えている。

技術の発展により、これまで制御が難しかった野菜の成長に関わる環境要因を自在に制御することができるようになった。また、植物工場のような実際の栽培現場で環境制御技術が応用され、効率的かつ高品質の野菜生産が可能となっている。しかしながら、野菜の成長と各種の環境要因の関係性については未だ不明な点も多く存在する。本研究はこれまで長期的な処理の影響について報告が少なかった  $O_2$  濃度に焦点を当てたものであるが、今後、 $O_2$  濃度と光環境や  $CO_2$  濃度、温湿度環境などを組み合わせた実験により、それらが野菜の成長や光

合成特性，成分蓄積に与える影響が明らかになり，より高度な環境制御による野菜栽培が可能になると考えている．

## 引用文献

- 秋田重誠 1980. 作物の光合成, 光呼吸の種間差 (1). 農業技術研究所報告 D 生理遺伝 31: 1-58.
- Chalker-Scott, L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochem. Photobiol.* 70: 1-9.
- Chapon, J. F., Blanc, C., Varoquaux, P. 2004. A modified atmosphere system using a nitrogen generator. *Postharvest Biol. Technol.* 31: 21-28.
- Clarke, J. E., Johnson, G. N. 2001. In vivo temperature dependence of cyclic and pseudocyclic electron transport in barley. *Planta* 212: 808-816.
- Corey, K. A., Bates, M. E., Adams, S. L. 1996. Carbon dioxide exchange of lettuce plants under hypobaric conditions. *Adv. Space Res.* 18: 265-272.
- 壇和宏, 東山昌秀, 永田雅靖, 山下市二 1994. 低酸素環境下における青果物の呼吸測定のためのガス膜分離式修整空気システム・CO<sub>2</sub>発生量測定装置の開発. *日食低温誌*. 20: 143-146
- Decker, J. P. 1955. A rapid, postillumination deceleration of respiration in green leaves. *Plant Physiol.* 30: 82-84.
- Decker, J. P. 1957. Further evidence of increased carbon dioxide production accompanying photosynthesis. *Solar Energy* 1: 30-33.
- Decker, J. P. 1959. Comparative responses of carbon dioxide outburst and uptake in tobacco. *Plant Physiol.* 34: 100-102
- Decker, J. P., Wien, J. D. 1958. Carbon dioxide surges in green leaves. *Solar Energy* 2: 39-41.
- Evans, J. R., Poorter, H. 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell Environ.* 24: 755-767.

- Forrester, M. L., Krotkov, G., Nelson, C. D. 1966. Effect of oxygen on photosynthesis, photorespiration and respiration in detached leaves. I. Soybean. *Plant Physiol.* 41: 422-427.
- 福山正隆・武田友四郎・谷山鉄郎 1974a. 酸素濃度が作物の光合成および生育におよぼす影響. 第1報 数種の生育温度下での小麦と水稻の生育におよぼす酸素濃度の影響. *日作紀.* 43: 267-277.
- 福山正隆・武田友四郎・前田均 1974b. 酸素濃度が作物の光合成および生育におよぼす影響. 第2報 光呼吸制御と葉面積展開との関係. *日作紀.* 43: 453-461.
- 福山正隆・武田友四郎・大城正市 1975. 酸素濃度が作物の光合成および生育におよぼす影響. 第3報 長期間の低酸素濃度処理が大麦の生育におよぼす影響. *日作紀.* 44(1): 1-6.
- Fukuzawa, Y., Tominaga, J., Akashi, K., Yabuta, S., Ueno, M., Kawamitsu, Y. 2012. Photosynthetic gas exchange characteristics in *Jatropha curcas* L.. *Plant Biotechnology* 29: 155-162.
- Genty, B., Briantais, J., Baker, N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990: 87-92.
- He, C., Davies Jr., F. T., Lacey, R.E. 2007. Separating the effects of hypobarica and hypoxia on lettuce: growth and gas exchange. *Physiologia Plantarum* 131: 226-240
- 堀口毅 1989. 窒素, リン, マンガン欠乏が植物のアントシアニンおよびその他のフェノール性化合物の生成に及ぼす影響. *日本土壌肥料学雑誌* 60: 226-232.
- 五十嵐喜治 2004. 食品素材によるアントシアニンの多様性と機能ーアツミカブを中心としてー. *日本食生活学会誌* 15: 4-11.
- Iwabuchi, K., Goto, E., Takakura, T. 1996. Germination and growth of spinach under hypobaric conditions. *Environ. Control in Biol.* 34: 169-178.

- 岩井万祐子, 太田万里, 土屋広司, 鈴木鐵也 2009. 幼植物期のアカジゾにおけるアントシアニン生成向上への青色 LED と蛍光灯の同時照射効果. 植物環境工学 21: 51-58.
- 金谷建一郎 2006. ポリフェノール類. 日本食品科学工学会・食品分析研究会 共同編集, 新・食品分析法 II 光琳, 東京.
- 川越義則, 森嶋博, 瀬尾康久, 芋生憲司 1991. 気体分離膜を用いた CA 貯蔵システムの開発 (第 1 報). 農業機械学会誌 53: 87-94.
- Kim, H.H., Goins, G.D., Wheeler, R.M., Sager, J.C. 2004. Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red- and blue-light-emitting diodes. HortScience 39: 1617-1622.
- 古在豊樹 2012. 人工光型植物工場 オーム社, 東京.
- Kozaki, A., Takeba, G. 1996. Photorespiration protects C<sub>3</sub> plants from photooxidation. Nature 384: 557-560.
- Larcher, W. 2003. Physiological plant ecology, Ed. 4, Springer-Verlag, Berlin.
- Li, Q., Kubota, C. 2009. Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. Environ. Exp. Bot. 67: 59-64.
- 前川健二郎, 前田智雄, 大島千周, 鈴木卓, 大澤勝次 2006. 数種アブラナ科スプラウトの抗酸化成分含量および抗酸化能に及ぼす照射光強度の影響. 園芸研. 5: 315-320.
- 牧野周 2013. 高 CO<sub>2</sub> 環境と C<sub>3</sub> 光合成の炭素と窒素の利用. 光合成研究 23: 10-17.
- 三村徹郎 1999. 植物とリン環境の関わり合い. 渡邊昭, 篠崎一雄, 寺島一郎 監修, 植物の環境応答 秀潤社, 東京. 191-199.
- Nakano, H., Makino, A., Mae, T. 1997. The effect of elevated partial pressures of CO<sub>2</sub> on the relationship between photosynthetic capacity and N content in rice leaves. Plant Physiol. 115: 191-198.
- 大嶋泰平, 大橋 (兼子) 敬子, 大野英一, 渡邊博之 2015. レッドリーフレラス生産に適した赤色と青色発光ダイオードの光混合条件の検討. 植物環境工学 27: 24-32.

- Porra, R. J., Thompson, W. A., Kriedemann, P. E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Bioch. Bioph. Acta* 975: 384-394.
- Powles, S. B., Osmond, C. B. 1979. Photoinhibition of intact attached leaves of C<sub>3</sub> plants illuminated in the absence of both carbon dioxide and of photorespiration. *Plant Physiol.* 64 : 982-988.
- Priestley, C. A., Treharne, K. J., Lenz, F. 1988. Effects of low oxygen on photosynthesis, translocation and growth in green pepper (*Capsicum annuum*). *Annals of Botany* 61: 159-167.
- Quebedeaux, B., Hardy, R. W. F. 1975. Reproductive growth and dry matter production of *Glycine max* (L.) Merr. in response to oxygen concentration. *Plant Physiol.* 55: 102-107.
- Rajapakse, N. C., He, C., Cisneros-Zevallos, L., Davies Jr., F. T. 2009. Hypobaric and hypoxia affects growth and phytochemical contents of lettuce. *Sci. Hortic.* 122: 171-178.
- 庄子和博, 後藤英司, 橋田慎之介, 後藤文之, 吉原利一 2010. 赤色光と青色光がレッドリーフレタスのアントシアニン蓄積と生合成遺伝子の発現に及ぼす影響. *植物環境工学* 22: 107-113.
- 園池公毅 2005. パルス変調クロロフィル蛍光測定におけるデータの解釈. *日本光合成研究* 42: 7-12.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2010. *Plant physiology*, fifth ed. Sinauer Associates, Massachusetts.
- 高田千奈美, 池田敬 2015. 植物工場環境条件下における液肥への糖および塩添加が赤色系リーフレタスの発色に及ぼす影響. *植物環境工学* 27(1): 33-40.
- 武田友四郎, 土屋幹夫, 縣和一 1978. 酸素濃度が作物の光合成および生育におよぼす影響. 第4報 明期と暗期の低酸素濃度が水稻, ヒメタイヌビエの生育と葉面積拡大におよぼす影響. *日作紀.* 47: 344-353.



- Tolbert, N. E. 1997. The C<sub>2</sub> oxidative photosynthetic carbon cycle. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 1-25.
- von Caemmerer, S., Farquhar, G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-387.
- Wang, H., Gu, M., Cui, J., Shi, K., Zhou, Y., Yu, J. 2009. Effects of light quality on CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll-fluorescence quenching, expression of Calvin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus*. *J. Photochem. Photobio. B* 96: 30-37.
- Yaginuma, S., Shiraishi, T., Ohya, H., Igarashi, K. 2002. Polyphenol increases in safflower and cucumber seedlings exposed to strong visible light with limited water. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66: 65-72.
- Yorio, N.C., Goins, G.D., Kagie, H.R., Wheeler, R.M., Sager, J.C. 2001. Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light-emitting diodes (LEDs) with blue light supplementation. *HortScience* 36: 380-383.
- Yu, H., Ong, B. -L. 2003. Effect of radiation quality on growth and photosynthesis of *Acacia mangium* seedlings. *Photosynthetica* 41: 349-355.

## 引用ウェブサイト

- 宇宙航空研究開発機構 2015. 油井宇宙飛行士の活動状況 (2015 年 8 月 11 日).  
[http://iss.jaxa.jp/iss/jaxa\\_exp/yui/news/150811.html](http://iss.jaxa.jp/iss/jaxa_exp/yui/news/150811.html)
- 農商工連携研究会 2009. 植物工場ワーキンググループ報告書. 経済産業省.  
<http://www.meti.go.jp/report/data/g90424aj.html>

## 謝辞

まず、学部時代から今日に至るまでご指導下さった琉球大学農学部 川満芳信教授に感謝申し上げます。修士課程修了後、企業で働いていた私に大学院へ進学するよう熱心に勧めてくださり、論文の執筆や学会発表、海外での調査など多くのチャンスを与え、私の視野を大いに広げて下さったことは一生の財産です。また、川満教授同様に学部時代から私の研究に作物学とは異なる視点から多くのご助言を下された琉球大学農学部 上野正実教授にも感謝申し上げます。上野教授を通じて産官学に渡る大型プロジェクトの進行など、研究以外の面でも多くのことを学ばせていただいた。さらに、本研究に関して遠方の鹿児島から多くのご助言を下された鹿児島大学農学部 山本雅史教授にも厚く御礼申し上げます。

琉球大学農学部 平良英三准教授には時には先生として、時には兄のような存在として多くのアドバイスをいただき感謝申し上げます。琉球大学農学部 諏訪竜一准教授、上原直子博士にも研究面でご助言をいただき御礼申し上げます。さらに、私の研究の基礎を指導してくださった先輩方、福澤康典博士、稲福（寺本）さゆり博士、安座間健氏にも感謝申し上げます。

私は大学生活を通じて大変多くの仲間に恵まれました。藪田伸博士、富永淳博士、渡邊健太氏、Thanankorn Jaiphong 氏と過ごした実りのある時間も、そうでない時間も、その全てが私にとってかけがえのない時間であり宝物です。また、柴田純氏、前里和洋氏と過ごした日々も大変充実した時間でした。その他、研究の補助など多くの面で私の研究を支えてくれた修士課程および学部生の皆様にも感謝申し上げます。

最後に、大学院博士課程への進学を強く勧め、常に応援してくれた両親と姉妹、そして一番近くで支えて続けてくれた妻ちひろに感謝申し上げます。

本研究は沖縄振興特別推進交付金の一部により行いました。この場を借りて御礼申し上げます。

## 摘要

酸素は二酸化炭素と同様に植物の光合成，光呼吸，呼吸に密接に関わる環境要因である． $C_3$  植物の場合，短期的な低酸素処理では光呼吸が抑制され光合成速度が増大することが知られている．一方，長期的な低酸素処理の知見は十分とは言えない．そこで本研究では，長期的な低酸素処理が葉菜類の生育，光合成特性および成分蓄積に与える影響について明らかにすることを目的とした．

### 1. 酸素・二酸化炭素濃度同時制御チャンバーの開発

本研究で安定的かつ長期的な低酸素処理を行うために，特殊なグロースチャンバーを開発した．このグロースチャンバーに，大気から特殊な膜を利用して窒素ガスを分離することのできる「膜分離式窒素ガス発生装置」を組み合わせることで，安定的な長期の酸素濃度制御を実現した．

### 2. 長期的な低 $O_2$ 処理による影響

14, 20 日間の低酸素処理実験により，ハウレンソウやレッドリーフレタスで葉面積の低下が生じた．短期的な  $O_2$  処理で認められたような光合成速度の増加は認められなかった．また，長期的な低酸素処理を行うことでレッドリーフレタスのアントシアニン含有量が高まることが明らかとなった．3 日間の 2%酸素処理でも同様にアントシアニン含有量は増加した．これは呼吸および暗呼吸が低酸素処理により低下したことで，窒素供給が低下し，蓄積された炭水化物が二次代謝産物合成に利用されたためと考えられる．

### 3. 異なる $O_2$ 濃度および光環境（PFD および光質）による影響

2 段階の PFD ( $350, 180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 下で低酸素処理を 14 日間行った結果， $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の低酸素下ではアントシアニン含有量は高まる傾向にあった．また，5 段階の酸素濃度 (0.4, 2, 7, 10, 21%) 間で比較すると，7%で光合成速度が高まる傾向にあった．この結果から，低酸素による光呼吸抑制と，呼吸や

暗呼吸抑制のバランスにより光合成速度が高まる酸素濃度の存在が示唆された。さらに、蛍光灯と LED を用いた低酸素処理の結果、低酸素環境下で栽培した蛍光灯、LED 区ともにレッドリーフレタスのアントシアニン含有量が高まることが明らかとなった。

以上の結果より、長期的な低酸素処理では短期的な処理とは異なる光合成反応を示すことが明らかとなり、酸素濃度制御によりアントシアニン含有量を高められる可能性が示された。

## Summary

Oxygen gas is an important factor that strongly influences photosynthesis, photorespiration and respiration. It is well known that hypoxia can increase photosynthesis during short-term exposure in C<sub>3</sub> plants. On the other hand, the effect of long-term exposure to hypoxia is still unclear. The objective of this study is to determine the responses of plant growth, photosynthesis and associated components to long-term hypoxia treatment.

### 1. Development of a novel growth chamber

The novel growth chamber was developed in order to determine the effect of long-term exposure to hypoxia. The growth chamber combined with an N<sub>2</sub> gas generator can control the O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> concentrations simultaneously. Using this growth chamber, hypoxia condition can be controlled stable for a long time.

### 2. The effect of long-term exposure to hypoxia

The decrease of leaf area of spinach and red leaf lettuce was shown at 14 and 20 days exposure to 3% O<sub>2</sub>. There was no difference between 3 and 21% O<sub>2</sub> in photosynthesis. Moreover, it was shown that anthocyanin content was significantly increased at 3% O<sub>2</sub>. The anthocyanin increase was occurred at 2% O<sub>2</sub> treatment only for 3 days. This is because nitrogen absorption was decreased followed by the inhibition of respiration and/or dark-respiration under hypoxia conditions, and assimilated carbohydrate was used for secondary metabolism such as anthocyanin synthesis.

### 3. The effect of different O<sub>2</sub> concentrations and light conditions

From the results of different O<sub>2</sub> concentrations and PFD treatments for 14 days, anthocyanin content was increased at hypoxia and 180  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  of light intensity conditions. Moreover, it was shown that the photosynthesis at 7% O<sub>2</sub> was increased.

From this result, I consider that there is optimum O<sub>2</sub> concentration for photosynthesis, which is regulated with the balance of inhibition of photosynthesis and respiration or dark-respiration. From the results of hypoxia treatment under fluorescent light and red- and blue-LEDs, it was shown that total polyphenol and anthocyanin content in red leaf lettuce was increased at hypoxia treatment under both light conditions.

From the present study, it was demonstrated that the response of photosynthesis to long-term hypoxia is different from that of short-term treatment and the O<sub>2</sub> concentration can control the content of functional compound such as anthocyanin.

## 図表リスト

### 第 1 章

図 1-1. 光呼吸回路の主要反応.

### 第 2 章

図 2-1.  $O_2$  濃度・ $CO_2$  濃度同時制御チャンバーと  $N_2$  ガス発生装置の外観写真.

図 2-2.  $O_2$  濃度・ $CO_2$  濃度同時制御チャンバーの構造図.

図 2-3. 赤青 LED のスペクトル分布.

図 2-4. 低  $O_2$  化実施時における低  $O_2$  室, 標準室の相対湿度の経時変化.

図 2-5. 低  $O_2$  化 (2%) 実施時における低  $O_2$  室の  $O_2$  濃度の経時変化.

図 2-6.  $N_2$  ガス発生装置の ON/OFF 制御実施時における低  $O_2$  室の  $O_2$  濃度の経時変化.

図 2-7. 低  $O_2$  化 (2%) 実施時における低  $O_2$  室, 標準室の  $CO_2$  濃度の経時変化.

図 2-8. 低  $O_2$  化 (2%) 実施時における低  $O_2$  室, 標準室の室温の経時変化.

### 第 3 章

#### 第 1 節

図 3-1-1. 低  $O_2$  濃度の短期処理におけるハウレンソウのガス交換速度 ( $A$ ).

図 3-1-2. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培された収穫時のハウレンソウとレッドリーフレタス.

図 3-1-3. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培されたハウレンソウとレッドリーフレタスの全窒素含有量と全炭素含有量.

図 3-1-4. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培されたハウレンソウとレッドリーフレタスの  $CO_2$  濃度変化に対する光合成速度 ( $A$ ) 反応の初期勾配.

図 3-1-5. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培されたハウレンソウとレッドリーフレタスの光強度変化に対する光合成速度 ( $A$ ) 反応 (Light curve).

図 3-1-6. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培されたハウレンソウとレッドリーフレ

タスの光強度変化に対する電子伝達速度 (ETR) 反応.

図 3-1-7. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培されたハウレンソウとレッドリーフレタスの光強度変化に対する光化学系 II の量子収率 ( $\Phi PSII$ ) 反応.

図 3-1-8. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培されたハウレンソウの光強度変化に対する qP の反応.

図 3-1-9. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境で栽培されたハウレンソウの光強度変化に対する  $Fv'/Fm'$  の反応.

表 3-1-1. 低  $O_2$  かつ高  $CO_2$  環境がハウレンソウとレッドリーフレタスの生育に与える影響.

## 第 2 節

図 3-2-1. 異なる  $O_2$  濃度で栽培された収穫時のレッドリーフレタス.

図 3-2-2. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対する光合成速度 ( $A$ ) 反応 (Light curve).

図 3-2-3. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対する電子伝達速度 (ETR) 反応.

図 3-2-4. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対する光化学系 II の量子収率 ( $\Phi PSII$ ) 反応.

図 3-2-5. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対するクロロフィル蛍光パラメータ (qP) 反応.

図 3-2-6. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの光強度変化に対するクロロフィル蛍光パラメータ ( $Fv'/Fm'$ ) 反応.

図 3-2-7. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスの全窒素含有量と全炭素含有量.

図 3-2-8. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスのクロロフィル含有量.

図 3-2-9. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスのアントシアニン含有量.



- 表 3-2-1. 異なる  $O_2$  濃度がレッドリーフレタスの生育に与える影響.
- 表 3-2-2. 異なる  $O_2$  濃度で栽培されたレッドリーフレタスのミネラル含有量.

### 第 3 節

- 図 3-3-1. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件で 3 日間栽培された収穫時のレッドリーフレタス.
- 図 3-3-2. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件で 3 日間栽培されたレッドリーフレタスの全窒素含有量と全炭素含有量.
- 図 3-3-3. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件で 3 日間栽培されたレッドリーフレタスのクロロフィル含有量.
- 図 3-3-4. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件で 3 日間栽培されたレッドリーフレタスの総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量.
- 表 3-3-1. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件で 3 日間栽培されたレッドリーフレタスの生育に与える影響.

## 第 4 章

### 第 1 節

- 図 4-1-1. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件で栽培された収穫時のレッドリーフレタス.
- 図 4-1-2. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの SLA および RGR に与える影響.
- 図 4-1-3. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの光合成速度 ( $A$ ) および光化学系 II の量子収率 ( $\Phi_{PSII}$ ) に与える影響.
- 図 4-1-4. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスのクロロフィル傾向パラメーター ( $qP$  および  $F_v'/F_m'$ ) に与える影響.
- 図 4-1-5. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量に与える影響.
- 表 4-1-1. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの生育に与え

る影響.

表 4-1-2. 異なる  $O_2$  濃度および PFD 条件がレッドリーフレタスの全窒素, 全炭素, ショ糖およびクロロフィル含有量に与える影響.

## 第 2 節

図 4-2-1. 蛍光灯と赤青 LED のスペクトル分布.

図 4-2-2. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件で栽培された収穫時のレッドリーフレタス.

図 4-2-3. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件がレッドリーフレタスの SLA および RGR に与える影響.

図 4-2-4. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件がレッドリーフレタスの光合成速度 ( $A$ ) および光化学系 II の量子収率 ( $\Phi_{PSII}$ ) に与える影響.

図 4-2-5. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件がレッドリーフレタスのクロロフィル傾向パラメーター ( $qP$  および  $F_v'/F_m'$ ) に与える影響.

図 4-2-6. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件がレッドリーフレタスの総ポリフェノールおよびアントシアニン含有量に与える影響.

表 4-2-1. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件がレッドリーフレタスの生育に与える影響.

表 4-2-2. 異なる  $O_2$  濃度および光質条件がレッドリーフレタスの全窒素, 全炭素, ショ糖およびクロロフィル含有量に与える影響.

## 第 5 節

図 5-1. 長期的な低  $O_2$  処理が葉菜類の葉面積と乾物重に与える影響.

図 5-2. 長期的な低  $O_2$  処理が葉菜類の光合成特性に与える影響.

図 5-3. 長期的な低  $O_2$  処理が葉菜類のポリフェノール類の蓄積に与える影響.