

ファレノプシス系デンドロビウムの
Crassulacean Acid Metabolism型
光合成に関する研究

関塚 史朗

1995

①

ファレノプシス系デンドロビウムの
Crassulacean Acid Metabolism型
光合成に関する研究

関塚 史朗

1995

目 次

緒 言	-----	1
第 1 章 明暗期温度の組み合わせがデンファレのCAM型光合成に及ぼす影響		
第 1 節 緒 言	-----	9
第 2 節 材料及び方法	-----	10
第 3 節 結 果	-----	16
第 4 節 考 察	-----	30
第 5 節 要 約	-----	38
第 2 章 明期の平均光強度がデンファレのCAM型光合成に及ぼす影響		
第 1 節 緒 言	-----	39
第 2 節 材料及び方法	-----	40
第 3 節 結 果	-----	42
第 4 節 考 察	-----	61
第 5 節 要 約	-----	70
第 3 章 日長がデンファレのCAM型光合成に及ぼす影響		
第 1 節 緒 言	-----	73
第 2 節 材料及び方法	-----	74
第 3 節 結 果	-----	75
第 4 節 考 察	-----	86
第 5 節 要 約	-----	89

第4章 水ストレスがデンファレのCAM型光合成に及ぼす影響

第1節	緒言	-----	91
第2節	材料及び方法	-----	92
第3節	結果	-----	93
第4節	考察	-----	105
第5節	要約	-----	108

第5章 リードバルブの萌芽促進による開花期の調節

第1節	緒言	-----	110
第2節	材料及び方法	-----	113
第3節	結果	-----	115
第4節	考察	-----	128
第5節	要約	-----	133

第6章 総合考察

第1節	デンファレのCAM型光合成の特性	-----	135
第2節	環境条件とデンファレのCAM型光合成	-----	140
第3節	沖縄におけるデンファレ栽培環境の改善	-----	143
	1. 最適環境条件を利用した株の養成期間の短縮		
	2. 沖縄における栽培環境管理方法における改善点		
要約		-----	154
Summary		-----	158
謝辞		-----	160
引用文献		-----	161

省略表記について

本論文では、次の省略表記を用いた。

A B A	:	Absciscic acid
A T P	:	Adenosine triphosphate
C A M	:	Crassulacean acid metabolism
D T T	:	Dithiothreitol
E D T A	:	Ethylendiamine tetra acetic acid, disodium salt
M D H	:	Malate dehydrogenase
N A D H ₂	:	Nicotinamide adenine dinucleotide reduced form
P A R	:	Photosynthetically active radiation
P E P	:	Phosphoenolpyruvate
P E P C a s e	:	Phosphoenolpyruvate carboxylase
R u b i s c o	:	Ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase

結 言

ファレノプシス系のデンドロビウム(通称デンファレ)は、ラン科、Dendrobium(デンドロビウム)属内の十余種の原種間で交雑育種された種間雑種グループの総称であり、花き園芸作物として切り花や鉢花に利用されている。デンドロビウム属には確認されただけでも1,600余種あり、花序及び花形の違いから41の節に分類されている(小島, 1971)。デンファレの交雑に用いられた原種は、Phalaenanth(ファレナンセ)節とCeratobium(セラトビウム)節に属する。これらの原種は、インドネシアからオーストラリアのヨーク岬半島北端にかけての熱帯雨林地域に自生する。デンファレの育種過程で交配親としてよく用いられ、グループ名の由来にもなったD. phalaenopsisはファレナンセ節に属する。なお、我国においてデンドロビウム属において、単にデンドロビウムまたはノビル系デンドロビウムと呼ばれ、同様に花き園芸に利用されるグループがある。しかし、ノビル系は同属内のEugenanthe節のD. nobileを基本に種間交雑されたもので、デンファレとは育種過程及び生育適地が異なる。

デンファレの栽培種の主な育成地は、ジャワ島、ハワイ島とタイ国であり、数多くの商用品種が作出されてきた。沖縄県には1982年頃から多数の栽培種が主にタイ国から導入され本格的な栽培が始まった。デンファレは、沖縄でも花つきが良く、切り花も長距離輸送に適していることから栽培は急速に普及した。国の構造改善事業等で多くの切り花生産団地が建設されたこともあり、生産は着実に上昇しラン類の切り花生産量では全国一位の規模になった。1993年には栽培面積は約63ha、生産額は約18億円に達し、沖縄にとって重要な園芸作物となっている。

植物は、その光合成的炭素還元固定系の特徴から C_3 、 C_4 及びCAM(Crassulacean Acid Metabolism)型の3種類に分類される。この3つの型に属する植物は、各々特異的な生理生態学的及び形態学的特性を有している。中でもCAM型光合成を示す植物(CAM植物)は、そのほとんどが熱帯・亜熱帯原産で茎葉が多汁質である。

デンファレは、その育種過程で使用された原種と同様に葉が多汁質であることから、CAM植物であると考えられる。セラトビウム節の *D. taurinum* は、 $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ 比、植物体における炭素同位体構成比) からCAM型と同定されている (Neales & Hew, 1975)。Ando (1982) は、暗黒下の CO_2 吸収総量と葉中滴定酸度からファレナンセ節とセラトビウム節間における多数の交配種でCAM型光合成の存在を確認している。デンファレの代表的栽培種の1つであり、本研究で用いた *D. Ekapol* の光合成型についてはこれまで確認されていない。交配過程でファレナンセ節の *D. phalaenopsis* が延べ14回、セラトビウム節の原種が延べ10回使用されていることから、CAM型の可能性が高い。

CAM型光合成の概要；CAMとは本来ベンケイソウ科 (*Crassulaceae*) の植物が示す昼夜に変動する有機酸代謝のことであった。しかし、現在ではベンケイソウ科に限らず、ラン科を含め26科330種以上の植物でこの有機酸代謝が確認され、CAMという言葉もこれら植物群が有するひとつの生態的適応特性という意味を持つに至っている。CAMの生態的適応とは、大気の水蒸気分圧が低下し蒸散が促進される昼間に気孔を閉じ、蒸散要求量が緩和される夜間に気孔を開くという気孔開閉の日周変化のことであり、究極の水分保持を可能にした優れた機能のことである。従って、現在ではCAM型光合成とは乾燥地適応型の炭素獲得系であると考えられている (Kluge & Ting, 1978; 野瀬, 1979, 1992)。CAM植物の大半が熱帯及び亜熱帯の砂漠地帯に分布しているのは、以上のような逆転した気孔の開閉とそれに連動したガス交換の組み合わせで水分保持が可能になった結果であると考えられる。

このようなことから、Kluge & Ting (1978) はCAM植物を次の特性を有する植物として定義している。①光合成を行う組織で、リンゴ酸が夜に溜まり、昼に消失する日変化をする。②同組織で、貯蔵形の炭水化物含量がリンゴ酸とは逆転した日変化リズムを示す。③通常の場合、夜は外気から CO_2 を吸収し、昼には CO_2 吸収が低下するかなくなってしまう。すなわち、本来のCAMを持たない植物とは昼夜を逆にした気孔

の開閉を行う。

CAM型光合成における炭素代謝は暗期にホスホエノールピルビン酸の β -カルボキシ化反応の結果生じるオキサロ酢酸をリンゴ酸へ変換した後液胞に貯え、明期において液胞から細胞質へ流出したリンゴ酸を脱カルボキシ化して生じた CO_2 を還元型ペントースリン酸回路に取り込む一連の生化学反応を完結することである。

以上のように複雑なプロセスを示すCAM型光合成は、1日を4つの時間相に区分して捉えることでその特徴がよく理解できる(Osmond, 1978)。まず、第1の相(Phase 1)は、暗期に外気から CO_2 が吸収されるプロセスであり、この時の CO_2 固定はホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ(PEPCase)によって行われ、オキサロ酢酸が生成される。オキサロ酢酸は直ちにリンゴ酸脱水素酵素によってリンゴ酸に変換され液胞に蓄積される。この反応基質であるホスホエノールピルビン酸(PEP)は、解糖系により炭水化物(グルカン)が分解され供給される。従って、Phase 1では葉中のグルカンの含量が減少し、リンゴ酸含量が増加する(Osmond, 1978)。Phase 1後半になると、液胞中のリンゴ酸含量が飽和することから CO_2 吸収速度は減少する。次に暗期が終わり明期が始まると CO_2 吸収は一時的に増大する。この時期をPhase 2といい、夜型のカルボキシ化反応から昼型のカルボキシ化反応への移行期であると言われている。すなわち、Phase 2の前半の CO_2 固定はPEPCaseが主に行い、時間の経過とともに明期の CO_2 固定酵素であるリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)が作用するものと考えられている(Osmond & Allaway, 1974; Winterら, 1982)。次に、CAM型光合成の大きな特徴の1つである明期における CO_2 吸収の消失あるいは抑制の期間が現れ、この期間はPhase 3として区別される。この期間は、前夜液胞に蓄積されたリンゴ酸が脱カルボキシ化され、生じた CO_2 がカルビン回路で再固定される。再固定される葉内の CO_2 ソースが枯渇すると気孔が開き直接外気からの CO_2 吸収が生じる。この明期後半に生じる CO_2 吸収期間がPhase 4である。このように、CAM型光合成を4つのPhaseに分けて考えることは、この光合成の時系列的・内的変化の特性を解析・理解する上で極めて有効である。本研究では、この点に着目

してPhaseごとにCO₂収支量を算出し、デンファレのCAM型光合成特性の解析を行った。

CAM型光合成と環境要因；CAM植物が上記のような特徴的なガス交換の日変化を示すことから、環境要因の影響を調査した様々な研究がある。中でも温度条件は植物の生理・生化学反応に大きな影響を及ぼす要因である。特に、CAM型光合成においては夜にCO₂吸収が生じ昼にはガス交換の抑制が生じることから、温度に関しては明期と暗期の組み合わせとしてよく研究されてきた。その結果、CAM型光合成は、低い暗期温度と高い明期温度の組み合わせで暗期のCO₂吸収が活発になると言われる (Neales, 1973a, 1973b, 1981; Nobel & Hartsock, 1981; 野瀬, 1986a)。CAM型CO₂吸収が活発になる暗期温度は15~22℃で、明暗期温度の較差が10~15℃の時に暗期のCO₂吸収が増加する。以上のことは、ベンケイソウ科、パイナップル科、サボテン科の植物について得られたもので、これらの植物の生育地が砂漠等の温度の昼夜較差が大きい地域であることもひとつの原因となっているものと考えられる。本研究で用いたデンファレの起源は、日較差が小さい湿潤熱帯地域であり、従来得られた成果がデンファレのCAM型光合成で見られるか否かは興味深い。

植物の光合成は、単的にいって光の放射エネルギーを化学エネルギーに変換するプロセスであることから、光は光合成にとって最も基本的な環境要因である。特にCAM型光合成においては昼間はガス交換が抑制されるため、光強度とCAM型光合成との関係は興味深い。また、CAM型光合成の昼間のCO₂吸収は複雑な変化を示すことから、C₃植物やC₄植物で見られるような光-光合成関係では説明できない。Klugeら (1973), Noseら (1977), Sale & Neales (1980), Nobel & Hartsock (1978) は Tillandsia usneoides (サルオガセモドキ), Ananas comosus (パイナップル), Agave deserti (リュウゼツラン) において明期の光強度がCAM型光合成、すなわちリンゴ酸の脱炭酸速度やPhase 4のCO₂吸収、さらにPhase 1のCO₂収支量に影響を及ぼすことを認めている。デンファレは樹幹に着生する陰生植物であることから、CAM型光合成と光強度との関係は、従来観察された他の植物の結果と同様であるか否かは

不明である。

植物における光要因は、光合成に対するエネルギーソースという側面と、日長として生育相の転換に影響を及ぼすという側面を持つ。特に、*Kalanchoe blossfeldiana*(ベニベンケイ)においては、短日処理によりCAM型光合成が誘起される(Queiroz & Morel, 1974; Brulfertら, 1982a, 1982b, 1982c)ことが知られており、光はCAM型光合成に対してエネルギーソースだけではなく、制御因子としても働くことが知られている。CAM植物には、環境条件によりCAMが誘導される可塑的CAM植物と、いかなる環境条件でもCAMが維持される固定的CAM植物が存在する(Osmond, 1978; Kluge & Ting, 1978)。日長条件は、可塑的CAM植物にとってはCAMのtriggerであり、CAMの本質に影響する因子であると考えられている。固定的CAM植物では、日長条件はその本質的な部分に影響を与えるという報告(Noseら, 1986)と、与えないとの報告(Nobel, 1989)がある。本研究では、デンファレのCAM型光合成に対する日長の影響も検討した。

CAM型光合成は乾燥条件に適応した結果であると考えられていることから、水分条件の影響に関する研究例は多い(Bartholomew, 1973; Klugeら, 1973; Nobel, 1977; Noseら, 1981)。特に、水ストレスは可塑的CAMのtriggerとして働き、CAMの制御因子になることが明らかにされつつある(Ting & Hanscon, 1977; Winterら, 1978; Guralnick & Ting, 1987; Schafer & Luttge, 1987; Huerta & Ting, 1988)。さらに、CAM植物を厳しい水ストレス条件下におくと昼夜を通じて気孔を閉鎖し、外部とのガス交換は一切停止しながら体内ではリンゴ酸の日変化を繰り返すというCAM-idling状態になることが報告されている(Szarekら, 1973; Szarek & Ting, 1974; Osmondら, 1979; Rayder & Ting, 1983a; Martin & Schmitt, 1989)。以上のように、水ストレスがCAM型光合成に密接に係わっていることから、湿潤熱帯の着生植物であるデンファレが、水ストレスに対しCAM型光合成をどのように変化させるのかは興味を持たれるところである。また、デンファレの生育を促進するための水分条件を明らかにすることも栽培管理学上重要であると考えられる。

沖縄におけるデンファレの栽培技術開発；本研究では，各種環境条件下におけるデンファレ個葉の光合成特性を解明し，デンファレの新栽培技術の考案を試みた。

作物における光合成研究について，村田(1961)は作物の物質生産力に立脚した栽培理論を確立する上で重要であり，栽培法や環境条件との関連のもとに光合成の特性を明らかにすることに意義があると指摘している。実際，作物の乾物重の9割を占める炭素化合物は光合成由来であり，生長・収量と光合成量とは不可分の関係にあると考える。生長・収量と環境要因との関係を明らかにするためには，まず光合成の特性から明らかにしなければならない。

ところが個葉レベルの光合成速度は，必ずしも物質生産性と一致しないという考えもある。これは，個葉の光合成特性は個体群では適応しない場合があるからである。このことに対してMurata(1981)は，多くのC₃，C₄植物の個葉の光合成速度と実際の圃場レベルでの生産力との関係を調べ，個葉の光合成速度の高いものが生産性が高いことを明確に示している。また同様にCAM植物についても，1日の総CO₂収支量は24時間を通したCO₂交換速度の測定から算出するため，単位葉面積当たりのCO₂収支量は実際の物質生産力を近似でき，個葉レベルの光合成研究が有効であることが報告されている(Sale & Neales, 1980)。

このような考えに立脚した光合成の研究が，多くの園芸作物の安定した栽培技術の確立に貢献してきた功績は大きい(加古ら，1979a, b；三浦，1980, 1981；森岡ら，1988)。CAM植物では，パインアップル(Noseら，1977, 1981, 1985；野瀬，1986)とコショウラン(須藤ら，1980, 1993；大田ら，1991；窪田ら，1993)の例はあるが，デンファレの光合成特性についての報告は皆無に等しい。

デンファレは花器の数量及び鑑賞的品質を重視する園芸作物であることから，高品質の花を多数生産するためには，数ヶ年に渡って健全な植物体を生育させることが必要である。また，メリクロン苗から営利的な切り花を得るまでには約4年間の育成期間を必要とすることから，生長を促進して育苗期間を短縮する技術も重要であ

る。このような観点から、デンファレにおいて生育の基礎である光合成と環境条件との関係を明らかにすることは、合理的な栽培技術体系を確立する上で意義が大きいと言える。特に、沖縄においてデンファレの栽培は施設内で行われていることから、栽培環境の改善方向の提示は不可欠である。

デンファレに関する研究は、育種学の分野では倍数性育種の卓越した理論と新種作出という傑出した成果を導いた細胞遺伝学の研究(Kamemoto, 1980, 1987)がある。栽培学の分野においては、ファイトトロンを用いてデンファレの発育・開花と栽培温度との関係を調査した研究(上里ら, 1985)及び施肥条件の報告(Vacharotayan & Kreetapirom, 1980; 上里ら, 1987)がある。デンファレの生育に対する温度の影響の研究(上里ら, 1985)は、栽培環境整備を考慮する上で有効な情報を与えたが、その他の環境要因と生育に関する基本的情報、すなわち生理生態学的研究例は少ない。

このように、デンファレの栽培技術に関する資料に乏しいため、沖縄における栽培は、気象条件に対応した演繹的技術の組み立てができず、タイ国等海外技術の模倣からスタートした。しかし、当然のことながら、沖縄の温度や日射等の環境条件は熱帯圏の栽培地域と大きく異なる。また、夏季常襲する台風対策のために施設内での栽培を余儀なくされ、栽培者はデンファレ導入時から栽培環境の制御について試行錯誤を繰り返してきた。現在、経験的事例の積み重ねによりある程度の栽培技術が開発されているが、デンファレの生理生態学的情報が少なく栽培上の多くの課題を抱えている(関塚, 1990; 沖縄振興開発金融公庫, 1991)。

本研究では、まずガス交換の日変化からデンファレがCAM型光合成を有するかどうかを調べ、各種環境条件下での光合成特性を解析した。まず第1章において、ガス交換及びリンゴ酸含量の日変化からデンファレの光合成型を決定し、さらに温度条件とCAM型CO₂交換との関係を取り上げた。第2章では、光強度を取り上げ、温度条件との関係を加えてCAM型CO₂交換に及ぼす影響を解析した。第3章では、日長条件との関係を日射量すなわち明期の総光量子との関係を加えて検討した。第4章では、栽培管

理上重要となる水ストレスとデンファレのCAM型CO₂交換の関係を調べた。第5章においては、得られたCAM型CO₂交換の最適環境条件とリードバルブの萌芽促進方法を利用した開花期の調節を検討した。第6章の総合考察では、以上のようなデンファレのCAM型CO₂交換と環境条件との関係を整理し、デンファレのCAM型光合成の特性を明らかにした。また、同時に最適栽培環境条件を明らかにし、今後の沖縄の栽培において補うべき条件を考察した。

第1章 明暗期温度の組み合わせがデン

ファレのCAM型光合成に及ぼす影響

第1節 緒言

CAM植物において、明期、暗期の温度条件がCO₂交換の日変化パターンや暗期の有機酸蓄積量に影響を及ぼすことはよく知られている(Kluge & Ting, 1978; Osmond, 1978; Winter, 1985; Ting, 1985). 例えば、アロエでは明期30°Cと暗期15°Cの時、暗期の有機酸含量が最も増加する(Crewら, 1976). また、サボテン類やパインアップルのCO₂吸収は、明期を暗期より10~15°C高くした時、Phase 1及び1日のCO₂収支量が增大する(Nobel & Hartsock, 1981; Nealesら, 1980; 野瀬ら, 1986a).

一般に、CAM植物では、低い暗期温度と高い明期温度の時、暗期のCO₂吸収と有機酸の蓄積量が増加する。しかし、暗期温度が高くなると暗期のCO₂吸収量は抑制される(Neales, 1973, 1975; Kluge, 1973; Langeら, 1975). 明期は高温の方がCO₂吸収にとって好ましく、逆に20°C以下だと阻害されることが多い(Neales, 1973a, b; Kaplanら, 1976; Medina & Osmond, 1981). 野瀬ら(1994)は、セイロンベンケイソウとコダカラベンケイソウにおいて、明期に比べ暗期の温度を高くするとCAM型CO₂交換の日変化パターンが消失することを認めている。

CAM型CO₂交換はその育成地や前歴の影響を強く受ける(Kluge & Ting, 1978). デンファレの交配・育成地や栽培地は年間を通して比較的高温で明/暗期温度較差の少ない湿潤熱帯である。従って、デンファレがパインアップルや他のCAM植物と同様な温度反応を示すか否か明らかにする必要がある。

デンファレは、近年沖縄において広く栽培され、当地域の農業において重要な作物となりつつある。沖縄の年平均気温は20°Cを越え、気候区分は亜熱帯に属するが、季節ごとにみた温度環境は、デンファレの栽培に適しているかどうか明確ではない。

遮光ネットのみで野外で栽培を行っているハワイと温度環境を比較してみると、沖縄の6~9月は月平均気温が24~27.5℃であり、ハワイに比べ高い。しかし、1~2月の月平均気温は15~17℃まで低下し、この時期のハワイの平均気温21~22℃に比べてかなり低い。このように、沖縄の温度環境は熱帯圏の栽培地と比較して、夏季は高温、冬季は冷涼である。このように沖縄においては、年間を通じて温度の変化が著しいことも一つの特性となっている。このような温度環境条件においてデンファレの栽培を効果的に行うためには、本植物の温度反応特性を明らかにし、デンファレに適した栽培技術を確立する必要がある。

本章では、数種の明/暗期温度の組み合わせ下で個葉のガス交換速度の日変化を調査した。

第2節 材料及び方法

CO₂交換・蒸散速度測定装置

CO₂交換の測定は、作動型赤外線CO₂分析計(島津製作所, URA-106)及び絶対値型CO₂分析計(島津製作所, URA-107)を併設した通気式同化箱法で行った。第1-1図に本研究で使用した測定装置の概略を示した。装置は、植物の葉を閉じ込める同化箱、CO₂分析・記録機器類と、測定時の環境条件を制御する機器類から構成されている。

このシステムを被測定ガスの流れに沿って概説すると、以下のとおりになる。まず、空気は室外に設置したコンプレッサー(CP)により大気から取り込まれ、圧力調整器(PR)で圧力を調整された後、厚さ15mmの亚克力樹脂板を用いて作成した導入空気露点制御装置(HCC)の下部の空気拡散部に送られる。導入空気露点制御装置とは、導入された空気の露点を装置内の水温を変えることにより制御し、空気中の水蒸気圧を調整するものである。水温は、クールニクス(TC; 小松・ヤマト科学, CTE-82W)により制御し、同化箱(AC)や通気パイプ内で結露を起こさないようにするために、

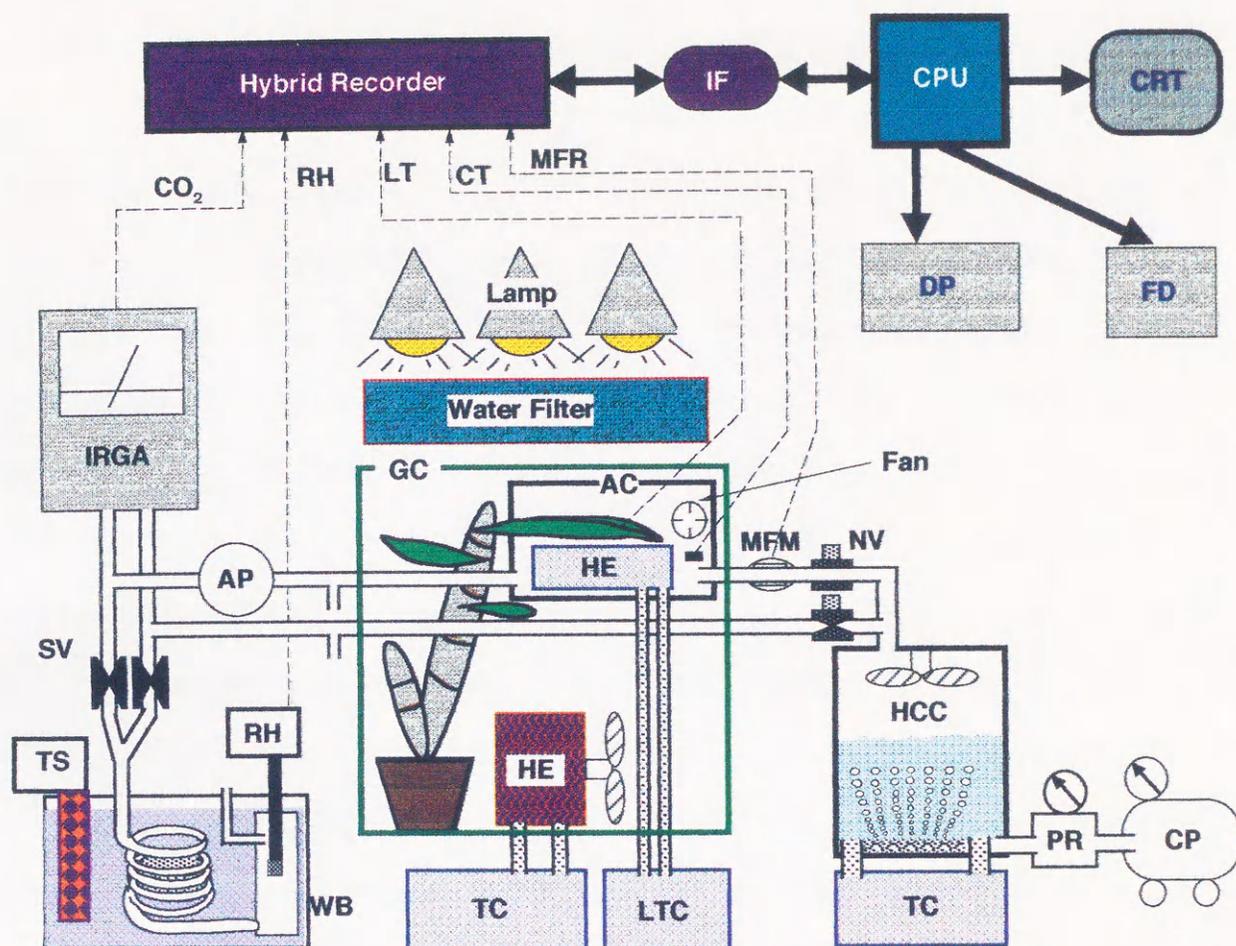


Fig. 1-1. Schematic diagram of the gas exchange measurement system in single attached plant leaves. This system controls the light intensity, air and leaf temperatures and air-humidity.

- | | |
|---|-----------------------------------|
| AC : Assimilation chamber | IRGA: Infra-red gas analyzer |
| AP : Air pump | LT: Leaf temperature |
| CP : Compressor | LTC : Leaf temperature controller |
| CO ₂ : CO ₂ concentration | MFM: Mass flow meter |
| CPU : Central processing unit | MFR: Mass flow rate |
| CRT: Cathode-ray tube display | NV : Needle valve |
| CT : Chamber temperature | PR : Pressure regulator |
| DP : Dot printer | RH : Relative humidity |
| FD : Floppy disk unit | SV : Solenoid valve |
| GC : Growth Chamber | TC : Temperature controller |
| HCC: Humidity control circuit | TS : Thermostat |
| HE : Heat exchanger | WB: Water bath |
| IF: Interfaces | |

同化箱を制御する温度よりも4℃以上低く設定した。露点制御装置内の空気拡散部は、導入空気になるべく小さな気泡になり、水と接触する面積及び時間が最大になるように工夫されている。水層を通過した空気は装置上部に設置したファンにより攪拌され、均一化される。その結果、空気は設定温度でほぼ飽和に達する。露点制御装置を通過した後、空気の流路は5経路に分割され、4つが同化箱経路へ、残り1つは同化箱入り口のCO₂濃度及び湿度測定用の比較ガス経路へ入る。なお、第1-1図では、同化箱は1つしか記載していないが、実際には4つ設置した。

同化箱は無駄な空間を最小限に抑え、デンファレの個葉2～3枚が入るような大きさ(幅×奥行き×高さ=35×18×12cm)に設計した。被測定葉の葉温制御のために、同化箱内にはラジエーターを取り付け、クールニクス(LTC)で制御された水が循環し、同化箱内温度を厳密に制御できるようにした。また、小型ファンで箱内のCO₂濃度及び湿度が均一になるように攪拌した。ファンの回転数は変圧器により常に一定に制御し、測定毎の葉面境界層抵抗を固定した。なお、同化箱内の葉面を通過する平均風速は約1.0m・s⁻¹であった。同化箱への導入通気量は2.5～4.5 l・min⁻¹で、葉のCO₂固定能力に応じてニードルバルブ(NV)で調節した。同化箱への流量はフローメーター(MFM; エステック, SEF-1)で計測され、結果はアナログ信号として逐次ハイブリッドレコーダ(横河電気, 3081)に送られようにした。

測定株及び同化箱は、同化箱温度と同様の温度に制御したグロースキャビネット(GC)内に設置した。グロースキャビネット内の温度は、温度コントローラ(TC; 大洋科学, CP-600)と連結したラジエーター(HE)と攪拌用のファンをキャビネット内に設置して制御した。

光源は陽光ランプ(東芝, D-400C)を用い、グロースチャンバー上に3基設置した。光線はグロースチャンバーに入射する前に深さ約10cmの水槽を通過させ、熱線のチャンバーへの入射を減少させた。陽光ランプは同化箱との距離や照射方向が任意に調節できるように設置し、葉面で光むらが生じないように調節した。

被測定葉の温度と同化箱内の気温は、直径0.1mmの銅-コンスタンタン熱電対(千野

製作所, VT-1)を使用して測定した。葉温は裏側に熱電対をビニルテープで密着して、同化箱内の気温は陽光ランプの直射光が当たらないように熱電対を配置して測定した。両熱電対の信号は自動ゼロ点補償付きのハイブリッドレコーダに入力させた。

4つの同化箱からの測定ガスと比較ガスは、CO₂濃度を測定するための赤外線CO₂分析計(IRGA)と、静電容量相対湿度計(RH; バイサラ社, HMP-111Y)に行く経路に分けた。両経路とも約1.0 l·s⁻¹の流量となるようエアーポンプ(AP)で引いた。4つの測定ガスと比較ガスは、電磁弁(SV)により流路を変え、分析計と湿度計を経て放出した。電磁弁は、パーソナルコンピュータ(CPU; NEC, PC-9801)によって制御した。このような方法で同化箱の入口と出口におけるCO₂濃度と湿度を測定した。両計測値の信号は、電磁弁の開閉毎に順次ハイブリッドレコーダに送った。

相対湿度計は外囲空気の温度の影響を受けるため、センサー部分は恒温水槽(TS)の中に設置し、一定の温度条件で計測するようにした。被測定ガスは、恒温水槽内のコイル状に巻かれた銅パイプ内を通過し、水槽の設定温度に達した後、センサー部分に送られる。なお、恒温水槽内の温度は、サーモミンダ(WB; タイテック, SM-05)により、結露を避けるために同化箱内の温度よりも4℃以上高く設定した。

各々計測されたCO₂濃度、相対湿度、葉温、同化箱内気温及び流量は、ハイブリッドレコーダで計測され、インターフェイス(IF)を介してパーソナルコンピュータに転送される。各々のデータは、CO₂交換・蒸散速度計算プログラムにより各パラメータを計算した。これらの計算値と各パラメータの数値は、ディスプレイ(CTR)、ドットプリンタ(DP)に転送され、また、フロッピーディスク(FD)にも記録される。

CO₂交換・蒸散速度計算プログラムにおいて使用した計算式は、次のとおりである。すなわち、CO₂交換速度(CER: $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)の計算方法は、CO₂濃度及び温度補正項を入れずに、次式(2-1)に従った(加藤ら, 1981)。

$$\text{CER} = \frac{[\text{CO}_2]_{\text{in}} - [\text{CO}_2]_{\text{out}}}{10^6} \times F \times \frac{1}{22.4} \times \frac{10000}{\text{LA}} \times \frac{1}{60^2} \quad \text{式 1}$$

$[CO_2]_{in}$: 同化箱導入空気の CO_2 濃度(ppm), $[CO_2]_{out}$: 同化箱出口の CO_2 濃度(ppm),
F : 同化箱への流量(ml/hr), LA : 同化箱にセットした葉面積(cm^2).

一方, 蒸散速度(T_r : $mmol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)は, 同化箱の出口と入口での湿度を静電容量相対湿度計で測定し, 相対湿度を絶対湿度に変換後, 式2に従い求めた(Coombsら, 1982). 葉の拡散伝導度(g_l : $mmol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)は式3に依り, 葉温と気温及び蒸散速度から算出した.

$$T_r = \frac{([H_2O]_{out} - [H_2O]_{in}) \times F}{LA} \quad \text{式2}$$

$$g_l = \frac{[H_2O]_{leaf} - [H_2O]_{air}}{T_r} \quad \text{式3}$$

$[H_2O]_{out}$: 同化箱出口の絶対湿度($mg \cdot ml^{-1}$), $[H_2O]_{in}$: 同化箱導入空気の絶対湿度($mg \cdot ml^{-1}$), $[H_2O]_{leaf}$: 葉内部の水蒸気密度($mg \cdot ml^{-1}$), $[H_2O]_{air}$: 外囲空気の水蒸気密度($mg \cdot ml^{-1}$).

供試材料及び CO_2 交換・蒸散速度測定方法

デンファレ(D. Ekapol cv. Panda)を, 1989年3月にピートモスとパーライトの混合培地(1:1, 容積比)を詰めたポリエチレンポット(直径9cm, 高さ9cm)に植え付けた. 施肥は, 1989年5月から10月までほぼ月に2回の割合で, 鉢底から流下するまで2000倍の液肥(住友2号, N:P₂O₅:K₂O=10:5:8%)を与え, ガラス室内で育成した.

CO_2 交換の測定は, 1989年12月2日から1990年1月12日にかけて行い, 1989年10月から11月にかけて展開したリードバルブの最上位完全展開葉またはその1葉位下の葉を

用いた。測定した葉の平均面積は39cm²であった。1つの同化箱に、2枚の着生葉をセットした。

温度処理として、葉温に関し明期を30℃に維持して暗期を35, 30, 25℃に変えた区、明期を25℃に維持して暗期を30, 25, 20, 15℃に変えた区、明期を20℃に維持して暗期を25, 20, 15, 10℃に変えた区の合計11区を設定した。ガス交換測定時の設定温度と実際の温度を第1-1表に示した。同化箱内相対湿度は、明期で30~55%, 暗期で35~75%であった。測定葉上の光合成有効放射は約420 μmol·m⁻²·s⁻¹になるように調節した。明期の長さは7時30分から17時30分までの10時間とし、残りの14時間を暗期とした。各区とも2~3日間同様の温度条件下におき、最終日のデータを結果として用いた。また、各条件区について測定を2回繰り返した。

Table 1-1. Actual averaged temperatures of light/dark period in measurement of gas exchange.

Light period temp. (°C)	Dark period temperature (°C)					
	10	15	20	25	30	35
20	20.5/12.1	20.6/15.6	20.9/20.6	21.0/25.3	-----	-----
25	-----	25.3/15.7	25.3/20.6	25.4/25.2	25.5/30.0	-----
30	-----	-----	-----	31.0/25.4	30.1/30.0	31.0/34.6

葉のリンゴ酸含量の測定法

被測定株とは別の株を用い、ガス交換測定で使用したキャビネットと同様の温度条件に置いたリードバルブの最上位完全展開葉のリンゴ酸含量を測定した。各温度

処理区とも3日間同様の温度条件下に置き、最終日の8時30分と16時30分に試料を採取した。明期温度を固定し暗期温度を変えて一連の測定を終了した後、明期温度を変える時点で株を交代した。ディスクのサンプリング方法は、葉の先端から基部に向けて行い、1処理区当たり4反復とした。採取後は切り口をラノリンでコーティングした。試料はリーフパンチにより1.57cm²採取し、精秤後速やかに液体窒素で固定し、その後-45℃で保存した。また、明期30℃、暗期25℃の条件下で2時間毎にサンプリングを行い、葉中リンゴ酸含量の日変化を測定した。

リンゴ酸含量の測定方法は、以下のとおりである。試料は氷冷した試験管内で5mlの抽出用緩衝液(0.2M Bicine-KOH pH8.2, 0.2mM EDTA, 0.5mM DTT, 2mMヨード酢酸)を加え、ホモジナイザーにより20秒間磨砕した。磨砕液は一重のミラクロスで濾過し、濾液を抽出液とした。抽出液2mlに5%過塩素酸を1ml加え冷凍保存(-45℃)し、後日KOHを加えて中和(pH5.5)した後、有機酸分析システム(島津製作所, LC-6A型)により測定した。カラムはShim-Pack SCR-102Hを2本直列に接続し、移動相として5mM p-トルエンスルホン酸水溶液、緩衝液として5mM p-トルエンスルホン酸, 100 μM EDTA及び20mM Bis-trisの混合水溶液を用い、各々の流量は0.8ml・min⁻¹であった。

クロロフィル含量の測定は、次の方法で行った。すなわち、リンゴ酸分析で得られた抽出液から1mlを小型遠心チューブに取り、アセトン4mlを加えた後、3,000rpmで10分間遠心し、その上澄み液を645と663nmの吸光度で測定した(Arnon, 1949)。

第3節 結 果

明/暗期温度がガス交換の日変化パターンに及ぼす影響

第1-2図は明期の温度を30℃に維持し、暗期を25, 30, 35℃と変化させた時のデンファレの個葉のCO₂交換速度及び拡散伝導度の日変化である。デンファレのCO₂交換速度の日変化は、暗期(Phase 1)と明期始め(Phase 2)と明期後半(Phase 4)にCO₂を

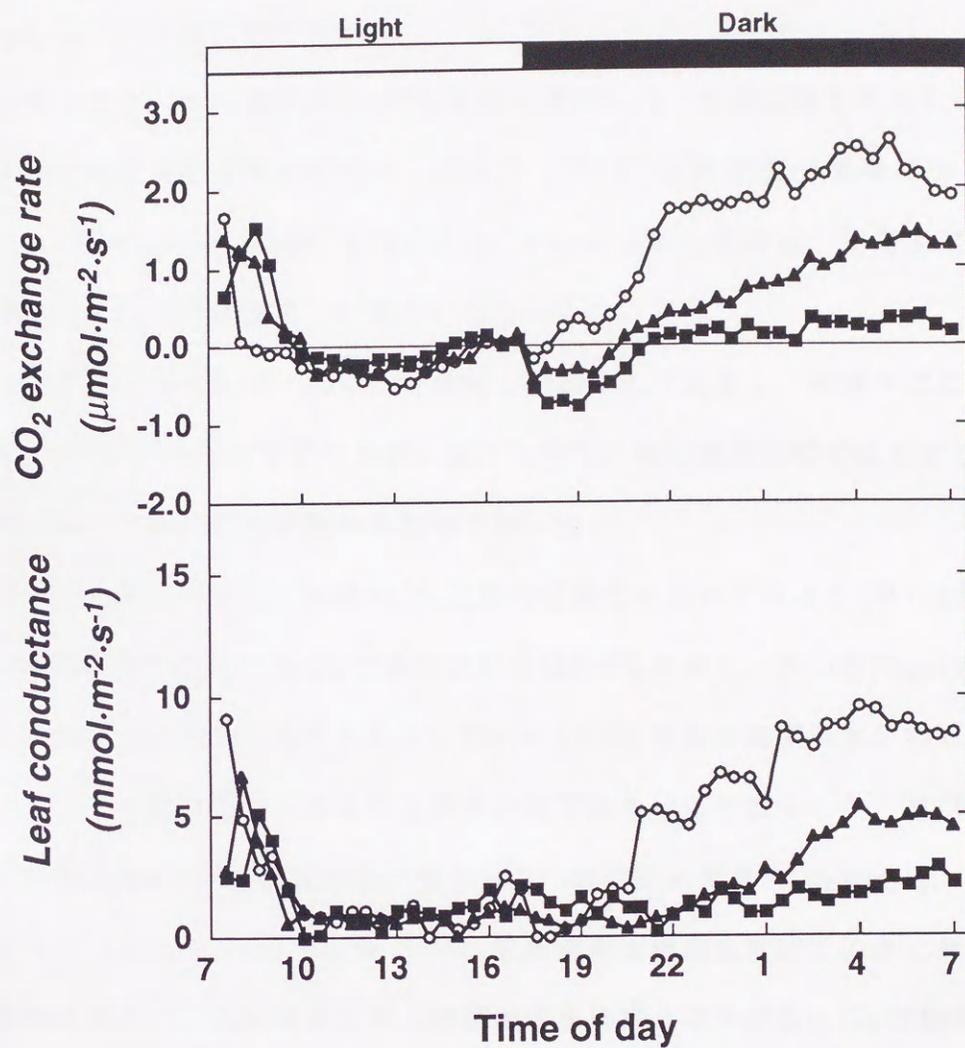


Fig. 1-2. Effects of night temperature on diurnal CO₂ exchange rate and leaf conductance at 30°C day leaf temperature. Night leaf temperatures were set at 25° (○), 30° (▲), and 35°C (■), respectively.

吸収する典型的なCAM型である。CO₂交換速度に及ぼす暗期温度の影響をみると、暗期25℃の時にPhase 1のCO₂吸収速度が最も大きかった。暗期温度を30℃に上げると、Phase 1のCO₂吸収開始時刻が遅れ、吸収速度も小さくなった。しかし、Phase 2の期間が長くなり、その期間のCO₂吸収速度も増加した。暗期温度をさらに35℃と高くして明/暗期温度を逆転させると、Phase 1のCO₂吸収速度は極端に小さくなり、Phase 1始めにはCO₂の放出も見られた。Phase 4のCO₂吸収は、明期温度が30℃の場合ではいずれの暗期温度でも僅かに認められた。

葉の拡散伝導度も30/25℃の時暗期と明期始めに大きく、明期半ばに低下するという典型的なCAM型の日変化を示した。しかし、暗期温度30℃では日変化幅が縮小し、また、35℃では日変化が認められなくなった。

次に、明期温度が25℃の時のCO₂交換の日変化についてみると(第1-3図)、設定したいずれの暗期温度でもCO₂交換の日変化はCAM型を示し、かつ各PhaseのCO₂交換速度に暗期温度の影響が認められた。Phase 1のCO₂吸収は暗期温度が25℃の場合に最も活発で、暗期温度をこれより上昇または下降させると減少した。暗期温度30℃では暗期開始直後のCO₂放出速度が増大した。暗期開始直後のCO₂放出は、暗期温度を下げると小さくなった。Phase 2のCO₂吸収速度は暗期温度30℃の時に最も高く、暗期温度を低下させると減少した。暗期温度を15℃まで下げるとCO₂交換の日変化幅が小さくなった。

明期25℃における葉の拡散伝導度は、暗期と明期前半に高く、いずれの暗期温度下でもCO₂交換の日変化と同様の推移を示した。また、CO₂放出速度が増大する時は拡散伝導度も大きくなった。

第1-4図には明期を20℃に維持した時の暗期温度がCO₂交換に及ぼす影響を示した。明期25℃の時と同様、全ての暗期温度区でCAM型の日変化パターンを示し、また、各PhaseのCO₂交換速度は暗期温度により変化した。Phase 1のCO₂吸収速度は明/暗期温度を20℃に維持した時が最も活発で、暗期を25℃に上げるとPhase 2のCO₂吸収が増加するものの、暗期開始直後のCO₂放出が大きくなった。暗期を15℃に下げると、

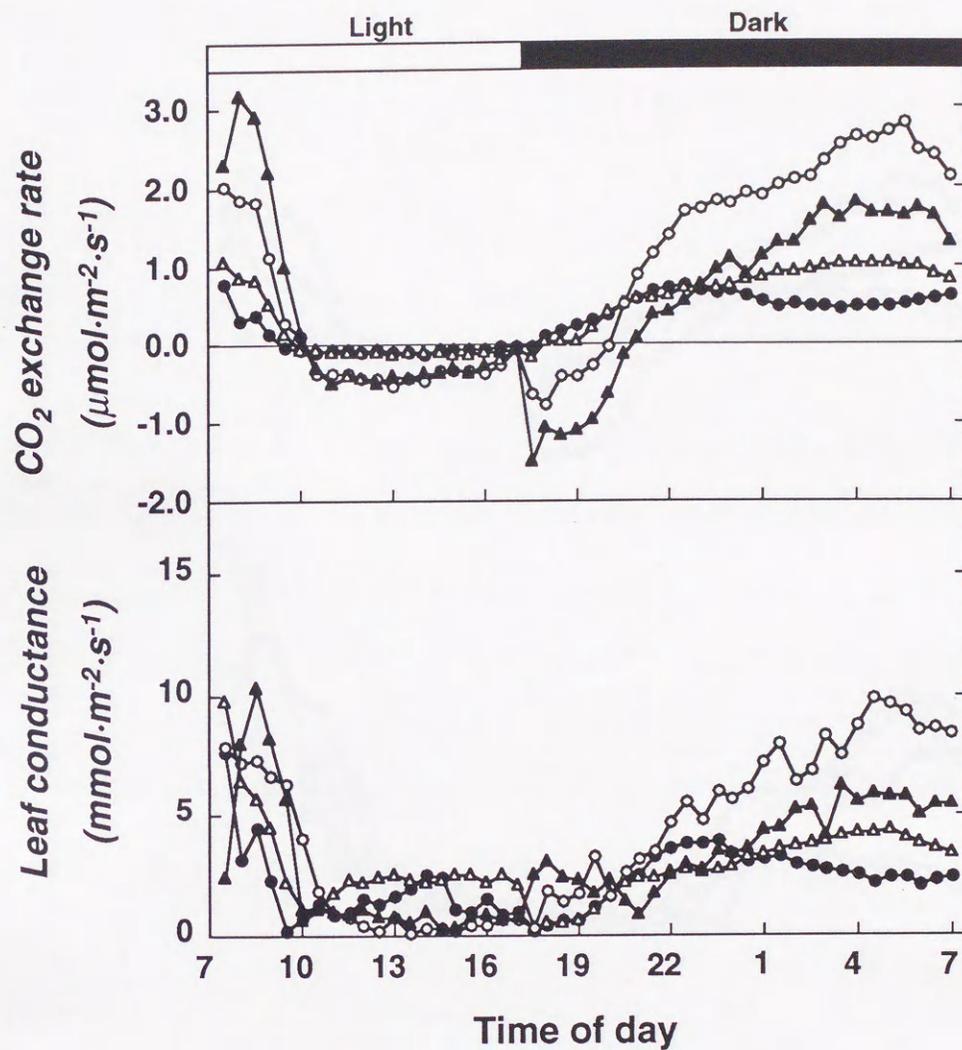


Fig. 1-3. Effects of night temperature on diurnal CO_2 exchange rate and leaf conductance at 25°C day leaf temperature. Night leaf temperatures were set at 15° (\bullet), 20° (\blacktriangle), 25° (\circ), and 30°C (\triangle), respectively.

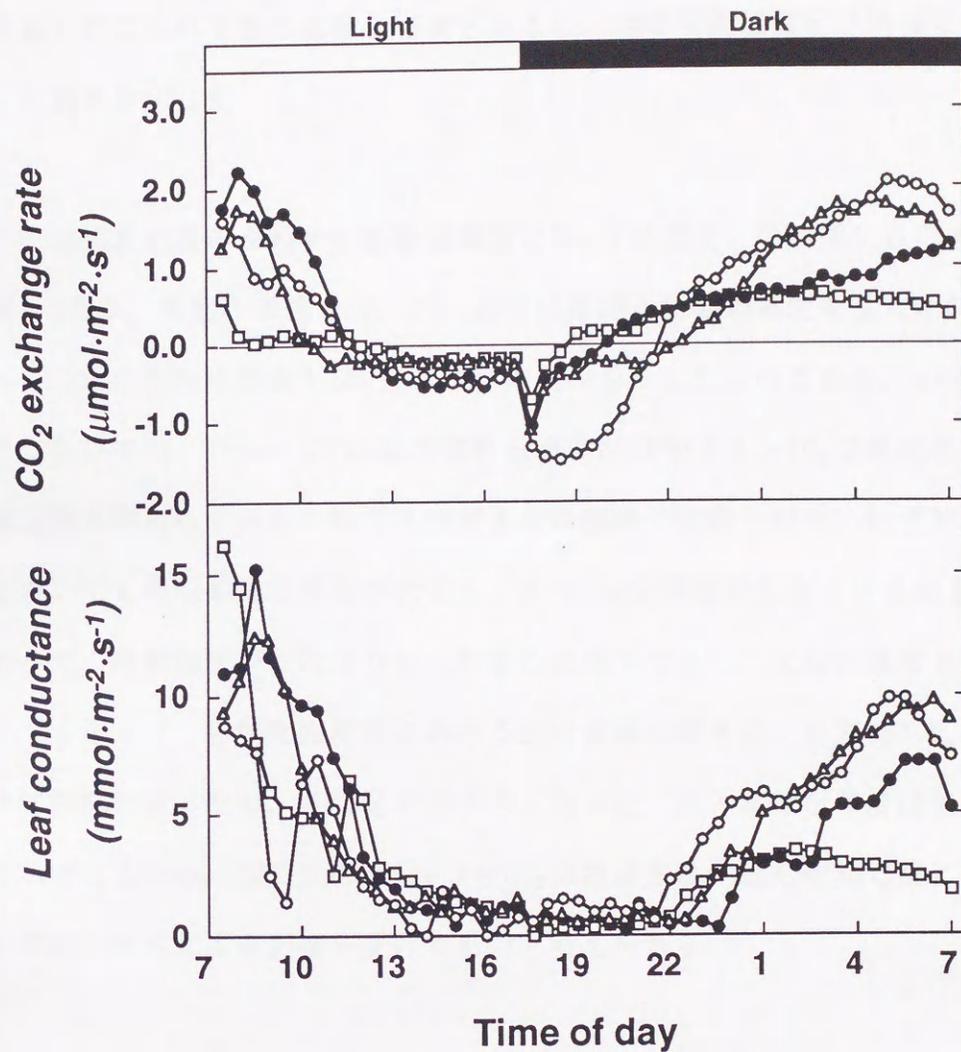


Fig. 1-4. Effects of night temperature on diurnal CO_2 exchange rate and leaf conductance at 20°C day leaf temperature. Night leaf temperatures were set at 10° (\square), 15° (\bullet), 20° (\triangle), and 25°C (\circ), respectively.

Phase 1のCO₂吸収速度が低下し、Phase 2のCO₂吸収が増加した。暗期10℃ではPhase 1とPhase 2両方のCO₂吸収が抑制され、変動幅の小さい日変化となった。

明期20℃における葉の拡散伝導度をみると、他の明期温度区と同様にCO₂交換と並行した動きを示した。

明／暗期温度の組み合わせが拡散伝導度とCO₂交換速度との関係に及ぼす影響

第1-5図は、明期の温度を20, 25, 30℃に維持し暗期の温度を変えた時のPhase 1における葉の拡散伝導度とCO₂吸収速度の関係を示したものである。いずれの明期温度区においても、Phase 1では葉の拡散伝導度が増加するとCO₂交換速度は上昇し、暗期温度に関わらず両者の関係はほぼ1つの直線で回帰された。いずれの明期温度区においても最も拡散伝導度が大きく、かつCO₂交換速度が高くなる暗期温度は25℃であった。暗期温度がこれよりも上昇または低下すると、拡散伝導度とCO₂交換速度は小さくなった。各明期温度区における回帰直線の傾きは、明期25℃区と30℃区ではほぼ同様であったが、20℃区では小さくなった。葉の拡散伝導度は気孔開度の大小を示すことから、20℃区のPhase 1のCO₂交換速度は、25℃や30℃区に比べ気孔以外の要因が温度による影響を受けたものと考えられる。

明／暗期温度の組み合わせがCO₂収支量とCAM性に及ぼす影響

1日及び各PhaseのCO₂収支量は、CO₂吸収量からCO₂放出量を差し引いて算出することができる(第1-6図)。明期を30℃に維持した時のPhase 1のCO₂収支量は、暗期温度が高くなるほど低下し、暗期が25℃の時最も大きくなった。Phase 2のCO₂吸収はPhase 1とは逆に暗期温度が高くなると増加したが、暗期温度間の差は小さかった。明期30℃では、いずれの暗期温度でもPhase 4のCO₂吸収が見られたが、収支量で比較すると僅かであった。いずれの暗期温度においてもPhase 1のCO₂収支量が1日当たりのCO₂収支量に占める割合は大きかった。

明期を25℃に維持した時の1日及びPhase 1のCO₂収支量は、明期30℃の場合と同じ

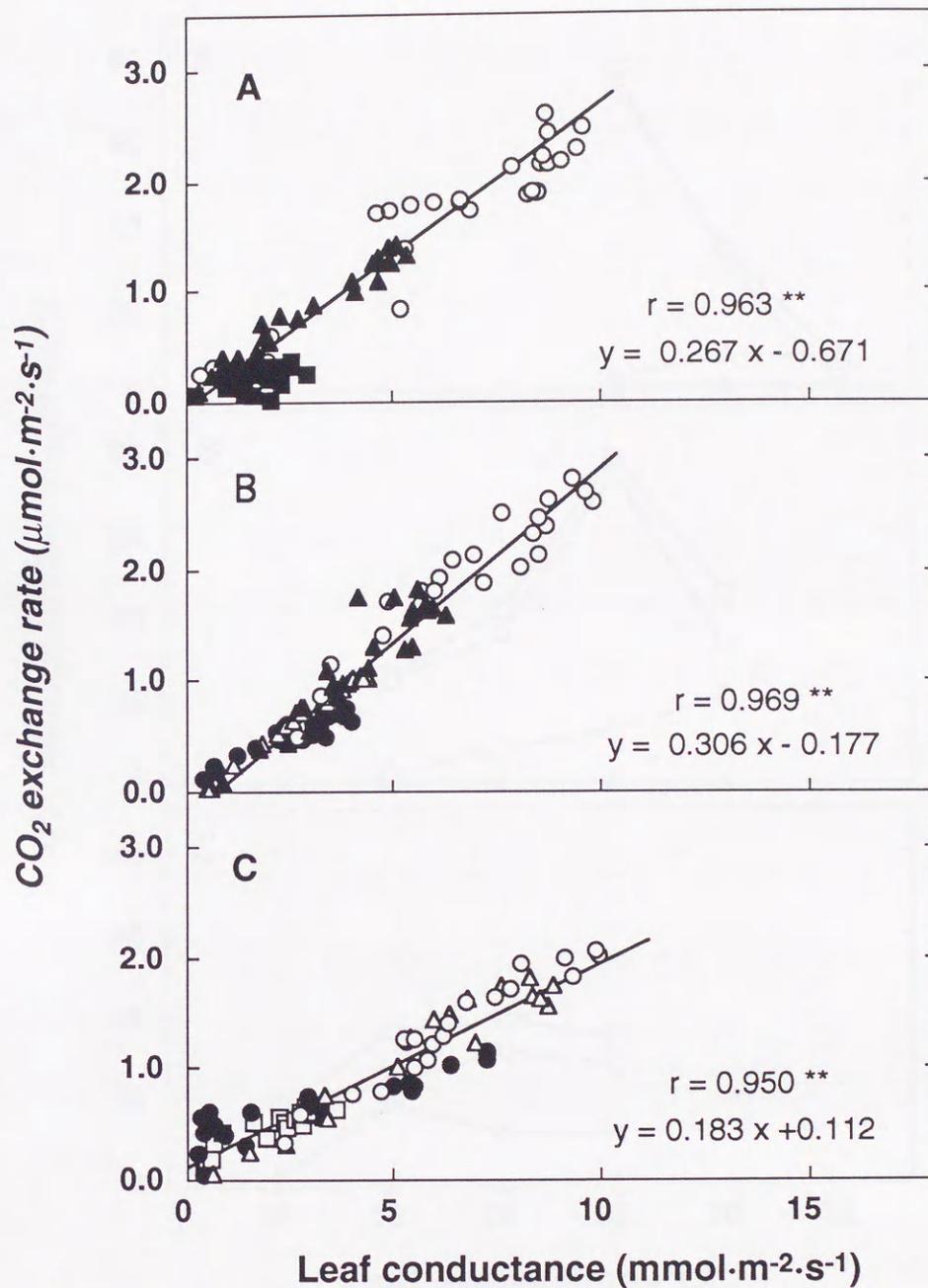


Fig. 1-5. Relationship between leaf conductance and CO₂ exchange rate in phase 1 at day leaf temperatures of 30 (A), 25 (B) and 20°C (C). Leaf temperatures during dark period were set at 10 (□), 15 (●), 20 (Δ), 25 (○), 30 (▲) and 35°C (■), respectively. ** indicates significant difference at 1 % level.

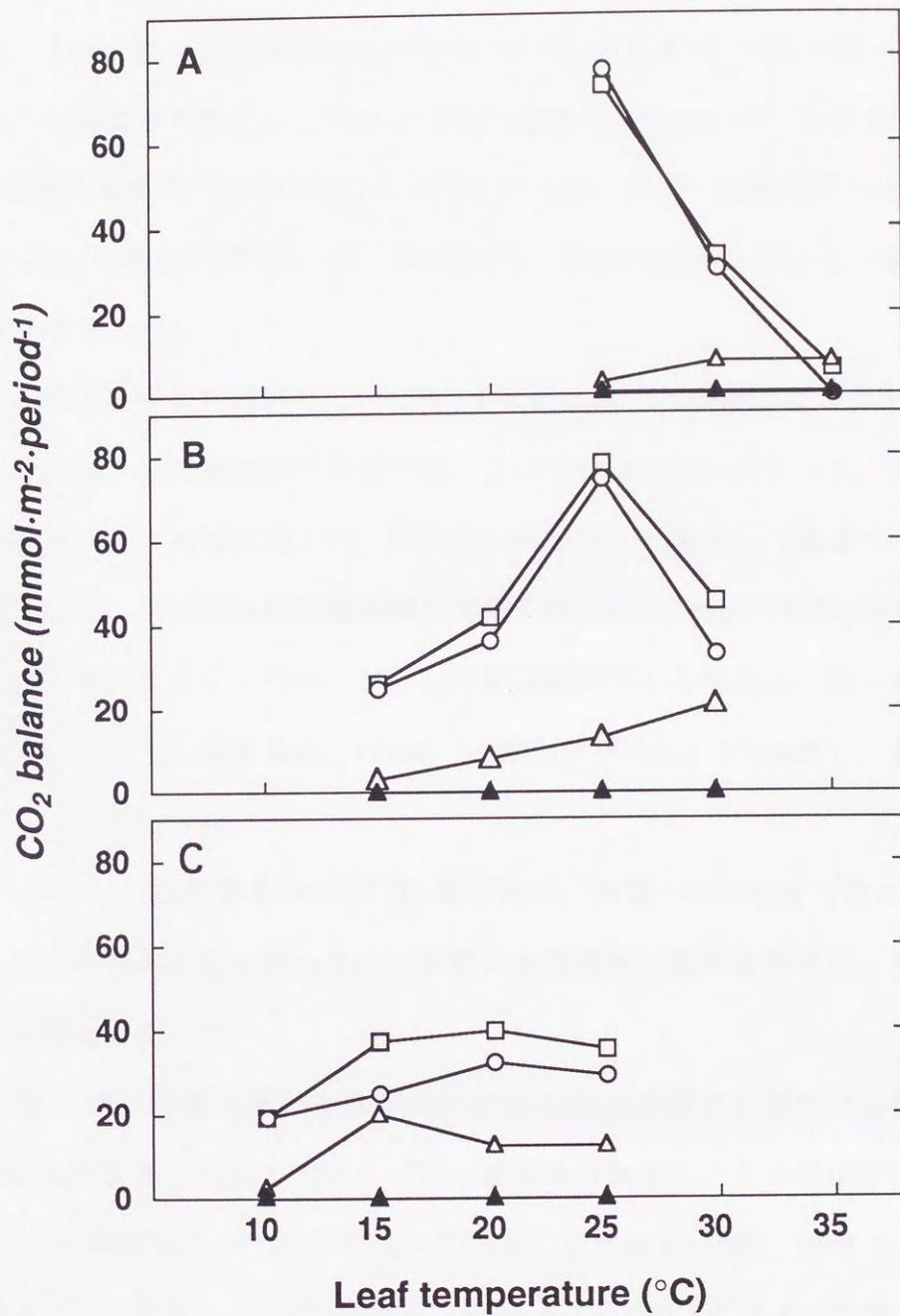


Fig. 1-6. Effects of leaf temperature during dark period on CO₂ balance of a whole day (□), phase 1 (○), phase 2 (△) and phase 4 (▲) at day leaf temperatures of 30°C (A), 25°C (B) and 20°C (C), respectively.

く暗期25℃の時に最高値を示し、これよりも暗期温度が高温または低温になると減少した。25/25℃における1日及びPhase 1のCO₂収支量は、30/25℃の場合と同じであった。暗期温度が20℃、15℃という低い温度でのPhase 1のCO₂収支量の低下は暗期のCO₂吸収速度そのものの低下によるものであったが、暗期30℃の場合は、主に暗期開始後のCO₂放出の増大によるものである。Phase 2のCO₂吸収は、暗期温度が高くなる程多くなった。

次に、明期を20℃に維持した時のCO₂収支量に対する暗期温度の影響について検討する。1日のCO₂収支量は暗期温度が20℃と15℃の時に最も高かった。しかし、収支の絶対量は、明/暗期温度が30/25と25/25℃にした時の1/2程度で、明期温度を20℃にすると、1日のCO₂収支量が極めて低くなった。Phase 1のCO₂収支量は、暗期20℃の時に最も大きく、Phase 2のCO₂吸収は暗期15℃の時最大であった。つまり、暗期15℃の1日のCO₂収支量は、Phase 1の減少分をPhase 2で補完し、暗期20℃の場合と同様の量となった。

このように、1日及び各PhaseのCO₂収支量は、明期と暗期温度の組み合わせで変化した。1日のCO₂収支量が最も高かった明/暗期温度の組み合わせは、30/25℃と25/25℃の場合であった。

第1-7図に明/暗期の温度の組み合わせがCAM性に及ぼす影響を示した。CAM性とは、1日の総CO₂収支量に占めるPhase 1のCO₂吸収量の割合で、この値が高い程CO₂交換の日変化がCAM型特有のパターンになっていることを示す(野瀬, 1979, 1992)。

明期を30℃に維持した時のCAM性は、暗期が25℃及び30℃の時は90%以上の高い値を示したが、35℃に上昇すると著しく低下した。明期が25℃の時も、暗期が15℃から25℃ではCAM性は90%以上であったが、暗期が30℃になると70%まで低下した。明期が20℃の場合は、暗期10℃でCAM性は高く、暗期が15℃で一旦低下し20と25℃では80%前後になった。このようにCAM性は、明/暗期温度の組み合わせにより変化した。本研究で設定した明期温度の範囲内では、明期に対し暗期の温度が低い方がCAM性が高くなる傾向が認められ、このような温度条件でCAM化が進むものと考えられる。

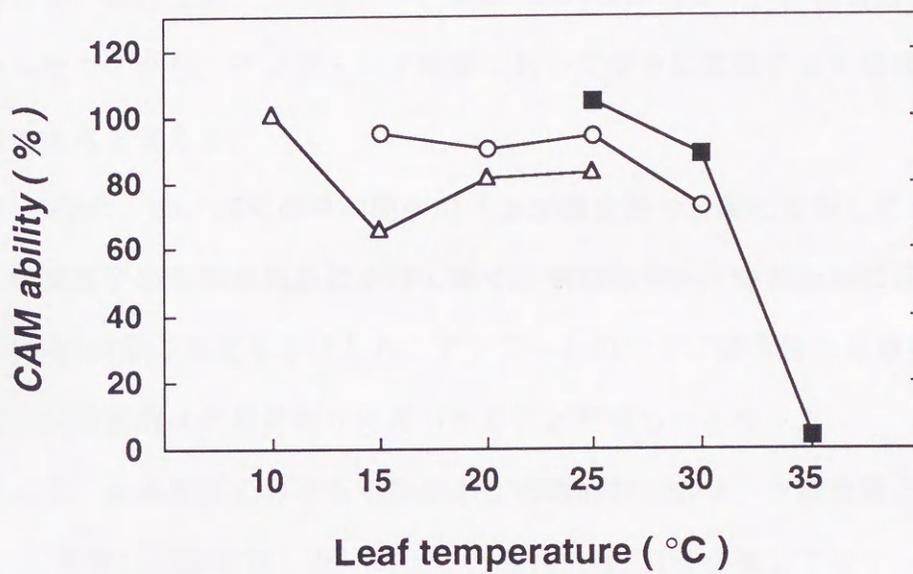


Fig. 1-7. Effects of leaf temperature during dark period on CAM ability. Day leaf temperatures were set at 30 (■), 25 (○) and 20°C (Δ), respectively. CAM ability means the ratio of CO₂ balance in phase 1 to that of a whole day.

明／暗期温度が葉中リンゴ酸含量に及ぼす影響

第1-8図に、明期の始め(8時30分)に採取したデンファレ葉抽出液の有機酸クロマトグラムを示した。これによると、デンファレ葉中の主な有機酸はリンゴ酸と乳酸であった。この内、リンゴ酸が有機酸全量の約98%を占め、大量に存在することが分かった。図には示していないが、他のPhaseにおけるリンゴ酸含量の割合も同様に高かったことから、デンファレが暗期において葉中に蓄積する有機酸は、主にリンゴ酸であると言える。

第1-9図に、30/25℃の時の葉中のリンゴ酸含量の日変化を示した。リンゴ酸含量は、暗期後半から明期始めにかけて高く、明期後半から暗期始めに低くなるという典型的なCAM型の日変化を示した。デンファレのリンゴ酸含量の日最大値は明期の始めに、日最低値は明期終わりに得られることが明らかとなった。

そこで、各温度区における明期始めと明期終わりのリンゴ酸含量と、両者の差(Δ Malate)を第1-10図に示した。ここで Δ Malateは、1日を通してのリンゴ酸含量の日最大値と日最小値の差であることから、リンゴ酸含量の日変動幅を表していると考えられる。

明期始めのリンゴ酸含量は、明期温度と暗期温度の組み合わせにより変化し、30/25、25/25、20/20℃の組み合わせで高くなった。各々の明期温度区において、これらの暗期温度よりも高温または低温になると、明期始めのリンゴ酸含量は減少した。明期終わりのリンゴ酸含量は、いずれの温度区とも単位クロロフィル当たり0.3~0.4mmol前後であり、区間差は認められなかった。従って、 Δ Malateの温度区間差は、明期始めの傾向とほぼ同様になった。最もリンゴ酸含量の日変動幅が大きかった明／暗期温度は30/25と25/25℃であり、1日当たりのCO₂収支量が大きかった明／暗期温度の組み合わせと同じになった。

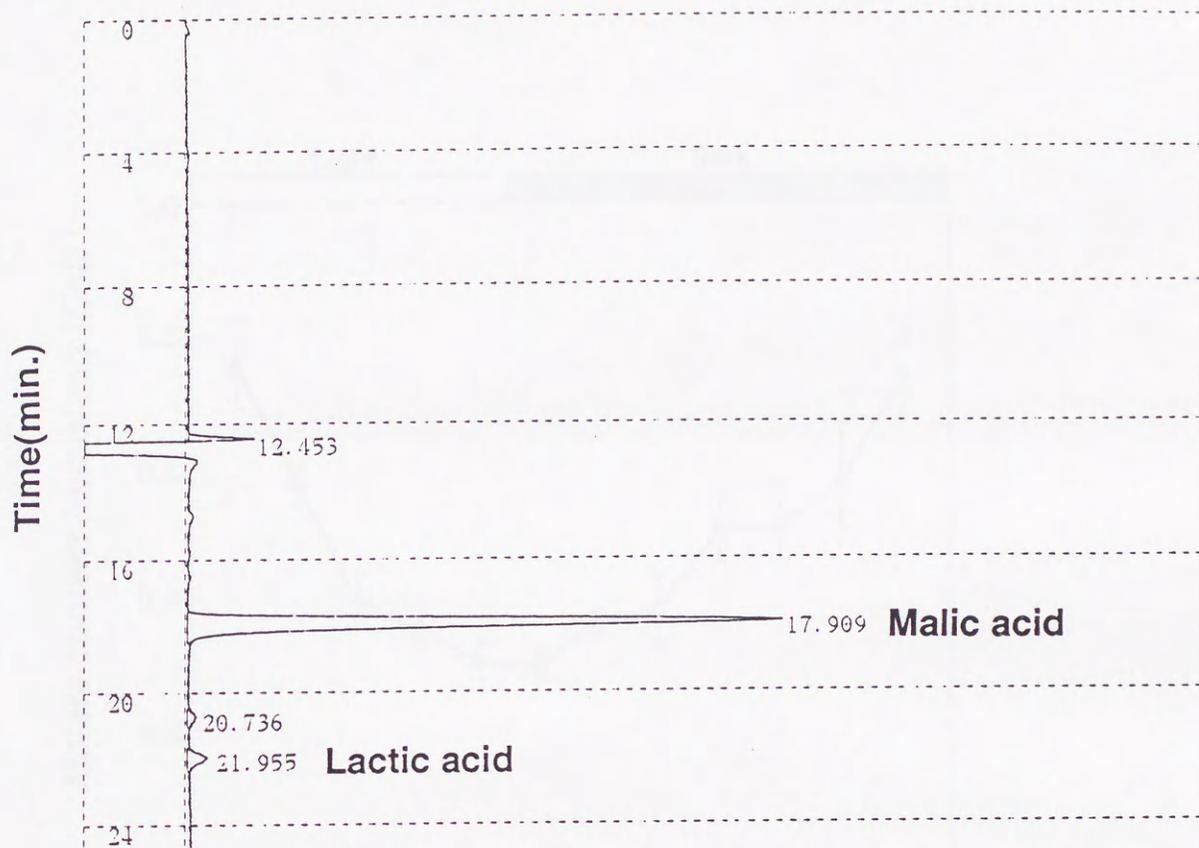


Fig. 1-8. The chromatogram of organic acids in leaf extract of *D. Ekapol* cv. Panda by high performance liquid chromatography organic acid system.

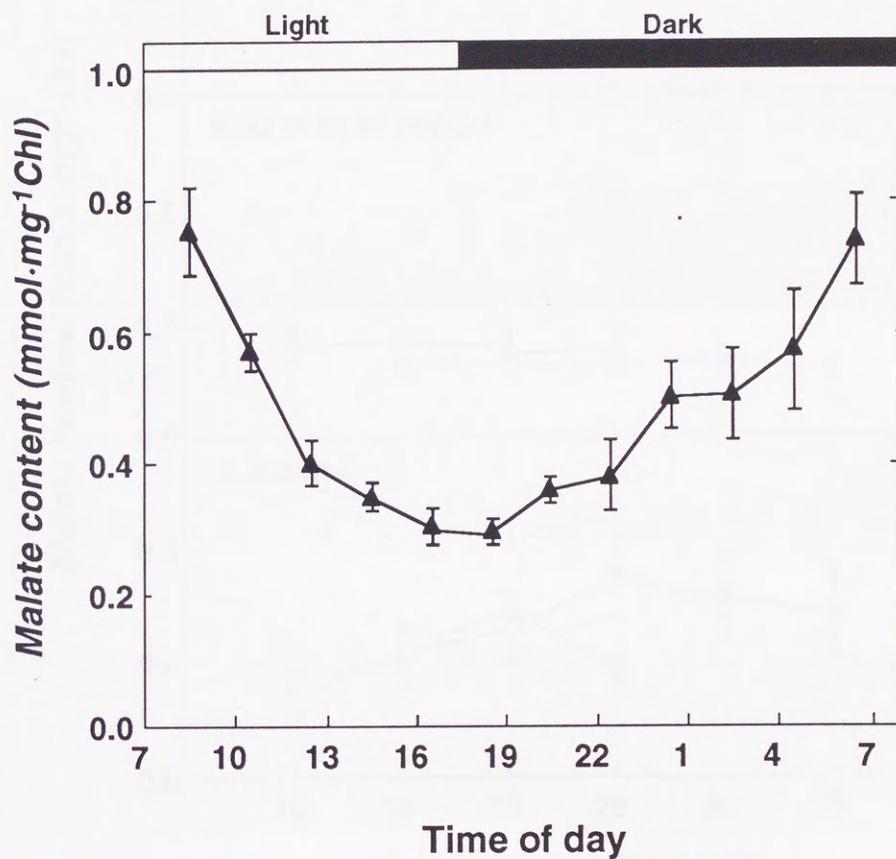


Fig. 1-9. Diurnal changes of malate content at day/night temperature of 30/25°C. Bars indicate standard deviations.

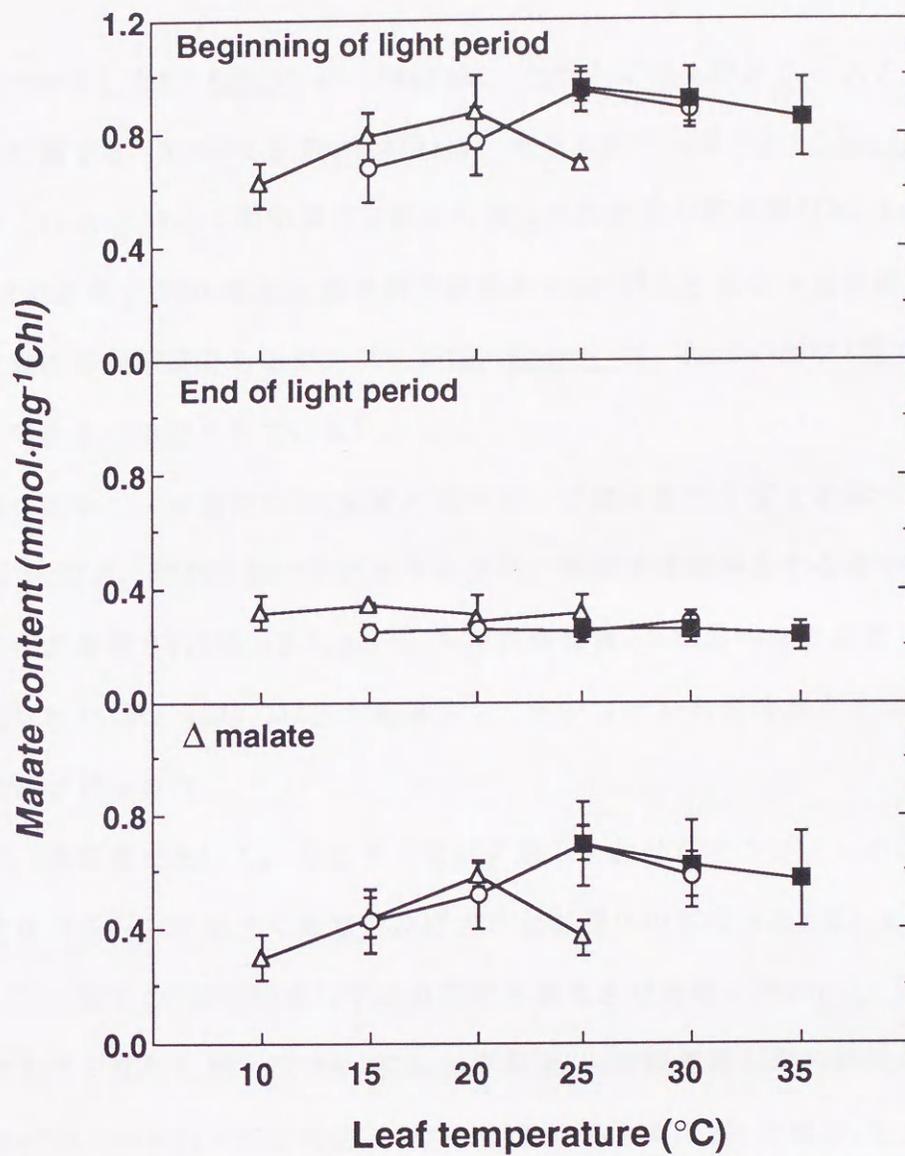


Fig. 1-10. Effects of leaf temperature during dark period on malate content at the beginning and the end of light period, and Δ malate at day leaf temperatures of 30°C (■), 25°C (○) and 20°C (Δ), respectively. Δ Malate indicates the difference between malate contents at the beginning and the end of light period. Bars indicate standard deviations.

第4節 考 察

本研究で供試したD. Ekapol cv. Pandaは、セラトビウム節とファレナンセ節の間雑種群に属する。Neales & Hew(1975)は、セラトビウム節のD. taurinumで $\delta^{13}\text{C}$ 値から、Ando(1982)は両節間の交雑から得られた多数の栽培種(Phalaenopsis-canetype)で暗黒下の CO_2 吸収と葉中滴定酸度からCAM型光合成の存在を確認している。しかし、最近の栽培種であるデンファレ(D. Ekapol cv. Panda)がCAM型であるかどうかは、現在まで確認されていない。

本研究において、本植物の CO_2 交換と葉中リンゴ酸含量の日変化を調べたところ、 CO_2 吸収が暗期と、明期の始めと終わりに生じ、明期半ばは停止するというCAM型特有の日変化が観察され(第1-2, 3, 4図)、リンゴ酸含量もCAM型特有の日変化を示すことが確認された(第1-9図)。以上の結果から、デンファレの光合成タイプはCAM型であると結論づけられた。

さらに、本研究において、昼と夜の温度の組み合わせがデンファレのCAM型ガス交換の日変化パターンに大きく影響を及ぼすことが明らかになった(第1-2, 3, 4図)。明期を30, 25, 20°Cの3段階設定して暗期温度を変化させた時、Phase 1, 2, 4の CO_2 吸収速度は大きく変化した。Phase 1において最大 CO_2 吸収速度が得られたのは、明/暗期温度が30/25と25/25°Cの組み合わせの時であった。1日の総 CO_2 収支量について見ると、明期が30と25°Cの時には暗期が25°Cで最大となり、明期を20°Cにすると20°Cの暗期温度下で最大となった(第1-5図)。

明/暗期温度の組み合わせが、CAM型 CO_2 交換に影響を及ぼすことは、これまで数多く報告されている。アオノリュウゼツラン(Neales, 1973a)、アロエ(Crewら, 1976)、パイナップル(Neales, 1973b; 野瀬ら, 1986a)では、低い暗期温度と高い明期温度で暗期の CO_2 吸収が活発になる。一般に、CAM型ガス代謝が活発になる暗期温度は15~22°C、その時の明期温度はこれよりも高い温度であり、明/暗期温度の較差が大きい方が暗期 CO_2 吸収が増加する(Kluge & Ting, 1978)。特にサボテン

(Nobel & Hartsock, 1981)及びパイナップル(野瀬, 1986a)の暗期CO₂吸収は, 明/暗期の温度差を10から15°Cに維持した時に活発になることが報告されている. 前述のとおり, 本研究で得られたデンファレの暗期CO₂吸収の最大値は, 明期が25°Cと20°Cの時は明期と同じ暗期温度下で, 明期が30°Cの時は暗期25°Cで得られた. すなわち, 本研究で得られたデンファレの暗期CO₂吸収に対する好適明/暗期温度は従来のCAM植物で認められている温度に比較してやや高めであり, 明/暗期温度が一定であっても活発にCAM型ガス代謝を行う特徴を有していた. デンファレのこのような特徴がどのように獲得されたかについては知る余地もないが, デンファレの自生地や主要な栽培地域がタイ等の明/暗期温度較差の少ない湿潤熱帯であることに関係している可能性が考えられる.

本研究では, 1日の総CO₂収支量に対するPhase 1のCO₂吸収の割合をCAM性とした(第1-7図). CAM性とは, CAMの端的な特徴であるPhase 1のCO₂吸収が1日の総CO₂固定量に寄与する比率を示し, CAM化の程度または各種環境条件に対応したCAM型への変更程度を表す(野瀬, 1992). パイナップルでは, 光が飽和点以上の場合, CAM性は明/暗期温度の影響を受け, 暗期温度の低下に伴い20%から95%に増加する(野瀬ら, 1986a). デンファレでも同様に低暗期温度下でCAM化が促進することが確認された. 逆に, 暗期温度が上昇するとCAM性は低下した. また, 30/35°Cの温度条件ではCAM性は僅か5%であった. このような, 明/暗期温度が逆転した条件下において, セイロンベンケイやコダカラベンケイでもCAM性が極めて小さくなり, 明期のCO₂吸収が増大してCO₂交換の日変化がCAM型からC₃型に変化することが報告されている(野瀬ら, 1994). デンファレではCAM性は低下するものの明期のCO₂吸収の増加は僅かであり, CO₂交換の日変化がC₃型に変化することは認められなかった(第1-2図).

一方, 暗期CO₂吸収以外のCAM植物のもう一つの特徴として, 有機酸の蓄積が挙げられる. 暗期に液胞中に蓄積される有機酸は, オキザロ酢酸を経て生成されるリンゴ酸であることが多くのCAM植物で認められている(Kluge & Ting, 1978; Osmond, 1978). デンファレにおいても, 暗期葉中に蓄積されるのはリンゴ酸であった(第1-

8図). リンゴ酸の生成に暗期の温度条件が影響を及ぼすことは多くのCAM植物で認められ, 暗期CO₂吸収と同様, 暗期高温で阻害されることが報告されている(Neales, 1972a; Medina & Osmond, 1981; Ritzら, 1987). また, 明期においても, 高温下でリンゴ酸の消費が促進されることが報告されている(Kluge, 1968b; Moradshahiら, 1977). デンファレでも明期始めの日最大となるリンゴ酸含量と Δ Malateは, 明/暗期温度の影響を大きく受けた(第1-10図). 明期が30℃と25℃の時には暗期が25℃で最大となり, 明期を20℃にすると20℃の暗期温度下で最大となった. デンファレでも他のCAM植物と同様, 暗期温度が高い条件でリンゴ酸生成が抑制されたが, 25℃より低い温度条件でも同様に抑制された. これらの結果は, 暗期のCO₂吸収と同様にデンファレの温度に対する反応の特徴と考えられる.

次に, 上述したデンファレの暗期CO₂交換がどのようなプロセスで温度の影響を受けるのかを考察してみたい. 本研究の結果, デンファレの各温度条件下のCO₂吸収速度は, 気孔開度と高い相関関係にあり, 温度条件により気孔開度の程度が異なることが明らかとなった(第1-4図). このように, 温度条件が変化することにより気孔抵抗が変化したという報告は, セイロンベンケイ(Nishida, 1963)やベニベンケイ(Tingら, 1967)等のCAM植物でも認められている. しかし, 気孔に対して直接温度が影響したという報告はない. CAM植物においても, 高温下ではミトコンドリアがCO₂放出が増加することが認められている(Szarek & Ting, 1974; Kaplanら, 1976). CAM植物の光合成のCO₂ソースは, 外気と葉内の暗呼吸が考えられる. すなわち, 高温条件下で呼吸によるCO₂放出量が増加すれば, 暗期CO₂固定における外気CO₂の依存度は減少することになる. また, 呼吸量の増加に伴い葉内CO₂濃度が上昇して気孔抵抗が増加することも明らかにされている(Ting, 1967; Neales, 1970).

ところで, CAM植物は暗黒下でCO₂を吸収するため, C₃及びC₄植物のようにCO₂の放出を測定することで暗呼吸速度を評価できない. そこで川満ら(1990)は, 気相型酸素電極(ハンザテック社, LD-2: 葉片電極ユニット, CBI-D)を用い, 本実験で供試したデンファレと同様に育成した株における暗黒下の呼吸速度の温度反応を10℃から

50°Cの範囲において明らかにしている。そこで、川満らの呼吸速度の温度反応のデータを用いて、葉温を10°Cから35°Cに上昇させた時の単位葉面積当たりの呼吸速度と、第1-2~4図で示したPhase 1における最大のCO₂吸収速度を求め、第1-11図に示した。Phase 1における最大CO₂吸収速度は、暗期が25°Cの時最大となり、これより高温または低温になると減少する放物線を描いた。一方、呼吸速度は温度が高くなるにつれて指数関数的に上昇し、35°Cの時の呼吸速度は20°Cの場合の3倍近くあった。このように、Phase 1の最大CO₂吸収速度と呼吸速度は、温度の上昇に対して異なる変化を示し、特に、25°Cを越えると対照的な変化をした。第1-12図は、各温度条件下におけるPhase 1の総CO₂固定量を示した。総CO₂固定量は、第1-11図の各温度下における呼吸速度に暗期の時間数を乗じてPhase 1での葉内呼吸総量を算出し、第1-5図のPhase 1のCO₂収支量に加算して得たものである。Phase 1の総CO₂固定量は、明期温度が異なっても暗期温度が同一であればほぼ同じ値となり、暗期温度が10°Cから35°Cの間では直線的に上昇することが明らかとなった。

以上の結果から、デンファレの暗期CO₂固定能力としては、暗期温度が本研究で設定した35°Cの範囲までは温度の上昇とともに増加するが、25°Cを越えると葉内呼吸から供給されるCO₂量が増加し、外気からのCO₂の吸収量が減少することが考えられる。また、外気からのCO₂吸収速度を直接制御した気孔の閉鎖も、呼吸増による葉内CO₂濃度が増加したことにより生じたものと考えられた。

ところで本研究では、暗期温度が20°C以下の温度条件でも気孔開度が減少した。このような低温条件では葉内の呼吸速度は小さい(第1-11図)。従って、20°C以下の低温下では、葉内のCO₂固定能が低下したために、葉内のCO₂濃度が上昇して気孔の閉鎖を招いたものとも考えられる。暗期におけるCO₂固定酵素であるPEPCaseの活性の適温域は30~35°Cであることから、CO₂固定酵素が低温の影響を受け、CO₂吸収速度が低下したものと考えられる。

次に、デンファレのCAM型光合成の温度反応において特異的な現象が観察されたので、以下はこれについて述べる。

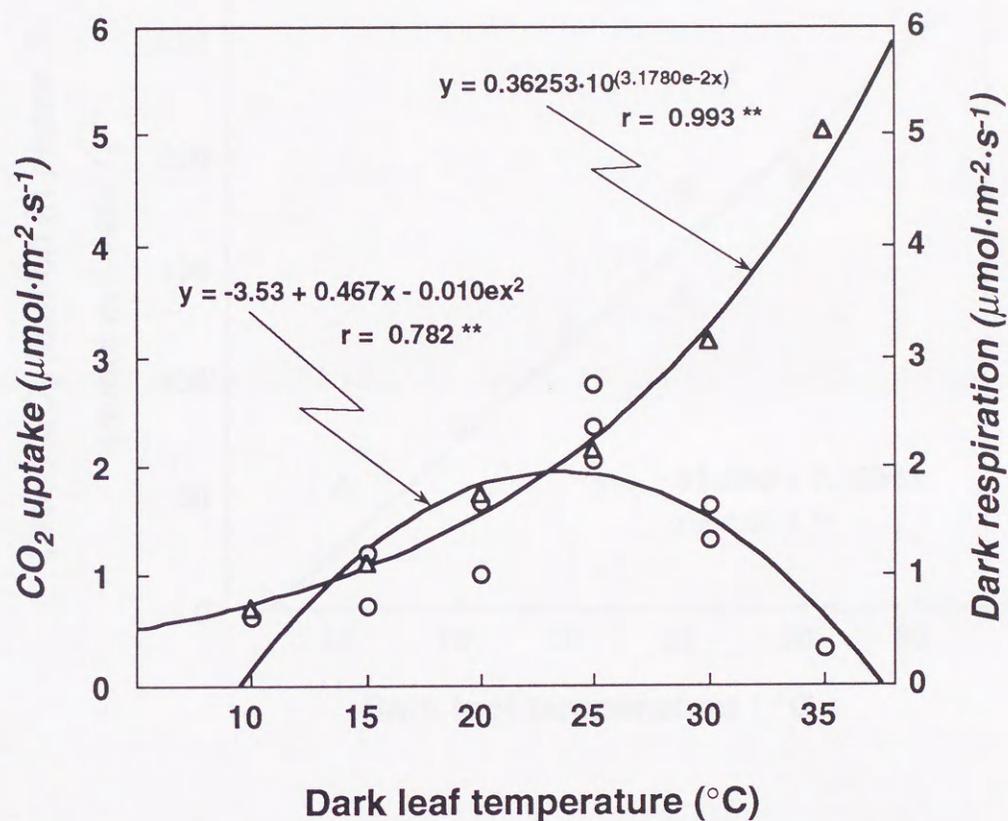


Fig. 1-11. Relationship of CO₂ uptake of phase 1 (o) and dark respiration (Δ) as a function of dark leaf temperature. The data were obtained from Figs. 1-2, 3 and 4. The dark respiration was calculated according to Kawamitsu *et al.* (1990). ** indicates significant difference at 1% level.

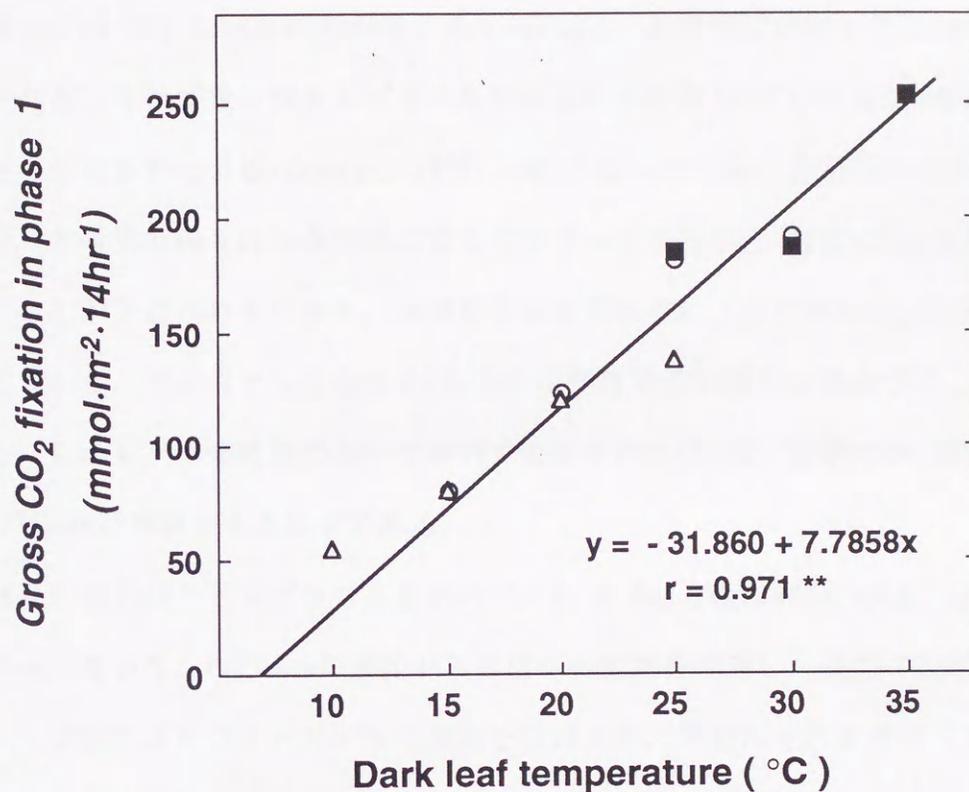


Fig. 1-12. Relationship between leaf temperature and gross CO₂ fixation during dark period. Gross CO₂ fixation was sum of dark respiration and CO₂ balance of phase 1 at leaf temperature during light period of 30°C (■), 25°C (○) and 20°C (Δ), respectively. The data of CO₂ balance in phase 1 were obtained from Fig. 1-4, and the data of dark respiration from Kawamistu *et al.* (1990). ** indicates significant difference at 1% level.

CO₂交換の日変化においてPhase 1始めにCO₂放出が認められ(第1-2~4図), このCO₂放出は明/暗期温度の組み合わせにより変化した. Crewら(1975)が指摘しているように, CAM型CO₂交換の日変化において暗期の始めにはC₃型光合成特有のPost illumination CO₂ burst(PIB)が生じる. PIBには, 光呼吸に由来する第1のCO₂放出のピークと, リンゴ酸の脱カルボキシル化に由来する第2のピークの2種類があることが明らかにされている(Crewら, 1975). 第1のピークは僅か数分間の現象であることから, 本研究で得られた長時間に渡るデンファレのPIBも, 複数のCO₂放出関係していることが予想される. また, 本結果では暗期温度の上昇に伴いCO₂の放出が増大することから, デンファレにおけるCO₂放出は呼吸速度の増大も関与することが考えられる. しかし, 本来暗期において葉内で放出されたCO₂は, 暗期のCO₂固定酵素であるPEPCaseが再固定するはずである.

Winter(1981)はアイスプラントにおいて, Wu & Wedding(1985a, b)は, *Crassula argentea*において, PEPCaseの昼型から夜型への変換を観察し, 昼型のPEPCaseの活性はリンゴ酸によりフィードバック阻害を受けるが, 夜型はそれを受けずにCO₂固定を行なうことを示した. もし, このようなPEPCaseの明/暗期の変換がデンファレにおいても存在するとすれば, 本研究で得られたPhase 1の始めに認められたCO₂放出は, PEPCaseの昼型から夜型への変換が暗期に入ってから徐々に行われたためと考えられる. すなわち, 暗期始めにおけるPEPCaseは, 夜型へシフトするまではリンゴ酸の阻害を受けるため葉内で放出したCO₂を捕捉できず, 葉外へ放出してしまうものと考えられる. そして, このシフトに要する時間は明期温度の影響を受け, 温度が高くなるにつれて昼型から夜型への変換が速やかに行われ, CO₂の放出が少なかったものと考えられる(第1-2~4図).

もう一つの特徴は, Phase 2のCO₂吸収に関して認められた. デンファレの場合, 明期を25℃に維持し, 暗期を15℃から30℃まで変化させると, Phase 2のCO₂吸収が増加する現象が認められた. また, 明期30℃, 20℃でも同様の傾向が見られた. コダカラベンケイでは明期温度が上昇すると, 逆にPhase 2のCO₂吸収が低下すること

が知られている(Winter & Tenhunen, 1982). パインアップルでも, 明期が20°Cから30°Cへ上昇するとPhase 2の期間が短くなる(野瀬, 1986a). このように, デンファレのPhase 2のCO₂吸収における温度の影響と, これまで報告された他のCAM植物における結果とは大きく異なった. Osmond & Allaway(1974)によると, ¹⁴Cの取り込みの行方からPhase 2の前半のCO₂吸収は主にPEPCaseが働き, 後半は主に(Rubisco)が働くことを示している. また, Kluge(1968)は, 明期開始後リンゴ酸の脱カルボキシル化反応のラグフェイズが30~60分あることを示している. 本研究の結果とこれまでのCAM植物の報告におけるPhase 2に対する温度反応の違いに関する検討は今後の課題であるが, この両酵素の温度反応に違いがあるのかも知れない.

以上, デンファレのCAM型光合成に及ぼす明/暗期温度の影響について検討した. 個葉のCO₂交換特性から見ると, 明/暗期温度の組み合わせは, デンファレの生長にとって重要な影響を及ぼすものと推測される. 1日当たりの最大のCO₂収支量を示す明/暗期温度条件は, 30/25, 25/25°Cというような高温条件であった. さらに, 従来のCAM植物と異なり明/暗期温度の較差の小さい条件で暗期のCO₂吸収を活発に行うという特徴も示された. 城間(1977)によれば, 沖縄の気温の日較差は, 年間を通して5°C前後と一定である. これからすると, 本結果のような温度反応特性を持つデンファレの栽培に関し, 日較差の面では沖縄地域は適地であると判断できる. しかし, 沖縄の1, 2月の月平均気温は15~17°Cで, デンファレの栽培温度としては低い. 従って, 沖縄の気象条件下でデンファレを栽培する際は, 本結果で得られたようなCO₂交換にとっての適温度条件に人為的に近付ける必要がある. また, 温度環境改善のためにデンファレを施設内で加温栽培する場合, 暗期温度が明期より高くないように注意すべきである. 明/暗期温度を逆転させると, 本結果でも認められたようなCO₂の放出が生じ, CO₂収支量の低下につながる事が予想される.

第5節 要 約

デンファレのガス交換に対する明/暗期温度の影響を調べた。測定は、リードバルブの最上位または1葉位下の完全展開葉を用い、葉上の光強度を $420 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、明期の長さを10時間にして、明期温度 $20\sim 30^\circ\text{C}$ と暗期温度 $10\sim 35^\circ\text{C}$ を組み合わせで行った。また、同様の温度条件におけるデンファレ葉中の有機酸含量も測定した。結果は次のとおりである。

1) デンファレ個葉の CO_2 交換は、暗期と明期始め及び終わりに吸収する典型的なCAM型であった(第1-2~4図)。暗期終わりの有機酸のクロマトグラムから、暗期に生成、蓄積される有機酸はリンゴ酸であった(第1-8図)。以上のことから、デンファレの光合成タイプはCAM型であると結論づけられる。

2) 明/暗期の温度条件の組み合わせは、デンファレの CO_2 交換に影響を及ぼした。 $30/25$ と $25/25^\circ\text{C}$ の時、Phase 1の CO_2 吸収が活発となり(第1-2~4図)、Phase 1及び1日当りの総 CO_2 収支量が最大となった(第1-6図)。この温度よりも上昇または低下させると CO_2 収支量は著しく減少した。特に明/暗期温度を逆転させると、Phase 1始めに CO_2 の放出が観察され、総収支量を低下させた。

3) Phase 2の CO_2 収支量は暗期温度が上昇すると増加した(第1-6図)。

4) CAM性も明/暗期温度の組み合わせにより変化し、暗期が 25°C より高くなるとCAM性は低下した(第1-7図)。

5) 葉中のリンゴ酸含量も温度の影響を受け、1日当りの CO_2 収支量が最大となる温度条件でリンゴ酸含量の日変動幅(ΔMalate)も最大となった(第1-10図)。

6) Phase 1の葉の拡散伝導度も温度の影響を受け、高・低暗期温度で減少した。Phase 1の CO_2 吸収速度と葉の拡散伝導度との間には、高い正の有意な相関関係が得られた(第1-5図)。

7) 暗期高温におけるPhase 1の CO_2 吸収の減少は、暗呼吸の増加に依るものと推察され、また、低暗期温度での減少は、葉内 CO_2 固定能の低下が関与するものと推察された(第1-11, 12図)。

第2章 明期の平均光強度がデンファレの CAM型光合成に及ぼす影響

第1節 緒言

前章において、デンファレのCAM型CO₂交換の日変化やCO₂収支量は、温度の影響を強く受けることを明らかにした。本章では、温度条件と同様に光合成速度を決定する基本的要因である明期の平均光強度がデンファレのCAM型CO₂交換にどのように影響するかを検討した。

CAM型CO₂交換に対する明期の光強度の影響に関しては、サルガオセモドキ(Klugeら, 1973), コダカラベンケイ(Kaplanら, 1976a, b), パインアップル(Noseら, 1977)及びサボテン類(Nobel & Hartsock, 1978, 1983)で検討されている。これらの報告によると、明期の光強度は、明期におけるCO₂交換速度や葉内の有機酸消失速度に影響を与えるとともに、暗期のCO₂交換速度や有機酸の生成量にも影響を及ぼすことが明らかにされている。そして、このような光強度の影響は、CAM型光合成の1日を通じた炭素フローから説明が可能であることが示されている(Kluge and Ting, 1978; Noseら, 1977)。これまでの報告では、いずれのCAM植物でも明期の平均光強度の上昇は、基本的には1日のCO₂収支量や有機酸の日変動幅を増加させている。ところが、パインアップルや*Opuntia ficus-indica*等においては、光強度をある一定以上に上昇させると、Phase 1のCO₂収支量や暗期のリンゴ酸含量は飽和に達することが報告されている(Noseら, 1977; Nobel & Hartsock, 1978, 1983)。このようにCAM植物においても、C₃型光合成における光飽和と同様の光反応があり、光飽和点は種で異なるものの、概して500~800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の範囲にある(野瀬, 1986b)。

デンファレのCAM型CO₂交換と明期の平均光強度との関係は、まだ検討されていない。デンファレは陰生植物に分類され、沖縄においては春季から秋季にかけて太陽

の直射光下では生育障害が観察されることから、デンファレのCO₂交換の最適光強度域は、他のCAM植物よりも比較的低い値になる可能性がある。また、強い光強度域ではCO₂吸収が阻害されることも予想される。

本章では、暗呼吸速度や明期におけるリンゴ酸の脱炭酸速度が温度条件に依存し、温度条件が異なるとデンファレのCO₂固定は異なった光反応特性を示すことが予想されることから、明期の平均光強度とともに明/暗期の温度条件も変化させ、CO₂交換速度やCO₂固定のキー酵素となるPEPCase活性への影響を調査した。

第2節 材料及び方法

供試材料は、バルブ長が20~30cmに達した組織培養由来の株を1991年4月にヤシガラを培地として素焼鉢(直径12cm, 深さ10.5cm)に植え付けた。ガス交換測定開始までは無加温のガラス室で、2mmメッシュのダイオネット遮光下(平均気温26~28℃)で栽培した。施肥は、1991年5月から9月までは1,000倍希釈の液肥(住友2号, N:P₂O₅:K₂O=10:5:8%)を週2回の頻度で、10月からガス交換測定前までは4,000倍希釈液を週に1回の頻度で鉢当たり100ml与えた。方法の詳細は、第1章、第2節で述べたとおりである。

測定条件は、明/暗期の葉温を40/30, 35/30, 30/25, 25/20℃と明期の光強度を100, 150, 250, 500, 900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に設定した。第2-1表にその組み合わせと、被測定葉上の実際の平均光強度を示した。なお、被測定葉の葉温は、被測定葉の裏側に銅・コンスタンタン熱電対($\phi=0.1\text{mm}$)をビニルテープで密着して測定した。実際の葉温は、設定温度に対し、全温度処理区とも明期 $\pm 1.0^\circ\text{C}$ 、暗期 $\pm 0.6^\circ\text{C}$ で推移した。測定順序は光強度が低い方から高い方に行い、温度区ごとに供試株を交代した。1処理区3反復とした。明期の長さは8時から20時までの12時間日長とした。各処理条件下に3日間置き、連続測定した最終日のデータを採用した。

Table 2-1. Day/night temperatures and actual average light intensities during light period in the gas exchange measurement.

Day/night temp. (°C)	Average light intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)				
	100	150	250	500	900
25/20	121	---	286	539	931
30/25	110	150	254	496	903
35/30	105	148	255	474	842
40/30	105	---	264	488	896

ガス交換の測定終了後，光強度100，250，900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 区におけるPEPCaseの活性とリンゴ酸含量，クロロフィル含量を測定した．測定部位は，被測定葉から1葉位上または下の完全展開葉である．PEPCaseの活性は，まず活性の日変化パターンを確認するために，温度条件を30/25°C，光強度を478 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に設定した着生葉において，8，12，18，22，2時に試料を採取し測定した．その結果，PEPCaseの活性は18時と22時に高いことが明らかとなった(第2-12図)．そこで，各処理区のPEPCaseの活性は，活性が最大値近くになる明期終わり(19時30分)に測定した．試料の採取は，直径10mmのリーフパンチを使用して葉身先端部より行った．リンゴ酸含量は，第2章において日最大値と日最小値が得られることが分かった，明期初め(8時30分)と明期終わり(19時30分)に試料を採取した．試料は秤量後速やかに液体窒素で固定し，測定まで-45°Cで保存した．なお，試料採取後，葉の切り口をラノリンで完全に被覆した．

試料は、氷冷した試験管内で5mlの抽出用緩衝液(0.2M Bicine-KOH pH8.2, 0.2mM EDTA, 0.5mM DTT, 2mMヨード酢酸)(Winter, 1981)を用いて、ホモジナイザー(池本, ケミトロン)により20秒間で磨砕した。磨砕液を一重のミラクロスで濾過し抽出液とした。抽出液の3mlのうちリンゴ酸とクロロフィル測定にそれぞれ1mlを、残りをPEPCase活性の定量に使用した。PEPCaseの活性定量は分光光学的測定法によった。すなわち、12,000rpmで15秒間遠心した抽出液上澄0.1mlを反応液に加えることで反応を開始させ、340nmの吸光度変化から活性を求めた。測定はWinter(1981)の報告に従い、活性に変化の生じない抽出後2分以内に行った。反応液の組成は、25mM Bicine-KOH, 25mM MES-KOH, 25mM MOPS-KOH(pH8.5), 5mM MgCl₂, 2mM NaHCO₃, 0.1mM NADH, 10 units MDH, 2mM PEPであった。

リンゴ酸とクロロフィル含量の測定方法は、第1章、第2節で述べたとおりである。

第3節 結 果

明期の平均光強度がガス交換の日変化パターンに及ぼす影響

第2-1図に明/暗期温度を25/20℃に維持した時に、明期の平均光強度を種々変えた場合のCO₂交換速度と葉の拡散伝導度の日変化を示した。同様に第2-2図は30/25℃、第2-3図は35/30℃、第2-4図は40/30℃におけるガス交換の日変化である。

第1章においてCO₂交換が最も活発になった温度の組み合わせは、30/25℃であった。この温度条件において、明期の平均光強度を100~900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の範囲で変化させると、光強度に関わらずCO₂交換はPhase 1とPhase 2で活発になるCAM型光合成特有の日変化を示した(第2-2図)。Phase 4は、光強度が150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上の時顕著なCO₂吸収が認められた。各々のPhaseにおけるCO₂吸収速度は光強度の強さにより変化し、最大CO₂吸収速度を示す光強度はPhase毎に異なった。Phase 1のCO₂吸収速度は光強度が250~900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の範囲で最大となり、150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以

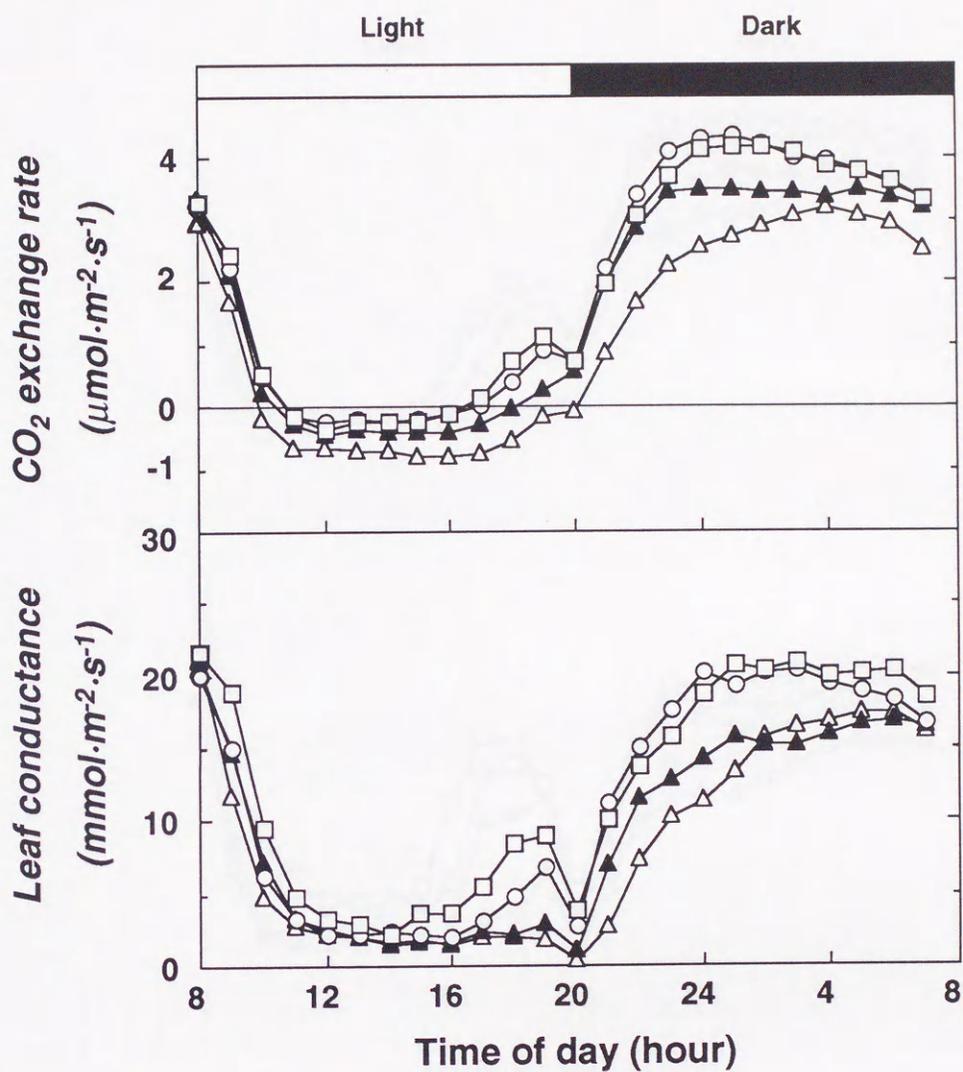


Fig. 2-1. Effects of average light intensity during light period on diurnal CO_2 exchange rate and leaf conductance. Day/night temperature was $25/20^\circ\text{C}$. The average light intensities were 121 (Δ), 286 (\blacktriangle), 539 (\circ) and 931 (\square) $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

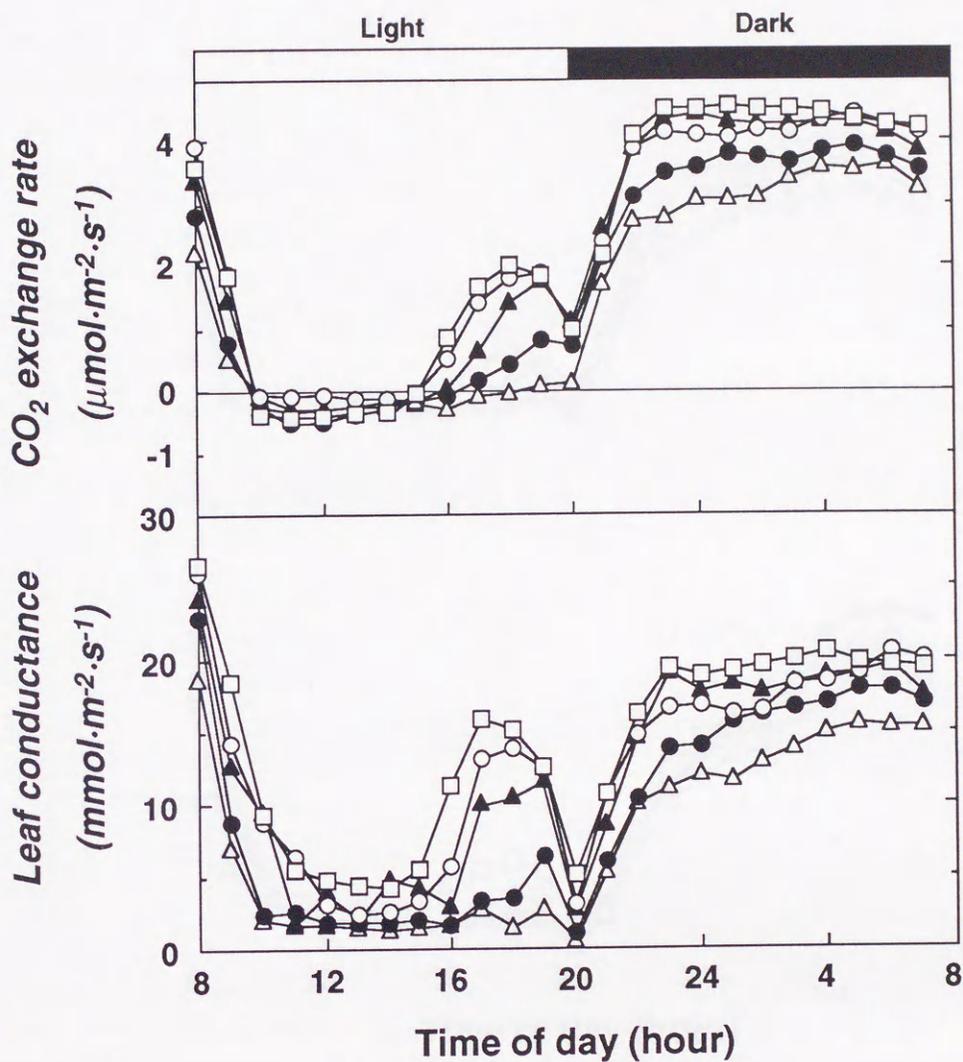


Fig. 2-2. Effects of average light intensity during light period on diurnal CO₂ exchange rate and leaf conductance. Day/night temperature was 30/25°C. The average light intensities were 111 (Δ), 150 (\bullet), 254 (\blacktriangle), 496 (\circ) and 902 (\square) $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

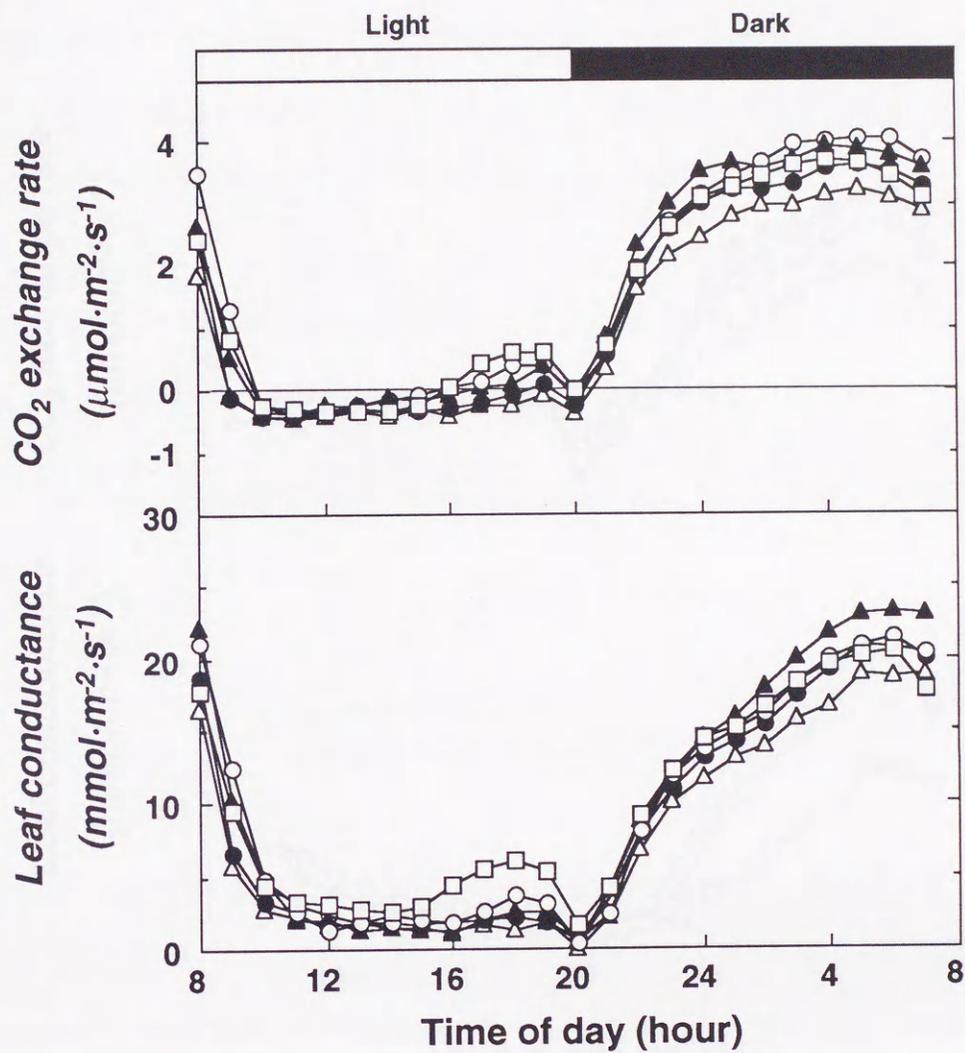


Fig. 2-3. Effects of average light intensity during light period on diurnal CO₂ exchange rate and leaf conductance. Day/night temperature was 35/30°C. The average light intensities were 105 (Δ), 148 (●), 255 (▲), 474 (○) and 842 (□) μmol·m⁻²·s⁻¹.

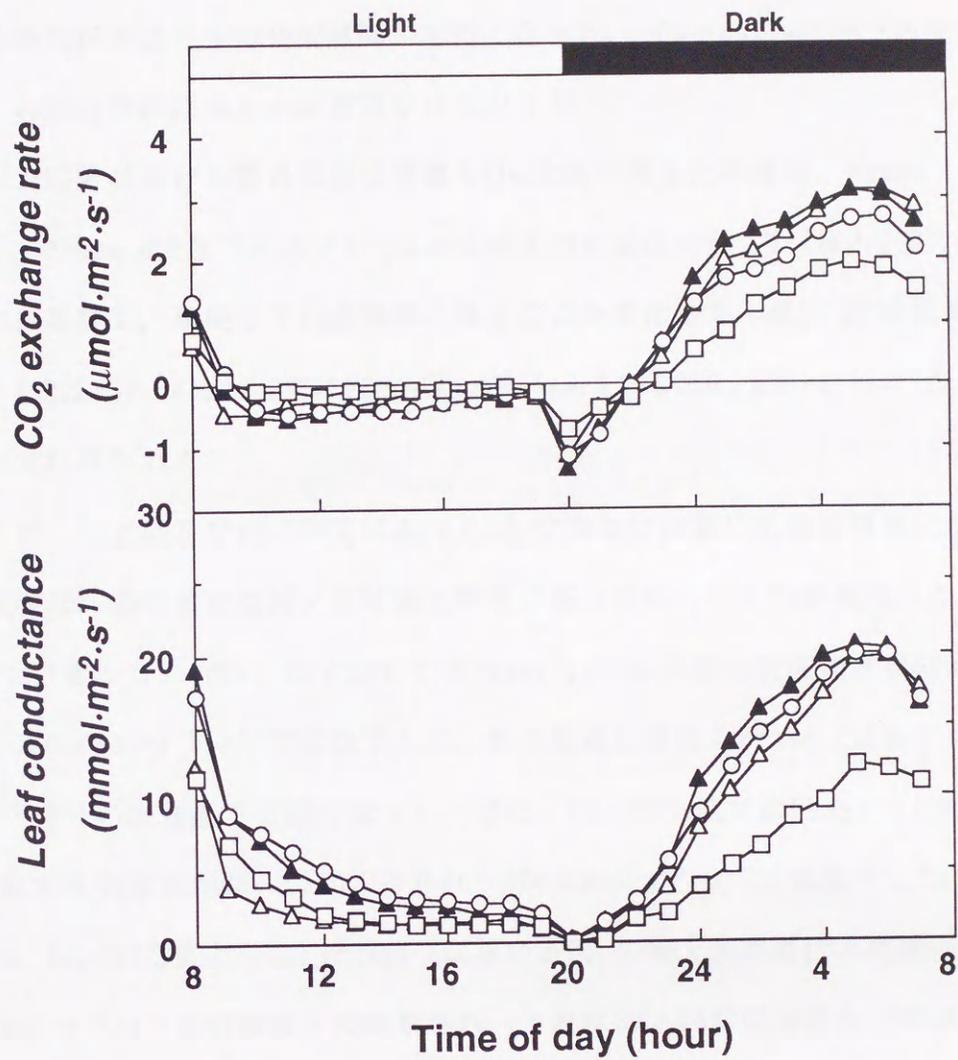


Fig. 2-4. Effects of average light intensity during light period on diurnal CO_2 exchange rate and leaf conductance. Day/night temperature was $40/30^\circ\text{C}$. The average light intensities were 105 (Δ), 264 (\blacktriangle), 488 (\circ) and 896 (\square) $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

下では減少した。Phase 2のCO₂吸収速度と吸収時間は、250 μmol・m⁻²・s⁻¹以上の光強度で増加した。Phase 4でも光強度が強くなるにつれてCO₂吸収速度が増加し、吸収開始時刻が早まりその吸収時間帯も長くなった。100 μmol・m⁻²・s⁻¹の光強度ではPhase 4のCO₂吸収はほとんど観察されなかった。

30/25℃区における葉の拡散伝導度もCO₂交換の場合と同様に、Phase 1, 2及び4で高く、Phase 3で低下するというCAM型特有の日変化を示した(第2-2図)。各Phaseの拡散伝導度も、明期の平均光強度の強さにより変化した。最大拡散伝導度は、Phase 1では250, Phase 2では250~500, Phase 4では900 μmol・m⁻²・s⁻¹の光強度下でそれぞれ得られた。

25/20, 35/30及び40/30℃におけるCO₂交換並びに葉の拡散伝導度に対する光強度の影響は、基本的には30/25℃区と同様であったが、いくつか異なった現象も観察された(第2-1, 3, 4図)。25/20℃ではPhase 1のCO₂の最大吸収速度が500~900で得られ、250 μmol・m⁻²・s⁻¹では低下した。葉の拡散伝導度もPhase 1において、250 μmol・m⁻²・s⁻¹の光強度下で低くなった。逆に、35/30℃区ではPhase 1とPhase 2のCO₂の最大吸収速度が250と500で得られ、900 μmol・m⁻²・s⁻¹では低下した。しかし、25/20, 35/30℃区ともに、Phase 4におけるCO₂の最大吸収速度と拡散伝導度は、900 μmol・m⁻²・s⁻¹の光強度下で観察され、これは30/25℃区の場合と同様であった。40/30℃区におけるCO₂吸収速度と拡散伝導度は、本研究で設定した温度処理区の中で、いずれのPhaseにおいてもCO₂吸収速度と葉の拡散伝導度が最も低かった(第2-4図)。Phase 1の最大CO₂吸収速度は、250 μmol・m⁻²・s⁻¹以上では光強度が高いほど低くなり、Phase 1始めはCO₂の放出が生じ、CO₂吸収速度の上昇が遅くなった。Phase 4のCO₂吸収は消失した。

以上、明期の光強度を100から900 μmol・m⁻²・s⁻¹に変化させた場合、CO₂交換速度と拡散伝導度の日変化は変化し、同時に明/暗期の温度条件によりその影響の表れ方が異なることが明らかとなった。

明期の平均光強度がCO₂収支量に及ぼす影響

第2-5図には1日及びPhase 1, 2, 4のCO₂収支量と明期の平均光強度との関係を示した。CO₂収支量は、明期の平均光強度の違いにより大きく変化し、加えて、明/暗期温度の条件が異なるとその変化の仕方は異なった。Phase 1のCO₂収支量は、25/20℃区では500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ まで、30/25と35/30℃区では250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ までは光強度の上昇に伴い増大し、その後定常値に達した。定常値は、25/20℃区では約140, 30/25℃区では約170, 35/30℃区では約125 $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{period}^{-1}$ であった。35/30℃区では、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上に光強度が増大するとCO₂収支量が漸減する傾向が認められた。40/30℃区では、100~250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ で既に定常値に達し、光強度が強くなるにつれて減少したが、各光強度下のCO₂収支量は著しく少なかった。

Phase 2のCO₂収支量は、いずれの温度区においても光強度の増加に伴い増加し、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上において、35/30, 40/30℃区ではPhase 2のCO₂収支量は低下した。また、Phase 2のCO₂収支量は、温度処理区間で異なり、CO₂吸収が温度条件の影響を受け易いことが観察された。

Phase 4のCO₂収支量は、40/30℃区ではいずれの光強度でもゼロであった。他の3温度区では、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度では同様にゼロであったが、光強度の上昇に伴い増加した。30/25℃区では500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 付近までは急激に増加し、これ以降も漸増した。25/20, 35/30℃区は900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ まで徐々に増加し900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度条件で30/25℃区に比較し25/20, 35/30℃区のCO₂収支量は約25%であった。

1日当りのCO₂収支量は、Phase 1の場合と同様に、250または500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ までは光強度の上昇に伴い増大し、定常値に達した。定常値は、25/20℃区では約170, 30/25℃区では約200, 35/30℃区では145 $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{period}^{-1}$ となった。35/30℃区では、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上の光強度でCO₂収支量が漸減する傾向が認められた。40/30℃区では、100~250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ でも70 $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{period}^{-1}$ の収支量しかなく、光強度が強くなるにつれて減少した。

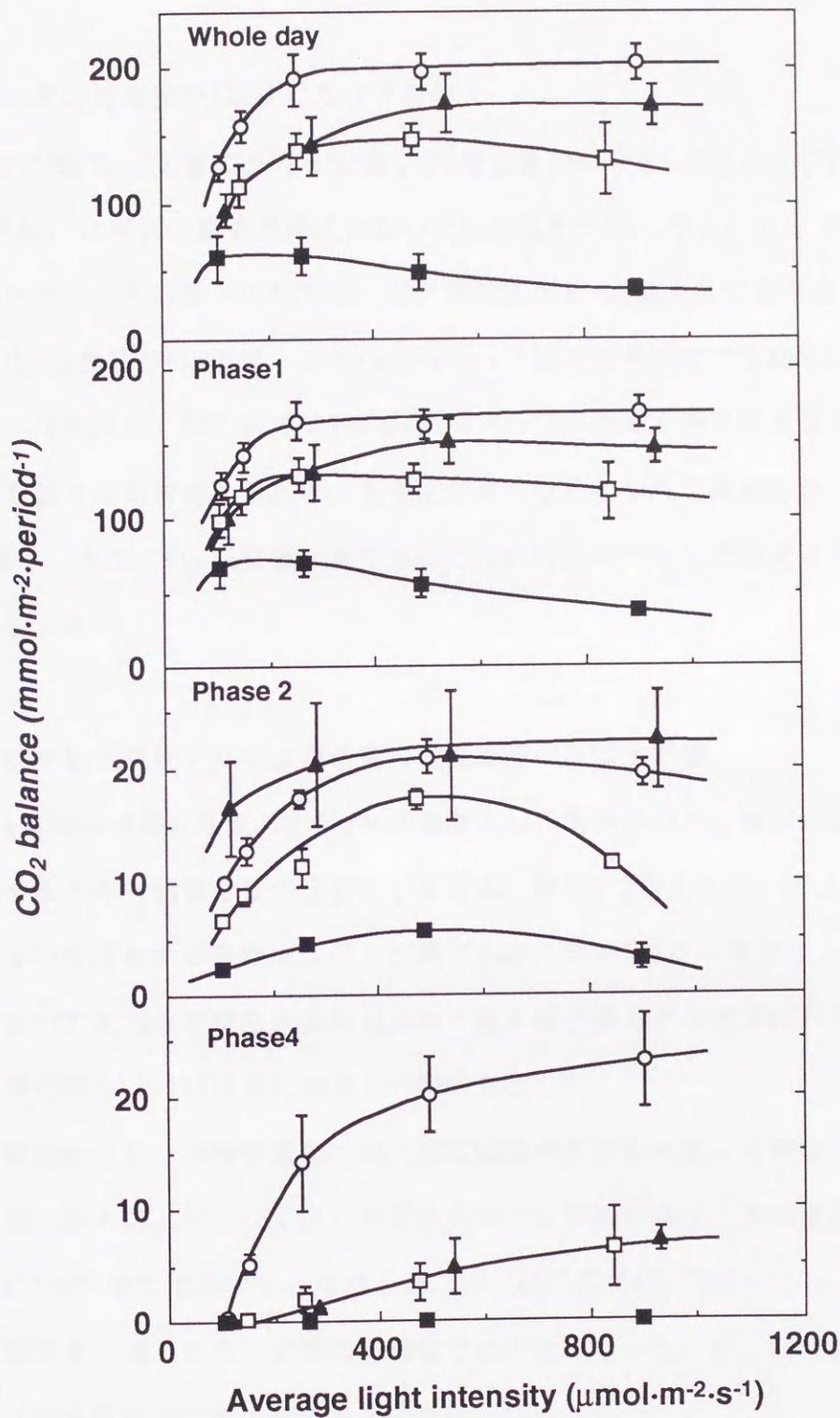


Fig. 2-5. Effects of average light intensities during light period on CO₂ balance. Day/night temperatures were 25/20°C (▲), 30/25°C (○), 35/30°C (□) and 40/30°C (■), respectively. Bars indicate standard deviations.

明期の平均光強度がCAM性に及ぼす影響

1日の総CO₂収支量に占める暗期のCO₂収支量の割合をCAM性と呼ぶ(野瀬, 1979). CAM性は, いずれの温度処理区においても光強度が強くなるにつれて低下した(図2-6). ただし, その低下の仕方は, 40/30℃区と他の3温度区では異なり, 40/30℃区以外の3温度区のCAM性は, 400 μmol·m⁻²·s⁻¹以上の光強度では約85%の定常値に達した. なお, 35/30℃区では900 μmol·m⁻²·s⁻¹の強光で漸増する傾向があった. 40/30℃区では定常値は示さず, 光強度が強くなるにつれて漸減した. 40/30℃区のCAM性は, 明期のCO₂収支量が負であったために, いずれの光強度下でも100%以上の値となった.

明期の平均光強度がリンゴ酸含量の日変動幅に及ぼす影響

CAM植物は暗期に吸収したCO₂を有機酸として葉肉細胞中の液胞に蓄え, 明期では消費するため有機酸含量の日変化が生じる. 第1章で明らかにしたように, デンファレにおいて変動する有機酸はリンゴ酸である. 第2-7図は, 葉のリンゴ酸含量の日変化において最大値が得られる明期始めと最小値が得られる明期終わりの含量, さらに両者の差(ΔMalate)と光強度との関係を示した.

明期始めのリンゴ酸含量は, 40/30℃の温度条件を除き, 光強度の影響を受け変化した. 25/20と30/25℃区の明期始めのリンゴ酸含量は, 光強度が100から900 μmol·m⁻²·s⁻¹まで増加すると漸増した. 35/30℃区では, 250~500 μmol·m⁻²·s⁻¹の光強度で最大値となり, 前後の光強度では少なくなった. 40/30℃区の明期始めのリンゴ酸含量は光強度の影響を受けなかった.

明期終わりのリンゴ酸含量は光強度と温度条件により変化した. 25/20℃区と30/25℃区の明期終わりのリンゴ酸含量は, 500 μmol·m⁻²·s⁻¹までは光強度の増加に伴い減少し, これ以上の光強度では定常値を示した. 35/30℃区は250と900 μmol·m⁻²·s⁻¹の光強度で高かった. 40/30℃区では, 光強度を500 μmol·m⁻²·s⁻¹以上

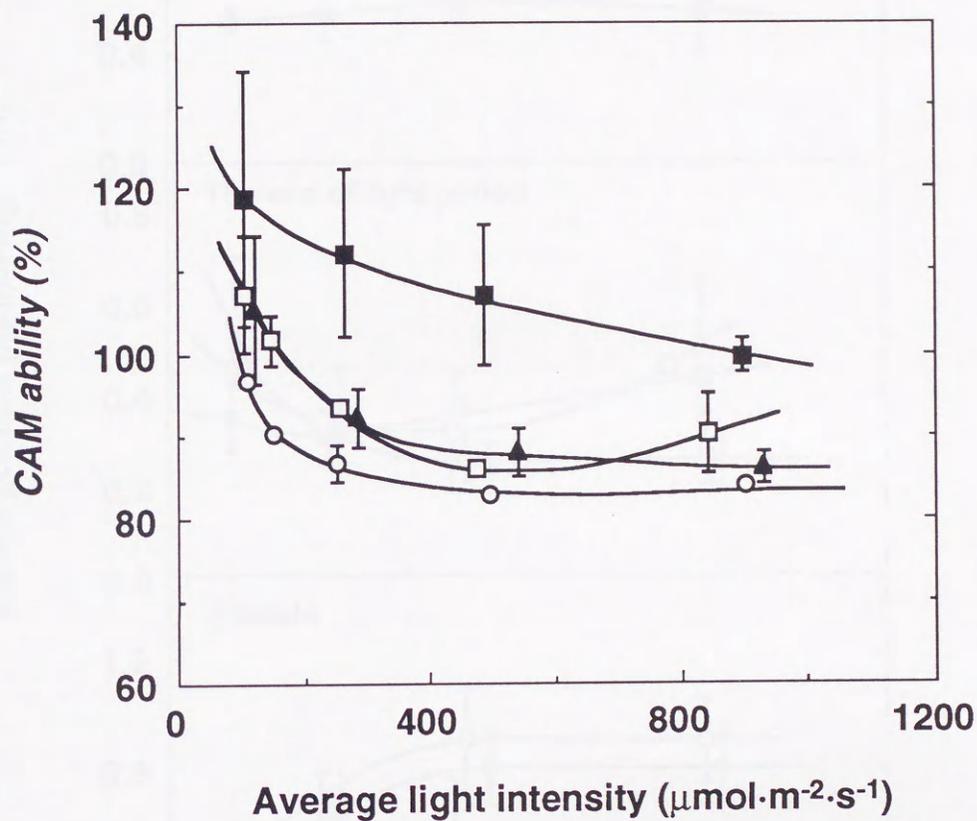


Fig. 2-6. Effects of average light intensity during light period on CAM ability. Day/night temperatures were 25/20°C (▲), 30/25°C (○), 35/30°C (□) and 40/30°C (■), respectively. Bars indicate the standard deviation.

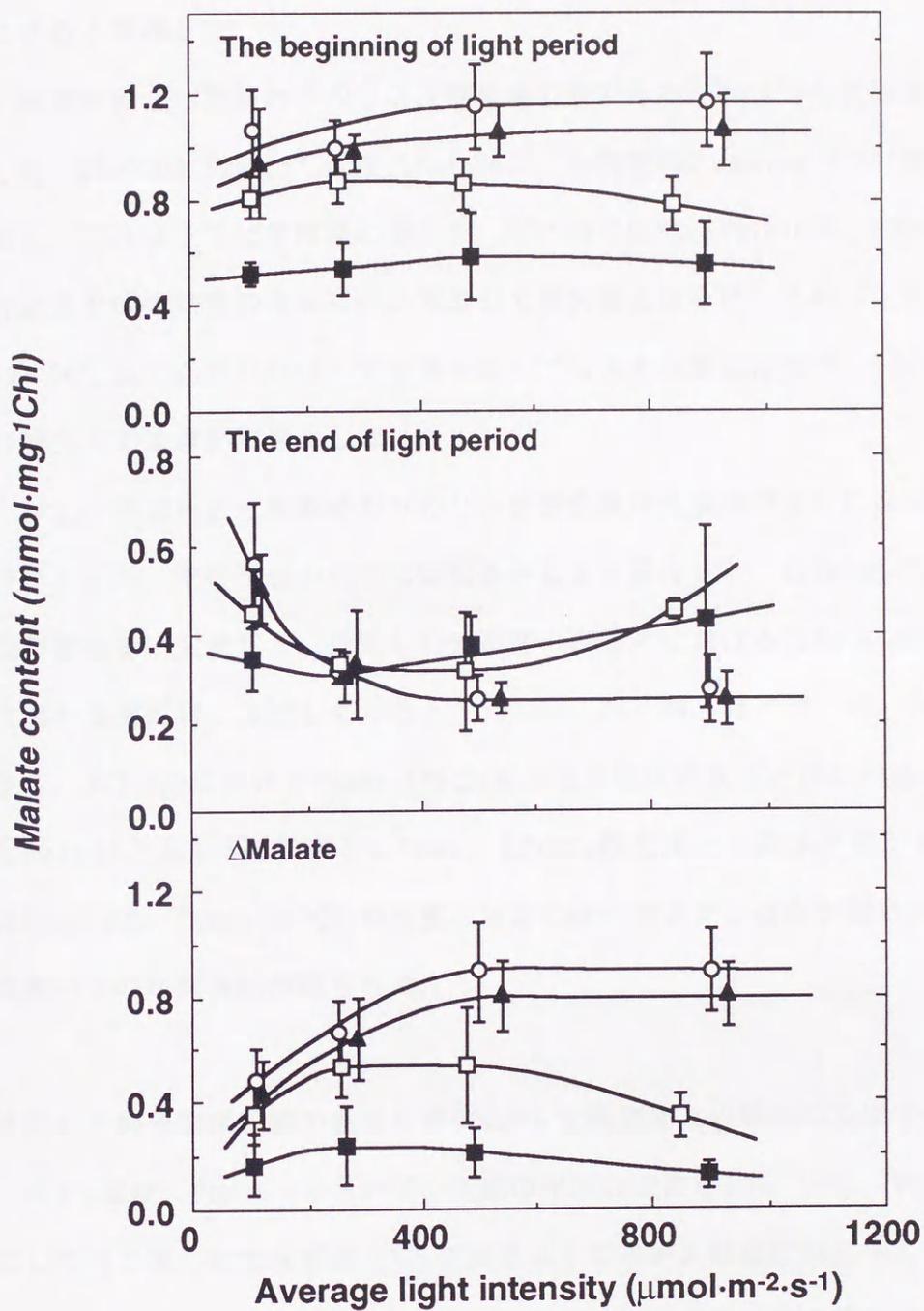


Fig. 2-7. Effects of average light intensity during light period on malate contents. Day/night temperatures were 25/20°C (\blacktriangle), 30/25°C (\circ), 35/30°C (\square) and 40/30°C (\blacksquare), respectively. ΔMalate means difference between the malate contents at the beginning and end of the light period. Bars indicate the standard deviation.

にすると漸増した。

明期始めと明期終わりのリンゴ酸含量の差である Δ Malateも光強度に応じて変化した。25/20と30/25℃区の Δ Malateは、光強度 $500 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ までは急激に増加し、これ以上では定常値に達した。35/30℃区の Δ Malateは、 $500 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 付近までは光強度の増加に伴い増加して最大値となるが、これ以上では減少した。40/30℃区の Δ Malateは、光強度を違えても大きな変化はなく、 $900 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の強光下では僅かに減少した。

以上、明期始めと明期終わりのリンゴ酸含量は光強度の違いにより変化することが認められ、その変化の仕方は温度条件により異なった。 Δ Malateも同様に光強度の影響を受け変化した。設定した光強度の範囲内における Δ Malateの定常値及び最大値を温度区別に比較してみると、30/25, 25/20, 35/30, 40/30℃区の順に大きく、第2-5図におけるPhase 1の CO_2 収支量の温度区間差と同じであった。そこで、 Δ Malateと第2-5図で示したPhase 1の CO_2 収支量との関係を第2-8図に示した。 Δ Malateは、Phase 1の CO_2 収支量の増加に伴い増大する傾向が認められ、両者間には高い正の相関係数が得られた。

明期の平均光強度が葉の拡散伝導度と CO_2 交換速度との関係に及ぼす影響

第2-9図は、Phase 1において、明期の平均光強度を100, 500, $900 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ にした時の葉の拡散伝導度と CO_2 交換速度との関係を温度区別に示したものである。 CO_2 固定の過程は、主に気孔を中心としたガス拡散過程と葉肉細胞での CO_2 固定反応系に分けて考えることができる。第2-9図は、前者のガス拡散過程と CO_2 吸収速度との関係を示している。

温度条件を揃えた時、Phase 1の CO_2 吸収速度は、いずれの光強度においても拡散伝導度の増加に伴い増加し、ほぼ1つの直線上に分布した。4つの温度処理区とも拡散伝導度とPhase 1の CO_2 交換速度との間には、有意な相関関係が得られた。回帰直線の傾きは30/25℃区が最も大きく、これよりも高温または低温になると小さくな

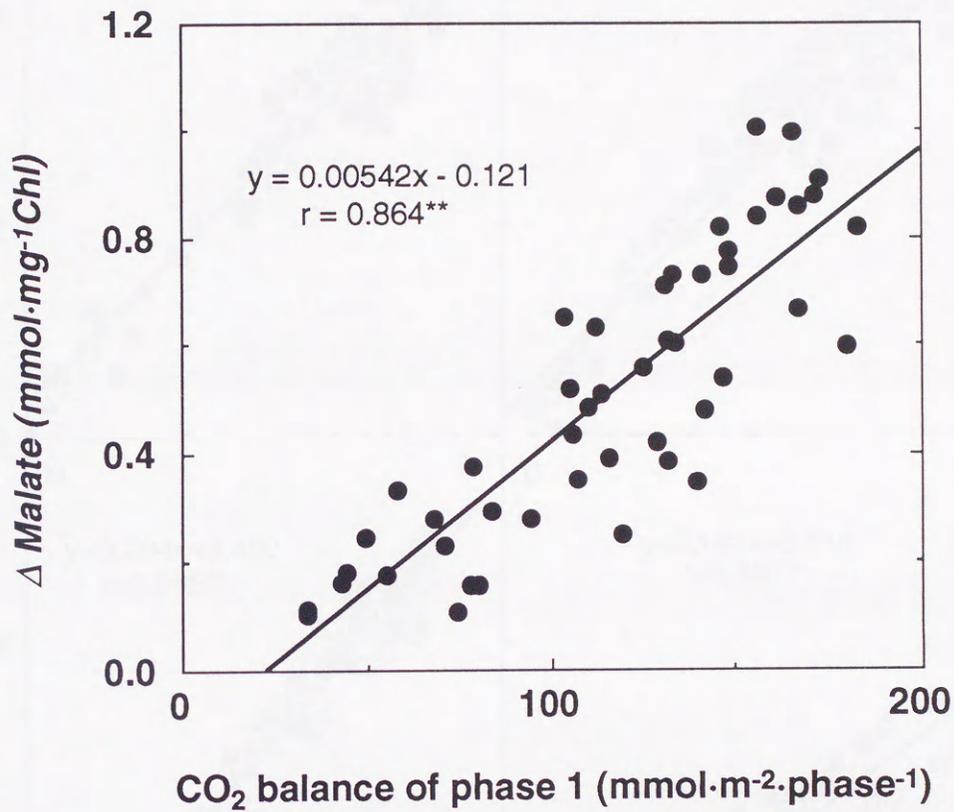


Fig. 2-8. The relationship between CO₂ balance of phase 1 and Δ Malate. Data were obtained from Figs. 2-1, 2, 3 and 4. ** indicates significant difference at 1% level.

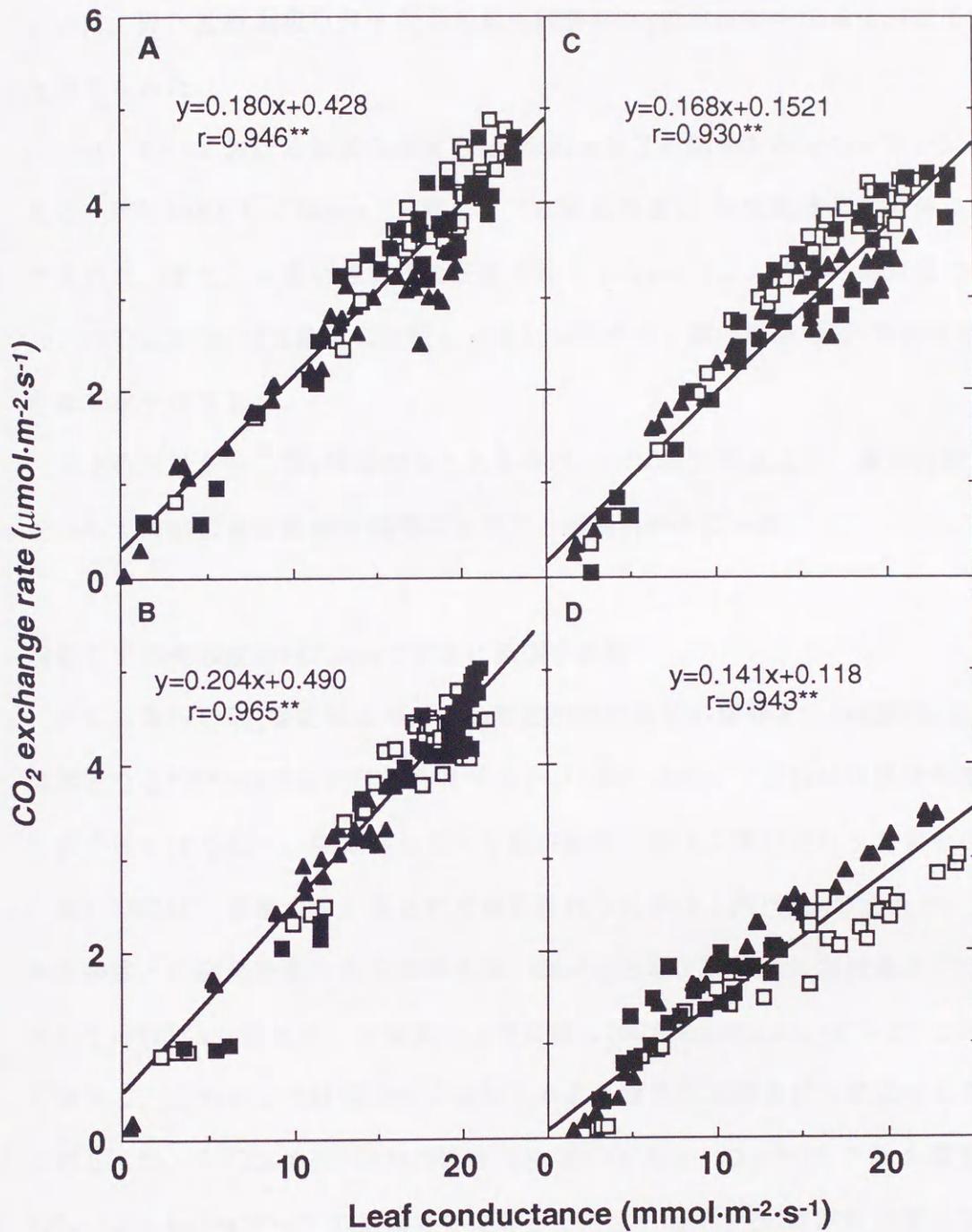


Fig. 2-9. The relationship between leaf conductance and CO_2 exchange rate in phase 1. Day/night temperatures were 25/20°C(A), 30/25°C(B), 35/30°C(C) and 40/30°C(D), respectively. PARs were 100 (\blacktriangle), 500 (\square) and 900 (\blacksquare) $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. ** indicates significant difference at 1% level.

った。40/30℃区では傾きが最も小さく、このような高温条件ではCO₂固定の過程において、ガス拡散過程以外すなわち葉肉細胞のCO₂固定反応系の活性が低下するものと考えられた。

Phase 2と4における拡散伝導度とCO₂交換速度との関係をみたのが第2-10, 11図である。両PhaseともにPhase 1と同じく、拡散伝導度とCO₂交換速度の関係は直線関係で表され、また、有意な相関係数が得られた。Phase 2における回帰直線の傾きも、40/30℃区が他の3温度区に比較して著しく小さく、葉肉細胞のCO₂固定反応系の活性低下が予想された。

以上の結果から、CO₂吸収のみられる各PhaseのCO₂交換速度は、葉の拡散伝導度すなわちガス拡散系と密接な関係にあることが明らかとなった。

明期の平均光強度がPEPCaseの活性に及ぼす影響

次に、葉内のCO₂固定能に対する明期の平均光強度の影響を、CAM型CO₂固定のキー酵素となるPEPCase活性の面から見てみたい(第2-12図)。PEPCase活性は明期始めから前半にかけて低く、明期終わりから暗期始めにかけて高いという日変化を示した。

第2-13図は、日最大値が得られる明期終わりにおけるPEPCaseの活性と、明期の平均光強度との関係を示したものである。25/20と30/25℃区におけるクロロフィル当たりのPEPCase活性は、光強度の上昇に対し100から250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の間で急激に増加し、これ以上では緩やかに増加するような直角双曲線状の変化をした。これに対し、35/30℃区のPEPCase活性は500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度で最大値を示し、100と900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度では著しく活性が低下する2次関数的変化をした。また、40/30℃区のPEPCase活性は全般的に低く、光強度が異なっても大きな変化はなかった。このように、PEPCaseの活性は明期の平均光強度の強弱により変化し、かつ温度条件によりその変化の仕方は大きく異なった。25/20と30/25℃区では光強度の増加に伴いPEPCaseの活性は増加するが、35/30℃区の強光域及び40/30℃区では著しく抑制されることが示された。設定した光強度の範囲内での温度区間の活性

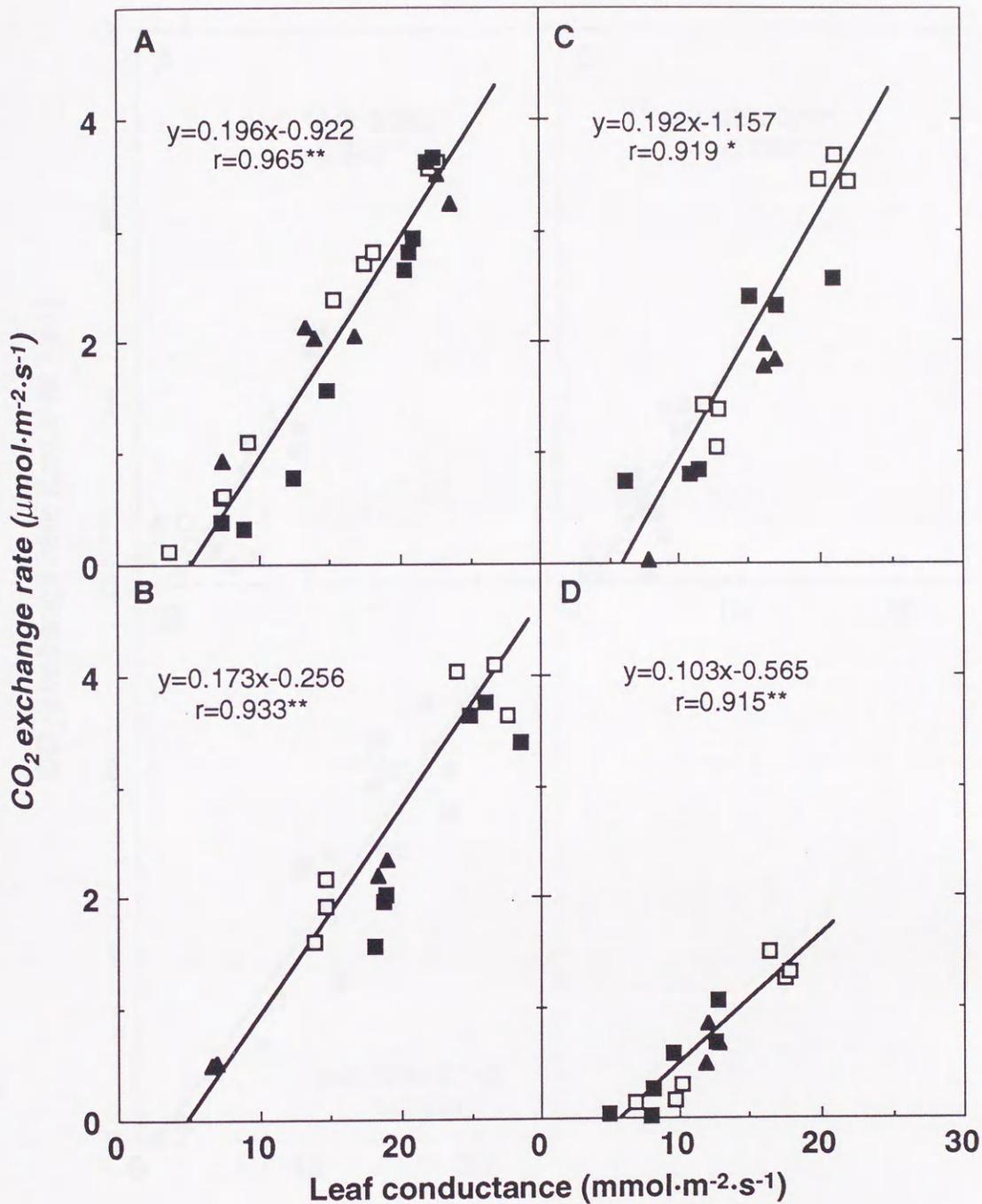


Fig. 2-10. The relationship between leaf conductance and CO₂ exchange rate in phase 2. Day/night temperatures were 25/20°C(A), 30/25°C(B), 35/30°C(C) and 40/30°C(D), respectively. PARs were 100 (▲), 500 (□) and 900 (■) μmol·m⁻²·s⁻¹. ** indicates significant difference at 1% level.

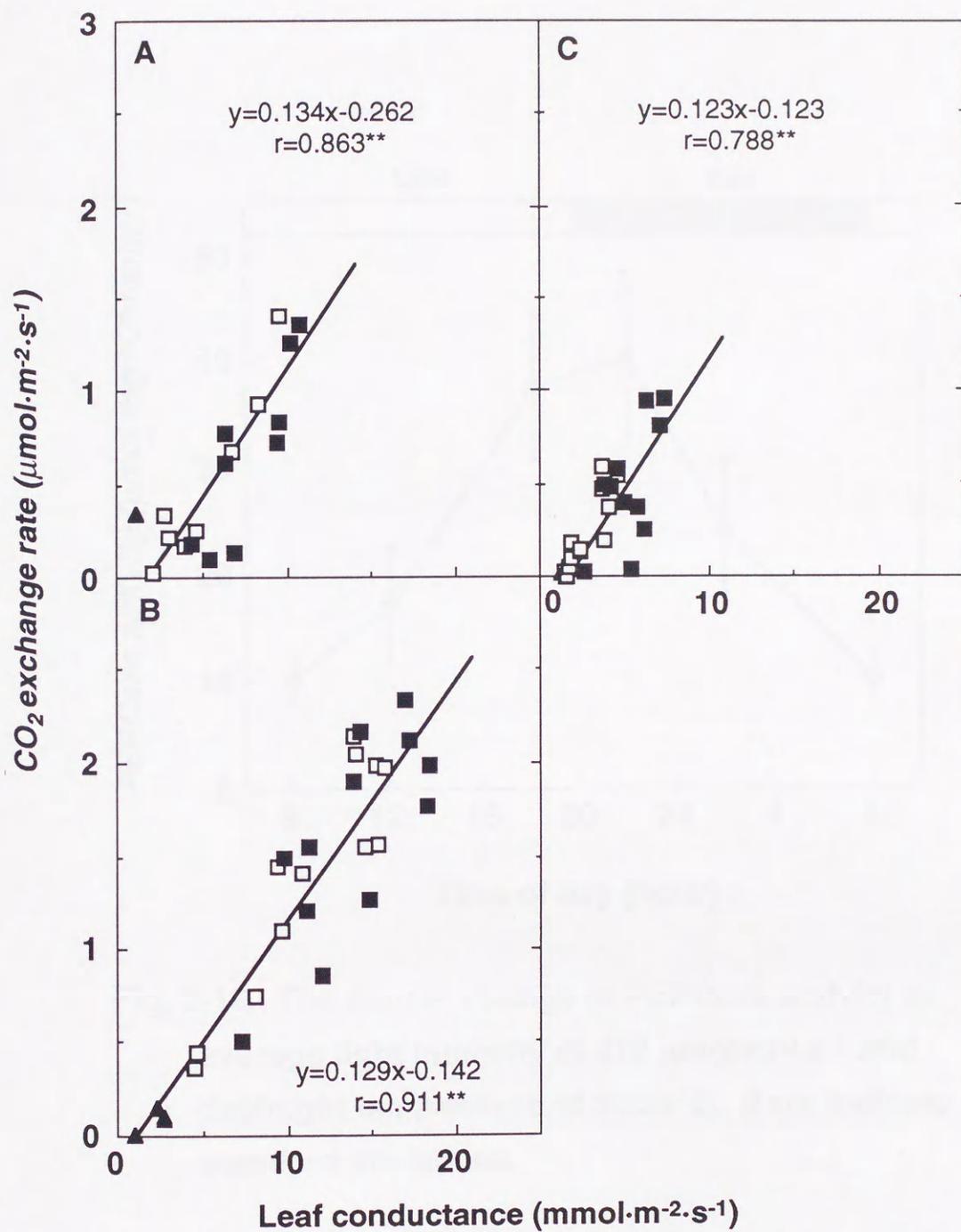


Fig. 2-11. The relationship between leaf conductance and CO₂ exchange rate in phase 4. Day/night temperatures were 25/20°C(A), 30/25°C(B), and 35/30°C(C), respectively. PARs were 100 (▲), 500 (□) and 900 (■) μmol·m⁻²·s⁻¹. ** indicates significant difference at 1% level.

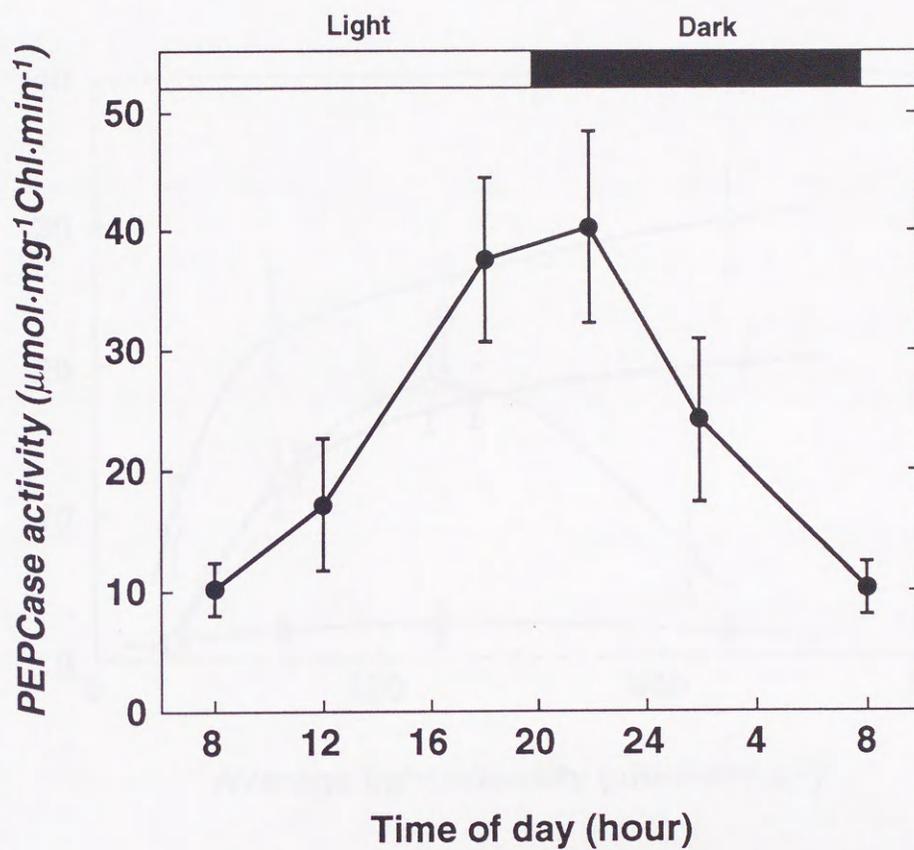


Fig. 2-12. The diurnal change in PEPCase activity at average light intensity of $478 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ and day/night temperature of $30/25^\circ\text{C}$. Bars indicate standard deviations.

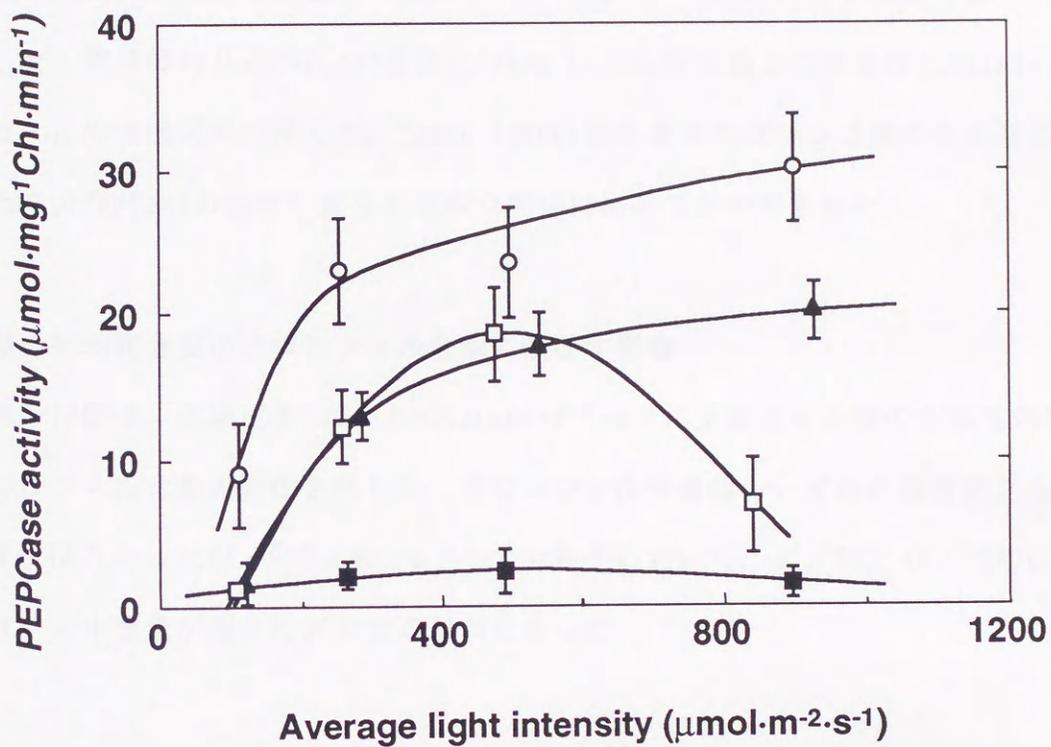


Fig. 2-13. Effects of average light intensity during light period on PEPCase activity at the end of light period. Day/night temperatures were 25/20°C (\blacktriangle), 30/25°C (\circ), 35/30°C (\square) and 40/30°C (\blacksquare), respectively. Bars indicate standard deviations.

値を比較すると、30/25°C区の活性が最も高く、次いで25/20と35/30°C区であった。

各温度条件におけるPEPCaseの活性値の大小関係は、Phase 1のCO₂収支量(第2-5図)と△Malate(第2-9図)における大小関係と同じ傾向にあった。そこで、PEPCaseの活性値とPhase 1のCO₂収支量との関係を第2-14図に、△Malateとの関係を第2-15図に示した。明期終わりのPEPCase活性とPhase 1のCO₂収支量との間及び△Malateとの間には、正の相関関係が得られ、Phase 1のCO₂固定量またはリンゴ酸の生成量は明期終わりのPEPCaseの活性の高さと密接な関係にあることが示された。

明期の平均光強度がクロロフィル含量に及ぼす影響

第2-16図は、光強度を100から900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に上昇させた時の各温度処理区のクロロフィル含量の変化を示した。クロロフィル含量は、いずれの温度区とも大きな変化はなかったが、900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の強光において、35/30と40/30°C区のクロロフィル含量が僅かに減少する傾向にあった。

第4節 考 察

本実験の結果から、明期の平均光強度はデンファレのCAM型CO₂交換に影響を及ぼすことが明らかとなった。Phase 1, 2及び4のCO₂吸収速度(第2-1~4図)、CO₂収支量(第2-5図)及び△Malate(第2-7図)は、明期の光強度の強弱により増加または減少した。

明期の光強度がCAM型の明/暗期のCO₂吸収量及び暗期のリンゴ酸生成量に影響を与えることは、他のCAM植物でも認められている。パイナップル(Noseら, 1977; Sale & Neales, 1980)とサルガオセモドキ(Klugeら, 1973)では明期の平均光強度の上昇によりPhase 1, 2及び4のCO₂吸収速度が増加した。また、セイロンベンケイ

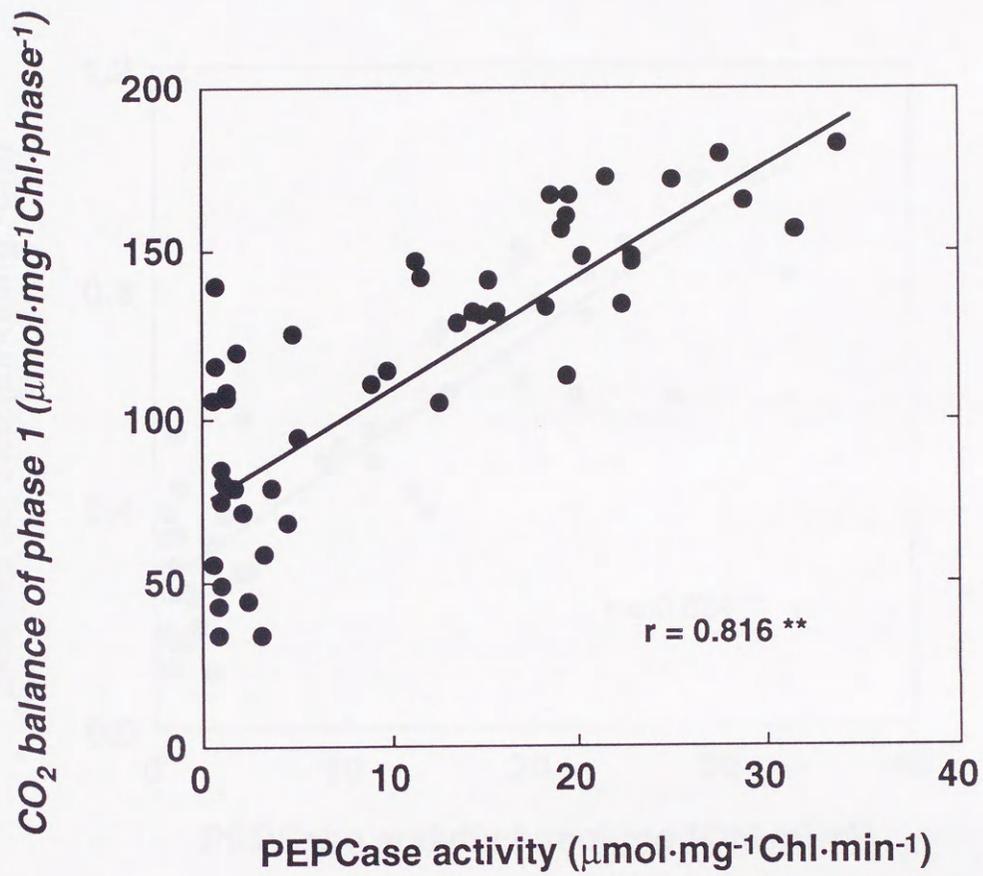


Fig. 2-14. Relationship between PEPCase activity at the end of light period and CO₂ balance of phase 1.
**** indicates significant difference at 1% level.**

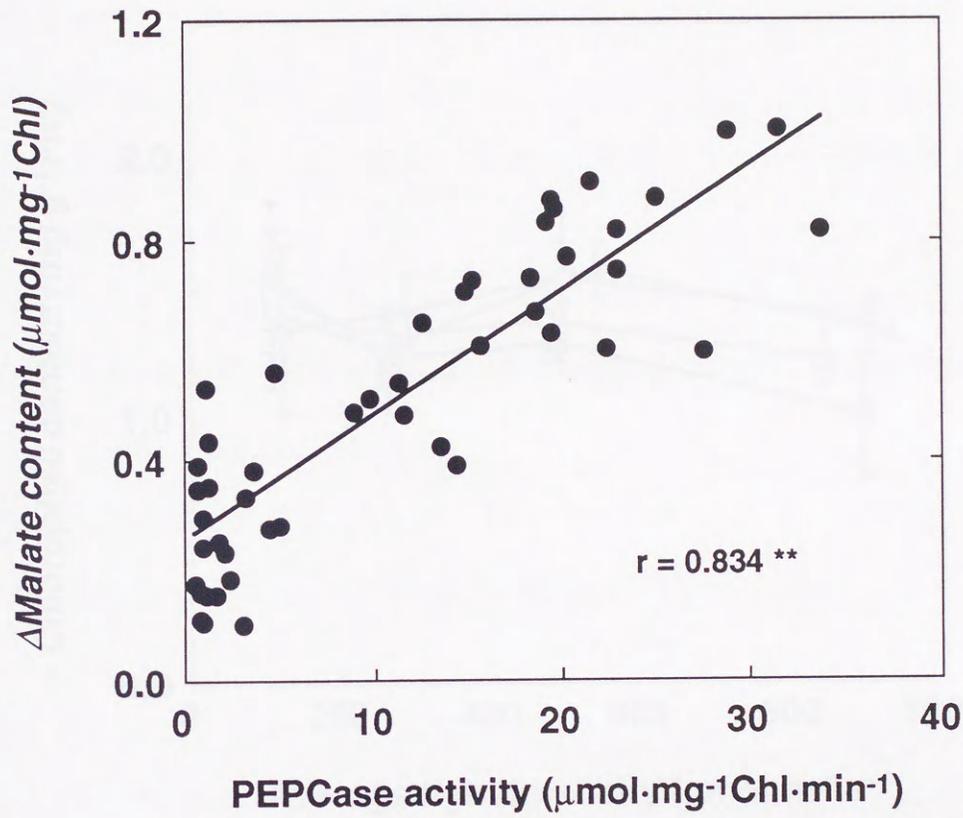


Fig. 2-15. Relationship between PEPCase activity at the end of light period and Δ Malate content. ** indicates significant difference at 1% level.

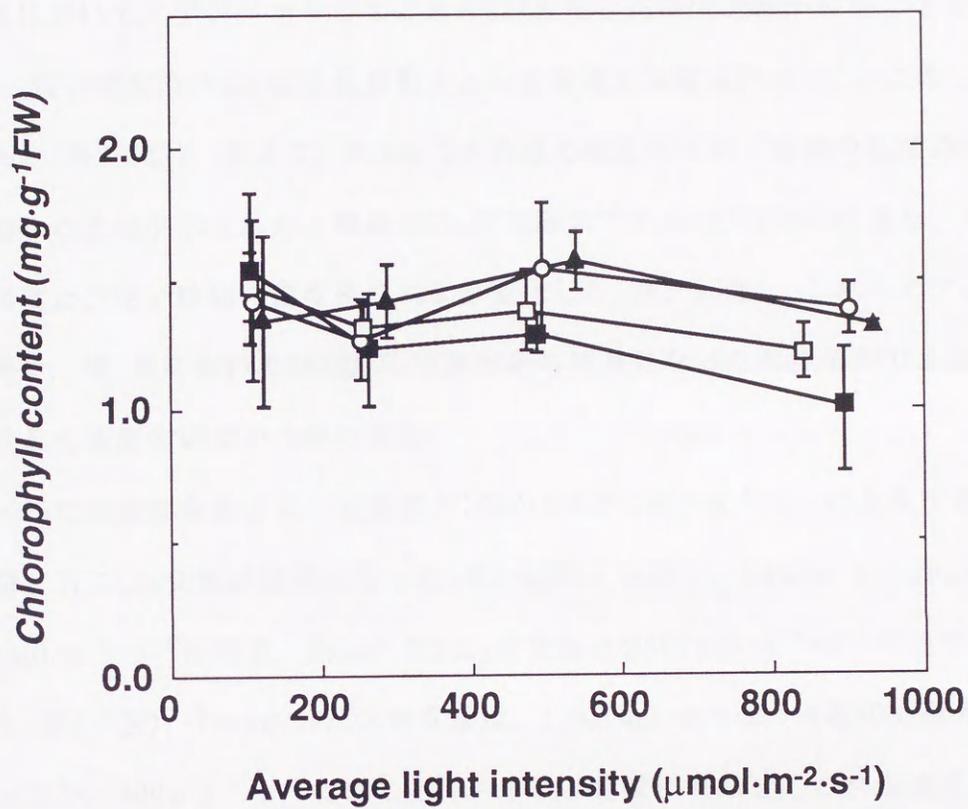


Fig. 2-16. Relationship between average light intensity and chlorophyll content. Day/night temperatures were set at 25/20°C (▲), 30/25°C (○), 35/30°C (□) and 40/30°C (■), respectively. Bars indicate standard deviations.

(Vickery, 1959), パインアップル(Noseら, 1977; Sale & Neales, 1980), サボテン類(Nobel, 1977)では, 光強度の上昇に伴い暗期に蓄積される有機酸含量が増加することが報告されている. パインアップルと*O. ficus-indica*については, Phase 1のCO₂収支量または有機酸含量の光飽和が確認されている.

本章において, デンファレでもこれらCAM植物と同様の現象が確認できたが, さらに, CO₂吸収速度及びCO₂収支量が最大となる最適光強度はPhaseごとに異なる結果が示された(第2-5図). 加えて, Phase 1の最適光強度域は明/暗期の温度条件によって変動することが示された. 暗期のCO₂固定酵素であるPEPCaseの活性も, 明期の平均光強度及び明/暗期の温度条件により変化した(第2-13図). これらのデンファレの結果を, 第1章においてCAM型CO₂交換が最も活発になった温度条件である30/25°Cにおける光強度の影響から検討する.

30/25°Cの温度条件では, 光強度が100から900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に上昇すると, 明期と暗期ともにCO₂交換が活発になった(第2-2図). ただし, Phase 1のCO₂収支量は250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 付近で, Phase 2のCO₂収支量は500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 付近で光飽和に達した(第2-5図). Phase 4のCO₂収支量は, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 付近の光強度ではゼロであったが, 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に上昇させると急激に増加し, これ以上では緩やかな増加であった. 1日のCO₂収支量に対する暗期のCO₂収支量の割合を示すCAM性は光強度の増加に伴い低下した(第2-6図). これは, 光強度に伴うCO₂吸収量の増加が, Phase 1よりもPhase 2と4において顕著であったことを表している. このように, 明期の平均光強度の影響の現れ方は, Phase 1, 2と4で異なった. そこで, 各々のPhaseにおけるCO₂吸収の増加と光強度との関係から考察してみたい.

30/25°Cの温度条件におけるPhase 4のCO₂収支量は, 光強度が900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ まで不飽和型に近い増加を示した(第2-5図). これはPhase 3のCO₂吸収時間の短縮と, Phase 4のCO₂吸収速度の増加に依るものである(第2-2図). Phase 3の長さは, 前夜に蓄積されたリンゴ酸プールの大きさとリンゴ酸の脱炭酸速度に依存していると考えられる. Phase 3において, 光強度は光化学系におけるATPやNADPH₂の生成を増大

させ、その結果としてカルビン回路のCO₂取り込み速度を促進する。この促進がリンゴ酸の脱炭酸速度を上昇させ、結果的には暗期蓄積されたリンゴ酸がより短い期間で消失する(Nose, 1977)。セイロンベンケイ(Vickery, 1959)、パインアップル(野瀬, 1986, 1977; Sale & Neales, 1980)及びサボテン類(Nobel, 1977)でも、光強度の上昇により明期の有機酸の消失速度が促進されることが報告されている。デンファレでも同様に光強度の上昇に伴うリンゴ酸の脱炭酸速度が増加したものと考えられ、明期終わりのリンゴ酸含量が光強度の上昇に伴って減少したことは(第2-7図)、この現象に依るものであると考えられる。Phase 4のCO₂吸収速度の増加も、同様に光化学系の活性化に伴うCO₂吸収の増加であろう。特に、Phase 4のCO₂収支量が完全な光飽和型増加を示さなかったことは、デンファレのPhase 4のCO₂固定がパインアップル(Coteら, 1989)のPhase 4における酸素交換の結果から提案されているような、PEPCaseとRubiscoの両方が関係するDouble carboxylationに依るものと考えられる。本研究では、明期の終わりにおける30/25℃区のPEPCaseの活性が、光強度の上昇に伴い増加した(第2-13図)。これは、Phase 4のCO₂吸収速度の増加に関係があることも考えられる。

Phase 2のCO₂固定においては、明期開始後リンゴ酸の脱炭酸が開始されるまではPEPCaseが主に働き、その後Rubiscoが働くと言われている(Kluge, 1968; Winter, 1981)。デンファレの30/25℃区におけるPhase 2のCO₂収支量は、Phase 4の場合と異なり光強度の上昇に対して飽和型の増加を示した(第2-5図)。デンファレのPhase 2において優先的にCO₂固定を行うのはRubiscoの可能性も考えられる。

30/25℃の温度条件でのPhase 1は、光強度の上昇によりCO₂収支量が増加するが、250mol・m⁻²・s⁻¹付近で飽和に達した。暗期でのCO₂収支量に、このようなC₃型光合成と類似した飽和現象が存在することについて、Noseら(1977)は、同様の現象をパインアップルで認め、暗期のCO₂吸収の基質とエネルギーソースが明期に働くC₃型炭素固定回路に由来するために、Phase 1のCO₂吸収量と明期の平均光強度条件との関係は、C₃型光合成と同様の光反応特性を示すと結論づけている。デンファレの場合も、

同様なメカニズムを介して生じたと考えられる。しかし、本研究においては、昼／夜温度を35/30, 40/30°Cに上昇させると、明期の平均光強度とPhase 1のCO₂収支量(第2-5図)や△Malateとの関係(第2-7図)は、30/25°Cや25/20°Cの場合と異なった。この原因については、後で考察を加えたい。

このように、明期の平均光強度は光化学系の活性化を介して、脱炭酸速度の増加と、暗期のCO₂固定に使用する基質やエネルギーソースの増加、リンゴ酸蓄積容量の増加(第2-7図)及びCO₂固定酵素の活性増(第2-13図)を引き起こし、明期だけでなく暗期のCO₂吸収速度を向上させたものと考えられる。

なお、本章では、Phase 1, 2及び4のCO₂吸収速度は葉の拡散伝導度と密接な関係にあることが認められた(第2-9~11図)。葉の拡散伝導度は葉面境界抵抗が一定の場合気孔開度と一致する。本研究においては、同化箱内にファンを設置し、ファンの回転速度を固定したため、得られた葉の拡散伝導度は気孔開度の大小を示しているものと考えられる。従って、明期の光強度の上昇による各PhaseのCO₂吸収速度の増加には、気孔開度の増大も起因している。この気孔開度の増加は、明期における光化学系の活性促進に伴う脱炭酸の促進や、CO₂固定酵素の活性増大による葉内のCO₂濃度の減少がもたらしたものではないかと考える。しかし、CAM植物において、明期の光強度と葉内CO₂濃度の日変化の関係を示した報告は見あたらない。

本章では、デンファレのCO₂固定の最適温度である30/25°C区の他に、これよりも低温または高温条件で光強度を違えてCO₂交換速度及びリンゴ酸含量の日変動幅を測定した(第2-1, 2, 4, 7図)。25/20°CにおけるCAM型CO₂交換及びリンゴ酸含量日変動幅に対す光強度の影響(第2-1, 7図)は、30/25°Cの場合と同様に光強度の上昇により1日及びPhase 1, 2のCO₂収支量及びリンゴ酸含量の日変動幅は増加し、500 μmol·m⁻²·s⁻¹付近で光飽和に達した。25/20°CのPhase 1のCO₂収支量の光飽和点は、30/25°Cに比較して高かった。逆に、温度条件を35/30°Cに高くした場合(第2-3, 7図)、光強度を500 μmol·m⁻²·s⁻¹まで上昇させると1日及びPhase 1, 2のCO₂交換速度とリンゴ酸含量の日変動幅は増加するが、これ以上の光強度では減少した。25/20及び

35/30°CにおけるPhase 4のCO₂収支量は、30/25°Cの場合と同様に900 μmol・m⁻²・s⁻¹以上の光強度の上昇に伴い増加し続けたが、量的には著しく少なかった。温度条件をさらに40/30°C(第2-4, 7図)まで上昇させると、光強度が増加すると逆にCO₂吸収速度、CO₂収支量とリンゴ酸含量の日変動幅は抑制されるようになった。このように、35/30°C及び40/30°Cの高い温度条件では、強光条件になるとCO₂吸収が抑制されることが示された。

次に、何故高温・強光条件下でCO₂吸収速度、CO₂収支量及びリンゴ酸含量の日変動幅が減少するのかを考察してみたい。温度条件については、第1章において示したように、明/暗期温度が上昇すると暗呼吸速度が増加し気孔開度が減少することにより、外気からのCO₂吸収が抑制することが考えられる。温度条件が30°Cから40°Cに上昇すると、暗呼吸速度は2.2倍にもなる(川満ら, 1990)。また、これに加えて、本章では35/30°Cの高温条件に強光が加わった場合及び40/30°Cの高い温度条件で、PEPCaseの活性とクロロフィル含量の低下(第2-16図)が認められた(第2-13図)。強光条件においてこのような酵素の活性阻害現象が生じることについて、光呼吸の面から考えてみたい。光呼吸の生理的意義については様々な説があるが、C₃植物の場合、強光下で生ずる過剰な還元力や光化学系Iで生じた有害なO₂⁻を直接または間接的に消費し、組織の光・酸素障害の防止機構として機能しているという説がある(増田, 1977)。CAM植物においても、PIBにより光呼吸の存在が明らかにされている(Crewら, 1976)ことから、C₃植物の場合と同様に、強光下では光呼吸は組織の光・酸素障害の防止機構として働いている可能性が考えられる。本章において、35/30, 40/30°C区で酵素活性阻害現象(第2-13, 16図)が認められたことは、強光条件の他に高温条件が加わることにより、組織の光・酸素障害の防止機能が抑制されたことに依るものではないだろうか。

沖縄においてデンファレの栽培は一般に遮光ネットを利用し、弱光の下で行っている。それは、冬季の低日射時期を除いて、無遮光あるいは弱い遮光下に株を数時間置くと、上位葉に「日焼け」と呼ばれる脱色化症状が生じ枯死に至らしめるため

である。本章で示された高温・強光条件下における酵素の活性阻害は、このような「日焼け」症状に通じる現象であるかも知れない。また、いずれの温度条件においても1日のCO₂収支量がほぼ最大値になる明期の平均光強度は、250と500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の間で、日射量に換算すると56~112 $\text{cal}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ に相当する。デンファレの物質生産にとって最適とされる日射量は、パインアップルの224~315(Noseら, 1977), シャチガラシの310(Nobel, 1977), *O. ficus-indica*の218~240 $\text{cal}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ (Nobel & Hartsock, 1983)と比較して著しく低い値である。このことは、デンファレが直射光下の栽培に不向きであることを示している。

本章において、デンファレの総CO₂収支量が最大となる明期の光強度が明らかとなった。温度条件が25/20℃の時は500~900, 30/25℃では250~900, 35/30℃では250~500, 40/30℃では100~250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度であった。このように、明/暗期の温度条件が上昇するにつれて、最適光強度は低下した。このことは、生育時期により最適光条件が異なることを示し、実際栽培下において、季節の推移に伴う適正な光環境を整えるようなきめ細かな操作が必要なことを示唆している。

現在、生産現場では年間を通じて大凡70%の遮光の下で栽培を行っている場合が多い。沖縄の夏季(7~8月)屋外における明期の光合成有効放射域における平均光強度は約1100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ あり(城間, 1977), 70%遮光の施設内における平均光強度は約330 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ となる。これは、本結果における35/30℃程度の高温条件での適正光強度にほぼ適合する。一方、冬季(12~1月)の屋外における明期の平均光強度は約500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ しかない(城間, 1977)。デンファレ栽培施設の遮光ネットは構造上周年設置されている場合がほとんどであるために、冬季施設内の平均光強度は約150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ となる。これは、25/20℃のような低温条件における最適光強度500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ と比較すると、物質生産上著しい光不足になっているものと考えられる。

デンファレの冬季低温期の栽培において、切り花の開花を春季または初夏に得るために加温して栽培を行っている場合は、CO₂固定量を増加させリードバルブまたは

花茎の生長を促すのに重要な時期となる。また、加温なしで栽培する場合は、3~4月の温度上昇期にリードバルブを萌芽するために、バックバルブに光合成産物を貯蔵している期間であると考えられている。従って、いずれの場合においても、冬季の栽培においては、できるだけ植物体に光を与えることで、物質生産が向上し貯蔵物質量の増加及び生長の促進が図られるものとする。現在、沖縄の生産現場でとられている固定式の遮光管理方法に対して、本結果は改善すべき方向性を提示できるものとする。

第5節 要 約

デンファレのガス交換に対する光強度の影響を調べた。ガス交換の測定は、リードバルブの最上位あるいはその1葉位下の完全展開葉を用い、明期の平均光強度を $100\sim 900\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の範囲で変化させて行った。明/暗期の温度条件は、25/20, 30/25, 35/30, 40/30°Cの4種類に設定した。ガス交換測定後、被測定葉の上・下位葉のリンゴ酸含量及びPEPCaseの活性を測定した。

1) 明期の平均光強度の強弱は、デンファレ個葉のCAM型ガス交換速度の日変化に影響を与えた。その影響の現れ方は温度条件により異なった(第2-1~4図)。

Phase 1のCO₂吸収は、明/暗期の温度が25/20°Cでは $500\sim 900\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、30/25°Cでは $250\sim 900\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、35/30°Cでは $250\sim 500\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、40/30°Cでは $100\sim 250\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度下で活発になった。Phase 4のCO₂吸収は、 $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 付近の弱い光強度では現れなかったが、これ以上では活発となり $900\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度下で最大吸収速度が得られた。ただし、40/30°Cのような高温条件ではPhase 4のCO₂吸収が生じなかった。

2) 1日及びPhase 1のCO₂収量は、25/20, 30/25°Cの場合、明期の平均光強度の上昇に伴い増加し 500 及び $250\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 付近で定常値に達した。35/30°Cの場

合も $250 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 付近で定常値に達したが、 $500 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以上の光強度では漸減する傾向にあった。40/30°C の場合は、 $100 \sim 250 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光強度で既に定常値にあり、これ以上の強光になると減少した(第2-5図)。このように、デンフアレの1日及びPhase 1のCO₂収支量には、C₃型光合成と同様な光飽和現象が認められ、その飽和点は温度条件により変化した。

3) CAM性は、いずれの温度条件とも明期の平均光強度が上昇すると低下し、25/20, 30/25, 35/30°C では $500 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で定常値または最低値に達した(第2-6図)。40/30°C では $900 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ まで減少し続けた。

4) Phase 2のCO₂収支量も明期の平均光強度の上昇に伴い増加し、定常値または最大値が存在した(第2-5図)。25/20, 30/25°C では、 $500 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光強度下で定常値に達した。35/30, 40/30°C では、 $500 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光強度で最大値に達し、これ以上では減少した。Phase 2のCO₂収支量でもPhase 1と同様の光飽和現象が表れた。

5) Phase 4のCO₂収支量も、40/30°C より低い温度において、明期の平均光強度の上昇により増加したが、Phase 1, 2とは異なり $900 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ でも飽和しなかった(第2-5図)。Phase 4のCO₂収支量の増加は、CO₂吸収速度の増加とともにPhase 3の短縮に依ってもたらされている(第2-1~3図)。

6) Δ Malateはいずれの温度区とも、光強度の上昇に対しPhase 1のCO₂収支量と同様に増加し(第2-7図)、両者の間には高い正の相関関係が認められた(第2-8図)。

7) 葉の拡散伝導度の日変化も明期の平均光強度の強弱により変化した。その変化は、ほぼCO₂交換速度の日変化と同様であり(第2-1~4図)、葉の拡散伝導度とCO₂交換速度の間には、Phase 1, 2及び4とも、いずれの温度条件においても高い正の相関関係が得られた(第2-9図)。

8) PEPCaseの活性は、明期終わりから暗期始めにかけて高く、明期始めから前半にかけて低いという日変化を示した(第2-12図)。明期終わりのPEPCaseの活性は、光強度の上昇に従い、25/20, 30/25°C では $900 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ まで増加したが、35/

30℃では $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ まで増加しこれ以上では低下した。40/30℃の温度条件では、活性はいずれの光強度でも低く変化は小さかった(第2-13図)。

9) このような高温・強光下におけるPEPCaseの活性低下は、同様の条件下でPhase 1のCO₂収支量が低下する現象と関係があることが示唆された(第2-14図)。

10) 以上、本研究で得られた温度条件別の適正な光強度域は、沖縄での季節別遮光管理の必要性を示唆している。

第3章 日長がデンファレのCAM型 光合成に及ぼす影響

第1節 緒言

CAM型CO₂交換は1日を通して特徴的な推移を示すことから、これに及ぼす環境要因の影響を調査した研究は多い。それらの報告によると、CAM植物は環境条件によりCAMが誘導される可塑的CAM植物と、いかなる環境条件でもCAMが維持される固定的CAM植物に類別される(Osmond, 1978; Kluge & Ting, 1978)。可塑的CAMにおけるCAM誘導因子は、水ストレス(Winterら, 1978; Neales, 1975; Osmond, 1978)や塩ストレス(Winter, 1972; Hanscom & Ting, 1978)及び個体の齡(Jones, 1975; Winterら, 1978)が挙げられ、加えて日長条件もCAM発現にとって重要な因子であることが報告されている(Queiroz & Morel, 1974; Brulfertら, 1982a, b, c)。特にベニベンケイやナガエベンケイは、長日条件下ではC₃型のCO₂交換を行うが、短日条件に移すと、7日間のLag phaseを経てCAM型のCO₂交換を示すようになり、処理開始から50~60日目にCAM型CO₂交換は最も活発となる。この時CAM型光合成で必要な酵素の発現と活性化が同調する(Brulfertら, 1982b)。

一方、固定的CAMにおいては日長条件はCO₂固定量を増減させる要因であり、短日条件下でCO₂吸収量が増加するもの(Brulfertら, 1982a; Noseら, 1986; 野瀬, 1992; Sipes & Ting, 1985)、長日条件下で増加するもの(Guralnickら, 1984; Nobel, 1989; 須藤, 1993)と、種によって異なった反応が報告されている。

Noseら(1986)は、日長時間を光強度とともに葉面が受ける明期の光合成有効放射量(PAR)を決定する因子として位置づけ、パインアップルを用いて明期の光強度を違えることにより日長処理間で1日のPARを等しくした条件下でCO₂交換特性を調査した。その結果、処理区間で1日のPARを等しくした場合でも、長日条件に比較して短日条

件においてCAM性が増加した。この結果から、固定的CAMにおいても短日条件は、CAM型光合成の発現を促進すると結論づけている。他方、Nobel(1989)は、Noseらと同様な設定で、*O. ficus-indica*における日長の影響を検討したところ、長日条件下でPhase 1のCO₂吸収速度が増加する結果を得ている。そして、日長は1日に葉面が受ける光エネルギー量を決めるだけの因子であると結論づけている(Nobel & Hartsock, 1983; Nobel, 1989)。

デンファレは、日長条件が異なっても固定的なCAMを示すものと予想されるが、CO₂吸収量やCAM性が日長によりどのように影響されるか不明である。本章では、Noseら(1986)及びNobel(1989)の方法に従って光条件の設定を行い、デンファレにおける日長とCAMの関係を検討した。

第2節 材料及び方法

供試材料のデンファレを1992年3月に水ゴケを培地として素焼鉢(直径10.5cm, 深さ9cm)に植え付け、日長処理開始までは約60%に遮光したガラス室内で栽培した。施肥は週に1回の頻度で2000倍希釈の液肥(住友2号, N:P₂O₅:K₂O=10:5:8%)100mlを与えた。

日長処理として、長日、短日及び自然日長の3区を設定した。長・短日処理はグロースキャビネット(日本医科機械, HTP-1000)内で行い、長日区の明期は人工光により6時から22時までの16時間、暗期は8時間に設定した。短日区は明期を7時から17時までの10時間、暗期を14時間とした。光源は陽光ランプ(東芝, D400-C)を用い、植物体頂部で約325 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度となるよう調節した。温度条件は明期を30℃, 暗期を25℃に設定した。自然日長区はガラス室内の2mmメッシュのダイオネット遮光下(平均気温26~28℃)で育成した材料を用いた。長日区は1992年7月に、短日区は8月に処理を開始した。

ガス交換の測定は、長日区(LD)は処理後57日目に、短日区(SD)は処理後60日目に、自然日長区は9月に行った。なお、自然日長区の測定期間中の日長はほぼ12時間であったことから、この区を中日区(ND)とした。測定期間中の長・短日区の日長条件は処理期間と同様に設定し、中日区は明期を6時30分から18時30分の12時間とした。

CO₂交換及び蒸散の測定は、リードバルブの最上位完全展開葉あるいはその1葉位下の葉を用い、第1章で示した方法に従って行った。葉の拡散伝導度は、葉温と気温及び蒸散速度から算出した。葉温は被測定葉の裏側に直径0.1mmの銅・コンスタント熱電対を密着して測定した。同化箱内の温度は明期29.8±0.7℃、暗期24.5±0.5℃に維持した。光源は陽光ランプを用い、測定葉の実際の1日の光合成有効放射量については第3-1表に示したとおりである。各光条件下で3日間連続測定し、最終日のデータを結果として採用した。なお、1処理区3反復とした。

ガス交換の測定終了後、PEPCaseの活性とリンゴ酸含量、クロロフィル含量を測定した。サンプルの採取時刻は第3-2表に示したとおりである。試料は精秤後速やかに液体窒素中で固定し、その後-45℃で保存した。抽出液の作成方法及びリンゴ酸含量、クロロフィル含量の測定方法は第1章、PEPCase活性の測定方法は第2章で示した方法で行った。なお、リンゴ酸によるPEPCase活性阻害の程度を見るために、PEPCase活性測定用の反応液にリンゴ酸を2mM添加した区と無添加の区を設けてPEPCaseの活性を測定し、両区の活性値を比較した。

第3節 結 果

日長がガス交換の日変化パターンに及ぼす影響

いずれの日長条件下においてもデンファレのCO₂交換は、暗期と明期の始め、明期の後半に吸収が見られるCAM型光合成特有のものであり、そのCO₂交換の日変化は4つのPhaseに分けることができた。第3-1図は3種類の日長条件下で明期の平均光強度を

Table 3-1. Total daily photosynthetic active radiation (PAR, mol·m⁻²·day⁻¹) in gas exchange experiments.

Exp. block	Mean light intensity (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)					
	700	585	440	357	270	112
LD	40.5	33.7	25.3	20.6	15.6	6.5
ND	30.2	26.1	20.0	15.8	11.9	5.0
SD	25.2	19.4	15.5	13.2	9.7	4.4

LD, long day length(16h) ; ND, neutral day length(12h)
SD, short day length(10h).

Table 3-2. Sampling time for analyzing PEP carboxylase and malate content.

Exp. block	Sampling time				
	LS	P-3	P-4	DS	P-1
LD	7:00	12:00	21:00	23:00	2:00
ND	7:30	12:00	17:30	19:30	2:00
SD	8:00	12:00	17:00	18:00	2:00

LS, 1 hr later light on in phase 2 ; P-3, Phase 3
P-4, at peak of CO₂ influx rate in Phase 4 ; DS, 1 hr later light off
P-1, at peak of CO₂ influx rate in Phase 1

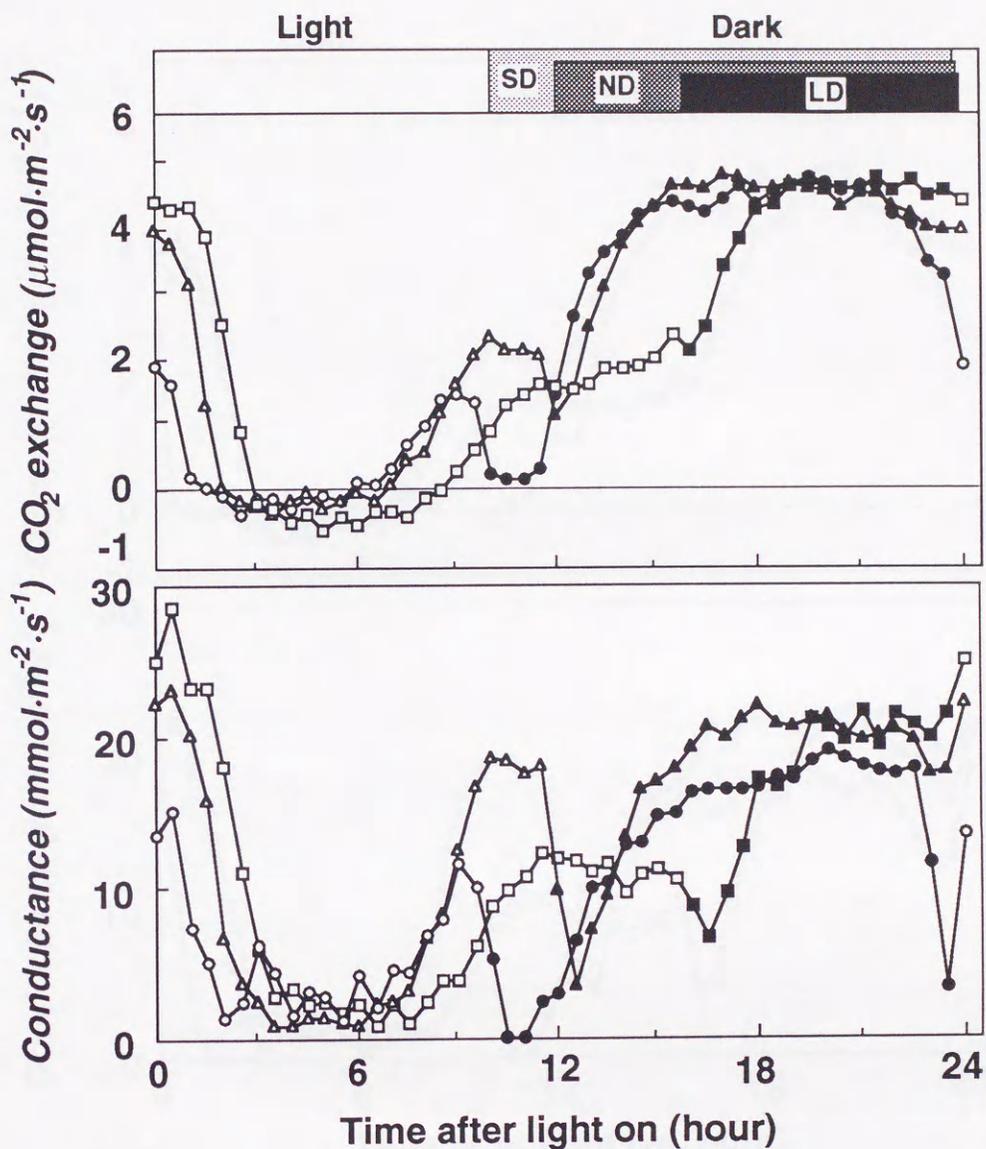


Fig. 3-1. Effects of day length on diurnal CO_2 exchange rate and leaf conductance at $357 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ of photosynthetic active radiation (PAR). LD, long day length (\square); ND, neutral day length (Δ); SD, short day length (\circ). Open and closed symbols indicate under light and dark conditions, respectively.

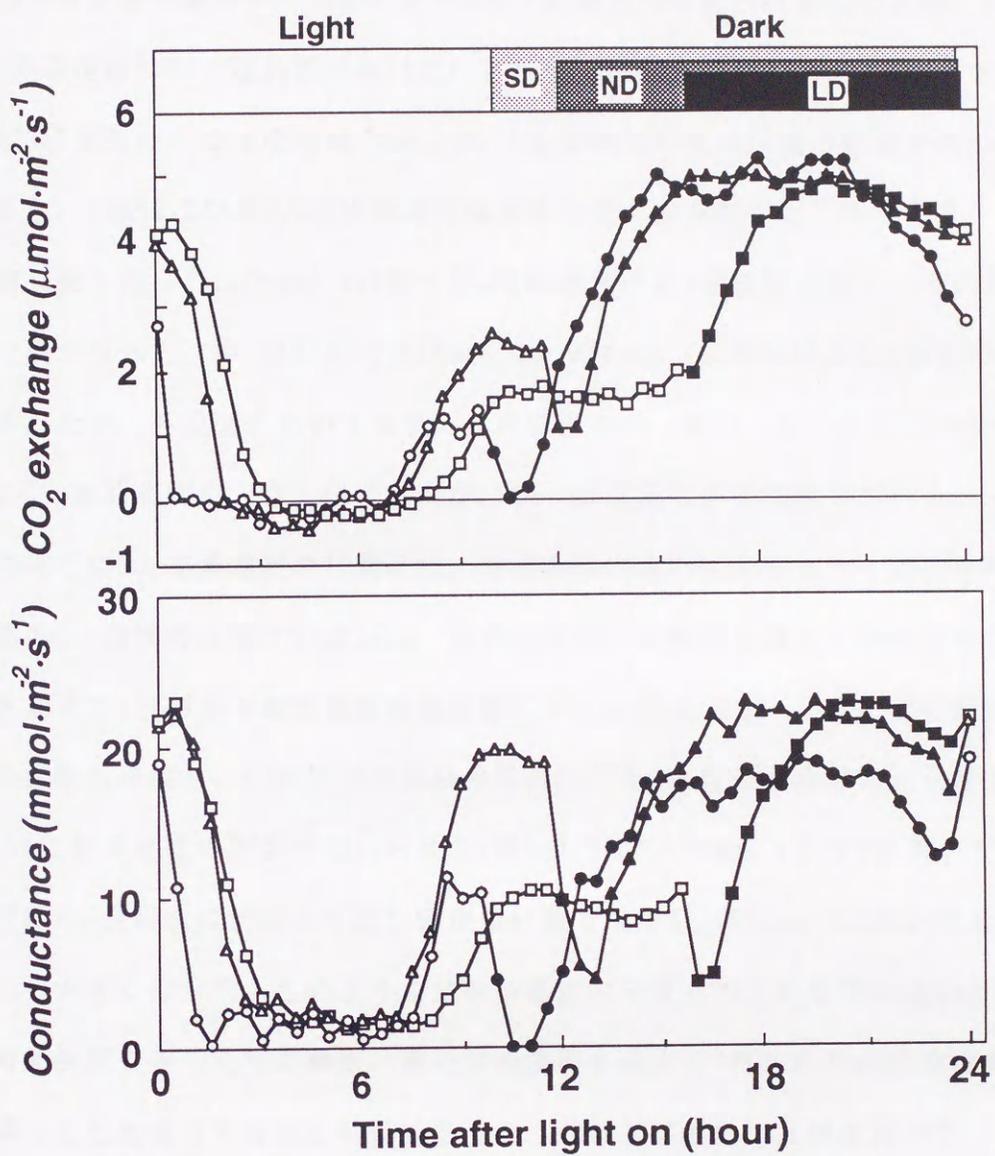


Fig. 3-2. Effects of day length on diurnal CO₂ exchange rate and leaf conductance at 25-26 mol·m⁻²·day⁻¹ of PAR. See Fig. 3-1 for the symbols.

357 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に揃えた時の CO_2 交換の日変化を、第3-2図は平均光強度を変え1日の光合成有効放射量を25~26 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ に揃えた場合の日変化である。1日の最大 CO_2 吸収速度は中・短日区ではPhase 1で、長日区ではPhase 1と2で観察され、その値は3日長条件下ではほぼ同様であった。 CO_2 交換に対する日長の影響を各Phaseごとに見ると、Phase 2の最大 CO_2 吸収速度は日長が長くなるにつれて高くなり、その継続時間も長くなった。Phase 4の最大 CO_2 吸収速度は長・中日区で高く、その期間は長日区で長くなった。中・短日区ではPhase 4からPhase 1に移る時に CO_2 吸収の抑制が観察されたが、長日区においては認められなかった。また、短日区ではPhase 1の終わりに CO_2 吸収速度が大きく低下したが、中・長日区ではその低下が小さかった。

このように CO_2 交換速度の日変化は、日長条件の違いにより大きく変化した。日長処理間の CO_2 交換の日変化の違いは、日長処理間の光強度を揃えた場合でも、また光強度を変えて1日の光合成有効放射量を等しくした場合でも、ほぼ同様に認められた。

葉の拡散伝導度も、いずれの日長条件においてもCAM型光合成特有の日変化を示し、各Phaseに日長処理の影響が認められた(第3-1, 2図)。Phase 1及び2において、拡散伝導度は中・長日区に比較して短日区が低い値で推移し、Phase 4においては中日区で著しく大きくなった。このような拡散伝導度の日変化での処理間の違いは、明期の平均光強度を等しくした場合、または光強度を違えて1日当たりの光合成有効放射量を等しくした場合でも同じ結果であった。拡散伝導度は気孔開度のパラメーターとなることから、気孔開度の1日の推移は日長条件により異なるものと考えられる。

第3-3図は明期の平均光強度を357 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に設定した時の拡散伝導度と CO_2 吸収速度の関係をPhaseごとに見たものである。いずれのPhaseにおいても拡散伝導度が大きくなるにつれて CO_2 吸収速度が増加し、両者の関係に日長条件による違いは認められなかった。Phaseごとに検討すると、Phase 1の CO_2 吸収速度は拡散伝導度が17~20 $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ で定常値になる飽和型曲線となったが、Phase 2と4では直線的に増加した。Phase 1の初期勾配はPhase 2と4に比較して大きかったが、これは、各々のPhaseで優先的に働いている CO_2 固定酵素の CO_2 に対する親和性の違いによって生

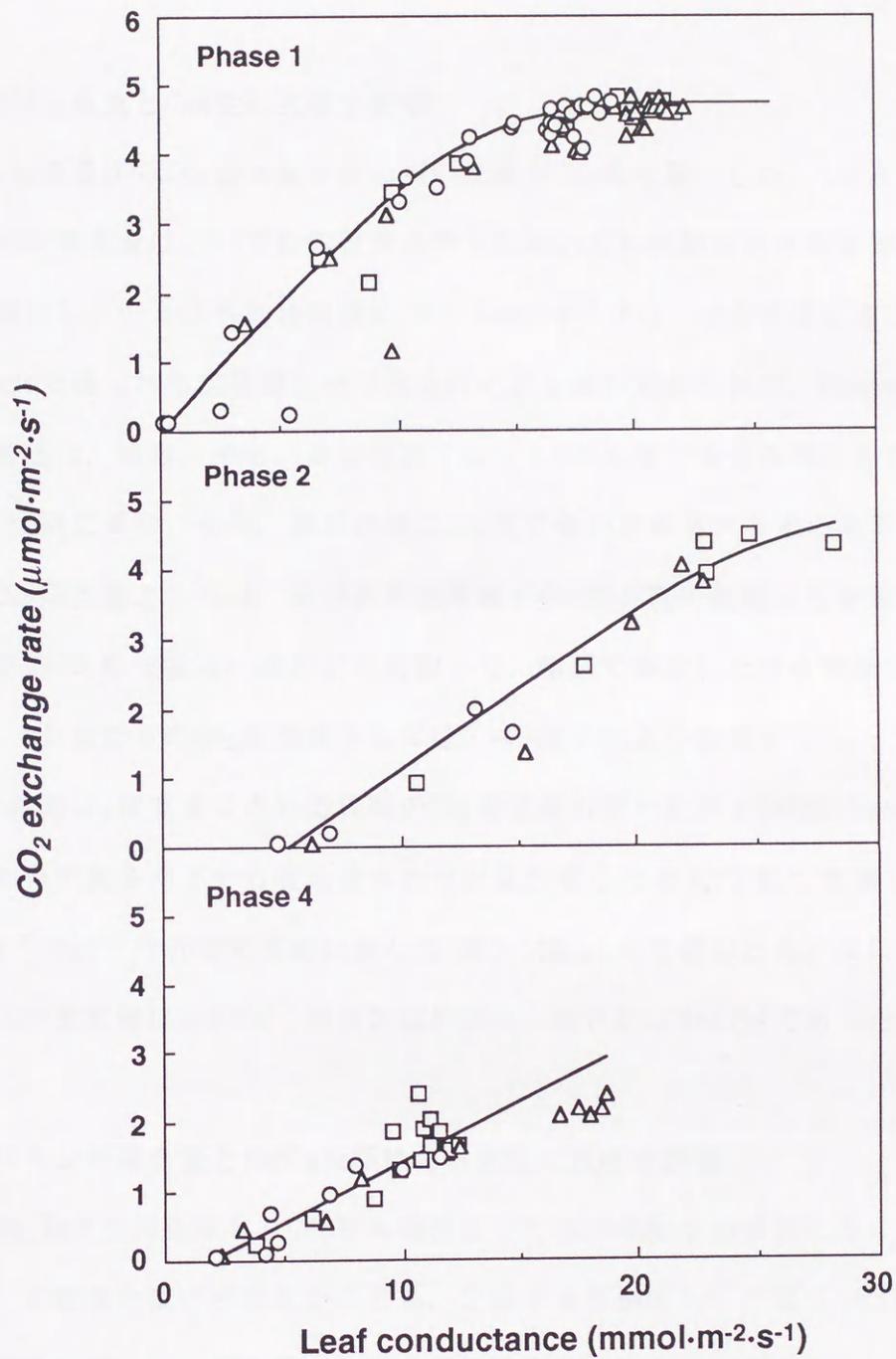


Fig. 3-3. Effects of day length on the relationship between CO₂ exchange rate and leaf conductance in phase 1, 2 and 4, respectively. LD, long day length (□) ; ND, neutral day length (Δ); SD, short day length (○).

じているものと考えられる。

日長がCO₂収支とCAM性に及ぼす影響

CO₂吸収量からCO₂放出量を差し引いた値をCO₂収支量とした。1日及びPhase 1, 2, 4でのCO₂収支量は、いずれの日長条件下においても明期の光合成有効放射量が増えると増加し、光合成有効放射量が10~15mol・m⁻²・day⁻¹で定常値に達した(第3-4図)。各Phaseで得られた定常値には日長条件による差が認められた。Phase 1のCO₂収支量の定常値は、短日、中日、長日の順で低下し5%水準で有意な差が生じた。Phase 2と4では逆に長日、中日、短日の順にCO₂収支量の定常値が有意に低下した。1日当たりのCO₂収支量としては、長日区の定常値が中・短日区に比較して有意に少なかった。長日区のCO₂収支量は、短日区に比較して、暗期で減少した分を明期で補う形になったが、1日当たりのCO₂収支量としては、中・短日区よりも減少した。

1日の総CO₂収支量に占める夜間のCO₂収支量の割合を示すCAM性(Noseら, 1986)は、いずれの日長条件下でも光合成有効放射量が高くなるにつれて急激に低下し、10mol・m⁻²・day⁻¹付近で定常値に達した(第3-5図)。定常値は日長が長い程低くなり、短日区の定常値は約90%、中日区は約80%、長日区は約60%であった。

日長がリンゴ酸含量とPEPCase活性の日変化に及ぼす影響

CAM植物は夜間吸収したCO₂を有機酸として葉肉細胞中の液胞に蓄え昼間消費するため、有機酸含量の日変化が生じる。変動する有機酸としてはリンゴ酸やクエン酸等が知られている。デンファレでも有機酸含量の日変化が認められ、変化する有機酸はリンゴ酸であった(第3-6図A)。単位クロロフィル当りのリンゴ酸含量はいずれの日長条件下においてもPhase 1後半とPhase 2で高く、Phase 4とPhase 1の始めに低くなるというCAM型特有の日変化を示した。リンゴ酸含量の最大値はいずれの日長下でもPhase 2で得られ、最小値は中・長日区はPhase 4で、短日区はPhase 1の始めに認められた。最小値は日長条件による差が小さかったが、最大値は長日区が中・短日

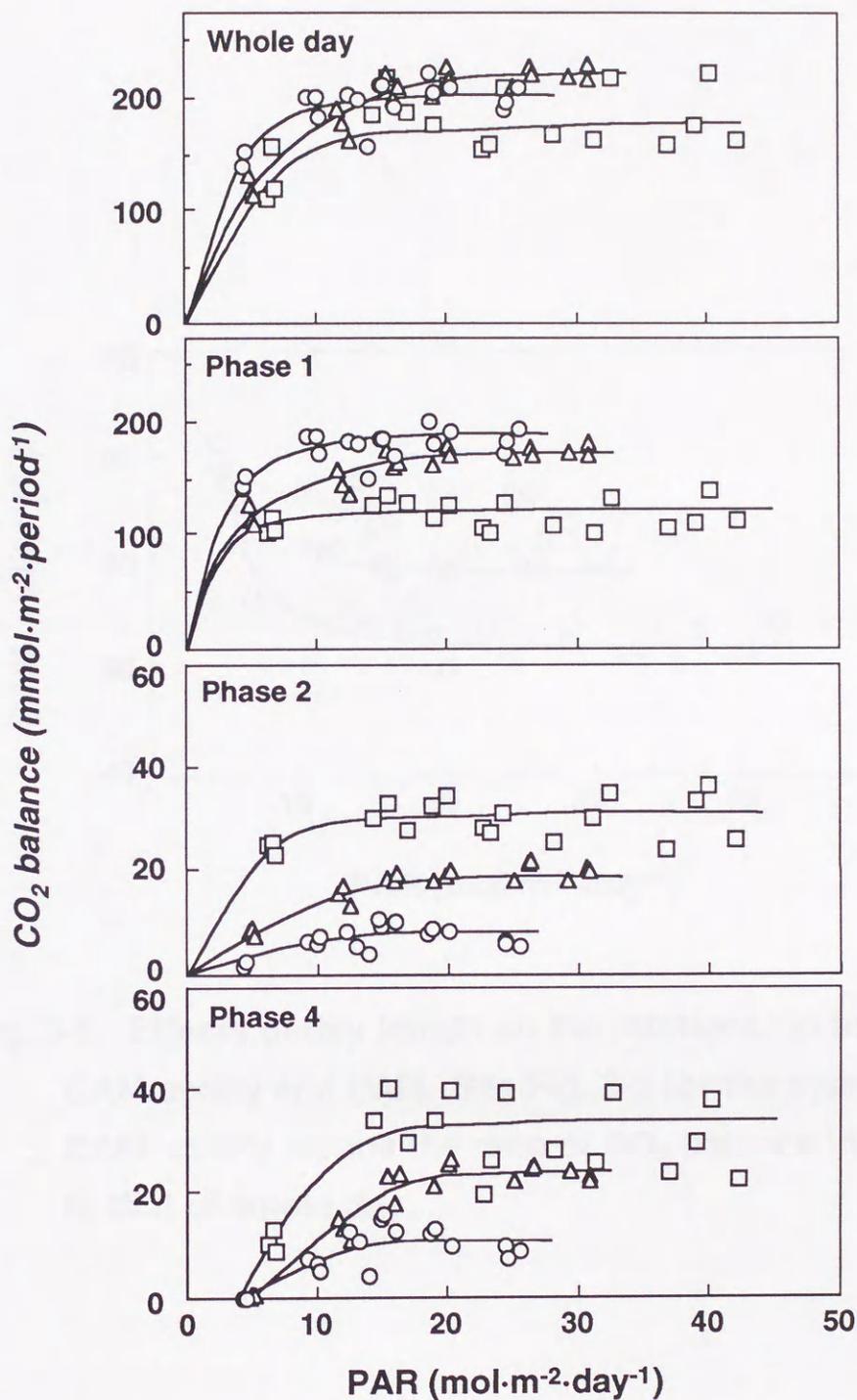


Fig. 3-4. Effects of day length on the relationship between CO₂ balance and PAR at different phases. See Fig. 3-3 for the symbols. F-test indicated significant differences at 5% level in the saturation value of CO₂ balance among the day length treatments in each phase.

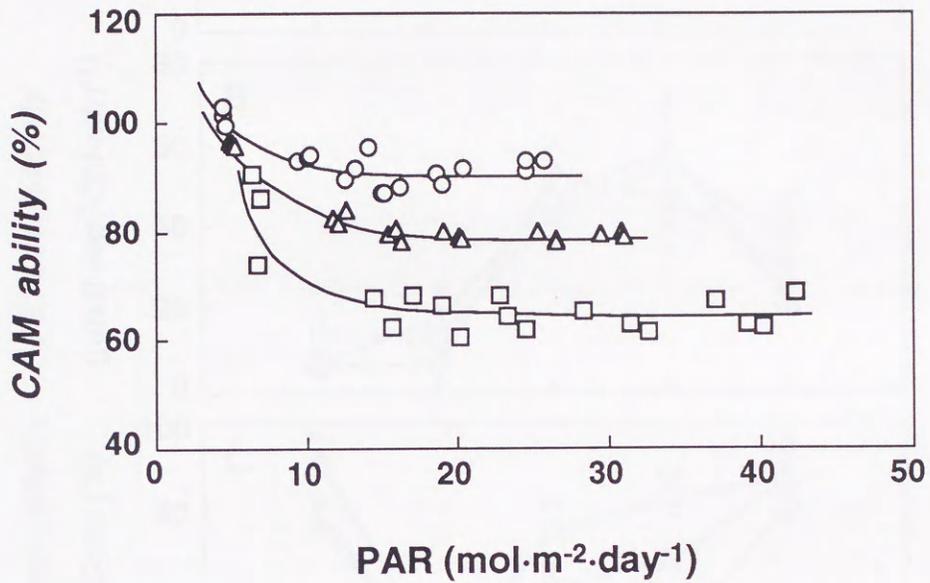


Fig. 3-5. Effects of day length on the relationship between CAM ability and PAR. See Fig. 3-3 for the symbols. CAM ability means the ratio of CO₂ balance in phase 1 to that of whole day.

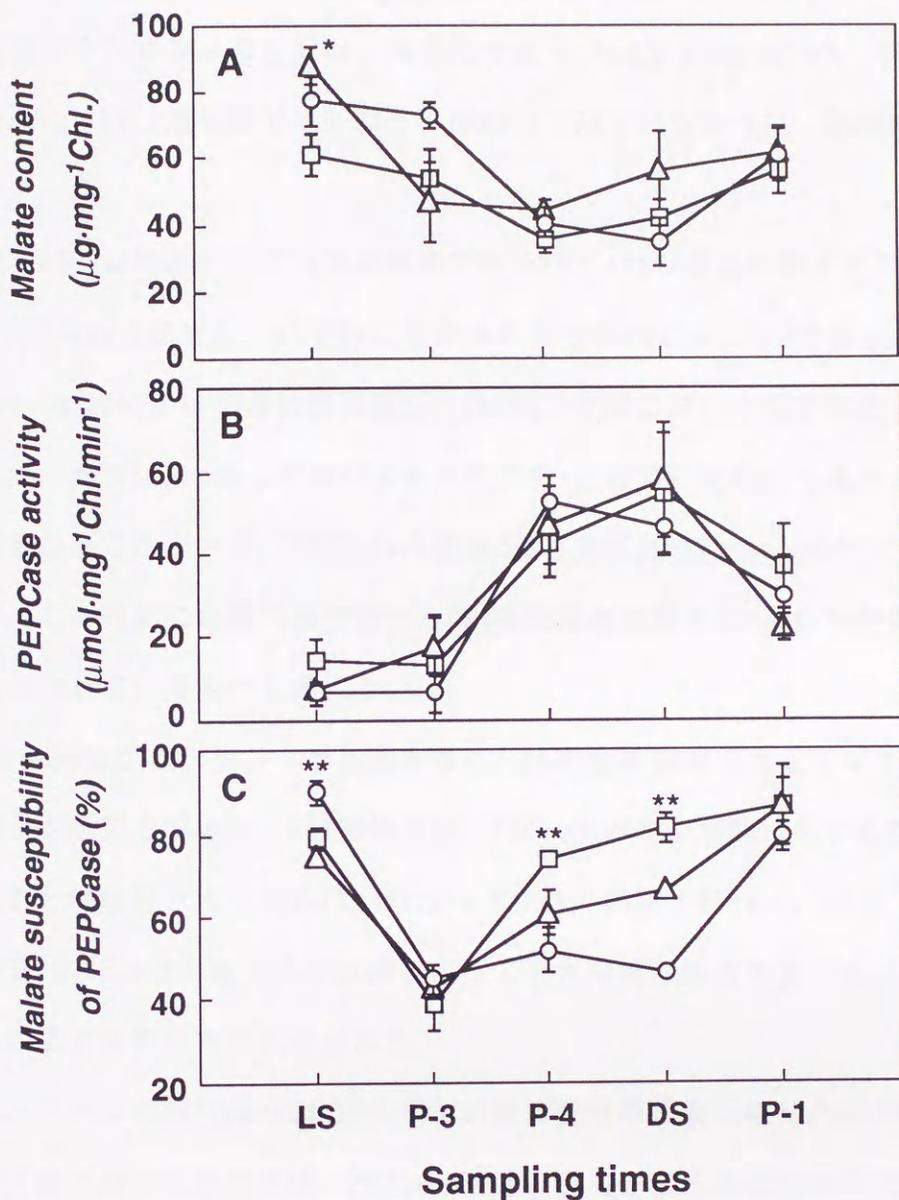


Fig. 3-6. Effects of day length on malate content (A), phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCase) activity (B) and malate susceptibility of PEPCase (C). See Table 3-2 for the sampling time. ** and * indicate significant differences at 1% and 5% levels, respectively. See Fig. 3-3 for the symbols. Malate susceptibility of PEPCase means the ratio of the activities with 2mM malate to those without malate.

区に対して有意に小さく、長日区ではリンゴ酸含量の日変動幅が小さかった。なお、各日長のクロロフィル含量は、長日区では $0.31 \pm 0.04 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 、中日区では $0.31 \pm 0.07 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 、短日区では $0.33 \pm 0.06 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ というように、処理間に差は認められなかった。

第3-6図BはPhase 1のCO₂固定酵素であるPEPCaseの活性に対する日長の影響を示した。PEPCaseの活性は、いずれの日長条件下でもPhase 2と3で低く、Phase 4からPhase 1始めにかけて最大値に達し、Phase 1半ばにおいて低下するという日変化を示した。活性はPhase 2において長日区が中・短日区に比較して高かったが、統計的に有意な差はなかった。PEPCaseの活性が3日長区ともPhase 1半ばで低下している現象は、この時期に日最大値に達するCO₂吸収速度の制御にPEPCaseが関係していないことを示しているものと考えられる。

PEPCaseはアロステリック特性を有し、反応生成物質であるリンゴ酸によるフィードバック阻害を受ける。CAM植物では、PEPCaseのリンゴ酸に対する感受性が日変化することが報告されている(Wedding & Black, 1986; Winter, 1980, 1981)。つまり、明期でPEPCaseは少量のリンゴ酸によって大きな活性阻害を受けるが、暗期ではリンゴ酸による活性阻害が小さくなる。

デンファレのPEPCaseにおけるリンゴ酸感受性の日変化を見たのが第3-6図Cである。リンゴ酸に対する感受性は、PEPCase活性測定用の反応液に2mMリンゴ酸を共存させた場合とさせない場合のPEPCaseの活性値の比率で表した。つまり、値が大きいとPEPCaseのリンゴ酸によるフィードバック阻害が小さいことを示している。デンファレにおけるリンゴ酸によるPEPCase活性阻害の程度は、Phase 3で強くPhase 1から2にかけて弱いという変化、言い替えれば、Phase 3で感受性が高くPhase 1から2にかけて低いという日変化が認められた。特に日長条件による感受性の有意な違いがPhase 2と4及びPhase 1始めにかけて認められた。Phase 2では短日区が他の日長条件に比べ感受性が低かった。Phase 4からPhase 1始めにかけては、長日区がPhase 4の時点でPhase 1と同程度の感受性であったのに対し、短日区はPhase 1始め

までPhase 3と同程度の感受性が維持された。中日区は短日と長日区の間の中間の値で推移し、日長条件による違いが顕著に認められた。

第4節 考 察

日長はデンファレのCAM型光合成に影響を及ぼし(第3-1, 2図), 1日当りのCO₂固定量は, 中・短日条件で増加することが明らかとなった(第3-4図)。各日長条件下での特徴として, 短日条件ではPhase 1のCO₂吸収量が増加し, 長日条件ではPhase 2と4のCO₂吸収が活発になることが明らかになった。従ってCAM性においては日長処理間差が顕著に現れ, 日長が長くなる程CAM性は低下し(第3-5図), 短日条件下でCAM性が促進されることが明らかとなった。リンゴ酸含量の日変動幅においても処理間差が認められ, 長日と比較して中・短日で大きくなった(第3-6図A)。これは, Phase 1のCO₂収支量の日長処理間差と一致した。しかし, CO₂固定酵素であるPEPCaseの活性には日長の影響が認められなかった(第3-6図B)。

Noseら(1986)は, 日長は固定的CAMにおいてもCAM型代謝を制御する因子として位置づけ, Nobel & Hartsock(1983)及びNobel(1989)は, Phase 1のCO₂吸収量と1日の光合成有効放射量との関係から日長とCAMとの関係はエネルギー論的に整理できるものであると考えている。本報でもこの点について考察してみたい。デンファレの場合, 日長処理間の1日当たりの光合成有効放射量を等しくした時でも, Phase 1のCO₂収支量は短日条件下で増加し, 短日区のCO₂収支量の定常値は長日区の1.5倍以上になった。これは, 日長が長くなることによる光合成有効放射量の増加が, Phase 1のCO₂収支量の増加には結びつかないことを示している。つまり, この結果は, デンファレでは日長とCAMとの関係が単純なエネルギー論で整理し得ない面を持つことを示している。デンファレにおいて日長は, パインアップルと同様に本質的にCAMの制御に関与している因子であると考えられる。しかし, 日長処理を60日間前

後行っても、可塑的CAM植物で報告されているようなPEPCase活性の増加は認められなかった。

また、パインアップルの結果(Noseら, 1986)と異なる点もいくつか観察された。一つは、Phase 1の最大CO₂交換速度がパインアップルでは短日条件で増加したのに対し、デンファレでは処理間で差が認められなかったことである。これは、パインアップルのPhase 1における気孔開度とCO₂交換速度との関係と、PEPCaseの活性が日長処理間で異なったが、デンファレでは同じであったことに関係しているものと考えられる。二つめは、Phase 1のリンゴ酸蓄積量においてパインアップルでは日長処理間差が認められなかったが、デンファレでは短日条件で多くなったことである。Peperomia camptotrichaでは、生育中の日長条件の違いは葉の断面形態に違いをもたらし、短日では葉肉細胞の容量が大きくなることが報告されている(Sipes & Ting, 1985)。デンファレでのリンゴ酸蓄積量が日長処理間で異なることも、貯蔵容量が変化することによるかも知れない。このように、同じ短日条件下でCAM性が高くなる植物にも、その反応の様式には違いがあるものと考えられる。

本報ではリンゴ酸に対するPEPCaseの感受性に日変化があることが認められた(第3-6図C)。Winter(1980, 1981)はMesembryanthemum crystallinum(アイズプラント)において、リンゴ酸に対するPEPCaseの感受性には昼型と夜型があることを報告している。この感受性の日変化は、CAM型光合成の機作において中心的役割を果たしていると言われている(野瀬, 1992)。すなわち、夜間はPEPCaseが生成物質のリンゴ酸により阻害を受けない感受性の低い状態にあることで大量のリンゴ酸を生成でき、昼間は感受性が高い状態にあることにより脱カルボキシル化により葉内で放出されたCO₂を再固定しないようになっているというものである。デンファレでもPEPCaseのリンゴ酸感受性の変化が、1日のCO₂交換の変化を制御していることが示唆された。

さらに、PEPCaseのリンゴ酸感受性に日長の影響が認められた。すなわち、長日条件のPEPCaseはPhase 4で既に夜型に近い感受性を有していたが、逆に短日条件ではPhase 1初期においても昼型に近い状態にあったことである。Winter(1980)はアイズ

プラントにおいて、Wedding & Black(1986)はCrassula argentiaにおいて、抽出したPEPCaseの昼型の維持にはリンゴ酸の共存が必要であると報告している。本研究では、リンゴ酸含量の日最低値は日長処理間で違いは確認できなかったが、長日条件は短日条件に比較して、夜間に蓄積されるリンゴ酸含量が少ないことから、脱カルボキシル化により低レベルのリンゴ酸含量に早く到達するものと考えられる。また、脱カルボキシル化後の明期の長さも長く、そのためにPEPCaseはより長い期間低いリンゴ酸濃度条件下に保たれているものと予想される。つまり、長日区のPhase 4で観察されたPEPCaseのリンゴ酸感受性の変化は、in vivoにおいて低いリンゴ酸含量が長い時間にわたって続いたために生じたのかも知れない。逆に短日区では、細胞質内の低いリンゴ酸含量の時間帯が短かったために、Phase 1始めまで昼型の感受性が維持されたのかも知れない。

以上のようなPhase 1初期のリンゴ酸に対するPEPCaseの感受性の日長処理間差は、同時期のCO₂吸収速度の推移においても見られる。一般にPhase 1始めのCO₂吸収速度低下は、光呼吸由来のCO₂放出が関与しているものと考えられるが、この現象は日長条件に関係なく現れるはずである。しかし、長日条件ではCO₂吸収速度の低下の仕方がわずかであった(第3-1, 2図)。これは、長日条件下ではPEPCaseの夜型への転換がPhase 4で行われていたことから、PEPCaseは自ら生成するリンゴ酸による活性阻害を受けず、消灯後直ちに活性な状態でCO₂を吸収できたことに依るものと予想される。

ところで、PEPCaseの活性が日長条件に関係なく、CO₂吸収速度が日最大値に達するPhase 1半ばに低下することが観察された(第3-6図B)。この現象は、PEPCaseが自ら生成したリンゴ酸によりフィードバック制御されたこととも考えられるが、この時期のPEPCaseのリンゴ酸感受性は低い(第3-6図C)。従って、この現象の原因は、本研究の結果からだけでは説明できず、今後の検討が必要である。

最後に、デンファレのCAM型光合成に対する日長の影響を実際の栽培面から整理してみたい。デンファレの1日のCO₂固定量は、日長が10~12時間の時に増加した。従って、物質生産的に見ると中・短日条件が適していると言える。逆に長日条件では

物質生産が抑制されることが明らかとなり、沖縄における夏期のデンファレの生長抑制は(関塚ら, 1992, 1995), この時期の日長条件が関与しているものとも考えられる。従って, 好適な日長条件下で栽培することにより, 成株の生長速度を最大限に引き出すことが可能になると推察される。さらにデンファレでは, 培養フラスコから順化して営利用切り花が収穫できるまで約4年間を要する。このように長い育成期間をいかに短縮するかは, 農家の経営にとって重要な課題である。幼株の日長に対するCO₂ガス交換特性が, 本研究の成株と同様であるか否かは今後検討しなければならないが, もし同様であるならば, 短日処理により株育成期間の短縮が図られるものと期待される。

第5節 要約

デンファレのCAM型ガス交換に及ぼす日長の影響を調べた。日長処理として長日, 短日及び中日の3区を設定し, 長, 短日区は, 各々16及び10時間日長のグロースキャビネット内で57~60日間生育させた後, 個葉のガス交換を調査した。中日区は自然日長下で生育させ, 日長が12時間に達した時に調査を開始した。その結果は次のとおりである。

1) デンファレは, いずれの日長条件下でもCAM型CO₂交換を示す固定的なCAM植物であった。また, Phase 1の最大CO₂吸収速度は日長間でほぼ同じであった(第3-1, 2図)。

2) デンファレのCAM型CO₂交換の日変化パターンは, 日長条件により変化した。これは, 3種類の日長下で平均光強度を揃えた場合, または各日長の平均光強度を変え明期の光合成有効放射量を固定した場合でも, 共通したものであった(第3-1, 2図)。

3) 各PhaseのCO₂収支量も日長条件により変化した。短日条件ではPhase 1が, 長

日条件ではPhase 2と4のCO₂収支量が増加した。1日当たりのCO₂収支量は、いずれの日長条件下でも光合成有効放射量の増加に対して10~15mol・m⁻²・day⁻¹で定常値に達するような飽和型変化を示したが、定常値は中日または短日条件下で増加した(第3-4図)。

4) デンファレでは、日長を長くすることによる明期の光合成有効放射量の増加は、Phase 1のCO₂収支量の増加に結びつかず、日長とCAM関係をエネルギー論的に整理することはできなかった。

5) CAM性は、光合成有効放射量の増加に対していずれの日長条件下でも減少したが、10mol・m⁻²・day⁻¹付近で定常値に達した。定常値は、日長が長くなるにつれて低下した(第3-5図)。

6) 各PhaseのCO₂吸収速度と葉の拡散伝導度の関係は、日長条件に関わりなく、ひとつの直線または曲線に回帰され、CO₂吸収速度は気孔開度と密接な関係があることが明らかとなった(第3-3図)。

7) CO₂交換測定葉のリンゴ酸含量の日変動幅も日長条件で異なり、中・短日条件で大きくなった(第3-6図A)。

8) PEPCaseの活性は、顕著な日長処理の影響が認められなかったが(第3-6図B)、リンゴ酸に対するPEPCaseの感受性は、Phase 4からPhase 1初めにかけて処理間差が認められた(第3-6図C)。これは、この時期に得られたCO₂交換速度の違いと密接に関連するものと推察された。

9) デンファレCO₂交換の日長に対する反応特性を実際の栽培で利用することにより、成株での生長促進あるいは幼株からの育成期間の短縮が図られるものと期待される。

第4章 水ストレスがデンファレの CAM型光合成に及ぼす影響

第1節 緒言

CAM植物のCO₂吸収が蒸散の少ない夜間に行われ、その大多数の生息地が水分供給に制限がある地域であることから、CAM型光合成は一般に乾燥に対する植物の適応型であると考えられている(野瀬, 1979, 1992)。従って、水ストレスに対するCAM植物のガス交換の特異的な反応については多くの報告がある。

アイズプラント等の可塑的なCAM植物では、水が十分ある条件ではC₃型のCO₂交換を行うが、水ストレスを与えると、CAM型のCO₂交換に変化する(Winterら, 1978; Guralnick & Ting, 1987; Huerta & Ting, 1988; Ting & Hanscom, 1977; Luttge & Ball, 1977; Schafer & Luttge, 1987)。一方、水が十分ある場合でもCAMを遂行する固定的なCAM植物では、厳しい水ストレス条件下では昼夜を通じて気孔を閉鎖し、外部からのCO₂吸収を抑制したCAM-idling状態になり、再び水分が供給されると短時間に気孔を開き通常のCAM型ガス交換を開始することが知られている(Martin & Schmitt, 1989; Osmondら, 1979; Rayder & Ting, 1983a; Szarekら, 1973; Szarek & Ting, 1974)。

CAM植物では、このような水ストレス条件下での特徴的なガス交換の他に、茎葉が多肉質であることも耐乾性を強くしているものと考えられる。デンファレも多肉質の葉を有し、同時にラン科植物特有の糖・水分を貯蔵するバルブと称する偽球茎を有している。これらの特徴は、デンファレが乾燥に強いことを予想させる。

デンファレの栽培は、通常植え込み培地に通気性が良いものを使用している。通気性が良好な培地の中には、保水性に優れる水ゴケやヤシガラのような繊維質の培地と、軽石や木炭のように保水性が乏しい固形質培地の2種類がある。これらの培地

にデンファレを定植して茎葉の生長量を比較したところ、固形質培地の灌水量を約2倍にしても、繊維質の生長の方が優っていた(沖縄県農林水産技術会議, 1990)。このような植え込み培地の違いによる生長量の差は、培地自体の保水性に起因した水ストレスの程度が培地間で異なったことにより生じたものと予想され、培地の水分状態はデンファレの速やかな生長をもたらす重要な要因の1つと考えられる。

本研究は、デンファレの水ストレスに対する生育反応特性を定量的に明らかにするために、保水力が異なる2種類の培地に定植した株への灌水停止後のCO₂交換速度の日変化、葉の拡散伝導度、葉の水ポテンシャル、相対含水量、リンゴ酸含量及びPEPCase活性の変化を調べた。

第2節 材料及び方法

デンファレの苗を1993年4月に水ゴケ並びに軽石を培地としてプラスチック製鉢(直径10.5cm, 深さ9cm)に植え付け、水ストレス処理開始まで約60%に遮光したガラス室内で栽培した。施肥は、水ゴケ培地の場合は週に1回、軽石培地の場合は週に3回の頻度で2000倍希釈の液肥(住友2号, N:P₂O₅:K₂O=10:5:8%)100mlを与えた。灌水は液肥を与えない日に、水ゴケ培地の場合は週に1回、軽石培地の場合は3回行った。

水ストレス処理は、開花が終了した株をグロースキャビネット(日本医科機械, HTP-1000)に移し、灌水と液肥を停止することにより行った。グロースキャビネット内の温度は昼温を30℃, 夜温を25℃, 相対湿度は80%に設定した。日長は7時から18時までの11時間とし、光源に陽光ランプ(東芝, D400-C)を用い、植物体上部の光強度が約400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ になるよう調節した。各培地2株供試し, 2反復とした。

CO₂交換の測定は、リードバルブの最上位完全展開葉を用い、水ストレス処理開始0, 3, 7, 14, 21日目に行った。測定方法は、赤外線CO₂分析計(島津製作所, URA-106, 107型)による通気式の同化箱法で行った。同化箱(アクリル製, 縦x横x高さ=35

x18x12cm)に葉を2枚セットし、測定葉以外の株及び同化箱は同化箱内温度と同様に温度制御したキャビネット内に設置した。同化箱内の温度と相対湿度はそれぞれ明期 $29.8 \pm 0.7^\circ\text{C}$ 、55~65%、暗期 $24.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、63~70%に維持した。光源には陽光ランプを用い、測定葉上の光強度が約 $360 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ になるように調節した。測定方法の詳細は第1章、第2節と同様である。

ガス交換を測定した日に、ガス交換測定葉から1葉位下の完全展開葉におけるリンゴ酸含量とPEPCaseの活性を測定した。リンゴ酸含量は、含量の最大値と最小値が得られる明期初め(7時30分)と暗期開始前(17時30分)にサンプリングした。PEPCase活性は、活性値が最大となる暗期開始前(17時30分)にサンプリングした。試料は秤量後速やかに液体窒素で固定し、測定まで -45°C で保存した。リンゴ酸含量の測定方法は第1章、第2節、PEPCase活性の測定方法は第2章、第2節と同様である。

葉の水ポテンシャルと相対含水量は、ガス交換を測定した日のリンゴ酸含量が最小となる明期終わり(17時)に測定した。葉の水ポテンシャルは、直径5mmの葉片を速やかにサイクロメータのサンプルチャンバー(Wesco社、C-52)に封じ込め、 25°C の恒温条件下で平衡後測定した。相対含水量は、葉片を採取後直ちに新鮮重を測った後、蒸留水を入れたシャーレの中に浮かべて 5°C の暗黒条件下で6時間十分に吸水させた生体重と、 90°C で乾燥させた乾物重から算出した。なお、サンプルを採取した時に生じた切り口は、乾燥防止のためラノリンで被覆した。

第3節 結 果

水ストレスが葉の水ポテンシャルと相対含水量に及ぼす影響

21日間灌水を停止することにより、水ゴケまたは軽石を植え込み培地としたデンファレの葉の水ポテンシャルは低下した(第4-1図A)。両培地とも処理開始時点では葉の水ポテンシャルは $-0.33 \sim -0.37\text{MPa}$ の範囲にあった。処理開始から7日目では両

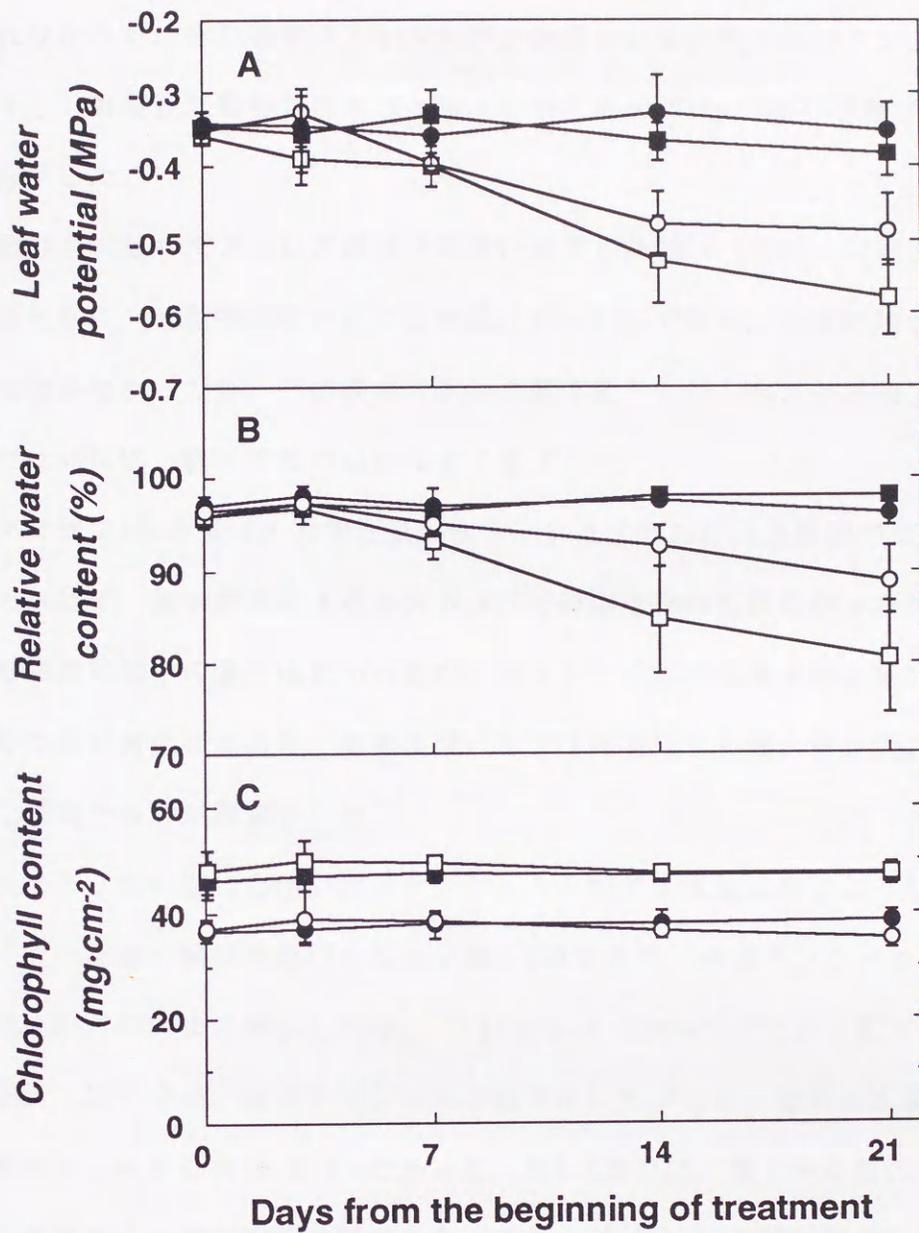


Fig. 4-1. Changes in leaf water potential (A), relative water content (B) and chlorophyll content (C), as water was withheld from the medium. Square and circle symbols indicate the plants cultured in pumice or sphagnum moss, respectively. Solid and open symbols indicate the control and dehydrated plants, respectively. Bars indicate standard deviations.

培地とも -0.40MPa まで低下するものの、灌水を十分に与えた対照区と顕著な差は見られなかった。その後水ストレス処理が継続されると葉の水ポテンシャルは大きく低下し、処理後21日目では水ゴケ培地の株は約 -0.5MPa 、軽石培地では約 -0.6MPa まで低下した。

相対含水量も水ストレスの進行に伴い低下した(第4-1図B)。対照区及び水ストレス区ともに、処理開始時の相対含水量は96~97%であり、処理開始から3日目までは変化は少なかったが、その後水ストレス区は低下した。水ゴケ培地では処理後21日目では89%に、軽石培地では80%まで低下した。

クロロフィル含量は、対照区及び水ストレス区ともに調査期間内では大きな変化は認められず、灌水停止による水ストレスの影響は認められなかった(第4-1図C)。葉色も測定期間中に変化はなかったが、水ストレス区では灌水停止後25日目頃から上位節の葉が黄化し始めた。葉身及びバルブは両培地とも灌水停止後10日目頃から徐々に萎凋するのが観察された。

水ストレスの進行に伴い水ポテンシャルと相対含水量は同じような低下を示したが、その両者の関係を検討したのが第4-2図である。水ポテンシャルは、相対含水量が98%から93%まで減少した時、 -0.35 から -0.42MPa へと大きく低下した。相対含水量が93%以下では、水ポテンシャルは緩やかに低下した。相対含水量が75%の時、水ポテンシャルは約 -0.60MPa であった。第4-1図では、灌水停止後の水ポテンシャルと相対含水量の推移は培地間で異なったが、両パラメータ間の関係では、培地の違いによる差は認められなかった。

水ストレスがガス交換に及ぼす影響

対照区及び灌水停止前の CO_2 交換速度の日変化は、Phase 1, 2及び4で増加し、Phase 3で低下する典型的なCAM型であった。各Phaseにおける CO_2 交換速度は、灌水停止後の時間の推移に伴って減少した(第4-3図A, C)。対照区の CO_2 交換速度の日変化は、21日間の処理期間中大きな変化はなかった。軽石培地の場合、水ストレス処

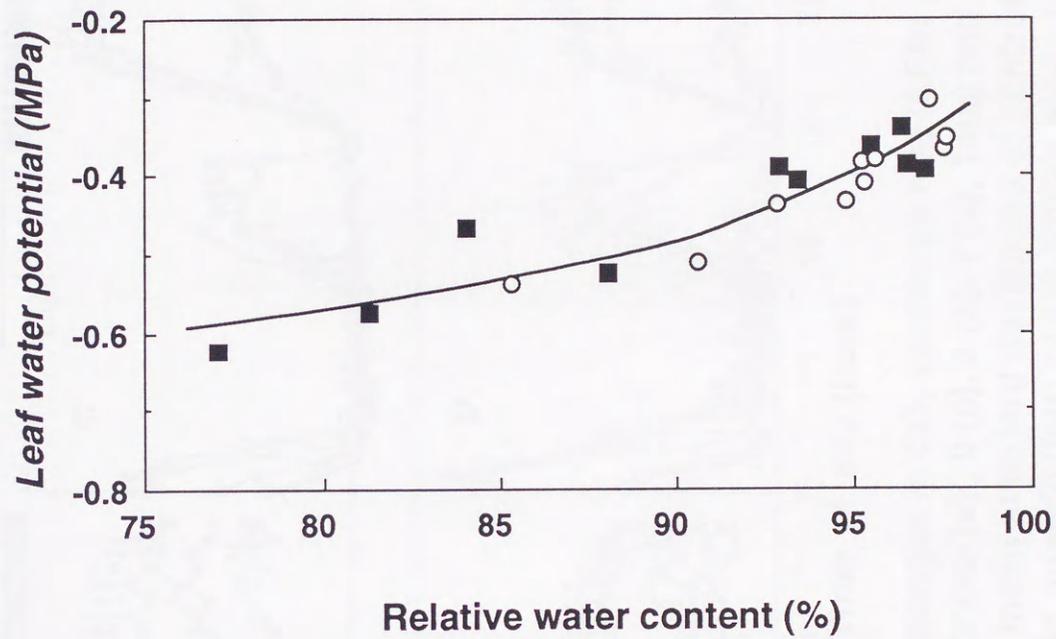


Fig. 4-2. Relationship between relative water content and leaf water potential as water was withheld from the medium. Plants were cultured in pumice (■) or sphagnum moss (○).

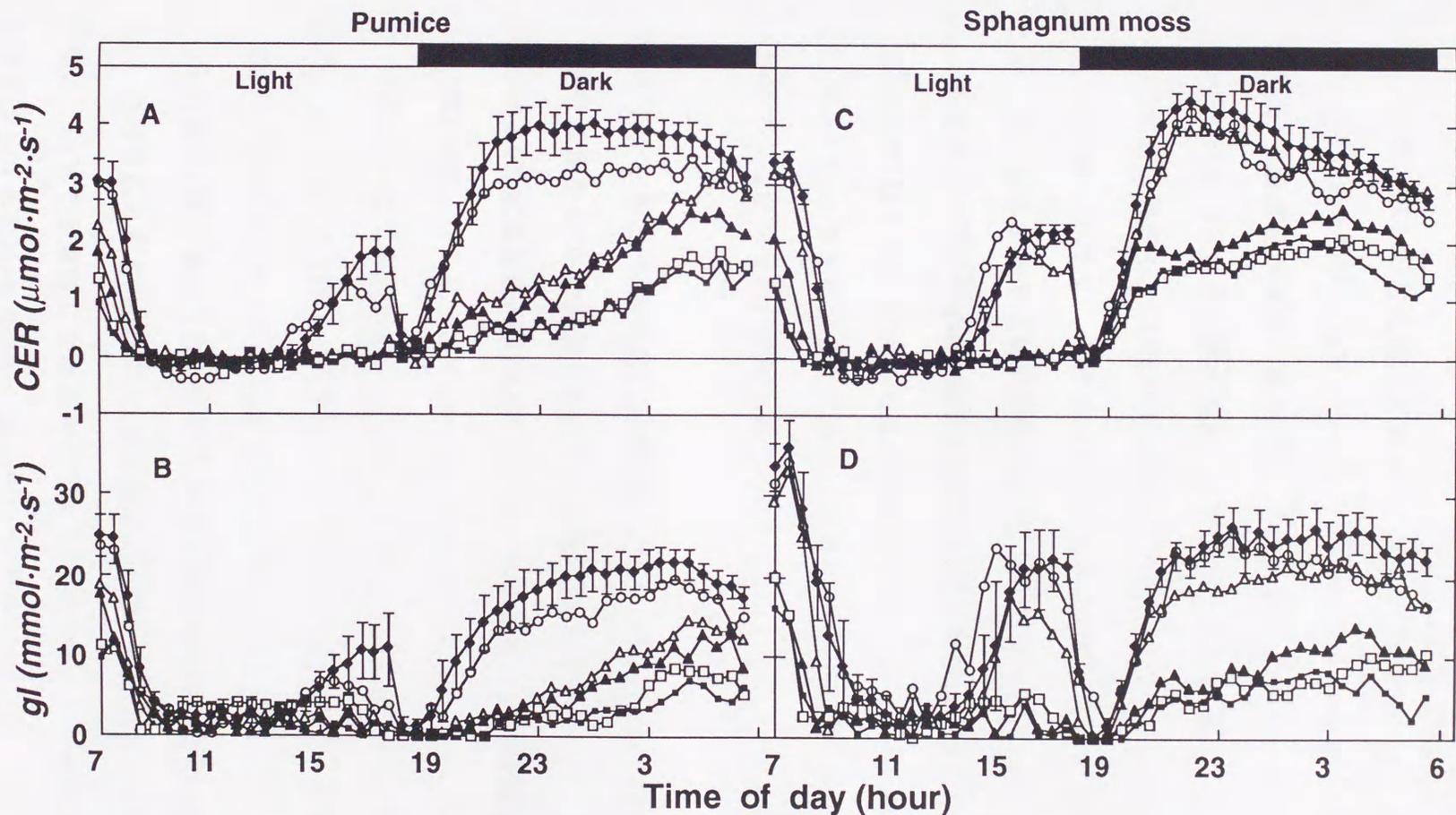


Fig. 4-3. Effects of dehydration on diurnal changes in CO₂ exchange rate (CER: A,C) and leaf conductance (gl: B,D). Symbols are control (◆), 0 (○), 3 (△), 7 (▲), 14 (□) and 21 (■) days after the treatment, respectively. Bars mean standard deviations of control during measured days. Plants were cultured in pumice (left) or sphagnum moss (right). Light intensity in light period and day/night temperature was $350\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ and $30/25^{\circ}\text{C}$.

理開始から3日目にはPhase 4のCO₂吸収がほとんど消失し、Phase 2のCO₂吸収速度と吸収時間も著しく減少した。Phase 1のCO₂吸収速度も処理後14日目まで減少し続けたが、21日目は14日目と同じであった。水ゴケ培地の場合は、処理開始3日目まではいずれのPhaseとも大きな変化がなく、処理後7日目から変化が現れ、Phase 1, 2及び4のCO₂吸収速度が大きく減少した。Phase 1のCO₂吸収速度の低下は、軽石培地と同様に処理後14日目まで認められ、これ以降はみられなかった。

葉の拡散伝導度も、CAM型特有の日変化を示したが、水ストレス処理により大きく変化した(第4-3図B, D)。対照区の拡散伝導度の日変化は、処理期間中大きな変化はなかった。軽石培地では処理開始から3日目には各Phaseの拡散伝導度が大きく減少し、処理後14日目のPhase 1の最大値は処理開始時の約半分となった。水ゴケ培地では処理開始7日目から各Phaseの拡散伝導度が減少した。葉の拡散伝導度は気孔開度のパラメータと考えられることから、水ストレスはデンファレの気孔の動きに影響を及ぼすことが明らかに認められた。

水ポテンシャルとCO₂収支量、CAM性並びにリンゴ酸含量との関係

CO₂吸収量からCO₂放出量を差し引いた値をCO₂収支量とした。1日及びPhase 1, 2, 4におけるCO₂収支量は、葉の水ポテンシャルの減少に伴い両培地区とも同様に变化した(第4-4図)。1日及びいずれのPhaseにおけるCO₂収支量は、水ポテンシャルが-0.37MPa以上では高い値を示したが、-0.38~-0.40MPaの間では急激に減少した。水ポテンシャルが-0.40MPa以下では、1日、Phase 1及び2のCO₂収支量は緩やかに低下したが、Phase 4においてはCO₂収支量はほとんどゼロとなった。

1日の総CO₂収支量に占める夜間のCO₂収支量の割合を示すCAM性(野瀬, 1979, 1992)は、両培地区とも各PhaseのCO₂収支量とは逆に、葉の水ポテンシャルの減少に伴い増加し、98%で定常値になる飽和型を示した(第4-5図)。CAM性が飽和に達する葉の水ポテンシャルは約-0.40MPaであった。

一方、リンゴ酸含量の日変動における最大値と最小値の差(Δ Malate)は、両培地

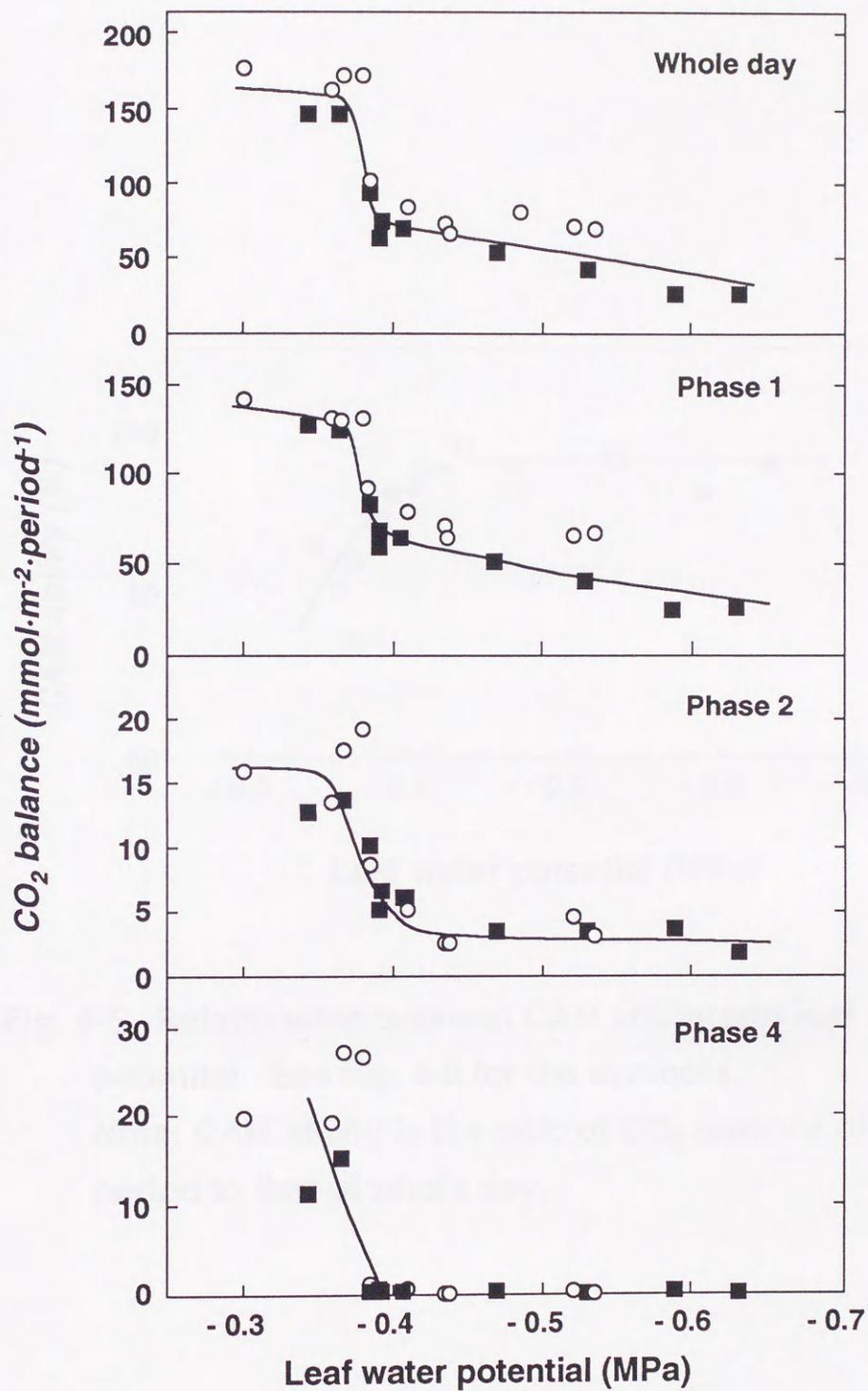


Fig. 4-4. Relationship between CO₂ balance and leaf water potential in each phase. See Fig. 4-2 for the symbols.

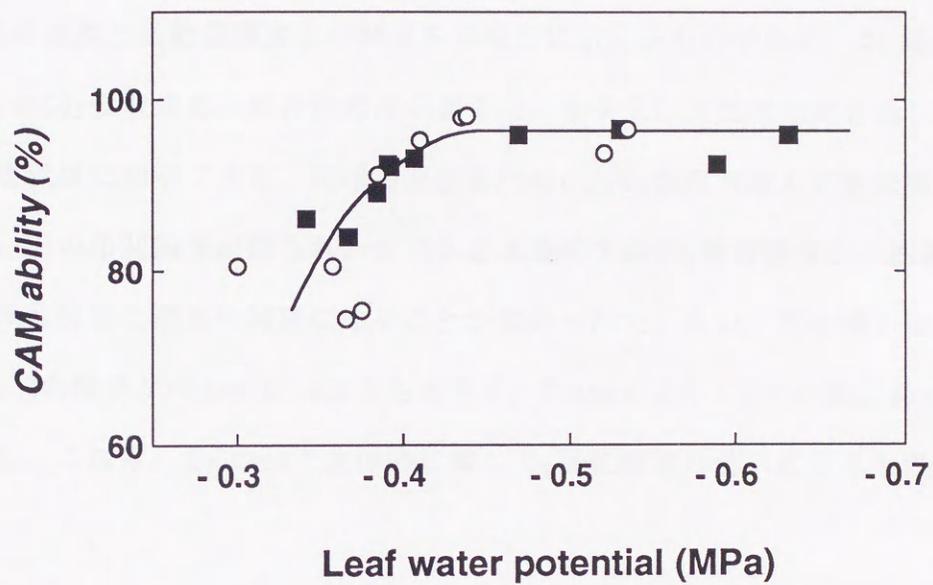


Fig. 4-5. Relationship between CAM ability and leaf water potential. See Fig. 4-2 for the symbols.

Note: CAM ability is the ratio of CO₂ balance of dark period to that of whole day.

とも葉の水ポテンシャルが $-0.38 \sim -0.40$ MPaになると急激に低下した(第4-6図).
 -0.38 MPa以上または -0.4 MPa以下の水ポテンシャルでは, 大きな変化は示さなかった.
これは, 主に明期始めのリンゴ酸含量の日最大値の減少に依るものである.

水ストレス下における CO_2 交換速度と拡散伝導度との関係

第4-7図は水ストレス処理開始前から処理21日後までのPhase 1, 2及び4における,
 CO_2 吸収速度と拡散伝導度との関係を培地別に示したものである. 両培地及び各
Phaseの CO_2 吸収速度と拡散伝導度の関係は, 水ストレス処理期間を通して各々1つ
の回帰直線に回帰できた. 両培地及び各Phaseの CO_2 吸収速度と拡散伝導度との間に
は高い正の相関関係が得られ, 水ストレス条件下の CO_2 吸収速度が, 拡散伝導度すな
わち気孔開度と密接な関係にあることが認められた. また, 両培地の回帰直線とも
Phase 1の傾きがPhase 2, 4よりも大きく, PhaseによりY切片の値が異なることが認め
られた. これは, 各Phaseで主体的に働く CO_2 固定酵素の違いに依るものと考えられ
る.

水ストレスがPEPCaseの活性に及ぼす影響

水ストレスが CO_2 吸収速度に影響を与える場合, 主要な制御部は2つ考えられる.
1つは前述したように, 気孔開度で示される気孔系と, もう1つは葉肉細胞におけ
る炭酸固定系である. 本報では, 夜間の CO_2 固定において重要な役割を果たす
PEPCaseの活性に注目し, 水ストレスの影響を調べた. 単位葉面積当たりのPEPCase
の活性は, 水ポテンシャルの低下により一旦は増加して -0.4 MPa付近で最大値に達し,
水ポテンシャルがこれ以下になると漸減した(第4-8図). しかし, 水ポテンシャルが
最も低下した時の活性は, 処理開始時の活性よりも高い値であった. すなわち,
PEPCaseの活性は, 水ストレスにより増大することが認められた.

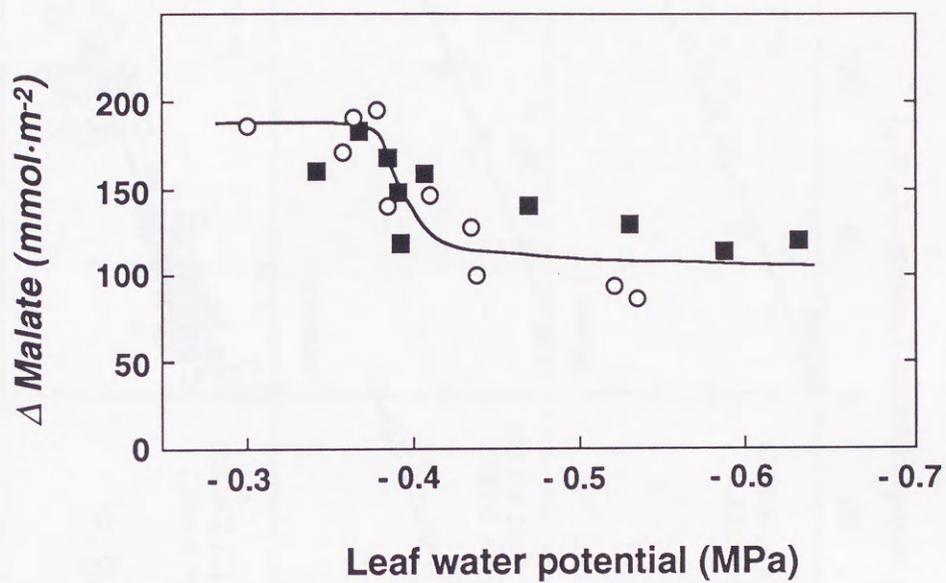


Fig. 4-6. Relationship between leaf water potential and Δ malate. See Fig. 4-2 for the symbols.
Note: Δ malate means the difference between maximum and minimum content in the diurnal-changes of malate.

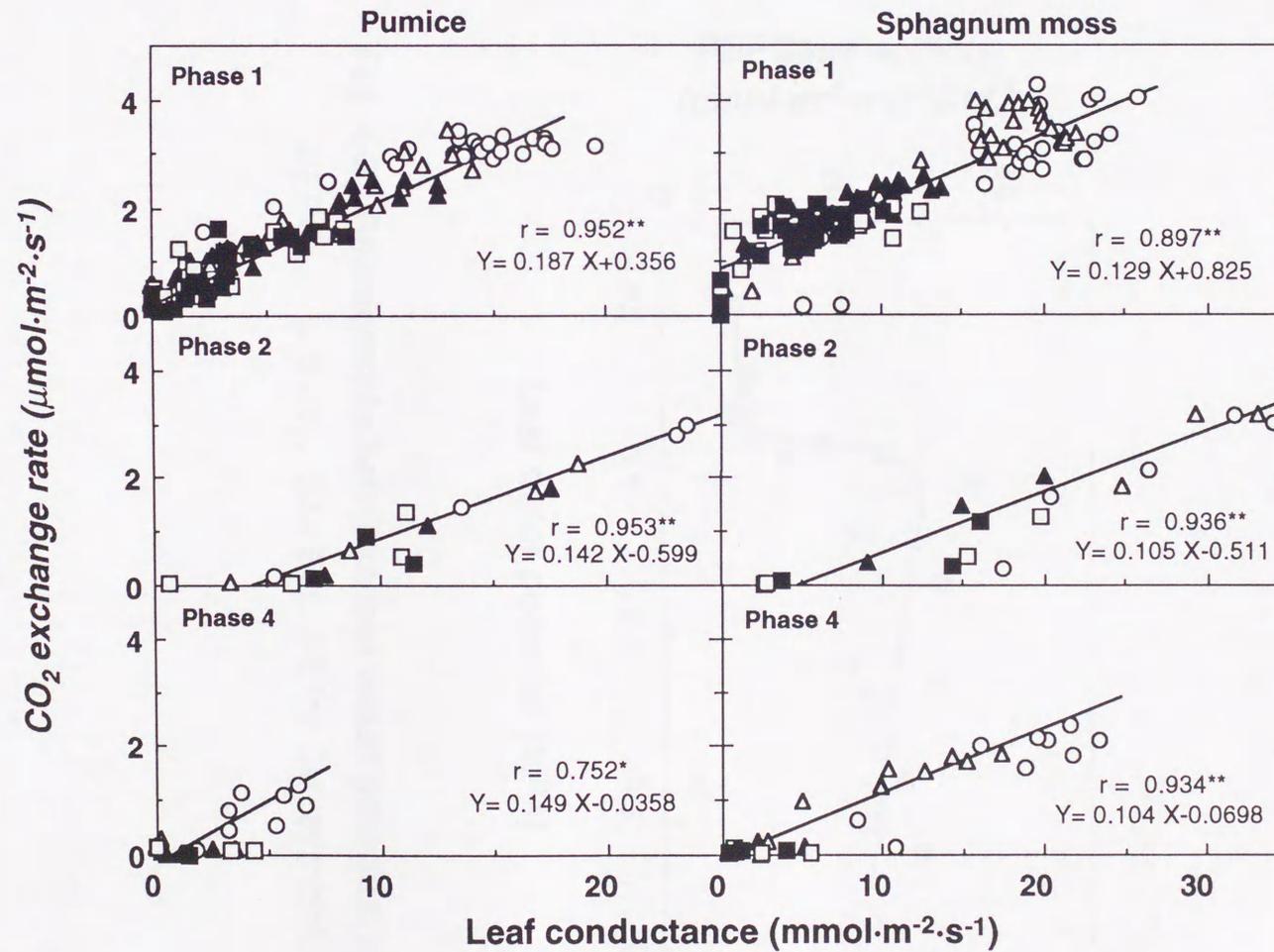


Fig. 4-7. Relationship between CO₂ exchange rate and leaf conductance. Plants were cultured in pumice (left) or sphagnum moss (right). See Fig. 4-3 for the symbols. ** and * significant differences at 1% and 5% level, respectively.

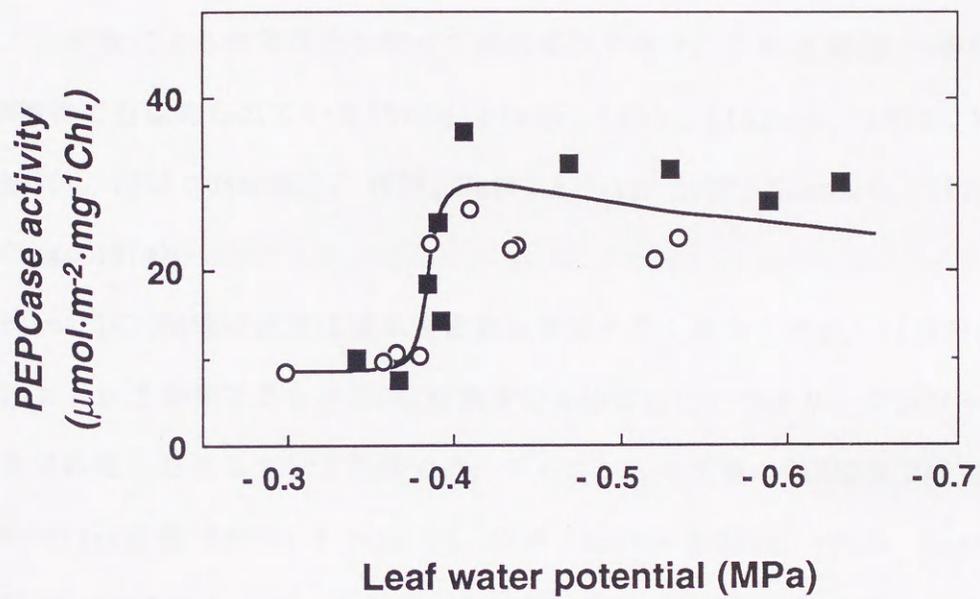


Fig. 4-8. Relationship between leaf water potential and PEPCase activity. See Fig. 4-2 for the symbols.

第4節 考 察

デンファレのガス交換の日変化は、灌水が十分ある状態では典型的なCAM型を示すが、灌水を停止し水ストレスを与えると、ガス交換の日変化パターンが速やかに変化した。まず、Phase 4のCO₂吸収、次いでPhase 1とPhase 2のCO₂吸収が減少し(第4-3図)、CAM性が増加した(第4-5図)。これは、蒸散要求量の高い明期に気孔を閉鎖して、蒸散による水分消失を防ぐための変化であり、これと同様の結果は多くのCAM植物でも認められている(Brigitteら, 1993; Klugeら, 1973; Martin & Schmitt, 1989; Osmondら, 1979; Patel & Ting, 1987; Szarekら, 1973; Szarek & Ting, 1974)。

Phase 1のCO₂吸収速度は灌水停止数日後に大きく減少したが、21日間に及ぶ厳しい水ストレス条件下でも正のCO₂交換速度を維持した。つまり、デンファレでは、本研究で設定した水ストレス条件では、スパニシュモス等のCAM植物で観察されているCAM-idling状態(Martin & Schmitt, 1989; Rayder & Ting, 1983a; Szarek & Ting, 1974)には至らなかった。デンファレがCAM-idling状態を示すには、さらに強い水ストレスが必要と考えられる。しかし、灌水停止後25日目では葉身が黄化萎凋することから、デンファレではCAM-idling状態に至る前に葉身が枯死してしまう可能性もある。デンファレのCO₂交換が、本研究で設定した水ストレス条件下でCAM-idling状態に至らない原因の一つとして、貯水機能を有するバルブから葉身へ水分の供給が生じたことが予想される。今後、デンファレの耐乾機作を考える場合、このような組織間の水分転流を明らかにする研究も必要であろう。

デンファレの1日及び各PhaseのCO₂収支量(第4-4図)と Δ Malate(第4-5図)は、葉の水ポテンシャルが-0.38MPaから-0.40MPaへ変化する時に急激に低下した。デンファレで示された、CO₂吸収が抑制される葉の水ポテンシャル域は、C₃植物のイネ(平沢, 1988)やC₄植物のギニアグラス(Ludlow & Ng, 1976)で報告されている値とほぼ同じであった。デンファレの場合、水ストレス処理前の葉の水ポテンシャルが-0.33~

-0.37MPaであることから(第4-1図A), CO_2 交換は僅かな葉内水分状態の変化に敏感に反応したことになる. このように, 僅かな葉内水分の変化により CO_2 収支量が減少する現象は, パインアップル(Noseら, 1981)やDudleya farinosa(Bartholomew, 1973)でも報告されており, CAM植物の耐乾性の特徴の1つと考えられる.

大気からの CO_2 固定までのプロセスにおける水ストレスの主な制御部は, 葉肉細胞レベルの CO_2 固定能と, 葉肉への CO_2 拡散を律速する気孔系であると考えられる. 前者に関連して, 本研究においては CO_2 固定酵素であるPEPCaseの活性を調べた(第4-8図). その結果, 水ストレスを与えると, デンファレのPEPCase活性は増大した. 特に, PEPCase活性が急激に増大する葉の水ポテンシャルは, CO_2 収支量の低下が生じる水ポテンシャル域と一致していた. すなわち, 本研究における水ストレスにより CO_2 吸収が減少する原因として, CO_2 固定能の内 CO_2 固定酵素が影響を受けたことによるとは考え難い. 同様に, 固定的なCAM植物において, 水ストレスによりPEPCase活性が増大した例としては, Xerosicyos danguigi(Brigitteら, 1993; Rayder & Ting, 1983b)とPortulacaria afra(Ting, 1981)がある. 水ストレス下のPEPCase活性増加は, CAM植物において一般的な現象であるかも知れない.

一方, 葉の拡散伝導度は水ストレスの進行に伴い減少し(第4-2図), CO_2 吸収速度の低下と密接な関係があることが認められた(第4-7図). これらの結果は, 水ストレスによる CO_2 吸収の低下が, 主にガス拡散系すなわち気孔開度を介してもたらされた可能性が高いことを示している. そして, CO_2 吸収が急激に低下する-0.38~-0.40MPaの葉の水ポテンシャルは, デンファレの気孔抵抗を増大させる水分状態の閾値であると考えられる.

ここで, 水ストレスが気孔の開閉に直接影響を及ぼす経路について考えてみたい. 水ストレスと気孔開度のつながりには主に2つのルートが考えられている. 1つは, 葉内の水分条件を介して孔辺細胞の膨圧に影響を与える経路である. もう1つは, サイトカイニン類やアブシジン酸(ABA)のようなホルモンを介して気孔開度に影響を及ぼすものである. 本研究で確認された水ストレス初期の気孔の閉鎖がいずれの経

路を経て生じたかは、ホルモンの分析をしておらず決定できないが、急激なCO₂吸収の減少が生じる葉の水ポテンシャルの変化幅が狭いため(第4-4図)、気孔の閉鎖が孔辺細胞の膨圧の低下に依って生じたとは考え難い。

CAM植物では、水ストレスを受けると葉内ABA濃度とPEPCaseの活性が増加することが報告されている(Brigitteら, 1993; Rayder & Ting, 1983b; Ting, 1981)。また、人為的にABAを根圏に与えた時、葉内のPEPCase活性が増加することもアイズプラントで観察(Chuら, 1990)されている。一方、Thomasら(1992)は、同じくアイズプラントにおいてNaCl処理によるCAM型PEPCaseの発現には、ABAよりもサイトカイニン類がトリガーとして働くことを明らかにしている。これらの報告は、CAM植物におけるPEPCase活性の増加はホルモンの動態と密接に関係していることを示している。本研究においても、水ストレス条件下においてPEPCase活性が増加したことは(第4-8図)、内生ホルモン類の変動があったことを予想させる。従って、水ストレス初期における気孔の閉鎖は、孔辺細胞の膨圧の変化よりも内生ホルモンの変化によってもたらされた可能性が高いものと考えられる。

本研究では、保水性の異なる植え込み培地を用いて、デンファレに水ストレス処理を与えた。保水性の乏しい培地では、保水性が大きい培地に比較して葉の水ポテンシャルと相対含水量の低下が早く(第4-1図)、根圏への給水が制限されるとCO₂吸収速度の低下が早い時期に生じる(第4-3図)。すなわち本研究の結果は、同様な灌水条件下に置いた場合、保水性の乏しい培地の生育量が、保水性の高い繊維質の培地に比較して劣るという栽培試験の結果を支持するものであった。栽培現場においては、水ゴケ等の繊維質培地が有機物であるため使用後2~3年目には腐植化して植替えを必要とすることから、軽石、木炭等の固形質の培地が多く使用されている。今後、長期間使用できる適度の保水性を有する培地の選択・開発が、高い生育量を維持するのに必要と考えられる。また、水ストレスの生じ易い固形質の培地を使用する場合は、頻繁な灌水管理が株の健全な生長にとって重要であると考えられる。

第5節 要約

デンファレのCAM型ガス交換に対する水ストレス影響を調べた。水ストレスは、保水性の異なる2培地を用いて鉢植えにしたデンファレへの灌水を停止することにより与えた。ガス交換の測定は、リードバルブの最上位完全展開葉を用い、灌水停止後0, 3, 7, 14, 21日目に行った。ガス交換を測定した日に、測定葉から1~2葉位下の完全展開葉における葉の水ポテンシャル、相対含水量、リンゴ酸含量及びPEPCaseの活性を測定した。

1) 水ストレスを与えることにより、葉の水ポテンシャル及び相対含水量は低下した(第4-1図)。両者の低下には保水性の異なる培地の違いが現れ、保水性の乏しい培地の方が、早くかつ大きく低下した。

2) デンファレのCAM型CO₂交換の日変化は、水ストレスを与えると速やかに変化した。(第4-3図)、まずPhase 4に生じるCO₂吸収速度が減少し、次いでPhase 1と2のCO₂吸収速度が減少した。CO₂吸収速度の減少の仕方にも培地の保水性の違いが現れ、保水性の乏しい培地は吸収速度が早く減少した。

3) 保水性の乏しい培地では、水ストレス処理21日目では葉の水ポテンシャルが-0.6MPaまで低下したが、正のCO₂吸収速度を維持した。

4) 1日及び各PhaseのCO₂収量は、培地の保水性に関わらず、水ポテンシャルが-0.38MPaから-0.40MPaに低下した時に、急激に減少した(第4-4図)。従って、デンファレのCO₂吸収が低下する水ポテンシャルの閾値は-0.38MPa付近にあるものと考えられる。

5) CAM性は、水ポテンシャルの低下に伴い増加し、-0.40MPa付近で98%の定常値に達した(第4-5図)。

6) リンゴ酸含量の日変動幅(Δ Malate)も同様に、水ポテンシャルが-0.38MPaから-0.40MPaに低下した時に、急激に減少した(第4-6図)。

7) 水ストレス条件下の葉の拡散伝導度とCO₂吸収速度との間には、いずれのPhaseにおいても高い正の相関関係が得られた(第4-7図).

8) PEPCaseのクロロフィル含量当たりの活性は水ストレスを与えると増加し、CO₂吸収速度の減少と対応した(第4-8図). このことから、水ストレス下のCO₂吸収の減少は、葉内CO₂固定系よりも、水ストレスから直接刺激を受けた気孔を含むガス拡散系により生じたものと考えられた.

9) デンファレのCO₂吸収抑制は、僅かな水ポテンシャルの低下で生じることから、保水性の乏しい植え込み培地を使用する場合は、頻繁な灌水管理が株の健全な生長にとって重要である.

第5章 リードバルブの萌芽促進による 開花期の調節

第1節 緒言

デンファレは、その交配親が熱帯雨林地域を原産とすることから、第1章の結果でも示されたように生長適温は高温域にある。従って、沖縄においては春季から秋季にかけて旺盛な生育を示すものの、冬季低温期には生育が停滞する。また、開花は8月から12月に集中し、切り花の出荷時期が偏っている(第5-1図)。そのため、市場関係者からは年間を通じた周年供給と、需要の多い春季出荷が要求されている。同時に、生産者側からは単価の高い春季に多く出荷できる栽培技術の開発が要望されている。

デンファレの花芽は、バルブと呼ばれる偽球茎上部の腋芽が分化して生ずる。開花母茎となるバルブは、主に当年生長した新しいバルブ(リードバルブ)である。リードバルブは、一般的な栽培では3~4月の温度上昇期に、前年に開花したバルブ(バックバルブ)の基部から萌芽し、その後十数枚の葉を展出させながら生長し、6月から9月にかけて止葉を発生させる。この時期のリードバルブには、頂部に生長点を、また止葉となるリン片の腋部に花芽の原基を持っている。通常は、花芽の発育に伴い生長点は座止するが、花芽が伸長しない場合は生長点が生長を続けて高芽(葉芽)になる。バルブ頂上の花芽は、止葉がほぼ完全に展開する頃から伸長を始める。デンファレと同じ属のノビル系(*D. nobile*を中心にした種間交雑種グループ)では、花芽分化には止葉完全展開後20/10~13℃(昼/夜温)の低温期間が30~40日間必要であるが(須藤ら, 1984; 篠田ら, 1988, 1989), デンファレの場合特定の温度条件や日長条件は必要がない。つまり、デンファレの花芽分化は、リードバルブが一定の大きさに達した時に開始する。このことは、デンファレの開花期は、リー

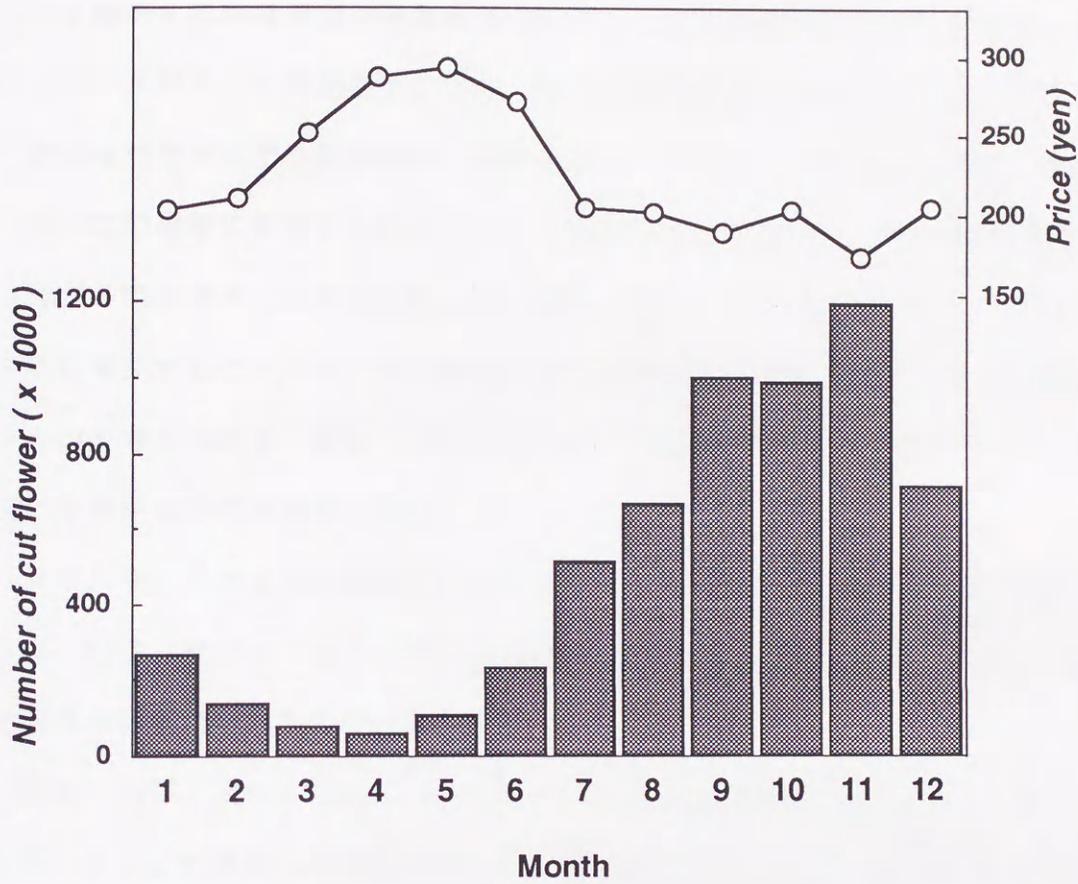


Fig. 5-1. Average monthly production of *Dendrobium* cut flower in Okinawa and their prices in wholesale markets in main land Japan based on pooled date from 1989 to 1993 (cf. Annual statistical report from Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, Okinawa Prefectural Government).

ドバルブの萌芽時期とリードバルブ形成後の生育に依りントロールできることを示している。

本研究の第1章から第4章において、CAM型光合成という視点からリードバルブの生長を制御する環境要因の影響を明らかにし、生長を促進する条件を検討してきた。もしリードバルブの萌芽をコントロールする条件を明らかにできれば、デンファレの開花時期を制御できる可能性が期待できる。そこで、本章においては、まずリードバルブの萌芽に影響する条件について検討した。今までに、デンファレのリードバルブの萌芽条件に関する研究は特に見当たらない。沖縄においてリードバルブは春季に萌芽することから、萌芽促進にはこの時期の温度または光強度が影響しているものと考えられる。グロースキャビネット内で温度と光条件を違えて、リードバルブの萌芽に及ぼす影響を調査した。

次に、リードバルブの萌芽促進方法として、ベンジルアデニン(BA)の利用を検討した。BAは、サイトカイニン様の生理活性を持つ植物生長調節物質であり、細胞分裂促進や休眠打破、芽の形成等に有効に作用することが知られている(加藤, 1988; 荻屋, 1977; 大川, 1982)。デンファレにおいて、BAをリードバルブの萌芽促進に用いることを検討した報告はない。ノビル系では苗の茎挿し繁殖においてBA散布が葉芽の萌芽率を向上させるが、萌芽後枯死するものが多いとの報告がある(野菜試験場, 1984)。

最後に、実際に温室内でリードバルブの萌芽を促進し、これまでの研究において明らかとなった最適の温度と光条件に近づくような温室内の環境管理を行い、開花時期を調節することを試みた。すなわち、光条件は、11月から3月までは温室内の遮光ネットを除去し、できる限り光強度を高めた。温度条件は加温機を使用して、最低室温を24℃より低下させないようにした。つまり、室温が24℃以下に低下すると温風暖房機のスイッチが入るようにし、設定温度+2℃になると暖房機がオフになるようにした。このような加温処理は、昼夜を通して行った。

第2節 材料及び方法

1. リードバルブ萌芽促進のための環境条件

1-1. リードバルブの萌芽と温度, 光条件

リードバルブの萌芽に及ぼす温度と光強度条件の影響を調査した。ヤシガラ培地を用いてプラスチック鉢(直径9cm, 深さ7.5cm)に植え付けて育成し, バルブ長が約25cmに達したデンファレ, *D. Ekapol* cv. Panda(パンダ)を, 1991年2月5日に昼/夜温度を30/25, 25/20°Cに設定したグロースキャビネット(日本医科機械, HTP-1000)に搬入した。各々の温度区は, 遮光ネットを用いて株上部の光強度が330と140 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ になるように設定した。さらに, 330 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度区では, 株基部の光強度が60と2 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ になるように調節した。設定した6処理区に対し10株ずつ供試し, リードバルブの萌芽所要日数を調査した。日長時間は11時間とした。

1-2. リードバルブの萌芽と昼夜温度条件

1-1では, 昼/夜温, 30/25°Cの条件でリードバルブの萌芽の促進が顕著であった。そこで, この昼夜温度条件を挟んだ温度条件下で, リードバルブの萌芽に及ぼす温度の影響を調査した。ヤシガラ・軽石(1:1)混合培地を用いて, プラスチック鉢(直径10.5cm, 深さ9cm)に植え付けて育成し, バルブ長が約35cmに達したパンダと*D. Pramot*(プラモト)を12月15日に, 34/24, 34/20, 30/24°C(11~15時)に設定した人工光グロースキャビネットに搬入した。11時前または15時後の昼温は28°Cとし, 日長は11時間とした。株上面での光強度は295~350 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に維持した。1処理に対し16株を供試し, リードバルブの萌芽所要日数を調査した。

1-3. リードバルブの萌芽と温室内の栽培温度条件

本実験では, ヤシガラ・軽石混合培地を用いて素焼鉢(直径12cm, 深さ10.5cm)に植え付け, 無加温の温室で生育させたパンダの株を11月10日と1月16日に, 温度が

28または24℃に低下した時に加温機が作動するように設定した温室に移し、リードバルブの萌芽時期を調査した。11～3月の期間における温室内の光条件は、屋根のガラスと被覆資材の塩化ビニールによって約20%遮光されていた。4月以降は遮光ネットを追加し、約60%遮光の条件にした。1処理に対し16株を供試した。

2. BA処理によるリードバルブ萌芽促進

2-1. BA処理方法と処理濃度

1-3で供試した株と同様に育成したパンダにBA処理を行い、リードバルブの萌芽時期を調査した。BAの処理方法は、少量のNaOHで溶解しエタノールで希釈後HClで中和したpH7のBA溶液をスプレーで茎葉に散布する方法と、バルブ基部の芽のない部分にカッターで小さな切れ込み(深さ約1mm)を付けラノリンで希釈したものを塗布する方法を用いた。BAの濃度は、散布処理では100, 250, 500ppmを、切り込み塗布処理では1,000, 2,500, 5,000ppmを設定した。1処理に対し7株を供試した。BA処理後は最低温度が24℃以上になるように設定した温室内で栽培した。光条件は1-3と同様である。

2-2. BA処理と温度条件

1-3で供試した株と同様に育成したパンダに、12月17日に切り込み塗布方法でBA処理を行った。BA濃度は2,500ppmとした。BA処理後は温室内の最低温度が28または24℃以上になるように設定した区と、無加温区の3種類設けて比較した。1処理に対し7株を供試した。光条件は1-3と同様である。

3. 冬季加温栽培が開花期に及ぼす影響

ヤシガラ・軽石(1:1)混合培地を用いて素焼鉢(直径13.5cm, 深さ12cm)に植え付け、温室で育成したパンダとプラモトの株を11月と12月に、最低温度が24と20℃以上になるように設定した温室に移し、リードバルブ萌芽時期、開花期及び時期別

の採花本数等を調査した。昼間の温室内の換気は、室温が30℃以上に達した時とした。1処理6株を供試し2反復した。なお、加温処理を開始する半月前から開始2ヶ月後の間に、バックバルブから発生する花芽は除去した。温室内の光条件は、4～10月の期間は全処理区とも遮光ネットにより約60%の遮光条件にした。11～3月の期間は、開花調節区は温室のガラスと保温用の被覆資材(塩化ビニール)により約25%の遮光条件とし、対照区は遮光率の低いネットを用いて、株上の光条件が開花調節区とほぼ同程度になるようにした。

第3節 結 果

1. リードバルブ萌芽促進のための環境条件

第5-1表にグロースキャビネット内の温度条件を変えた時の品種パンダのリードバルブの萌芽所要日数を示した。昼/夜温度25/20℃よりも30/25℃において萌芽所要日数が減少した。また、株基部が $22\sim 24\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の場合に萌芽が早まり、逆に $2\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ では両温度条件とも遅くなった。株上部の光強度は、 $138\sim 357\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の範囲では萌芽の早晚に影響を与えなかった。温度条件が30/25℃区で株基部の光強度が $2\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の萌芽所要日数が、25/20℃区の光強度が高い区における場合と同等あるいは短かったことから、リードバルブの萌芽促進には光条件よりも温度条件の方が影響力が強いものと考えられた。

次に、昼間の温度条件を30℃以上に上昇させて検討した(第5-2表)。夜温が25℃の場合、昼温を34℃に高めてもパンダ、プラモト両品種の萌芽所要日数は、昼温30℃の場合と同じ程度であった。しかし、昼温を34℃であっても夜温を20℃にした場合は、萌芽所要日数が長くなった。以上のことから、リードバルブの萌芽には夜温が重要であり、萌芽を促進する昼/夜温条件は30/24℃付近にあると考えられた。

第5-3表は、温室において11月と1月から加温を開始し、リードバルブの萌芽時期

Table 5-1. Effects of air temperature and average light intensity at top or base of plants on days required for lead bulb sprouting under growth cabinet conditions in *D. Ekapol* cv. Panda.

Air temperature (°C)		Light intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		Days \pm S.E. for lead bulb sprouting ¹⁾
Day	Night	top	base	
30	25	326	61	26 \pm 10
		278	2	52 \pm 14
		151	22	25 \pm 8
25	20	350	66	62 \pm 16
		357	2	98 \pm 21
		138	24	50 \pm 10

1) Days from the beginning of experiment (Feb.5, 1991).

Table 5-2. Effects of day and night temperatures on days necessary for lead bulb sprouting under growth cabinet conditions.

Species	Air temp.(°C)		Days \pm S.E. for lead bulb sprouting ²⁾
	Day ¹⁾	Night	
<i>D. Ekapol</i>	34	24	19 \pm 3
	34	20	30 \pm 7
	30	24	20 \pm 3
<i>D. Pramot</i>	34	24	31 \pm 10
	34	20	41 \pm 6
	30	24	26 \pm 5

1) Day temperatures were set at 28°C and raised to 30 or 34 °C during 11:00-15:00.

2) Days from the beginning of experiment (Dec.15, 1992). Average light intensity at top of plants was 295-350 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

を調査した結果である。加温の設定温度が高いほど、つまり日最低室温が高いほど、また、加温開始時期が早いほどリードバルブの萌芽時期は早くなった。しかし、処理区内で萌芽日の偏差が大きく、特に11月加温開始区で著しかった。大きい偏差の原因を検討したところ、伸長中の花芽を持っていない株は加温開始から2~4週間内でリードバルブを萌芽させるが、伸長中の花芽を有していたり加温開始後花芽を発生させた株の萌芽は著しく遅れた。加えて、このような株は、花芽を収穫するまでリードバルブを萌芽させなかった。すなわち、バックバルブにおける花芽の存在は、リードバルブの萌芽を抑制する因子になっているものと考えられた。

これをさらに検討したのが第5-4表である。バックバルブに伸長中の花芽が存在する株と存在しない株とを各々2種類の温度条件下で育成したところ、両者のリードバルブの萌芽所要日数には大差が生じた。すなわち、バックバルブにおける花芽の存在は、リードバルブの萌芽にとって抑制因子となることが明らかとなった。

2. BA 処理によるリードバルブの萌芽促進

12月中旬に、日最低温度が24℃以上の温室内で、デンファレのバックバルブへBA処理を行いリードバルブ萌芽までの所要日数を調べた。処理方法として、BAをアルコールに溶解して茎葉にスプレー散布する処理方法(スプレー散布法)、バルブ基部にカッターで深さ5mm程度の切れ込みを作りラノリン希釈したBAを塗布する方法(塗布法)を用いた。いずれの処理方法とも無処理区に比較して萌芽所要日数は減少した(第5-5表)。また、所要日数は、処理方法の種類及びBAの濃度の違いにより変化した。

BAの処理方法別にリードバルブの萌芽所要日数を比較すると、スプレー散布区は無処理区よりも15日程度短縮された。濃度の影響は250ppm以上になると萌芽所要日数が減少する傾向があったが、濃度による違いは僅かであった。また、いずれの濃度区においても、BA処理後バックバルブの上部腋芽が花芽として伸長することが観察され、また、そのように花芽が伸長する株はリードバルブの萌芽が遅れた。

Table 5-3. Effect of minimum temperature on the sprouting date of lead bulb in green house conditions in *D. Ekapol* cv. Panda.

Starting date of heat treatment	Minimum temp.(°C)	Date±S.E. for lead bulb sprouting
Nov. 10	28	Jan. 2±24
	24	Jan.13±45
	20	Feb.28±60
Jan. 16	28	Feb.10±17
	24	Feb.21±15
	20	Mar.30±12
Control	--	Apr.11±11

The heating supplementation was started at 28, 24 and 20°C. Control was non-heating treatment.

Table 5-4. Effects of back bulbs with and without flower bud on days for lead bulb sprouting at different minimum temperature in *D. Ekapol* cv. Panda.

Minimum temp.(°C)	Flower bud	Days±S.E. for lead bulb sprouting ¹⁾
28	-	14±8
	+	37±4
24	-	25±8
	+	44±4

¹⁾ Days after the beginning of experiment (Jan.16, 1991).

Table 5-5. Days for lead bulb sprouting at different application methods and concentration of 6-benzyl adenine (BA) in *D. Ekapol* cv. Panda under green house conditions with minimum temperature of 24°C.

Method	Conc. (ppm)	The ratio of sprouting (%) ¹⁾	Days±S.E. for lead bulb sprouting ²⁾
Spray ³⁾	500	57	50±28 ⁴⁾
	250	57	48±26 ⁴⁾
	100	43	56±28 ⁴⁾
Corting ⁵⁾	5,000	100	19±15 ⁶⁾
	2,500	71	39±24
	1,000	43	47±28
Control	0	43	66±25

1) Percent to the sprouting at Feb. 15, 1992.

2) Days from the beginning of experiment (Dec.17, 1991).

3) Dissolved in ethanol and sprayed on leaves and stems.

4) Flower buds developed from upper nodes in many back bulbs after spray treatment and in those back bulbs the sprouting of lead bulb was suppressed.

5) Mixed with lanolin and applied to a small cut on the base of back.

6) Lead bulbs sprouted were weak and often stopped growing.

塗布処理におけるリードバルブの萌芽所要日数は、無処理区に対してBAが1,000 ppmの濃度では約20日、2,500ppmでは約25日、5,000ppmでは約45日間短縮された。しかし、5,000ppm区において、これよりも低い濃度に比較して、より高い節位からのリードバルブの萌芽が観察された。すなわち、無処理または低濃度処理で萌芽する芽は、バックバルブ基部芽の内下から1~3番目であるが(写真5-1)、5,000ppm区では下から4~5番目であった。このような高い節位の芽は小型で、萌芽後伸長したリードバルブは細く弱小であった(写真5-2)。

BA処理の方法をスプレー散布と塗布法で比較すると、後者の方がリードバルブ萌芽促進に有効であり、また、処理の確実性がある。さらに、塗布法における処理濃度は、健全なリードバルブが得られ無処理区よりも確実に萌芽促進が得られる2,500ppmが適当であると判断された。

次に、BA処理時及び処理後の温室内の日最低温度を、28、24、20℃及び無加温に設定し、リードバルブの萌芽所要日数をBA濃度2,500ppm塗布区と無処理区で比較した(第5-6表)。BA処理によるリードバルブの萌芽所要日数は、無処理区に対して20℃と無加温条件では差はなかったが、24℃と28℃では明らかに短くなった。BA処理による萌芽促進効果は、温度条件が高くなるにつれて顕著になり、無処理区も温度が高いと著しく萌芽が促進された。しかし、28、24℃のBA処理区と28℃の無処理区では、リードバルブが萌芽後0.5~2.0cmで伸長停止するものが観察された。

以上のことより、BA処理がリードバルブの萌芽を促進することが示されたが、バルブ基部の上位弱小芽の萌芽や萌芽後座止等が認められ、実用的な方法としては問題が残った。また、効果の高かった塗布法は、カッターでバックバルブ基部に小さな切れ込みをつけなければならず、処理作業が煩雑である。

3. 冬季加温栽培が開花期に及ぼす影響

以上の結果から、デンファレのリードバルブは、人為的に萌芽を促すことが可能であることが明らかとなった。萌芽の促進方法としては、加温により適温条件に設

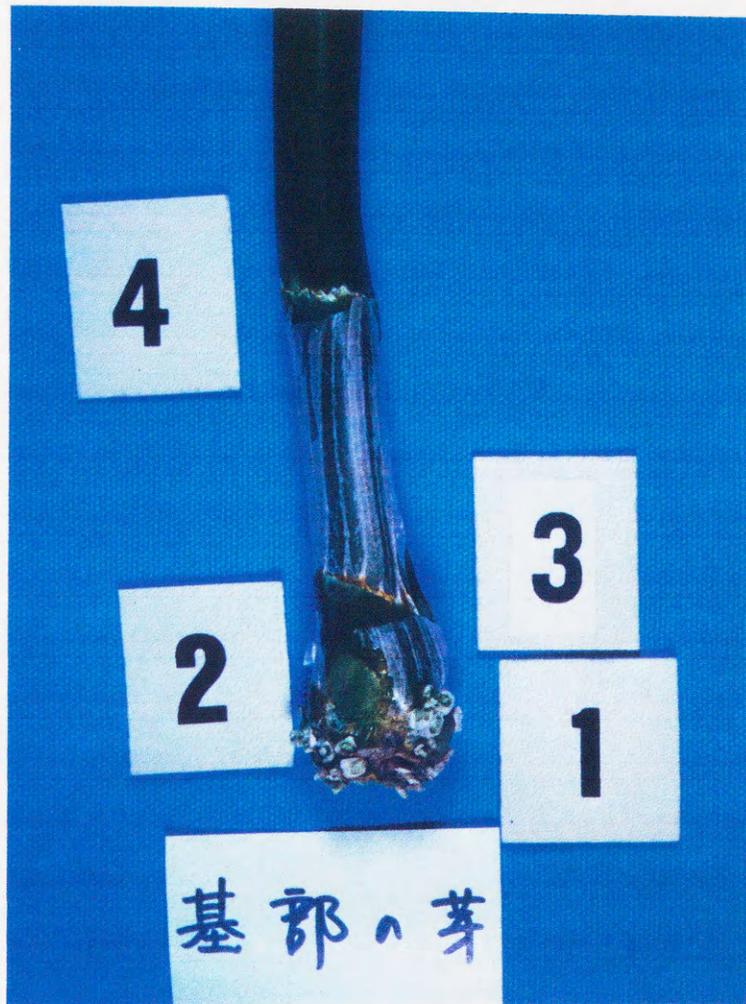


Plate 5-1. Buds of lead bulb before sprouting on the base of back bulb in *D. Ekapol* cv. Panda. The upper bud (4) is smaller.

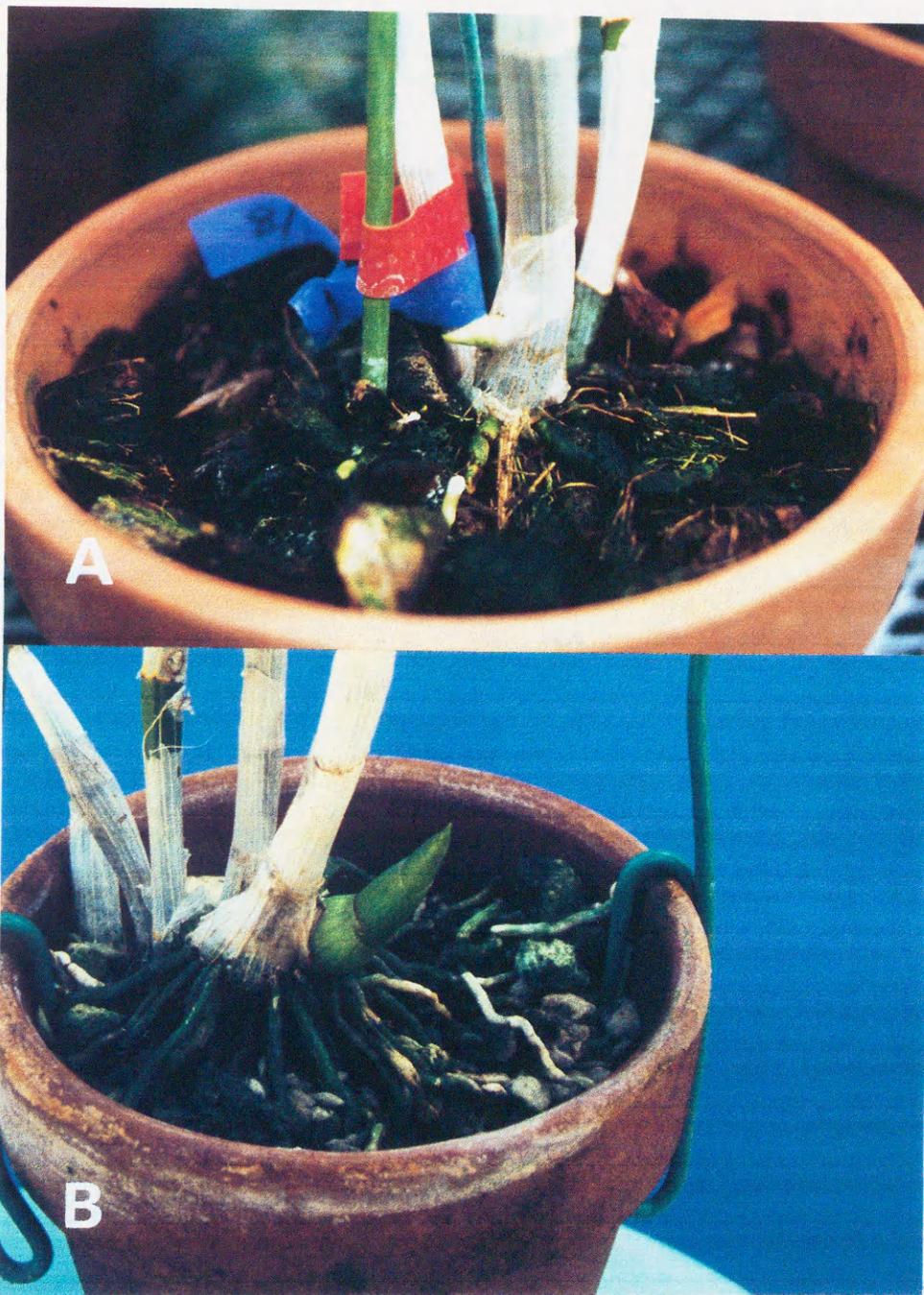


Plate 5-2. Lead bulbs sprouting from the base of back bulb. Upper photograph (A) shows a weak lead bulb that was induced to sprout by application of 5,000 ppm 6-benzyl adenine mixed with lanolin on the base of back bulb after making a small cut. Lower photograph (B) shows a normal sprouting. Material used was *D. Ekapol* cv. Panda.

Table 5-6. Effects of BA concentration on lead bulb sprouting at different minimum temperature under green house conditions in *D. Ekapol* cv. Panda.

Minimum temp.(°C)	BA conc. (ppm)	Days±S.E. for sprouting lead bulb ¹⁾	Percent of bulbs stopped growing
28 ²⁾	0	27±33	29
	2,500 ³⁾	12±6	43
24	0	66±25	0
	2,500	39±24	14
20	0	84±16	0
	2,500	93±17	0
Control ⁴⁾	0	112±6	0
	2,500	104±10	0

1) Days after the beginning of experiment (Dec. 17, 1991).

2) Heating supplementation was started at those temperatures.

3) See Note in Table 5-5 for the method of corting.

4) Control was non-heating supplementation.

定する方法と、BAを用いる方法があることが示されたが、前述のとおりBA処理法は実用化が難しいと考えられた。

そこで、加温により冬季温室内の栽培温度を上昇させることによるリードバルブの萌芽促進と開花時期の前進について検討した。なお、リードバルブの萌芽をバックバルブの花芽が抑制することが明らかとなったので、加温区において加温処理を開始する半月前から開始2ヶ月後までの期間にかけてバックバルブに発生する花芽は全て除去した。

加温栽培は、パンダ及びプラモトの2品種とも無加温栽培に比較して、リードバルブの萌芽時期、止葉が完全展開して花芽が萌芽する時期及び第1花収穫時期を早めた(第5-7表)。これは栽培温度条件が高いほど、また加温開始時期が早いほど顕著であった。プラモトの無加温区における第1花収穫時期は8月下旬であるのに対し、24℃区では6月中旬となった。パンダでは無加温区が11月上旬であったのに対し、11月加温開始の24℃加温区では7月下旬となった。止葉完全展開時のリードバルブの茎長及び節数は、両品種とも栽培温度条件が高くなるにつれて減少する傾向にあった。

年間の採花総本数を無加温区と加温区で比較してみると、両品種で共通した傾向はなかった(第5-8表)。プラモトでは、加温区が無加温区に対して減少する傾向にあったが、パンダでは加温開始時期毎に傾向が異なった。加温区が無加温区に比べ採花本数が減少する場合は、加温処理開始前後にバックバルブの花芽を除去したことによると考えられ、逆に、加温区の採花本数が増加する場合は、低温による生長抑制が消失し花芽の発生数が増加したことによると考えられる。切り花サイズ別に採花本数を比較すると、両品種とも無加温区に比較して、加温区の2Lサイズ(切り花長60cm以上、小花13輪以上)の採花本数が増加した。プラモトについては栽培温度条件が高くなるにつれて2Lサイズの採花本数が増加したが、パンダでは11月加温開始のみが同様の傾向を示した。

年間の採花期間を3~7月と8~2月の2つに分けて、各々の期間における採花本数

Table 5-7. Date of lead bulb sprouting, flower emergence and first flower harvest, and growth of lead bulbs at different minimum temperatures under green house conditions.

Spicies	Minimum temp. (°C)	Date for the start of heating	Date of sprouting of lead bulb	Date of flower emergence	Date of first flower harvest	Lead bulb length (cm)	Number of nodes
<i>D. Pramot</i>	24	Nov. 21	Jan. 8±19	Apr.18±11	Jun. 16±6	50±11	14.3
	20	Nov. 21	Feb. 8±19	Jun. 4±13	Aug. 3±10	52± 9	14.2
	Control	--	Mar.19±15	Jul. 4±8	Aug.31±11	57±10	14.7
<i>D. Ekapol</i>	24	Nov. 15	Dec.25±17	May13±22	Jul. 22±40	61± 9	18.0
	20	Nov. 15	Feb. 3±36	Jul. 9±20	Sep.12±22	76± 9	20.0
<i>D. Ekapol</i>	24	Dec. 15	Feb.20±25	Jul. 4±24	Sep. 7±23	67±10	17.7
	20	Dec. 15	Mar.10±16	Aug.15±14	Oct.17±23	84± 8	19.6
	Control	--	Apr. 7± 6	Sep. 3±14	Nov. 2±19	76±13	20.0

Note: Flower buds on back bulb were removed during half month before to two months later the start of heat supplementation.

The ventilation system in green house was automatically turned on when temperatures reached or rised beyond 30°C.

The heating supplementation was started at 24 or 20°C.

Control was non-heating supplementation.

Table 5-8. Number of cut flowers (No·m⁻²) produced in different minimum temperature regimes in the green house.

<i>Spicies</i> Minimum Temp.(°C)	Date of start heating	Total	Flower size			
			2L ¹⁾	L ²⁾	M ³⁾	Others
<i>D. Pramot</i>						
24	Nov. 21	36.4±3.3	11.3	12.1	9.7	3.2
20	Nov. 21	36.4±2.2	11.3	12.1	9.5	3.5
Control	--	41.6±3.8	7.8	12.1	18.2	3.5
<i>D. Ekapol</i>						
24	Nov. 15	41.9±4.5	8.8	8.8	11.0	13.2
20	Nov. 15	36.4±3.6	7.1	9.1	8.1	12.1
24	Dec. 15	37.4±3.8	9.1	8.1	10.1	10.1
20	Dec. 15	40.7±3.0	10.4	8.7	10.4	11.3
Control	--	41.2±3.9	6.1	9.7	12.1	13.3

1) 2L; stalk >60cm and florets number >13.

2) L ; stalk 59-50cm and florets number >11.

3) M ; stalk 49-40cm and florets number >9.

を試験区ごとに比較すると、両品種の11月からの24℃加温栽培における3～7月の採花本数が無加温区の2倍以上に増加した(第5-2図)。プラモトでは20℃加温区でも3～7月の採花本数が無加温区よりも増加したが、本数は24℃加温区の方が優っていた。パンダの20℃加温区は、11月及び12月加温開始区ともに3～7月の採花本数は無加温区と変わりはなかった。8～2月の採花本数についてみると、パンダの12月からの20℃加温開始区を除いて、両品種とも3～7月の採花本数とは逆に、加温区は無加温区よりも採花本数は減少した。冬季の加温栽培によって、春季の採花量の増加分が秋冬季に減少した形となった。3～7月の採花における切り花サイズを処理区別に比較すると、両品種とも栽培温度条件が高いほど3～7月の2LとLサイズ(切り花長50cm以上、小花11輪以上)の採花本数が増加した。

以上のように、冬季の加温栽培はリードバルブの萌芽を促進し、秋季の開花期を春季に前進させ、かつ春季の切り花品質を向上させることが示された。そして、これらの変化は加温を開始する温度が24℃で、また、加温開始時期が11月で明確に現れた。品種間で加温による開花調節効果を比較すると、リードバルブの完成が早い早生タイプのプラモトで効果が顕著であった。

第4節 考 察

沖縄におけるデンファレの開花時期が8月～12月に集中するのは、沖縄の気象条件に適応したリードバルブの萌芽と生長に依っているものと考えられる。つまり、人為的にリードバルブの萌芽時期を変更し、その後の生長を促すことができれば、開花時期は変更可能であると予想される。本研究の前章までにおいて、リードバルブの生長を促進する環境要因が明らかになった。従って、リードバルブの萌芽をコントロールする条件が明らかになれば、デンファレの開花時期の制御が可能となる。そこで、本章ではデンファレの開花期を調節することを目的に、リードバルブ

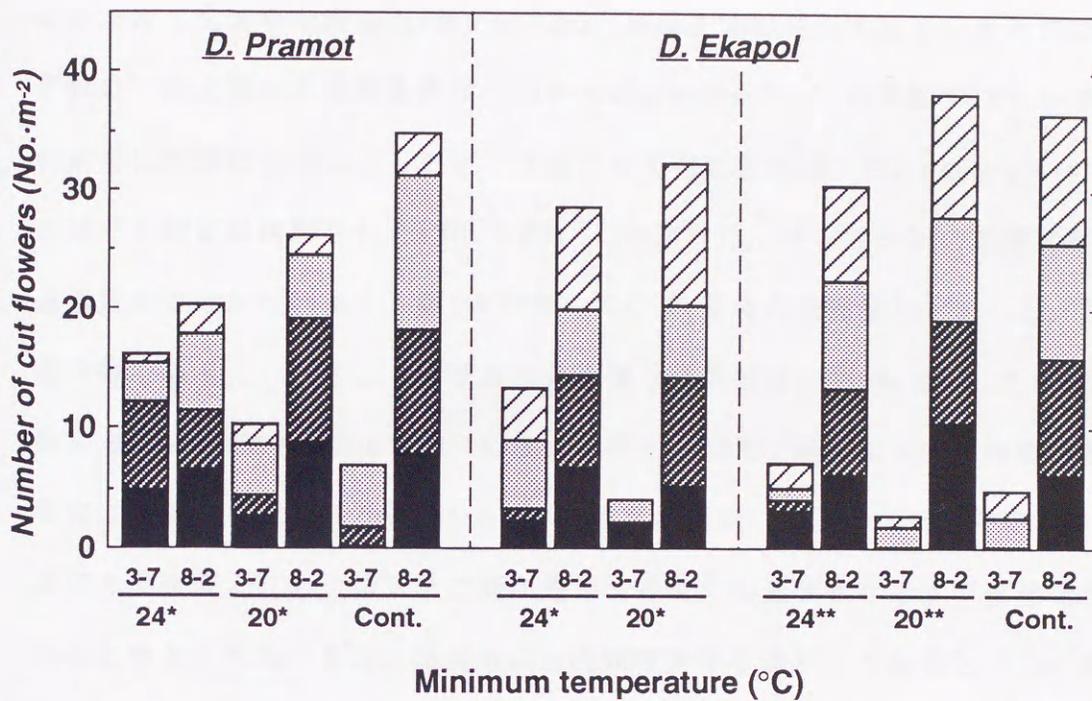


Fig. 5-2. Effects of minimum greenhouse temperatures on the number of cut flowers produced. Flower sizes were 2L (■), L (▨), M (▩) and others (▧). 3-7 and 8-2 were the harvest seasons, indicating from March to July and from August to February, respectively. The heating supplementation were started at November (*) and December (**) when air temperature in green house decreased at 24 or 20°C. Control means non-heating treatment.

の萌芽促進方法とその後の生長に対する栽培温度条件の影響について検討した。

まず、グロースキャビネット内で温度及び光強度条件を制御してリードバルブの萌芽を調査したところ、リードバルブは30/24℃で最も早く萌芽し、これよりも昼温を上げてても変らなかった(第5-1, 2表)。夜温を20℃に低下させると萌芽は著しく遅れた。株上部の光強度条件は、140~350 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の範囲ではリードバルブの萌芽に影響は与えなかったが、株基部の光強度を約20から2 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に低下させると萌芽は抑制された(第5-2表)。このように、デンファレの萌芽にとっての適温度条件は比較的高く、第1章で得られたCO₂交換の適温域30/25~25/25℃とほぼ同様であった。しかし、萌芽促進に必要な光強度は、第2章で示したCO₂交換の光飽和点である250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に比べて低く、加えて萌芽に大きく影響を及ぼす光強度は株基部における20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以下の弱光であった。光条件については株頂部の光強度よりも、株元まで光が透過するような光分布を示す群落構造が重要であると考えられた。また、温度条件と光強度条件を比較してみると、リードバルブ萌芽の早晩の主要因は温度条件であると考えられた(第5-1表)。

以上の結果に基づき、実際の温室において11月上旬及び1月中旬から栽培温度条件を違えてリードバルブの萌芽を調査した。その結果、無加温の栽培条件と比較して、加温した条件では萌芽の促進が認められた(第5-3表)。特に、最低温度を24℃以上に設定した加温条件では萌芽が著しく促進された。従って、冬季の温室内の栽培温度を適温条件にすることで、リードバルブの萌芽を制御できることが明らかとなった。萌芽が顕著に促進した24℃は、デンファレの1日当たりのCO₂吸収量を最大にする温度条件とほぼ一致している(第1章, 第1-6図)。つまり、リードバルブの萌芽適温条件の範囲は、物質生産にとっての適温条件の範囲と同様である可能性が高く、萌芽を促す一つの要因として、光合成産物の増加があるものと推察された。

なお、これとは逆にリードバルブの萌芽を抑制する因子の存在も示された。バックバルブに花芽を有している株は、萌芽の適温条件にありながらリードバルブの萌芽が遅延する株が観察された(第5-4表)。このようにバックバルブの上部の花芽が、

リードバルブの萌芽すなわち基部における新芽の萌芽を抑制する現象は、バックバルブにおける頂芽優勢現象に基づくものと考えられる。

本研究の結果、温度条件とは別にBA処理もリードバルブの萌芽促進に有効であることが明らかとなった。温室の最低温度が24℃以上維持されている条件で、2,500ppmのBAをバックバルブ基部へ塗布すると、リードバルブの萌芽が顕著に促進された(第5-5表)。しかし、上位弱小芽の萌芽や萌芽後の座止の障害も認められた(第5-6表)。デンファレのリードバルブ萌芽促進にとって、BA処理は実用的な方法としては問題が残った。ノビル系デンドロビウムにおいても、BA散布でリードバルブの萌芽率が向上するものの、萌芽後枯死するものが多いことが報告されている(野菜試験場, 1984)。BA処理に関して、デンドロビウム属の植物には、萌芽促進後のリードバルブの生長に共通した問題があるものと推察される。Gho(1977a)は、同じラン科のAranda Deborahの腋芽が合成サイトカイニンで萌芽し、オーキシンで抑制されることから、腋芽の動きは内生ホルモンのバランスの影響を受けていると推定している。デンファレ及びノビル系でも、BA処理後リードバルブの生長を抑制するような内的変化があったのかも知れない。今後、BA処理がリードバルブ萌芽促進にとって有効な手段にするためには、処理後の内生ホルモン等の動態を探る必要がある。

以上の結果から、リードバルブの萌芽を制御する方法が明らかとなった。そこで、冬季温室内の環境条件を第1章及び第2章において示されたデンファレの生長にとっての最適な温度と光条件に近づけて、萌芽したリードバルブを生長させ、最終生産物である切り花の収穫時期を調査した。すなわち、萌芽促進を行う11月以降、加温により温室内の最低温度を上昇させ、遮光ネットを除去してガラス面と保温用に被覆した塩化ビニールによる遮光以外の光を採り入れた試験区を設けた。さらに、頂芽優勢によるリードバルブ萌芽の抑制を解除するために、バックバルブから発生してくる花芽を除去した。その結果、2品種とも低温期にリードバルブが萌芽し、開花期が前進した(第5-7表)。特に、加温の開始時期を11月にして最低温度条件を24℃にした場合、リードバルブが12月下旬から1月上旬に萌芽し、プラモトは4月中旬、

パンダは5月中旬まで生長を続けた。この後直ちに花芽が伸長し、両品種ともに初夏に開花期を迎えることができた。第5-3図に、両品種の11月加温開始区と無加温区における生育ステージ、すなわちリードバルブ萌芽時期、止葉が完全展開して花芽が萌芽する時期及び採花期間を示した。各区の採花期間は、株当たり2本の採花できると仮定して、第5-7表で示した第1花収穫開始時期から2.5ヶ月後までの期間とした。このように早生タイプのプラモトと中生タイプのパンダの2品種を用いて、栽培施設ごとに11月からの栽培温度条件を無加温から最低温度24℃以上の幅で違えて栽培すると、大凡6月から翌年の1月までの幅広い期間で採花が可能であることが分かる。但し、冬季加温栽培して早期に開花した株の収穫後の生育ステージがどのようなになるかは、今後検討する必要がある。

本研究において、デンファレの花芽は止葉展開後に特定の環境条件は必要なく分化を開始した。ノビル系デンドロビウムの花芽分化には、リードバルブの止葉完全展開後、花熟と呼ばれる内的充実期間とその後に低温期間が必要であることが報告されている(須藤ら, 1984; 篠田ら, 1988, 1989)。従って、デンファレは明らかにノビル系とは異なる花芽分化特性を持つものと考えられる。但し、止葉完全展開時のリードバルブの茎長及び節数は、加温条件が高くなるにつれて減少する傾向が観察されたが、これはノビル系でも同様に認められた現象である。篠田ら(1989)は、ノビル系デンドロビウムのリードバルブの茎長は夜温の影響を強く受け、高温になるにつれて減少することを報告している。本研究でも温室内の最低温度条件を変えたことは主に夜温条件を制御したことになり、デンファレのバルブ形成時の温度反応特性は、ノビル系と同様であると考えられる。

以上のことより、デンファレは、秋季開花期が終了した後も加温により栽培温度を高く維持し、バックバルブにおける頂芽優勢を人為的に除去すれば、冬季にリードバルブの萌芽が可能となる。その後に適当な温度と光条件を提供すれば、初夏に開花期を迎えるような作型が達成される。このような促成作型を可能にする最低温度条件は24℃であった。この温度条件は、デンファレのCO₂吸収量を最大にする温

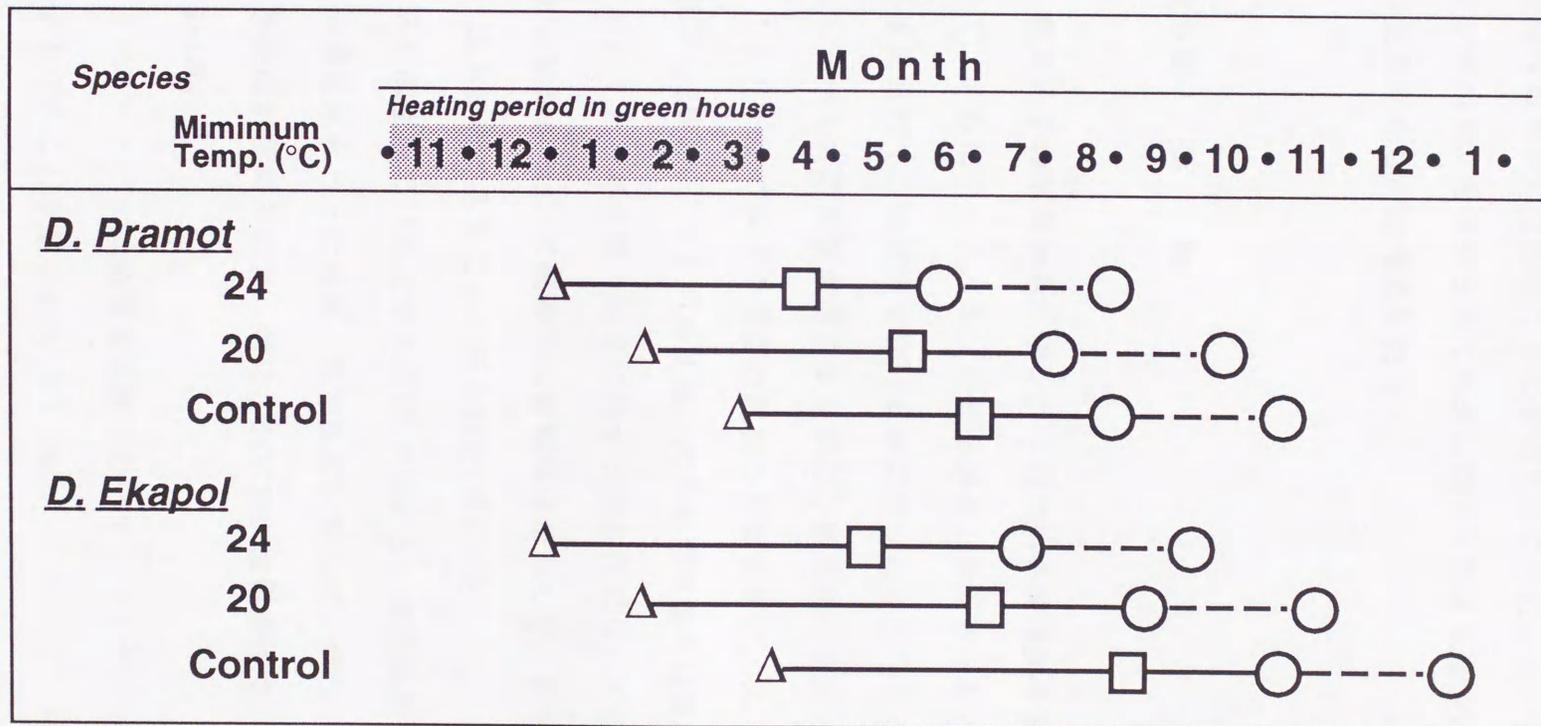


Fig. 5-3. Effects of minimum temperatures on the developmental stage in green house conditions. The heating supplementation was started at the minimum temperature. The heating supplementation was performed from November to March. Control was non-heating treatment. Growth stages were divided into the sprouting of lead bulb (Δ), flower emergence (\square) and flower harvest (\circ).

度条件とほぼ一致し、萌芽の促進には物質生産の増加が関与しているものと考えられた。つまり、デンファレの栽培において、温室内の温度・光条件を光合成量が最大になる条件に近づけて常に管理することにより、従来の生長期に加えて、冬季にリードバルブを萌芽させて初夏に開花するような生長も可能になり、1年間を通して生長するものと考えられる。

第5節 要 約

前章までの結果から、デンファレの生長促進条件が明らかとなった。これらに加えて、さらにリードバルブの萌芽促進方法が明らかとなれば、冬季にリードバルブを成長させて、開花の少ない春季に切り花を出荷することが可能となる。本章ではリードバルブの萌芽促進方法を検討し開花調節を試みた。

1) リードバルブの萌芽は温度の影響を受け、30/24℃(昼/夜温)で促進された(第5-1, 2表)。リードバルブ萌芽の早晚の主要因は温度であった。

2) リードバルブの萌芽に対する光条件については、株頂部の光強度が140~350 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の範囲では影響はなかったが、株元の光条件が約20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上必要であることが示された(第5-1表)。

3) 温室内で11月上旬及び1月中旬から、最低温度が28, 24及び20℃になるような加温栽培を行った結果、無加温に比較していずれの温度条件でもリードバルブの萌芽促進が認められた。特に、24℃の加温度条件では、萌芽が著しく促進された(第5-3表)。

4) リードバルブの萌芽促進にとって、バックバルブにおける花芽の存在は抑制因子となることが示された(第5-4表)。

5) バックバルブへのBA処理は、リードバルブの萌芽を促進することが示されたが(第5-5表)、バルブ基部の上位弱小芽の萌芽や萌芽後座止の障害も同時に認めら

れ、実用的な方法としては問題が残った。

6) 冬季の温室内の光環境及び温度環境を改善することにより、低温期にリードバルブが萌芽・生長し、開花期を前進させることが可能であることが明らかとなった(第5-7表)。11月から24℃の加温栽培を行うと、春季から初夏にかけての採花本数が増加し、切り花の品質も向上した(第5-8表, 第5-2図)。

7) 冬季加温による促成栽培に適する温度条件は、CO₂交換量を最大にする温度条件とほぼ一致していた。すなわち、デンファレの場合、光合成量を最大にする温度条件で常時栽培することにより、冬季生育を停滞させることなく、連続した生長をさせることができる。

第6章 総合考察

本研究は、デンファレのCAM型光合成の特性を明らかにするために、CO₂交換に対する明暗期の温度、明期の平均光強度、日長、水分条件の影響を調べた。一連の研究結果は、第1章から第4章までに示したとおりである。本章では、まず各章で得られたデンファレのCAM型光合成の特性を、これまで報告されているCAM型光合成と対比しながら考察した。次いで、環境要因とCAM型光合成との関係を整理し、デンファレ栽培の最適環境条件について考及し、最後に得られた最適環境条件を基にして沖縄における栽培環境の面での改善点を指摘した。

第1節 デンファレのCAM型光合成の特性

本研究において、デンファレのCO₂交換が暗期と明期始め及び終わりに吸収し、明期半ばはほとんど吸収も放出もしないという典型的なCAM型の日変化を示すことが明らかにした(第1-2, 3, 4図)。さらに、デンファレのCO₂交換の日変化パターンは、Osmond(1978)が定義した4つのPhaseに明確に分けられることができた。CAM型光合成においては、CO₂交換の日変化と同調した有機酸含量の日変化が見られる。デンファレ葉中の有機酸を同定したところ、日変化を示す主要な有機酸はリンゴ酸であった(第1-8図)。リンゴ酸含量の日最大値は明期始めに、日最小値は明期終わりに現れた(第1-9図)。Kluge & Ting(1978)は、CAM植物を、①昼夜による有機酸形成のリズムがあり、その主体をなすものはリンゴ酸である。②夜間にCO₂吸収を示すという特性を持つ植物と定義している。本研究において得られた上記の結果からすると、デンファレは明らかにCAM植物に類別される。

デンファレは熱帯性の着生ランであるが、このようなラン類にはCAM植物が多いと

言われる(Kluge & Ting, 1978). しかし, 熱帯性の着生ランにおいてCO₂交換からCAM型を確認した例は少なく(McWilliams, 1970; Ando, 1982), 環境条件との関係を研究した例も少ない(三浦, 1984). なお, 温帯性の着生ランであるコショウランのCAM型CO₂交換と環境条件との関係については, いくつかの報告がある(須藤ら, 1980, 1993; 太田ら, 1991; 窪田ら, 1993).

以下には, 本研究で明らかとなったデンファレのCAM型光合成の特性について整理してみたい. CAM植物は, 環境条件に反応してC₃型からCAM型に可逆的に変化するfacultative CAM(可塑的CAM)と, いかなる環境条件下でもCAM型を維持するobligate CAM(固定的CAM)の2種類に類別できる(Osmond, 1978). 可塑的なCAM植物には, 水分や塩分等のストレスによってCAMが誘起されるアイスプラント(Winter, 1972)及びコダカラベンケイ(Kluge & Fischer, 1967)や, 短日条件によってCAM化するベニベンケイ(Queiroz, 1974; Brulfertら, 1982a, b, c)がある. 本研究の結果, デンファレのCO₂交換は, 温度(第1-2, 3, 4図), 日長(第3-1, 2図)及び水分(第4-3図)を変化させても常にCAM型の日変化を示し, 固定的CAMであるものと考えられる. これまで報告されている着生ランは, 限られた報告例ではあるが(Gohら, 1977b; 三浦, 1984; 須藤ら, 1993), 全て固定的CAMである.

Neales(1975)は高等植物におけるCO₂交換の日変化型を4種類のCAMに類別している. つまり, CO₂交換の日変化において暗期CO₂吸収を全く示さないnon CAM, 暗期のCO₂吸収が僅かに生じるweak CAM, 明期と暗期両方でCO₂吸収が活発に生じるfull CAM, 完全に暗期だけでしかCO₂吸収が生じないsuper CAMである. この分類に依るとデンファレのCO₂交換の日変化はfull-CAMに分類される(第1-2, 2-2, 3-1, 2, 4-3図). しかし, 不適当な環境条件ではPhase 2及びPhase 4のCO₂吸収は大幅に減少し, Phase 1にだけにみられるsuper-CAMに近づいた(第1-4, 2-4, 4-3図).

次に, デンファレのCAMにおけるCO₂吸収速度をみてみたい. デンファレの好適な環境条件下におけるCO₂吸収速度の最大値は, Phase 1では4~5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, Phase 2は3~4 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, Phase 4は2~2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ であった(第2-2, 3-1

, 2, 4-3図). Phase 1のCO₂交換速度を他のCAM植物と比較すると, パインアップルの約50%(Noseら, 1981), コダカラベンケイの約20%(Kluge & Fisher, 1967), セイロンベンケイの約70%(野瀬ら, 1992)であった. CAM植物のCO₂吸収速度は高等植物の中でも低い, デンファレの吸収速度は, CAM植物の中でもさらに低い方であった. 但し, これまで報告されている着生ラン(Gohら, 1977; 三浦, 1984; 須藤ら, 1993)の中では, デンファレの吸収速度は高い方であった. これは, ラン類としてはデンファレの生長が比較的速いという事実と合致している.

デンファレの葉の拡散伝導度もCAM型特有の日変化を示し, CO₂吸収を行う3つのPhaseで大きくなったが, 最大値で20~25mmol·m⁻²·s⁻¹しかなく(第2-2, 3-1, 2, 4-3図), やはり他のCAM植物と比較すると小さかった. 葉の拡散伝導度も各種環境条件の違いにより変化し, その変化の仕方はCO₂交換速度と同様であった.

CAM植物では一般にCO₂交換速度と葉の拡散伝導度, すなわち気孔開度との間には, 密接な関係が認められている(Nishida, 1963; Kluge & Fischer, 1967; Osmond & Allaway, 1974; Noseら, 1981, 1985, 1986). デンファレの場合でも両者の間には, 温度, 光強度, 日長, 水分のいずれの条件を変化させた場合でも, CO₂吸収を行う3つのPhaseにおいて有意な正の相関関係が得られ両者は密接な関係にあった(第1-5, 2-9~11, 3-3, 4-7図). 本研究においては, CO₂交換速度と葉の拡散伝導度との間の回帰直線・曲線の初期勾配は, Phase間で異っていた(第2-9~11, 3-3, 5-7図). この原因として各々のPhaseで主体的に働くCO₂固定酵素の種類が異なるためと考えられる.

以上のように, デンファレのCO₂交換はまず気孔を含めたガス拡散系により制御されていることが明らかとなった. Kluge & Fischer(1967)はコダカラベンケイを用いて気孔を含めた表皮を取り除く処理をしてCO₂交換の日変化を測定し, CAM植物の気孔の開閉は葉肉細胞におけるCO₂交換特性により律速されているということを明らかにしている. すなわち, 暗期ではPEPCaseのCO₂固定が活発になるために葉内のCO₂濃度が低下し気孔を開孔させ, 明期ではリンゴ酸の脱炭酸により葉内CO₂濃度が上昇するために気孔が閉じるというものである. このような葉内のCO₂濃度が気孔開度を決

定しているということは、他のCAM植物(Kluge, 1968, 1981; Cockburnら, 1979)だけでなくCAM以外の植物でも一般に認められている(Kluge & Ting, 1978). 本研究でも、第1章及び第2章において、暗期の温度を上昇した時に生じるPhase 1のCO₂吸収の減少(第1-6, 2-5図)は、暗呼吸の増加(第1-11図)による葉内CO₂濃度の上昇に依ることが推測された(第1-2, 3, 2-2, 3, 4図). 従って、デンファレにおいても葉内のCO₂固定系と気孔開度は密接な関わりを有しているものと考えられる.

本研究では、葉内のCO₂固定系については暗期CO₂固定のキー酵素であるPEPCaseの活性を測定した. デンファレのPEPCaseの活性は他のCAM植物と同様に日変化することが認められ、日最大活性は明期終わりから暗期始めにかけて、日最小活性は明期始めに観察された(第2-12図). PEPCaseの日変化は、Phase 1においてCO₂吸収が最も活発な時に低下するという特異な現象がみられたものの、これまでの報告とほぼ同様であった(野瀬, 1986b). 第2章において明暗期温度と明期の平均光強度を違えた時の日最大活性が、Phase 1のCO₂吸収量(第2-14図)や1日のリンゴ酸変動幅(第2-15図)と高い正の相関関係にあったことから、これらの条件下ではPEPCaseの役割がより重要になっているものと推察される.

水ストレス条件下では上述したような現象とは異なるPEPCaseとCO₂吸収速度の関係が観察された(第4章). つまり、水ストレス条件下では、PEPCaseの活性が増加する(第4-8図)にもかかわらず、Phase 1の気孔開度及びCO₂吸収速度は減少した(第4-3図). 水ストレス条件下で観察された以上のようなPEPCaseと気孔開度との逆転した関係は、水ストレスによる気孔閉鎖に伴うCO₂吸収速度の制限を、より大きな気孔抵抗のもとで十分なCO₂吸収を図るためのCO₂固定能の強化とも考えることができる. つまり、水ストレス下でも、デンファレのCO₂交換すなわち気孔の開閉は、葉内のCO₂固定系と密接に連動しているものと考えられる. なお、このような水ストレス条件下のPEPCaseの活性変動には、内生ホルモンが関与するという報告もある(Brigitteら, 1993; Rayder & Ting, 1983b; Thomasら, 1992).

次に、デンファレの葉内のCO₂固定系について考察してみたい、CO₂固定系の制御

機構については、1970年前半から様々な説が提示されてきた。野瀬(1979, 1992)に依ると、それらは①生物時計、②張-緩モデル、③解糖系モデル、④PEPCaseモデルの4種類に要約できる。これらは全てCAMに不可欠な機能についての考えで、いずれが主な制御機構であるかという点に関しては現在のところ不明である。しかし、4つのモデルの中で、Phase 1において生成されるリンゴ酸によるフィードバック制御を受けずにPEPCaseがCO₂固定を続けることと、Phase 4において主体的にCO₂固定を行うのがPEPCaseでなくRubiscoであるという2つの疑問に対し、明確に解答できているのはPEPCaseモデルだけである。つまりPEPCaseモデルにおいては、PEPCaseのリンゴ酸に対する感受性の昼型、夜型という日変化が想定され(von Willert, 1979; Winter, 1980, 1981), 昼型PEPCaseはリンゴ酸に対する感受性が高く、Phase 3でリンゴ酸の脱炭酸で生じたCO₂やPhase 4の外気からのCO₂を固定できない。夜型PEPCaseはリンゴ酸に対する感受性が低いために、Phase 1で生成したリンゴ酸が液胞に移動する前にフィードバック阻害を受けることなく固定し続けることができる、というものである。このようなPEPCaseの昼型、夜型の違いはPEPCaseタンパクの2量体と4量体間の転換に依るという報告(Wedding & Black, 1986; Wuら, 1985)と、PEPCaseのN末端セリン基におけるリン酸化・脱リン酸化に依って実現される(Nimmoら, 1990)という2通りの説明がなされている。PEPCaseモデルによって、CAM植物の特殊なCO₂交換特性を解明できるものと期待されたが、PEPCaseのリンゴ酸感受性の日変化は種により異なる(野瀬ら, 1986; Brulfertら, 1988)。本研究では、デンファレのCAM型光合成の特性を解明する一環として、PEPCaseのリンゴ酸感受性を第3章において調査した。

デンファレにおけるPEPCaseのリンゴ酸感受性は、アイスプラント(Winter, 1980), *Crassula argentea*(Wuら, 1985a, b)やパイナップル(野瀬, 1986b)と同様に、昼型と夜型に変化した(第3-6図C)。さらに、その日変化パターンは日長条件の影響を受け、その変化の仕方はPhase 4からPhase 1始めにかけてのCO₂交換速度の処理間の違いをよく説明できた。また、長日処理ではPhase 4の時点で既に夜型に変化し、感受性の変化には光の有無と関係がないことも観察された。これは、PEPCaseのリン酸

化・脱リン酸化がフィトクロームと無関係であるという報告(Nimmoら, 1990)と一致する。

CAM型光合成はPhase 1のCO₂吸収で特徴づけられる。Noseら(1979)及び野瀬(1992)は、CAM植物のCAM化の程度を表す指標として、1日の総CO₂収支量に対する暗期CO₂収支量の割合をCAM性として定義した。そして、CAM植物の物質生産の改善には、有機酸貯蔵能力に制限される暗期のCO₂固定よりも、明期のCO₂固定量を向上させることが重要であると仮定し、CAM性と各種環境条件との関係をパイナップルについて検討している(野瀬, 1986a, b, Noseら, 1986)。本研究においても、環境条件を変えた時のデンファレのCAM性を検討してみた。その結果、CAM性が低下して1日のCO₂収支量が増大したのは、明期の光強度が高い時と水分条件が適度の時であった。高い暗期の温度並びに長日条件でもCAM性が低下したが、CO₂収支量の改善には結びつかなかった。野瀬(1986b)は、パイナップルにおいてCAM型光合成の本質に関わる要因についてはCAM性を強化する方向で環境制御を行うことで物質生産の増加が得られると結論づけている。デンファレの場合も温度や日長条件のようにCAM型光合成の本質に関わる要因についてはCAM性を増加させる方向で制御することにより、明期の光強度や水分条件のような要因はCAM性を打破する方向で制御することによって、物質生産の増加が得られるものと考えられる。

第2節 環境条件とデンファレのCAM型光合成

本節では、各種環境条件に対するデンファレのCO₂交換の反応特性に基づいて、デンファレの生長にとって有効な環境条件を総括してみたい。デンファレのCO₂吸収は明/暗期の温度が25~30/25℃の時活発になり、逆に明期の温度が35℃を越えた場合、暗期の温度が30℃を越えた場合及び明期の温度が暗期の温度よりも高くなった場合は減少した(第1-2, 3, 4図)。一般にCAM植物では、低い夜温と高い昼温という温度条

件の時にPhase 1のCO₂吸収が活発になる。パイナップル(野瀬ら, 1986a)やサボテン類(Nobel & Hartsock, 1980)では, 明/暗期の温度較差が10~15℃ある場合Phase 1のCO₂収支量が増大することが報告されている。デンファレの場合, 高い夜温と明/暗期の温度条件が逆転した時にCO₂吸収が阻害されると言う点ではこれまでの報告と同様であったが, 明/暗期の温度較差がほとんどないか, 僅か5℃でPhase 1のCO₂吸収が活発になった。これは, デンファレのCAMの特徴のひとつと考えられる。このように小さい日較差条件下でCO₂吸収が活発になる特性は, デンファレの起源地及び自生地が温度日較差の少ない湿潤熱帯地域であることと関係があると推察される。

明期の平均光強度条件については, 光強度の増加が明暗両期のCO₂吸収を増加させた(第2-1, 2, 3, 4図)。Phase 1のCO₂収支量は, 30/25℃の時平均光強度が250 μmol·m⁻²·s⁻¹付近で光飽和に達した(第2-5図)。これは, 暗期のCO₂吸収の基質生成過程とエネルギーソースが明期の光強度に依存したC₃型光合成に由来することから暗期のCO₂吸収にC₃型光合成と同様な光飽和点が存在すると考えられ, パイナップル(Noseら, 1977)や*Opuntia ficus-indica*(Nobel, 1977)でも同様の報告がなされている。一方, Phase 4のCO₂収支量は900 μmol·m⁻²·s⁻¹まで増加を続け(第2-5図Noseら(1977)やNobel(1977)の結果とは異なった。Coteら(1989)は, Phase 4のCO₂吸収はPEPCaseとRubiscoの両方が関与するDouble carboxylationが働いていることを報告している。本研究で得られたPhase 4における高い光飽和は, デンファレにおいてPEPCaseが活発にCO₂固定をしていることを予想させるものである。

以上のように, 明期の平均光強度や明暗期の温度条件は, デンファレのCAM型光合成に対し著しく影響を及ぼす。自然条件下では光と温度は相互に関連しながら変化する。CAM型光合成と環境要因との関係についての研究は, そのほとんどが単独の要因について解析を行い, 複合環境下で検討した例は少ない。そこで, 本研究においては, 明期の平均光強度と同時に明/暗期の温度条件を変化させてみた。その結果, 1日及びPhase 1, 2におけるCO₂収支量の光反応特性は温度条件で異なり, 適温条件

よりも高い温度条件では、最適な平均光強度が低下した(第2-1, 2, 3, 4, 5図)。また本研究では、CO₂固定酵素であるPEPCaseの活性が高温・強光条件下で低下することも認められた(第2-13図)。つまり、デンファレのCAM型光合成における温度と光強度の影響は密接に関連しあっており、環境制御に当たっては相互の要因を十分に配慮して行うことが必要であると考えられる。

CAM型CO₂交換の日変化が日長の影響を受けることは多くのCAM植物(Nose, 1986; Nobel, 1989; 須藤, 1993)で認められているが、CO₂収支量が増加する日長条件はCAM植物の種類により異なっている。本研究の結果、デンファレのCO₂交換が活発になるのは12~10時間日長の中・短日条件であった(第3-1, 2, 4図)。長日条件でCO₂収支量が増加するタイプの*O. ficus-indica*では、暗期のCO₂吸収量の増加が明期に受ける光合成有効放射量により説明が可能であるという(Nobel, 1989)。しかし、デンファレのCAM型光合成ではこのような現象は認められなかった。デンファレでは明期の光合成有効放射量が10mol・m⁻²・day⁻¹以上の場合、暗期のCO₂収支量の中・短日条件で増加した(第3-4図)。

CAM植物は、際だった耐乾性を有している。デンファレも21日間に及ぶ無灌水状態でも枯死することなく正のCO₂収支量を維持し、乾燥条件に強いことが示された(第4-3図)。また、僅かな葉の水ポテンシャル変化に敏感に反応し、蒸散要求量の高い明期に気孔を閉鎖したが、これも他のCAM植物(Brigitteら, 1993; Klugeら, 1973)で認められている乾燥に対する反応様式と同じであった。デンファレのCO₂吸収が低下する葉の水ポテンシャルの閾値は-0.38MPa付近にあった。

以上のことより、デンファレの生長を促進する環境条件と阻害する条件を抽出してみたい。まず促進条件としては10~12時間の日長、明期が25~30℃、暗期が25℃の温度条件、明期の光強度が250~900μmol・m⁻²・s⁻¹でかつ1日の有効放射量が10mol・m⁻²・day⁻¹以上、葉の水ポテンシャルが-0.38MPa以下にならないような水分条件であった。逆に阻害する条件としては、35℃を越えるような明期の温度、30℃以上の暗期温度、明暗期が逆転する温度条件、250μmol・m⁻²・s⁻¹未満の平均光強度条件、

高温で平均光強度が $500 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以上ある場合、葉身の水ポテンシャルが -0.38MPa 以下に達するような乾燥条件であった。

第3節 沖縄におけるデンファレ栽培環境の改善

本節においては、前節までの結果を基礎にデンファレの切り花が得られるまでの株の養成期間の短縮について検討し、次いで沖縄の施設栽培での環境管理方法における改善点、特に光と温度条件について考察する。

1. 最適環境条件を利用した株の養成期間の短縮

デンファレの株の増殖は、切り花の花形、花色を均一化させるために主に組織培養による方法が用いられている。現在沖縄の切り花生産で用いられている株の大部分は、タイ国において培養し養成した安価な株を輸入しているが、もし沖縄において組織培養から種苗生産をすると、フラスコより培養苗を取り出してから初花が上がるまで約3年間を要する(第6-1図)。そこで、前節で明らかにしたデンファレの生長にとっての最適環境条件で培養苗を養成した場合、株の生長がどのようになるかをシュミレートしてみた(第6-1図)。CAM型光合成の研究では、1日の CO_2 収支量を24時間の CO_2 交換速度の測定から求めるので、ある一定の環境条件下における乾物生産量は、総 CO_2 収支量から得た推定乾物重に近似する(Sale & Neales, 1984)。パイナップルでは、栽培環境条件が整えば、栽培期間が2.5年から約1年に短縮されることが報告されている(Nose, 1992)。今回は、明/暗期の温度条件が $30/25^\circ\text{C}$ 、明期の平均光強度が $500 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、日長条件が10時間、水ストレスが生じないように灌水するという最適環境条件を培養株に連続的に与えたとして乾物重の推移をシュミレートした。仮想乾物重は、各章で得た1日当たりの CO_2 収支量(第2-5, 3-4, 4-4図)の平均飽和値 $187 \text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ に実測した株の葉面積を利用し炭水化物重(CH_2O)に

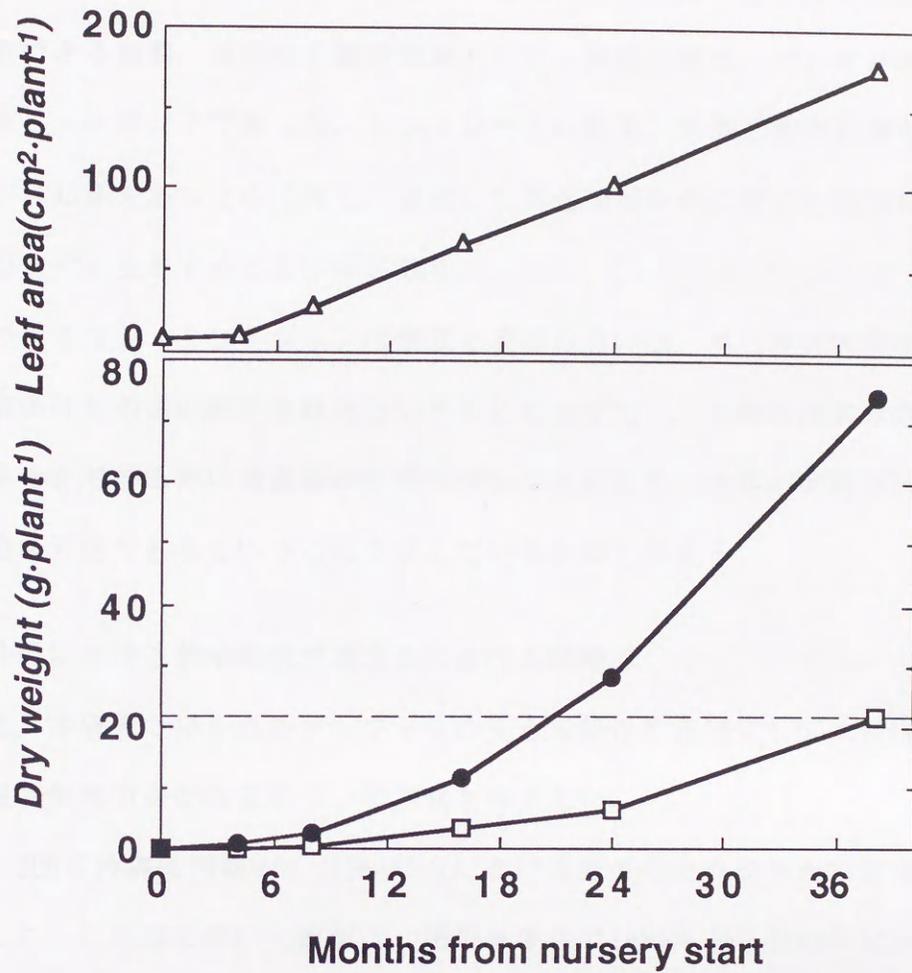


Fig. 6-1. Time changes in leaf area, actual dry matter weight (□) and simulated dry matter weight (●) under the optimum growth conditions. Data for the simulation were obtained from the CO₂ balances in Figs. 2-5, 3-4 and 4-4.

換算して算出した。なお、乾物重を実測した培養株は、沖縄県内の冬季無加温の株養成温室において、慣行的施肥、灌水の元で養成されたもので、38ヶ月目は初花がちょうど得られる前の状態であった。調査は地上部と地下部の両方にわたり、鉢内で採取できる枯葉、枯死根も調査対象とした。供試品種は、パンダと同じ中生タイプのキュートピンクであった。シュミレーションの結果、実測で初花が得られるまでに約38ヶ月必要であったのに対し、連続した最適環境条件に置くと約20ヶ月でほぼ同じ状態までに生長することが示された。

このようなシュミレーションの結果と実測の違いは、単に理想的環境条件と実際の環境条件との違いが示されたということだけでなく、実際の株養成期間において、環境条件をできるだけ最適条件に近づけることにより、生長が促進され株養成期間の短縮が可能であるということを示しているものとする。

2. 沖縄における栽培環境管理方法における改善点

次に、本研究で得られたデンファレの光合成特性を基礎にして、沖縄の施設栽培での環境管理方法の改善について考察を加えたい。

第6-2図に沖縄県那覇の1、4及び7月における野外の光合成有効放射強度の日変化を示した。この図で用いた数値は、那覇気象台で1989年から1994年にかけて測定された時間毎の全天日射量の平均値から計算したもので、光合成に有効な波長域0.4～0.7 μm の太陽放射エネルギー量が、全天日射計で測定した量の50%に近似する(高, 1988)ものとして算出した。まずこの図を利用して、第2章で得られたCO₂収支量が飽和する光強度域を用いて、沖縄におけるデンファレ栽培施設内の時期別日射環境の制御を考えることとする。植物の物質生産における光飽和点は、群落構造や葉面積指数の大小によって異なると言われることから、個葉の光飽和点を用いて適正日射環境を論ずるのは問題がある。しかし、デンファレのように葉面積指数が小さい植物については、個葉の結果も適正日射環境の解析方法の一つとして十分成り立つものとする。

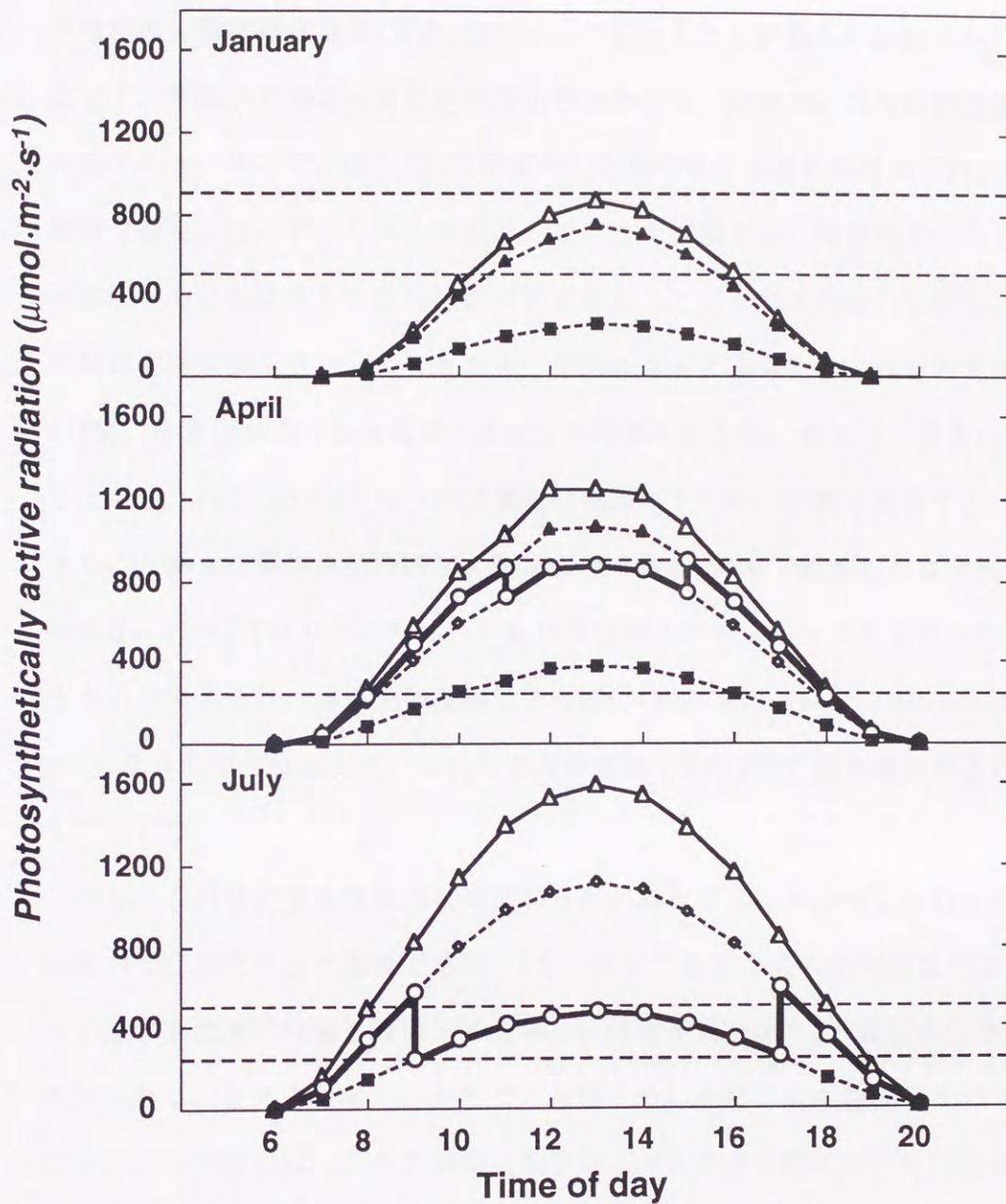


Fig. 6-2. Diurnal changes of photosynthetically active radiation (PAR) at Okinawa Weather Station in Naha during 1989 to 1994. PAR for the un-shaded conditions was assumed to be 50 % of the average global solar radiation.

Note: (Δ), un-shaded ; (\blacktriangle), 15% shaded ; (\diamond), 30% shaded (\blacksquare), 70% shaded ; (\circ), optimum PAR

第2章において、デンファレの1日当たりのCO₂収支量が最大または飽和に達する時の明期の光強度域は温度(葉温)条件により異なることが明らかとなった(第2-5図)。従って、時期別の適正な光強度域を示すためには、季節ごとの明暗期葉温の推移が必要である。そこで、第6-3図の那覇の日最高気温と日最低気温の推移から季節別の葉温を推定した。デンファレの葉温はビニール被覆された施設内であることから、明暗期ともに気温よりも数℃高めに推移することが予想される。しかも、CAM植物は明期前半は蒸散を行わないことから、葉温はさらに上昇することが考えられる。第6-4図には葉面が受ける光強度と葉温との関係を示した。葉温は光強度の増加につれて上昇し、900 μmol・m⁻²・s⁻¹では葉温は気温よりも2~3℃高く推移する。以上のようなことから、栽培施設内の明/暗期葉温条件を第2章で設定した温度区に適用してみると、11~3月は25/20℃区、4,5,10月は30/25℃区、6~9月は35/30℃区に見合うものと考えられ、適正光強度域は各々500~900, 250~900, 250~500 μmol・m⁻²・s⁻¹になるものと推定した。これらの光強度域を第6-2図では点線に挟まれた範囲として示した。

次に、この適正光強度域内に葉面の日射が最大限に入るようにしたのが、第6-2図において○印で示した推移である。1月の場合、現在沖縄の栽培施設で多く用いられている70%遮光では適正域以下で推移し、日射不足によりCO₂吸収を制限していると考えられる。記号▲で示した推移は、被覆しているビニールの遮光率を15%と仮定して描いた。実際には、ハウスの構造物やビニールの劣化等によりもっと遮光率は増加しているものと予想されるが、1月の施設内の光強度管理は被覆ビニールによる遮光以外には必要ないものと考えられる。4月の場合は、被覆ビニールの遮光下であっても11時から15時にかけて適正域を越えるため、この時間帯は30%の遮光(ビニールの遮光を含めて)が必要である。年間を通して最も光強度が強くなる7月の場合は、9時から17時にかけて適正域以上で推移することから、この時間帯は70%の遮光が必要である。なお、7月における適正光強度下の推移は、30%遮光から70%に移行させる管理方法の場合を想定して、記号○で図示した。このように、葉上の光強度が野外に

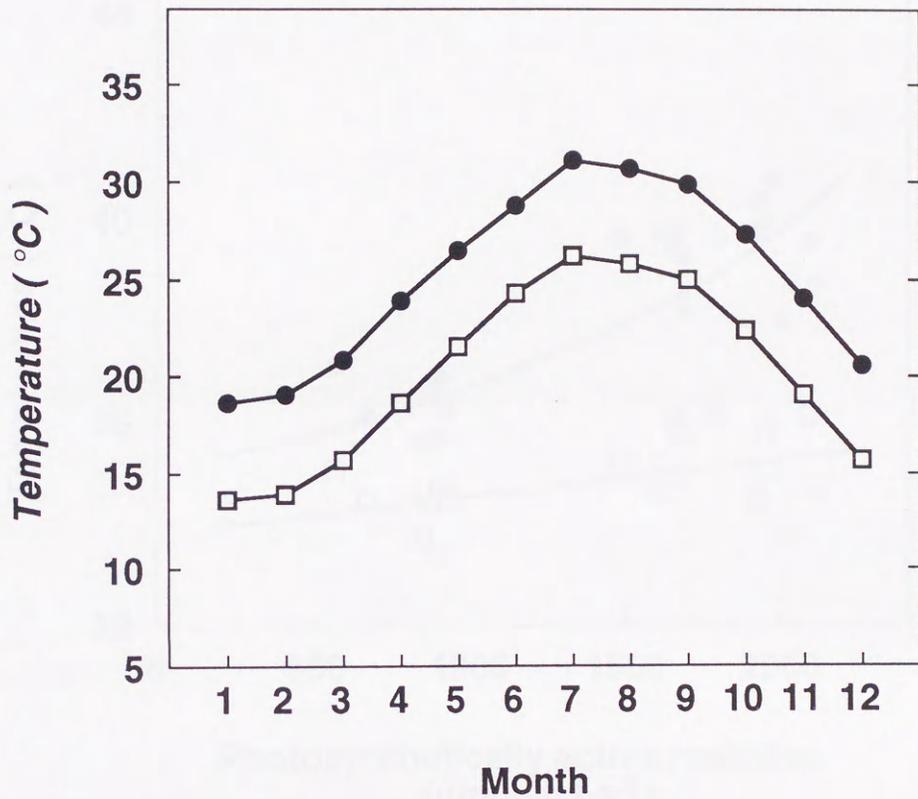


Fig. 6-3. Monthly changes in average maximum (●) and average minimum (□) temperatures in Naha. Data were normal (1961-1990) at Okinawa Weater Station.

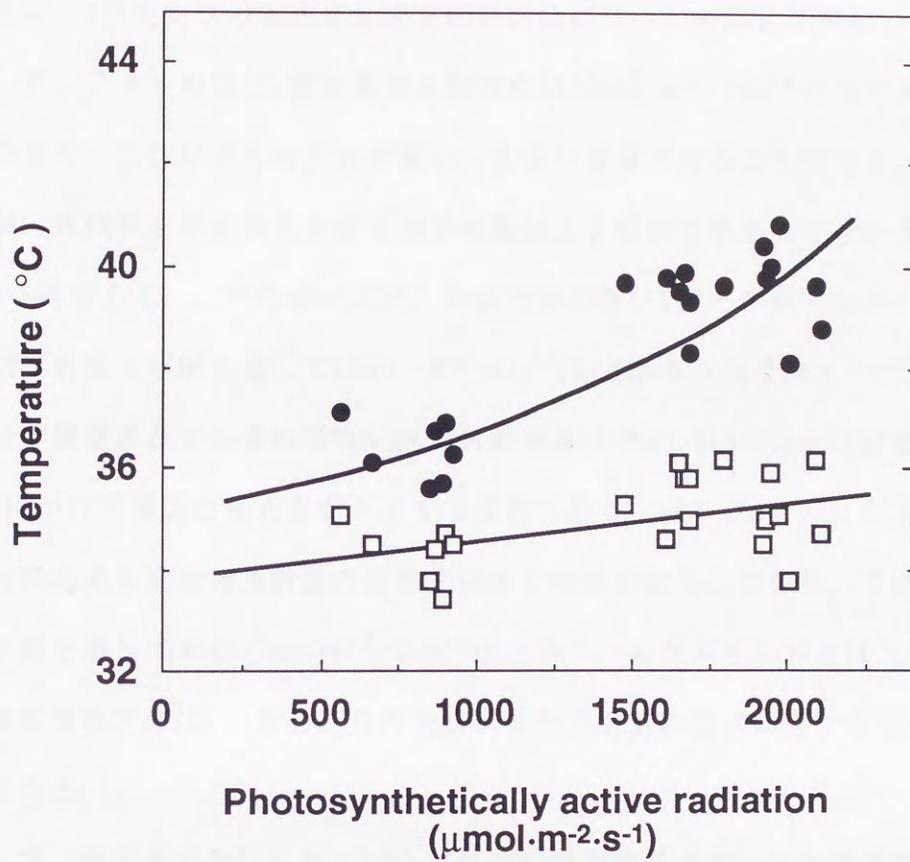


Fig. 6-4. Leaf temperature (●) and air temperature (□) as a function of photosynthetically active radiation. These data were measured under different shade conditions between September 4th and 10th, 1991. Leaf temperatures were measured on the abaxial side of flag leaf.

対して30%と70%に遮光ができるように2層の遮光ネットを組み合わせ、タイマーで時間ごとの制御を行えば、一年を通してデンファレの物質生産に最適の光環境の管理が可能になるものとする。

次に、1日当たりの適正光合成有効放射量について考察してみたい。第3章において、デンファレの日CO₂収支量の光飽和点は10mol・m⁻²・day⁻¹以上であった(第3-4図)。つまり、これ以下の有効放射量では生長が制限されることになる。上述の管理方法が、光飽和を示す日光合成有効放射量以上を確保できるかどうかを検討したのが第6-5図である。この数値の出所、計算方法は第6-2図と同様である。那覇の光合成有効放射量は年間を通して10mol・m⁻²・day⁻¹以上ある。現在多くのデンファレの栽培施設で設置されている約70%の固定式遮光条件では(第6-5図中では■印)、10月から4月にかけて葉面の受光量が不足する状態にある。第6-2図で示した光強度管理方法で施設内光合成有効放射量の推移を推定したのが記号○である。この場合、施設内は年間を通して常に10mol・m⁻²・day⁻¹以上あり、遮光率を30%と70%に組み合わせた光強度管理方法は、1日当たりの光合成有効放射量の確保の面からも適切であると判断できる。

一方、現在多く用いられている70%の固定型遮光方式からの簡易な日射環境の改善方法も示してみたい。記号△で示した有効放射量の推移は、11月から3月にかけては70%の遮光ネットを巻き上げ、この期間の遮光条件をビニール(15%程度遮光)だけにした場合のものである。これでも、CO₂収支量が光飽和を示す光合成有効放射量以上を一年間を通して確保できる。記号▲は、4, 5, 10月は11~15時、6~9月は9~17時というように、時期別に70%遮光にするネットを巻き降ろす時間を設定したものである。この方法も光環境の改善には有効であると考えられる。デンファレの栽培施設の中には施設内部に遮光ネットを張り、ネットの巻き上げ巻き降ろしを電動で操作しているものも少なくない。これらにタイマーをつけ加えるだけでこのような日射制御が可能となる。なお、日射制御は光強度を実測しこの変化に応じて制御するのが理想的である(須藤, 1989)。

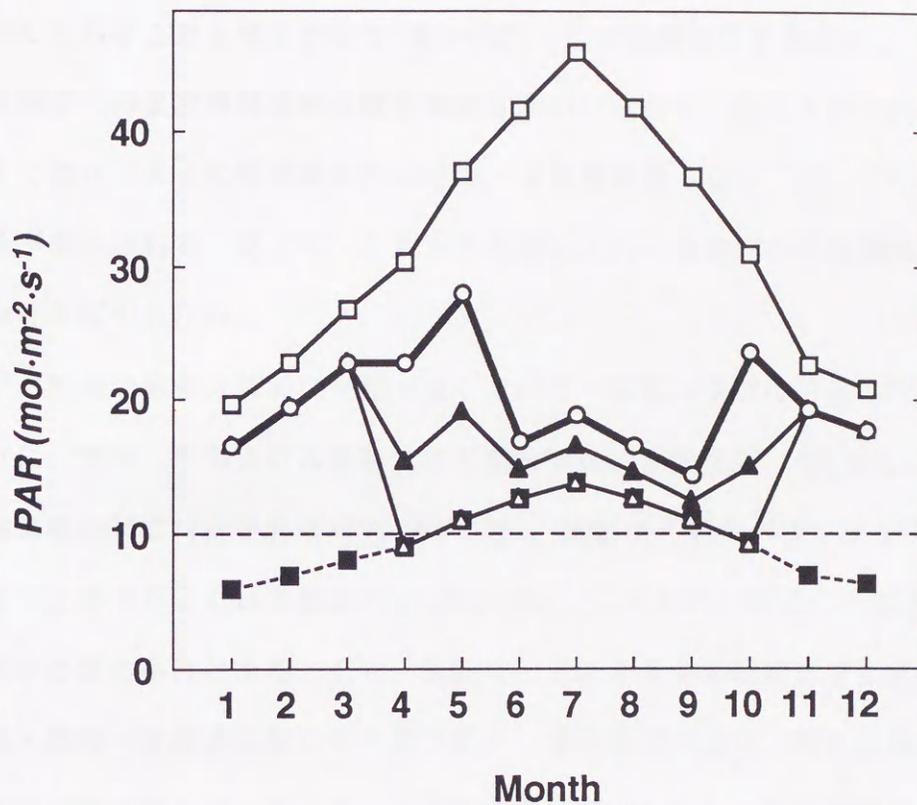


Fig. 6-5. Monthly photosynthetically active radiation (PAR) under non-shaded and shaded conditions in Naha. The non-shaded data was normalized during 1974 to 1990 at Okinawa Weather Station. See Fig. 6-2 for optimum PAR condition.

Note: (□), non-shaded

(○), optimum PAR

(△), 70% shaded during Apr. to Oct.

(▲), 70% shaded from 11:00-15:00 in Apr., May and Oct. and from 9:00-17:00 during Jun. to Sep.

(■), 70% shaded for whole year.

次に、デンファレ施設内の温度環境条件の制御について考察を加えたい。第1章において、デンファレの日CO₂収支量が最大となる明/暗期の温度(葉温)条件は、25~30/25℃であることを明らかにした(第1-6図)。この温度条件を基礎にして、デンファレ栽培施設内の温度環境制御目標を設定したい。しかし、既に本節の光環境制御のところで触れたように栽培施設内はビニール被覆状態であり、加えて明期では葉温の上昇が想定される。従って、これらを考慮に入れた施設内の温度環境の制御を考察しなければならない。

まず、明期の施設内温度は年間を通して25℃~30℃の範囲にできるだけ接近できるように、換気、保温及び加温等により調節すべきと考える。6月から9月にかけては最高気温が30℃付近にあるため(第6-3図)、葉温は入射光が強すぎると容易に35℃以上まで上昇することが予想される(第6-4図)。このため、前述した遮光による光強度管理が必須の条件となる。次で、施設内の気温を外気温程度までに近づけるために天窗・側窓・妻面窓面積の最大限の拡大、連棟谷間の換気、時には強制換気等により施設の換気率を向上させることが重要である。しかし、既存施設の換気率の改善には施設の改造を必要とするので、栽培施設の立地条件も考慮に入れた効率的な改善方法が必要であろう。11月から3月にかけては保温及び加温による温度の確保が重要になる。この場合、光強度の管理面で考察したように、遮光せずに可能な限り日射を入れることで施設内気温と葉温の上昇を図る。

暗期の施設内温度は、年間を通して25℃に接近できるように管理することが好ましい(第1-6図)。6月から9月にかけては外気の最低気温が25℃付近にあり制御の必要はない。ただし、明期の高温を暗期移行後速やかに下げることに留意すべきである。10月から5月にかけては外の最低気温が25℃以下で推移することから、適温条件の維持には保温と加温が必要となる。第5章において、冬季の暗期最低気温を20℃以下から24℃に上昇させると、リードバルブの萌芽とその後の生長が促進される結果が得られた(第5-7図)。これは暗期適温条件下で物質生産が活発になった結果によるところが大きいと考える。沖縄の低温期において旺盛な生長を維持させるためには、暗

期温度の制御が重要であると考え。しかし、冬季の加温栽培は開花期の促進により増益が図られるが、他方、生産費がかさみ冬季の管理温度の程度は生産者の経営形態の選択に委ねなければならない。

以上、デンファレの栽培において光、温度条件の制御形態について考察したが、他に水分条件の問題に関しても言及したい。第4章では、デンファレはCAM植物特有の耐乾性を持つ植物であり、加えて水分ストレスが生じると速やかにCO₂吸収が減少し、C₃、C₄植物同様に物質生産的にマイナスになることが明らかとなった(第4-4図)。現在沖縄において使用されている植え込み培地は保水性の乏しいものが多く、水分ストレスが起き易い状況にある。乾燥し易い培地では頻繁な灌水が必要であると考えられる。しかし、本研究では適正な水分環境を維持するための要水量を調査していないので、一年間を通した灌水間隔・量を提示することはできなかった。今後は、この点の検討と、培地水分状態を簡便に把握できる測定法の開発が適正水分制御方法の確立には必要であると考え。

以上、本研究ではデンファレのCAM型光合成の環境条件に対する反応特性を基礎として、デンファレの栽培環境の管理方法を考案した。本研究の結果を沖縄におけるデンファレの生産向上と安定化の一つの対策として提案したい。

要 約

ファレノプシス系のデンドロビウム(通称デンファレ)は、ラン科、*Dendrobium*(デンドロビウム)属内の種間雑種グループであり、花き園芸作物として利用されている。沖縄には1982年頃から導入され、生産が急激に拡大した。現在、デンファレの切り花生産では全国一になっているものの、環境要因と生育に関する基本的研究情報が乏しく、栽培に関する多くの課題を抱えている。本研究では、まずデンファレの光合成型を確認し、各種環境条件下でのガス交換の特性を明らかにした。材料にはデンファレの代表的種である*Dendrobium Ekapol*を用いた。次いで、これらから得られたデンファレ栽培の最適環境条件を決定し、開花調節や今後の沖縄での栽培において補うべき条件を考察した。本研究で得られた結果は次のとおりである。

1. 明暗期温度の組合せがデンファレのCAM型光合成に及ぼす影響

デンファレの光合成は、暗期(Phase 1)と明期始め(Phase 2)及び終わり(Phase 4)にCO₂を吸収し、暗期に葉内でリンゴ酸を合成、蓄積する典型的なCAM型であった。デンファレのCO₂交換の日変化は、明/暗期の温度の組み合わせの影響を受け、30/25と25/25°Cの時、CO₂吸収は最も活発になった。葉中のリンゴ酸生成量もこれらの温度条件で最大であった。これらの明暗期温度よりも上昇または低下させるとCO₂収支量及びリンゴ酸生成量は著しく減少した。特に明暗期温度を逆転させると、Phase 1始めにCO₂の放出が生じ、1日の総CO₂収支量を低下させた。暗期高温におけるPhase 1のCO₂吸収の減少は暗呼吸の増加に依り、暗期低温での減少は葉内CO₂固定能の低下であることが示唆された。

2. 明期の平均光強度がデンファレのCAM型光合成に及ぼす影響

明期の平均光強度の上昇につれて1日及びPhase 1のCO₂収支量は増加し、25/20°Cでは500~900、30/25°Cでは250~900、35/30°Cでは250~500、40/30°Cでは100~

250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光強度で定常値に達した。デンファレの光飽和点は、温度が上昇するにつれて低下した。Phase 4のCO₂吸収も光強度の上昇により増加したが、900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ までに光飽和点は認められなかった。Phase 4は100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の低光強度及び40/30°Cの高温条件では生じなかった。このように、明期の平均光強度は各PhaseのCO₂吸収に影響を与え、それは明暗期の温度条件により異なった。暗期CO₂固定酵素であるPEPCaseの活性も光強度と温度条件で変化し、高温・強光下で低下した。これは、Phase 1のCO₂収支量の低下と関係があるものと考えられた。以上、本研究で得られた温度条件別に適正光強度域が異なることは、沖縄での季節ごとの遮光管理の必要性を示唆している。

3. 日長がデンファレのCAM型光合成に及ぼす影響

CO₂交換の日変化パターン及び各PhaseのCO₂収支量は、日長条件により変化した。短日条件ではPhase 1が、長日条件ではPhase 2と4のCO₂収支量が増加した。1日の総CO₂収支量は中・短日条件下で高く、リンゴ酸の日変動幅も大きかった。1日のCO₂収支量は、いずれの日長条件下でも光合成有効放射量10~15 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ で定常値に達した。PEPCaseの活性は、日長処理間の差異がなかったが、リンゴ酸に対するPEPCaseの感受性はPhase 4からPhase 1初めにかけて処理間差が認められ、この時期に得られたCO₂交換速度の違いと密接に関連するものと推察された。

4. 水ストレスがデンファレのCAM型光合成に及ぼす影響

灌水を停止するとデンファレのCAM型CO₂交換は、まずPhase 4のCO₂吸収が消失し、次いでPhase 1と2のCO₂吸収速度が半減した。しかし、長期間に渡る水ストレスにも関わらず正の吸収速度を維持し、極めて高い耐乾性を示した。各PhaseのCO₂吸収とリンゴ酸生成量は、水ポテンシャルが-0.38MPaから-0.40MPaに低下した時に急激に減少し、デンファレのCO₂吸収は、葉の水ポテンシャルの僅かな変化に反応することが認められた。CO₂吸収とは対照的にPEPCaseの活性は、水ストレスを与えると増加

した。水ストレス下のCO₂吸収の減少は、葉内CO₂固定系よりも気孔を含むガス拡散系により生じているものと推察された。デンファレのCO₂吸収抑制は、僅かな水ポテンシャルの低下で生じることから、乾燥し易い植え込み培地を使用する場合は、頻繁な灌水管理が株の健全な生長にとって重要であると考えられた。

5. デンファレの最適栽培環境条件

デンファレのCAM型ガス交換の特性から、生長を促進する環境条件を整理すると、次のとおりである。明期温度が25~30℃、暗期温度が25℃、日長条件が10~12時間、明期の光強度が250~900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ かつ1日の光合成有効放射量が10 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ 以上であること、葉の水ポテンシャルは-0.38MPa以下にならないような水分条件といえる。

6. 最適環境条件とリードバルブの萌芽促進による開花期の調節

リードバルブの萌芽を促進する昼/夜温条件は、30/24℃であった。株頂部の光強度は、140~350 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の範囲内では萌芽に影響はなかったが、株元の光強度は20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上必要であった。逆に、萌芽を抑制する条件は、頂芽優勢となるバックバルブの花芽の存在であった。バックバルブへのBA処理は萌芽を促進したが、弱小芽の萌芽や萌芽後の座止も同時に認められ、実用的な方法としては問題があると考えられた。実際の栽培において、冬季に温室内の光及び温度環境を改善することにより、リードバルブの生長と開花期が前進した。このような栽培の適温条件は、CO₂吸収量を最大にする温度とほぼ一致した。

7. 最適環境条件を利用した株の養成期間の短縮

デンファレの株の増殖は、主に組織培養による方法が用いられている。この方法により沖縄で種苗生産を行うと、培養後の養成期間は約3年間を要する。しかし、本研究で得られた生長の最適環境条件下で苗を養成すると、養成期間は約20ヶ月短縮

されることが予測された。

8. 沖縄における栽培環境管理における改善

本研究で得られたデンファレの光合成特性を基礎にして、沖縄での栽培環境管理方法の改善について考究した。現在沖縄の栽培施設で使用されている70%固定式遮光方法では、冬季日射不足することが明らかとなった。そこで、沖縄で理想的日射環境が維持できる季節別遮光率の設定と、現行の遮光方式からの改良方法を示した。温度環境についても、沖縄の温度環境はデンファレのCAM型光合成にとって不適当な時期が多く、人為的に施設内の温度をCO₂吸収が最大となる温度条件に近づける管理が好ましいことと、このような温度管理により、第5章において生長、開花時期が調節できることを実証した。水分環境については、デンファレのCAM型光合成は水ストレス反応が鋭敏であることから、物質生産上灌水管理が重要であることを指摘した。

以上の研究結果を、沖縄におけるデンファレ栽培の生産向上と安定化の一つの対策として提案した。

Summary

A group of interspecific hybrids within the genus *Dendrobium*, *Orchidaceae* was used in the present studies. The plants of this group are called the Phalaenopsis type in *Dendrobium* have been used as a floriculture crop. In Okinawa, commercial cultivation of these plants, which started in 1982, has rapidly increased. However, the lack of basic ecophysiological information such as the gas exchange characteristic of these plants has led to certain problems in cultivation. In the present studies, firstly, the characteristic of the photosynthetic mechanism (crassulacean acid metabolism ; CAM) was evaluated. Secondly, the effects of light and dark period temperature, light intensity, day-length and water stress on the leaf gas exchange were investigated. Lastly, the optimum environmental conditions for the gas exchange were discussed in relation to the regulation the flowering and the development of actual cultivation.

1. Relationship between the combinations of temperatures during the light and dark period and CAM type photosynthesis in *Dendrobium*.

The CO₂ uptake of *Dendrobium* leaves was observed during the dark period (phase 1) and at the beginning (phase 2) and end (phase 4) of light period. Malate was accumulated during phase 1 and disappeared during the light period (phase 3), indicating that *Dendrobium* is a typical CAM plant. Different combinations of temperatures during the light and dark period influenced the diurnal CO₂ exchange rate. The CO₂ balance in a whole day and phase 1, and the Δ malate, which was the difference between the maximum and minimum concentration of malate, became maximum at the light/dark period temperatures of either 25/25 or 30/25°C. These were remarkably decreased when temperatures were either lower and higher than the preceding optimum temperature conditions. Especially, when the temperatures during the dark period was higher than those during the light period, CO₂ released at the beginning of phase 1 and the CO₂ balance in a whole day decreased drastically. The low CO₂ balance in phase 1 at high temperature during dark period might be due to increased dark respiration, whereas the decreasing CO₂ balance in phase 1 at low temperature during dark period might be due to the decreased CO₂ fixation.

2. Relationship between average light intensity and CAM type photosynthesis in *Dendrobium*.

The CO₂ balances in a whole day and phase 1 increased and attained saturation as the average light intensity increased. The saturation points of CO₂ balances depended on the temperature conditions. The light saturation point in the light/dark period temperatures 25/20, 30/25, 35/30 and 40/30°C were 500-900, 250-900, 250-500, 100-250 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, respectively. Hence, light saturation points of CO₂ balances were shifted downward with increasing temperature conditions. The CO₂ uptake rate in phase 4 increased at higher light intensity, the CO₂ balance did not show light saturation even at 900 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. This rate were disappeared under below 100 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Maximum phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCase) was observed at the end of light period and the activity was depressed by high light intensity and high temperature conditions. Thus, seasonal management of light intensity should be given the adequate condition in the cultivation of *Dendrobium*.

3. Relationship between day-length and CAM type photosynthesis in *Dendrobium*.

The diurnal pattern of CO₂ exchange rate was affected by the day-length conditions. The CO₂ balance increased during phase 1 under short day-length, whereas it increased during phase 2 and 4 under long day-length. The CO₂ balance in a whole day and Δ malate were increased in neutral and short day-length. Under all day-length conditions, the CO₂ balance in a whole day increased with higher photosynthetically active radiation (PAR) for a day. This balance attained a steady value at PAR 10-15 $\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$. The activity of PEPCase was not affected by day-length conditions. Susceptibility of PEPCase to malate during from phase 4 to the beginning of phase 1 was clearly affected by day-length.

4. Effects of water stress on CAM type photosynthesis in *Dendrobium*.

After the start of water stress, the diurnal CO₂ exchange of *Dendrobium* was rapidly changed that is, the CO₂ uptake of phase 1 and 2 decreased by half and no CO₂ uptake of phase 4. However, the CO₂ exchange rate remained positive, even though plants exposed to water stress for as long as 21 days. Therefore, it was indicated that *Dendrobium* exhibited strong tolerance to drought as CAM plant. The CO₂ balances in each phase and Δ malate decreased quickly when leaf water potential decreased from -0.38 to -0.40 MPa. The CO₂ exchange rate responded sensitively to slight change in leaf water potential. Therefore, -0.38 MPa was evaluated as the threshold value of leaf water potential for the CO₂ uptake in *Dendrobium*. Non-stomatal factors in CO₂ fixation were not adversely affected by water stress because PEPCase activity increased at the threshold of leaf water potential. Leaf conductance and CO₂ exchange rate were closely correlated in each phase. Therefore, CO₂ exchange under water stress may be controlled mainly by leaf conductance. It was concluded that since the leaf conductance decreased in slight decrease of leaf water potential, the irrigation was a key factor which can help to maintain vigorous growth of *Dendrobium* in poor water holding capacity of root media.

5. Optimum environmental conditions for early lead bulb sprouting and flowering.

The optimum environmental condition attained optimum CO₂ balance of *Dendrobium*, was summarized as follows; temperature conditions of 25/25 or 30/25°C, daily irradiance of more than 10 mol photon·m⁻²·day⁻¹, average light intensity of 250-900 μmol photon·m⁻²·s⁻¹, and leaf water potential was not below -0.38 MPa.

Temperature condition influenced the sprouting of lead bulb in *Dendrobium*. Early sprouting of lead bulb was obtained at 30/24°C. Average light intensity of 140 to 350 μmol photon·m⁻²·s⁻¹ at the top of plants did not influence the sprouting time, however, the light intensity at ground level more than 20 μmol photon·m⁻²·s⁻¹ induced earlier sprouting of lead bulb. The delay of the sprouting of lead bulb when the flower bud existed on the back bulb, might be due to apical dominance. Application of 6-Benzyl adenine (BA) to back bulbs induced early sprouting, but most of the sprout were weak and the growth was ceased to grow after sprouting. Thus, BA could not recommend as an early sprouting inducer. Sprouting and growth of lead bulb, and flowering in greenhouse during winter were promoted by increasing temperature and light intensity. The temperature conditions which promoted growth and flowering were similar to those for the optimum CO₂ uptake. Thus, forcing of growth and flowering may be due to increasing of matter production.

6. Cultural recommendations for vigorous growth of *Dendrobium* in Okinawa.

Considering the optimum environmental cultivated conditions which suited to the CAM type photosynthesis in *Dendrobium*, obtained from the present studies, the actual management of shading, temperature and water were seemed to be insufficient to get the vigorous growth in Okinawa. The shade which prevailed in practical cultivation at 70% through the year, should be changed to the level of shade at each season in order to keep optimum PAR conditions for high CO₂ uptake. Temperature condition in greenhouse should also be controlled as close as possible to the optimum temperature for high CO₂ uptake. In chapter 5, controlled minimum temperature in the greenhouse was show to force the sprouting and growth of lead bulb in winter. Since the CAM type CO₂ exchange of *Dendrobium* was sensitive to the water conditions around the root zone, it was suggested that careful irrigation was needful for vigorous growth.

Dendrobium plants are usually propagated by tissue culture which need about three years for nursery period. According to a simulation which based on the growth rate under the environmental conditions for optimum CO₂ uptake, it is showed that the nursery period is possible to shorten from 38 to 20 months.

謝 辞

本研究の実施にあたり、終始懇篤な御指導、御鞭撻を賜りました琉球大学農学部教授村山盛一博士、本論文を作成するにあたり貴重な御意見と御激励を賜りました琉球大学農学部教授新城長有博士、鹿児島大学農学部教授有隅健一博士、宮崎大学農学部教授續栄治博士には、衷心から感謝し厚く御礼申し上げます。佐賀大学農学部助教授野瀬昭博博士にはCAM研究の御教導に預かり、本研究の方向を御教示戴き、さらに論文の取りまとめには終始懇切な御指導と御激励を賜りました。深甚なる感謝を申し上げます。琉球大学農学部助手川満芳信博士には本研究で用いた光合成測定装置の開発等実験遂行上多大な御支援を賜り、論文の取りまとめには懇切な御指導と御激励を戴きました。深く感謝申し上げます。

本論文作成の機会となる鹿児島大学大学院連合農学研究科に社会人入学する事を沖縄県農業試験場玉城盛徳元場長、与古田幹也前場長、内原彪前次長には快諾して戴き御激励を賜りました。本研究の大半は沖縄県農業試験場園芸支場において遂行され、その遂行に当たっては沖縄県農業試験場金城清郎元次長、小那覇安優前次長、園芸支場稲嶺盛三郎元支場長、平良朝正前研究主幹をはじめ園芸支場の職員各位に多大な御支援と御激励を戴いた。沖縄県農業試験場企画管理部山内昌治部長、渡慶次一安研究主幹をはじめ農業試験場の職員各位には学業と業務の両立に対し御理解と多くの励ましを頂戴した。また、研究の一部は農林水産省野菜・茶業試験場花き部特別研究の委託研究において実施され、流通技術研究室長須藤憲一氏には数々の御指導と御助言を戴いた。ここに記して深く感謝の意を表します。さらに、労を惜しまず実験に御協力して頂いた琉球大学農学部作物学教室の卒業生名嘉みつきさん、大学院生竹内誠人君をはじめ同教室卒業生、大学院生、学部学生の諸氏、文献整理に御協力を戴いた沖縄県農業試験場非常勤職員宮竹美智代さん、与儀京香さんに心から感謝の意を表します。最後に、在学中御支援を賜りました鹿児島大学大学院連合農学研究科並びに琉球大学農学部学務係職員の方々にも厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Ando, T. 1982. Occurrence of two different modes of photosynthesis in Dendrobium cultivars. *Scientia Horticulturae* 17:169-175.
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in chloroplasts polyphenol-oxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiol.* 24:1-15.
- Bartholomew, B. 1973. Drought response in the gas exchange of Dudleya farinosa (Crassulaceae) grown under natural conditions. *Photosynthetica* 7:114-120.
- Brigitte, B., D. Sipes, J. Hann and I. P. Ting 1993. Effect of severe water stress on aspects of crassulacean acid metabolism in Xerosicyos. *Plant Physiol.* 103:1089-1096.
- Brulfert, J., D. Muller, M. Kluge and O. Queiroz 1982a. Photoperiodism and crassulacean acid metabolism. I. Immunological and kinetic evidences for different patterns of phosphoenolpyruvate carboxylase isoforms in photoperiodically inducible and non-inducible Crassulacean acid metabolism plants. *Planta* 154:326-331.
- Brulfert, J., D. Guerruier and O. Queiroz 1982b. Photoperiodism and crassulacean acid metabolism. II. Relations between leaf aging and photoperiod in crassulacean acid metabolism induction. *Planta* 154:332-338.
- Brulfert, J. and O. Queiroz 1982c. Photoperiodism and crassulacean acid metabolism. III. Different characteristics of the photoperiod-sensitive and non-sensitive isoforms of phosphoenolpyruvate carboxylase and crassulacean acid metabolism operation. *Planta* 154:339-343.
- Brulfert, J., M. Kluge, S. Guclu and O. Queiroz 1988. Combined effects of drought, daylength and photoperiod on rapid shifts in the photosynthetic pathways of Sedum spectabile, a CAM species. *Plant Physiol. Bioch.* 26: 7-16.
- Chu, C., Z. Dai, M. S. B. Ku and G. E. Edwards 1990. Induction of crassulacean acid metabolism in the facultative halophyte Mesembryanthemum crystallinum by abscisic acid. *Plant Physiol.* 93:1253-1260.
- Cockburn, W., I. P. Ting and L. O. Sterunberg 1979. Relationship between stomatal behaviour and internal carbon dioxide concentration in CAM plants. *Plant Physiol.* 63:1029-1032.
- Coto, F. X., M. Andre, M. Folliot, D. Massimino and A. Daguinet 1989. CO₂ and O₂ exchanges in the CAM plant Ananas comosus (L.) Merr. Determination of total and malate-decarboxylation-dependent CO₂-assimilation rate; study

- of light O_2 -uptake. *Plant Physiol.* 89:61-68.
- Crews, C. E., H. M. Vines and C. C. Black. 1975. Postillumination burst of carbon dioxide in crassulacean acid metabolism plants. *Plant Physiol.* 55: 652-657.
- Crews, C. E., S. L. Williams, H. M. Vines and C. C. Black 1976. Changes in the metabolism and physiology of crassulacean acid metabolism plants grown in controlled environments. In CO_2 metabolism and plant productivity. Burris, R. H., C. C. Black (eds.), Baltimore, London, Tokyo, University Park Press :235-250.
- Goh, B. C. J. 1977. Regulation of flora initiation and development in an orchid hybrid Aranda Deborah. *Ann. Bot.* 41:763-769.
- Goh, B. C. J., P. N. Avadhani, C. S. Loh, C. Hanegraaf and J. Arditto 1977. Diurnal stomatal and acidity rhythms in orchid leaves. *New Phytol.* 78: 365-372.
- Guralnick, L. J., P. A. Rorabaugh and Z. Hanscom III 1984. Influence of photoperiod and leaf age on crassulacean acid metabolism in Portulacaria afra (L.) Jacq. *Plant Physiol.* 75:454-457.
- Guralnick, L. J. and I. P. Ting 1987. Physiological change in Portulacaria afra (L.) Jacq. during a summer drought and rewatering. *Plant Physiol.* 85: 481-486.
- Hanscom, Z. and I. P. Ting 1978. Responses of succulents to plant water stress. *Plant Physiol.* 61:327-330.
- 平沢正・飯田幸彦・石原邦 1988. 水稻葉身の拡散伝導度, 光合成速度に及ぼす葉の水ポテンシャルと空気湿度の影響の相互関係. *日作紀* 57:112-118.
- Huerta, A. J. and I. P. Ting 1988. Effects of various levels of CO_2 on the induction of crassulacean acid metabolism in Portulacaria afra (L.) Jacq. *Plant Physiol.* 88:183-188.
- 石井龍一 1981. 葉の光合成速度の測定. 加藤栄・宮地重遠・村田吉男, 光合成研究法, 共立出版, 東京. 13-33.
- Jones, M. B. 1975. The effect of leaf age on leaf resistance and CO_2 exchange of the CAM plant Bryophyllum fedtschenkoi. *Planta* 123:91-96.
- 加古瞬二・水野直美・杉山晃・榊原孝平 1979a. シンビジウムの発育と開花に関する研究(第14報)温度, 光強度並びに発育と光合成との関係について. *園学雑.* 48別2:394-395.
- 加古瞬二・水野直美・杉山晃・榊原孝平 1979b. シンビジウムの発育と開花に関する研究(第15報)高温, 強光による光合成能力の低下について. *園学雑.* 48別2 :

396-397.

- Kamemoto, H., W. Meeyot and M. Takeshita 1972. Breeding behavior of polyploid dendrobium orchids. Amer. Soc. Hort. Sci. 97:3-5.
- Kamemoto, H. and G. J. Wilfret 1980. Inter- and multi-sectional dendrobium hybrids. Proc. 9th World Orchid Conf. 255-261.
- 加藤徹 1988. 生長調節. 加藤徹著, 野菜の生長調節, 博友社, 東京. 32-138.
- Kaplan, A., J. Gale and A. P. Mayber 1976. Resolution of net dark fixation of carbon dioxide into its respiration and gross fixation components in Bryophyllum daigremontianum. J. Exp. Bot. 27:220-230.
- 川満芳信・原島浩一・野瀬昭博・村山盛一 1990. 気相型酸素電極法によるCAM植物の温度-呼吸反応の評価. 日作紀 59別1:232-233.
- Kluge, M. and K. Fischer 1967. Über Zusammenhänge zwischen dem CO₂-Austausch und der Abgabe von Wasserdampf durch Bryophyllum daigremontianum Berg. Planta 77:212-223.
- Kluge, M. 1968. Untersuchungen über den Gaswechsel von Bryophyllum während der Lichtperiode. I. Zum Problem der CO₂-Abgabe. Planta 80:255-263.
- Kluge, M., O. L. Lange, M. V. Eichmann and R. Schmid 1973. Diurnaler Sauerhythmus bei Tillandsia usneoides: Untersuchungen über den Weg des Kohlenstoffs sowie die Abhängigkeit des CO₂ Gaswechsels von Lichtintensität, Temperature und Wassergehalt der Pflanze. Planta 112:357-372.
- Kluge, M. and I. P. Ting 1978. Crassulacean acid metabolism. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 1-209.
- Kluge, M., C. Bohlke and O. Queiroz 1981. Crassulacean acid metabolism (CAM) in Kalanchoe: Changes in intercellular CO₂ concentration during a normal CAM cycle and during cycles in continuous light or darkness. Planta 152:87-92.
- 小島一政 1971. Dendrobiumの原種. 洋ラン, 日本蘭協会編, 誠文堂新光社, 東京, 440-451.
- 高吉 1981. 光の測定法. 加藤栄・宮地重遠・村田吉男, 光合成研究法, 共立出版, 東京. 94-97.
- 窪田聡・米田和夫 1993. フェレノプシスの発育と栄養状態に及ぼす光強度の影響. 園学雑. 62:173-179.
- Ludlow, M. M. and T. T. Ng 1976. Effect of water deficit on carbon dioxide exchange and leaf elongation rate of Panicum maximum var. trichoglume. Aust. J. Plant Physiol. 3:401-413.

- Luttge, U. and E. Ball 1977. Water relation parameters of the CAM plant Kalanchoe daigremontiana in relation to diurnal nature oscillation. *Oecologia* 31:85-94.
- Martin, C.E. and A.K. Schmitt 1989. Unusual water relations in the CAM atmospheric epiphyte Tillandsia usneoides L. (Bromeliaceae). *Bot. Gaz.* 150:1-8.
- 増田芳雄 1988. 光合成と炭水化物. 増田芳雄著, 植物生理学, 培風館, 東京, 171-206.
- McWilliams, E.D. 1970. Comparative rates of dark CO₂ uptake and acidification in the Bromeliaceae, Orchidaceae, and Euphorbiaceae. *Bot. Gaz.* 131 (4):285-290.
- Medina, E. and C.B. Osmond 1981. Temperature dependence of dark CO₂ fixation and acid accumulation in Kalanchoe daigremontiana. *Aust. J. Plant Physiol.* 8:641-649.
- 三浦泰昌 1980. 鉢植シクラメンの光合成とその栽培管理における意義について. 神奈川園試特別報告 1-57.
- 三浦泰昌 1981. 光合成特徴を基礎にしたラン栽培方法の確立に関する研究. 第1報. 神奈川園試研報 28:64-72.
- 三浦泰昌 1984. カトレアの葉と根の炭酸ガス収支に及ぼす温度と光の強さの影響. 園学雑. 53別1:360-361.
- 森岡公一・米村浩次・山本幸男・大田弘一 1988. 観葉植物12種の光合成特性. 園学雑. 57別2:490-491.
- Murata, Y. 1981. Dependence of potential productivity and efficiency for solar energy utilization on leaf photosynthetic capacity in crop species. *Japan. Jour. Crop Sci.* 50:223-232.
- 村田吉男 1961. 水稻の光合成とその栽培的意義に関する研究. 農技研報. D9 :1-169.
- Neales, T.F. 1972a. Effect of night temperature on the assimilation of carbon dioxide by mature pineapple plants, Ananas comosus (L.) Merr. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:539-46.
- Neales, T.F. 1972b. The effect of night temperature on CO₂ assimilation, transpiration, and water use efficiency in Agave americana L. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:705-14.
- Neales, T.F. 1975. The gas exchange patterns of CAM plants, In *Environmental and Biological Control of Photosynthesis*, ed. R. Marcelle, Dr. W. Junk b. v. Publishers, The Hague. 299-310.

- Neales, T. F. and C. S. Hew 1975. Two types of carbon fixation in tropical orchids. *Planta* 123:303-306.
- Neales, T. F., P. J. M. Sale and C. P. Meyer 1980. Carbon dioxide assimilation by pineapple plant, Ananas comosus (L.) Merr. II. Effect of variation of the day/night temperature regime. *Aust. J. Plant Physiol.* 7:375-85.
- Nimmo, H. G. 1990. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase by reversible phosphorylation in C₄ and crassulacean acid metabolism plants. *Current Topics in Plant Biochem. Biophysiol.* 9:357-364.
- Nishida, K. 1963. Studies on stomatal movement of crassulacean plants in relation to the acid metabolism. *Physiol. Plant.* 16:281-298.
- Nobel, P. S. and T. L. Hartsock 1978. Resistance analysis of nocturnal carbon dioxide uptake by a crassulacean acid metabolism succulent, Agave deserti. *Plant Physiol.* 61:510-514.
- Nobel, P. S. and T. L. Hartsock 1981. Shift in the optimal temperature for nocturnal CO₂ uptake caused by changes in growth temperature for Cacti and Agaves. *Physiol. Plant.* 53:523-527.
- Nobel, P. S. and T. L. Hartsock 1983. Relationships between photosynthetically active radiation, nocturnal acid accumulation, and CO₂ uptake for a crassulacean acid metabolism plant, Opuntia ficus-indica. *Plant Physiol.* 71:71-75.
- Nobel, P. S. 1989. Influence of photoperiod on growth for three desert CAM species. *Bot. Gaz.* 150:9-14.
- Nobel, P. S. 1976. Water relations and photosynthesis of a desert CAM plant, Agave deserti. *Plant Physiol.* 58:576-582.
- Nose, A., M. Shiroma, K. Miyazato and S. Murayama 1977. Studies on matter production in pineapple plant. I. Effects of light intensity in light period on the CO₂ exchange and CO₂ balance of pineapple plants. *Japan. Jour. Crop Sci.* 50:525-535.
- Nose, A., K. Miyazato and S. Murayama 1981. Studies on matter production in pineapple plant. II. Effects of soil moisture on the gas exchange of pineapple plants. *Japan. Jour. Crop Sci.* 50:525-535.
- Nose, A., K. Heima, K. Miyazato and S. Murayama 1986. Effects of daylength on CAM type CO₂ and water vapour exchange of pineapple plant. *Photosynthetica* 20:20-28.
- Nose, A. Y. Kawamistu and T. Ohba 1992. Effects of auxin treatments on pine-

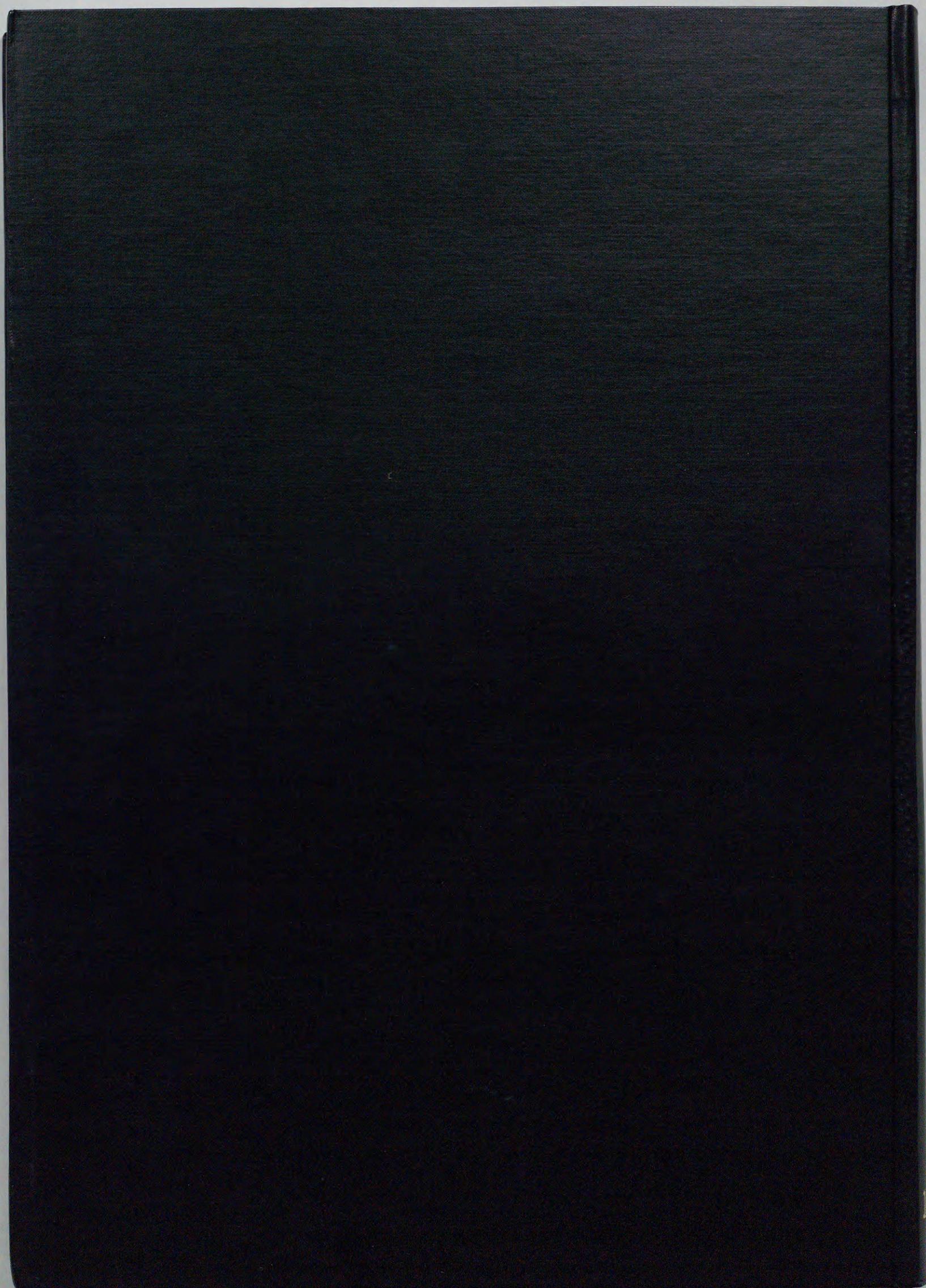
apple growth in the early stage. 1st International pineapple symposium : 22.

- 野瀬昭博 1979. CAM植物における光合成作用とその制御. 農業技術 34:341-347.
- 野瀬昭博 1986a. 昼夜の温度がパインアップル地上部のCAM型CO₂交換に及ぼす影響
宮里清松教授退官記念誌. 131-139.
- 野瀬昭博 1986b. パインアップルのCAM型光合成に関する研究. 琉大農学報 33 :1
-70.
- 野瀬昭博 1992. CAM型光合成の変異と制御. 日作紀 61 :161-171.
- 野瀬昭博・安部俊輔・川満芳信 1994. 高夜温がパインアップル, セイロンベンケイ
ソウ及びコダカラベンケイソウのCAM型光合成に及ぼす影響. 日作紀 63別2:107
-108.
- 大川清 1982. ベンジルアデニンラノリンペースト処理が温室バラの収量と品質に及
ぼす影響. 園学雑 51別2:354-355.
- 萩屋薫 1977. せん定及びベンジルアデニン (B A) 処理がツバキの側枝発生に及ぼ
す影響. 園学雑 52別2:408-409.
- 沖縄県農林水産技術会議 1990. 平成元年度普及に移し得る研究成果の概要. 42-43.
- 沖縄振興開発金融公庫 1991. 沖縄県の洋ラン切花生産の実態・本土市場調査. 1-26.
- Osmond, C. B. and W. G. Allaway. 1974. Pathways of CO₂ fixation in the CAM
plant *Kalanchoe daigremontiana*. I. Patterns of CO₂ fixation in the light.
J. Plant Physiol. 1:503-11.
- Osmond, C. B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context.
Ann. Rev. Plant Physiol. 29:379-414.
- Osmond, C. B., D. L. Nott and M. Firth 1979. Carbon assimilation patterns and
growth of the introduced CAM plant *Opuntia intemis* in Eastern Australia.
Oecologia 40:331-350.
- 太田弘一, 森岡公一, 山本幸男 1991. フェレノプシスにおけるCAM型光合成への
葉齢・花序・水分・温度・光条件の影響. 園学雑. 60:125-132.
- Patel, A. and I. P. Ting 1987. Relationship between CAM and respiration in
Peperomia camptotricha. Plant Physiol. 84:640-642.
- Queiroz, O. and Morel, C. 1974. Photoperiodism and enzyme activity : towards
a model for the control of circadian metabolic rhythms in the crassula-
cean acid metabolism. Plant Physiol. 596-602.
- Rayder, L. and I. P. Ting 1983. CAM-idling in *Hoya carnosa* (Asclepiadaceae).
Photosyn. Res. 4:203-211.

- Rayder, L. and I.P.Ting 1983. Shifts in the carbon metabolism of Xerosicyos danguyi H. Humb. (Cucurbitaceae) brought about by water stress. I. General characteristics. *Plant Physiol.* 72:606-610.
- Ritz, D., M.Kluge and H.J.Veith 1987. Effect of temperature and CO₂ concentration on malate accumulation during CAM:evidence by C-mass-spectrometry. *Plant Physiol. Biochem.* 25:391-399.
- Sale, P. J. M. and T. F. Neales 1980. Carbon dioxide assimilation by pineapple plants, Ananas comosus (L.) Merr. I. Effects of daily irradiance. *Aust. J. Plant Physiol.* 7:363-73.
- Schafer, C. and U. Luttge 1987. Water translocation in Kalanchoe daigremontiana during periods of drought. *Plant Cell Env.* 10:761-766.
- Sekizuka, F., A. Nose, Y. Kawamitsu, T. Akinaga, C. Taira and A. Onaha 1992. Effect of day/night temperature conditions on CO₂ exchange rate and CO₂ balance of Dendrobium Ekapol cv. Panda NO.1. *Acta Horticulturae* 292:187-192.
- 関塚史朗 1990. 栽培技術上の課題；沖縄におけるラン栽培の現状と課題(シンポジウム). *沖縄農業* 25:27-30.
- 関塚史朗・野瀬昭博・川満芳信・小那覇安優 1990. デンファレのCAM型光合成に関する研究(第1報)昼夜温がCO₂交換速度とCO₂収支に及ぼす影響. *園学雑.* 59:558-559.
- 関塚史朗・平良朝正・須藤憲一 1992. デンファレの生育, 開花に及ぼす高温の影響. *九農研* 54:230.
- 関塚史朗・野瀬昭博・川満芳信 1994. デンファレの冬季加温によるリードバルブ萌芽促進と開花期の前進. *園学雑.* 63別1:460-461.
- 関塚史朗・野瀬昭博・川満芳信 1994. 日長がデンファレCAM型光合成に及ぼす影響. *日作紀* 63別1:144-145.
- 関塚史朗・野瀬昭博・川満芳信・村山盛一・有隅健一 1995. 日長がデンドロビウム (Dendrobium Ekapol cv. Panda)のCrassulacean Acid Metabolism型光合成に及ぼす影響. *日作紀* 64(2):201-208.
- 関塚史朗・川満芳信・野瀬昭博・村山盛一・新城長有 1995. 水ストレスがデンドロビウム (Dendrobium Ekapol cv. Panda)のCrassulacean Acid Metabolism型光合成に及ぼす影響. *日作紀* 64(2):235-242.
- 関塚史朗・平良朝正 1995. 高温下におけるデンファレの生育特性の解明. *農林水産技術会議事務局研究成果* 298 :20-26.
- 篠田浩一・須藤憲一・原幹博・青木正孝 1988. デンドロビウムの開花に及ぼす昼夜

- 温の影響. 野菜・茶試研報 A. 2:279-290.
- 篠田浩一・須藤憲一・原幹博・青木正孝 1989. デンドロビウムの生育に及ぼす温度の影響. 野菜・茶試研報 A. 3:139-153.
- Sipes, D. L. and I. P. Ting 1985. Crassulacean acid metabolism and crassulacean acid metabolism modifications in Peperomia camptotricha. Plant Physiol. 77:59-63.
- 城間理夫 1977. 沖縄におけるパインアップル作の農業気象学的研究. 琉大農学報 24:283-412.
- 須藤憲一・筒井登 1980. CAM植物(ファレノプシス, ホシクジャクサボテン)の炭酸ガス収支に及ぼす光量の影響. 園学雑 49別2:318-319.
- 須藤憲一・筒井登・篠田浩一 1984. ノビル系デンドロビウムの生育、開花に及ぼす温度、窒素栄養の影響. 野菜試報告 A. 12:65-83.
- 須藤憲一・篠田浩一 1989. 2層の遮光幕を利用する遮光のコンピュータ制御. 農業気象学会平成元年度講演要旨 146-147.
- 須藤憲一 1993. ファレノプシスの炭酸ガス代謝に及ぼす光環境の影響. 園学雑 62別1:380-381.
- Szarek, S. R. and I. P. Ting 1974. Seasonal patterns of acid metabolism and gas exchange in Opuntia basilaris. Plant Physiol. 54:76-81.
- Szarek, S. R., H. B. Johnson and I. P. Ting 1973. Drought adaptation in Opuntia basilaris. Significance of recycling carbon through crassulacean acid metabolism. Plant Physiol. 52:539-541.
- Thomas, D. A., E. F. McElwain and H. J. Bohnert 1992. Convergent induction of osmotic stress-responses abscisic acid, cytokinin, and the effects of NaCl. Plant Physiol. 100:416-423.
- Ting, I. P., M. L. Thompson and W. M. Jr. Dugger 1967. Leaf resistance to water vapor transfer in succulent plants; effect of thermoperiod. Am. J. Bot. 54:245-251.
- Ting, I. P. and Z. Hanscom 1977. Induction of acid metabolism in Portulacaria afra. Plant Physiol. 59:511-514.
- Ting, I. P. 1981. Effects of abscisic acid on CAM in Portulacaria afra. Photosyn. Res. 2:39-48.
- 上里健次・留中直昭 1985. デンドロビウムの発育生理に関する研究(第1報)栄養生長および開花に及ぼす温度の影響. 園学雑 54別2:398-399.
- 上里健次・屋宣宣由・小渡志保子 1987. デンドロビウムの発育におよぼす窒素及び

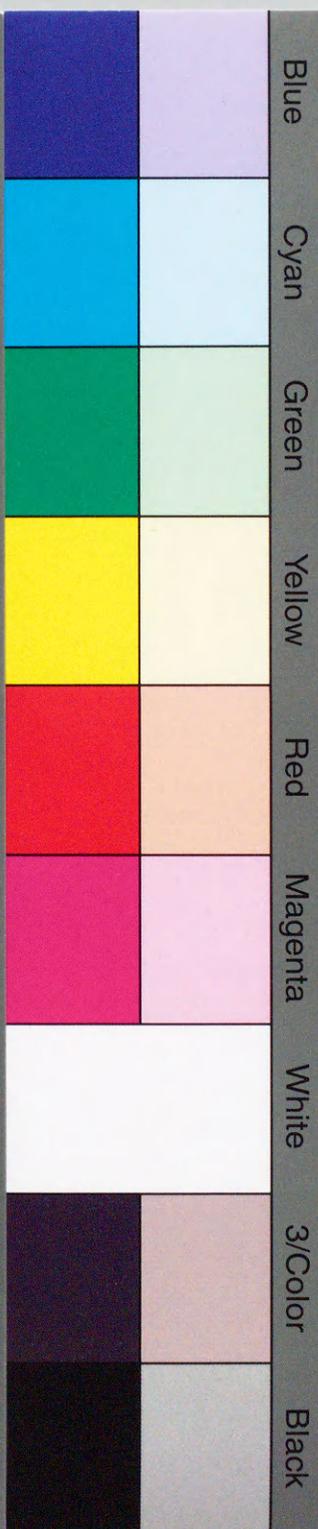
- リン酸の影響. 琉大農学報 34:11-19.
- Vacharotayan S. and S. Kreetapirom 1980. Effects of fertilizers upon growth and flowering of Dendrobium Pompadour. Proc. 9th World Orchid Conf. :75-81
- Vickery, H. B. 1954. The effect of temperature on the behavior of malic acid and starch in leaves of Bryophyllum calycinum cultured in darkness. Plant Physiol. 29:385-92.
- Wedding, R. T. and M. K. Black 1986. Malate inhibition of phosphoenolpyruvate carboxylase from Crassula. Plant Physiol. 82:985-990.
- Winter, K., U. Luttge and E. Winter 1978. Seasonal shift from C₃ photosynthesis to crassulacean acid metabolism in Mesembryanthemum crystallinum growing in its natural environment. Oecologia 34:225-237.
- Winter, K. 1980. Day/night changes in the sensitivity of phosphoenolpyruvate carboxylase to malate during crassulacean acid metabolism. Plant Physiol 65:792-796.
- Winter, K. 1981. Change in properties of phosphoenolpyruvate carboxylase from the crassulacean acid metabolism plant Mesembryanthemum crystallinum after isolation. Aust. J. Plant Physiol. 8:115-19.
- Winter, K. 1982. Properties of phosphoenolpyruvate carboxylase in rapidly prepared, desalted leaf extracts of the crassulacean acid metabolism plant Mesembryanthemum crystallinum L. Planta 154:298-308.
- Winter, K. and J. D. Tenhunen 1982. Light-stimulated burst of carbon dioxide uptake following nocturnal acidification in the crassulacean acid metabolism plant Kalanchoe daigremontiana. Plant Physiol. 70:1718-1722.
- Wu, M. -X. and R. T. Wedding 1985a. Diurnal regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase from Crassula. Plant Physiol. 77:667-675.
- Wu, M. -X. and R. T. Wedding 1985b. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase from Crassula by interconversion of oligomeric forms. Arch. Biochem. Biophys. 240:655-662.
- 野菜試験場 1984. デンドロビウムの繁殖時の萌芽に及ぼすBAの影響. 昭和58年度野菜・花き試験研究成績概要集 花き34-04.



Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

